مقاله پژوهشی

تأثیر کاربرد پس از برداشت گاماآمینوبوتیریک اسید و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات بیوشیمیایی آلو رقم شابلون

بهروز همت‌جو[۱]*، محمدرضا اصغری[۲]، حمید حسن‌پور[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۳- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۳۰)

چکیده

با توجه به سرعت زوال بالای میوه آلو در دوره پس از برداشت و محدودیت استفاده از مواد شیمیایی، معرفی روش‌های طبیعی و سالم برای حفظ کیفیت و سلامت غذایی آلو ضروری می‌باشد. در این پژوهش تأثیر تیمارهای پس از برداشت گاماآمینوبوتیریک اسید (گابا) (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر) و اسید سالیسیلیک (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مول در لیتر) بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی میوه آلو در دو زمان ۱۶ و ۳۴ روز پس از نگهداری در دمای ۱±۰/۵°c و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. ارزیابی خصوصیات بیوشیمیایی در دو زمان ۱۶ و ۳۴ روز پس از انبار و پس از اینکه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، انجام گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز، آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و محتوای فنل کل و فلاونوئید کل در دوره انبارداری ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که تیمار ترکیبی گابا و اسید سالیسیلیک به طور معنی‌داری باعث حفظ میزان فنل کل، فلاونوئید کل و افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز گردید و تیمار ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد و سایر تیمارها گردید. بطور کلی نتایج نشان داد که تیمارهای گابا و اسید سالیسیلیک می‌تواند به طور موثری به حفظ خواص کیفی میوه آلو "شابلون" کمک کند.

کلمات کلیدی: آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، آنزیم کاتالاز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید کل

۱- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

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

* پست الکترونیک: hemmatjo.b71@gmail.com

مقدمه

آلوی رقم شابلون (*Prunus salicina* Lindell cv. Shablon) جزو میوه‌های هسته‌دار بوده و به عنوان یکی از درختان منطقه سرد و معتدل مورد کشت قرار می‌گیرد (منگناریس[1] و همکاران، ۲۰۰۷). آلو دارای طیف وسیعی از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها (A، E و C)، مواد معدنی (پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم)، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فیتوشیمیایی است که باعث ایجاد ظرفیت آنتی اکسیدانی قوی در آلو می‌گردد (کلی و آبت[2]، ۲۰۱۲). این میوه دارای فعالیت متابولیکی بالاست، بنابراین در طول انبارداری سریع فاسد می‌گردد و به همین دلیل عمر قفسه‌ای آن کم می‌باشد (سینگ[3] و همکاران، ۲۰۰۹). ترکیبات زیست فعال موجود در میوه‌های تازه آلو نقش مهمی در حفظ سلامت غذایی ایفا می‌کنند (هانم[4]، ۲۰۰۴). آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بافت میوه مسئول حذف رادیکال‌های آزاد در سلول‌های گیاهی هستند (اصغری و سلیمانی‌اقدم[5]، ۲۰۱۰). ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در آلو نظیر فلاونوئیدها، فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند که می‌توانند سلول‌ها را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) محافظت کنند (چان[6] و همکاران، ۲۰۰۳). امروزه در تکنولوژی پس از برداشت تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی و سالم، بیشتر شده است، که ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان مانند سالیسیلیک اسید و گاماآمینو بوتیریک اسید (گابا) نمونه‌ای از این ترکیبات هستند که می‌توانند در افزایش عمر قفسه‌ای و حفظ کیفیت محصولات باغی مورد استفاده قرار گیرند.

گابا به‌عنوان یک اسیدآمینه غیرپروتئینی در حیوانات، گیاهان و باکتری‌ها محسوب می‌شود که اثرات خوبی در تحریک سیستم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌ها نشان می‌دهد (کلارک[7] و همکاران، ۲۰۰۹). گابا در برابر افزایش دی‌اکسیدکربن و تنش‌هایی مانند تحریک مکانیکی، زخم‌های مکانیکی، اسیدی شدن سیتوسول، شوری، کمبود اکسیژن، خشکی و سرما در گیاه تجمع می‌یابد که پاسخ متابولیکی در گیاه است (شلپ[8] و همکاران، ۲۰۱۲). گابا می‌تواند به صورت مستقیم از پلی‌آمین‌ها که در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی تجمع می‌یابند، تشکیل شود (آلکزار[9] و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج مطالعات اخیر روی میوه موز نشان می‌دهد که تیمار با گابا می تواند محتوای فنل کل، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و ظرفیت آنتی‌اکسیدان را افزایش دهد (وانگ[10] و همکاران، ۲۰۱۴). تیمار پس از برداشت گابا در میوه هلو با افزایش تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث حفظ خصوصیات فیزیکی و کیفیت تغذیه‌ای میوه گردید (یانگ[11] و همکاران، ۲۰۱۱). با این حال، اطلاعات در مورد استفاده از گابا به عنوان تیمار پس از برداشت محدود است.

اسید سالیسیلیک جزو ترکیبات فنلی است که در فرآیند فیزیولوژی گیاه نقش مهمی را ایفا می‌کند و مانع از زوال پس از برداشت در محصولات باغی می‌شود (اصغری و سلیمانی‌اقدم، ۲۰۱۰). این ترکیب به عنوان یک هورمون گیاهی در افزایش فعالیت آنزیم PAL نقش داشته که با افزایش فعالیت این آنزیم، سنتز و تجمع ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد. ترکیبات فنلی به‌دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، موجب افزایش مقاومت بافت به تنش‌های زنده و غیرزنده در محصولات می‌گردد (دخانیه[12] و همکاران، ۲۰۱۳).

اسید سالیسیلیک به طور طبیعی در طیف گسترده‌ای از گیاهان آلی دیده می‌شود و به عنوان عامل محرک و یا سیگنالی درگیر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله تأخیر در رسیدن و پیری میوه نقش دارد (والرو[13] و همکاران، ۲۰۱۱). تیمار میوه زردآلو با اسید سالیسیلیک باعث حفظ محتوای فنل کل در پس از برداشت این میوه شده است (وانگ و همکاران، ۲۰۱۵). اسید سالیسیلیک با مهار بیوسنتز و عملکرد اتیلن موجب تأخیر در پیری میوه و ارتقاء کیفیت میوه‌ها می‌گردد (چان[14] و همکاران، ۲۰۰۷). کاربرد اسید سالیسیلیک در

1. Manganaris
2. Kole and Abbott
3. Singh
4. Hannum
5. Asghari and Soleimani Aghdam
6. Chun
7. Clark
8. Shelp
9. Alcazar
10. Wang
11. Yang
12. Dokhanieh
13. Valero
14. Chan

میوه توت فرنگی در دوره پس از برداشت با افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش عمر قفسه‌ای، حفظ و بهبود کیفیت تغذیه‌ای میوه شده است (اصغری و رشید حسنلویی، ۲۰۱۵). آنزیم PAL نقش مهمی در بیوسنتز ترکیبات فنلی دارد که این مسیر توسط اسید سالیسیلیک تنظیم می‌شود (دخانیه و همکاران، ۲۰۱۳). هدف از این پژوهش بررسی اثر متقابل دو ترکیب طبیعی گابا و اسید سالیسیلیک است که انتظار می‌رود بتواند بعنوان یک روش عاری از اثرات زیست محیطی، موجب افزایش عمر قفسه‌ای، حفظ خصوصیات فیزیکی و کیفیت تغذیه‌ای میوه آلو در دوره پس از برداشت گردد.

مواد و روش

تهیه مواد گیاهی و اعمال تیمار

میوه‌های آلو رقم شابلون پس از رسیدن کامل تجاری (محتوای مواد جامد محلول ۱۰ تا ۱۲ درجه بریکس) از باغ آلوی واقع در ۳۰ کیلومتری جاده ارومیه - سلماس برداشت شده و جهت انجام تیمارها و آزمایشات به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل گردیدند. این پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار، سه غلظت گابا (با فرمول شیمیایی $C_4H_9NO_2$ و جرم مولی ۱۰۳/۱۲g/mol ساخت شرکت مرک آلمان) (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار)، سه غلظت اسید سالیسیلیک (ساخت شرکت سیگما) (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و دو زمان نگهداری (۱۶ و ۳۴ روز) به اجرا درآمد. نحوه اعمال تیمارها به این صورت بود که پس از جداسازی میوه‌های سالم ابتدا میوه‌ها با اسید سالیسیلیک در غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار به مدت ۵ دقیقه غوطه‌ور شده و پس از خشک شدن کامل، در محلول گابا در غلظت صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار به مدت ۱۳ دقیقه قرار داده شدند. بعد از یک ساعت میوه‌ها در داخل ظروف پلاستیکی در بسته (ظروف یکبار مصرف لانچ باکس) قرار داده شد و به مدت ۳۴ روز در دمای ۱±۰/۵°c با رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۵ درصد در سردخانه نگهداری شدند. صفات مورد نظر پس از ۱۶ و ۳۴ روز نگهداری در سردخانه و بعد از اینکه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند، اندازه‌گیری شدند.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن براساس روش بیرس و سیزر[1] (۱۹۵۲) با کمی تغییرات صورت پذیرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 یک درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از معادله ۱ به صورت کاهش در طی یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico2100SUv) در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت است از میزان تغییر کاتالاز به مقدار ۰/۰۱ در دقیقه در یک میلی‌لیتر از عصاره آنزیم بود.

(معادله ۱)

$$\text{فعالیت آنزیم} = \frac{\Delta A}{\text{Min}} * \frac{1}{0/0436} * \frac{Total\ volume}{\text{sample volume}} * \text{df}$$

ΔA: اختلاف جذب؛ Min: دقیقه؛ Total volume: حجم کل نمونه؛ Sample volume: مقدار عصاره در نمونه؛ df: Dilution factor: فاکتور رقت

اندازه گیری فعالیت آنزیم PAL

برای تهیه عصاره گیاهی از نمونه‌های میوه جهت سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز از بافر استخراج که شامل بافر بورات ۰/۱ مولار ($H_3BO_3/Na_2B_4O_7.10H_2O$) با pH برابر ۷ و ۰/۱ درصد پلی‌وینیل پیرولیدون[2] و ۲- مرکاپتو اتانول[3] ۱/۴ میلی‌مولار می‌باشد، 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 میلی لیتر بافر بورات ۰/۱ مولار با pH برابر ۸/۸ و ۰/۵ میلی لیتر L- فنیل‌آلانین ۱۲ میلی‌مولار به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس تشکیل سینامیک اسید بوده، لذا ۳۰ دقیقه زمان و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای تشکیل این ترکیب لازم است. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با سل‌های کوارتز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico2100SUv) قرائت شده و واحد فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک

1. Beers and Seizer
2. Polyvinyl-pyrolidone
3. Mercaptoethanol

اسید ($9630\ mM^{-1}\ cm^{-1}$) بر حسب واحد nmol trans-cinamic acid mg^{-1} protein min^{-1} محاسبه گردید (کارتیکیین[1] و همکاران، ۲۰۰۶).

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل

برای ارزیابی فلاونوئید کل ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده را با ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت‌سدیم ۵ درصد مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰درصد به آن اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه یک میلی‌لیتر سود (NaOH) ۱ مولار اضافه شد. در نهایت حجم نهایی را به ۵ میلی‌لیتر رسانده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاونوئید کل از معادله ۲ و بر حسب میلی‌گرم کاتچین بر گرم وزن تر بدست آمد (یانگژه[2] و همکاران، ۲۰۰۷).

$$y = 0.002x + 0.011 \qquad \text{(معادله ۲)}$$

اندازه‌گیری محتوای فنل کل

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی با استفاده از روش فولین سیوکالتیو[3] به شرح زیر انجام شد: ابتدا عصاره میوه با آب میوه‌گیری تهیه شده و از کاغذ صافی عبور داده شد و در میکروتیوب دو میلی‌لیتر ریخته شد. سپس آب میوه را سانتریفیوژ کرده و محلول رویی درون میکروتیوب دیگری ریخته شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و روی آن سه میلی‌لیتر آب مقطر و به دنبال آن ۰/۵ میلی لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد اضافه شد و پس از قرار دادن به مدت سه تا پنج دقیقه در دمای اتاق ۱/۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم به آن اضافه شد و به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. از محلول تهیه شده به مقدار لازم برداشته و جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد (واترهاوس[4]، ۲۰۰۲).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه (۹/۲)، تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت (جدول ۱).

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم کاتالاز

با توجه به جدول ۱ اثر متقابل گابا و اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار می‌باشد. بیشترین فعالیت این آنزیم بعد از ۳۵ روز انبارداری در میوه‌های تیمار شده با ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. پس از ۱۷ روز انبارداری کمترین فعالیت این آنزیم در میوه‌هایی مشاهده شد که با ۱۰ میلی‌مولار گابا تیمار شده بودند. تیمارهای ۲۰ میلی مولار گابا و تیمار ترکیبی ۱۰ میلی‌مولار گابا و ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک نیز بعد از ۳۵ روز انبارداری باعث افزایش فعالیت این آنزیم شده است. بعد از ۱۷ روز انبارداری تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار اسید سالیسیلیک و تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک و گابا وجود داشت در حالیکه پس از ۳۵ روز انبارداری هیچ تفاوت معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نگردید (شکل ۱).

رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در طول متابولیسم طبیعی سلول‌ها و همچنین در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده تجمع پیدا می‌کنند که آنتی اکسیدان‌ها نقش پاک‌سازی این رادیکال‌های آزاد را برعهده دارند. با پیر شدن بافت‌ها و میوه‌ها، فعالیت‌های متابولیکی افزایش و در نتیجه رادیکال‌های آزاد و تولید گونه‌های فعال اکسیژن همزمان افزایش می‌یابد. پس در نتیجه هر عاملی که باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول شود منجر به کاهش در میزان رادیکال‌های آزاد شده و با حفظ سیستم آنتی‌اکسیدانی، پیری و تخریب بافت میوه دیرتر اتفاق می‌افتد. در این میان افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با کاربرد اسید سالیسیلیک در بسیاری از میوه‌ها مورد تأیید محققان مختلف می‌باشد (سیاری[5] و همکاران، ۲۰۱۱؛ تارن[6] و همکاران، ۲۰۱۲). در گیاهان گابا نیز می‌تواند در پاسخ به تنش‌های مختلف به سرعت تجمع پیدا کند و در سیستم دفاعی در برابر آن عمل کند. به جز اثر غیرمستقیم گابا در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، دارای توانایی پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده تحت تنش می‌باشد (شلپ[7] و همکاران، ۱۹۹۹؛ لیو[8] و همکاران، ۲۰۱۱). در این

1. Karthikeyan
2. Youngjae
3. Folin ciucaeltiu
4. Waterhouse
5. Sayyari
6. Tareen
7. Shelp
8. Liu

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تیمار پس از برداشت گابا و اسید سالیسیلیک روی فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای فنل کل، فعالیت آنزیم PAL و فلاونوئید کل میوه آلوی رقم شابلون طی دوره انبارداری

تیمار		میانگین مربعات			
	درجه آزادی	آنزیم کاتالاز	فنل کل	آنزیم PAL	فلاونوئید کل
گابا	۲	۳۱۶/۴۸*	۳۰۴۳/۲۷**	۰/۰۰۸۲*	۴۴۹/۹۴*
سالیسلیک اسید	۲	۳۱۳/۲۵*	۲۲۴۹/۱۵*	۰/۰۱۱۴**	۱۴۱۰/۰۱**
زمان	۱	۱۱۰۵/۲۵**	۷۳۶۴۶/۶۸**	۰/۰۱۰۸*	۱۲۳۳/۳۸**
گابا × اسید سالیسیلیک	۴	۴۹۸/۹۶**	۲۷۶۰/۸۶**	۰/۰۱۱۸**	۴۳۶/۸۸*
گابا × زمان	۲	۹۲۰/۰۱**	۱۸۳۹/۹۵^{ns}	۰/۰۰۰۳**	۳۱۶/۵۸^{ns}
سالیسیلیک اسید × زمان	۲	۵/۵۳^{ns}	۱۵۷۷/۶۸^{ns}	۰/۰۱۷۰**	۵۷۶/۴۳*
گابا × اسید سالیسیلیک × زمان	۴	۴۵۸/۷۵**	۶۳۰۱/۱۶**	۰/۰۱۱۷**	۲۹۴۸/۶۵**
اشتباه آزمایشی	۵۴	۷۲/۷۰	۵۸۳/۲۹	۰/۰۰۲۶	۱۳۶/۲۸
ضریب تغییرات		۱۰/۶۱	۱۰/۲۷	۱۷/۰۸	۱۳/۰۸

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

تحقیق، اثرات ساده اسید سالیسیلیک و همچنین در ترکیب با گابا باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است (شکل ۱).

در این پژوهش اسید سالیسیلیک به تنهایی و همچنین در ترکیب با گابا باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است. اثرات مثبت اسید سالیسیلیک و گابا در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز که به عنوان حذف کننده رادیکال‌های آزاد در سیستم آنتی‌اکسیدانی فعالیت می‌کند، در این پژوهش مشاهده شد. نتایج نشان‌دهنده این است که هر کدام از این ترکیبات طبیعی به شیوه‌ای متفاوت در سیستم آنتی اکسیدانی در برابر رادیکال‌های آزاد در بخش‌های مختلف بافت گیاهی عمل می‌کنند. با توجه به اینکه سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده درون‌زا در القاء مقاومت موضعی و سیستمیک در بسیاری از بافت‌های گیاهی نقش دارد (اصغری و سلیمانی‌اقدم، ۲۰۱۰)، می‌توان گفت که این ترکیب در طی پس از برداشت موجب حفظ بافت میوه خواهد شد. نتایج مشابه در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در دوره پس از برداشت در میوه توت‌فرنگی که با اسید سالیسیلیک تیمار شده بودند گزارش شده است (اصغری و رشیدحسنلویی، ۲۰۱۵). تیمار با اسید سالیسیلیک فعالیت آنزیم کاتالاز در میوه‌های هلو، سیب و زردآلو را افزایش داده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (موو[1] و همکاران، ۲۰۰۸؛ تارن و همکاران، ۲۰۱۲؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۵).

گابا نیز از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی منجر به پاکسازی رادیکال‌های آزاد شده است و از این طریق بافت را در برابر تنش‌ها محافظت می‌کند (سلیمانی اقدم[2] و همکاران، ۲۰۱۶). یانگ و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که تیمار میوه‌های هلو با گابا باعث افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیرکاتالاز شده است، که تأیید کننده نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

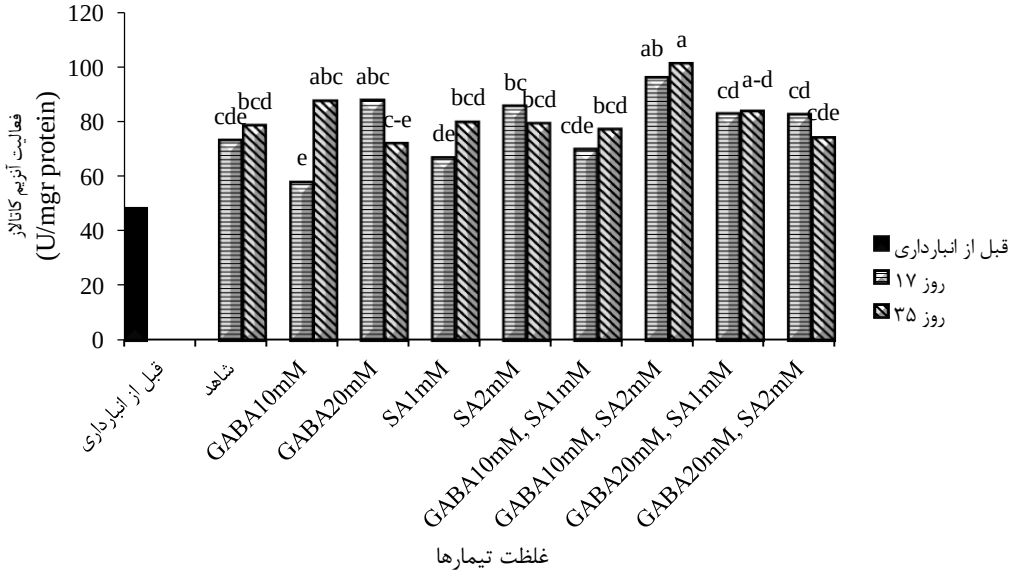
محتوای فنل کل

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثرات متقابل سه جانبه گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری روی محتوای فنل کل میوه آلو معنی‌دار بود. در دوره دوم انبارداری بالاترین میزان فنل کل مربوط به میوه‌هایی بود که با تیمار ترکیبی ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱۰ میلی‌مولار گابا تیمار شده بودند. که این امر نشان دهنده اثرات توأم دو ترکیب طبیعی در افزایش محتوای فنل کل میوه می‌باشد. تأثیر اسید سالیسیلیک در افزایش اثرات مثبت گابا روی محتوای فنل کل میوه به طور معنی‌داری در دوره انبارداری طولانی مدت افزایش پیدا کرده بود.

ترکیبات فنلی یکی از متابولیت‌های گیاهی بوده که از مسیر اسید شیکمات سنتز می‌شوند و نقش مهمی در خنثی‌سازی اثر رادیکال‌های آزاد دارند. فنل در گیاهان از

1. Mo

2. Soleimani Aghdam



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر فعالیت آنزیم کاتالاز میوه آلوی رقم شابلون. (SA1mM: ۱میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: ۲میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: ۱۰ میلی‌مولار گابا، GABA20mM: ۲۰ میلی‌مولار گابا).

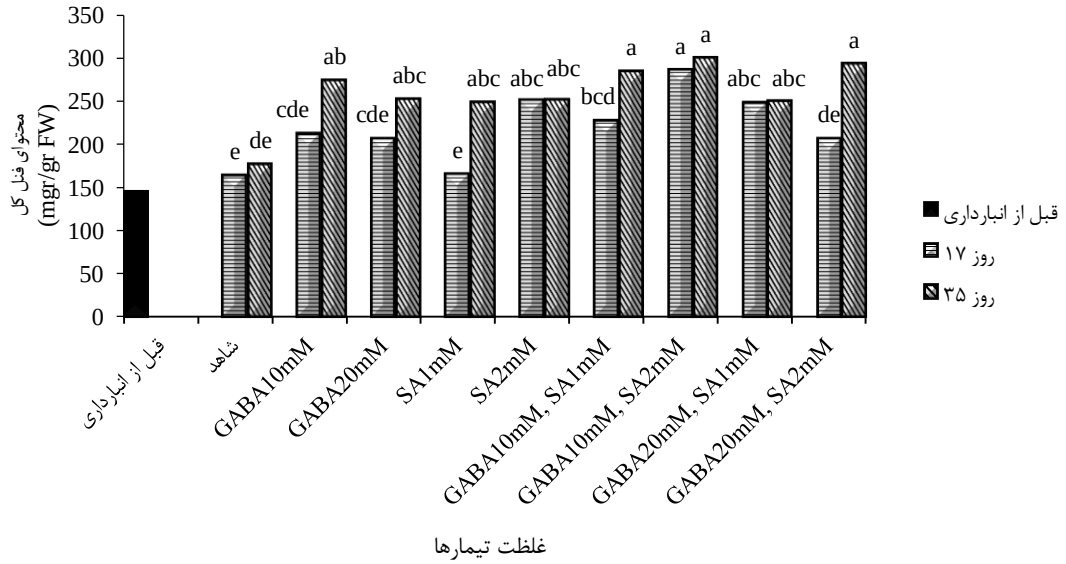
اسید سینامیک و توسط آنزیم PAL سنتز می‌شود. فنل‌ها نقش مهمی در سیستم دفاعی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کنند (تسای[1] و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسید سالیسیلیک و گابا به صورت معنی‌داری باعث افزایش فنل کل شده است. گابا با تأثیری که بر تحریک فعالیت آنزیم PAL دارد باعث تولید ترکیبات فنلی شده در نتیجه منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بافت میوه می‌گردد. ترکیبات فنلی در ارزش تغذیه‌ای و کیفیت میوه از طریق تغییر در رنگ، عطر و طعم موثر هستند. افزایش میزان فنل کل در میوه‌های هلو و موز که با گابا تیمار شده بودند نیز مشاهده شده است که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد (یانگ و همکاران، ۲۰۱۱؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین افزایش در میزان فنل کل در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم تیمار شده با گابا نیز مشاهده شده است (سلیمانی‌اقدم و همکاران، ۲۰۱۶). با توجه به نتایج می‌توان گفت که افزایش ترکیبات فنلی احتمالاً با افزایش در میزان فعالیت آنزیم PAL همراه بوده است. همچنین اسید سالیسیلیک کاربردی در پس از برداشت منجر به افزایش میزان فنل کل در پرتقال ناول، عناب و گیلاس شده است که تأیید کننده نتایج این پژوهش می‌باشد (هووانگ[2] و همکاران، ۲۰۰۸؛ کاو[3] و همکاران، ۲۰۱۳؛ گیمنز[4] و همکاران، ۲۰۱۴). هنوز مکانیسم دقیق اسید سالیسیلیک در افزایش ترکیبات فنلی مشخص نشده است. ممکن است پراکسیدهیدروژن نقش کلیدی در تنظیم فعالیت PAL و تجمع ترکیبات فنلی داشته باشد که در این تحقیق میزان تجمع ترکیبات فنلی به احتمال زیاد تحت تأثیر آنزیم PAL قرار گرفته است.

فعالیت آنزیم PAL

با توجه به شکل ۳ میوه‌هایی که با ۲۰ میلی‌مولار گابا تیمار شده بودند، بیشترین فعالیت آنزیم PAL را نسبت به بقیه تیمارها نشان دادند. علاوه بر این میزان فعالیت این آنزیم در میوه‌های تیمار شده با تیمار ترکیبی ۱۰ میلی مولار گابا و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بعد از ۳۵ روز انبارداری نسبت به تیمار شاهد کمتر شده بود. همچنین در میوه‌های تیمار شده با ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و ۱۰ میلی‌مولار گابا در دوره اول انبارداری (روز ۱۷م انبارداری) باعث افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به میوه‌های شاهد شد در حالی که در دوره دوم انبارداری

1. Tsai

2. Huang
3. Cao
4. Gimenez

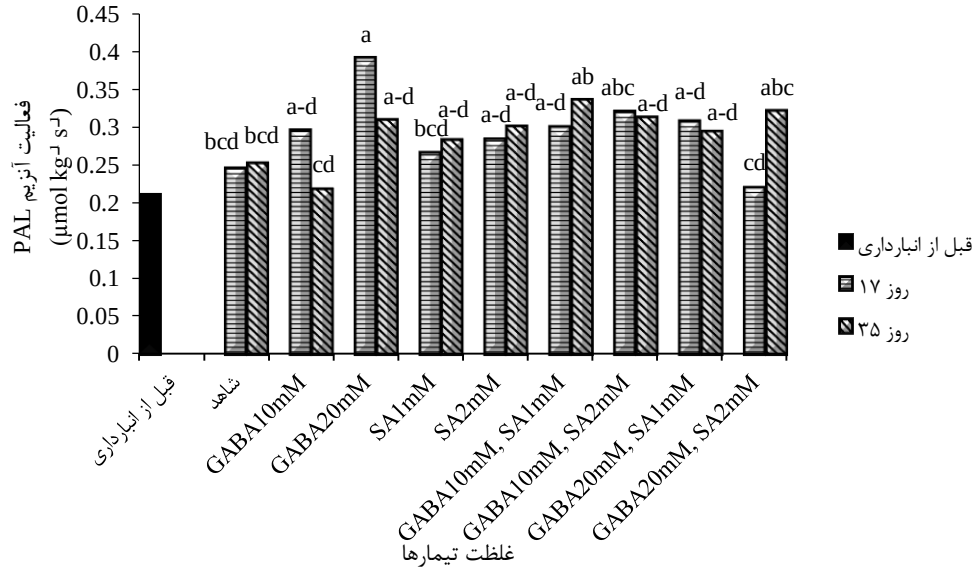


شکل ۲- مقایسه میانگین متقابل گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر محتوای فنل کل میوه آلوی رقم شابلون. (SA1mM: ۱میلی-مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: ۲میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: ۱۰ میلی‌مولار گابا، GABA20mM: ۲۰ میلی‌مولار گابا).

(روز ۳۵م انبارداری) نتایج برعکس مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که اثر زمان روی فعالیت این آنزیم تأثیر منفی داشته است و فعالیت این آنزیم در همه تیمارها در دوره دوم نسبت به دوره اول اندازه‌گیری کاهش پیدا کرده است.

آنزیم PAL آنزیم موثر در متابولیسم فنیل پروپانوئید می‌باشد و باعث کاتالیز فنیل‌آلانین به سیانیک اسید می‌شود (دیکسون و پایوا[1]، ۱۹۹۵؛ استراک[2]، ۱۹۹۷). آنزیم PAL توسط گابا و سالیسیلیک اسید فعال می‌شود که در بیوسنتز فنل‌ها و سالیسیلیک اسید نقش دارد و باعث فعال شدن مقاومت موضعی و سیستمیک می‌شود. با توجه به نتایج این پژوهش در میوه‌های تیمار شده با سالیسیلیک اسید و گابا، فعالیت آنزیم PAL نسبت به میوه‌های کنترل افزایش پیدا کرده است (شکل ۳). این امر نشان دهنده این است که اسید سالیسیلیک و گابا باعث راه‌اندازی یک آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در میوه آلو شده است. بنابراین نتایج نشان دهنده آن است که اسید سالیسیلیک و گابا ممکن است به عنوان یک مولکول بالقوه برای فعال کردن مسیر فلاونوئید- فنیل پروپانوئید در بافت‌های گیاهی باشد، که منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه می‌شود. تیمار میوه‌های موز با گابا باعث افزایش فعالیت PAL شد که این امر منجر به افزایش میزان فنل کل در میوه‌های تیمار شده با گابا نسبت به شاهد شد، که با نتایج مشاهده شده در این تحقیق مطابقت داشت (وانگ و همکاران، ۲۰۱۶). کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه پرتقال موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL شد که این امر منجر به افزایش محتوای فنلی و حفظ میوه در طی دوره پس از برداشت گرید (زو[3] و همکاران، ۲۰۱۴). کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه زردآلو نیز در طی دوره پس از برداشت منجر به افزایش فعالیت آنزیم شد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۵). این آنزیم به هنگام تولید رادیکال‌های آزاد در بافت تجمع می‌یابد که این امر ممکن است به‌دلیل پراکسید هیدروژنی باشد که به‌عنوان سیگنال عمل کرده و موجب افزایش فعالیت این آنزیم می‌گردد که احتمالا اسید سالیسیلیک به دلیل تنظیم متابولیسم پراکسید هیدروژن موجب کاتالیز این فرآیند می‌گردد (اصغری و سلیمانی اقدم، ۲۰۱۰).

1. Dixon and Paiva
2. Strack
3. Zhou



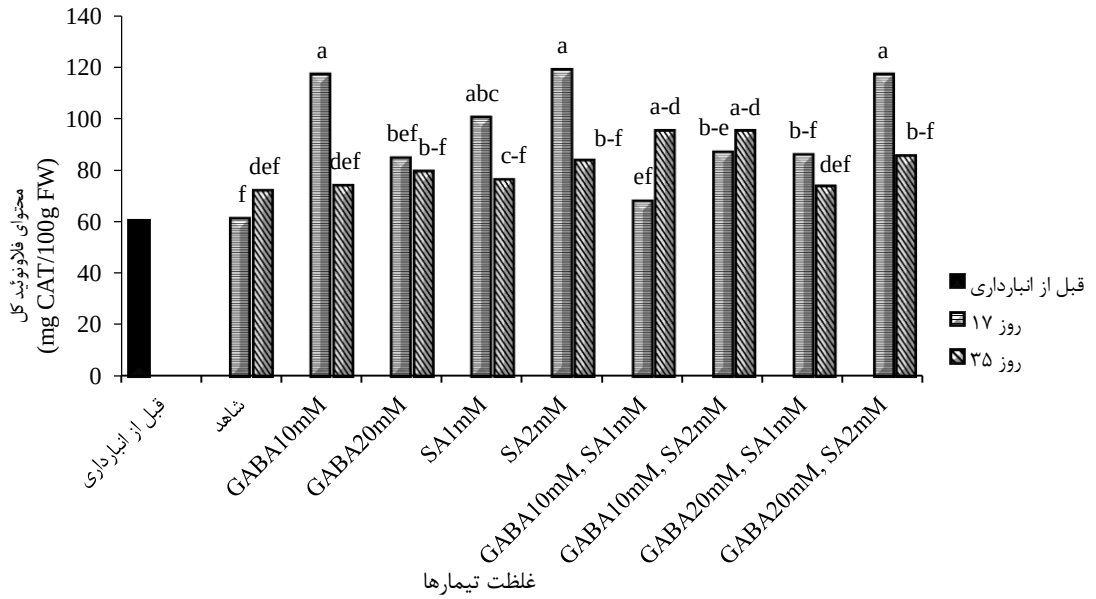
شکل ۳- اثر متقابل گابا و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم PAL میوه آلوی رقم شابلون. (SA1mM: ۱میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: ۲میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: ۱۰ میلی‌مولار گابا، GABA20mM: ۲۰ میلی‌مولار گابا).

محتوای فلاونوئید کل

میوه‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک و تیمار ترکیبی ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۲۰ میلی‌مولار گابا بیشترین میزان فنل کل را نشان دادند (شکل ۴). با افزایش غلظت تیمارها، میزان فنل کل میوه زیاد شد (شکل ۴). نتایج نشان داد که اثرات سینرژیستی اسید سالیسیلیک و گابا در طول دوره انبارداری باعث افزایش فنل کل شد (شکل ۴).

فلاونوئیدها جزو سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی بوده و نقش مهمی در خنثی‌سازی اثرات رادیکال‌های آزاد بازی می‌کنند در نتیجه باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می‌شوند (حسن‌پور و همکاران، ۲۰۱۱). طبق نتایج، تیمارهای اسید سالیسیلیک و گابا در ترکیب با همدیگر روی فلاونوئید کل تأثیر مثبتی داشتند و میزان فلاونوئید کل را نسبت به میوه‌های شاهد افزایش دادند (شکل ۴). اثر گابا در افزایش میزان فلاونوئید کل ممکن است به دلیل تحریک تولید و فعالیت آنزیم PAL بوده که در واقع باعث تحریک مسیر فنیل پروپانوئیدی می‌شود (سلیمانی اقدم و همکاران، ۲۰۱۶). مسیر فنیل پروپانوئیدی باعث سنتز ترکیبات فنلی نظیر ترکیبات فلاونوئیدی می‌شود. تیمار میوه‌های هلو در دوره پس از برداشت با غلظت‌های مختلف گابا باعث افزایش میزان فلاونوئید کل شده است (یانگ و همکاران، ۲۰۱۱). کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه پرتقال و زردآلو باعث افزایش تجمع فلاونوئید کل شد که این امر در نتیجه فعال شدن سیستم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی در اثر اسید سالیسیلیک می‌باشد که با نتایج این تحقیق همسو بودند (هوانگ، ۲۰۰۸؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۵). زمان انبارداری روی میزان فلاونوئید کل تأثیر معنی‌دار داشته و به تدریج در طول دوره نگهداری کاهش یافت به طوری که در دوره دوم نگهداری میزان فنل کل نسبت به دوره اول نگهداری کمتر شد. اسید سالیسیلیک در اثر تحریک فعالیت آنزیم PAL باعث تجمع فلاونوئید کل و دیگر متابولیت‌ها در گیاه می‌شود (کیم[1] و همکاران، ۲۰۰۶). افزایش میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل در این تحقیق تحت تیمار گابا و اسید سالیسیلیک می‌تواند از افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها به ویژه افزایش بیان ژن مسئول سنتز آنزیم PAL که اولین آنزیم در مسیر سنتز ترکیب‌های فنلی بویژه فلاونوئیدها است، ناشی شده باشد.

1. Kim



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر محتوای فلاونوئید کل میوه آلوی رقم شابلون. (SA1mM: ۱میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: ۲میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: ۱۰ میلی‌مولار گابا، GABA20mM: ۲۰ میلی‌مولار گابا).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که اثر مثبت تیمارهای سالیسیلیک اسید و گابا به عنوان یک ترکیب طبیعی و سالم روی میوه آلو ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های PAL، کاتالاز و همچنین تجمع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشد. با توجه به یافته های این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این ترکیبات با ایجاد سیستم آنتی‌اکسیدان قوی میوه‌ها را در برابر تنش‌های اکسیداتیو و ROS حفظ کرده و منجر به ارتقاء سیستم دفاعی میوه آلو شده است، که این امر باعث حفظ کیفیت میوه در طول ذخیره‌سازی گردید. علاوه بر این کاربرد پس از برداشت ترکیبات مذکور می‌توانند رسیدن و پیری بافت میوه را به تأخیر بیاندازند و از این طریق باعث گسترش عمر انباری میوه و حفظ ویژگی‌های کیفی میوه با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های دفاعی شوند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تیمار با گابا و سالیسیلیک اسید با غلظت‌های مختلف اثرات معنی‌داری بر صفات مورد اندازه‌گیری داشت و باعث حفظ خصوصیات کیفی و ارتقاء عمر ماندگاری میوه آلوی رقم شابلون گردید.

منابع

Alcazar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P. and Tiburico, A.F. 2010. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. Plant Physiology, 231: 1237-1249.

Asghari, M. and Hasanlooe, A.R., 2015. Interaction effects of salicylic acid and methyl jasmonate on total antioxidant content, catalase and peroxidase enzymes activity in "Sabrosa" strawberry fruit during storage. Scientia Horticulturae, 197: 490–495.

Asghari, M. and Soleimani Aghdam, M.S. 2010. Impact of salicylic acid on postharvest physiology of horticulture crop. Trends Food Science and Technology, 21: 502–509.

Beers, J. and Sizer, I.W. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Journal of Biological Chemistry, 95: 133-140.

Cao, J.K., Yan, J.Q., Zhao, Y.M. and Jiang, W.B. 2013. Effects of four pre-harvest foliar sprays with β-aminobutyric acid or salicylic acid on the incidence of post-harvest disease and induced defence responses in jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) fruit after storage. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 88: 338-344.

Chan, Z.L., Qin, G.Z., Xu, X.B., Li, B.Q. and Tian, S.P. 2007. Proteome approach to characterize proteins induced by antagonist yeast and salicylic acid in peach fruit. Journal of Proteome Research, 6: 1677–1688.

Chun, O.K., Kim, D.O., Moon, H.Y., Kang, H.G. and Lee, C.Y. 2003. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 7240-7245.

Clark, S.M., Leo, R.D., Van Cauwenberghe, O.R., Mullen, R.T. and Shelp, B.J. 2009. Subcellular localization and expression of multiple tomato γ-aminobutyrate transaminases that utilize both pyruvate and glyoxylate. Journal of Experimental Botany, 60: 3255– 3267.

Dixon, R.A., Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell, 7: 1085–1097.

Gimenes, M.J., Valverde, J.M., Valero, D., Guilen, F., Martinez-Romero, D., Serrano, M. and Castillo, S. 2014. Quality and antioxidant properties on sweet cherries as affected by preharvest salicylic and asetylsalicylic acid treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 160: 226-232.

Hannum, S.M. 2004. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44(1): 1-17.

Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J. and Adlipour, M. 2011. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. Scientia Horticulturae, 129: 459–463.

Huang, R.H., Liu, J.H., Lu, Y.M. and Xia, R.X. 2008. Effect of salicylic acid on the antioxidant system in the pulp of 'Cara cara' navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) at different storage temperatures. Postharvest Biology and Technology, 47: 168–175.

Karthikeyan, M., Radhika, K., Bhaskara, R., Samiyappan, R. and Velazhahan, R. 2006. Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera* L.) roots treated with biocontrol agent. Brazilizn Journal of Plant Physiology, 18: 367-377.

Kim, H.J., Chen, F., Wang, X. and Choi, J.H. 2006. Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate, and metabolic enzymes in radish sprout (*Raphanus sativus* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 7263–7269.

Kole, C. and Abbott, A.G. 2012. Genetics ,Genomics and Breeding of Stone Fruits. CRC Press.

Liu, C.L., Zhao, L. and Yu, G.H. 2011. The dominant glutamic acid metabolic flux to produce gamma-amino butyric acid over proline in *Nicotiana tabacum* leaves under water stress relates to its significant role in antioxidant activity. Journal of Integrative Plant Biology, 53: 608–618.

Manganaris, G.A., Vicente, A.R., Crisosto, C.H. and Labavitch, J.A. 2007. Effect of dips in a 1-methylcyclopropene generating solution on 'harrow sun' plums stored under different temperature regimes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 7015– 7020.

Mo, Y., Gong, D., Liang, G., Han, R., Xie, J. and Li, W. 2008. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during postharvest storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 88: 2693-2699

Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Serrano, M., Serrano, M. and Valero, D. 2011. Vapor treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 124: 964–970.

Shelp, B.J., Bown, A.W. and McLean, M.D. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. Trends in Plant Science, 4: 446–452.

Shelp, B.J., Bozzo, G.G., Trobacher, C.P., Chiu, G. and Bajwa, V.S. 2012. Strategies and tools for studying the metabolism and function of Gamma-aminobutyrate in plants. Journal of Experimental Botany, 90: 651–668.

Singh, S.P., Singh, Z. and Swinny, E.E. 2009. Sugars and organic acids in Japanese plums (*Prunes salicina* Lindell) as influenced by maturation, harvest date, storage temperature and period. International Journal of Food Science and Technology, 44: 1973–1982.

Soleimani Aghdam, M., Naderi, R., Jannatizadeh, A., Askari Sarcheshmeh, M.A. and Babalar, M. 2016. Enhancement of postharvest chilling tolerance of anthurium cut flowers by gamma-aminobutyric acid (GABA) treatments. Scientia Horticulturae, 198: 52–60.

Strack, D., 1997. Phenolic metabolism. In: Dey, P.M. and Harborne, J.B. (Eds.), Plant Biochemistry. Academic Press, San Diego, pp. 387–434.

Tareen, M.J., Abbasi, N.A. and Hafizb, I.A. 2012. Postharvest application of salicylic acid enhanced antioxidant enzyme activity and maintained quality of peach cv. 'Flordaking' fruit during storage. Scientia Horticulturae, 142: 221–228.

Tsai, C.J., Harding, S.A., Tschaplinshi, T.J., Lindroth, R.L. and Yuan, Y. 2006. Genome-wide analysis of the structural genes regulating defense phenylpropanoid metabolism in *Populus*. New Phytologist Journal Abbreviation, 172: 47–62.

Valero, D., Diaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillen, F., Martinez-Romero, D. and Serrano, M. 2011. Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 5483–5489.

Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, SH. and Du, R. 2014. Effect of exogenous gamma-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. Scientia Horticulturae, 168: 132-137.

Wang, Y., Luo, Z., Mao, L. and Ying, T. 2016. Contribution of polyamines metabolism and GABA shunt to chilling tolerance induced by nitric oxide in cold-stored banana fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 197: 333-339.

Wang, Z., Ma, L., Zhang, X., Xu, L., Cao, J. and Jiang, W. 2015. The effect of exogenous salicylic acid on antioxidant activity, bioactive compounds and antioxidant system in apricot fruit. Scientia Horticulturae, 181: 113–120.

Waterhouse, A.L. 2002. Determination of total phenolics. Current Protocols in Food Analytical Chemistry New York units, 3:18-19.

Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. and Zheng, Y. 2011. γ-Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 129(4): 1619-1622.

Youngjae, S., Rui Hai, L., Jacqueline, F., Nockc, D.H. and Christopher, B.W. 2007. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 45: 349–357.

Yousefpour Dokhanieh, A., Soleimani Aghdam, M., Rezapour Fard, J. and Hassanpour, H. 2013. Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. Scientia Horticulturae, 154: 31–36.

Zhou, Y., Ming, J., Deng, L. and Zeng, K. 2014. Effect of Pichia membranaefaciens in combination with salicylic acid on postharvest blue and green mold decay in citrus fruits. Biological Control, 74: 21–29.