Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 47, No 4, Winter 2017 (641-653)
DOI: 10.22059/ijhs.2017.115864.688

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۴، زمستان ۱۳۹۵ (ص ۶۵۳-۶۴۱)

نقش براسینواستروئید روی ویژگی‌های بیوشیمیایی و کیفی میوۀ پرتقال واشنگتن ناول در دورۀ انبارداری

بهاره قربانی[۱]، زهرا پاک‌کیش[۲*] و مسعود خضری[۲]
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، پژوهشکدۀ باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/٤/۱)

چکیده

در این پژوهش به بررسی تأثیر براسینواستروئید بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و کیفی میوۀ پرتقال 'واشنگتن ناول' در دورۀ انبارداری پرداخته شد. بدین منظور، میوه‌های پرتقال با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینواستروئید تیمار و در دمای ۳±۱ درجۀ سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰-۸۵ درصد به مدت پنج ماه نگهداری شدند و ویژگی‌هایی مانند سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها، پراکسید هیدروژن، مواد جامد محلول، اسیدهای آلی، pH، اسیدآسکوربیک و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) پراکسیداز و کاتالاز در دورۀ انبارداری ارزیابی شدند. نتایج نشان داد، کاربرد براسینواستروئید نسبت به شاهد، به‌طور معنی‌داری آسیب سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن را کاهش داد. بنا بر این نتایج، مواد جامد محلول کل، pH و اسیدآسکوربیک میوه‌های تیمارشده و شاهد در دورۀ انبارداری روند افزایشی و میزان اسیدهای آلی روند کاهشی داشتند، اما استفاده از تیمار براسینواستروئید، تغییرپذیری دو روند یادشده را نسبت به شاهد کمتر تغییر داد. همچنین فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید نسبت به شاهد، بسیار افزایش یافت. بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، میوه‌های تیمارشده با ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینواستروئید، بالاترین کیفیت و بیشترین فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی با کمترین آسیب سرمازدگی را داشتند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های پاداکسندگی، انبارداری، براسینواستروئید، پرتقال، ویژگی‌های کیفی.

Role of brassinosteroid on biochemical and qualitative characteristics of 'Washington Navel' orange fruit during storage

Bahareh Ghorbani[1], Zahra Pakkish[2*] and Masoud Khezri[2]
1, 2. M. Sc. Student and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
(Received: Feb. 17, 2015 - Accepted: Jun. 22, 2015)

ABSTRACT

Orange fruits were treated with 0 (control), 0.75 and 1.5 mgL^{-1} brassinosteroid for 5 Min and then stored at 3±1°C and 85-90 % relative humidity for 5 month. Characteristics of chilling injury, ion leakage, lipid peroxidation, hydrogen peroxide, total soluble solids, titratable acidity, pH, ascorbic acid, and activity of antioxidant enzymes (peroxidase and catalase) have been evaluated. Results showed that fruits treated with brassinosteroid significantly reduced the chilling injury, ion leakage, lipid peroxidation and hydrogen peroxide, compared to control. According this results, total soluble solids, pH, and ascorbic acid, of treated and control fruits increased during storage while titratable acidity of fruits decreased. The pattern of mentioned changes reduced in brassinosteroid treatments lower than to control. The activity of antioxidant enzymes of fruits treated with brassinosteroid highly increased compared to control during storage. Fruits treated with 1.5 mgL^{-1} brassinosteroid showed highest quality and activity of antioxidant enzymes, with lowest chilling injury.

Keywords: Antioxidant enzyme, brassinosteroid, orange, qualitative characteristics storage.

Corresponding author E-mail: zpakkish@yahoo.com Tel: +98 913 2424952

مقدمه

پرتقال (*Citrus sinensis* L.) یکی از بهترین محصولات کشاورزی است. میوهٔ پرتقال حاوی املاح و سرشار از ویتامین‌های بسیار زیادی است که جنبهٔ دارویی و غذایی دارد (Chang, 1992) و تولید آن نیز در ایران بیشینهٔ تاریخی و درازمدتی دارد (Fotouhi Ghazvini & Fattahi-Moghadam, 2003). در بین مهم‌ترین محصولات باغبانی ایران، می‌توان به انار، انجیر، خرما، پسته، سیب، زردآلو و پرتقال اشاره کرد که ایران در بین کشورهای تولیدکنندهٔ پرتقال مقام هشتم را دارد و این جایگاه خوبی در میان کشورهای تولیدکنندهٔ مرکبات است (FAO, 2014). شرایط اقلیمی متنوع ایران موجب شده است که تنوع بسیاری زیادی در گونه‌ها و رقم‌های درختان میوه وجود داشته باشد و میوه‌های تولیدشده کیفیت مناسبی دارند (Fotouhi Ghazvini & Fattahi-Moghadam, 2003). پرتقال واشنگتن ناول، به‌عنوان زودرس‌ترین رقم پرتقال وارد بازار مصرف می‌شود و چون محصول نوبرانهٔ پرتقال است، باغداران بیشتر گرایش به کشت و کار این رقم نشان می‌دهند. افزایش عمر انباری به‌منظور افزایش بازارپسندی این رقم اهمیت زیادی دارد. بنابراین، شرایط پیش از برداشت و بهینه کردن شرایط پس از برداشت، تأثیر معنی‌داری روی کیفیت میوه خواهد داشت (Fotouhi-Ghazvini & Fattahi-Moghadam, 2003). بر پایهٔ تحقیقات انجام‌شده روی فرآورده‌های برداشته‌شدهٔ باغبانی، آسیب سرمازدگی همراه با نشت یون و پراکسیداسیون لیپیدها است. چراکه هنگامی‌که که یاختهٔ زنده تحت تنش دمای پایین قرار می‌گیرد، گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌شوند. اصلی‌ترین علت اثرگذاری تخریبی و زیانبار گونه‌های اکسیژن فعال، توانایی آن‌ها برای آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای خوداکسایشی (اتواکسیداتیو) اسیدهای چرب غیراشباع است که منجر به پر اکسیداسیون لیپیدها و تخریب غشاء می‌شود. پر اکسیداسیون لیپیدها یک فرآیند سوخت‌وسازی (متابولیکی) طبیعی در شرایط عادی است و یکی از مهم‌ترین پیامدهای عمل گونه‌های اکسیژن فعال روی ساختار و عمل غشاء است (Zhang & Kirkham, 1996). در فرآیند تنش سرما، آسیب‌هایی به یاخته وارد می‌شود که به‌صورت ناهنجاری‌هایی روی سطح گیاه یا فرآورده، مشخص می‌شوند، به‌عنوان مثال وجود نقاط قهوه‌ای و فرورفته روی سطح پوست بسیاری از فرآورده‌های باغبانی که در انبار با دمای پایین نگهداری می‌شوند که این نابسامانی‌های ظاهری به دلیل افزایش اکسیدان‌هایی مانند پراکسید هیدروژن و نشت یون ایجاد می‌شوند (Basiouny, 1996; Zhang & Tian, 2010). پراکسید هیدروژن برای یاخته‌های گیاهی به‌ویژه اندامک کلروپلاست آن‌ها بسیار سمی است. زیرا در غلظت‌های خیلی پایین، باعث جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های چرخهٔ کلوین به‌ویژه آنزیم‌های دارای گروه سولفیدریل مانند گلیسرآلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز و فروکتوز ۱و ۶ بیس فسفاتاز می‌شود. بنابراین، حذف پراکسید هیدروژن برای جلوگیری از آسیب‌های یاخته‌ای و نشت یون، ضروری است. آنزیم‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) مانند کاتالاز و پراکسیداز، با تجزیهٔ گونه‌های فعال اکسیژن یا آن‌ها را از بین می‌برند یا به ترکیب‌های سودمندی مانند آب تبدیل می‌کنند که این تغییرها باعث کاهش تأثیر زیانبار گونه‌های فعال اکسیژن روی غشای یاخته‌ها می‌شوند (Zhang *et al*., 2010). تاکنون تحقیقات زیادی درزمینهٔ افزایش عمر انبارمانی میوهٔ پرتقال مانند استفاده از تیمارهای فیزیکی مانند پرتوی فرابنفش (UV) و تیمار آب گرم (Odriozola-Serrano *et al*., 2003; Schirra *et al*., 1997; Slaughter *et al*., 2008)، اتمسفر کنترل‌شده (Manners *et al*., 2003)، شرایط دمایی (Obenland *et al*., 2012) و تیمارهای شیمیایی و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (Schirra *et al*., 2005; Montesinos-Herrero *et al*., 2010; Skog & Chu, 2001) انجام گرفته است.

براسینواستروئیدها ششمین گروه از هورمون‌های گیاهی هستند که پس از اکسین، جیبرلین، سایتوکینین، اتیلن و آبسزیک اسید در سال ۱۹۷۰ از دانهٔ گردهٔ گیاه *Brassica napus* استخراج شدند. در سال ۱۹۷۹ مشخص شد، استروئیدها در گیاهان نیز عملکرد هورمونی دارند (Obenland *et al*., 2012). براسینواستروئیدها اثرگذاری‌های فیزیولوژیکی مختلف

در رشد و نمو گیاهان دارند و بر تعادل دیگر هورمون‌های گیاهی، فعالیت آنزیم‌ها، تحریک ساخت (سنتز) پروتئین، افزایش نورساخت (فتوسنتز) و انتقال مواد تأثیر دارند. اثرگذاری‌های براسینواستروئیدها در سطح گیاه شامل تقویت رشد، تقسیم یاخته‌ای و بزرگ شدن یاخته، افزایش باروری، افزایش شمار، اندازه و کیفیت میوه، افزایش محصول و بذر و افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی هستند. افزون بر این براسینواستروئیدها بر ویژگی‌های الکتریکی، نفوذپذیری ساختار غشاء پایداری و فعالیت آنزیم‌های غشاء اثر می‌گذارند، همچنین براسینواستروئیدها در سطح مولکولی موجب تغییر بیان ژن، سوخت‌وساز (متابولیسم) و زیست‌ساخت (بیوسنتز) اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌شوند (Clous & Sasse, 1998). کاربرد خارجی اپی‌براسینواستروئید سبب افزایش زیست‌تودهٔ (بیومس) گیاهان در شرایط شوری و غیر شوری می‌شود (Shahbaz & Ashraf, 2007). پرتوی فرابنفش موجب کاهش میزان سبزینه (کلروفیل) و کاروتنوئیدها در گیاهان بوده، ولی در گیاهان تیمارشده با اپی‌براسینواستروئید با غلظت کمتر از ۵ درصد از کاهش آن جلوگیری می‌شود (Enteshari *et al*., 2006). تیمار گیاهان با اپی‌براسینواستروئید نشان داد، فعالیت پر اکسیداز و ترکیب‌های فنولیکی را در گیاه افزایش می‌دهد. افزون بر این براسینواستروئیدها موجب افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی، افزایش میزان و کیفیت محصول می‌شوند (Khripach *et al*., 1998). براسینواستروئیدها در کاهش آسیب سرمازدگی نقش بسیار مهمی دارند (Montesinos-Herrero & Palou, 2010; Xia *et al*., 2009). تاکنون کاربرد خارجی براسینواستروئیدها به‌منظور افزایش عمر انبارمانی محصولات باغبانی مانند گوجه‌فرنگی (Aghdam *et al*., 2012)، توت‌فرنگی (Pipattanawong *et al*., 1996)، خیار (Xia *et al*., 2009) و عناب (Zhu *et al*., 2010) بررسی شده است.

در این پژوهش به بررسی تأثیر براسینواستروئید بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و کیفی میوهٔ پرتقال واشنگتن ناول در دورهٔ انبارداری پرداخته شد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر براسینواستروئید بر کاهش سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش میزان پراکسید هیدروژن همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی و برخی تغییرپذیری‌های کیفی و بیوشیمیایی این محصول در دورهٔ انبارداری بوده است.

مواد و روش‌ها

میوه‌های پرتقال رقم 'واشنگتن ناول' که روی پایهٔ نارنج پیوند زده شده بودند و بیست سال سن داشتند، از اطراف درخت به‌طور تصادفی از یک باغ تجاری واقع در جنوب استان کرمان، شهرستان جیرفت در نیمهٔ نخست اسفند سال ۱۳۹۱ هنگامی‌که میزان مواد جامد محلول کل آن‌ها به ۷ تا ۱۰ درصد رسید، برداشت شدند و سپس میوه‌ها به‌سرعت به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه مهندسی علوم باغبانی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شدند. به‌منظور اعمال تیمارها، میوه‌های سالم، یکنواخت و بدون هر نوع عامل بیماریزا انتخاب شدند و با آب معمولی به‌طور کامل شسته تا همهٔ مواد زائدی که به سطح میوه چسبیده بودند، از آن جدا شوند. سپس میوه‌ها با آب ۳۵ درجهٔ سلسیوس شسته شدند تا از هر نوع عامل بیماریزایی سطحی تمیز شوند. در نهایت میوه‌ها به‌طور کامل خشک و با براسینواستروئید تیمار شدند. برای اعمال تیمار از غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی-گرم بر لیتر و آب مقطر (شاهد) به مدت پنج دقیقه با روش غوطه‌ور کردن، استفاده شد. پس از اعمال تیمار میوه‌ها در سبدهایی قرار داده شده تا به‌طور کامل خشک شدند. پس از خشک شدن، به سردخانه با دمای ۳±۱ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ±۹۰ درصد به مدت پنج ماه قرار داده شدند. پس‌ازآن نیز در فاصلهٔ زمانی هر سی روز یک‌بار، صفات زیر ارزیابی شدند.

صفات اندازه‌گیری‌شده

سرمازدگی

ارزیابی میزان سرمازدگی در دورهٔ پنج ماههٔ نگهداری میوه‌ها در دمای پایین صورت گرفت و درصد آسیب سرمازدگی بدین‌صورت محاسبه شد (Nilprapruck *et al*., 2008):

= آسیب سرمازدگی (٪)

(شمار میوهٔ سرمازده - شمار کل میوه در هر تکرار) / شمار کل میوه در هر تکرار ×۱۰۰

نشت یون

به‌منظور اندازه‌گیری نشت یون هدایت الکتریکی (EC)[1] محلول حاوی نمونه‌ها توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی (EC متر) سنجیده شده که درواقع (EC_1) نمونه‌ها به دست آمد. سپس نمونه‌ها را به مدت بیست دقیقه در آون در دمای ۱۲۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده، پس از سرد شدن نمونه‌ها برای بار دوم هدایت الکتریکی (EC_2) محلول حاوی برش‌های جوانه سنجیده شد (Sairam *et al*.,1997). برای به دست آوردن میزان نشت یون از رابطهٔ زیر استفاده شد:

$$EL = EC_1 / EC_2 \times 100$$

پراکسیداسیون لیپید غشاء

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون‌دی آلدئید به‌دست‌آمده از این واکنش به روش Heath & Packer (1969) اندازه‌گیری شد. برای محاسبهٔ غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ و رابطهٔ زیر استفاده شد:

$$A= €BC$$

که در این رابطه: A جذب خوانده‌شده، € ضریب خاموشی، B عرض کووت و C غلظت کمپلکس برحسب میلی‌مولار است.

پراکسید هیدروژن: برای سنجش پراکسید هیدروژن ۰/۱ گرم از بافت گیاهی را با ۳ میلی‌لیتر تری‌کلروراستیک اسید در حمام یخ مخلوط، آنگاه در ۱۲۰۰۰ دور به مدت پانزده دقیقه سانتریفیوژ کرده و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصارهٔ به‌دست‌آمده با ۰/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH=7 و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم (KI) ۱ مولار مخلوط و سپس شدت جذب هر نمونه در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد (Velikova *et al*., 2000).

اسیدهای آلی

برای اندازه‌گیری اسیدهای قابل عیارسنجی (تیتراسیون)، ۱۰ میلی‌لیتر از عصارهٔ میوه با ۲۰ تا ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و آنگاه به محلول بالا چند قطره فنول فتالئین ۱ درصد اضافه شد. در نهایت عمل سنجش عیار (حجمی) توسط هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH=7 انجام شد (Burdurlu, 2006).

اسیدیته

برای تعیین اسیدیتهٔ آب‌میوه از عصارهٔ صاف شدهٔ میوه و با استفاده از دستگاه pH متر در دمای ۲۰ درجهٔ سلسیوس اندازه‌گیری انجام گرفت.

اسید آسکوربیک

برای اندازه‌گیری اسید آسکوربیک، ۱/۲۶۹ گرم ید را با ۱۶/۶ گرم یدید پتاسیم در آب مقطر مخلوط کرده و حجم آن به ۱ لیتر رسانده شد. در این مخلوط، نرمالیتهٔ ید ۰/۰۱ نرمال است، اما پیش از آزمایش باید عامل آن اندازه‌گیری شود. برای این منظور مخلوط حاضرشده را یک الی دو روز نگهداری کرده، آنگاه ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط بالا را در یک ظرف دیگر ریخته، روی آن ۲ میلی‌لیتر محلول نشاستهٔ ۱ درصد اضافه می‌کنند. این مخلوط را با محلول اسید آسکوربیک خالص عیارسنجی شد. به‌طوری‌که در نقطهٔ پایان محلول به رنگ خاکستری کم‌رنگ درآید. برای تهیهٔ محلول اسید آسکوربیک ۱۰۰ میلی‌لیتر پودر خالص آن را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. برای محاسبهٔ عامل مخلوط ید از رابطهٔ زیر استفاده شد (Burdurlu, 2006).

$$F = \frac{A}{B \times N \times 88.1}$$

F= عامل مخلوط ید، A= میزان اسید آسکوربیک خالص (میلی‌گرم)، B= میزان مخلوط ید مصرف‌شده (میلی‌گرم)، N= نرمالیتهٔ مخلوط ید

پس از تعیین عامل ید، ۱۰ میلی‌لیتر از عصارهٔ میوه را در یک ظرف ریخته و به آن ۲ میلی‌لیتر نشاستهٔ ۱ درصد اضافه می‌شود. سرانجام با استفاده از رابطهٔ زیر میزان اسید آسکوربیک در عصارهٔ میوه محاسبه می‌شود:

1. Electrical Conductivity

$$A = \frac{S \times N \times F \times 88.1}{10} \times 100$$

A= میزان اسید اسکوربیک در عصارهٔ میوه (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)، S= میزان محلول ید مصرف‌شده (میلی‌لیتر).

مواد جامد محلول کل

در این تحقیق اندازه‌گیری مواد جامد محلول توسط شکست‌سنج (رفراکتومتر) دستی (مدلMT-098P8A)، صورت گرفت.

آنزیم‌های پاداکسندگی پراکسیداز و کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم عصارهٔ پروتئین بدین گونه تهیه شد:

۱ گرم بافت گیاهی در هاون حاوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس-HCL ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ سائیده شد تا محلول همگنی به دست آید. پس از انتقال به لولهٔ سانتریفیوژ، به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس سانتریفیوژ شدند، سپس لوله‌ها به‌آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی را در لولهٔ آزمایش ریخته و عصارهٔ پروتئینی به دست آمد که برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز استفاده شد (Bradford, 1976).

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به معرف‌های زیر نیاز است:

۲ میلی‌لیتر بافر تریس ۱۰۰میلی‌مولار (pH=۷/۵)، ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنهٔ ۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار که همگی آن‌ها را در حمام یخ با هم مخلوط کرده و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه کرده و منحنی تغییرپذیری جذب در طول‌موج ۴۲۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) خوانده شد (Kochba *et al*.,1977).

آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت کاتالاز بر پایهٔ کاهش جذب آب اکسیژنه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (Dhindsa *et al*., 1981). میزان فعالیت آنزیم بر پایهٔ غلظت آب اکسیژنهٔ تجزیه‌شده، محاسبه شد، لذا غلظت آب اکسیژنهٔ مصرف‌شده با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

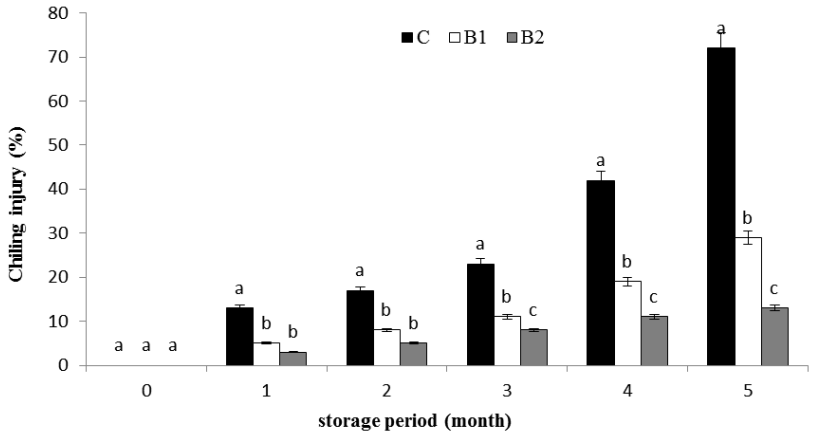
تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار و در سه تکرار انجام گرفت. در هر تکرار و در هر زمان، ده عدد میوه استفاده شد. تجزیهٔ آماری و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن به کمک نرم‌افزار SAS (Ver. 9.1) انجام گرفت و برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

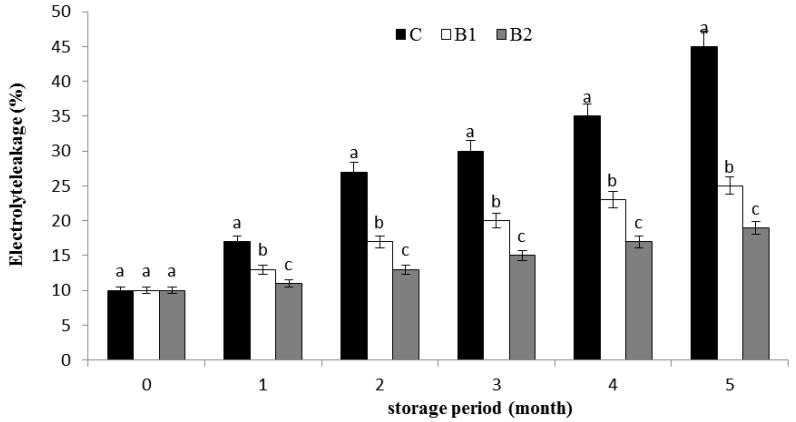
آسیب سرمازدگی و نشت یون

بنابر نتایج به‌دست‌آمده، قهوه‌ای شدن پوست میوه‌ها و نشت یون در دورهٔ انبارداری افزایش یافت و تیمار براسینواستروئید به‌طور معنی‌داری آسیب سرمازدگی و نشت یون را کاهش داد (شکل‌های ۱ و ۲). به‌طوری‌که، آسیب سرمازدگی و نشت یون همراه با افزایش غلظت براسینواستروئید، کاهش یافت. بنا بر این نتایج، کمترین میزان آسیب سرمازدگی و نشت یون میوه، مربوط به بالاترین غلظت براسینواستروئید به ترتیب (۲۰ و ۱۷ درصد) بود. تحقیقات نشان داده است، میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید، در فرآیند اعمال تنش سرما، یاخته را بهتر حفظ و از زیان‌ها و آسیب‌های ناشی از تنش جلوگیری می‌کنند. زیرا براسینواستروئید باعث فعال شدن ساخت‌وسازهای پاداکسندگی در یاخته شده و از اثرگذاری منفی رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و بدین ترتیب غشاء را حفظ می‌کنند و از اثرگذاری‌های زیانبار تنش سرما و نشت یون، جلوگیری می‌کند (Aghdam *et al*., 2012). حفظ غشاء یاخته و کاهش آسیب‌های ناشی از سرمازدگی در دورهٔ انبارداری، تحت تأثیر براسینواستروئید در شماری از میوه‌ها از جمله عناب با غلظت ۰/۰۵-۰/۰۷۵میلی‌گرم بر لیتر (Zhu *et al*., 2010)، خیار ۱ تا ۳ میکرومول (Xia *et al*., 2009)، ذرت ۰/۰۱- ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر (Zhang *et al*., 2010) و گوجه‌فرنگی با غلظت ۶ میکرومول (Aghdam *et al*., 2012) گزارش شده است. همچنین در پژوهشی دیگر، تیمار گیاه توت‌فرنگی با براسینواستروئید، عملکرد و مقاومت به سرما و بیماری‌ها را افزایش داد (Pipattanawong *et al*., 1996).



شکل ۱. تأثیر تیمار براسینواستروئید بر آسیب سرمازدگی (٪) میوۀ پرتقال 'واشنگتن ناول' در دورۀ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 1. Effect of brassinosteroid treatment on chilling injury (%) of 'Washington Navel' orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL^{-1}; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} For each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).



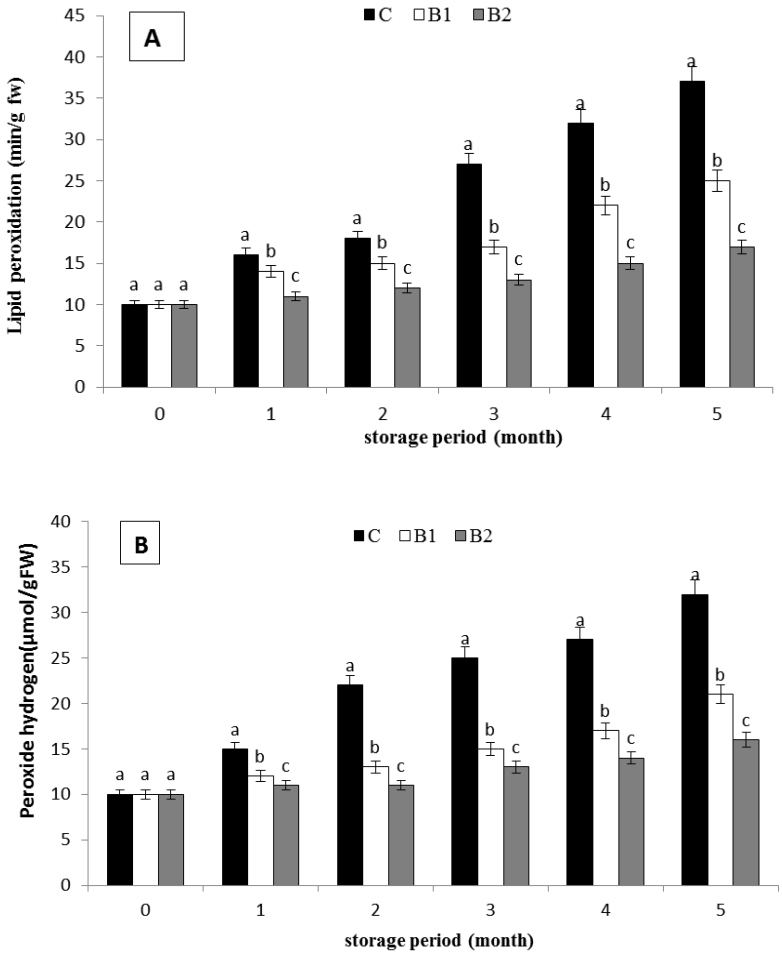
شکل ۲. تأثیر تیمار براسینواستروئید بر نشت یون (٪) میوۀ پرتقال 'واشنگتن ناول' در دورۀ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 2. Effect of brassinosteroid treatment on electrolyte leakage (%) of 'Washington Navel' orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL^{-1}; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} For each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و میزان پراکسید هیدروژن

در دورۀ انبارداری میوۀ پرتقال واشنگتن ناول میزان پر اکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن در میوه‌های تیمارشده و شاهد روند افزایشی داشت و بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن در میوه‌های شاهد مشاهده شد. به‌طوری‌که میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید، میزان پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن کمتری را نشان دادند. میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر کمترین پر اکسیداسیون لیپیدها (۱۸۳۷/۱۵میلی‌مول بر گرم وزن تر) و پراکسید هیدروژن (۱۷/۲۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) را نشان دادند که در مقایسه با تیمار شاهد (۳۷/۸۹ میلی‌مول بر گرم وزن تر پر اکسیداسیون لیپیدها و ۳۴/۶۹ میکروگرم بر گرم وزن تر پر اکسید هیدروژن) تفاوت معنی‌داری وجود داشت و تیمار براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با شاهد مؤثرترین تیمار،

برای کاهش پر اکسیداسیون لیپیدها و ساخت پر اکسید هیدروژن بوده است (شکل ۳). افزایش در نشت کلی یون‌ها به‌ویژه پتاسیم باعث ایجاد حساسیت‌های سرمایی در بافت پینهٔ (کالوس) گریپ‌فروت (Forney & Peterson, 1990) و در مرکبات شده است (Shahbaz & Ashraf, 2007). انبارداری در دمای کم به‌طورکلی، برای کاهش زوال در میوه‌های مرکبات استفاده شده است، اما میوه‌های مرکبات حساس به سرما شده و ممکن است توسط دمای پایین آسیب ببینند (Purvis, 1985). براسینواستروئید به‌طور شایان‌توجهی میزان نشت یون را کاهش دادند. پژوهش‌های پیشین نیز نقش مثبت براسینواستروئید روی کاهش نشت یون را طی تنش بررسی کرده‌اند و نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق را تأیید می‌کنند (Zhu *et al.*, 2010). افزایش نشانه‌های سرمازدگی به دلیل تنش اکسیداتیو و گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شود که پراکسیده شدن و از بین بردن اسیدهای چرب غیراشباع در لیپیدهای غشا را تحریک می‌کنند (Cao & Zheng, 2008). در این تحقیق، کاربرد براسینواستروئید با جلوگیری از تولید پر اکسید هیدروژن، میزان پر اکسیداسیون چربی‌های غشاء را کاهش داده که با نتایج پیشین همخوانی دارد (Zhang *et al.*, 2010).

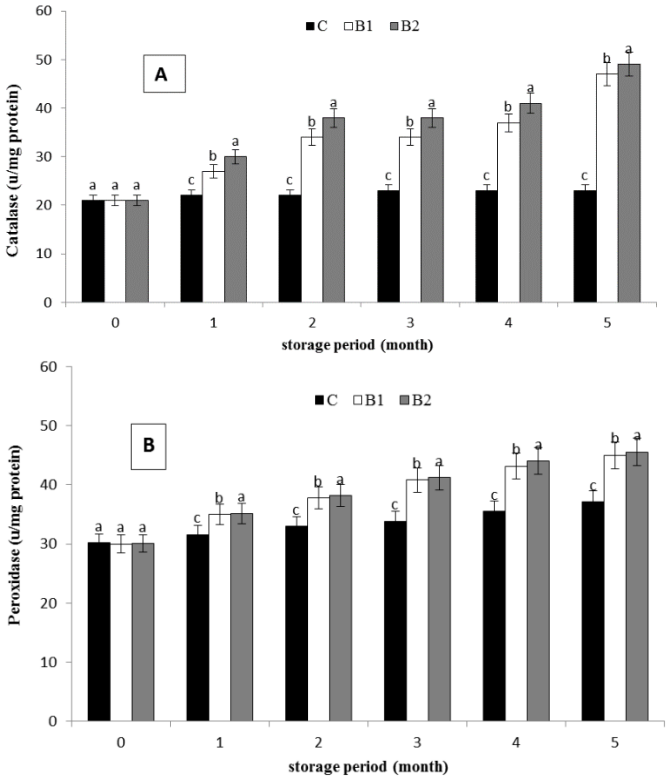


شکل ۳. تأثیر تیمار براسینواستروئید A: بر پراکسیداسیون لیپیدها (Mg/gFW) و B: پراکسید هیدروژن (µmol/gFW) میوهٔ 'واشنگتن ناول' ناول در دورهٔ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 3. Effect of brassinosteroid A: treatment on lipid peroxidation (Mg/gFW) and B: hydrogen peroxide (µmol/gFW) of 'Washington Navel' orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL^{-1}; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} For each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی

بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در میوه‌های شاهد و تیمارشده در دورهٔ انبارداری افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید به‌ویژه غلظت بالاتر براسینواستروئید (۱/۵میلی‌گرم بر لیتر) و کمترین میزان در میوه‌های شاهد دیده شد (شکل ۴). بنابر تحقیقات انجام‌شده، فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در شرایط مختلف تنش به‌ویژه تنش سرما افزایش می‌یابد (Forney & Peterson, 1990; Pantastico *et al*., 1968). زیرا آنزیم‌های پاداکسندگی با ویژگی پاداکسندگی خود، باعث حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن شده و از تخریب غشاء یاخته، نشت یون و پر اکسیداسیون لیپیدهای غشا به‌طور معنی‌دار جلوگیری می‌کنند و براسینواستروئیدها در فرآیند تنش باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند (Zhang *et al*., 2010). بنابراین، این یافته‌ها نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش را تأیید می‌کنند.



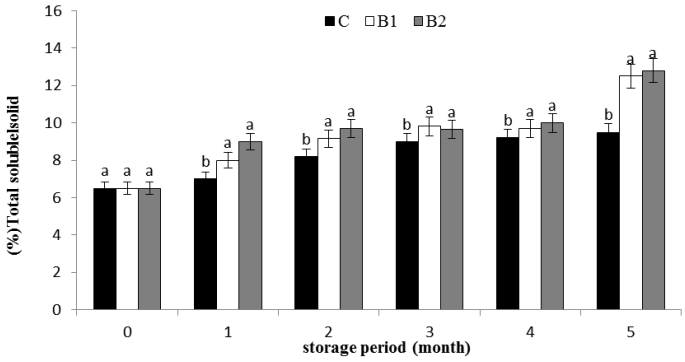
شکل۴. تأثیر تیمار براسینواستروئید A: بر میزان فعالیت کاتالاز و B: آنزیم پراکسیداز (U/mg protein) میوهٔ پرتقال ’واشنگتن ناول‘ در دورهٔ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 4. Effect of brassinosteroid A: treatment on catalase and B: peroxidase (U/mg protein) of ‘Washington Navel’ orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL^{-1}; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} for each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

مواد جامد محلول کل

در دورهٔ پنج ماههٔ انبارداری مواد جامد محلول در میوه‌های تیمارشده و شاهد افزایش یافت، به‌طوری‌که در بررسی‌های متوالی هر ماه میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین و میوه‌های شاهد کمترین درصد میزان مواد جامد محلول را داشتند (شکل۵). این ترکیب‌ها روند تغییرپذیری مواد جامد محلول را به دلیل کند شدن فرآیند رسیدن میوه و کاهش تنفس تعدیل می‌کنند (Serrano *et al*., 2003) و به دلیل کاهش آب‌میوه غلظت مواد جامد محلول در دورهٔ انبارداری افزایش می‌یابد (Kelebek *et al*., 2009; Zokae-Khosroshahi *et al*.,

(2007; Cioroi, 2007) و بدون تردید تیمار براسینواستروئید نیز با کاهش سرعت تنفس و فرآیند پیری، الگوی تغییر مواد جامد محلول را متعادل‌تر و افزایش داده است (Aghdam *et al*., 2012).

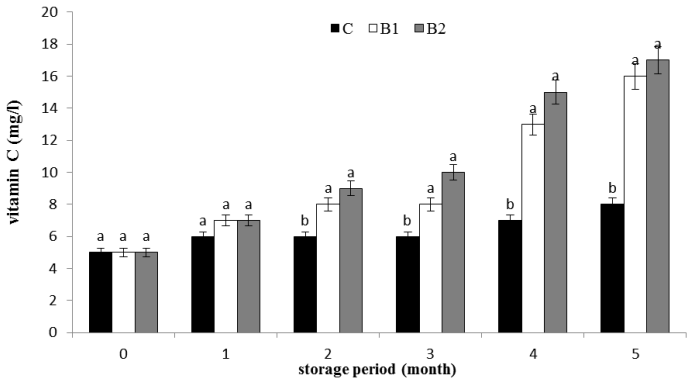


شکل ۵. تأثیر تیمار براسینواستروئید بر مواد جامد محلول (٪) میوهٔ پرتقال 'واشنگتن ناول' در دورهٔ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 5. Effect of brassinosteroid treatment on total soluble solids (%) of 'Washington Navel' orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL^{-1}; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} For each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

اسید آسکوربیک، اسید قابل عیارسنجی و pH

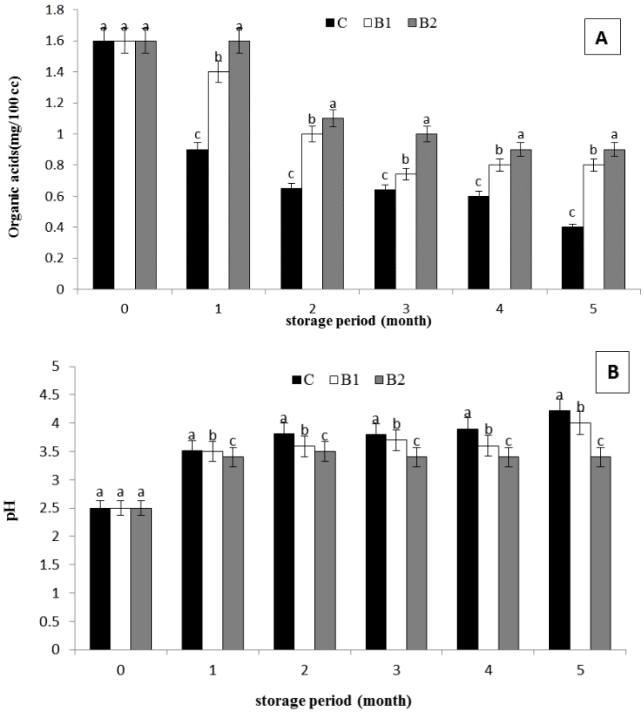
در این پژوهش روند افزایشی در میزان اسید اسکوربیک و pH و روند کاهشی اسیدهای آلی میوه (شکل‌های ۶ و ۷) در همهٔ میوه‌های تیمارشده و شاهد در طی دورهٔ انبارداری مشاهده شد، میزان اسید آسکوربیک در انتهای دورهٔ انبارداری افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان ویتامینC در میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید ۱/۵میلی‌گرم بر لیتر و کمترین آن در میوه‌های شاهد دیده شد (شکل ۶). روند تغییرپذیری اسیدیته به‌طور دقیق برعکس الگوی تغییر اسیدهای آلی بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان pH در میوه‌های شاهد و کمترین آن در میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید ۱/۵میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد (شکل ۷). میزان اسیدهای آلی در پایان دورهٔ انبارداری کاهش یافت. ولی بیشترین میزان اسیدهای آلی در میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید ۱/۵میلی‌گرم بر لیتر و کمترین آن در میوه‌های شاهد دیده شد (شکل ۷).



شکل ۶. تأثیر تیمار براسینواستروئید روی میزان اسید آسکوربیک (ویتامین C) (mg/100ml) میوهٔ پرتقال واشنگتن ناول در دورهٔ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 6. Effect of brassinosteroid treatment on ascorbic acid (vitamin C) content (mg/100 ml) of 'Washington Navel' orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL^{-1}; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} For each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

اسید آسکوربیک از جمله پاداکسنده‌های غیر آنزیمی است که در شرایط تنش در یاخته‌های زنده ساخته می‌شود (Villiers *et al*., 2005). کاهش برخی از مواد غذایی مانند اسیدآسکوربیک یک عامل بحرانی در عمر انبارداری در بعضی محصولات مانند آب‌میوهٔ مرکبات است (Burdurlu *et al*., 2006). ازآنجایی‌که نقش براسینواستروئیدها در افزایش مقاومت یاخته‌های زنده به انواع تنش‌ها به دلیل افزایش فعالیت پاداکسندگی آن‌هاست (Xia *et al*., 2009; Zhu *et al*., 2010). بنابراین، نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش با تحقیقات انجام‌شده روی محصولات باغبانی مانند گوجه‌فرنگی (Aghdam *et al*., 2012)، توت‌فرنگی (Pipattanawong *et al*., 1996) و عناب (Zhu *et al*., 2010) همخوانی دارد. روند تغییرپذیری اسیدهای آلی در این تحقیق گویای کاهش میزان این اسیدها در دورهٔ انبارداری بود. به‌گونه‌ای که در همهٔ تیمارها و شاهد با افزایش طول دورهٔ انبارداری، میزان اسیدهای آلی نیز کاهش پیدا کرد. مقایسهٔ بین تیمارها در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری مشخص کرد، در بین تیمارهای به‌کاررفته، بیشترین میزان اسیدهای آلی در طول دورهٔ انبارداری متعلق به تیمار براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بوده است (شکل ۷). نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری pH آب پرتقال‌های مورد تیمار در این تحقیق، از نظر شرایط آماری به‌طورکلی عکس روند تغییر اسیدهای آلی بود (شکل۷). اسیدیته در میوه‌های پرتقال در نتیجهٔ اسیدهای گوناگون مانند اسیدسیتریک، اسید مالیک، بنزوئیک اسید، تارتاریک اسید و اگزالیک اسید است. اسیدسیتریک به‌عنوان اسید غالب در میوهٔ پرتقال است (Nour *et al*., 2010; Sha *et al*., 2012). در دورهٔ انبارداری، میزان اسیدهای آلی کاهش و اسیدیته افزایش می‌یابد و تیمار براسینواستروئید روند این تغییرپذیری‌ها را متعادل می‌کند. براسینواستروئید چون پیری و شدت تنفس میوه را در دورهٔ انبارداری کاهش می‌دهد، بنابراین به حفظ اسیدهای آلی در دورهٔ انبارداری کمک می‌کند که نتایج این تحقیق با یافته‌های پیشین همخوانی دارد (Aghdam *et al*., 2012; Sha *et al*., 2012).



شکل ۷. تأثیر تیمار براسینواستروئیدA: روی اسید قابل عیارسنجی (g/100ml) و B: pH میوهٔ پرتقال واشنگتن ناول در دورهٔ انبارداری. C: شاهد، B_1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B_2: براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 7. Effect of brassinosteroid A: treatment on titratable acidity (g/100 ml) and B: pH of ‘Washington Navel’ orange fruit during storage. C: control fruit; B1: brassinosteroid 0.75 mgL-1; B2: brassinosteroid 1.5 mgL^{-1} for each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

حساسیت به دمای پایین باعث محدود کردن عمر انبارمانی و کاهش کیفیت میوه‌ها می‌شود. تغییر در واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مختلف درون میوه به همراه رخداد نابسامانی‌های ظاهری از عامل‌های کاهش بازارپسندی در میوه‌ها در دمای پایین و در طول دورهٔ انبارداری هستند. امروزه استفاده از موادی مانند براسینواستروئید به‌منظور افزایش عمر انبارمانی میوه‌ها مورد توجه قرار گرفته است. بنا بر این تحقیق، کاربرد براسینواستروئید نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری آسیب سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن را کاهش داد. همچنین فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی میوه‌های تیمارشده با براسینواستروئید نسبت به شاهد، بسیار افزایش یافت. بنا بر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، میوه‌های تیمارشده با ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینواستروئید بالاترین کیفیت و بیشترین فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی با کمترین آسیب سرمازدگی را داشتند. تحقیقات نشان داده است که براسینواستروئیدها، از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن که باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و نشت یون می‌شوند، جلوگیری می‌کنند و به دنبال این تغییر کاهش آسیب سرمازدگی نیز کاهش می‌یابد. در تنش سرمازدگی، مرگ یاخته بر اثر افزایش رادیکال آزاد افزایش می‌یابد و افزون بر نقش براسینواستروئیدها در کاهش ناهنجاری‌های انباری، شواهد نشان داد که براسینواستروئیدها نقش مهمی در بهبود ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی فرآورده‌های باغبانی از دورهٔ انبارداری دارند. تیمار اعمال‌شده، آسیب سرمازدگی محصول مرکبات را به شدت تحت تأثیر قرار داده و کاهش می‌دهد، بنابراین بهبود عمر انبارمانی مرکبات به‌ویژه پرتقال نقش مهمی در سود اقتصادی باغداران دارد، بنابراین بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، استفاده از تیمار براسینواستروئید آسیب سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها را از دورهٔ انبارداری میوهٔ پرتقال کاهش داده است و میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی را افزایش داده است. به نظر می‌رسد که استفاده از تیمارهای براسینواستروئید به‌ویژه غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر آن می‌تواند نقش مهمی در کاهش آسیب سرمازدگی و بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی میوه در دورهٔ انبارداری ایفا کند و برای افزایش عمر انبارمانی فرآورده‌های باغبانی توصیه می‌شود.

REFERENCES

1. Aghdam, M. S., Asghari, M., Farmani, B., Mohayeji, M. & Moradbeygi, H. (2012). Impact of postharvest brassinosteroids treatment on PAL activity in tomato fruit in response to chilling stress. *Scientia Horticulturae*, 144, 116-120.
2. Basiouny, F. M. (1996). Blueberry fruit quality and storability influenced by postharvest application of polyamines and heat treatments. *Proccding Fland State Horticulturae Society*, 109, 269-272.
3. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
4. Burdurlu, H. S., Nuray, K. & Feryal, K. (2006).Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74, 211-216.
5. Cao, S. F. & Zheng, Y. H. (2008). Postharvest biology and handling of loquat fruit. *Stewart Postharvest Review*, 4, 1-5.
6. Cioroi, M. (2007).Study on L-ascorbic acid contents from exotic fruits. *Cercetari Agronomicin Moldova*, 1, 23-27.
7. Chang, K. (1992).The evaluation of Citrus demand and supply. In: Proceeding of *International Society Citric. Italy*, 3, 1153-1155.
8. Clous, S. D. & Sasse, M. (1998).Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual Physiology Reviews*, 49, 427- 451.
9. Dhindsa, R. S., Dhindsa, P. & Thorpe, A. T. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal Experimental Botany*, 32, 93-101.
10. Enteshari, S., Kalantari, K. & Ghorbani, M. (2006).The effect of epibrassinosteroid and different bands of cultra violent radiation on the pigments content in glycine max. *Pakistan Journal of Biological Science*, 9, 231-237.

11. FAO. (2014). Food and Agriculture Organization of the United Nations Website. in: http:// www.faosat.org.
12. Forney, C.F. & Peterson S.J. (1990).Chilling induced potassium leakage of cultured Citrus cells. *Physiology Plant*, 78, 193-196
13. Fotouhi-Ghazvini, R. & Fattahi Moghadam, J. (2003). Citrus growing in Iran. *The University of Guilan Press*.305p.(in Farsi)
14. Heath, R. L. & Packer, L. (1969).Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysiology,* 125, 189-198
15. Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A. & Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic composition and antioxidant capacity of orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91, 187-192.
16. Khripach, V., Zhabinskii, V. & Groot, A. D. (1998). Brassinosteroids: a new class of plant hormones. Academic Press. *United States of Amenca*. Pp. 460-469.
17. Kochba, J., Lavee, S. & Spiegel-Roy, P. (1977). Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic 'Shamouti' orange ovular callus lines. *Plant and Cell Physiology*, 18, 463-497.
18. Manners, G. D., Breksa, A. P., Schoch, T. K. & Hidalgo, M. B. (2003). Analysis of bitter limonoids in citrus juices by atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3709-3714.
19. Montesinos-Herrero, C. & Palou, L. (2010). Combination of physical and low-toxicity chemical postharvest treatments for the management of citrus fruit: a review. *Stewart Postharvest Review,* 1, 11-225.
20. Nour, V., Trandafir, I. & Ionica, M. E. (2010). HPLC organic acid analysis in different citrus juice under reversed phase conditions. *Note Botanical and Horticulturae Agrobotanic,* 38, 44-48.
21. Nilprapruck, P., Authanithee, F. & Keebjan, P. (2008). Effect of exogenous methyl jasmonate on chilling injury and quality of pineapple. *Silpakorn University Science and Techolog,* 2, 33-42.
22. Obenland, D., Collin, S., Sievert, J. & Arpaia, M. L. (2012). Impact of high-temperature forced-air heating of navel oranges on quality attributes, sensory parameters, and flavor volatiles. *HortScience*, 47, 386-390.
23. Odriozola-Serrano, I., Hernndez-Jover, T. & Martn-Belloso, O. (2007). Comparative evaluation of UV–HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chemistry*, 105, 1151-1158.
24. Pantastico, E. B., Soule, J. & Grierson, W. (1968). Chilling injury in tropical and subtropical fruits: II. limes and grapefruit. Proceeding of Tropical Region American Society. *Horticultural Science*, 12, 171-183.
25. Pipattanawong, N., Fujishige, N., Yamane, K. & Ogata, R. (1996). Effect of brassinosteroid on vegetative and reproductive growth in two day-neutral strawberries. *HortScience*, 65, 651-654.
26. Purvis, A. C. (1985). Relationship between chilling injury of grape fruit and moisture loss during storage. Amelioration by polyethylene shrink film. *Journal of American Society Horticultural Science*, 110, 385-388.
27. Sairam, R. K., Deshmukh, P.S. & Shukla, D.S. (1997). Tolerance to drought and temperature stress is relation to increased antioxidant enzyme activity in Wheat. *Journal of Agronomy Crop Science*, 178, 171-177
28. Schirra, M. & D'hallewin, G. (1997). Storage performance of Fortune mandarins following hot water dips. *Postharvest Biology and Technology*, 10, 229-238.
29. Schirra, M., Mulas, M., Fadda, A., Mignani, I. & Lurie, S. (2005). Chemical and quality traits of 'Olinda' and 'Campbell' oranges after heat treatment at 44 or 46-C for fruit fly disinfestations. *Lebenson. Wiss. Technol*ogy, 38,519-527.
30. Serrano, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F. & Valero, D. (2003). Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of four plum cultivar. *Postharvest Biology and Technology*, 30, 259-271.
31. Sha, S.F., Li, J.C. & Zhang, S.L. (2011). Change in the organic acid content and related metabolic enzyme activities in developing Xinping pear fruit. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 3560-3566.
32. Shahbaz, M. & Ashraf, M. (2007). Influence of exogenous application of brassinosteroid on growth and mineral nutrients of wheat under saline conditions. *Plant Physiology*, 143, 513-522.
33. Skog, L. J. & Chu, C. L. (2001). Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. *Canadian Journal of Plant Science*, 81, 773-778.
34. Slaughter, D. C., Obenland, D. M., Thompson, J. F., Arpaia, M. L. & Margosan, D. A. (2008). Non-destructive freeze damage detection in oranges using machine vision and ultraviolet fluorescence. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 341-346.

35. Velikova, V., Yordanov, I. & Edreva, A. (2000). Oxidaive stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66.
36. Villiers, F., Jourdain, A., Bastien, O., Leonhardt, N., Fujioka, S., Tichtincky, G., Parcy, F., Bourguignon, J. & Hugouvieux, V. (2012). Evidence for functional interaction between brassinosteroids and cadmium response in *Arabidopsis thaliana*. *Journal Exprimental Botany*, 10, 335-346.
37. Xia, X. J., Wang, Y. J., Zhou, Y. H., Tao, Y., Mao, W. H., Shi, K., Asami, T., Chen, Z. & Yu, J. Q. (2009). Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiology*, 150, 801-814.
38. Zhang, J. & Kirkham, M. B. (1996). Enzymatic responses of the ascorbate-glutathione cycle to drought in sorghum and sunflower. *Plant Science*, 113, 139-147
39. Zhang, C. F. & Tian, S. P. (2010). Peach fruit acquired tolerance to low temperature stress by accumulation of linolenic acid and N-acylphosphatidylethanolamine in plasma membrane. *Food Chemistry*, 120, 864–872.
40. Zhang, A., Zhang, J., Ye, N., Cao, J., Tan, M., Zhang, J. & Jiang, M. (2010). ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated self-propagation of apoplastic H2O2 in brassinosteroid-induced antioxidant defense in leaves of maize. *Journal of Experimental Botany*, 61, 4399-4411.
41. Zhu, Z., Zhang, Z., Qin, G. & Tian, S. P. (2010). Effects of brassinosteroids on postharvest disease and senescence of jujube fruit in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 56, 50-55.
42. Zokaee-Khosroshahi, M. R. & Esna-Ashari, M. (2007). Postharvest putresciene treatments extend the storage- life of apricot (*Prunus armeniaca* L.) Etokhm–Sefid, fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82, 986-990.
43. Zokae-khosroshahi, M. R., Esna-Ashari, M. & Ershadi, A. (2007). Effect of exogenous puterscine on post-harvest life of strawberry (*Fragari ananassa* Duch) fruit, cultivare selva. *Scientia Horticulturae*, 114, 27-32.