

نقش براسینواستروئید روی ویژگی‌های بیوشیمیایی و کیفی میوه پرتقال واشنگتن ناول در دوره انبارداری

بهاره قربانی^۱، زهرا پاک‌کیش^{۲*} و مسعود خضری^۲

۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، پژوهشکده باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱)

چکیده

در این پژوهش به بررسی تأثیر براسینواستروئید بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و کیفی میوه پرتقال 'واشنگتن ناول' در دوره انبارداری پرداخته شد. بدین منظور، میوه‌های پرتقال با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینواستروئید تیمار و در دمای ۱±۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵-۹۰ 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 دوره 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 تیمار شده و شاهد در دوره 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 تیمار شده با براسینواستروئید نسبت به شاهد، بسیار افزایش یافت. بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، میوه‌های تیمار شده 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 Ghorbani¹, Zahra Pakkish^{2*} and Masoud Khezri²

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.

مقدمه

پرتقال (*Citrus sinensis* L.) یکی از بهترین محصولات کشاورزی است. میوه پرتقال حاوی املاح و سرشار از ویتامین‌های بسیار زیادی است که جنبه دارویی و غذایی دارد (Chang, 1992) و تولید آن نیز در ایران بیشینه 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 تولیدکننده پرتقال مقام هشتم را دارد و این جایگاه خوبی در میان کشورهای تولیدکننده 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 نوبرانه 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 پایه تحقیقات انجام‌شده روی فرآورده‌های برداشته‌شده باغبانی، آسیب سرمازدگی همراه با نشت یون و پراکسیداسیون لیپیدها است. چراکه هنگامی که که یاخته زنده تحت تنش دمایی 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 پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب غشاء می‌شود. پراکسیداسیون 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 چرخه کلوین به‌ویژه آنزیم‌های دارای گروه سولفیدریل مانند گلیسرآلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز و فروکتوز ۱ و 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 تجزیه 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 در زمینه افزایش عمر انبارمندی میوه پرتقال مانند استفاده از تیمارهای فیزیکی مانند پرتوی فرابنفش (UV) و تیمار آب گرم (Odriozola-Serrano *et al.*, 2003; Schirra *et al.*, 2008; Slaughter *et al.*, 1997)، اتمسفر کنترل‌شده (Obenland *et al.*, 2003)، شرایط دمایی (Schirra *et al.*, 2012) و تیمارهای شیمیایی و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (Montesinos-Herrero *et al.*, 2010; Skog & Chu, 2001) انجام گرفته است.

براسینواستروئیدها ششمین گروه از هورمون‌های گیاهی هستند که پس از اکسین، جیبرلین، سائتوکینین، اتیلن و آبسزیک اسید در سال ۱۹۷۰ از دانه گرده 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

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 دوره انبارداری بوده است.

مواد و روش‌ها

میوه‌های پرتقال رقم 'واشنگتن ناول' که روی پایه 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 نیمه نخست اسفند سال ۱۳۹۱ هنگامی که 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 دانشکده 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 همه مواد زائدی که به سطح میوه چسبیده بودند، از آن جدا شوند. سپس میوه‌ها با آب ۳۵ درجه 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 1 ± 3 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 5 ± 90 درصد به مدت پنج ماه قرار داده شدند. پس‌از آن نیز در فاصله زمانی هر سی روز یک‌بار، صفات زیر ارزیابی شدند.

صفات اندازه‌گیری شده

سرمازدگی

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

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 بذور 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 زیست‌توده (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 تیمار شده 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 انبارداری 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 میوه پرتقال واشنگتن ناول در دوره انبارداری پرداخته شد. هدف از انجام این

اسیدهای آلی

برای اندازه‌گیری اسیدهای قابل عیارسنجی (تیتراسیون)، ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره میوه با ۲۰ تا ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و آنگاه به محلول بالا چند قطره فنول فتالین 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 اسیدیته آب میوه از عصاره صاف شده میوه و با استفاده از دستگاه pH متر در دمای ۲۰ درجه 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، نرمالیتته ید ۰/۰۱ نرمال است، اما پیش از آزمایش باید عامل آن اندازه‌گیری شود. برای این منظور مخلوط حاضر شده را یک الی دو روز نگهداری کرده، آنگاه ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط بالا را در یک ظرف دیگر ریخته، روی آن ۲ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد اضافه می‌کنند. این مخلوط را با محلول اسید آسکوربیک خالص عیارسنجی شد. به طوری که در نقطه پایان محلول به رنگ خاکستری کم‌رنگ درآمد. برای تهیه محلول اسید آسکوربیک ۱۰۰ میلی‌لیتر پودر خالص آن را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. برای محاسبه عامل مخلوط ید از رابطه 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 مصرف شده (میلی‌گرم)، N= نرمالیتته مخلوط ید

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

= آسیب سرمزدگی (٪)

(شمار میوه سرمزده - شمار کل میوه در هر تکرار) × ۱۰۰
شمار کل میوه در هر تکرار

نشت یون

به منظور اندازه‌گیری نشت یون هدایت الکتریکی (EC) محلول حاوی نمونه‌ها توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی (EC متر) سنجیده شده که در واقع (EC₁) نمونه‌ها به دست آمد. سپس نمونه‌ها را به مدت بیست دقیقه در آون در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار داده، پس از سرد شدن نمونه‌ها برای بار دوم هدایت الکتریکی (EC₂) محلول حاوی برش‌های جوانه سنجیده شد (Sairam et al., 1997). برای به دست آوردن میزان نشت یون از رابطه زیر استفاده شد:

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

پراکسیداسیون لیپید غشاء

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدئید به دست آمده از این واکنش به روش Heath & Packer (1969) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و رابطه زیر استفاده شد:

$$A = \epsilon BC$$

که در این رابطه: A جذب خوانده شده، ϵ ضریب خاموشی، B عرض کووت و C غلظت کمپلکس بر حسب میلی‌مولار است.

پراکسید هیدروژن: برای سنجش پراکسید

هیدروژن ۰/۱ گرم از بافت گیاهی را با ۳ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید در حمام یخ مخلوط، آنگاه در ۱۲۰۰۰ دور به مدت پانزده دقیقه سانتریفیوژ کرده و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده 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 طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد (Velikova et al., 2000).

تجزیه و تحلیل 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. تجزیه آماری و مقایسه 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 به دست آمده، قهوه‌ای شدن پوست میوه‌ها و نشت یون در دوره انبارداری افزایش یافت و تیمار براسینواستروئید به طور معنی‌داری آسیب سرمازدگی و نشت یون را کاهش داد (شکل‌های ۱ و ۲). به طوری که، 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 تیمار شده 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 دوره انبارداری، تحت تأثیر براسینواستروئید در شماری از میوه‌ها از جمله عناب با غلظت ۰/۰۵-۰/۰۷۵ میلی‌گرم بر لیتر (Zhu *et al.*, 2010)، خیار ۱ تا ۳ میکرومول (Xia *et al.*, 2009)، ذرت ۰/۱-۰/۲ 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).

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

A= میزان اسید اسکوربیک در عصاره 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 (مدل MT-098P8A)، صورت گرفت.

آنزیم‌های پاداکسندگی پراکسیداز و کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم عصاره پروتئین بدین گونه تهیه شد:

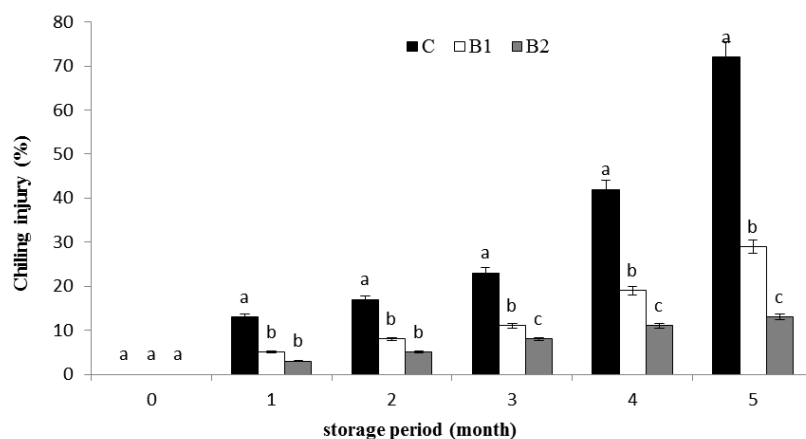
۱ گرم بافت گیاهی در هاون حاوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس-HCL ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ سائیده شد تا محلول همگنی به دست آید. پس از انتقال به لوله سانتریفیوژ، به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند، سپس لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی را در لوله آزمایش ریخته و عصاره پروتئینی 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 ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵)، ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگال 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 طول موج ۴۲۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) خوانده شد (Kochba *et al.*, 1977).

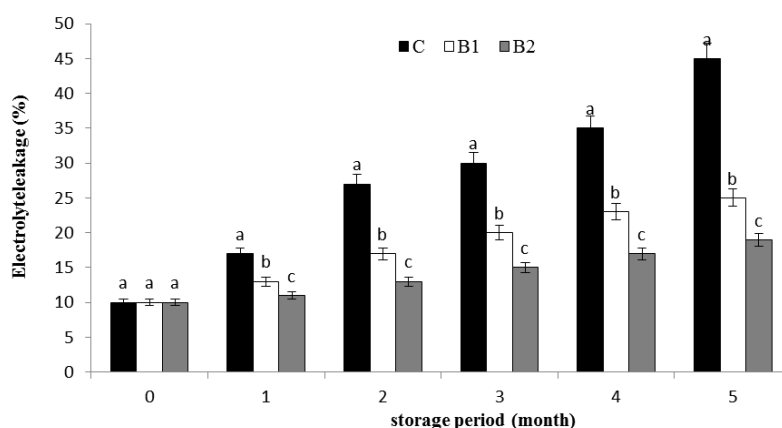
آنزیم کاتالاز

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



شکل ۱. تأثیر تیمار براسینواستروئید بر آسیب سرمازدگی (%) میوه پرتقال 'واشنگتن ناول' در دوره انبارداری. C: شاهد، B₁: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر و B₂: براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم 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≤0.05).



شکل ۲. تأثیر تیمار براسینواستروئید بر نشت یون (%) میوه پرتقال 'واشنگتن ناول' در دوره انبارداری. C: شاهد، B₁: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر و B₂: براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم 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≤0.05).

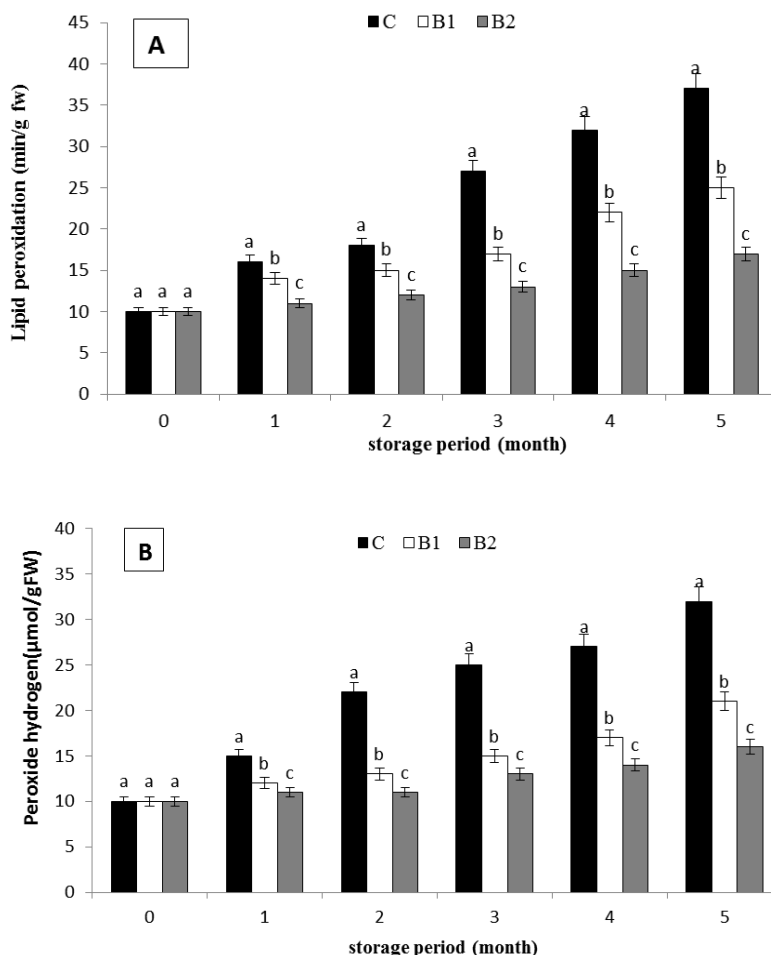
میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر کمترین پر اکسیداسیون لیپیدها (۱۸۳۷/۱۵ میلی مول بر گرم وزن تر) و پراکسید هیدروژن (۱۷/۲۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) را نشان دادند که در مقایسه با تیمار شاهد (۳۷/۸۹ میلی مول بر گرم وزن تر) پر اکسیداسیون لیپیدها و ۳۴/۶۹ میکروگرم بر گرم وزن تر پر اکسید هیدروژن تفاوت معنی‌داری وجود داشت و تیمار براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر در مقایسه با شاهد مؤثرترین تیمار،

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و میزان پراکسید هیدروژن

در دوره انبارداری میوه پرتقال واشنگتن ناول میزان پر اکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن در میوه‌های تیمار شده و شاهد روند افزایشی داشت و بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن در میوه‌های شاهد مشاهده شد. به طوری که میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید، میزان پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن کمتری را نشان 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 پراکسید هیدروژن، میزان پراکسیداسیون چربی‌های غشاء را کاهش داده که با نتایج پیشین همخوانی دارد (Zhang *et al.*, 2010).

برای کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و ساخت پراکسید هیدروژن بوده است (شکل ۳). افزایش در نشت کلی یون‌ها به‌ویژه پتاسیم باعث ایجاد حساسیت‌های سرمایی در بافت پینه (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 بینند (Purvis, 1985). براسینواستروئید به‌طور شایان توجهی میزان نشت یون را کاهش دادند.



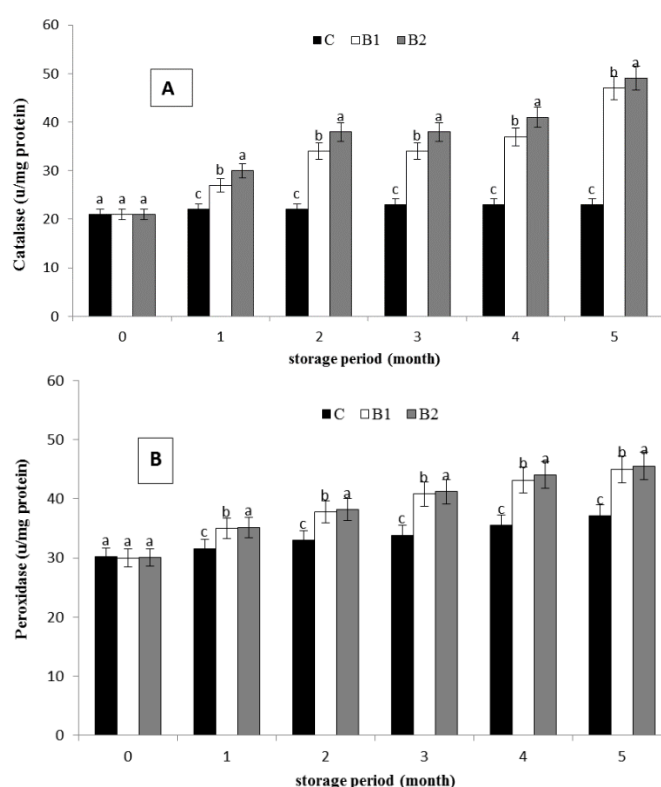
شکل ۳. تأثیر تیمار براسینواستروئید A: بر پراکسیداسیون لیپیدها (Mg/gFW) و B: پراکسید هیدروژن (μmol/gFW) میوه 'واشنگتن ناول' ناول در دوره انبارداری. C: شاهد، B₁: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B₂: براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد 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≤0.05).

افزایش می‌یابد (Forney & Peterson, 1990;) 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.

فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی

بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در میوه‌های شاهد و تیمار شده در دوره انبارداری افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید به‌ویژه غلظت بالاتر براسینواستروئید (۱/۵ میلی‌گرم 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



شکل ۴. تأثیر تیمار براسینواستروئید A: بر میزان فعالیت کاتالاز و B: آنزیم پراکسیداز (U/mg protein) میوه پرتقال واشنگتن ناول در دوره انبارداری. C: شاهد، B₁: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و B₂: 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≤0.05).

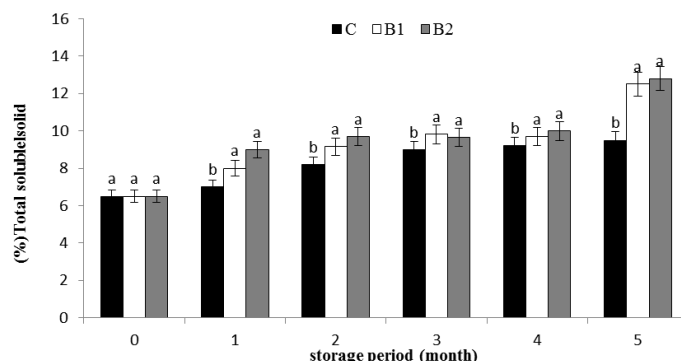
محلول را داشتند (شکل ۵). این ترکیب‌ها روند تغییرپذیری مواد جامد محلول را به دلیل کند شدن فرآیند رسیدن میوه و کاهش تنفس تعدیل می‌کنند (Serrano et al., 2003) و به دلیل کاهش آب‌میوه غلظت مواد جامد محلول در دوره انبارداری افزایش می‌یابد (Kelebek et al., 2009; Zokae-Khosroshahi et al.,)

مواد جامد محلول کل

در دوره پنج ماهه انبارداری مواد جامد محلول در میوه‌های تیمار شده و شاهد افزایش یافت، به‌طوری‌که در بررسی‌های متوالی هر ماه میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین و میوه‌های شاهد کمترین درصد میزان مواد جامد

پیری، الگوی تغییر مواد جامد محلول را متعادل تر و افزایش داده است (Aghdam et al., 2012).

بدون تردید تیمار براسینواستروئید نیز با کاهش سرعت تنفس و فرآیند



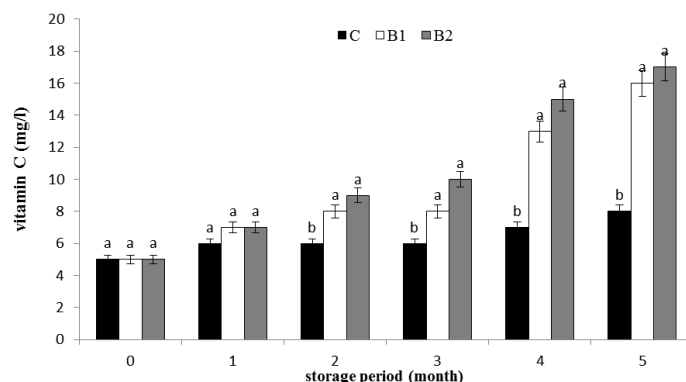
شکل ۵. تأثیر تیمار براسینواستروئید بر مواد جامد محلول (%/ میوه پرتقال 'واشنگتن ناول' در دوره انبارداری. C: شاهد، B₁: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر و B₂: براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری 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≤0.05).

اسیدیته به‌طور دقیق برعکس الگوی تغییر اسیدهای آلی بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان pH در میوه‌های شاهد و کمترین آن در میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد (شکل ۷). میزان اسیدهای آلی در پایان دوره انبارداری کاهش یافت. ولی بیشترین میزان اسیدهای آلی در میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر و کمترین آن در میوه‌های شاهد دیده شد (شکل ۷).

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 همه میوه‌های تیمار شده و شاهد در طی دوره انبارداری مشاهده شد، میزان اسید آسکوربیک در انتهای دوره انبارداری افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان ویتامین C در میوه‌های تیمار شده با براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر و کمترین آن در میوه‌های شاهد دیده شد (شکل ۶). روند تغییرپذیری

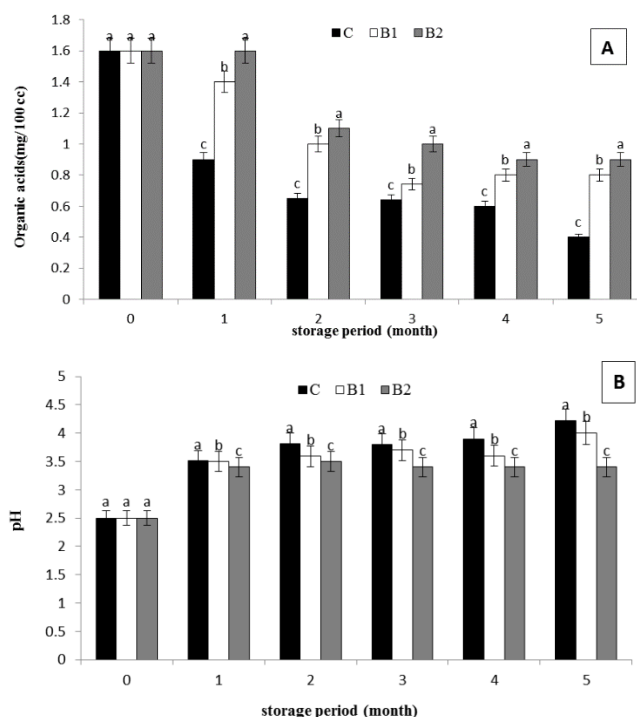


شکل ۶. تأثیر تیمار براسینواستروئید روی میزان اسید آسکوربیک (ویتامین C) (mg/100ml) میوه پرتقال واشنگتن ناول در دوره انبارداری. C: شاهد، B₁: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر و B₂: براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین‌هایی که حرف‌های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای 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≤0.05).

مشخص کرد، در بین تیمارهای به کاررفته، بیشترین میزان اسیدهای آلی در طول دوره انبارداری متعلق به تیمار براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بوده است (شکل ۷). نتایج به دست آمده از اندازه گیری pH آب پرتقال های مورد تیمار در این تحقیق، از نظر شرایط آماری به طور کلی عکس روند تغییر اسیدهای آلی بود (شکل ۷). اسیدیته در میوه های پرتقال در نتیجه اسیدهای گوناگون مانند اسیدسیتریک، اسید مالیک، بنزوئیک اسید، تارتاریک اسید و اگزالیک اسید است. اسیدسیتریک به عنوان اسید غالب در میوه پرتقال است (Nour et al., 2010; Sha et al., 2012). در دوره انبارداری، میزان اسیدهای آلی کاهش و اسیدیته افزایش می یابد و تیمار براسینواستروئید روند این تغییرپذیری ها را متعادل می کند. براسینواستروئید چون پیری و شدت تنفس میوه را در دوره انبارداری کاهش می دهد، بنابراین به حفظ اسیدهای آلی در دوره انبارداری کمک می کند که نتایج این تحقیق با یافته های پیشین همخوانی دارد (Aghdam et al., 2012; Sha et al., 2012).

اسید آسکوربیک از جمله پاداکسندهای غیر آنزیمی است که در شرایط تنش در یاخته های زنده ساخته می شود (Villiers et al., 2005). کاهش برخی از مواد غذایی مانند اسیدآسکوربیک یک عامل بحرانی در عمر انبارداری در بعضی محصولات مانند آب میوه مرکبات است (Burdurlu et al., 2006). از آنجایی که نقش براسینواستروئیدها در افزایش مقاومت یاخته های زنده به انواع تنش ها به دلیل افزایش فعالیت پاداکسندگی آنهاست (Xia et al., 2009; Zhu et al., 2010). بنابراین، نتایج به دست آمده از این پژوهش با تحقیقات انجام شده روی محصولات باغبانی مانند گوجه فرنگی (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 دوره انبارداری بود. به گونه ای که در همه تیمارها و شاهد با افزایش طول دوره انبارداری، میزان اسیدهای آلی نیز کاهش پیدا کرد. مقایسه بین تیمارها در زمان های مختلف نمونه برداری



شکل ۷. تأثیر تیمار براسینواستروئید A: روی اسید قابل عیارسنجی (g/100ml) و B: pH میوه پرتقال واشنگتن ناول در دوره انبارداری. C: شاهد، B1: براسینواستروئید ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر و B2: براسینواستروئید ۱/۵ میلی گرم بر لیتر. در هر ماه میانگین هایی که حرف های یکسانی دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری 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≤0.05).

نتیجه‌گیری کلی

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 دوره 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 دوره انبارداری میوه 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 دوره انبارداری ایفا کند و برای افزایش عمر انبارمانی فرآورده‌های باغبانی توصیه می‌شود.

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 بازاریابی در میوه‌ها در دمای پایین و در طول دوره 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 تیمار شده با براسینواستروئید نسبت به شاهد، بسیار افزایش یافت. بنا بر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، میوه‌های تیمار شده 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

REFERENCES

1. Aghdam, M. S., Asghari, M., Farmani, B., Mohayjeji, 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. *Proceeding 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 ultra violet 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.faostat.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 Biophysics*, 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 America*. 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., Authanithe, F. & Keebjan, P. (2008). Effect of exogenous methyl jasmonate on chilling injury and quality of pineapple. *Silpakorn University Science and Technol*, 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., Hernandez-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. Technology*, 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 Xinpeng 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). Oxidative 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., Tichtinck, G., Parcy, F., Bourguignon, J. & Hugouvieux, V. (2012). Evidence for functional interaction between brassinosteroids and cadmium response in *Arabidopsis thaliana*. *Journal Experimental 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. Zokae-Khosroshahi, M. R. & Esna-Ashari, M. (2007). Postharvest putrescine 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 putrescine on post-harvest life of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) fruit, cultivare selva. *Scientia Horticulturae*, 114, 27-32.