

بررسی اثر اسید سالیسیلیک در افزایش عمر انبارمانی و کیفیت پس از برداشت انگور رقم سلطانی

حنیفه سیدحاجی‌زاده^{۱*}، وحید صدقیه^۲ و فهیمه قلی‌زاده وکیل‌کندی^۲

۱- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۲- دانشجویان کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۳۰)

چکیده

با توجه به افزایش روز افزون تقاضا برای مصرف تازه‌خوری انگور، وجود محدودیت‌هایی در خصوص نگهداری و انبارمانی، موجب کاهش عمر انباری و قفسه‌ای محصول می‌شود. اسید سالیسیلیک در برطرف کردن اثرات سوء تنش‌های زنده و یا غیر زنده مثل دمای پایین نیز نقش مهمی دارد. به منظور بررسی اثر تیمار اسید سالیسیلیک در حفظ کیفیت انگور رقم سلطانی؛ آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با غلظت‌های ۰، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، شستشو با آب مقطر و بدون شستشو (شاهد) در ۳ تکرار انجام گرفت. انگورها به مدت شش هفته در سردخانه با رطوبت نسبی ۹۰ درصد و دمای ۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و نمونه برداری بصورت هفتگی انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که اسید سالیسیلیک موجب کاهش سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه‌ها می‌شود. همچنین تیمار اسید سالیسیلیک موجب افزایش پرولین، کربوهیدرات کل، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و کاهش میزان H_2O_2 می‌شود. بیشترین مقدار کاروتنوئید کل مربوط به تیمار اسید سالیسیلیک ۴ میلی‌مولار در هفته دوم بود. اما با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان تیمار اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار را به عنوان یک تیمار مناسب جهت افزایش عمر انبارمانی انگور سلطانی پیشنهاد کرد.

کلمات کلیدی: *Vitis vinifera*، آنزیم های آنتی اکسیدانی، کیفیت خوراکی، کاروتنوئید

مقدمه

مذکور برای سلامتی انسان خطرناک بوده و باعث ایجاد صدمه به میوه‌ها و سبزی‌های تازه شده و باعث بروز علائم سمیت (از قبیل سفیدشدگی حبه‌ها و قهوه‌ای شدن دم خوشه‌ها) می‌گردد، باید به دنبال روش‌های جایگزین ولی در عین حال مؤثر در جهت افزایش زمان ماندگاری این محصول بود (باتیستا^۳ و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات اخیر نشان داده که اسید سالیسیلیک می‌تواند به‌عنوان یکی از ترکیبات مفید برای افزایش زمان ماندگاری و جایگزین مناسب برای مواد قارچ‌کش به‌کار رود (وانگ^۴ و همکاران، ۲۰۰۶). اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی است که به طور طبیعی در گیاهان سنتز می‌شود (راسکین^۵، ۱۹۹۲). گزارش‌های فراوانی مبنی بر نقش اسید سالیسیلیک بر کاهش اثرات ناشی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله سرمازدگی وجود دارد (وانگ و همکاران، ۲۰۰۶). اسید سالیسیلیک ضمن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش سمیت رادیکال‌های آزاد می‌شود که بر اثر خسارت سرمازدگی تجمع یافته‌اند و به این طریق خسارت ناشی از تنش‌های سرمای را کاهش می‌دهند. اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک مولکول سیگنال درونی، نقش بسیار مهمی در رشد و نمو گیاهان و پاسخ به تنش‌های محیطی بازی می‌کند

انگور گیاهی بالارونده، دارای ساقه‌ی چوبی، خزان‌دار و آفتاب دوست می‌باشد و منشاء آن قفقاز و آسیای صغیر است. همه انگورهای خوراکی به جنس ویتیس (*Vitis*) از خانواده مو تعلق دارند که مهم‌ترین و تنها جنسی است که میوه آن خوراکی بوده و دارای ۶۰ گونه و ۱۰۰۰۰ رقم نام گذاری شده است (اینست و درات^۱، ۱۹۷۵). ارزش انگور به دلیل تولید فرآورده‌های متنوع بسیار بالا است و از این نظر نقش مهمی در اقتصاد کشورهای تولید کننده آن ایفا می‌کند. کشور ایران از نظر تولید انگور در دنیا جایگاه مهمی داشته و در رتبه نهم قرار گرفته است (فائو^۲، ۲۰۱۶). انگور یک میوه بسیار مهم در ایران به شمار می‌رود و نگهداری آن به دلیل داشتن طبیعت بسیار فسادپذیر، مشکل می‌باشد. یکی از مشکلات نگهداری انگور آسیب‌پذیری آن در برابر آلودگی قارچی و کاهش محتوی نسبی آب آن در طی دوره انبارداری می‌باشد. از جمله راهکارهای مناسب برای حفظ کیفیت میوه‌ها، ذخیره آن‌ها در دمای پایین است ولی در کنار سرمادهی افزودن مواد شیمیایی محافظت کننده ضروری به نظر می‌رسد. در گذشته برای افزایش زمان ماندگاری این محصول به طور عمده از دی‌اکسید سولفور استفاده می‌شد، اما از آنجا که بقایای ترکیب

3. Bautista
4. Wang
5. Raskin

1. Einset and Dratt
2. FAO

انگور رقم سلطانی در ساعات اولیه صبح از تاکستانی سنتی با روش هدایت خزنده در شهرستان مراغه که منطقه‌ای کوهستانی بوده و با ۱۴۷۷ متر ارتفاع از سطح دریا، دارای میانگین دمای سالانه ۱۲/۵ درجه سلسیوس و میانگین بارش سالانه ۳۲۲/۴ میلی‌متر می‌باشد، برداشت شدند. خوشه‌های انگور با توجه به رنگ پوست و درجه بریکس حبه‌ها، در مناسب‌ترین مرحله رسیدگی (زمان برداشت با توجه به تقویم فصلی و زمانیکه حبه‌ها دارای درجه بریکس بالای ۱۸٪ بودند) برداشت شدند. پس از برداشت اقدام به تیمار انگورها به صورت بدون شستشو، غوطه‌وری در آب مقطر (دمای اتاق) و غوطه‌وری در اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار به مدت ۱ دقیقه گردید. سپس هر یک از خوشه‌ها در داخل ظروف یکبار مصرف درب دار به سردخانه منتقل شده و در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد قرار گرفتند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورهای این آزمایش شامل تیمار اسید سالیسیلیک و زمان انبارمانی بود. نمونه‌برداری از میوه‌ها به صورت هفتگی و در طی ۶ هفته انجام شد. در آخرین هفته آزمایش، میوه‌ها به مدت سه روز در دمای معمولی اتاق (۲۴-۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند تا اثر سرمازدگی در کل دوره ارزیابی گردد.

(اصغری و سلیمانی اقدم^۱، ۲۰۱۰). اسید سالیسیلیک از طریق سازوکارهای شیمیایی و بیوشیمیایی مختلفی باعث حفظ کیفیت و افزایش مقاومت محصولات باغبانی در برابر سرمازدگی می‌شود، از جمله: افزایش بیان ژن اکسیداز جایگزین^۲ به عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان در میوه گوجه‌فرنگی (فابرو^۳ و همکاران، ۲۰۰۴)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز و افزایش نسبت آسکوربات به دهیدروآسکوربات و گلوکاتیون احیا شده به اکسید شده در میوه هلو (وانگ و همکاران، ۲۰۰۶)، کاهش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در میوه انار (سیاری^۴ و همکاران، ۲۰۰۹) و افزایش بیان پروتئین‌های شوک حرارتی در میوه گوجه-فرنگی (دینگ^۵ و همکاران، ۲۰۰۲) و میوه هلو (وانگ و همکاران، ۲۰۰۶). در این تحقیق سعی شده با استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک کیفیت انگور رقم سلطانی در طی انبارمانی حفظ شده و امکان عرضه خارج از فصل این محصول فراهم گردد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه و سردخانه گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه مراغه انجام شد. خوشه‌های

1. Asghari and Soleimani Aghdam
2. Alternative oxidase
3. Fabro
4. Sayyari
5. Ding

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

آسیب سرمازدگی

میزان آسیب سرمازدگی به صورت ظاهری در هفته آخر آزمایش و بدین صورت که میوه‌ها در هفته ششم آزمایش از سردخانه به دمای ۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و به مدت ۳ روز در این دما قرار گرفتند. آسیب سرمازدگی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (دینگ و همکاران، ۲۰۰۲):

$$\text{تعداد} \times (\text{سطح سرمازدگی}) = \sum [(\%) \text{ شاخص آسیب سرمازدگی}] \times 100$$

$$= \frac{(\text{تعداد میوه‌های آزمایش})}{(\text{میوه‌های سرمازده})} \times 4$$

سنجش صفاتی از جمله مواد جامد محلول کل (TSS)، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، درصد کاهش وزن و pH میوه توسط روش‌های ارائه شده مستوفی و نجفی (۱۳۸۴) صورت گرفت.

کاروتنوئید کل

برای سنجش میزان کاروتنوئید کل نیم گرم حبه انگور با استفاده از نیتروژن مایع به خوبی خرد شده، سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به نمونه‌ها اضافه و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۴۷۰ برای کاروتنوئید کل قرائت گردید (آرنون^۱، ۱۹۶۷).

پرولین

1. Arnone

برای اندازه‌گیری پرولین میزان ۲ میلی‌لیتر از عصاره اتانولی، ۴ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۲/۵ میلی‌لیتر ترکیب محلول نین‌هیدرین + ۲/۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال ۹۹ درصد را با هم ترکیب کرده و به مدت ۴۵ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و در نهایت جذب در ۵۱۵ نانومتر قرائت شد (ایریگوئن^۲ و همکاران، ۱۹۹۲).

کربوهیدرات کل

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات کل میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اتانولی به ۳ میلی‌لیتر محلول آنترون تهیه شده اضافه گردید. محلول تهیه شده ورتکس گردیده و ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از خنک شدن محلول‌ها میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید (ایریگوئن و همکاران، ۱۹۹۲).

مالون دی‌آلدئید

در این روش میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UNIC V-2100) قرائت گردید و میزان پراکسید شدن لیپیدها از اختلاف بین طول موج‌های جذبی در ضریب خاموشی^{-۱} ۱۵۵ میلی‌مولار به دست آمد (استوارت و باولی^۳، ۱۹۸۰).

2. Irrigoyen
3. Stewart and Bewley

گایاکول پراکسیداز

۱۰۰۰ میکرولیتر یدیدپتاسیم و ۵۰۰ میکرولیتر بافر- فسفات به همراه ۵۰۰ میکرولیتر روشناور به کووت‌های یک‌بار مصرف منتقل شد و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید (سرگیو^۳ و همکاران، ۱۹۹۷).

آنالیز آماری داده‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده به وسیله نرم افزار SAS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن به منظور مقایسه میانگین تیمارها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث**شاخص سرمازدگی**

نتایج نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه سبب کاهش معنی‌دار سرمازدگی در مقایسه با تیمار بدون شستشو (شاهد) شدند (شکل ۱). شایان ذکر است که کم‌ترین میزان سرمازدگی در تیمار ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در مقایسه با شاهد به دست آمد. نتایج ما با یافته‌های ابراهیم‌زاده و همکاران (۱۳۹۱) در نازنگی کینو مطابقت دارد. با توجه به نتایج بدست آمده میزان سرمازدگی در میوه‌های شسته شده نسبت به میوه‌های

مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7$ ، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱۰۰۰ میکرولیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار و ۱۰۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و در نهایت ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراجی تهیه شده و نهایتاً میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. واکنش به مدت یک دقیقه ادامه یافت و عدد حاصل از اسپکتروفتومتر بعد از ۶۰ ثانیه دوباره قرائت شد (ماهلی و چانس^۱، ۱۹۵۴).

پروتئین کل

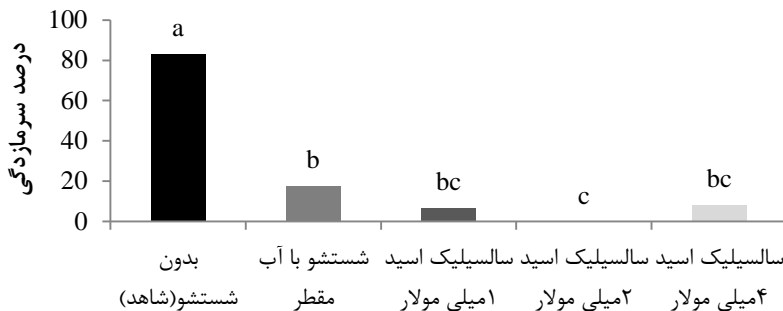
کمپلکس واکنشی شامل ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراجی، ۲۰۰ میکرولیتر محلول برادفورد و ۷۰۰ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید و میزان پروتئین نمونه‌ها از روی منحنی استاندارد حاصل از آلبومین سرم گاوی به دست آمد (برادفورد^۲، ۱۹۷۹).

پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

در این روش ۰/۲ گرم بافت میوه با ۱/۸ میلی‌لیتر TCA همگن گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند (مدل MK 2216). برای قرائت نمونه‌ها مقدار

1. Maehly and Chance
2. Bradford

3. Sergive



شکل ۱- تاثیر تیمارهای مختلف بر آسیب سرمازدگی انگور رقم سلطانی. حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

اسیدهای آلی در فرآیند تنفس می‌باشد (عزیزی‌یگانه^۲ و همکاران، ۲۰۱۳).

میزان اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تغییرات اسیدیته در زمان‌های مختلف در طی انبارمانی از الگوی ثابتی پیروی نمی‌کند اما در مجموع میزان آن در پایان دوره انبارمانی کاهش یافت (شکل ۳). احتمالاً استفاده از اسید سالیسیلیک می‌تواند به دلیل کاهش میزان تنفس و تولید اتیلن منجر به کاهش استفاده از اسیدهای آلی به عنوان سوبسترای تنفسی شود. بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده از اسید سالیسیلیک میزان تنفس را در بافت‌های موز و هلو کاهش می‌دهد و باعث حفظ اسیدهای آلی نسبت به میوه‌های شاهد می‌شود (سیراستاوا و دیودی^۳، ۲۰۰۰).

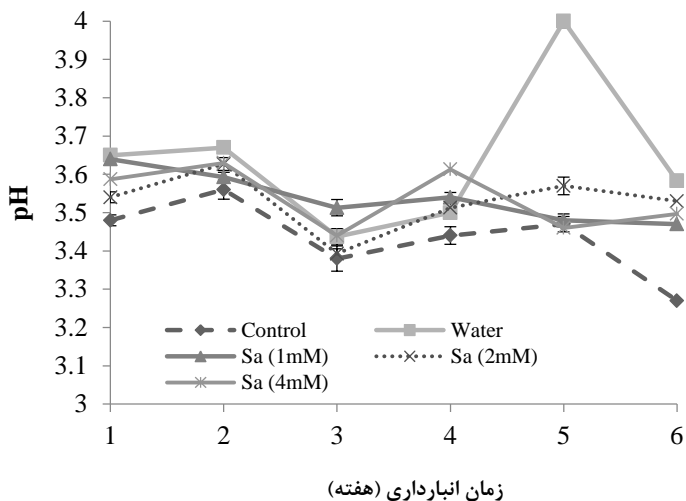
بدون شستشو به مراتب کمتر می‌باشد. دلیل احتمالی این موضوع را می‌توان در نقش شستشو بعنوان پیش سرد کردن^۱ دانست. در واقع با شستشو دمای مزرعه از میوه گرفته شده و تقریباً نزدیک به دمای سردخانه شده و بدین ترتیب موجب کاهش سرمازدگی در میوه‌های شسته شده می‌شود. در واقع تیمارهای حاوی اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند اما در مقایسه با آب مقطر (شاهد) بهتر عمل کرده بودند.

میزان pH

در طی مدت انبارمانی کم‌ترین میزان pH مربوط به هفته سوم بود ولی در کل روند نزولی را در طی شش هفته نشان داد (شکل ۲). بررسی اثر تیمارها بر میزان pH نشان داد که میوه‌های شاهد دارای pH کمتری نسبت به سایر تیمارها بودند. pH عصاره میوه‌ها در طول دوره انبارمانی به میزان جزئی افزایش یافت که این افزایش احتمالاً به واسطه شکسته شدن و تجزیه

2. Azizi Yeganeh
3. Srivastava and Dwivedi

1. Precooling



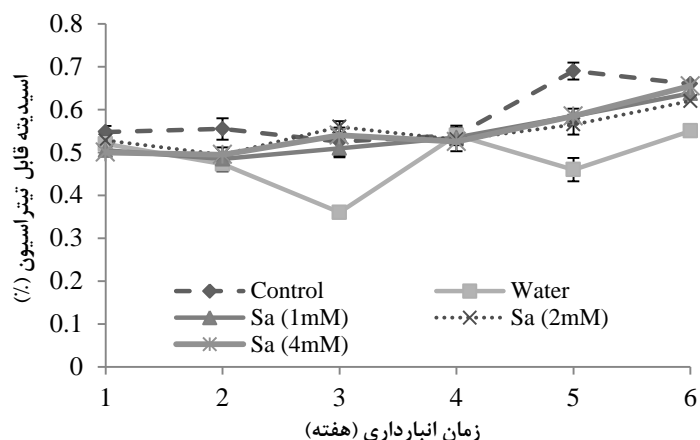
شکل ۲- اثر متقابل زمان و تیمارهای مختلف مورد استفاده بر میزان pH انگور رقم سلطانی طی مدت انبارداری

میزان مالون دی‌آلدئید در طی هفته‌های سوم، چهارم و پنجم می‌توان نتیجه گرفت که میزان تنش وارده کمتر بوده و متعاقب آن متابولیسم نیز کم شد که موجب کمتر مصرف شدن ذخایر و در نتیجه ثابت ماندن مواد جامد محلول در سطح اولیه شده است.

میزان کاهش وزن

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین کاهش وزن مربوط به تیمار شستشو با آب مقطر در هفته ششم بود و از بین تیمارهای اسید سالیسیلیک تیمار ۴ میلی مولار در طول شش هفته کم‌ترین کاهش وزن را نشان داد (شکل ۵). یافته‌های ما با نتایج عزیزی یگانه و همکاران (۲۰۱۳)، گارسیا^۱ و همکاران (۱۹۹۵) و

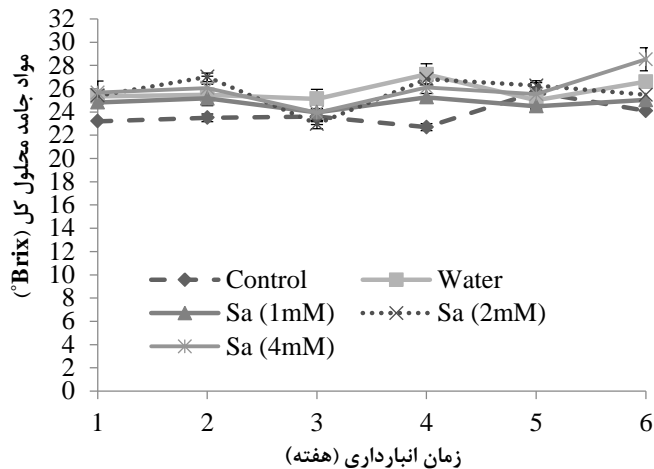
1. Garcia



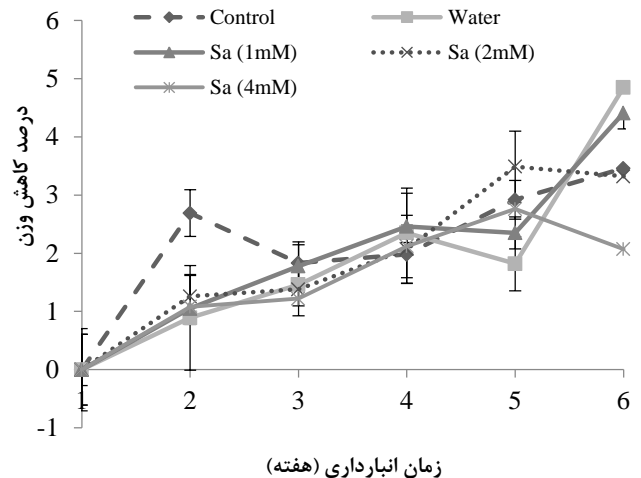
شکل ۳- اثر متقابل زمان و تیمارهای مختلف مورد استفاده بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون انگور رقم سلطانی طی مدت انبارداری

میزان مواد جامد محلول (TSS)

میزان مواد جامد محلول حبه‌های انگور در طول مدت انبارمانی ثابت بود و تنها کاهشی در مقدار آن در هفته سوم مشاهده شد که البته با هفته اول تفاوت معنی‌داری نداشت. در کل می‌توان چنین اظهار داشت که میزان مواد جامد محلول در طول مدت نگهداری در سطح اولیه آن حفظ شد (شکل ۴) که با نتایج ابراهیم‌زاده و همکاران (۱۳۹۱) در نارنگی کینو و عزیزی‌یگانه و همکاران (۲۰۱۳) در انگور رقم بیدانه سفید مطابقت دارد. در بررسی اثر تیمارهای مورد استفاده بر مواد جامد محلول مشاهده شد که تمام تیمارهای شستشو چه با آب مقطر و چه با اسید سالیسیلیک میزان مواد جامد محلول بالاتری نسبت به میوه‌های شسته نشده داشتند. با توجه به ثابت بودن



شکل ۴- اثر متقابل زمان و تیمارهای مختلف مورد استفاده بر میزان مواد جامد محلول کل (Brix) در طی مدت انبارداری



شکل ۵- تأثیر تیمارهای مختلف مورد استفاده بر تغییرات کاهش وزن انگور رقم سلطانی در طی مدت انبارداری

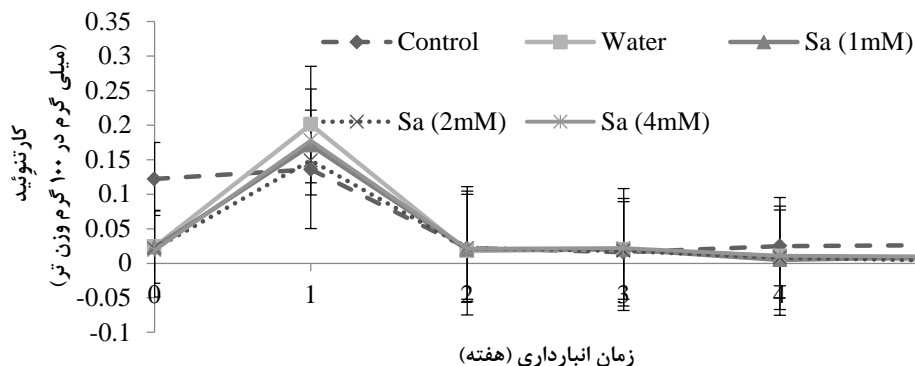
میزان کاروتنوئید کل

نتایج نشان داد که بیشترین مقدار کاروتنوئید کل مربوط به تیمار بدون شستشو در هفته دوم بوده و از بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک هم بیشترین مقدار کاروتنوئید کل مربوط به تیمار اسید سالیسیلیک ۴ میلی‌مولار در هفته دوم بوده است. از هفته دوم به بعد تغییرات کاروتنوئید کل در تمام تیمارها ثابت بود (شکل ۶). نتایج ما با یافته‌های واسیم^۴ و همکاران (۲۰۱۵) در گریپ فروت مطابقت دارد. چنین به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک نقش مستقیم در سنتز کاروتنوئیدها و یا جلوگیری از تخریب آنها داشته، بطوریکه بیشترین مقدار کاروتنوئید در بیشترین غلظت تیمار اسید سالیسیلیک بدست آمده است. نتایج حاصل از تجزیه

4. Waseem

شفیعی^۱ و همکاران (۲۰۱۰)، هان^۲ و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد. از آن جایی که دما نزدیک صفر درجه سانتی‌گراد است، احتمالاً اسید سالیسیلیک توانسته میزان آسیب به ساختار را کاهش دهد و یا حتی پوشش کوتیکولی و مومی انگور را تغییر دهد. بررسی در طول مدت انبارمانی نشان می‌دهد که تیمار اسید سالیسیلیک نسبت به تیمارهای بدون شستشو و شستشو با آب مقطر توانسته کاهش وزن میوه‌ها را تا حدودی کنترل نماید که به نظر می‌رسد این موضوع ناشی از کاهش تنفس میوه توسط اسید سالیسیلیک و به دنبال آن کاهش سوخت و ساز و در نتیجه کنترل کاهش وزن باشد (زینگ و زانگ^۳، ۲۰۰۴).

1. Shafiee
2. Han
3. Zheng and Zhang.



شکل ۶- تأثیر تیمارهای مختلف مورد استفاده بر تغییرات کاروتنوئید کل انگور رقم سلطانی در طی مدت انبارداری

شده در سلول‌های گیاهی در شرایط مطلوب و تنش‌های محیطی به‌وسیله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله پراکسیدازها، کاتالاز و سوپر اکسیددیسموتاز جمع‌آوری و به آب تبدیل می‌شوند. تجمع ROSها در سلول‌های گیاهی سبب بروز تنش اکسیداتیو می‌گردد که برای مقابله با آن میزان فعالیت مکانیسم‌های دفاعی بیشتر شده و با حفظ تعادل بین تولید ROSها و جمع‌آوری آن‌ها، از تنش اکسیداتیو و آسیب به مولکول‌های زیستی ممانعت می‌شود. اما همواره الگوی رفتاری سلول در مقابل تنش‌های محیطی تابع دریافت پیام‌هایی است که منجر به افزایش یا کاهش مسیرهای مختلف می‌گردد. اسید سالیسیلیک و جاسمونیک اسید از جمله ترکیباتی هستند که نقش پیام‌رسانی برعهده داشته و نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی ایفا می‌کنند (آرفان^۲ و همکاران، ۲۰۰۵).

میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

واریانس بیانگر معنی‌دار شدن اثر تیمار و زمان به ترتیب در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد بود.

گایاکول پراکسیداز (GPX)

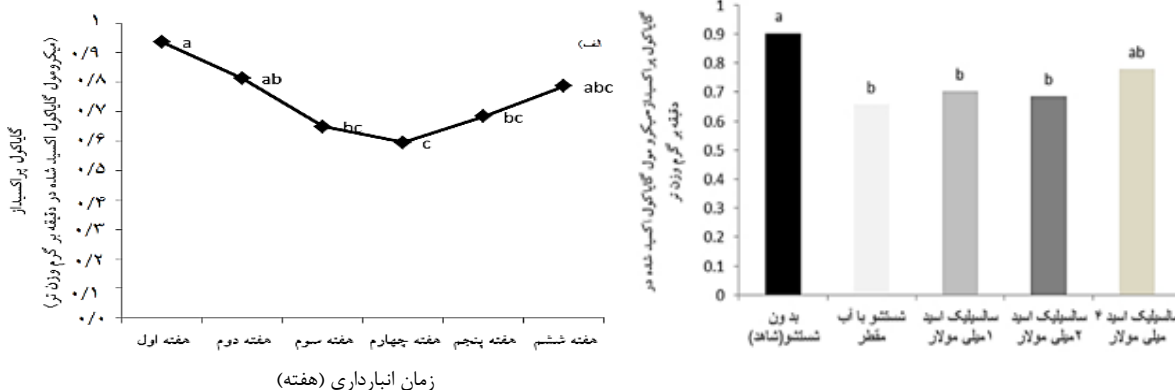
بررسی تغییرات گایاکول پراکسیداز (GPX) در نمونه‌های نگهداری شده در سردخانه در هفته‌های مختلف نشان داد که فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تا هفته چهارم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت اما در هفته‌های پنجم و ششم فعالیت این آنزیم مجدداً روند صعودی نشان داد (شکل ۶- الف). تارین^۱ و همکاران در هلو (۲۰۱۲) نیز نتایج مشابهی گزارش نموده‌اند. تیمارهای شستشو با آب مقطر و اسید سالیسیلیک ۱ و ۲ میلی‌مولار سبب کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در مقایسه با تیمار بدون شستشو شدند (شکل ۷- ب). به نظر می‌رسد به‌دلیل بالا بودن تنش وارده به شاهد فعالیت این آنزیم در مقایسه با بقیه تیمارها بیشتر می‌باشد. میزان انواع اکسیژن فعال تولید

2. Arfan

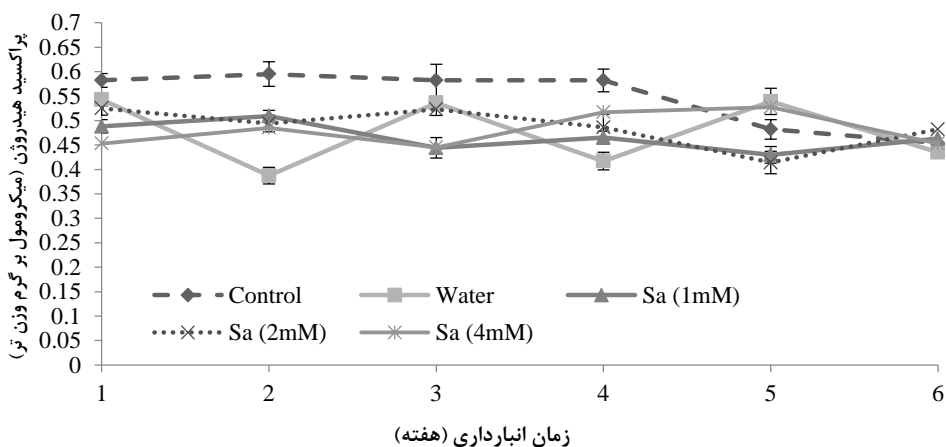
1. Tareen

بیشترین مقدار تولید H_2O_2 بودند که با بیشتر بودن تنش وارده ارتباط دارد. در مطالعه صفت سرمازدگی این موضوع به وضوح دیده شد. کاهش دمای محیط سبب افت فرآیندهای حیاتی سلول نظیر تنفس و دیگر مسیرهای متابولیسمی خواهد شد که در پی آن تولید انواع اکسیژن فعال در میتوکندری، پراکسی‌زوم و سایر

در پایان دوره انبارمانی (هفته ششم) کم‌ترین میزان تولید H_2O_2 مربوط به انگورهای تیمار شده با مقادیر ۲ و ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود و بیشترین میزان تولید مربوط به انگور شاهد، تیمار آب مقطر و اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار بود (شکل ۸). از طرف دیگر در بین همه تیمارها، انگورهای شسته نشده (شاهد) دارای



شکل ۷- تأثیر زمان (الف) و تیمارهای مختلف مورد استفاده (ب) بر میزان فعالیت آنزیم گلیکول پراکسیداز در طی مدت انبارداری انگور رقم سلطانی. حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.



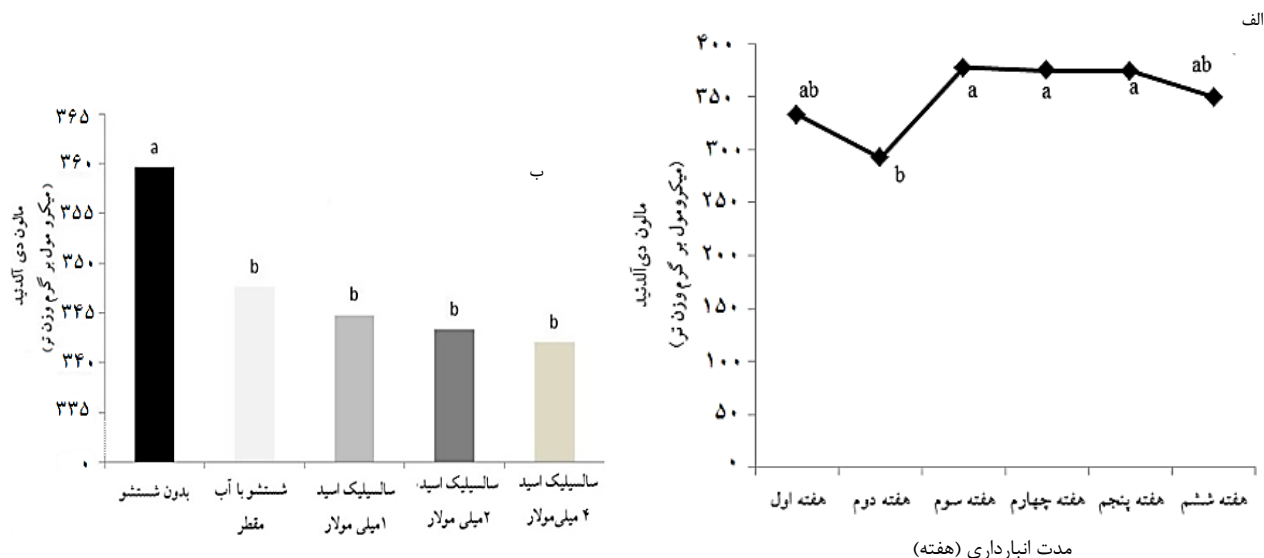
شکل ۸- تأثیر تیمارهای مختلف مورد استفاده بر تغییرات پراکسید هیدروژن انگور رقم سلطانی طی مدت انبارداری

بدون شستشو (شاهد) میزان MDA در بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و ثابت بود (شکل ۹-ب). از دلایل ثابت بودن MDA در تیمارهای اسید سالیسیلیک می‌توان به عدم تجمع H_2O_2 اشاره کرد. پراکسید هیدروژن ترکیب سمی برای سلول‌های

اندامک‌های سلولی پایین می‌آید. اندامک‌های یادشده از مهم‌ترین محل‌های تولید انواع ROSها در سلول‌های بیولوژیک به شمار می‌آیند.

میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، به استثنای تیمار



شکل ۹- تأثیر زمان (الف) و تیمارهای مختلف مورد استفاده (ب) بر میزان مالون دی‌آلدئید در طی مدت انبارداری انگور رقم سلطانی. حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

آسیب‌غشایی به منظور اندازه‌گیری غیرمستقیم انسجام غشای سلولی مورد توجه قرار گرفته است، نشت یونی و میزان مالون دی‌آلدئید است که می‌تواند کاهش انسجام غشای سلولی و وقوع سرمازدگی را در محصولات باغی نشان دهند (شانگ^۱ و همکاران، ۲۰۱۱). در تنش سرمازدگی تجمع مالون دی‌آلدئید به دنبال پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی موجب ایجاد

گیاهی بوده و از جمله اثرات منفی آن آسیب به غشاهای بیولوژیک و تجمع MDA است. با توجه به این‌که اسید سالیسیلیک توانسته میزان H_2O_2 را کاهش دهد در نتیجه GPX افزایش نیافته و بر این اساس MDA در همه‌ی تیمارهای اسید سالیسیلیک ثابت بوده است. سلیمانی اقدم و همکاران (۱۳۹۳) نیز عدم افزایش MDA در اثر تیمار با اسید سالیسیلیک در گوجه‌فرنگی را گزارش کردند. از عواملی که به‌عنوان شاخص‌های

1. Shang

می‌شود (هالی ول و گاتریج^۲، ۱۹۹۹) که این تغییرات باعث تغییر عملکرد متابولیسم سلول گیاهی شده و سلول با مشکل مواجه می‌شود. می‌توان چنین استنباط کرد که زمانیکه گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد شروع به افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز آنزیم‌های دفاعی می‌کند که وجود این آنزیم‌ها با حمله به رادیکال‌های آزاد به DNA مانع از آسیب به DNA و سنتز پروتئین می‌شود (موندری و همکاران، ۲۰۰۲). در میوه‌های بدون شستشو، شستشو با آب مقطر و اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار شدت تنش بالا بوده که نتیجه آن افزایش سنتز پروتئین‌های دفاعی بیشتر در جهت کاهش تنش بوده است. در حالی‌که در تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک که کمتر تحت تنش بوده‌اند، میزان پروتئین طبق روال عادی خود در مدت انبارمانی کاهش یافته است.

میزان کربوهیدرات کل

میزان کربوهیدرات کل در تیمارهای اسید سالیسیلیک در مقایسه با تیمارهای بدون شستشو و شستشو با آب مقطر روند صعودی در طی انبارمانی داشت (شکل ۱۱). نتایج ما با یافته‌های ارشادی و طاهری (۱۳۹۲) مطابقت دارد. هیات و احمد^۳ (۲۰۰۷) نشان دادند که اسید سالیسیلیک با تجزیه کربوهیدرات

آسیب در محصولات شده و بکارگیری اسید سالیسیلیک با کاهش تجمع مالون دی‌آلدئید می‌تواند آسیب سرمازدگی را کاهش دهد (اصغری و سلیمانی‌اقدم، ۲۰۱۰). بررسی‌ها نشان داده است که اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی‌مولار موجب حفظ سفتی و کاهش سرمازدگی، پوسیدگی و میزان مالون‌دی‌آلدئید در میوه هلو می‌شود (وانگ و همکاران، ۲۰۰۶).

میزان پروتئین کل

تیمارهای اسید سالیسیلیک ۱ و ۴ میلی‌مولار تا هفته چهارم روند افزایشی و از آن به بعد روند کاهشی داشتند (شکل ۱۰). کاهش هفته‌های اول به دلیل تخریب پروتئین و کاهش سنتز و افزایش آن در هفته‌های پایانی تحت تیمار اسید سالیسیلیک احتمالاً به دلیل کاهش تخریب و تجمع پروتئین می‌باشد. این نتایج با یافته‌های ارشادی و طاهری (۱۳۹۲) در انگور بیدانه سفید مطابقت دارد. در طی تنش سرمازدگی افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی دخیل در تنش اکسیداتیو ممکن است سبب افزایش غلظت پروتئین شوند. زمانی‌که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، تجمع پروتئین در آن انجام می‌شود که ممکن است ذخیره پروتئین برای برگشت مجدد به حالت طبیعی باشد (مایلارد^۱، ۱۹۸۸). تحت تنش سرما رادیکال‌های آزاد تولید شده به پروتئین‌ها حمله کرده و باعث تولید کربونیل و دیگر آمینواسیدهای تغییر یافته

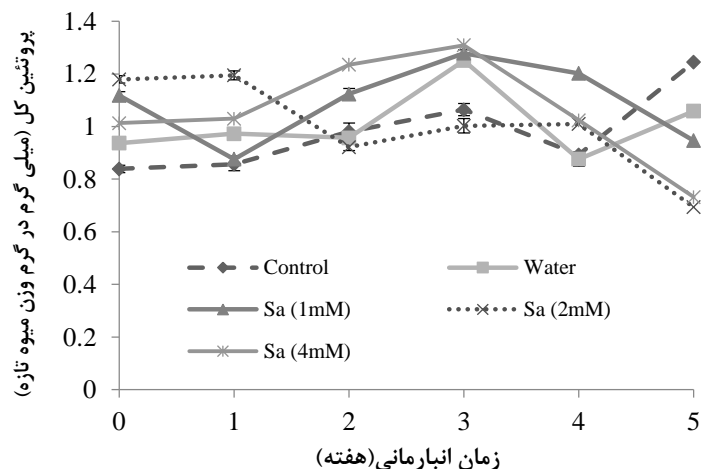
2. Halliwell and Gutteridge
3. Hayat and Ahmad

1. Millard

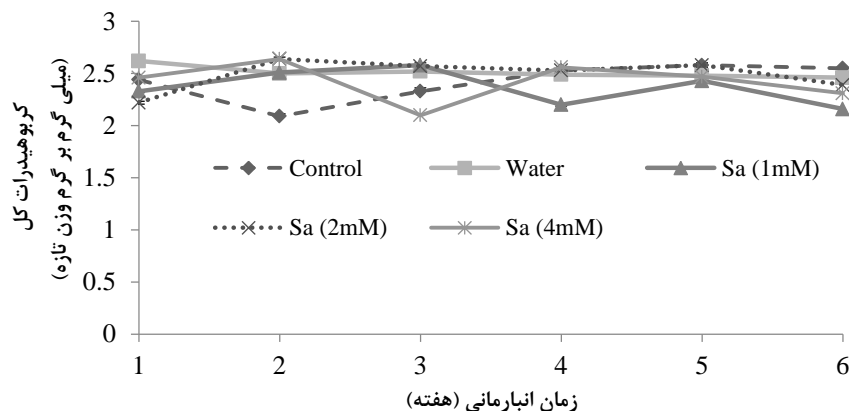
میزان پرولین

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در تیمار بدون شستشو در زمان‌های مختلف میزان پرولین روند صعودی دارد، از طرفی در شستشو با آب مقطر هم میزان پرولین افزایش یافت. در بین تیمارهای اسید سالیسیلیک در هفته‌ی ششم غلظت ۴ میلی‌مولار آن توانست میزان پرولین را کاهش دهد، به‌طوری‌که این تیمار در مورد

های ساختاری به واحدهای سازنده و یا اجزای کوچکتر، سبب کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و موجب کاهش خسارت سرمازدگی می‌گردد. در کل مقدار کربوهیدرات کل در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک افزایش و در تیمار شاهد و آب مقطر کاهش یافته است. بهترین تیمار در حفظ مقادیر کربوهیدرات تیمار ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک می‌باشد.



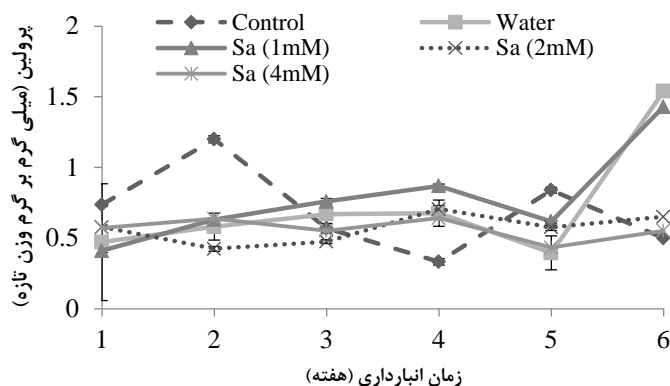
شکل ۱۰- تأثیر تیمارهای مختلف مورد استفاده بر تغییرات پروتئین کل انگور رقم سلطانی در طی مدت انبارداری



شکل ۱۱- تأثیر تیمارهای مختلف مورد استفاده بر تغییرات کربوهیدرات کل انگور رقم سلطانی در طی مدت انبارداری

شد که روند کاهش H_2O_2 نیز گویای این امر است. از طرف دیگر در شستشو با آب مقطر پرولین افزایش می‌یابد که به همراه بالا بودن گایاکول پراکسیداز توانسته است میزان مالون دی‌آلدئید را به حداقل ممکن برساند.

سرمازدگی نیز توانست این تنش را به حداقل برساند (شکل ۱۲). در میوه‌های شاهد اگرچه پرولین در دماهای پایین و با گذر زمان افزایش نیافت اما به دلیل بالا بودن فعالیت گایاکول پراکسیداز، میزان مالون دی‌آلدئید کم



شکل ۱۲- تأثیر تیمارهای مختلف مورد استفاده بر تغییرات پرولین انگور رقم سلطانی در طی مدت انبارداری

تیمارهای اسید سالیسیلیک می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده شستشوی میوه‌ها موجب حفظ کیفیت در طول انبارمانی در مقایسه با بدون شستشو می‌شود. اما در عمل از آنجاییکه امکان شستشوی میوه‌ها به جهت فسادپذیری بالای آنها، قبل از انبارمانی ممکن نیست لذا بر اساس نتایج این آزمایش، استفاده از پیش سرد کردن با اتاق سرد قبل از انبارمانی، احتمالاً تأثیر زیادی در حفظ کیفیت انگور تازه خوری خواهد داشت.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش مشخص شد که تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۲ میلی‌مولار نسبت به بقیه تیمارها در حفظ ویژگی‌های کیفی میوه انگور در مدت نگهداری در سردخانه مؤثر بوده و بعنوان روش قابل اعتماد جهت حفظ کیفیت میوه می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار نسبت به بقیه تیمارها توانست آسیب سرمازدگی را در طی مدت نگهداری در سردخانه کاهش دهد. بیشترین آسیب مربوط به تیمار بدون شستشو و کمترین مربوط به

منابع

ابراهیم‌زاده، م.، ابوطالبی، ع.، کامل منش، م. و کاوند، ع. ۱۳۹۱. اثر سالیسیلیک اسید بر خسارت سرمازدگی و برخی ویژگی‌های کمی و کیفی نارنگی کینو (*Citrus reticulata Blanco*. cv. Kinnow). فصلنامه فیزیولوژی و تکنولوژی پس از برداشت فرآورده‌های باغی، ۱(۱): ۲۹-۱۳.

ارشادی، ا. و طاهری، س. ۱۳۹۲. بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر تحمل به یخبندان بهاره در انگور (*vitis vinifera*) رقم بیدانه سفید. مجله به زراعی کشاورزی، ۱۵(۲): ۱۴۶-۱۳۵.

سلیمانی اقدم، م.، اصغری، م.، خرسندی، ا.، مرادبیگی، ه. و حسن‌پور اقدم، م. ۱۳۹۳. سازوکارهای احتمالی تأثیر اسید سالیسیلیک بر کاهش سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی. مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۷(۲): ۱۶۵-۱۸۲.

مستوفی، ی. و نجفی، ف. ۱۳۸۴. روش‌های آزمایشگاهی تجزیه‌ای در علوم باغبانی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ اول. ۱۳۶ صفحه.

- Arfan, M., Athar, H.R. and Ashraf, M. 2007. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress. *Plant Physiology*, 6(4): 685-694.
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23:112-121.
- Asghari, M. and Soleimani Aghdam, M. 2010. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science and Technology*, 21(1): 502-509.
- Azizi Yeganeh, M., Hadavi, E. and Kalhori, M. 2013. Effects of salicylic acid on quality of 'Bidaneh Sefid' table grapes during cold storage. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5 (18): 2041-2047.
- Bautista-Banos, S., Hernandez-Lauzardo, A.N., Velazquez-del Valle, M.G., Hernandez-Lo pez, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E. and Wilson, C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25: 108-111.
- Bradford, M. M. 1979. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Ding, C. K., Wang, C.Y., Gross, K.C. and Smith, D.L. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*, 214: 895-901.
- Einset, J., and Dratt, C. 1975. Grape. In *Advances in fruit breeding*. Edited by J. Janick and J.N. Moore. Purdue University Press, West Lafayette.
- Fabro, G., Kovacs, I., Pavet, V., Szabados, L. and Alvarez, M.E. 2004. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17: 343-350.
- FAO. 2016. Available online at: <http://faostat.fao.org/faostat>.
- Garcia, J. M., Aguilera, C. and Albi, M. A. 1995. Postharvest heat treatment on Spanish strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Tudla). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(6): 1489-1492.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd edition. Oxford University Press, Oxford.
- Han, T., Wang, Y., Li, L. and Ge, X. 2003. Effect of exogenous salicylic acid on postharvest physiology of peaches. *Acta Horticulturae*, 628: 583-589.
- Hayat, S. and Ahmad, A. 2007. *Salicylic Acid - A Plant Hormone*. Springer Netherlands.

- Irigoyen, J. J., Emerich, D.W and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84: 55-60.
- Maehly, A. and Chance, B. 1954. Catalases and peroxidases. *Methods Biochem Anal*, 1: 357-424.
- Millard, P. 1988. The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. *Plant Cell and Environment*, 11:1-8.
- Mundree, S.G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Willigen, C.V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J.M. and Thomson, J.A. 2002. Physiological and molecular insights into drought tolerance. *African Journal of Biotechnology*, 1: 28-38.
- Raskin, I. 1992. Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99: 799-803.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M. and Valero, D. 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 53:152-154.
- Sergive, I., Alexieva, V. and Karanov, E. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus De L Academie Bulgare Des Sciences*, 51: 121-124.
- Shafiee, M., Taghavi, T.S. and Babalar, M. 2010. Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. *Scientia Horticulturae*, 124: 40-45.
- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. and Zheng, Y. 2011. Effect of exogenous γ -Aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 1264-1268.
- Srivastava, M.K. and Dwivedi, U.N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science*, 158(1): 87-96.
- Stewart, R.R.C. and Bewley, J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65: 245-248.
- Tareen, M.J., Abbasi, N.A. and Ahmad, H.I. 2012. Effect of Salicylic Acid Treatment on Storage Life of Peach Fruits cv. Flordaking. *Pakistan Journal of Botany*, 44(1): 119-124.
- Wang, L., Chen, S., Kong, W., Shaohua, L. and Archbold, D. 2006. Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 244-251.
- Waseem, A., Ahmad, S., Ali, L. and Hussan, I. 2015. Effects of pre-harvest spray of salicylic (SA) and Methyl jasmonate (MeJA) on the phytochemicals and physiological changes during the storage of grapefruit Cv. Ra ruby. *International Journal of Biosciences*, 6 (1): 269-282.
- Zheng, Y. and Zhang, Q. 2004. Effects of polyamines and salicylic acid postharvest storage of 'Ponkan' Mandarin. *Acta Horticulturae*, 632: 317-320.

Investigation on the effect of salicylic acid in enhancing storage life and postharvest quality of grape "Soltanin"

Hanifeh Seyed Hajizadeh ^{1*}, Vahid Sedghiyeh² and Fahimeh Gholizadeh Vakilkandi²

1. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Maragheh

2. M.Sc. Students, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Maragheh

(Received: 17, Oct. 2017 - Accepted: 20, Jan. 2018)

Abstract

Regarding the increasing demand for table grapes consumption, the restrictions in maintenance postharvest life lead to decrease storage life and shelf life of the produce. Salicylic acid plays an important role in decreasing the adverse effects of biotic and/ or abiotic stresses such as low temperatures. In order to study the effect of salicylic acid treatment in preserving quality of "Soltanin" table grape, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with salicylic acid at 1, 2 and 4 mM, washing with distilled water and without washing (control) with 3 replications. After treatment, grapes were stored at 1 °C and 90% RH during 6 weeks and quality attributes were evaluated every once a week. The results showed that salicylic acid reduces some of the chilling injuries and maintains fruit quality. Also, treatment with salicylic acid enhanced proline content, total carbohydrates and decreased the activity of guaiacol peroxidase enzyme and H₂O₂ content. Treatment with 4 mM salicylic acid showed the highest total carotenoids after 2 weeks of cold storage. But according to the results, salicylic acid at 2 mM significantly extended the shelf life of "soltanin" table grape.

Keywords: Antioxidant enzymes, Edible quality, Total carotenoid, *Vitis vinifera*

* Corresponding author

E-mail: hajizade@maragheh.ac.ir