اثر محلول‌پاشی قبل از برداشت ملاتونین بر رسیدن و ویژگی‌های کیفی پس از برداشت میوه توت‌فرنگی (Fragaria × anannasa cv. Queen Elisa)

سیروان منصوری[۱]، حسن ساری‌خانی[۱*]، محمد سیاری[۱]، مرتضی سلیمانی اقدم[۲] و محمد علی عسکری سرچشمه[۳]

[۱]ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

[۲]ایران، قزوین، دانشگاه بین المللی امام خمینی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم باغبانی

[۳]ایران، کرج، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۴

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ملاتونین بر رسیدن، کیفیت و عمر پس از برداشت توت‌فرنگی و انتخاب غلظت‌های مؤثر آن، در گلخانه روی بوته‌های توت‌فرنگی رقم کوئین الیزا انجام شد. محلول‌پاشی ملاتونین در پنج سطح شامل صفر (شاهد)، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار در مرحله سبز روشن میوه انجام شد. برای بررسی اثر تیمارها بر فرآیند رسیدن، میوه‌ها در سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از تیمار برداشت و تغییرات رشدی و فیزیولوژیک آن‌ها بررسی شد. همچنین به منظور بررسی اثر ملاتونین بر عمر و کیفیت پس از برداشت، میوه‌ها پس از برداشت در مرحله رسیدن در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. نتایج تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار موجب افزایش میزان ABA و آنزیم PAL طی فرآیند رسیدن شد. همچنین تیمار ۱۰ میکرومولار موجب کاهش میزان تولید ABA نسبت به نمونه‌های شاهد شد. نتایج نمونه‌های پس از برداشت نشان داد که میوه‌های تیمار شده با ملاتونین در غلظت ۱۰۰ میکرومولار در طول نگهداری میزان سفتی بیشتری داشتند که با نسبت بالاتر SSC/TA همراه بود. علاوه بر کیفیت حسی، میزان تجمع فنل، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید به همراه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های برداشت شده از بوته‌های تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین در مقایسه با بوته‌های تیمار شاهد در طول نگهداری بالاتر بود. بر اساس نتایج می‌توان بیان نمود که اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر فرآیند رسیدن توت‌فرنگی نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار موجب تسریع رسیدن نسبت به شاهد شده است. تیمار ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب تأخیر در رسیدن نسبت به نمونه‌های شاهد شد. همچنین محلول‌پاشی قبل از برداشت ملاتونین در غلظت ۱۰۰ میکرومولار تیماری موثر در جهت حفظ کیفیت حسی و تغذیه ای میوه توت فرنگی و افزایش عمر پس از برداشت میوه در طول نگهداری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آبسایزیک اسید، پلی فنل اکسیداز، کیفیت حسی و تغذیه‌ای، ملاتونین.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۴۴۲۵۴۰۰، پست الکترونیکی: sarikhani@basu.ac.ir

مقدمه

میوه توت‌فرنگی(Fragaria×ananassa Duch.) یکی از مهم‌ترین میوه‌های ریز است که به دلیل داشتن ترکیبات با ارزش غذایی مانند انواع ویتامین‌ها، مواد معدنی و همچنین ترکیبات زیست فعال مانند اسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی مانند آنتوسیانین‌ها و فولات به کیفیت بالای تغذیه کمک می‌کنند. این ترکیبات اثر سینرژیک و تجمعی بر ارتقاء سلامت انسان و پیشگیری از بیماری‌ها دارند (۲۱). میوه توت‌فرنگی یک میوه نافرازگرا است و باید در مرحله بلوغ کامل برداشت شود تا حداکثر کیفیت بازاریابی بدست آید. بنابراین به دلیل مقاومت مکانیکی

پایین و حساسیت به بیماری‌ها نسبت به نگهداری در پس از برداشت بسیار آسیب‌پذیر می‌باشد (۲۲).

رسیدن میوه یک برنامه بسیار هماهنگ شده است و تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و حسی منجر به تغییر در رنگ، بافت، عطر و طعم، بو و کیفیت تغذیه‌ای می‌گردد (۱۲). همه تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی طی رسیدن به‌وسیله بیان هماهنگ ژن‌های مرتبط با رسیدن میوه ایجاد می‌شود. مکانیسمی که بلوغ و رسیدن را در میوه‌های نافرازگرا تنظیم می‌کند بطور کامل مشخص نیست، اما ممکن است مرتبط با تغییرات در غلظت‌های اکسین، جیبرلین و آبسایزیک اسید باشد. پژوهش‌ها نشان داده است که آبسایزیک اسید (ABA) نقش کلیدی دررسیدن میوه‌های نافرازگرا مانند توت‌فرنگی دارد (۲۶).

حفظ کیفیت میوه در مرحله پس از برداشت از نظر محتوای ترکیبات فعال زیستی بسیار با اهمیت است. در سال‌های اخیر تیمار خارجی آنتی‌اکسیدان‌ها در جهت بهبود آنتی‌اکسیدان‌های داخلی و کیفیت میوه بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. در بررسی‌هایی روی میوه‌های لیچی، انگور، سیب و سایر میوه‌ها، گزارش شده است که آنتی اکسیدان‌های خارجی می‌توانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در میوه‌ها افزایش دهند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند که می‌تواند به طور موثری روند پیری محصول را نیز به تاخیر اندازد (۱۱). ترکیبات فنلی به طور قابل ملاحظه‌ای برای افزودن طعم‌های خاص به محصول مانند تانن‌ها که سبب طعم تلخ یا طعم و مزه برخی میوه‌ها را دارد و رنگدانه‌های آنتوسیانین که باعث رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش هستند، استفاده می‌شود. مصرف ترکیبات فنلی نیز با تأثیر محافظتی در برابر فرآیندهای اکسیداتیو در ارتباط با سلامت سیستم عصبی مرکزی، قلب و عروق و همچنین کاهش خطر ابتلا به سرطان دستگاه گوارش همراه است (۱۹).

ملاتونین (N-acetyl-5-methoxytryptamine) ایندول آمینی است که از متابولسیم تریپتوفان از طریق سروتونین سنتز می‌شود و یک گروه جدید از هورمون‌های گیاهی است که برای اولین بار در گوجه‌فرنگی در سال ۱۹۹۵ گزارش شده است. ملاتونین به عنوان یک ماده غذایی سالم در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات مانند گوجه‌فرنگی، سیب، گیلاس، موز و توت فرنگی وجود دارد (۸). اخیراً ملاتونین به‌عنوان یک تیمار مؤثر در بهبود کیفیت، تأخیر در پیری و افزایش انبارمانی در سردخانه در میوه هلو (۹) و همچنین استفاده از غلظت‌های متفاوت ملاتونین جهت کاهش زوال پس از برداشتی و جلوگیری از پوسیدگی قارچی در سردخانه گزارش شده است (۱). لیو و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر ملاتونین بر کیفیت و عمر پس از برداشت توت‌فرنگی را بررسی کردند (۱۶). آن‌ها دریافتند تیمار پس از برداشت ملاتونین موجب کاهش از دست‌دهی آب میوه، تاخیر در پیری میوه، افزایش میزان فنل کل، محتوای فلاوونوئید و آنتی‌اکسیدان کل شد و همچنین بر رنگ، سفتی، مواد جامد محلول (SSC) و اسید قابل تیتراسیون (TA) میوه طی نگهداری در سردخانه تاثیرگذار بود. تیمار ملاتونین در محصولات باغبانی نه تنها برای سلامت انسان مفید است، بلکه با توجه به نقش ملاتونین در مقابله با تنش زیستی و غیرزیستی، برای محصولات نیز سودمند است (۲۱). همچنین گزارش شده است که تیمار ملاتونین با افزایش بیان ژن‌های CBF و تجمع پلی‌آمین‌های درونی موجب مقاومت به سرمای بیشتر در زمان نگهداری در سردخانه شده که این موضوع وجود مقدار بالای آنتی آکسیدان ملاتونین را اثبات می‌کند (۲). گزارش شده است که تیمار قبل از برداشت ملاتونین با افزایش میزان لیکوپن و آسکوربیک اسید در گوجه‌فرنگی موجب افزایش کیفیت تغذیه‌ای محصول شده و برای سلامت مصرف کننده نیز مفید است (۱۷). می‌توان نتیجه گرفت ملاتونین می‌تواند نقش‌های مختلفی را مانند تنظیم فرایند رسیدن و کاهش پیری میوه داشته باشد. بنابراین روش‌های جدید و

توسعه‌یافته‌ای برای افزایش ماندگاری میوه و بهبود کیفیت پس از برداشت مورد نیاز است. با وجود گزارش‌هایی مبنی بر اثر ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی محصولات مختلف، تاکنون پژوهشی در مورد اثر کاربرد قبل از برداشت ملاتونین بر کیفیت محصول توت‌فرنگی و عمر پس از برداشت آن‌ها انجام نشده است. مطالعات انجام شده به فهم درست از اثرات فیزیولوژیکی ملاتونین بر محصولات کمک می‌کند و باید دید اثر محلول پاشی ملاتونین بر رسیدن و افزایش عمر پس از برداشت محصولات چگونه خواهد بود. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تیمار قبل از برداشت ملاتونین بر رسیدن بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و کیفی توت‌فرنگی رقم کوئین الیزا در زمان نگهداری در سردخانه انجام شد.

مواد و روشها

مواد گیاهی، مکان آزمایش و اعمال تیمارها: پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر غلظت‌های ملاتونین بر رسیدن و ویژگی‌های کیفی، ماندگاری پس از برداشت توت‌فرنگی و انتخاب غلظت‌های مؤثر ملاتونین، در گلخانه گروه باغبانی دانشگاه بوعلی سینا روی بوته‌های توت‌فرنگی رقم کوئین الیزا کشت شده در گلدان با بستر ۵۰ درصد کود برگی+کود دامی+ خاک و ۵۰ درصد ماسه بادی انجام شد. پس از انتخاب بوته‌هایی مناسب و یکسان و حل کردن ماده ملاتونین در آب مقطر، محلول پاشی ملاتونین در پنج سطح با غلظت‌های صفر (آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد)، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار انجام شد. محلول پاشی بصورت اسپری روی کل گیاه و زمانی که میوه در مرحله سبز روشن است در سه نوبت به فاصله ۱۲ ساعت انجام شد به طوری که کل سطح برگ و میوه خیس شود. به‌منظور بررسی و ارزیابی اثر ملاتونین بر رسیدن در زمان‌های ۵، ۱۰و ۱۵ روز پس از تیمار، میوه‌ها برداشت شدند. در آزمایشگاه میزان ABA و آنزیم PAL طی مراحل رسیدن ارزیابی شد. همچنین در جهت بررسی اثر تیمارهای ملاتونین بر ویژگی‌های پس از برداشت، نمونه‌گیری از میوه‌ها در مرحله رسیدگی تجاری طوری‌که بیش از ۷۵ درصد میوه رنگ گرفته باشد انجام شد. میوه‌ها بصورت تصادفی از روی بوته‌های تحت تیمار جمع‌آوری و جهت انجام آزمایش بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. میوه‌ها در آزمایشگاه بر حسب تیمار انجام شده به ۵ دسته تقسیم شدند و سپس در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد نگهداری شدند. میوه‌ها به مدت ۱۲ روز در سردخانه نگهداری شدند و هر ۴ روز یکبار بصورت تصادفی از بین میوه‌ها تعدادی جهت ارزیابی و اندازه‌گیری صفات انتخاب شدند. جهت بررسی برخی ویژگی‌های کیفی طی مدت انبارمانی پس از بیرون آوردن از سردخانه بلافاصله به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

آبسایزیک اسید: استخراج اسید آبسایزیک بر اساس روشکلن و همکاران (۲۰۰۴) با اندکی تغییر انجام گرفت (۱۴). دو گرم از ماده تر گیاهی با اضافه کردن ۴۰ میلی‌لیتر محلول استخراج در هاون چینی سرد ساییده شد. نمونه‌های خرد شده به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها توسط کاغذ واتمن شماره یک فیلتر شده و باقی مانده مواد گیاهی سه بار توسط محلول استخراج شستشو گردید. متانول اضافی توسط دستگاه فریز درایر در دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد تبخیر شد و سپس هم حجم محلول باقی مانده بافر فسفات ۰/۵ میلی مولار اضافه شد. با اضافه کردن پتاس ۰/۲ نرمال pH نمونه‌ها به ۸/۵ رسانیده شد. به محلول به‌دست‌آمده به میزان برابر اتیل استات اضافه شد تا بخشی از ناخالصی‌ها در آن حل شود. در این مرحله محلول دوفازی شد. محلول را ورتکس کرده و فاز بالایی (اتیل استات) را دور ریخته و باقی مانده آن توسط دستگاه فریز درایر در دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. pH بخش محلول توسط هیدروکلریک اسید ۰/۲ نرمال به ۲/۵ رسانده و دوباره به میزان برابر آن اتیل استات اضافه گردید. با این تفاوت که

این بار فاز اتیل استات اضافه شد. فاز اتیل استات اسیدی توسط دستگاه فریز درایر در دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد خشک گردید و باقی مانده آن بلافاصله در ۰/۵ میلی‌لیتر متانول حل گردید. نمونه‌ها از فیلتر عبور داده و سپس به ستون HPLC مدل: Knuer 2050 ساخت آلمان با ستون C18 تزریق شدند. فاز متحرک: اسید استیک ۰/۲ درصد و متانول ۱۰۰ درصد به نسبت ۵۰:۵۰ با شدت جریان ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

محلول استخراج: ۰/۲۵ گرم بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluen) به همراه ۰/۴۴ گرم اسید آسکوربیک در متانول ۹۰ درصد درجه HPLC حل گردیده و به حجم یک لیتر رسانده شد. بافر فسفات ۰/۵ میلی مولار: برای آماده‌سازی این محلول ۰/۲ گرم NaCl، ۸ گرم KH_2PO_4 و ۹/۶ گرم Na_2HPO_4 در آب مقطر حل‌شده و به حجم یک لیتر رسید. هیدرو کلریک اسید ۰/۲ نرمال: ۱/۶۶ میلی‌لیتر HCl 37% به آب مقطر افزوده شد و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید.

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز : سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) بر اساس روش وانگ و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد (۲۴). بدین منظور یک گرم از بافت تر نمونه ها با ۶/۵ میلی لیتر بافر تریس– HCl (pH ۷/۸، ۵۰ میلی‌مولار) حاوی بتا مرکاپتواتانول (۱۵ میلی‌مولار) در هاون سرد شده سائیده شد. مخلوط حاصل بلافاصله در ۹۵۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴°C سانتریفیوژ شد و روشناور آن جمع آوری شد. از روشناور برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده قرار شد. در این روش از فنیل آلانین به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده و فعالیت آنزیم PAL براساس سرعت تشکیل اسید سینامیک تعیین گردید. بدین منظور، در یک لوله آزمایش ۱ میلی لیتر از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی لیتر ال- فنیل آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک (۶ مولار) پایان یافت. محصول بوجودآمده با ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات استخراج و سپس اتیل استات بخار گردید. ماده جامد باقیمانده در ۳ میلی لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۰۵ مولار) حل شد و جذب آن در طول موج۲۹۰ نانومتر به وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری۱۰۰، واریان، آمریکا) اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم برحسب میکرومول سینامیک اسید در ساعت بیان می‌شود.

آنتوسیانین: میزان آنتوسیانین کل با استفاده از روش ودوارد (۱۹۷۲) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد (۲۵). بدین منظور یک گرم از مخلوط چند میوه در هاون چینی کاملاً کوبیده و له شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از مخلوط اسیدکلریدریک- متانول با نسبت ۹۹ به ۱ به میوه‌های له شده اضافه کرده و مخلوط حاصل را در لوله‌های آزمایش ریخته و به مدت ده دقیقه در صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس با ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی را برداشته و جذب آن در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری۱۰۰، واریان، آمریکا) قرائت گردید. میزان آنتوسیانین براساس میلی‌گرم پلارگونیدین-۳-گلوکوساید در ۱۰۰ گرم وزن تازه میوه بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\Delta A= (A\lambda520-A\lambda700)\ pH1.0 - (A\lambda520-A\lambda700)\ pH4.5$$

$$C\ (ml/L) = (\Delta A.MW.DF.1000) / (\varepsilon.L)$$

که در آن C= غلظت آنتوسیانین (میلی‌گرم در لیتر)، ΔA = تفاوت جذب نوری نمونه‌ها، MW= وزن مولکولی پلارگونیدین-۳-گلوکوزاید (433.39)، DF= میزان رقت (۱۰)، ε= جذب مولی پلارگونیدین-۳-گلوکووزاید و L= عرض کووت دستگاه طیف‌سنجی (۱ سانتی متر) می‌باشد.

آسکوربیک اسید: برای اندازه‌گیری میزان آسکوربیک اسید میوه‌ها از روش تیتراسیون با ایندوفنل با اندکی تغییرات استفاده شد (۴). برای این منظور ۱۰ گرم میوه به همراه

چند میلی‌لیتر اسید متافسفریک ۳ درصد (۳۰ گرم اسید متافسفریک را در ۸۰ میلی‌لیتر استیک اسید خالص به همراه آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد) به صورت کاملاً یکسان له شد. حجم مخلوط با متافسفریک اسید به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از عبور دادن از صافی ۱۰ میلی‌لیتر از محلول باقیمانده را برداشته و با رنگ دی کلروفنل ایندوفنل ۰/۰۴ درصد (۴۰ میلی‌گرم از ۲ و ۶ دی کلروفنل ایندوفنل سدیم در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل به همراه ۴۲ میلی‌گرم سدیم بیکربنات که پس از سرد شدن با آب مقطر به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) تیتر گردید و در پایان تیتراسیون رنگ ارغوانی کم رنگ آشکار و به مدت ۱۰تا ۱۵ ثانیه پایدار باشد. میزان رنگ مصرف‌شده در تیتراسیون یادداشت شده و از رابطه زیر میزان آسکوربیک اسید محاسبه و بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم میوه بیان گردید.

100 × (نمونه وزن(گرم) ÷ حجم معرف مصرفی × اکی والان رنگ × درجه رقت) = اسید آسکوربیک

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ابتدا محلول دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار که با حل کردن مقدار ۲ میلی‌گرم از ماده‌ی DPPH در مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد به‌دست آمد (۶). این محلول برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی به صورت روزانه تهیه گردید. مقدار ۷۵ میکرو لیتر از عصاره‌ی الکلی برداشته شد و به آن مقدار ۲۹۲۵ میکرولیتر محلول DPPH اضافه گردید و بلافاصله پس از تکان دادن، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری۱۰۰، واریان، آمریکا) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در محفظه‌ی تاریک قرار گرفتند و دوباره جذب نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت با استفاده از رابطه‌ی زیر که در آن A_0= میزان جذب نمونه و A_1= میزان جذب DPPH می‌باشد محاسبه گردید.

ت آنتی اکسیدانی

فنل کل: برای اندازه‌گیری میزان فنل کل از معرف فولین–سیکالتو استفاده شد (۸). بدین منظور به طور خلاصه ۳۰۰ میکرو لیتر از عصاره الکلی، ۱۵۰۰ میکرو لیتر معرف فولین–سیکالتو رقیق شده با نسبت یک به ده اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به آن ۱۲۰۰ میکرو لیتر سدیم کربنات ۷ درصد اضافه شد و به مدت ۹۰ دقیقه روی شیکر در دمای اتاق و شرایط تاریکی قرار داده شد، در نهایت جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری۱۰۰، واریان، آمریکا) اندازه‌گیری شد. با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک و در نظر گرفتن نسبت رقیق شدن، مجموع فنل به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن عصاره بیان شد.

مواد جامد محلول (SSC): میزان کل مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دستی (مدل N1، آتاگو، ژاپن) تعیین‌شده و به صورت درجه بریکس بیان شد.

اسید قابل تیتراسیون (TA): برای تعیین اسید قابل تیتراسیون ۳–۲ میوه آب گیری شد و ۳ میلی‌لیتر از آب میوه داخل ارلن ریخته شد و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و سپس با استفاده از بورت ۵۰ میلی‌لیتری، به آرامی با سود ۰/۱ نرمال تیتر گردید تا جایی که پی اچ به ۸/۱ ± ۰/۱ برسد. میزان سود مصرفی را یادداشت نموده و با فرمول زیر میزان اسید قابل تیتراسیون بر حسب میلی‌گرم سیتریک اسید (اسید غالب توت‌فرنگی) در ۱۰۰ گرم آب میوه محاسبه گردید.

$$TA\ (mg/100\ ml) = (Vb \times Nb \times M) \div Vs \times 100$$

که در آن TA میزان اسید برحسب میلی‌گرم سیتریک اسید در ۱۰۰ میلی لیتر آب میوه، Vb حجم سود مصرفی، Nb نرمالیته سود مصرفی (۰/۱)، M وزن اکی والان سیتریک اسید (۶۴) و Vs حجم آب میوه است.

سفتی بافت میوه: برای سنجش سفتی بافت میوه از دستگاه سفتی سنج (مدل اف دی کا ۳۲، ساخت شرکت وانگر، ایتالیا)، با میله نفوذ به قطر ۴ میلی‌متری استفاده شد. از هر واحد آزمایشی ۳ میوه انتخاب‌شده و هر کدام از میوه‌ها دو بار و به صورت متقابل مورد سنجش و نفوذ میله سفتی سنج قرار گرفتند. سفتی بافت بر حسب نیوتن بیان گردید.

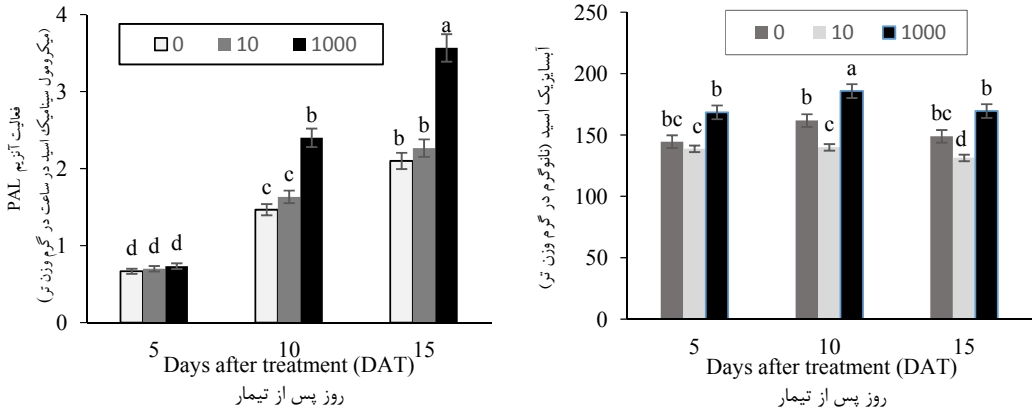
تجزیه آماری: این آزمایش بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی در ۵ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) انجام پذیرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

اثر تیمار ملاتونین بر رسیدن میوه توت فرنگی: اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر فرآیند رسیدن توت‌فرنگی نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار موجب تسریع رسیدن در روز ۱۵ نسبت به شاهد شده است. تیمار ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب تأخیر در رسیدن نسبت به نمونه‌های شاهد شد درحالی‌که غلظت‌های ۱ و ۱۰۰ میکرومولار تأثیری بر رسیدن میوه نسبت به شاهد نداشت. بنابراین غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین به‌عنوان غلظت‌های مؤثر بر رسیدن انتخاب و ارزیابی صفات کمی و کیفی در روند رسیدن روی این دو غلظت انجام شد.

آبسایزیک اسید: نتایج نشان داد تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار موجب افزایش میزان آبسایزیک اسید درونی میوه نسبت به شاهد و تیمار ۱۰ میکرومولار موجب کاهش میزان تولید آبسایزیک اسید نسبت به نمونه‌های شاهد شد (شکل ۱). بیشترین میزان آبسایزیک اسید درونی در زمان ۱۰ روز پس از تیمار و در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین بود.

آنزیم PAL: اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین در زمان‌های مختلف طی پروسه رسیدن نشان می‌دهند که تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار موجب افزایش میزان آنزیم PAL نسبت به شاهد شده است. از زمان ۱۰ روز پس از تیمار اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین با تیمارهای شاهد و ۱۰ میکرومولار مشاهده شد که این اختلاف در زمان ۱۵ روز پس از تیمار به بیشترین مقدار خود رسید (شکل ۱).



شکل ۱- اثر ملاتونین بر تغییرات ABA و آنزیم PAL طی رسیدن توت‌فرنگی

اثر تیمار ملاتونین بر کیفیت پس از برداشت میوه توت فرنگی: آنتوسیانین: نتایج نشان داد که تیمار قبل از برداشت ملاتونین اثر قابل ملاحظه‌ای روی میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد در زمان برداشت داشت. به‌طوری‌که تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار بیشترین میزان آنتوسیانین (۳۹/۲۶ میلی‌گرم پلارگونیدین-۳-گلوکوساید

در ۱۰۰ گرم وزن تازه) و تیمار شاهد کمترین میزان آنتوسیانین (۳۲/۶۵ میلی‌گرم پلارگونیدین-۳-گلوکوساید در ۱۰۰ گرم وزن تازه) را در زمان برداشت داشت. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده طی انبارمانی در روز ۸ غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرولیتر بترتیب با ۶۷/۰۵ و ۶۳/۰۹ میلی‌گرم پلارگونیدین-۳-گلوکوساید در ۱۰۰ گرم وزن تازه میزان آنتوسیانین بالاتری را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند (جدول ۱). در پایان انبارمانی کمترین میزان آنتوسیانین مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین با ۴۶/۵۶ میلی‌گرم پلارگونیدین-۳-گلوکوساید در ۱۰۰ گرم وزن تازه بود.

سفتی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین نشان داد که تیمارهای ملاتونین اثر معنی‌داری بر میزان سفتی در زمان نگهداری در سردخانه داشت. نتایج نشان داد طی دوره انبارمانی میزان سفتی میوه و استحکام بافت‌ها کاهش یافته است. اما تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین نسبت به سایر تیمارها با کاستن از سرعت نرم شدن میوه در سردخانه در ماندگاری بیشتر میوه تاثیرگذار بوده است (جدول ۱). در پایان دوره انبارمانی کمترین میزان سفتی (۳/۱۶N) مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین بود که این نشان دهنده افزایش سرعت پیری در غلظت‌های بالاتر ملاتونین است. همانگونه که در جدول ۱ مشخص است بین تیمار ۱ میکرومولار ملاتونین و شاهد نیز تفاوت معنی داری در مقدار سفتی میوه طی انبارمانی وجود ندارد.

مواد جامد محلول (SSC): نتایج نشان داد که تیمار قبل از برداشت ملاتونین روی میزان SSC میوه در زمان برداشت تاثیر گذار است. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین میزان SSC (بترتیب ۹/۴۴ و ۹/۳۴ درجه بریکس) را در زمان برداشت داشتند. اما میان تیمار ۱ میکرومولار و شاهد تفاوت معنی‌داری در زمان برداشت و طی زمان نگهداری در سردخانه وجود نداشت. همچنین تیمار گیاه با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار کم‌ترین سطح SSC (۸/۰۲ درجه بریکس) را در زمان برداشت داشتند که این موضوع اثر متفاوت ملاتونین در غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد. در روز ۱۲ از نگهداری در سردخانه بیشترین میزان SSC مربوط به تیمارهای ۱۰ (۱۱/۱۲ درجه بریکس) و ۱۰۰ (۱۱/۳ درجه بریکس) میکرومولار ملاتونین بود.

جدول ۱- اثر تیمار قبل از برداشت ملاتونین روی میزان آنتوسیانین، سفتی و مواد جامد محلول میوه توت فرنگی طی انبارمانی

Storage time (days)	Melatonin concentration (µM)				
	0 (control)	1	10	100	1000
	آنتوسیانین کل (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)				
0	32.65± 0.97 m	33.39±0.40 m	36.71±0.78 l	37.86±0.35 l	39.26±0.46 k
4	37.81±0.74 l	37.20±0.37 l	41.08±0.43 j	42.75±0.90 i	42.18±0.85 ij
8	57.32±0.58 e	60.09±0.43d	63.09±0.42 b	67.05±1.53 a	50.15±1.15 g
12	50.61± 1.16 g	53.09±0.66 f	57.84±0.56 e	61.68±0.86 c	46.56±0.55 h
	سفتی بافت (نیوتن)				
0	6.04± 0.06 a	6.02± 0.19 a	6.06± 0.11 a	6.04± 0.08 a	6.04± 0.13 a
4	5.42± 0.11 c	5.46± 0.08 c	5.72± 0.13 b	5.70± 0.07 b	5.10± 0.10 d
8	4.72± 0.08 e	4.76± 0.11 e	5.02± 0.13 d	4.98± 0.08 d	4.28± 0.07 f
12	3.52± 0.03 h	3.52± 0.13 h	3.96± 0.08 g	3.94± 0.11 g	3.16± 0.11 i
	مواد جامد محلول (بریکس)				
0	8.58±0.09 ef	8.56±0.15 ef	9.34±0.13 d	9.44±0.08 d	8.02±0.14 f
4	8.84±0.04 e	8.68± 0.33 ef	8.80±0.11e	10.18±0.20 bc	8.68±0.21 ef
8	9.30±0.10 d	9.36± 0.11 d	10.24 ±0.82 bc	10.76±0.35 ab	9.38±0.13 d
12	9.88±0.25 c	9.70± 0.23 c	11.12±0.08 a	11.26±0.19 a	10.48±0.8 b

در هر صفت، حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد.

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA): نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تفاوت معنی داری بین اثر متقابل تیمار غلظت‌های متفاوت ملاتونین در زمان نگهداری در سردخانه مشاهده نمی‌شود. طی دوره انبارمانی میزان TA به تدریج کاهش یافت اما اثر معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. کاهش میزان اسیدیته قابل تیتراسیون طی نگهداری در میوه‌ها به دلیل کاهش محتوای سیتریک اسید بوده و این کاهش TA در طعم و مزه میوه موثر است و این با یافته‌های سان و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد (۲۰).

آسکوربیک اسید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد تیمار قبل از برداشت ملاتونین اثر معنی‌داری روی میزان آسکوربیک اسید میوه در زمان برداشت نداشت اما طی نگهداری در سردخانه افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان آسکوربیک اسید مشاهده شد. همانطور که در جدول ۲ دیده می‌شود روزهای ۴ و ۸ از انبارمانی تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین میزان آسکوربیک اسید (بترتیب ۹۱/۴۱ و ۸۸/۹۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تازه) را نشان می‌دهد. در پایان انبارمانی کمترین میزان آسکوربیک اسید مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (۶۷/۴۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تازه) است.

فنل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمار قبل از برداشت ملاتونین روی میزان فنل میوه در زمان برداشت اثر معنی داری نسبت به شاهد داشت. غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار (بترتیب با ۸۸/۸۱ ، ۷۸/۸۹ و ۸۵/۴۸ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تازه) بیشترین میزان فنل را نسبت به تیمارهای شاهد و ۱ میکرومولار ملاتونین در زمان برداشت نشان داد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده، در ۸ روز پس از نگهداری در سردخانه بیشترین میزان فنل مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بود. در پایان دوره انبارمانی نیز میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰ و ۱ و ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین کمترین میزان فنل را در میوه داشتند.

جدول ۲- اثر تیمار قبل از برداشت ملاتونین روی میزان اسکوربیک اسید، فنل و ظرفیت پادکسندگی میوه توت فرنگی طی انبارمانی

Storage time (days)	Melatonin concentration (µM)				
	0 (Control)	1	10	100	1000
	فنل کل (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)				
0	81.79±0.9 j	82.47±1.5 j	88.81±1.6hi	87.89±2.1hi	85.48±1.0hi
4	91.31±1.4 gh	94.72±2.0 efg	98.78±3.0 cd	101.80±4.2 c	95.00±2.2 efg
8	93.15±1.7 fg	95.09±2.3 efg	115.20±3.6 b	119.00±3.5 a	98.36±2.7 cde
12	76.14±1.6 k	74.43±3.1 k	88.81±3.4 hi	92.67±4.0 fg	75.74±4.5 k
	آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)				
0	62.22±0.89 i	62.40±0.77 i	63.03±1.04 i	62.39±0.81 i	63.72±0.85 i
4	80.86±1.54 e	83.87±1.18 d	86.91±2.18bc	82.23±0.51 e	91.41±1.16 a
8	78.63±0.99 fg	78.73±0.88 fg	85.95±0.81 c	77.29±1.15 fg	88.93±0.51 b
12	74.40±0.74 g	74.71±0.53 g	77.70±0.90 fg	67.43±1.30 h	79.21±1.10 f
	ظرفیت جاروب کنندگی DPPH (درصد بازدارندگی)				
0	71.98±0.9 c	74.21±1.0 b	74.37±1.3 b	76.28±0.6 ab	76.03±1.0 ab
4	68.33±1.3 cd	70.83±1.5 c	77.93±0.7 a	78.00±0.6 a	75.63±0.8 ab
8	62.03±1.3 e	62.60±0.5 e	74.22±1.0 b	71.37±1.0 c	61.23±1.0 e
12	54.22±1.2 f	52.74±0.8 k	67.90±0.6 cd	66.25±0.7 d	56.27±0.5 ef

در هر صفت، حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد.

ظرفیت جارو ب کنندگی رادیکال DPPH: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمار قبل از برداشت ملاتونین بر میزان ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH میوه در زمان برداشت اثرگذار بود. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده در زمان برداشت ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH میوه در تیمار ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار (به ترتیب با ۷۶/۲۸ و ۷۶/۰۳ درصد) بیشتر از

سایر تیمارها بود. در روز ۴ از نگهداری میوه در سردخانه تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (بترتیب با ۸/۱ ۷۷/۹۳ و ۷۸ درصد) بیشترین میزان ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH را داشتند. همچنین در پایان دوره نگهداری در سردخانه تیمار ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان را دارا بود. در انتهای دوره انبارمانی میوه در سردخانه میان تیمارهای شاهد و ۱ میکرومولار ملاتونین تفاوت معنی داری وجود نداشت.

بحث

فرآیند رسیدن در میوه‌های نافرازگرا فرآیندی پیچیده است که با محتوای ABA مرتبط است. گزارش‌های زیادی مبنی بر اثر ABA بر توسعه و رسیدن میوه توت‌فرنگی وجود دارد. برای اثبات این موضوع میزان ABA در طی رسیدن میوه اندازه‌گیری شد و نشان داده شد که طی پروسه رسیدن میزان آن افزایش می‌یابد (۹). گزارش شده است تیمار ملاتونین از طریق افزایش مولکول سیگنالی H_2O_2 موجب افزایش میزان ABA می‌شود و نهایتا به عنوان یک مولکول سیگنالینگ رسیدن میوه را تحریک کند (۲۶). نتایج دیگر محققان نشان داده است که تنظیم و بیان ژن‌های مربوط به رسیدن در میوه‌های نافرازگرا مانند تنظیم قند و متابولیسم رنگ در ارتباط با ژن‌هایی است که در اثر تجمع ABA و مسیرهایی که شامل دریافت کننده‌های ABA، پیام رسان‌های ثانویه، پروتئین کیناز، پروتئین فسفاتاز Cs2 و عوامل رونویسی است. مدینا و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی نقش اکسین و ABA در رسیدن توت‌فرنگی، گزارش کردند که اکسین نقش ابتدایی و آغازین در توسعه و رسیدن میوه توت‌فرنگی دارد و موجب بزرگ شدن نهنج می‌شود و ABA باعث بیان ژن‌های مؤثر دررسیدن می‌شود(۱۸). ABA باعث بیان ژن FaMYB10 و از این طریق باعث بیان ژن‌های مسیر فلاونوییدها و آنتوسیانین‌ها می‌شود. گزارش شده است که تجمع ABA درونی موجب افزایش فعالیت مسیر فنیل پروپانوئید می‌شود و از طریق افزایش تجمع فنل و آنتوسیانین موجب تسریع در رسیدن می‌شود (۱۹).

آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) به عنوان آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئید، تبدیل فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید را کاتالیز می نماید و به عنوان آنزیم رابط متابولیسم اولیه (مسیر اسید شیکمیک) و متابولیسم ثانویه (مسیر فنیل پروپانوئید) محسوب می گردد. مسیر فنیل پروپانوئیدی، مسیر اولیه تولید بسیاری از ترکیبات طبیعی مانند هیدروکسی سینامیک اسیدها و سپس فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنین، کومارین، استیلبن و طیف وسیعی از سایر مواد فنلی است. PAL آنزیم اصلی در اتصال مسیر سنتزی اسیدهای آمینه آروماتیک و متابولیت‌های ثانویه است که شامل گروه وسیعی از ترکیبات فنلی است و نقش کلیدی در تنظیم محصولات حاصل از مسیر فنیل پروپانوئیدی ایفا می‌کند. فعالیت آنزیم PAL تحت تأثیر مرحله رشد و تمایزیابی سلول تغییر می‌یابد(۱). اقدم و فرد (۲۰۱۸) دریافتند تیمار ملاتونین با افزایش سیگنالینگ H_2O_2 باعث افزایش میزان آنزیم PAL در طی انبارمانی نسبت به شاهد شد (۲). سان و همکاران (۲۰۱۵) نتیجه گرفتند که ملاتونین باعث تنظیم مثبت در بیان ژن‌های مهم در مسیر سنتز فنیل پروپانوئید مانند CHS2, CHS1 و PAL می‌گردد که باعث تجمع فنل کل و فلاونوئید می‌شود. ترکیبات فنلی در میوه‌های بری رنگی فراوان هستند، بنابراین به‌عنوان یکی از مهمترین منابع حاوی فنولیک در رژیم غذایی ما است (۲۰).

آنتوسیانین‌ها به عنوان یک متابولیت ثانویه هستند که علاوه بر کیفیت ظاهری نقش مهمی در افزایش توان دفاعی میوه طی انبارمانی دارند (۲۳). آنتوسیانین‌ها متعلق به یک نوع از فلاونوئیدها هستند که از طریق مسیر فنیل پروپانوئید ساخته می‌شوند. سان و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که ملاتونین باعث تنظیم مثبت در بیان ژنهای مهم در مسیر سنتز فنیل پروپانوئید مانند CHS1, CHS2 F3H و PAL

شدکه باعث تجمع آنتوسیانین در گوجه‌فرنگی می‌شود (۲۰). ژانک و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که تجمع آنتوسیانین در گیاه کلم در پاسخ به تیمار ملاتونین نتیجه بیان بیشتر ژن‌های بیوسنتزی فنیل پروپانوئید (PAL، C4H، CHS، CHI و F3H.) بود (۲۷). ژن CHS (Chalcon synthase) مسئول بیوسنتز آنتوسیانین در توت‌فرنگی است. گزارشات دیگری مبنی بر افزایش تجمع SSC و آنتوسیانین و کاهش در اسید قابل تیتراسیون توسط تیمار ملاتونین در رسیدن توت‌فرنگی ارائه شده است (۱۹). بنابراین ملاتونین هم باعث تسریع رسیدن و هم کندی روند پیری می‌شود. علاوه بر این ملاتونین ممکن است نقش‌های مختلفی را در تنظیم زمان رسیدن و فرایند پیری داشته باشد. رنگ قرمز در توت فرنگی از طریق تولید آنتوسیانین‌ها، در درجه اول پلاگونیدین ۳-گلوکوزید (Pelargonidin-3-glucoside) است که تقریباً ۹۰ درصد آنتوسیانین‌ها را تشکیل می‌دهد. سیانیدین ۳-گلوکوزید (Cyanidin 3-glucoside) دومین آنتوسیانین متداول است و به دنبال آن پلارگونیدین ۳-روتینوزید (Pelargonidin 3-rutinoside) است.

در دیواره سلولی اولیه سلولز، میکرو فیبرهای سلولز با همی‌سلولز پوشش داده شده و فضاهای این شبکه ها با پکتین پر شده است که یک شبکه را تشکیل می دهد. ملاتونین با تاثیر روی افزایش فعالیت پلی گالاکتروناز (PG) و سلولاز (Cel) به ترتیب موجب تغییر پکتین و سلولز شدند و همچنین موجب نرم شدن میوه گلابی در پس از برداشت شد. (۲۷). از جمله تغییرات نامطلوب در زمان پس از برداشت می‌توان به کاهش استحکام و سفتی بافت میوه اشاره کرد. رسیدن موجب کاهش در سفتی میوه و در نتیجه افزایش حساسیت آن به پاتوژن‌ها در مراحل رسیدن یا زمان نگهداری در سردخانه طولانی می‌شود. این جنبه مهمترین عامل در کاهش عمر میوه در دوره بعد از برداشت بوده و از اهمیت تجاری و اقتصادی بالایی نیز برخوردار است (۱۲). لیو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند تیمار پس از برداشت میوه‌های توت‌فرنگی با ملاتونین موجب حفظ بیشتر استحکام و سفتی در زمان نگهداری پس از برداشت شد (۱۶). بنابراین میزان استحکام و یکپارچگی دیواره سلولی برای حفظ کیفیت میوه و افزایش عمر پس از برداشت میوه بسیار مهم است. جائو و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تیمار ملاتونین موجب حفظ بیشتر سفتی میوه هلو در زمان نگهداری در سردخانه شد (۱۰). اما سان و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تیمار ۵۰ میکرومولار موجب نرم شدن گوجه‌فرنگی در مرحله سبز شد که این تفاوت نسبت به نتایج حاضر می‌تواند به دلیل اختلاف در زمان رسیدن محصول توت فرنگی نسبت به محصول گوجه‌فرنگی باشد (۲۰).

نتایج مشابهی مبنی بر اثر تیمار ملاتونین در افزایش میزان SSC و گلوکز در میوه گوجه‌فرنگی گزارش شد (۲۰). در یک آزمایش گزارش شده در میوه گلابی تیمار خارجی ملاتونین موجب افزایش مقدار قندهای محلول، بویژه ساکارز و سوربیتول و افزایش میزان قند میوه شد که دلیل آن بیان کمتر ژن اینورتاز و افزایش فعالیت ساکارز فسفات سنتاز تحت تاثیر تیمار خارجی ملاتونین بود (۱۵). ساکارز، فروکتوز و گلوکز از عمده قندهای محلول در توت‌فرنگی هستند (۱۳). توت فرنگی رسیده تقریباً از ۹۰درصد آب و ۱۰درصد مواد جامد محلول تشکیل شده است و حاوی چندین ماده است که در رژیم غذایی اهمیت دارد. از نظر عطر و طعم، کربوهیدرات‌ها یکی از اصلی ترین عناصر محلول در میوه توت فرنگی هستند و همچنین انرژی لازم را برای تغییرات متابولیکی فراهم می‌کنند.. در توت‌فرنگی طعم، عطر، رنگ و آبدار بودن بسیار اهمیت دارد زیرا این موارد بازارپسندی و تجارت این محصول را مشخص می‌کند. شیرین بودن یکی از ویژگی‌های مهم در تجارت این محصول است و این تحت تاثیر مقدار و اجزای ترکیب قند درون میوه است (۵).

گزارش شده که تیمار قبل از برداشت ملاتونین موجب افزایش لیکوپن و افزایش میزان آسکوربیک اسید در میوه گوجه‌فرنگی شد که این باعث افزایش کیفیت تغذیه ای و برای سلامت مصرف کننده مفید است (۱۶). اسید اسکوربیک یکی از مهمترین عوامل کیفی در میوه توت‌فرنگی است. اسکوربیک اسید در میوه توت فرنگی می‌تواند از اسید D-galacturonic سنتز شود که یکی از اصلی ترین اجزا پکتین دیواره سلولی است. پکتین جزء اصلی دیواره سلول است که در ساخت دیواره نقش دارد، همچنین D-galacturonic acid را پس از هیدرولیز آزاد می‌کند (۳). بنابراین کاهش حلالیت پکتین در دیواره سلولی معمولا باعث کاهش اسید آسکوربیک می شود. از آنجاییکه تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین موجب شد تا میوه نسبت به سایر تیمارها نرم‌تر شود بنابراین این غلظت از ملاتونین سبب افزایش معنی‌داری در میزان آسکوربیک اسید میوه شد. کائو و همکاران (۲۰۱۸) دریافتند تیمار ملاتونین بر میوه هلو موجب افزایش بیوسنتز ژن‌های مسیر سنتز آسکوربیک اسید شد (۷). نتایج این آزمایش با مشاهدات لیو و همکاران (۲۰۱۸) نیز مطابقت دارد (۱۶). جائو و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تیمار ملاتونین با تحت تاثیر قرار دادن فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) موجب افزایش میزان آسکوربیک اسید میوه هلو می‌شود (۱۰).

اثرات مفید میوه‌ها و سبزی‌ها در سلامتی به سطوح بالایی از انواع مختلف فیتوشیمیایی مربوط می‌شود که بیشترین درصد آن را فنل‌ها تشکیل می‌دهند. ترکیبات فنلی در طعم‌های خاص محصول (مانند تانن‌ها که مسئولیت طعم تلخ یا طعم و مزه برخی میوه‌ها را دارد) و رنگ مانند رنگدانه‌های آنتوسیانین (که مسئول رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش هستند) نقش دارند (۸). گزارش شده که تیمار ملاتونین موجب افزایش بیان ژن‌های G6PDH, SKDH و PAL می‌شود که آنزیم‌های ضروری در مسیر سنتز ترکیبات فنلی هستند (۲۶). PAL آنزیم کلیدی در مسیر شیکمیک و متابولیسم فنیل پروپانوئید است. مسیر فنیل پروپانوئیدی، مسیر اولیه تولید بسیاری از ترکیبات طبیعی مانند هیدروکسی سینامیک اسیدها و سپس فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنین، کومارین، استیلبن و طیف وسیعی از سایر مواد فنلی است(۱۸).

ملاتونین به عنوان یک خنثی کننده قدرتمند رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند و بنابراین فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد (۱۵). گزارش‌های قبلی نشان داد که تیمار ملاتونین با افزایش میزان آنتوسیانین و فنل و فلاوونوئیدها موجب افزایش ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH میوه توت‌فرنگی در زمان نگهداری در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شده است (۱). همچنین گزارش شده تیمار پس از برداشت ملاتونین بر میوه هلو با افزایش میزان سنتز آنتی اکسیدان‌ها موجب افزایش مقاومت به سرما در طی نگهداری میوه در سردخانه شده است (۷). ملاتونین با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتار، کاتالاز، پر اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه هلو در زمان نگهداری در انبار شد (۱۰). تیمار آنتی‌اکسیدان‌های خارجی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در میوه‌ها افزایش دهد و از آنجاییکه ملاتونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در نظر گرفته می‌شود می‌تواند ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH را افزایش دهد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان پیشنهاد کرد که افزایش میزان فنل و آنتوسیانین تحت تیمار ملاتونین در میوه توت‌فرنگی موجب افزایش میزان ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH میوه نیز شده است (۲۷).

بر اساس این نتایج می‌توان بیان نمود که غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار موجب تسریع رسیدن نسبت به شاهد شده است. تیمار ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب تأخیر در رسیدن شد درحالی‌که غلظت‌های ۱ و ۱۰۰ میکرومولار تأثیری بر رسیدن میوه نسبت به شاهد نداشت. همچنین محلول‌پاشی قبل از برداشت ملاتونین در غلظت ۱۰۰

میکرومولار تیماری موثر در جهت حفظ کیفیت حسی و تغذیه ای میوه توت فرنگی و افزایش عمر پس از برداشت میوه در طول نگهداری می‌باشد.

منابع

1- Aghdam, M. S., Luo, Z., Jannatizadeh, A., Sheikh-Assadi, M., Sharafi, Y., Farmani, B., and Razavi, F. 2019. Employing exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in tomato fruits by upregulating ZAT2/6/12 giving rise to promoting endogenous polyamines, proline, and nitric oxide accumulation by triggering arginine pathway activity. Food Chemistry, 275. 549-556.

2- Aghdam, M.S., and Fard, J.R. 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria* × *anannasa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. Food Chemistry, 221. 150–165.

3- Agius, F., González-Lamothe, R., Caballero, J.L., Muñoz-Blanco, J., Botella, M.A., and Valpuesta, V. 2003. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. Nature Biotechnology, 21. 177–181.

4- AOAC. 1994. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Williams, S. (Ed). th. Edition Association of Official Analytical Chemists, Ar Lington, pp: 844-845.

5- Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B. and Battino, M. 2015. Strawberry as a health promoter: an evidence based review. Food & Function. 6. 1386–1398.

6- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, 28:1. 25-30.

7- Cao, S., Song, C., Shao, J., Bian, K., Chen, W. and Yang, Z. 2016. Exogenous melatonin treatment increases chilling tolerance and induces defence response in harvested peach fruit during cold storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64. 5215–5222.

8- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., and Liu, R.H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Aagricultural and Food Ch. 50:10. 3010-301.

9- Feng, X., Wang, M., Zhao, Y., Han, P., and Dai, Y. 2014. Melatonin from different fruit sources, functional roles, and analytical methods. Trends in Food Science & Technology, 37. 21–31.

10- Gao, H., Zhang Z.K., Chai H.K., Cheng N., Yang Y., Wang D.N., Yang T. and Cao, W. 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. Postharvest Biology and Technology, 118. 103–110.

11- Ge, C., Luo, Y., Mo, F., Xiao, Y.H., Li, N.Y., and Tang, H.R. 2019. Effects of glutathione on the ripening quality of strawberry fruits. AIP Conference Proceedings, 2079: 020013. 1-5.

12- Giovannoni, J.J. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. The Plant Cell 16. 170-180.

13- Jia, H., Wang, Y., Sun, M., Li, B., Han, Y., Zhao, Y., Li, X., Ding, N., Li, C., Ji, W. and Jia W. 2013. Sucrose functions as a signal involved in the regulation of strawberry fruit development and ripening. New Phytologist. 198. 453–465.

14- Kelen, M., Demiralay, E. C., Şen, S., and Alsanckak, G. Ö. (2004) "Separation of abscisic acid, indole-3-acetic acid, gibberellic acid in 99 R (Vitis berlandieri x Vitis rupestris) and rose oil (Rosa damascena Mill.) by reversed phase liquid chromatography". Turkish Journal of Chemistry, 28(5), 603-610.

15- Liu, J., Yue, R., Si, M., Wu, M., Cong, L., Zhai, R and Xu, L. 2019. Effects of exogenous application of melatonin on quality and sugar metabolism in 'Zaosu' pear fruit. Plant Growth Regulators, 38(3): 1161-1169.

16- Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W., and Zheng, L. 2018. Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 139, 47-55.

17- Liu, J., Zhang, R., Sun, Y., Liu, Z., Jin, W. and Sun, Y. 2016. The beneficial effects of exogenous melatonin on tomato fruit properties. Scientia Horticulturae, 207. 14–20.

18- Medina-Puche L, Cumplido-Laso G, Amil-Ruiz F, Hoffmann T, Ring L, Rodrıguez-Franco A, Caballero J, Schwab W, Munoz-Blanco J, Blanco-Portales R. (2014). MYB10 plays a major role in the regulation of flavonoid/ phenylpropanoid metabolism during ripening of

Fragaria ananassa fruits. Journal of Experimental Botany 65: 401–417

19- Pérez-Llorca, M., Muñoz, P., Müller, M., and Munné-Bosch, S. 2019. Biosynthesis, metabolism and function of auxin, salicylic acid and melatonin in climacteric and non-climacteric fruits. Frontiers in Plant Science, 10: 136.

20- Sun, Q., Zhang, N., Wang, J., Zhang, H., Li, D., Shi, J., Li, R., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S. and Guo, Y.D. 2015. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. Experimental Botany, 66. 657–668.

21- Tulipani, S., Marzban, G., Herndl, A., Laimer, M., Mezzetti, B. and Battino, M. 2011. Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry. Food Chemistry, 124. 906–913.

22- Valero, D., and Serrano, M. 2010. Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. Boca Raton: CRC Press

23- Vanden Ende, W., and El-Esawe, S.K. 2014. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: A dual function in abiotic and biotic stress responses. Environmental and Experimental Botany. 108. 4–13.

24- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. 2006. Involvement of nitric oxide in oxidative burst phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in Taxus yunnanensis cell suspension cultures. *Biology and Chemistry*. 15: 351-358.

25- Woodward, J. R. 1972. Physical and chemical changes in developing strawberry fruits. Journal of the Science of Food and Agriculture, 23(4), 465-473.

26- Xu, L., Yue, Q., Xiang, G., Bian, F.E. and Yao, Y., 2018. Melatonin promotes ripening of grape berry via increasing the levels of ABA, H2O2, and particularly ethylene. Horticulture Research, 5:41.

27- Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, and Zhao, B. 2016. Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. Frontiers in Plant Science, 7, 197.

Effect of preharvest treatment of melatotin on ripening and postharvest qualitative characteristics of strawberry (*Fragaria* × *anannasa* cv. Queen Elisa)

Mansouri S.[1], Sarikhani H.[1], Sayyari M.[1], Soleimani Aghdam M.[2] and Sarcheshmeh M.A.[3]

Dept. of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran.

Dept. of Horticultural Science, Imam Khomeini International University, Qazvin, I.R. of Iran.

Dept. of Horticultural Science, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran.

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of melatonin on the ripening, quality and postharvest life of strawberry and selecting its effective concentrations on strawberry cv Queen Elisa. Melatonin foliar application was performed at five concentrations including zero (control), 1, 10, 100 and 1000 µM in light green fruit stage. To investigate the effect of treatments on ripening process, fruits were harvested at 5, 10 and 15 days after treatment and their growth and physiological changes were evaluated. Also, in order to evaluate the effect of melatonin on postharvest life and quality, fruits were stored at 4 °C for 12 days. The 1000 µM treatment results increased the amount of ABA content and PAL enzyme activity during the ripening process. Also, 10 µM treatment decreased ABA production compared to those of control. The results of postharvest samples showed that fruits treated with melatonin at 100 µM concentration had higher firmness during postharvest, which was associated with higher SSC / TA ratio. In addition to sensory quality, the accumulation of phenol, anthocyanin and ascorbic acid with antioxidant capacity was higher in fruits harvested from 100 µM melatonin treatment compared to control treatment. It can be concluded that the effect of different concentrations of melatonin on the strawberry ripening process showed that the concentration of 1000 µM accelerated ripening compared to the control. Treatment with 10 µM melatonin delayed maturation compared to control samples.

Key words*:* ABA, PAL, Sen`sory quality, Melatonin.