نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۲ شماره ۲/ سال ۱۳۹۱

اثر تیمار ۱- متیل سایکلو پروپن در تولید آلفا-فارنزن، اکسیداسیون آن و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز پوست میوه سیب رقم گرانی اسمیت طی دوره انبارمانی

رحیم نقشی‌بند حسنی[1*]، یونس مستوفی[2] و ذبیح الله زمانی[2]

تاریخ دریافت: ۹۰/٤/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/٤/۲۷

[1] استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

[2] دانشیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

[*]مسئول مکاتبه: Email: Naghshiband@tabrizu.ac.ir

چکیده

در این پژوهش اثر تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن درمیزان بروز سوختگی سطحی، سنتز آلفا-فارنزن و محصولات اکسیداسیون آن و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در طول دوره انبارمانی میوه سیب مطالعه گردید. میوه سیب رقم گرانی اسمیت پس از تیمار با ترکیب۱- متیل سایکلوپروپن در دو سطح (شاهد و ۱ میکرولیتر در لیتر) در سردخانه در دمای ۰/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۸۵ ٪ به مدت ٢٤ هفته نگهداری شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد.شدتسوختگی، غلظت آلفا- فارنزن و ترکیب حاصل از اکسیداسیون آن و نیز میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در زمان برداشت میوه، ٦ هفته، ۱۲ هفته و ٢٤ هفته طی دوره انبارمانی اندازه‌گیری شدند.توسعه علایم سوختگی سطحی در پوست میوه‌های شاهد همزمان با طولانی شدن زمان نگهداری میوه افزایش یافت ولی میوه‌های تیمار شده تا انتهای دوره انبارمانی فاقد علایم سوختگی بودند. غلظت آلفا- فارنزن و ترکیب حاصل از اکسیداسیون آن در طول دوره انبارمانی در میوه‌های شاهد تفاوت معنی‌داری با میوه‌های تیمار شده داشت. به طوری که مقادیر هر دو ترکیب در میوه‌های تیمار شده تا انتهای دوره انبارمانی در کمترین میزان باقی ماند. میوه‌های تیمار شده دارای مقادیر بیشتری از فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت کمتر آنزیم پراکسیداز طی دوره انبارمانی بودند.اثر تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن در کنترل سوختگی بیشتر ناشی از کاهش میزان سنتز آلفا- فارنزن و ترکیب حاصل از اکسیداسیون آن بوده تا این که موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت پوست میوه گردد.

واژه‌های کلیدی:میوه سیب، سوختگی سطحی،۱- متیل سایکلوپروپن، آلفا- فارنزن، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

Effect of 1-methylcyclopropene treatment in α-farnesene production, its oxidation and antioxidant activity in Granny Smith apple fruit skin during storage

R Naghshi Band Hassani[1*], Y Mostofi[2] and Z Zamani[2]

Received: July 13, 2011 Accepted: July 17, 2012

[1]Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Associate Professor, Department of Horticultural Engineering, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran
[*]Corresponding author: E-mail: Naghshiband@tabrizu.ac.ir

Abstract

This study was conducted to assess the effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on superficial scald development, α-farnesene and its oxidation products synthesis and catalase and peroxidase enzyme activities in apple fruit during storage time. For this purpose, apple fruit *'Granny Smith'* were treated with 1-MCP at $1 \mu l.L^{-1}$ (control and treated) before storage, and stored in 0.5 °C and 85±5 % RH for 24 weeks. The experiment was performed as factorial arrangement based on completely randomized design with three replication.Factors including scald severity, α-farnesene and its oxidation products concentrations and catalase and peroxidase enzyme activities were evaluated in harvest time, 6, 12 and 24 weeks during storage period. Scald development increased in control fruit during storage but treated fruits were free from scald symptoms. The amount of α-farnesene and its oxidation products in control fruit had significant difference with those in treated fruit. As in treated fruits their amounts remained lowest. Higher values of catalase and lower values of peroxidase enzyme activities were observed in treated fruits compared to control fruit during storage time. The effect of 1-MCP on scald control was more related to reduction of α-farnesene and its oxidation products concentrations than its relation to the increase in antioxidative potential of apple fruit skin.

Keywords: Apple fruit, Scald, 1-Methylcyclopropene, α-farnesene, Antioxidative enzymes

مقدمه

سوختگی سطحی[1]یکی ازنابسامانی‌های فیزیولوژیکی رایج میوه سیب و گلابی بوده که طی دوره پس از برداشت بشکل لکه‌های پراکنده به رنگ برنزه روشن تا قهوه‌ای تیره در پوست میوه طی دوره نگهداری طولانی مدت میوه در سردخانه معمولی قابل ظهور می‌باشد(آنت ۱۹۷۲). وقوع این عارضه کیفیت ظاهری و ارزش بازارپسندی میوه را کاهش داده به طوریکه میوه‌هایی که به شدت دچار سوختگی سطحی شده باشند فقط برایمصارف فرآوریقابل استفاده هستند(کیدر ۲۰۰۵).

تئوری کلی پذیرفته شده در این زمینه این است که ماده آلفا- فارنزن[2] که یک ترکیب معطر سزکویی ترپنی است و بشکل طبیعی درپوست میوه سیب تولید می‌شود در حضور اکسیژن محیط به یکسری از ترکیبات بنام تری انول‌های الحاقی[3] اکسیده می‌شود(رووان و همکاران ۱۹۹۵). تجمع این ترکیبات در خارجی‌ترین لایه‌های سلولی پوست میوه سبب آسیب دیدن غشاهای سلولی گردیده که نهایتا موجب مرگ سلول و توسعه علایم

1. Superficial scald

2. α- Farnesene

3. Conjugated trienols (CTols)

سوختگی در میوه می‌شوند، اگرچه وجود مقادیر بالای آلفا- فارنزن همبستگی چندانی با وقوع سوختگی ندارد(ویتاکر و همکاران ۱۹۹۷). اتیلن بعنوان عامل تسریع کننده پیری در میوه سیب شناخته شده است. بنابراین افزایش طول دوره نگهداری میوه سیب ارتباط نزدیکی با کاهش مقادیر اتیلن دارد(سیزلر و سرک ۱۹۹۷). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد تولید اتیلن و آلفا- فارنزن همراه با هم افزایش می‌یابند که ممکن است ناشی از افزایش سرعت روند فرآیندهای متابولیکی طی روند پیری میوه باشد. بنابراین خواه این تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم باشد، اتیلن شاید نقش مهمی در توسعه سوختگی بازی می‌کند(دو و برملیج ۱۹۹٤). الفین-های حلقوی سنتزی مانند ۱- متیل سایکلو پروپن[1] گیرنده‌های اتیلن در غشا سلول را مسدود نموده و از این طریق مانع از عمل اتیلن در سلول می‌شوند(سیزلر و سرک ۱۹۹۷). بروز سوختگی سطحی وشدت آن بستگی به رقم، بلوغ میوه، آب و هوای منطقه پرورش محصول، مقدار مواد معدنی، نورگیری، شرایط انبارومقداراتیلن درانبار دارد (واتکینز و همکاران ۱۹۹۵). تحقیقات انجام شده نشان دهنده اثر قابل توجه تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن درکنترل توسعه سوختگی درارقام مختلف میوه سیب بوده است. بطوری که تیمار میوه سیب با این ماده موجب کنترل بروز سوختگی طی دوره انبارمانی در دو رقم دلیشز[2] و مکینتاش[3]شده است (روپاسینگ و همکاران ۲۰۰۰).

وقوع و توسعه سوختگی سطحی، ناشی از آسیب سرمازدگی بوده بطوریکه طی دوره انبارمانی طولانی مدت میوه در دمای پایین سبب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود(واتکینز و همکاران ۱۹۹۵). بررسی‌های اولیه نشان دادند که حساسیت یا مقاومت به سوختگی در ارقام مختلف میوه سیب، حداقل تا حدی مربوط به کارآیی سیستم‌هایی دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنها دارد(رائو و همکاران ۱۹۹۸). در مقایسه بین میوه ارقام مقاوم وحساس به سوختگی، گروه اول دارای غلظت کمتر پراکسید هیدروژن همراه با آسیب پروتئینی و غشاءسلولی کمتر و نیز دارای فعالیت زیاد آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در زمان برداشت و پس از۱٦ هفته انبارداری بودند(رائو و همکاران ۱۹۹۸).

در این پژوهش، رقم حساس به سوختگی میوه سیب (گرانی اسمیت[4]) در ارتباط با اثر تیمار ۱- متیل سایکلوپروپان مورد بررسی قرار گرفته است.هدف از اجرای این آزمایش مطالعه اثرتیمار ۱- متیل سایکلوپروپن در توسعهسوختگی از طریق بررسی اثر آن در میزان سنتز آلفا-فارنزن و محصولات اکسیداسیون آن و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در طول دوره انبارمانی میوه بوده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با برداشت میوه سیب رقم گرانی اسمیتاز یک باغتجاریواقع در محمد شهر کرج در دوم مهر ماه سال ۱۳۸۸طی زمان برداشت مرسوم منطقهبر اساس شاخص رسیدگی میوه از نظر تست نشاسته انجام شد.در هنگام برداشت، میوه‌های سالم و عاری از هرگونه لکه‌های سطحی وعلایم آفت و بیماری ودارای شرایط یکسان از نظر رسیدگی و اندازه، از کلیه قسمت-های تاج درخت بصورت تصادفیبرداشت شدهو سریعا به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی منتقل شدند. میوه‌ها در دو سطحشاهد و تیمار با۱ - متیل سایکلوپروپندر غلظت ۱میکرو لیتر در لیتر تیمار شدند. تعدادی از میوه‌های شاهد و تیمار شده برای انجام آزمایش‌های مربوطه قبل از انبارمانی(زمان برداشت) و بقیه آنها، سریعا به سردخانه گروه علوم باغبانی با دمای ۰/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۸۵٪ انتقال یافتند.

1. 1-Methylcycloprpene (1-MCP)
2. Delicious
3. McIntosh
4. Granny Smith

تیمار با ۱- متیل سایکلوپروپن

برای اجرای تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن از کیسه‌های پلی‌اتیلنی با حجم مشخص ۰/۳ مترمکعب جهت قرار دادن میوه‌ها استفاده گردید. میزان ماده لازم جهت تولید غلظت ۱ میکرولیتر در لیتر از ۱ - متیل سایکلوپروپن نیز بر مبنای اطلاعات مندرج در بروشور شرکت تولید کننده ماده محاسبه گردید. به طوری که مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر ماده مذکور در داخل پطری دیش توزین شده و مقدار ۳۰ میلی‌لیتر آب گرم روی آن اضافه شده و در فضای داخلی کیسه قرار داده شد. جهت گردش جریان گاز در فضای داخل کیسه از فن‌های کوچک تعبیه شده در داخل کیسه‌های پلی‌اتیلنی استفاده شده بود. اجرای تیمار در داخل اتاقکی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲٤ ساعت انجام گرفت.

زمان‌های نمونه برداری

نمونه برداری در زمان برداشت و سه زمان در طی دوره انبارمانی (٦ ، ۱۲ و ۲٤ هفته) انجام گرفت.در هر بار نمونه برداری تعداد ۱۰ میوه از هر تکرار برای تهیه نمونه پوست میوه بصورت تصادفی انتخاب شدند و پوست آنها جدا شده ضمن انتقال به داخل کیسه‌های پلاستیکی کوچک سریعا در داخل ظرف حاوی نیتروژن مایع قرار داده شدند. نمونه‌های تهیه شده در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده برای انجام آزمایش-های مورد نظر نگهداری شدند.

ارزیابی شدتسوختگی سطحی

میزان شدت علایم سوختگی در سطح پوست میوه طی دوره انبارمانی، بدنبال خروج میوه‌ها از سردخانه طی ۷ روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه، در هر دوره از زمان‌های نمونه برداری به شکل مشاهده‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور از یک مقیاس عددی (۳-۰) و سیستم درصدی: ۰= فاقد علایم سوختگی، ۱= صفر تا ۲۵٪ سطح پوست دارای علایم سوختگی، ۲= ۲۵ تا ۵۰٪ سطح پوست دارای علایم سوختگی و ۳= بیش از ۵۰٪ سطح پوست دارای علایم سوختگی استفاده گردید(زانلا ۲۰۰۳).

اندازه‌گیری غلظت آلفا-فارنزن و تری انولالحاقی

برای اندازه‌گیری غلظت آلفا- فارنزن، استاندارد ترکیب آلفا-فارنزن از شرکت سیگما-آلدریچ[1] خریداری گردید.طول موج جذبی آلفا- فارنزن در نمونه‌های استاندارد تهیه شده در ۲۳۲ نانومتر از طریق دستگاهHPLC(مدل واترز، آلیانس[2] ۲٦۹۵)ثبت گردید. برای تهیه استاندارد تری انول الحاقی از نمونه‌های پوست میوه استفاده شد.به طوری که جهت استخراج و خالص سازی این ترکیب از روش ویتاکر و همکاران(۱۹۹۷) استفاده گردید.برای محاسبه غلظت این ترکیبات در محلول عصاره هگزانی ازضریب خاموشی[3]($\varepsilon_{۲٦۹}$=٤۲۵۰۰) آنها استفاده گردید(آنت ۱۹٦۹). جهت تایید دقیق‌تر نتایج حاصله به روش طیف سنجی از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری غلظت این ترکیبات در نمونه‌های پوست میوهاز روش ویتاکر وهمکاران(۱۹۹۷) استفاده گردید. حجم تزریق برای هر نمونه طی آنالیز ۸۰ میکرولیتر بودو آنالیز نمونه‌ها توسط دستگاه HPLC مجهز شده با ستون کربن- ۱۸ انجام شد. فاز متحرک مورد استفاده شامل: متانول/ استونیتریل/ آب (۹۰ : ۵ : ۵) بود که مقدار ۰/۸ میلی لیتر در هر دقیقه پمپ می‌شد. میزان جذب در طول موج ۲۳۲ نانومتر برای آلفا-فارنزن و ۲٦۹ نانومتر برای تری انولالحاقی بطور همزمان توسط آشکارساز[4] طول موج ماورا بنفش (واترز، مدل-۲۹۹٦) مشخص گردیده و داده‌های بدست آمده توسط نرم افزار ویژه خود دستگاه (ام- پاور[5]) در کامپیوتر مورد محاسبه و

1. Sigma- Aldrich
2. Waters- Alliance
3. Extinction coefficient
4. Detector
5. M-Power

تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقادیر غلظت‌های بدست آمده برای آلفا- فارنزن و تری انولالحاقی بر اساس میکروگرم در هر گرم وزن تر بیان گردید.

استخراج عصاره پروتئینی نمونه‌ها

برای استخراج عصاره پروتئینی نمونه‌های پوست میوه سیب از روش رائو و همکاران(۱۹۹۸) استفاده گردید. پروتئین‌های محلول کل به روش بردفورد[1] با استفاده از معرف رنگی بایورد[2]و پروتئین آلبومین سرم گاوی[3] به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شدند(بردفورد ۱۹۷٦).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌ها بر اساس مصرف پراکسید هیدروژن (ضریب خاموشی ۳۹/٤ میلی‌مولار در هر سانتی‌متر) در طول موج ۲٤۰ نانومتر به روش رائو و همکاران(۱۹۹٦)انجام گرفت. میزان فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز بر اساس تغییرات در میزان جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر در هر گرم وزن تر نمونه پوست میوه بیان گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز در نمونه‌ها بر اساس شدت اکسیداسیون ماده گایاکول (ضریب خاموشی ۲٦/٦ میلی‌مولار در هر سانتی‌متر) در حضور پراکسید-هیدروژن در طول موج ٤۷۰ نانومتر طبق روش رائو و همکاران(۱۹۹۸) انجام شد.میزان فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز بر اساس تغییرات در میزان جذب در طول موج ٤۷۰ نانومتر در هر گرم وزن تر نمونه پوست میوه بیان گردید.

آنالیز آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکراراجرا شد.ترکیب تیماری شامل: تیمار× طول دوره انبارمانی (۲× ٤) برای هر یک از صفات مورد ارزیابیبود. نتایج حاصله به نرم افزار اکسل انتقال یافته وبرای تجزیهآماری داده‌ها به روشANOVA، از نرم افزارSAS استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز بر مبنای تست چند دامنه‌ای دانکن در سطح ٥٪صورت گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیهواریانس اثرات ساده و متقابل تیمار با ۱- متیل سایکلوپروپن و زمان انبارمانی روی شدت بروز علایم سوختگی سطحی نشان داد که تفاوت کاملاً معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) بین میوه‌های شاهد و تیمار شده وجود داشت.به طوری که در زمان برداشت میوه پس از نگهداری طی ۷ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی-گرادعلایم سوختگی سطحی در میوه‌های شاهد و تیمار شده مشاهده نگردید (جدول۱). ظهور علایم مشخص سوختگی با شدت ضعیفی (۰/٦٥) در هفته ششم انبارمانی در میوه‌های شاهد مشاهده گردید ولی میوه-های تیمار شده با ۱- متیل سایکلوپروپن فاقد علایم مذکور بودند.همزمان با افزایش طول دوره انبارمانی علایم سوختگی سطحی با شدت بیشتری در هفته دوازدهم(۲/۰٦) و هفته بیست و چهارم (۲/۸۷)در میوه-های شاهد مشاهده شد. با وجود این تا انتهای دوره نگهداری (هفته بیست و چهارم) در میوه‌های تیمار شده هیچ گونه توسعه علایم سوختگی مشاهده نشد (جدول۱). تجزیه واریانس داده‌های اثرات ساده و متقابل تیمار و زمان انبارمانی روی غلظت ترکیب آلفا-فارنزن و تری انول الحاقی موجود در پوست میوه نشان داد که اختلاف کاملاً معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) بین میوه‌های شاهد و تیمار شده وجود داشت. الگوی تغییرات غلظت آلفا- فارنزن طی دوره انبارمانی، از زمان برداشت تا هفته دوازدهم نشان دهنده روند افزایشی غلظت این ترکیب و سپس کاهش قابل توجه در پوست میوه بود، به طوری که تفاوت کاملا معنی‌داری بین زمان‌های انبارمانی در روند تغییرات این ترکیب وجود داشت (شکل۱).

1. Bradford
2.BioRad
3. Bovine serum albomin

جدول۱- نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌های مورد اندازه‌گیری در میوه سیب رقم گرانی اسمیت طی تیمار پس از برداشت با ۱- متیل سایکلوپروپن (1-MCP) در طول دوره انبارمانی

منا بع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		شدت سوختگی سطحی	آلفا- فارنزن ($\mu g.\ g^{-1}FW$)	تری انول الحاقی ($\mu g.\ g^{-1}FW$)	فعالیت آنزیم کاتالاز ($UA.\ g^{-1}FW$)	فعالیت آنزیم پراکسیداز ($UA.\ g^{-1}FW$)
تیمار 1-MCP (A)	۱	۱۱/۳۸۵***	۷۴۴۰۱/۸۴***	۱۱۷۱۸/۴۸***	۰/۰۲۳*	۰/۰۴۷*
زمان انبار مانی (B)	۳	۲/۴۵۶***	۱۴۶۲۹/۷۹***	۳۶۵۷/۱۷***	۰/۱۵۸***	۰/۰۴۱**
A×B	۳	۲/۴۵۶***	۱۲۶۱۶/۰۵***	۲۸۱۶/۳۸***	۰/۳۵۴***	۰/۰۷۸***
اشتباه	۱۶	۰/۰۰۵	۶۳/۲۱۷	۱۲/۴۱۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات (CV)	-	٪۱۰/۲	٪۹/۲۸	٪۱۴/۳	٪۴/۷۵	٪۶/۷

***، ** و* به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۵ هستند.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن × طول دوره انبارمانی در میزان شدت سوختگی سطحی در پوست میوه سیب رقم گرانی اسمیت

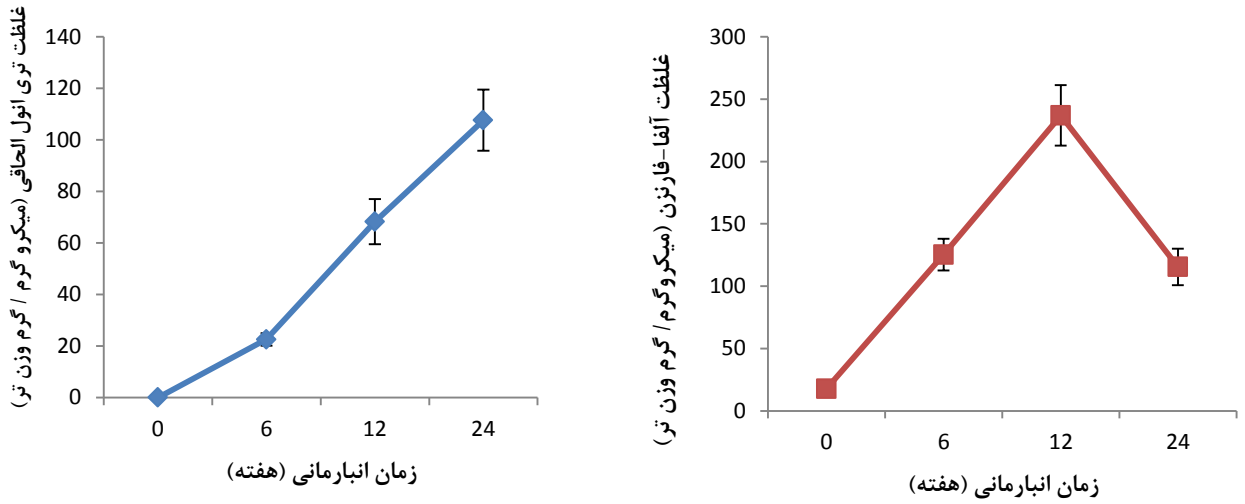
تیمار	**شاهد**			**۱- متیل سایکلو پروپان (۱ میکرو لیتر در لیتر)**			
طول دوره انبارمانی	زمان برداشت	٦ هفته	۱۲ هفته	۲٤ هفته	زمان برداشت	٦ هفته	۱۲ هفته	۲٤ هفته
شدت سوختگی	۰/٦٥ c	۲/۰٦ b	۲/۸۷ a	۰ d	۰ d	۰ d	۰ d	۰ d

مقادیرموجود در جدول نشان دهنده میانگین داده‌های مربوط به هر پارامتر همراه با اشتباه استاندارد بوده و مقادیر دارای حروف متفاوت در سطح ٪٥ آزمون دانکن معنی‌دار بودند.

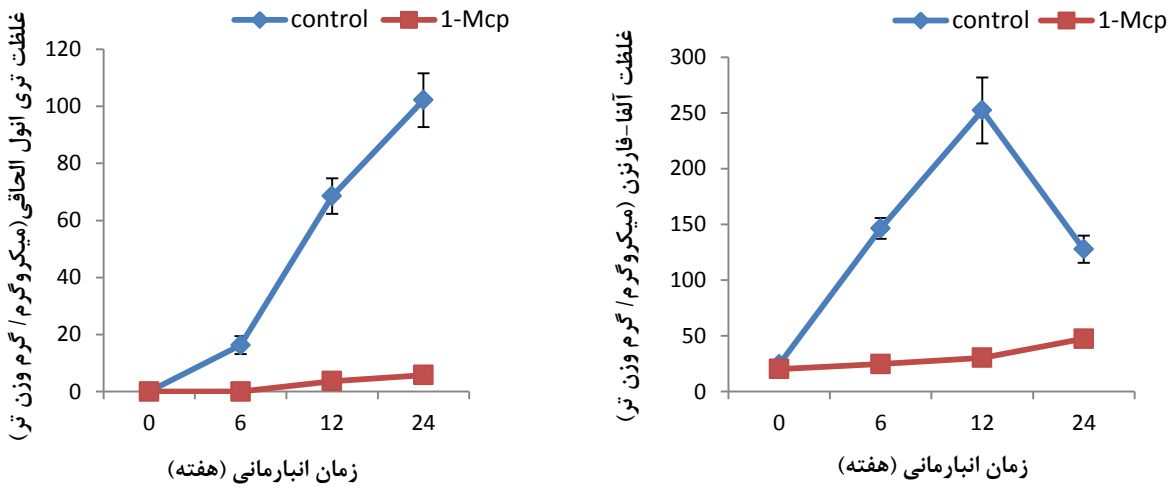
با وجود این، الگوی افزایشی غلظت تری انول الحاقی حاصل از اکسیداسیون آلفا- فارنزن با جذب نوری در طول موج ۲٦۹ نانومتر از هفته ششم انبارمانی شروع گردید و تا انتهای دوره انبارمانی در پوست میوه ادامه یافت (شکل۱).

میوه‌های تیمار شده با ۱- متیل سایکلوپروپن دارای مقادیر خیلی کمتری از آلفا- فارنزن در مقایسه با میوه-های شاهد در طول دوره آزمایش بودند، به طوری که تفاوت معنی‌داری بین زمان برداشت تا هفته دوازدهم در غلظت آلفا- فارنزن در میوه‌های تیمار شده وجود نداشت (شکل۲).

میوه‌های شاهد در هفته ششم انبارمانی، زمانی که علایم سوختگی سطحی با شدت ضعیفی ظاهر شدند، دارای مقادیر زیادتری از تری انول الحاقی نسبت به میوه‌های تیمار شده بودند. اگر چه غلظت این ترکیب در میوه‌های تیمار شده از هفته دوازدهم تا انتهای دوره انبارمانی با شدت ضعیفی افزایش یافت ولی هیچ گونه علایم سوختگی در میوه وجود نداشت (شکل۲).



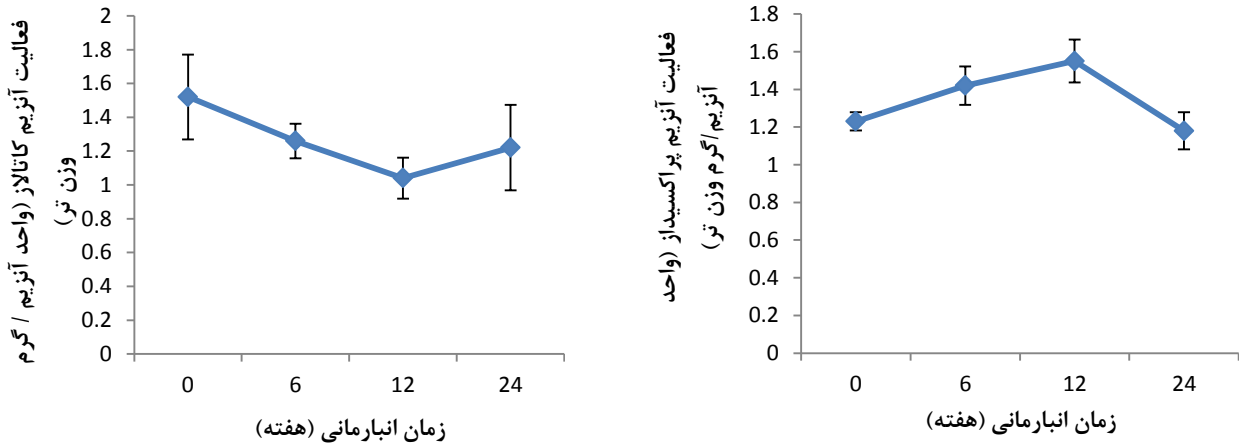
شکل ۱- اثر طول دوره انبارمانی در غلظت آلفا- فارنزن و تری انول الحاقی موجود در پوست میوه سیب رقم گرانی اسمیت



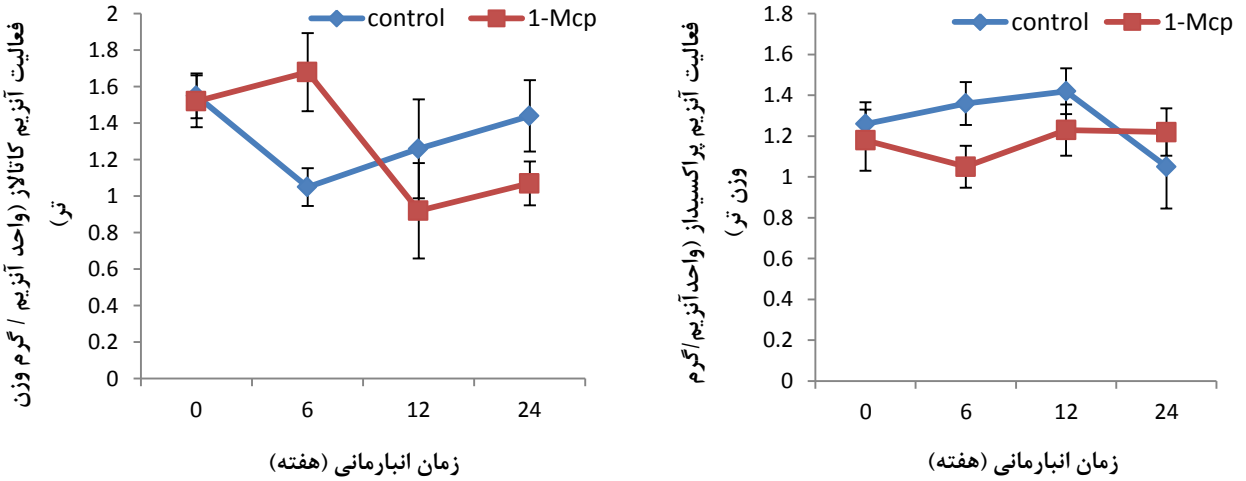
شکل ۲- اثرمتقابل طول دوره انبارمانی × تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن در غلظت آلفا- فارنزن و تری انول الحاقی موجود در پوست میوه سیب رقم گرانی اسمیت. اعداد نشان داده شده در شکل شامل میانگین± اشتباه استاندارد مربوطه هستند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط بهفعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نشان داد کهتفاوت کاملاً معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) از نظر زمان انبارمانی و اثر متقابل آن با تیمار بین میوه‌های شاهد و تیمار شده وجود داشتولی اثر تیمار با ۱- متیل سایکلوپروپندر فعالیتآنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۵٪ (P<۰/۰۵) معنی‌دار بود.فعالیت آنزیمکاتالازتا انتهای انبارمانی به شکل معنی‌داری کاهش یافت اگر چه از هفته دوازدهم تا انتهای انبارمانی روند افزایشی بود ولی میزان آن در انتهای انبارمانی نسبت به زمان برداشت نیز تفاوت معنی‌داری داشت. فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول دوره انبارمانی افزایش یافت به طوری که الگوی تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز بر خلاف آنزیم کاتالاز بود (شکل۳).فعالیت این آنزیم از یک روند افزایشی یکنواخت و معنی‌داری تا هفته دوازدهم انبارمانی تبعیت می‌نمود. در هفته دوازدهم انبارمانی

نسبت به هفته ششم زمانی که علایم سوختگی به شکل قابل توجهی در پوست میوه قابل مشاهده بودند، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به بیشترین میزان خود افزایش یافت(شکل۳). مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل زمان انبارمانی و تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن نیز نشان داد که از زمان برداشت تا هفتهدوازدهم انبارمانی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در میوه‌های شاهد حدود ۱۳٪ و در میوه‌های تیمار شده حدود ۴۰٪ کاهش یافت(شکل٤).اگرچه، میوه‌های تیمار شده در مقایسه با میوه‌های شاهد بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هفته ششم انبارمانی را نشان دادند ولی از فعالیت این آنزیم تا انتهای انبارمانی به طور معنی‌داری کاسته شد. در میوه‌های شاهد تا هفته ششم پس از ۳۷٪ کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز، دوباره شروع به افزایش نمود ولی تفاوت معنی‌داری بین زمان برداشت و انتهای انبارمانی در فعالیت این آنزیم وجود داشت (شکل٤).



شکل ۳- اثر طول دوره انبارمانی در فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز موجود در پوست میوه سیب رقم گرانی



شکل ۴- اثرمتقابل طول دوره انبارمانی × تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن در فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز موجود در پوست میوه سیب رقم گرانی اسمیت. اعداد نشان داده شده در شکل شامل میانگین±اشتباه استاندارد مربوطه هستند.

تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول دوره انبارمانی در میوه‌های شاهد بیشتر از میوه‌های تیمار شده بود. به طوری که تفاوت کاملا معنی‌داری بین زمان‌های مختلف انبارمانی در میوه‌های شاهد مشاهده گردید درحالی که در میوه‌های تیمار شده، تنها به شکل کاهش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بین زمان برداشت و هفته ششم انبارمانی مشاهده گردید و تفاوتی بین هفته دوازدهم وانتهای دوره انبارمانی در فعالیت این آنزیم در میوه‌های تیمار شده با ۱- متیل سایکلوپروپن وجود نداشت (شکل٤).

بحث

مطالعات اولیه انجام شده نشان دادند که تیمار میوه سیب با ۱- متیل سایکلوپروپن، سبب جلوگیری یا کاهش بروز نابسامانی فیزیولوژیکی سوختگی در طول دوره نگهداری میوه در سردخانه می‌گردد(دییل و همکاران ۲۰۰۲؛ فن و همکاران ۱۹۹۹).با این وجود، کنترل سوختگی توسط این ترکیب در بعضی از ارقام میوه سیب ممکن است در اثر تولید گیرنده‌های جدید جهت اتصال اتیلن در بعضی از ارقام میوه سیب در طول دوره انبارمانی، چندان قابل توجه نباشد(آرکوییزا و همکاران ۲۰۰۵). در این پژوهش وقوع سوختگی سطحی در میوه-های شاهد از هفته ششم انبارمانی شروع شد (جدول۱). در حالی که در میوه‌های تیمار شده علایم سوختگی تا انتهای دوره نگهداری مشاهده نگردید. نتایج حاصله با نتایج بررسی‌های انجام شده در سایر ارقام میوه سیب که مستعد بروز این نابسامانی هستند، یکسان بود(دییل و همکاران ۲۰۰۲؛ فن و همکاران ۱۹۹۹). از آنجایی که ۱- متیل سایکلوپروپن بعنوان یک مهارکننده قوی تولید وعمل اتیلن در میوه است و از طرف دیگر تولید آلفا-فارنزن در ارتباط با تولید اتیلن می‌باشد بنابراین عدم وجود علایم سوختگی در میوه‌های تیمار شده ناشی از کنترل سنتز آلفا- فارنزن در میوه بوده است(فن و همکاران ۱۹۹۹).

تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن موجب مهار نمودن افزایش میزان غلظت آلفا- فارنزن گردید (شکل۲). وجود مقادیراندک آلفا- فارنزن در میوه‌های تیمار شده موجب کاهش قابل توجه اکسیداسیون این ترکیب در مقایسه با میوه‌های شاهد شد. به طوری که غلظت تری انول الحاقی حاصل از اکسیداسیون آلفا- فارنزن در میوه‌های شاهد پس از شش هفته انبارمانی افزایش یافت و تا انتهای دوره غلظت این ترکیب در پوست میوه شاهد به بیشترین مقدار خود رسید (شکل۱ و۲). روند تولید و تجمع آلفا-فارنزن و ترکیب حاصل از اکسیداسیون آن در میوه رقم گرانی اسمیت با سایر ارقام بررسی شده توسط روپاسینگ و همکاران (۲۰۰۰) و ویتاکر و همکاران (۱۹۹۷) مطابقت داشت. به طوری که طی آن بیشترین میزان غلظت آلفا- فارنزن در اواسط دوره انبارمانی و بالاترین میزان تجمع ترکیب حاصل از اکسیداسیون آن در انتهای دوره انبارداری مشاهده گردید (ویتاکر و همکاران ۱۹۹۷). به طور کلی، تجمع تری انول الحاقی ارتباط نزدیکی با وقوع سوختگی سطحی داشته ولی همبستگی ضعیفی بین میزان آلفا- فارنزن و توسعه سوختگی سطحی گزارش گردیده است (آنت ۱۹۷۲). به نظر می‌رسد که تیمار ۱- متیلسایکلوپروپن موجب مهار نمودن تولید آلفا- فارنزن گردیده واز این طریق موجب محدود نمودن ماده لازم جهت اکسیداسیون و تولید تری انول الحاقی می‌شود(دییل و همکاران ۲۰۰۲؛ گپر و همکاران ۲۰۰٦).اثر مهار کنندگی ۱- متیل سایکلوپروپن در میزان تولید آلفا- فارنزن ممکن است نیاز بافت به فعال نمودن هر گونه فعالیت آنتی‌اکسیدانی را کاهش دهد(گپر و همکاران ۲۰۰٦).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معمولا در ارقام مقاوم به سوختگی سطحی بیشتر از ارقام حساس می-باشد به طوری که فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم لو رم[1] (حساس) خیلی کمتر از رقم ایدارد[2] (مقاوم)

1. Law Rome
2.Idared

بود(فرناندز و همکاران ۲۰۰۳؛ رائو و همکاران ۱۹۹۸).نتایج این بررسی نشان داد که، تفاوت در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بین میوه‌های تیمار شده و شاهد قابل توجه بود (شکل ٤). میوه‌های تیمار شده با ۱- متیل سایکلوپروپن دارای فعالیت کمتر آنزیم پراکسیداز و فعالیت بیشتر آنزیم کاتالاز در مقایسه با میوه‌های شاهد در هفته ششم انبارمانی بودند (شکل٤). با این وجود میزان فعالیت آنزیم کاتالازدر میوه‌های شاهد و تیمار شده تا انتهای دوره انبارمانی کاهش یافت در حالی که فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول این مدت در میوه‌های مذکورروند افزایشی داشت (شکل٤). حفظ فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانی در طول دوره انبارمانی نشان می‌دهد که وقوع سوختگی سطحی نمی‌تواند در ارتباط مستقیم با از بین رفتن مقادیر زیادی از قابلیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت خنثی نمودن اثر گونه‌های فعال اکسیژن باشد(آرکوییزا و همکاران ۲۰۰۵).

در نتیجه اثر تیمار ۱- متیل سایکلوپروپن در کنترل روند توسعه سوختگیسطحی ممکن است بیشتر ناشی از کاهش قابل توجه درمیزان سنتز آلفا- فارنزن و ترکیب حاصل از اکسیداسیون آن باشد تا این که موجب افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز در بافت پوست میوه سیب بوده باشد.

منابع مورد استفاده

Anet EFLJ,1972. Superficial scald, a functional disorder of stored apples. VIII. Volatile products from the autooxidation of α-farnesene. Journal of the Science of Food and Agriculture 23: 605-608.

Anet EFLJ, 1969.Autoxidation of α-farnesene.Australian Journal of Chemistry 22: 2403-2410.

Arquiza A, Hay AG, Nock JF, Watkins CB, 2005.1-Methylcyclopropene interactions with diphenylamine on diphenylamine degradation, α-farnesene and conjugated trienol concentrations, and polyphenol oxidase and peroxidase activities in apple fruit.Journal of Agricultural and Food Chemistry 53:7565-7570.

Bradford MM, 1976.A rapid and sensitive method for the quantitationof microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dyebinding.Analytical Biochemistry 72: 248–254.

DeEll JR, Murr DP, Porteous MD, Rupasinghe HPV, 2002. Influence of temperature and duration of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on apple quality. Postharvest Biology and Technology24: 349-353.

Du Z andBramlage WJ, 1994.Roles of ethylene in the development of superficial scald in 'Cortland' apples.Journal of the American Society for Horticultural Science 119: 516-523.

Fernández-Trujillo JP, Nock JF, Kupferman EM, Brown SK and Watkins CB, 2003.Peroxidase activity and superficial scald development in apple fruit.Journal of Agricultural and Food Chemistry51: 7182-7186.

Fan X, Mattheis JP and Blankenship S, 1999. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush and greasiness is reduced by MCP. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47: 3063-3068.

GapperNE, Bai J and Whitaker BD, 2006.Inhibition of ethylene-induced _α-farnesene synthase gene PcAFS1expression in ‘d’Anjou’ pears with 1-MCP reduces synthesis and oxidation of α-farnesene and delays development of superficial scald. Postharvest Biology and Technology41: 225–233.

Kader AA, 2005. Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce.ActaHorticulturae 682: 2169-2175.

Rao MV, Watkins CB, Brown SK andWeeden NF, 1998.Active oxygen species in 'White Angel' x 'Rome Beauty' apple selections resistant and susceptible to superficial scald.Journal of the American Society for Horticultural Science 123: 299-304.

Rao MV, Paliyath G and Ormord DP, 1996. UV-B and ozone induced biochemical changes in antioxidant enzymes of Arabidopsis thaliana. Plant Physiology 110: 125-136.

Rowan DD, Allen JM, Fiedler S, Spicer JA and Brimble MA, 1995.Identification of conjugated triene oxidation products of α-farnesene in apple skin.Journal of Agricultural and Food Chemistry 43: 2040-2045.

Rupasinghe HPV, Murr DP, Paliyath G and Skog L, 2000.Inhibitory effect of 1-MCP on ripening and superficial scald development in 'McIntosh' and 'Delicious' apples.The Journal of Horticultural Science and Biotechnology75: 271-276.

Sisler EC andSerek M, 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. Plant Physiology 100: 577-582.

Whitaker BD, Solomos T and Harrison DJ, 1997. Quantificationof α- farnesene and its conjugated trienoloxidationproducts from apple peel by C18-HPLC with UV detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 760-765.

Watkins CB, BramlageWJ andCregoe BA, 1995. Superficial scald of 'Granny Smith' apples is expressed as a typical chilling injury. Journal of the American Society for Horticultural Science 120: 88-94.

Zanella A, 2003.Control of apple superficial scald and ripening– A comparison between 1-Methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultra-low oxygen storage. Postharvest Biology and Technology 27: 69-78.