

تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های کیفی و بهبود

رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار

افسانه الهویرن^۱، علیرضا فرخزاد^{۲*} و محمدرضا اصغری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*۲- نویسنده مسئول: استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه (a.farokhzad@urmia.ac.ir)

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۷

چکیده

در آزمایش حاضر اثر محلول پاشی با غلظت‌های ۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک، در طول فصل تابستان بر برخی خصوصیات کیفی و بهبود رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار (هر تکرار شامل یک درخت) انجام شد. نتایج نشان داد محلول پاشی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک به طور معنی‌داری میزان مواد جامد محلول کل میوه و آنتوسیانین را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. میزان اسیدینه قابل تیتراسیون (TA)، ویتامین ث، آنتی‌اکسیدان کل، فلاونوئیدهای کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) با افزایش غلظت اسید آسکوربیک افزایش معنی‌داری داشت ولی pH آب میوه به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. نتایج نشان داد محلول پاشی با اسید آسکوربیک احتمالاً به دلیل افزایش میزان مواد جامد محلول به عنوان سوبسترای اصلی در مسیر ساخت آنتوسیانین و افزایش میزان فعالیت آنزیم PAL به عنوان کلیدی‌ترین آنزیم درگیر در مسیر ساخت فلاونوئیدها از جمله آنتوسیانین، باعث بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار می‌گردد.

کلید واژه‌ها: آنزیم، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، کیفیت، میوه سیب.

مقدمه

اسید آسکوربیک، از جمله ترکیباتی هستند که در جهت بهبود رشد رویشی و بالا بردن کمیت و کیفیت میوه استفاده می‌شوند (Shazly et al., 2013). اسید آسکوربیک از جمله مواد طبیعی می‌باشد که در تولید محصولات ارگانیک حائز اهمیت ویژه می‌باشد. اسید آسکوربیک کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های هیدروکسی لازم می‌باشد (Elade, 1992). در حضور اسید آسکوربیک فعالیت چرخه گلوکوتانیون-آسکوربات و کاتالاز افزایش یافته و سیستم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو تقویت می‌شود (Dixit et al., 2001). اسید آسکوربیک موجب تحریک تقسیم

سیب (*Malus domestica* L.) از خانواده گلسرخیان^۱ و از مهم‌ترین میوه‌های مناطق معتدله می‌باشد (Ahmadi-Afzadi, 2012). یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که در حال حاضر در امر تولید سیب وجود دارد، کیفیت پایین میوه‌های تولیدی در اثر استفاده از ارقام قدیمی، مدیریت ناصحیح باغات و عدم استفاده از ترکیبات مغذی و ارگانیک جهت بهبود کیفیت میوه‌ها می‌باشد. در میان انواع تیمارهای مورد استفاده جهت بهبود خصوصیات مطلوب میوه، آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه

درحالی‌که میزان اسیدهای آلی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش و در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت (Shazly *et al.*, 2013). Fayed (۲۰۱۰) گزارش کرد که محلول‌پاشی اسید سیتریک و اسید آسکوربیک روی انگور رقم Thompson seedless باعث افزایش مواد جامد محلول، TSS/Acid و کاهش اسیدیته گردید. استفاده از اسید آسکوربیک به دلیل افزایش میزان آنتوسیانین و کاهش میزان کلروفیل a و b میوه، نقش مهمی را در رنگ‌گیری بهتر میوه که شاخص بسیار مهمی در کیفیت می‌باشد، ایفا می‌کنند (Farag and Nagy, 2012). رنگ‌گیری بهتر میوه‌های پوست قرمز مانند رقم رد اسپار سیب، نیازمند برداشت دیر هنگام بوده که این امر باعث کاهش عمر پس از برداشت میوه‌ها می‌شود. علاوه بر این در شرایط آب و هوایی شهرستان ارومیه برداشت دیر هنگام میوه‌ها، احتمال مواجه شدن با شرایط نامساعد آب و هوایی مانند بادهای شدید و بارندگی اواخر فصل را افزایش داده و سبب افزایش ریزش‌های قبل از برداشت می‌شود. با توجه به اهمیتی که افزایش کیفیت میوه سیب در امر بازاریابی و جلب مشتری دارد، پژوهش حاضر در جهت بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در باغ سیب دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه روی درختان سیب رقم رد اسپار ۱۲ ساله پیوند شده روی پایه MM106 به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار (هر تکرار شامل یک درخت) با محلول‌پاشی سه غلظت (۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) اسید آسکوربیک (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) به اجرا در آمد. درختان در طول فصل رشد به صورت هفتگی با سیستم آبیاری قطره‌ای آبیاری و در سه مرحله مبارزه با آفات و بیماری‌ها انجام گرفت. در طول فصل رشد از هیچ گونه تیمار کودی استفاده نشد. محلول‌پاشی (۵ لیتر برای هر درخت) در ساعات خنک روز (ساعت ۸ تا ۹ صبح) با کمک سمپاش پشته‌ای انجام

سلولی شده و هم‌چنین موجب توسعه سلولی و رشد طولی می‌شود (Horemans *et al.*, 2006). نتایج تحقیقات Zulaikha (۲۰۱۳) نشان‌دهنده اثر گسترده اسید آسکوربیک بر فتوسنتز، افزایش هدایت روزنه‌ای، تنفس، کلروفیل، سطح برگ و وزن برگ زیتون می‌باشد. تأثیر مثبت اسید آسکوربیک بر عملکرد، به علت فعالیت آن مانند اکسین‌های طبیعی و نقش مؤثر آن روی بیوسنتز کربوهیدرات‌ها می‌باشد (Shazly *et al.*, 2013).

Farahat و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک روی درختان سیب رقم آن‌ا، نشان دادند محلول‌پاشی اسید آسکوربیک در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش رشد رویشی، طول شاخه و سطح برگ درختان سیب گردید. هم‌چنین گزارش گردیده است محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی نهال‌های زیتون دو ساله رقم حاج بلانکا^۲، به طور قابل توجهی سطح برگ و تعداد شاخه‌ها را افزایش داد، هم‌چنین کاربرد اسید آسکوربیک در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر، به طور معنی‌داری موجب افزایش میزان کلروفیل و وزن خشک ریشه گردید (Zulaikha, 2013). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک به علت تأثیر آن در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، باعث افزایش فتوسنتز شده و در نتیجه میزان کربوهیدرات‌ها را افزایش می‌دهد (Fayed, 2010).

Hafez و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر روی میوه‌های گلابی رقم لی‌کنت^۳ موجب افزایش میزان کل مواد جامد محلول، قند کل و قندهای غیرکاهشی گردید. محلول‌پاشی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سیتریک و اسید آسکوربیک روی هلوهای ۶ ساله رقم Swelling، باعث افزایش TSS/Acid، TSS، قندهای کل، قندهای غیرکاهشی، آنتوسیانین و سفتی میوه گردید

1- Anna

2- Hoj Blanca

3- Le-Conte

رسانده شد. ۵۰ میکرولیتر آب میوه گذرانده شده از صافی با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH تهیه شده، مخلوط کرده و بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و در فرمول زیر جاگذاری شد:

$$\%DPPH_{sc} = \frac{(Abs\ control)_{t=30\ min} - (Abs\ sample)_{t=30\ min}}{(Abs\ control)_{t=30\ min}}$$

که Abs sample میزان جذب DPPH در حضور نمونه عصاره و Abs control جذب DPPH بدون عصاره می باشد (Chiou et al., 2007).

اندازه گیری میزان آنتوسیانین پوست میوه

برای اندازه گیری میزان آنتوسیانین، ۰/۱ گرم از پوست میوه تازه به همراه ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (شامل ۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) ساییده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. بعد از ۲۴ ساعت جذب هر یک از نمونه ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی $Fulcki\ and\ (1968)$ استفاده شد $1\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ (Francis, 1968).

اندازه گیری میزان فلاونوئیدهای کل

برای اندازه گیری میزان فلاونوئیدهای کل، ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آب میوه را با ۱۵۰ میکرولیتر نیتريت سدیم ۵ درصد مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیم ۱۰ درصد اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه یک میلی لیتر سود ۱ مولار اضافه شده و در نهایت حجم نهایی به ۵ میلی لیتر رسانده شد. مقدار فلاونوئیدهای کل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردیده و فلاونوئید کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر (mg/gFW) محاسبه شد.

گرفت. برای درختان شاهد از ۵ لیتر آب معمولی استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل یک درخت و در کل از ۱۲ درخت سیب استفاده گردید. محلول پاشی در سه زمان (۳۰ تیر و ۲۵ مرداد و ۲۰ شهریور) به فاصله ۲۵ روز تکرار شده و برداشت میوه ها در ۵ مهر ماه انجام گرفت. از هر درخت ۲۰ میوه برداشت شد و برای هر صفت از ۵ میوه استفاده گردید برخی خصوصیات کیفی میوه سیب رقم رداپار از قبیل درصد مواد جامد محلول، میزان pH، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، میزان ویتامین ث، محتوی آنتی اکسیدان کل، میزان آنتوسیانین کل میوه، فلاونوئیدهای کل میوه و میزان فعالیت آنزیم PAL در پوست و گوشت میوه در زمان برداشت اندازه گیری شد.

اندازه گیری مواد جامد محلول (TSS)، pH و

اندازه گیری اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

برای اندازه گیری میزان مواد جامد محلول میوه ها از رفاکتومتر دستی مدل ATAGO، برای تعیین میزان pH آب میوه از دستگاه pH متر مدل CP-411 (ساخت کشور لهستان) و برای اندازه گیری اسیدیته قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون با محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد با pH=۸/۲ استفاده شد (AOAC, 1990).

اندازه گیری ویتامین ث

مقدار اسید آسکوربیک پس از تهیه آب میوه با دستگاه آب میوه گیری با استفاده از روش تیتراسیون اندازه گیری شد. ده میلی لیتر از عصاره میوه پس از افزودن ۲ سی سی نشاسته با یدید پتاسیم (KI) ۰/۰۱ نرمال تا ته نشین شدن ذرات نشاسته تیتراسیون انجام شد و بر اساس مقدار یدورپتاسیم مصرف شده در تیتراسیون و رابطه $A.A=(S \times N \times F \times 88.1 / C) \times 100$ مقدار اسید آسکوربیک بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر محاسبه شد (AOAC, 1990).

اندازه گیری محتوای آنتی اکسیدان کل

تعیین محتوای آنتی اکسیدان کل با استفاده از دی پی پی اچ (DPPH) انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم DPPH با متانول ۸۰ درصد به حجم ۵۰۰ میلی لیتر

معنی‌داری بیشتر از کل مواد جامد محلول در تیمار شاهد بود (شکل ۱). این نتایج موافق یافته‌های Hafez و همکاران (۲۰۱۰) است که افزایش میزان مواد جامد محلول، قند کل و قندهای غیرکاهشی را با محلول‌پاشی اسید آسکوربیک روی میوه‌های گلابی (Le-Conte) گزارش کردند. اسید آسکوربیک همانند اکسین‌های طبیعی عمل کرده و باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود و از این طریق باعث افزایش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها می‌شود (Fayed, 2010). احتمالاً اسید آسکوربیک با افزایش هدایت روزنه‌ای، میزان کلروفیل، سطح و وزن برگ‌ها نقش مثبت خود را در افزایش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها ایفا می‌کند (Zolaikha, 2013).

pH آب میوه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر pH آب میوه داشت (جدول ۱). کمترین میزان pH در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک مشاهده گردید که به‌طور معنی‌داری کمتر از pH میوه در تیمار شاهد بود. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک از لحاظ تأثیر بر pH آب میوه وجود نداشت (شکل ۲).

اسید آسکوربیک به علت ماهیت اسیدی و آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده به‌ویژه پلی‌فنل‌اکسیداز و تأخیر در مصرف اسیدهای آلی در واکنش‌های متابولیکی از جمله تنفس می‌شود (Lamikanra and Watson, 2003). اسید آسکوربیک دارای خاصیت اسیدی است، بنابراین باعث کاهش pH آب میوه می‌گردد (Asghari and Majdi, 2010). نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج یافته‌های Fayed (۲۰۱۰) مبنی بر کاهش اسیدیته میوه انگور رقم *Thompson Seedless* با کاربرد اسید آسکوربیک مطابقت داشت.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز (PAL)

برای تهیه عصاره گیاهی از بافت میوه (گوشت و پوست) جهت سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز از بافر استخراج حاوی بافر بورات (۰/۱ مولار با pH برابر ۷)، ۰/۱ درصد پلی‌وینیل‌پیرولیدون^۱ و ۲-مرکاپتواتانول^۲ (۱/۴ میلی‌مولار) استفاده گردید. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. بافر سنجش شامل ۰/۴ میلی‌لیتر عصاره‌ی آنزیمی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر بورات (۰/۱ مولار با pH برابر ۸/۸) و ۰/۵ میلی‌لیتر L-فنیل آلانین (۱۲ میلی‌مولار)، به مدت ۳۰ دقیقه در درون حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و واحد فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید (9630 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$) بر حسب واحد نانو مول سینامیک اسید در ۳۰ دقیقه (nmolcinacid/30min) محاسبه گردید (Dickerson et al., 1984).

آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

کل مواد جامد محلول (TSS)

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان مواد جامد محلول داشت (جدول ۱). بیشترین میزان افزایش کل مواد جامد محلول در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک بود که با کل مواد جامد محلول در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک تفاوت معنی‌داری نداشت ولی به‌طور

1- Polyvinyl-pyrrolidone
2- 2-Mercaptoethanol

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر برخی صفات کیفی اندازه گیری شده در سیب رقم رد اسپار
Table 1. ANOVA for the effect of foliar spray with ascorbic acid on some qualitative characteristics of 'Red Spur' apple cultivar

میانگین مربعات						
MS						
ویتامین ث	اسیدینه قابل تیتراسیون	واکنش خاک	مواد جامد محلول	درجه آزادی	منبع تغییرات	
VC	TA	pH	TSS	df	S.O.V	
0.03 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.01 [*]	0.11 ^{ns}	3	Block	بلوک
24.44 ^{**}	0.01 ^{**}	0.07 ^{**}	13.57 ^{**}	2	Ascorbic acid	اسید آسکوربیک
1.71	0.0007	0.004	0.11	24	Error	اشتباه آزمایشی
14.3	6.69	1.73	2.64	-	CV (%)	ضریب تغییرات (درصد)

ns, * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

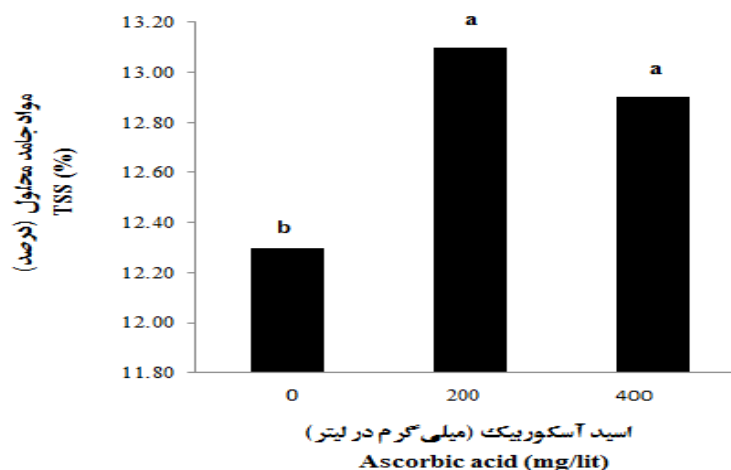
ns, * and ** no significant differences, significant at the 5 and 1 % probability level, respectively.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک بر برخی صفات اندازه گیری شده در سیب رقم رد اسپار
Table 1. ANOVA for the effect of foliar spray with ascorbic acid on some qualitative characteristics of 'Red Spur' apple cultivar

میانگین مربعات						
MS						
فنیل آلانین	فلاونوئیدهای کل	آنتوسیانین	آنتی اکسیدان	درجه آزادی	منبع تغییرات	
آمونیاپالاز	Total flavonoids	anthocyanin	Total antioxidant	df	S.O.V	
PAL						
0.002 [*]	4.39 ^{ns}	1.1 ^{ns}	0.5 ^{ns}	3	Block	بلوک
0.003 [*]	1.64 ^{**}	3.89 ^{**}	132.09 ^{**}	2	Ascorbic acid	اسید آسکوربیک
0.0008	3.46	0.5	8.57	24	Error	اشتباه آزمایشی
10.16	1.48	10.65	9.04	-	CV (%)	ضریب تغییرات (درصد)

ns, * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

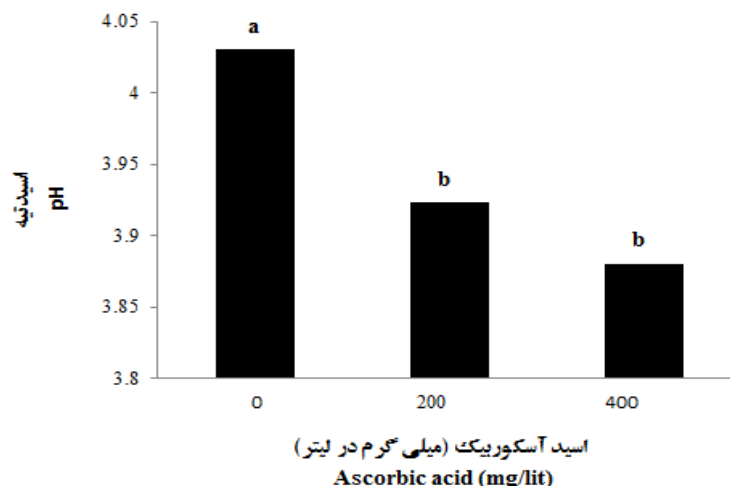
ns, * and ** no significant differences, significant at the 5 and 1 % probability level, respectively.



نمودار ۱- تأثیر محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید آسکوربیک بر درصد مواد جامد محلول در میوه سیب رقم رد اسپار
*میانگین های با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 1. Effect of foliar spray with ascorbic acid on TSS content of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).

*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.



نمودار ۲- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر pH میوه سیب رقم رد اسپار
* میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 2. Effect of foliar spray with ascorbic acid on PH of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).

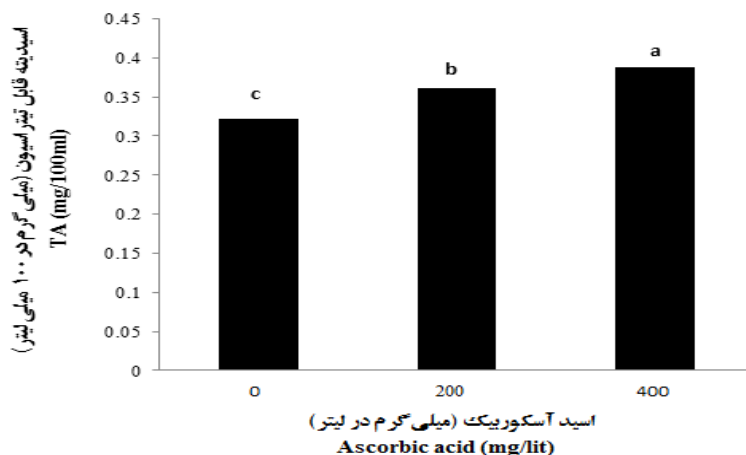
*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.

ویتامین ث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان ویتامین ث میوه داشت (جدول ۱). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت اسید آسکوربیک بر میزان ویتامین ث میوه افزوده شد. به طوری که بیشترین میزان ویتامین ث در غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر اسید آسکوربیک مشاهده شد. بین غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید آسکوربیک و تیمار شاهد، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴). عواملی که سبب حفظ غشا و ساختار سلول گردند، باعث حفظ ویتامین ث می گردند (Ruoyi et al., 2005). اسید آسکوربیک به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث حفاظت از غشاء سلولی و حفظ محتویات سلولی از جمله ویتامین ث می گردد. نتایج ما موافق یافته‌های Ezz و همکاران (۲۰۱۲) است که گزارش کردند محلول پاشی درختان انبه با اسید آسکوربیک باعث افزایش ویتامین ث میوه گردید. نتایج مشابهی نیز توسط Hegab (۲۰۰۰) مبنی بر افزایش ویتامین ث میوه با محلول پاشی اسید آسکوربیک در درختان نارنگی رقم Blady mandarin گزارش گردید.

اسیدیته کل قابل تیتراسیون (TA)

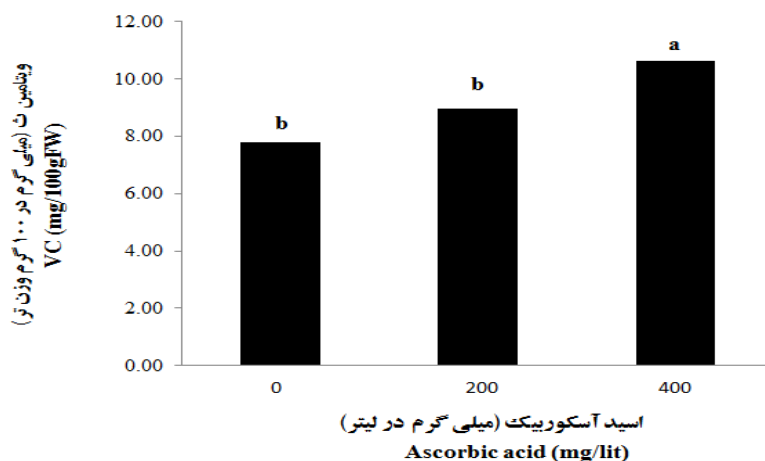
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رد اسپار داشت. با افزایش غلظت اسید آسکوربیک میزان اسیدیته قابل تیتراسیون به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳). هر عاملی که باعث کاهش تنفس و تولید اتیلن شود، به واسطه کاهش مصرف قندها از کاهش اسیدهای آلی جلوگیری می کند (Jalili Marandi, 2012). اسید آسکوربیک به علت ماهیت اسیدی و با تأخیر در فرآیند تنفس باعث افزایش و حفظ اسیدیته کل قابل تیتراسیون گردید (Lamikanra and Watson, 2003). Shazly و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در میوه هلو رقم Swelling با تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید آسکوربیک نسبت به شاهد، افزایش ولی در غلظت‌های ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در لیتر اسید آسکوربیک کاهش یافت. افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون کل میوه با محلول پاشی اسید آسکوربیک توسط Fayed (۲۰۱۰) در انگور رقم Thompson و نیز گزارش شده است.



نمودار ۳- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر اسیدیته کل قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رد اسپار *میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 3. Effect of foliar spray with ascorbic acid on TA content of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).

*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.



نمودار ۴- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان ویتامین ث میوه سیب رقم رد اسپار *میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 4. Effect of foliar spray with ascorbic acid on VC content of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).

*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.

احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. با این که هر دو غلظت استفاده شده اسید آسکوربیک تأثیر معنی‌داری در افزایش میزان آنتی‌اکسیدان کل داشت، ولی غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک نسبت به غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین افزایش معنی‌دار را نسبت به تیمار شاهد نشان داد (شکل ۵). اسید آسکوربیک در سیتوسل، واکوئل، میتوکندری و دیواره سلولی گیاه

میزان آنتی‌اکسیدان کل

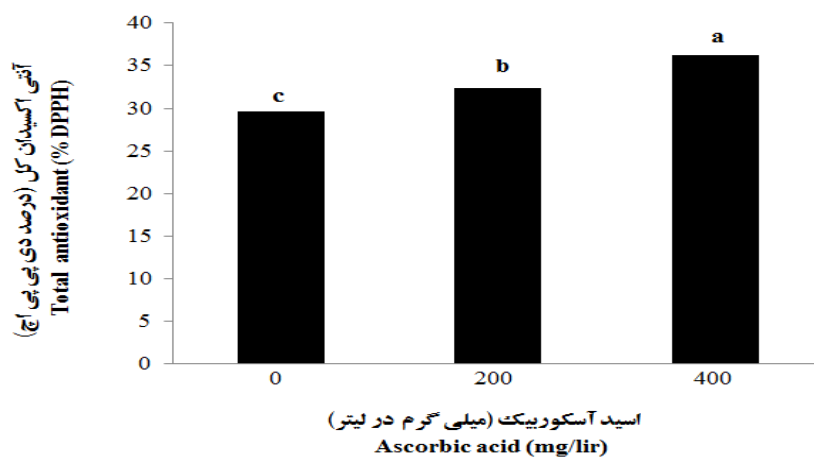
بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان آنتی‌اکسیدان میوه داشت (جدول ۲). نتایج مربوط به مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش غلظت اسید آسکوربیک، محتوای آنتی‌اکسیدان کل میوه سیب رقم رد اسپار افزایش یافت. بین دو غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و شاهد در سطح

اسید آسکوربیک با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر باعث بیشترین افزایش در میزان آنتوسیانین میوه گردید و این افزایش نسبت به تیمار شاهد معنی دار بود. در غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر اسید آسکوربیک با وجود افزایش در میزان آنتوسیانین، تفاوت معنی داری با تیمار شاهد مشاهده نشد (شکل ۶). این نتایج موافق یافته‌های Farag and Nagy (۲۰۱۲) می‌باشد، مطابق یافته‌های ایشان محلول پاشی اسید آسکوربیک و اسید سیتریک بر روی درختان سیب رقم *Anna* با افزایش میزان آنتوسیانین و کاهش میزان کلروفیل *a* و *b* میوه و ارتقاء کیفیت میوه همراه بود. این تأثیر مثبت اسید آسکوربیک در افزایش میزان آنتوسیانین، به علت تأثیر گسترده اسید آسکوربیک در افزایش فتوسنتز، افزایش هدایت روزنه‌ای، افزایش سطح برگ و افزایش وزن برگ می‌باشد (Zolaikha, 2013). Shazly و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که محلول پاشی اسید آسکوربیک و اسید سیتریک در درختان هلو رقم *Swelling* باعث افزایش معنی داری در میزان آنتوسیانین میوه گردید. افزایش آنتوسیانین و کاهش میزان کلروفیل *a* و *b* میوه در نتیجه کاربرد آسکوربیک و اسید سیتریک، به علت بیشتر کردن فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز می‌باشد (Farag and Nagy, 2012).

وجود دارد و همراه با ترکیبات دیگری مانند توکوفرول، کاروتنوئیدها و فنل‌ها سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی را در گیاهان تشکیل می‌دهد. این اسید از آنتی‌اکسیدان‌های بسیار قوی می‌باشد که با انواع اکسیژن‌های فعال ترکیب شده و با احیای رادیکال‌های آزاد موجب بازدارندگی آن‌ها می‌شود (Smirnoff and Wheeler, 2000). علاوه بر این که اسید آسکوربیک به‌عنوان سوبسترای آنزیم آسکوربات پراکسیداز، در تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نقش دارد، می‌تواند به‌طور مستقیم موجب بی‌اثر شدن سوپراکسید اکسیژن شده و نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان ثانویه در چرخه‌های احیایی اشکال اکسید شده α -توکوفرول و آنتی‌اکسیدان‌های چربی دوست دیگر عمل کند (Laspina et al., 2005). در حضور اسید آسکوربیک، فعالیت چرخه گلوکوتایون-آسکوربات و در نتیجه تجزیه‌کننده‌های H_2O_2 افزایش یافته و به دنبال آن با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، با تنش اکسیداتیو مقابله می‌شود (Dixit et al., 2001).

میزان آنتوسیانین

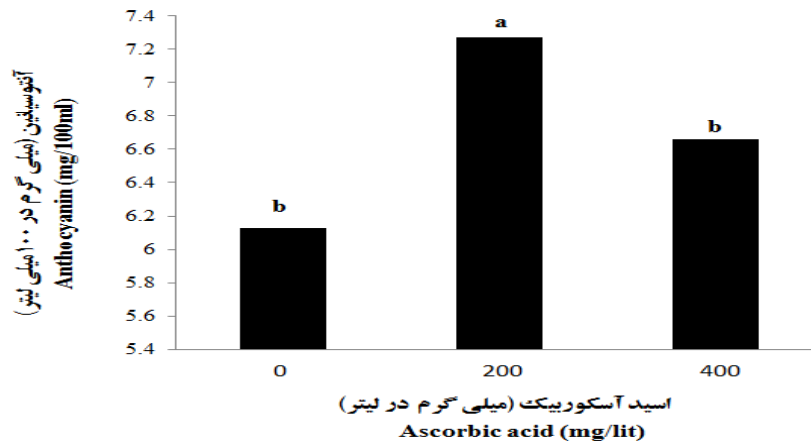
بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی داری بر میزان آنتوسیانین میوه رقم رداسپار داشت (جدول ۲). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محلول پاشی



نمودار ۵- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر محتوای آنتی‌اکسیدان کل میوه سیب رقم رداسپار* میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 5. Effect of foliar spray with ascorbic acid on total antioxidant content of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).

*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.



نمودار ۶- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان آنتوسیانین میوه سیب رقم رد اسپار* میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 6. Effect of foliar spray with ascorbic acid on anthocyanin content of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).
*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.

ضد سرطان نیز هستند (Ghorbani *et al.*, 2010) از آنجایی که اسید آسکوربیک باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز (PAL) می‌گردد (He and Luo, 2007). می‌تواند باعث فعال شدن مسیر ساخت مواد فنلی بویژه فلاونوئیدهای کل می‌شود.

میزان فعالیت آنزیم PAL

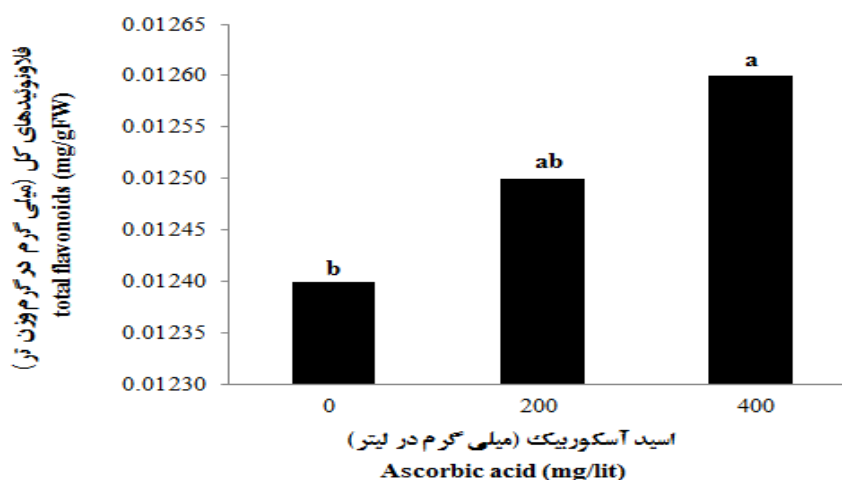
بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم PAL میوه داشت (جدول ۲). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت اسید آسکوربیک فعالیت آنزیم PAL افزایش پیدا کرد، به طوری که بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک مشاهده گردید که به طور معنی‌داری بیشتر از فعالیت آنزیم در تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و تیمار شاهد بود (شکل ۸). فعالیت آنزیم PAL و بسیاری از آنزیم‌های دیگر تحت تأثیر pH محیط قرار می‌گیرد، اسید آسکوربیک دارای خاصیت اسیدی است بنابراین باعث کاهش pH شده و در نتیجه فعالیت این آنزیم را افزایش می‌دهد (He and Luo, 2007). مشخص شده است که اسید آسکوربیک با افزایش فعالیت آنزیم PAL، واکنش‌های مسیر فنیل پروپانویید را تحریک کرده و باعث افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (Winkle-

کل فلاونوئیدها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونوئیدهای کل میوه داشت (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر محلول پاشی غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک نشان داد که محلول پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث بیشترین افزایش میزان فلاونوئیدهای کل در میوه سیب رقم رد اسپار گردید (شکل ۷). سیب منبع غنی از ترکیبات فنلی بویژه فلاونوئیدها است که فعالیت و غلظت این ترکیبات با توجه به رقم، مرحله بلوغ، شرایط محیطی و بخش‌های مختلف میوه متفاوت است. گروه‌های اصلی فلاونوئیدها در میوه سیب فلاونول‌ها یا کوئرستین ۳-گلیکوزید، فلاوان ۳-ال‌های منومر و الیگومر مثل کاتچین، اپی کاتچین، پروسیانیدین‌ها و دی هیدروچالکون‌هایی مثل فلوریدزین هستند. سیب رقم رد اسپار دارای بیشترین مقدار کاتچین و فلوریدزین می‌باشد. فلاونوئیدها به علت داشتن توانایی آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت انتقال الکترون‌ها، کاهش پراکسیداسیون هیپروژن، کاهش رادیکال‌های آلفاتوکوفرول دارای اثرات حفاظتی مفیدی می‌باشند، علاوه بر این مشخص شده است که ترکیبات فلاونوئیدی دارای خاصیت ضد جهش، ضد میکروبی، ضد ویروس و

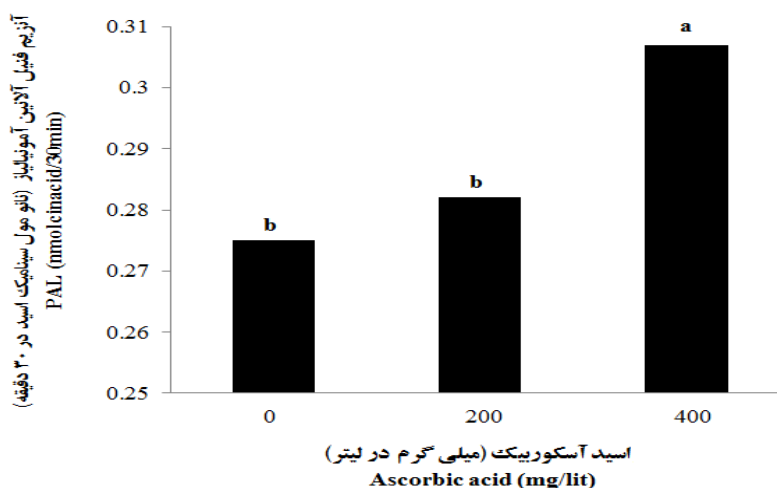
سیب می‌باشد. فاکتورهای بیوشیمیایی مؤثر در تولید آنتوسیانین، قندها و فعالیت آنزیم PAL می‌باشد (Lancaster *et al.*, 1994). تحریک فعالیت آنزیم PAL از طریق فعال کردن مسیر بیوسنتز رنگدانه‌های فنولیکی از جمله آنتوسیانین‌ها، که مهم‌ترین رنگیزه سیب رد اسپار می‌باشد، می‌تواند نقش مهمی در بهبود رنگ‌گیری میوه سیب رد اسپار داشته باشد.

(Shirley, 2001). ترکیبات فنلی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که بیوسنتز آن‌ها در پوست میوه سیب و سایر بافت‌های گیاهی از طریق دو مسیر شیکمیک اسید و استات-مولونات تحت تأثیر مرحله نمو گیاه و فاکتورهای بیرونی انجام می‌گیرد. از جمله ترکیبات فنلی سیب فلاونول‌ها و آنتوسیانین هستند که سیانیدین ۳-گالاکتوزید مهم‌ترین آنتوسیانین پوست



نمودار ۷- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان فلاونوئیدهای کل میوه سیب رقم رد اسپار *میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 7. Effect of foliar spray with ascorbic acid on total flavonoid content of 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).
*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.



نمودار ۸- تأثیر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان فعالیت آنزیم PAL میوه سیب رقم رد اسپار *میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

Fig. 8. Effect of foliar spray with ascorbic acid on PAL enzyme activity in 'Red Spur' apple fruit ($P \leq 0.05$).
*Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.

نتیجه گیری

شاخه‌ها و عمل اکسین مانندش، باعث افزایش فعالیت فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها می‌گردد. در پژوهش حاضر استفاده از اسید آسکوربیک باعث افزایش TSS، میزان ویتامین ث و محتوای آنتی‌اکسیدان کل میوه‌ها گردید. مشخص شده است که اسید آسکوربیک با افزایش میزان فعالیت آنزیم PAL که در این پژوهش نیز مشاهده گردید، مسیر فنیل پروپانوئیدی را فعال کرده و باعث افزایش ساخت فلاونوئیدهای کل و آنتوسیانین می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تیمار میوه‌های سیب پوست قرمز با اسید آسکوربیک به خصوص در مناطقی که مشکل رنگ‌گیری میوه وجود دارد و یا در مناطقی که به دلیل بارندگی‌ها و شرایط نامساعد آب‌هوایی در اواخر فصل و کاهش عمر انبارداری، امکان برداشت دیر هنگام میوه برای رنگ‌گیری بهتر امکان پذیر نمی‌باشد، می‌تواند کیفیت میوه سیب رقم رد اسپار را افزایش دهد.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محلول پاشی اسید آسکوربیک با غلظت‌های مختلف اثرات معنی‌داری بر صفات مورد اندازه‌گیری داشته و باعث بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری بهتر میوه سیب رقم رد اسپار می‌گردد. کیفیت پایین میوه‌ها و عدم رنگ‌گیری مطلوب آن‌ها از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در کاهش ماندگاری و بازارپسندی آن محسوب می‌شود. اسید آسکوربیک با تأثیر مستقیم روی رادیکال‌های آزاد و حذف آن‌ها، تنظیم بیان ژن، تنظیم فعالیت و حفاظت از آنزیم‌ها در بسیاری از رفتارهای فیزیولوژیکی گیاه تأثیر می‌گذارد. اسید آسکوربیک به‌عنوان کوفاکتور در واکنش‌های فتوسنتزی عمل کرده و به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل و کاروتنوئیدها جلوگیری می‌کند و با دخالت در تقسیم سلولی و افزایش رشد در سطح برگ‌ها و

References

1. Ahmadi-Afzadi, M. 2012. Genetic and biochemical properties of apples that effect storability and nutritional value. Introductory paper at the faculty of landscape planning. Horticulture and Agricultural Science, 120(3): 1-40.
2. AOAC, 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th. ed. Helrich, K. (ed.). AOAC: Arlington, VA. 703 p.
3. Asghari, M.R. and Majdi, V. 2010. Effect of ascorbic acid and CaCl₂ treatments on quality attributes and shef-life of fresh cut 'Golden Delicious' apples. Food Reaserch, 2(2): 24-32. [In Farsi]
4. Chiou, A., Karathanos, V.T., Mylona, A., Salta, F.N., Preventi, F., and Andrikopoulos, N.K. 2007. Grape (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. Food Chemistry, 102: 516-522.
5. Dickerson, D.P., Pascholati, S.F., Hagerman, A.E., Butler, L.G., and Nicholson, R.L. 1984. Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxy cinnamate CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum*. Physioly Plant Pathology, 25: 111-123.

6. Dixit, V., Pandey, V., and Shyam, R. 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Journal of Experimental Botany, 52: 1101-1109.
7. Elade, Y. 1992. The use of antioxidants to control gray mould (*botrytic cibera*) and white mould (*Sclerotiorum*) in various crops. Plant Pathology, 141(7): 417-426.
8. Ezz, T.M., Aly, M.A., and Awad, R.M. 2012. Storability of mango fruits improvement by some natural preharvest applications. Atiner Conference Paper Series, 2241-2891.
9. Farag, K.M. and Nagy, N.M.N. 2012. Effect of pre and post-harvest calcium and magnesium compounds and their combination treatments on Anna apple fruit quality and shelf life. Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants, 4(2): 155-168.
10. Farahat, M.M.S., Ibrahim, L.S., and Quesni, E.M.F. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of cupressus *semper virens* L. to foliar application of ascorbic acid and zinc at Nubara. World Journal of Agricultural Science, 3(4): 496-502.
11. Fayed, T.A. 2010. Effect of some antioxidants on growth, yield and bunch characteristics of Thompson seedless grapevine. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 8(3): 322-328.
12. Fulcki, T. and Francis, F.J. 1968. Quantitative method for anthocyanins extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. Journal of Food Science, 33: 72-77.
13. Ghorbani, A., Bakhshi, D., Haj Najari, H., Ghasemnezhad, M., and Taghidost, P. 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and import variant of apple in Karaj. Journal of Horticultural Science, 24(1): 83-90. [In Farsi]
14. Hafez, O.M., Hamouda, H.A., and Abd- El- Mageed, M.A. 2010. Effect of calcium and some antioxidants treatments on storability of "Le- Conte" pear fruits and its volatile components. Nature and Science, 8(5): 109-126.
15. He, Q. and Luo, Y. 2007. Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. Stewart Postharvest Review, 3: 123-132.
16. Hegab, Y.M. 2000. Response of balady mandarin trees to citric acid and ascorbic acid application combined with iron and zinc. Journal of Applied Science, 15(10): 194-208.
17. Horemans, N., Foyer, C.H., Potters, G., and Asard, H. 2006. Ascorbate function and associated transport system in plants. Plant Physiology and Biochemistry, 38: 531-540.
18. Jalili Marandi, R. 2012. Post Harvest Physiology, 276 p. [In Farsi]
19. Lamikanara, O. and Watson, M.A. 2003. Biochemical changes associated with fresh-cut fruit processing and storage. Freshness and Shelf life of Food, 836: 52-68.

20. Lancaster, J.E., Grant, J.E., Lister, C.E., and Taylor, M.C. 1994. Skin color in apples influence of co-pigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 119: 63-69.
21. Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L., and Benavides, M.P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress-plant. *Plant Science*, 169: 323-330.
22. Ruoyi, K., Zhifang, Y., and Zhaoxin, L. 2005. Effect of coating and intermittent warming on enzymes, soluble pectin substances and ascorbic acid of *Prunus persica* (Cv. Zhonghuashoutao) during refrigerated storage. *Food Research International*, 38(3): 331-336.
23. Shazly, S.M., Eisa, A.M., Moatamed, A.M.H., and Kotb, H.R.M. 2013. Effect of some Agro-chemical pre harvest foliar application on yield and quality of 'Swelling' peach trees. *Alexander Journal of Agricultural Research*, 58(3): 219-229.
24. Smirnoff, N. and Wheeler, G.L. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *CRC Critical Review in Plant Science*, 19: 267-290.
25. Winkle-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126: 485-493.
26. Zulaikha, R. 2013. Effect of foliar spray of ascorbic acid, Zn, seaweed extracts force and bio fertilizers on vegetative growth and root growth of olive (*Olea europea* L.) transplants cv. Hogblanca *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 17(2): 79-89.