

## تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر افزایش مقاومت به سرمازدگی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کیفیت انار رقم رباب فارس طی دوره سرد انباری

محمد سیاری<sup>۱\*</sup>، مصباح بابالار<sup>۲</sup> و سیامک کلاتری<sup>۳</sup>

۱، استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ۲، ۳، استاد و استادیار

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۵ - تاریخ تصویب: ۹۰/۱/۲۸)

### چکیده

به منظور کاهش سرمازدگی میوه‌های انار رقم رباب فارس در سردخانه، میوه‌ها قبل از انبار در غلظت‌های ۰/۷، ۱/۴ و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. میوه‌ها به مدت ۴ ماه در انبار سرد (دمای ۲°C و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۰ درصد) نگهداری و در فواصل زمانی ۱ ماه، از انبار خارج و میزان سرمازدگی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش دوره نگهداری میزان سرمازدگی و نشت یونی افزایش یافت اما در میوه‌های تیمار شده روند افزایش بسیار کندتر از میوه‌های شاهد بود. با افزایش دوره انبارمانی و غلظت اسید سالیسیلیک، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیاویل‌از افزایش یافت. در طول دوره انبارمانی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ویتامین ث در میوه‌های شاهد کاهش شدیدی داشت اما در میوه‌های تیمار شده این کاهش بسیار اندک بود. همچنین مواد جامد محلول و pH میوه‌ها در طول دوره انبارمانی افزایش و اسیدیته قابل تیتراسیون کاهش یافت. اسید سالیسیلیک از میان صفات مربوط به کیفیت میوه، تنها بر اسیدیته قابل تیتراسیون اثر داشت و باعث کاهش آن شد. در کاهش میزان سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه، تیمار ۱/۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بهتر از دیگر تیمارها تشخیص داده شد. نتایج این آزمایش بیانگر تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در کاهش سرمازدگی و حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انار رقم رباب فارس در سردخانه می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** شاخص سرمازدگی، نشت یونی، کیفیت میوه، دوره انبارمانی

### مقدمه

انار یکی از میوه‌های مهم مناطق نیمه گرمسیری است که به خصوص در ایران و کشورهای با آب و هوای معتدله مدیترانه‌ای کشت و پرورش داده می‌شود. موطن اصلی این محصول با ارزش ایران بوده که با تولید حدود ۶۹۳۶۶۶ تن در سال، بزرگترین تولیدکننده انار در جهان است (Anonymous, 2008). جهت عرضه خارج از فصل در بازارهای داخلی و صادرات آن، نگهداری محصول اجتناب‌ناپذیر است. در طول دوره انبارمانی، کاهش کیفیت میوه در نتیجه نابسامانی‌های آنزیمی و

فیزیولوژیکی اتفاق می‌افتد که مهمترین آنها خشک شدن و قهوه‌ای شدن پوست و همچنین آریل‌ها (دانه‌های خوراکی) می‌باشد. نگهداری در دمای پائین جهت افزایش دوره انبارمانی مؤثر است اما میوه‌ها در دمای پائین‌تر از ۵°C به سرمازدگی حساس هستند که در نتیجه آن فرورفتگی پوست، اسکالد و افزایش حساسیت به پوسیدگی اتفاق می‌افتد. با افزایش شدت سرمازدگی این علائم به آریل‌ها هم می‌رسد که کیفیت ظاهری و درونی میوه‌ها را کاهش می‌دهد (Kader, 2006).

برداشت و پس از بسته بندی مناسب بلافاصله به آزمایشگاه تغذیه گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران منتقل شدند. این رقم از ارقام صادراتی ایران بوده و دارای طعم ملس و کیفیت بالا می‌باشد. میوه‌های معیوب حذف شدند و ۲۴۰ عدد میوه سالم بطور تصادفی به ۳ گروه ۸۰ عددی برای اعمال تیمارهای زیر در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۵ میوه) تقسیم شدند: میوه‌های شاهد (آب مقطر)، تیمارهای اسید سالیسیلیک در ۳ غلظت (۰/۷، ۱/۴ و ۲ میلی‌مولار). همه غلظت‌های اسید سالیسیلیک روی هر گروه (هر تیمار روی ۲۰ عدد میوه) بکار رفت. میوه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ظروف حاوی ۲۰ لیتر محلول غوطه‌ور و پس از خشک شدن با جریان هوای پنکه و در دمای اتاق، به سردخانه با دمای ۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۹۰ درصد منتقل شدند. به فاصله هر یک ماه، میوه‌ها از انبار خارج و ۳ روز در دمای اتاق قرار گرفتند، سپس صفات موردنظر اندازه‌گیری گردید.

آزمایش بصورت کرت‌های خرد شده در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به اجرا در آمد. تجزیه واریانس و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها و تعیین حداقل اختلاف معنی‌دار، با نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گردید.

#### اندازه‌گیری صفات

صفات مربوط به کیفیت میوه بر اساس روش‌های مورد استفاده توسط Sayyari et al. (2009) صورت گرفت. دیگر صفات مورد ارزیابی به روش‌های زیر اندازه‌گیری شدند:

#### شاخص سرمازدگی

شاخص سرمازدگی هر واحد آزمایشی با درجه بندی میزان خسارت و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Wang et al., 2006):

$$CI = \frac{\sum (ni \times i)}{N \times 4}$$

که در آن CI شاخص سرمازدگی<sup>۱</sup>، ni تعداد میوه‌هایی که علائم سرمازدگی درجه i را نشان دادند و i

برای کاهش سرمازدگی انار در دوره انبارمانی، تیمارهای قبل از انبار میوه با پلی آمین‌ها (Mirdehghan et al., 2007; Artes et al., 2000) و اسید سالیسیلیک (Sayyari et al., 2009) مؤثر بوده‌اند. اسید سالیسیلیک از مواد طبیعی گیاهی بوده که نقش مهمی در افزایش مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده بازی می‌کند. اسید سالیسیلیک در تعدادی از سیستم‌های انتقال علائم<sup>۱</sup> نقش دارد و فعالیت آنزیم‌های خاصی که کاتالیز کننده واکنش‌های بیوسنتزی برای تشکیل ترکیبات دفاعی از جمله فنل‌ها، آلکالوئیدها یا پروتئین‌های مرتبط با بیماریزایی هستند را تحریک می‌کند (Chen et al., 2006). کاربرد قبل از انبار اسید سالیسیلیک در میوه‌های هلو با تحریک فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و تولید پروتئین‌های شوک حرارتی خسارت سرمازدگی را کاهش داده است (Wang et al., 2006). اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز<sup>۲</sup> می‌شود که به دنبال آن سنتز و تجمع ترکیبات فنلی افزایش یافته و در نهایت ترکیبات فنلی با خواص آنتی‌اکسیدانی خود مقاومت بافت به تنش‌های زنده و غیرزنده را افزایش می‌دهند (Ding et al., 2001).

با توجه به اینکه اسید سالیسیلیک سبب کاهش خسارت سرمازدگی انار رقم ملس ساوه شده و مصرف آن عوارضی را ایجاد نمی‌کند و از طرفی رقم رباب فارس از ارقام صادراتی انار ایران بوده و به سبب داشتن اسیدیته پائین، حساسیت بیشتری به خسارت سرمازدگی در انبار دارد این تحقیق برای بررسی اثر اسید سالیسیلیک در مقاومت به سرمازدگی این رقم و حفظ کیفیت میوه در طول دوره انبار به اجرا در آمد.

#### مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی، کاربرد اسید سالیسیلیک و طرح آزمایشی

میوه‌های انار رقم رباب از یک باغ تجاری واقع در شهرستان نیریز استان فارس در اوایل آبان ۱۳۸۷

1. Signal transduction
2. Phenylalanine ammonia lyase (PAL)

ریخته شده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم  $37^{\circ}\text{C}$  قرار گرفت. سپس واکنش با  $0/1$  میلی لیتر اسید کلریدریک  $6$  نرمال متوقف شد. فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز با تولید سینامات تعیین گردید. میزان تولید سینامات با اندازه گیری جذب محلول در طول موج  $290$  نانومتر توسط دستگاه طیف نورسنج<sup>۳</sup> مدل Perkin Elmer, Lambda EZ 201 صورت گرفت. نمونه شاهد، حاوی تمام محتویات محلول به جز عصاره آنزیمی استخراج شده بود. فعالیت آنزیم بر اساس نانومول سینامات در ساعت به ازای میلی گرم پروتئین موجود در عصاره (با رسم منحنی استاندارد سینامیک اسید با غلظت های  $5$  تا  $160$  میکرو مولار) بیان گردید. میزان پروتئین کل عصاره آنزیمی نیز توسط روش برادفورد برآورد شد (Bradford, 1976).

#### ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی کل بر اساس روش Kulkarni & Aradhya (2005) و از روی غیرفعال کردن رادیکال های آزاد شده توسط ماده  $2,2$ -دی فنیل  $1$ -پیکریل هیدرازیل<sup>۴</sup> (DPPH) و بی رنگ کردن آن صورت پذیرفت. بر این اساس  $100$  میکرو لیتر از آب میوه تازه انار با  $900$  میکرو لیتر از بافر Tris-HCl ( $100$  میلی مولار،  $\text{pH} = 7/4$ ) مخلوط شده و  $1$  میلی لیتر DPPH ( $500$  میکرو مولار) به آن اضافه گردید. محلول حاصل به طور کامل مخلوط و به مدت  $30$  دقیقه به حال خود باقی گذاشته شد. پس از آن جذب محلول در طول موج  $517$  نانومتر با دستگاه طیف نورسنج مدل Perkin Elmer, Lambda EZ 201 اندازه گیری شد. برای تصحیح زمینه داده های بدست آمده، جذب محلول هر نمونه بدون اضافه کردن DPPH نیز اندازه گیری شد و از میزان جذب محلول دارای DPPH کسر گردید. نمونه شاهد در واقع دارای کلیه محتویات به جز آب میوه بود که به جای آب میوه از آب مقطر استفاده گردید. برای هر نمونه، مراحل فوق  $3$  بار تکرار شد و میانگین آنها جهت اندازه گیری درصد فعالیت آنتی اکسیدانی<sup>۵</sup> (AA) بر اساس فرمول زیر مورد استفاده قرار گرفت:

درجه سرمازدگی (براساس میزان قهوه ای شدن و فرورفتگی پوست) از صفر تا  $3$  است که عبارتند از: صفر) بدون علائم سرمازدگی،  $1$ ) بین  $1$  تا  $25$  درصد  $2$ )  $26$  تا  $50$  درصد و  $3$ ) بیش از  $50$  درصد.  $N$  تعداد میوه های کل در هر تیمار می باشد. دامنه تغییرات این شاخص از صفر تا  $0/75$  متفاوت بود.

#### نشت یونی

برای اندازه گیری نشت یونی از قسمت استوایی  $3$  میوه هر تکرار  $6$  تکه پوست مدور به قطر  $10$  میلی متر با چوب پنبه سوراخ کن<sup>۱</sup> برداشته شد. تکه های پوست در داخل  $25$  میلی لیتر مانیتول  $0/4$  نرمال قرار گرفتند. پس از  $4$  ساعت به هم زدن با شیکر با سرعت  $100$  دور در دقیقه، هدایت الکتریکی اولیه (EC اولیه) محلول توسط دستگاه هدایت سنج مدل Metrohm 644 اندازه گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه ها در دمای  $121^{\circ}\text{C}$  به مدت  $20$  دقیقه اتوکلاو شد و پس از قرارگیری در دمای محیط به مدت  $24$  ساعت، مجدداً هدایت الکتریکی کل محلول اندازه گیری گردید. درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (McCollum & McDonald, 1991):

$$\%EL = \frac{EC(\text{Primary})}{EC(\text{Total})} \times 100$$

#### فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز (PAL)

اندازه گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز با روش Qin et al. (2003) و با ایجاد کمی تغییرات انجام شد. جهت استخراج عصاره آنزیمی  $10$  گرم دانه های خوراکی منجمد با  $50$  میلی لیتر بافر سدیم بورات  $50$  میلی مولار با  $\text{pH} 8/8$  و حاوی  $5$  میلی مولار بتامرکاپتواتانول و  $1$  گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP) در داخل هاون چینی سرد، له شده و به صورت مخلوط یکنواخت درآمد. مخلوط حاصل بلافاصله در  $9500$  دور در دقیقه و در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  سانتریفیوژ و روشناور (محلول رویی) آن جمع آوری گردید. جهت انجام واکنش،  $0/5$  میلی لیتر از محلول رویی به همراه  $2$  میلی لیتر بافر سدیم بورات  $50$  میلی مولار با  $\text{pH} 8/8$  و  $0/5$  میلی لیتر ال-فنیل آلانین<sup>۲</sup>  $20$  میلی مولار در یک لوله آزمایش

3. Spectrophotometer

4. 2,2- diphenyl-1-picryl hydrazyl

5. Anti-Oxidant Activity

1. Cork borer

2. L-Phenylalanine

با اسید سالیسیلیک داشتند (شکل ۲). نتایج مشابهی در هلو گزارش شده است که کاهش میزان سرمازدگی در تیمارهای ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده گردید، اما در غلظت‌های ۰/۷ میلی‌مولار و پائین‌تر اسید سالیسیلیک خسارت سرمازدگی کاهش نیافته بود (Wang et al., 2006).

در خصوص میزان نشت یونی نیز مشاهده گردید که هم در میوه‌های شاهد و هم در میوه‌های تیمار شده از ماه اول نگهداری، نشت یون‌ها از سلول افزایش می‌یابد ولی در میوه‌های تیمار شده روند افزایش به مراتب کندتر از میوه‌های شاهد بود (شکل ۱). در کاهش نشت یونی، غلظت‌های ۱/۴ و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مؤثرتر بودند و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین اثر این دو تیمار مشاهده نشد. لذا غلظت ۱/۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، تیمار مناسبی جهت کاهش میزان سرمازدگی در انار رقم رباب بود.

#### فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL)

با افزایش زمان نگهداری میوه، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز افزایش یافت (در میوه‌های شاهد و تیمار شده) ولی در میوه‌های تیمار شده فعالیت آنزیم چشمگیرتر از میوه‌های شاهد بود (شکل ۳). اثر برهم‌کنش زمان نگهداری و تیمارهای اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم PAL بسیار خوب بوده و هر دو فاکتور اثر یکدیگر را تقویت نمودند. افزایش فعالیت این آنزیم بعنوان یکی از مکانیزم‌های مقاومت به سرما در میوه‌ها شناخته شده است. در تحقیقی مشاهده کردند که فعالیت این آنزیم در میوه‌های تحت استرس سرما افزایش می‌یابد و به این طریق میوه مقاومت به سرما را در خود ایجاد می‌کند (Lafuente et al., 2003). تیمار گرمایی قبل از انبار در میوه موز نیز که باعث کاهش

$$\%AA = \frac{A517(\text{Sample})}{A517(\text{Control})} \times 100$$

#### ویتامین ث

اندازه‌گیری ویتامین ث با روش تیتراسیون و با کمک یدیدور پتاسیم و معرف نشاسته صورت گرفت. ۵ میلی‌لیتر آب میوه صاف شده با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۲ میلی‌لیتر نشاسته یک درصد به آن اضافه گردید. محلول حاصله با یدیدور پتاسیم (۱۶ گرم یدید پتاسیم به علاوه ۱/۲۷ گرم کریستال ید در یک لیتر آب مقطر) تیترا شد و ویتامین ث برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر و با استفاده از فرمول زیر بدست آمد (Majedi, 1994):

$$C = \frac{0.88 \times V}{5} \times 100$$

#### نتایج

کاربرد تیمارها و دوره انبارمانی باعث تغییر قابل توجه در بیشتر صفات‌های مورد اندازه‌گیری شد. هم‌چنان‌که جدول تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر این موضوع است (جدول ۱). اثر برهم‌کنش دوره انبارمانی و تیمارها نیز در تعدادی از صفات از جمله: نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته، شاخص سرمازدگی، نشت یونی، فعالیت آنزیم PAL، ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه و از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد نیز معنی‌دار بود.

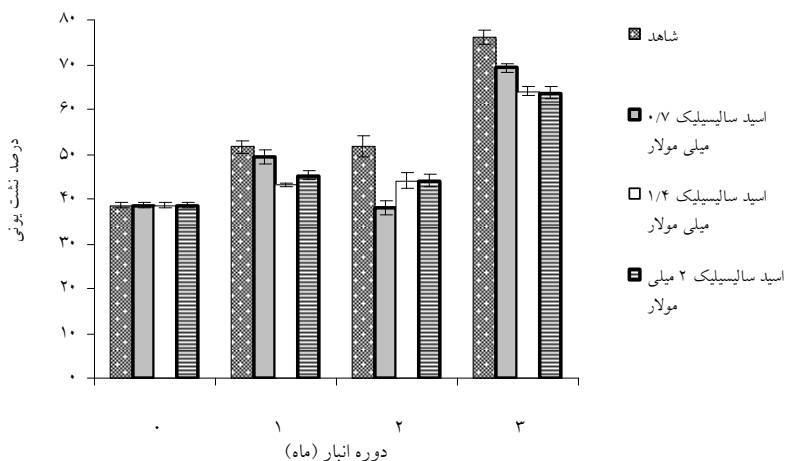
#### شاخص سرمازدگی و نشت یونی

همچنان‌که انتظار می‌رفت، شاخص سرمازدگی در طول دوره انبارمانی افزایش یافت اما تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (جدول ۱)، چرا که پس از دو ماه، میوه‌های شاهد علائم سرمازدگی بیشتری از میوه‌های تیمار شده

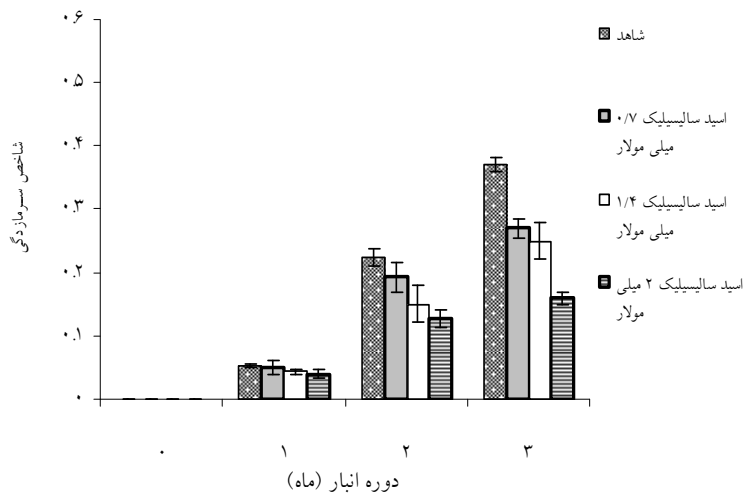
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و دوره انبارمانی بر صفات مورد بررسی انار رقم رباب فارس

میانگین مربعات										
ویتامین ث (mg 100 <sup>-1</sup> FW)	فعالیت آنزیم PAL (nM/mg/h)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل	نشت یونی (%)	شاخص سرمازدگی	pH	نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته	اسیدیته قابل تیتراسیون (%)	مواد جامد محلول	درجه آزادی	منابع تغییرات
۶۹**	۵۵۲۴۸۴**	۱۴۰**	۱۳۰**	۰/۰۱۳**	۰/۰۲۷	۱۴/۹**	۰/۰۵**	۰/۸۹*	۳	اسید سالیسیلیک
۹/۳۸	۴۷۶۴۵	۳/۵۲	۷/۶	۰/۰۰۱۱	۰/۰۱۱	۱/۳۵	۰/۰۱۵	۰/۲۶	۸	خطای کرت اصلی
۶۱۳**	۲۴۶۵۴۷۹**	۸۵**	۱۹۹۴**	۰/۱۷۱**	۱/۵۷**	۱۳۱**	۱/۰۳**	۱/۸۵**	۳	دوره انبارمانی
۲۴**	۳۰۹۸۴۱**	۳۴**	۳۸**	۰/۰۰۴۸**	۰/۰۰۷	۴/۳*	۰/۰۱۱	۰/۵۳	۹	دوره انبارمانی × اسید سالیسیلیک
۴/۷	۳۷۲۳۳	۲/۹۸	۲/۸	۰/۰۰۰۵	۰/۰۱	۱/۱۶	۰/۰۱	۰/۱۵۴	۲۴	خطای آزمایشی
۷	۱۱/۳	۳/۹۵	۳/۳	۱۸/۷	۳/۷	۷/۲	۸/۱	۲/۱۳	-	ضریب تغییرات (%)

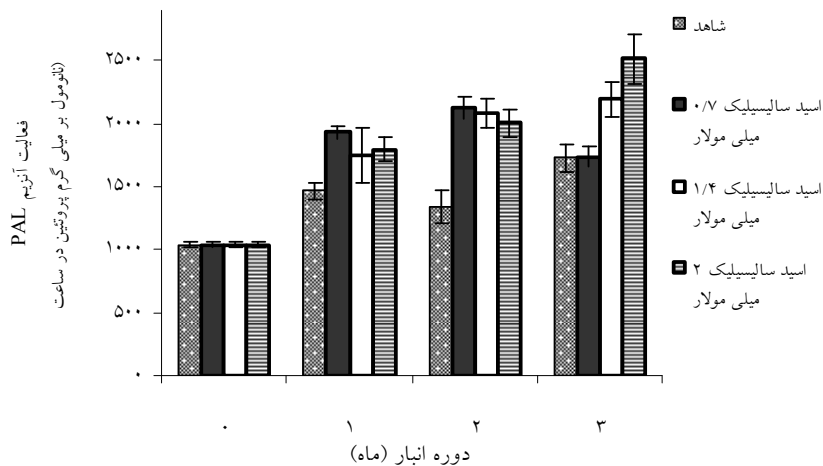
\* و \*\* به ترتیب در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (Sal) بر درصد نشت یونی پوست میوه در دوره‌های متفاوت انبارمانی داده‌ها میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند. (LSD=0.029)



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (Sal) بر شاخص سرمازدگی میوه در دوره‌های متفاوت انبارمانی داده‌ها میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند (LSD=3.16).



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (SAL) بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) در دوره‌های متفاوت انبارمانی. داده‌ها میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند. (LSD=192.5).

(Wang et al., 2006). (Kang et al. (2003) نیز گزارش کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک خارجی با تنظیم فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده را افزایش می‌دهد.

#### صفات مربوط به کیفیت میوه

با افزایش دوره انبارمانی مواد جامد محلول در میوه‌های شاهد و تیمار شده افزایش پیدا کرد و تیمارها چندان تأثیری بر آن نداشتند. pH میوه‌ها نیز در طی دوره نگهداری افزایش یافت اما تیمارها اثری در pH میوه‌ها نداشتند. برخلاف pH و مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون در طول دوره انبارمانی دچار کاهش شدید بود و این کاهش از نظر آماری نیز معنی‌دار بود. تأثیر تیمارها بر اسیدیته نیز از نظر آماری معنی‌دار شد. نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته در طی دوره انبارمانی افزایش یافت که بیانگر افزایش مواد جامد محلول و کاهش اسیدیته می‌باشد. نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته می‌تواند بیانگر کیفیت میوه نیز باشد و هر چند در ماه‌های پایانی دوره انبارمانی افزایش یافته است اما همراه با کاهش وزن چشمگیر میوه‌ها بوده است (جدول ۲).

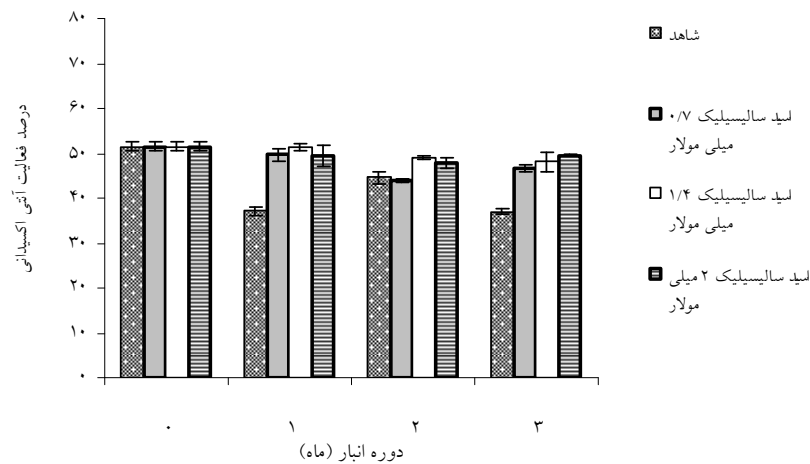
سرمازدگی شده است، همراه با افزایش چشمگیر در فعالیت آنزیم PAL بوده است. Solecka & Kacperska (2003) افزایش در فعالیت PAL و تجمع فنیل پروپانویدها را در گیاهان سازگار شده با سرما نشان داده‌اند.

#### فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ویتامین ث

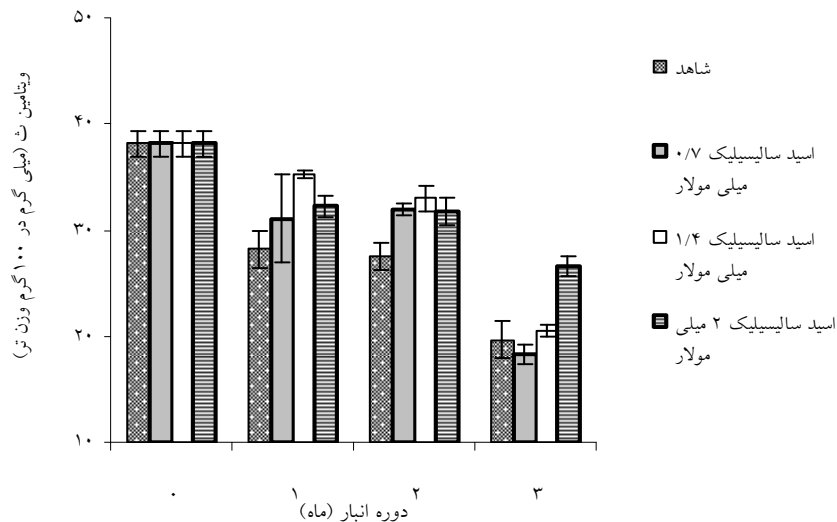
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های شاهد در طول دوره انبارمانی پایین بود، اما در میوه‌های تیمار شده کاهش یافت و غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک (۱/۴ و ۲ میلی‌مولار) اثر مشابهی داشتند (شکل ۴). افت میزان ویتامین ث طی دوره نگهداری شدیدتر از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود و در ماه سوم نگهداری ویتامین ث کاهش زیادی پیدا کرد. در ماه‌های اول و دوم هر سه غلظت اسید سالیسیلیک در حفظ ویتامین ث مؤثر بودند، اما پس از سه ماه انبارمانی تنها غلظت ۲ میلی‌مولار مؤثر بود و ویتامین ث میوه‌های تیمار شده با غلظت ۱/۴ و ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تفاوتی با میوه‌های تیمار نشده نداشت (شکل ۵). در میوه‌های هلو، تأثیر اسید سالیسیلیک در کاهش سرمازدگی به توانایی آنها در تحریک فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و تولید پروتئین‌های شوک حرارتی نسبت داده شده است

جدول ۲- اثر تیمارها و دوره انبارمانی بر صفات مربوط به کیفیت انار رقم رباب فارس

دوره‌های انبارمانی (سردخانه + دمای اتاق)				
تیمارها	قبل از انبار	۱ ماه + ۳ روز	۲ ماه + ۳ روز	۳ ماه + ۳ روز
شاهد	مواد جامد محلول	۱۷/۹۷±۰/۳۵ <sup>bcd</sup>	۱۸/۴±۰/۳۴ <sup>abcd</sup>	۱۸/۴±۰/۰۶ <sup>abc</sup>
	SA 0.7 mM	۱۷/۹۷±۰/۳۵ <sup>bcd</sup>	۱۸/۴±۰/۳۴ <sup>abcd</sup>	۱۷/۷±۰/۳۵ <sup>cd</sup>
	SA 1.4 mM	۱۷/۹۷±۰/۳۵ <sup>bcd</sup>	۱۸/۱±۰/۳ <sup>bcd</sup>	۱۹/۳۷±۰/۱۴ <sup>a</sup>
	SA 2 mM	۱۷/۹۷±۰/۳۵ <sup>bcd</sup>	۱۸/۲±۰/۶۴ <sup>bcd</sup>	۱۸/۸±۰/۱۷ <sup>abc</sup>
شاهد	pH	۲/۷۹±۰/۰۳ <sup>c</sup>	۲/۹۵±۰/۰۵ <sup>abc</sup>	۳±۰/۰۳ <sup>ab</sup>
	SA 0.7 mM	۲/۲۸±۰/۰۴ <sup>d</sup>	۳/۱±۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۲/۹۵±۰/۰۲ <sup>abc</sup>
	SA 1.4 mM	۲/۲۸±۰/۰۴ <sup>d</sup>	۳/۱±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۳/۰۹±۰/۰۸ <sup>ab</sup>
	SA 2 mM	۲/۲۸±۰/۰۴ <sup>d</sup>	۳/۰۵±۰/۰۴ <sup>ab</sup>	۳±۰/۱۳ <sup>ab</sup>
شاهد	اسیدیته قابل تیتراسیون (/)	۱/۷۱±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۳۴±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱/۰۹±۰/۰۲ <sup>cd</sup>
	SA 0.7 mM	۱/۷۱±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۲±۰/۰۲ <sup>bc</sup>	۱/۰۲±۰/۰۶ <sup>cd</sup>
	SA 1.4 mM	۱/۷۱±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۲۱±۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۰/۹۲±۰/۰۷ <sup>d</sup>
	SA 2 mM	۱/۷۱±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۲۹±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱/۰۸±۰/۰۲ <sup>cd</sup>
شاهد	نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته	۱۰/۵±۰/۵ <sup>g</sup>	۱۲/۹±۰/۱۹ <sup>f</sup>	۱۶/۹±۰/۴۸ <sup>bcd</sup>
	SA 0.7 mM	۱۰/۵±۰/۵ <sup>g</sup>	۱۵/۳±۰/۴۴ <sup>cddef</sup>	۱۷/۴±۰/۸۱ <sup>bc</sup>
	SA 1.4 mM	۱۰/۵±۰/۵ <sup>g</sup>	۱۴/۹±۰/۴ <sup>def</sup>	۲۱/۳±۱/۴۴ <sup>a</sup>
	SA 2 mM	۱۰/۵±۰/۵ <sup>g</sup>	۱۴±۰/۱۵ <sup>ef</sup>	۱۷/۴±۰/۵۶ <sup>bc</sup>



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه در دوره‌های متفاوت انبارمانی داده‌ها میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشند. (LSD=1.73).



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر ویتامین ث میوه در دوره‌های متفاوت انبارمانی داده‌ها میانگین  $\pm$  خطای استاندارد می‌باشند. (LSD=3.61).

در میوه‌ها و بافت‌های تحت تنش سرما به دلیل آسیب غشای سلولی است که با تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن از جمله سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسید (که در اثر احیای اکسیژن مولکولی تولید می‌شوند) ایجاد می‌شود. با آسیب غشای سلولی نشت یون‌ها از سلول و علائم سرمازدگی نمایان می‌شود. اسید سالیسیلیک در این آزمایش از میزان نشت یون‌ها و در نتیجه آن از سرمازدگی میوه‌ها کاسته است (شکل ۲). این اثر اسید سالیسیلیک را می‌توان به توانایی آن در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نسبت داد که با جلوگیری از اثر مخرب رادیکال‌های آزاد تولید شده

### بحث

اولین آسیب تنش سرمایی اختلال در عملکرد غشای سلولی و نفوذ ناپذیری انتخابی آن می‌باشد که به دنبال آن نشت یون‌ها به خارج از سلول اتفاق می‌افتد. بدین ترتیب که در شرایط تنش تولید رادیکال‌های آزاد بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت متاثر از تنش سرمایی می‌شود که رادیکال‌های آزاد با اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلولی واکنش داده و باعث پراکسیده شدن لیپیدهای غشا می‌شوند که به دنبال آن نفوذ پذیری انتخابی از دست رفته و یون‌ها به سمت بیرون از سلول نشت پیدا می‌کنند (Kang et al., 2003). خسارت سرما

تجمع فنیل پروپانویدهایی از جمله اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها است (Chen et al., 2006).

تجمع ترکیبات فنلی می‌تواند از خسارت سرما در میوه‌ها جلوگیری کند. ترکیبات فنلی سرشار از گروه  $\text{CO}^-$  هستند که می‌توانند در متلاشی کردن رادیکال‌های آزاد بوجود آمده در اثر تنش سرما نقش مهمی بازی کنند. یکی از رادیکال‌های آزاد مضر ایجاد شده در اثر تنش، یون سوپر اکسید است که آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز دو رادیکال آزاد سوپر اکسید را با هم ترکیب و به اکسیژن و  $\text{H}_2\text{O}_2$  تبدیل می‌نماید. سپس گروه دیگر آنزیم‌ها یعنی پراکسیدازها،  $\text{H}_2\text{O}_2$  تولید شده را با اکسیداسیون ترکیبات فنلی و نیز آنتی‌اکسیدان‌های حاوی گروه  $\text{CO}^-$  متلاشی می‌سازند و بدین طریق اثرات سوء رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در اثر تنش سرما خنثی می‌شود (Sunder et al., 2004).

#### نتیجه‌گیری کلی

در این آزمایش اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم PAL که تجمع مواد فنلی را به همراه داشت، سبب زدودن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اثر سوء آنها در تخریب غشای سلولی و در نهایت سرمازدگی گردید. همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۴ میلی‌مولار بیشترین اثر را در حفظ میوه از خسارت سرما در میوه انار رقم رباب فارس داشته است.

#### سپاسگزاری

از آقای مهندس عزیز ابراهیمی به جهت تهیه میوه‌های رقم رباب فارس از شهرستان نیریز و انتقال سریع آنها به آزمایشگاه کمال تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

در شرایط تنش، از استحکام غشای سلولی محافظت کرده و نشت یون‌ها از سلول و سرمازدگی را کاهش می‌دهد. نتایج این تحقیق با نتایج آزمایش Sayyari et al. (2009) مطابقت داشت. تأثیر اسید سالیسیلیک بر کم شدن خسارت سرما در طول دوره انبارمانی هلو، به توانایی آنها در تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی و تولید پروتئین‌های شوک حرارتی نسبت داده شده است (Wang et al., 2006). کاربرد اسید سالیسیلیک خارجی می‌تواند فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تنظیم نموده و مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده را افزایش دهد (Kang et al., 2003). در گزارشی کاربرد ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در هندوانه مقاومت به سرما را از طریق فعال‌سازی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم‌های گایکول پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوکاتایون ردوکتاز افزایش داد. در تحقیق مذکور مشاهده شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ژرم‌پلاسماهای مقاوم به سرما بسیار بیشتر از ژرم‌پلاسماهای حساس بود (Jing-Hua et al., 2008).

از دیگر نتایج کاربرد اسید سالیسیلیک در این تحقیق افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز بوده است (شکل ۳). شاید افزایش فعالیت PAL یکی از سازوکارهای کاهش سرمازدگی باشد. آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز، یک آنزیم کلیدی در سوخت و ساز فنیل پروپانویید بوده و تشکیل ترانس سینامیک اسید را از طریق دی آمینه کردن فنیل آلانین کاتالیز می‌کند. این آنزیم با استرس‌های مختلف زنده (آلودگی با ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و ...) و غیرزنده (دمای بالا و پایین، نور UV، زخم شدن و ...) تحریک می‌شود که نتیجه آن

1. Guaiacol peroxidase

#### REFERENCES

1. Anonymous. (2008). Iran statistics center. *The results of statistical data from fruit gardens*. 96 pp. (In Farsi)
2. Artes, F., Tudela, J. A. & Villaescusa, R. (2000). Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biology and Technology*, 18, 245-251.
3. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
4. Chen, J. Y., Wen, P. F., Kong, W. F., Pan, Q. H., Zhan, J. C., Li, J. M., Wan, S. B. & Huang, W. D. (2006). Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 64-72.
5. Ding, C.K., Wang, C., Gross, K. & Smith, D. (2001). Reduction of chilling injury and transcript



- accumulation of heat shock protein genes in tomatoes by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Plant Science*, 161, 1153-1159.
6. Jing-Hua, Y., Yuan, G., Yan-Man, L., Xiao-Hua, Q. & Ming-Fang, Z. (2008). Salicylic acid-induced enhancement of cold tolerance through activation of antioxidative capacity in watermelon. *Scientia Horticulturae*, 118, 200-205.
  7. Kader, A. A. (2006). Postharvest biology and technology of pomegranates. In: Seeram, N. P., Schulman, R. N. & Heber, D. (Eds.), *Pomegranate, Ancient roots to modern medicine*. CRC Press. pp. 211-218.
  8. Kang, G. Z., Wang, Z. X. & Sun, G. C. (2003). Participation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings. *Acta Botanica Sinica*, 45, 567-573.
  9. Kulkarni, A. P. & Aradhya, S. M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319-324.
  10. Lafuente, M. T., Zacaras, L., Martinez-Tellez, M. A., Sanchez-Ballesta, M. T. & 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.
  11. Majjedi, M. (1994). *Methods of foods chemicals analysis*. Jahad daneshgahi press. University of Tehran. 108 pp. (In Farsi)
  12. McCollum, T. G. & McDonald, R. E. (1991). Electrolyte leakage, respiration and ethylene production as indices of chilling injury in grapefruit. *Hort Science*, 26, 1191-1192.
  13. Mirdehghan, H. (1999). *The effects of chemicals and heat treatments on reducing of pomegranate chilling injury in cold storage*. M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, University of Shiraz, Iran. (In Farsi)
  14. Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Castillo, S., Martinez-Romero, D., Serrano, M. & Valero, D. (2007). Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 26-33.
  15. Qin, G. Z., Tian, S. P., Xu, Y. & Wan, Y. K. (2003). Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62, 147-154.
  16. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M. & Valero, D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 152-154.
  17. Solecka, D. & Kacperska, A. (2003). Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold. *Physiolgia Plantarum*, 119, 253-262.
  18. Sundar, D., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P. & Reddy, A. R. (2004). Low temperature-induced changes in antioxidative metabolism in rubber-producing shrub, guayule (*Parthenium argentatum* Gray). *Plant Growth Regulators*, 44, 175-181.
  19. Wang, L., Chena, S., Kong, W., Li, W. & Archbold, D. 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.