

## بررسی اثر تیمارهای گابا و پرولین روی حفظ کیفیت پس از برداشت میوه لیموشیرین (*Citrus limetta*)

طیبه حیدری<sup>۱</sup>، زهرا پاک‌کیش\*<sup>۱</sup> و سهیلا محمدرضاخانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> بخش باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، جیرفت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷)

### چکیده

یکی از راه‌های اصولی جهت افزایش عمر انبارمانی میوه‌ها، استفاده از تیمارهایی است که بتوانند خصوصیات کیفی و بازاریابی را افزایش دهند. در این تحقیق استفاده از ترکیباتی از جمله پرولین و گابا به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به منظور محافظت از غشاهای سلولی، حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری در طی دوره پس از برداشت در میوه‌های لیموشیرین صورت گرفته است. تیمارها شامل، غلظت‌های گابا ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول بر لیتر، پرولین ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومول بر لیتر و آب‌مقطر (شاهد) بودند. سپس میوه‌ها مورد نظر به مدت پنج دقیقه با روش غوطه‌ورکردن، در محلول‌های مورد نظر تیمار شدند. بعد از خشک‌شدن کامل میوه‌ها، آنها در بسته‌های ۵ تایی قرار داده و به سردخانه منتقل و در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد، به مدت چهار ماه نگهداری شدند و به فاصله هر ۳۰ روز یکبار، تعدادی از میوه‌ها را از سردخانه خارج نموده و صفاتی نظیر درصد آسیب‌دیدگی میوه، اسیدهای آلی، میزان مواد جامد محلول، فعالیت آنزیم‌های پرکسیداز و کاتالاز، پروکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها و نشیون برون‌یابی بررسی شدند. نتایج نشان دادند که میزان آسیب‌دیدگی، نشیون برون‌یابی، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها در میوه‌های تیمار شده با گابا ۲۰۰ میکرومول و پرولین ۲۵۰ میکرومول نسبت به شاهد کاهش یافته است. تیمار میوه‌های لیموشیرین با گابا ۲۰۰ میکرومول و پرولین ۲۵۰ میکرومول منجر به افزایش در میزان مواد جامد محلول، اسیدهای آلی و همچنین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز گردیده است. بنابراین، کاربرد گابا و پرولین می‌تواند جهت افزایش عمر انبارمانی میوه در سطح تجاری توصیه گردد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز انبارمانی، کیفیت میوه

### مقدمه

اقتصادی قابل توجهی را به دنبال دارد (FotouhiGhazvini and

(FattahiMoghaddam, 2007).

بیماری‌های بعد از برداشت نقش مهمی در محدودکردن عمر انبارمانی در مرکبات دارند، در طی انبار طولانی به دلیل تغییرات فیزیولوژیکی که در محصولات انجام می‌گیرد، باعث

لیموشیرین از میوه‌های گرمسیری و از مرکبات قابل رقابت ایران در بازارهای جهانی و منطقه‌ای است عوامل مختلفی از قبیل زمان برداشت، جابه‌جایی محصول، دما و طول مدت انبارمانی بر خواص مختلف میوه تأثیر می‌گذارند و پیامدهای

آسیب‌های اکسیداتیو مثل آسیب به پروتئین‌ها و تخریب آنزیم‌ها، DNA، RNA و لیپیدهای غشایی جلوگیری کند و سبب افزایش تحمل و مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007).

با کاربرد گابا روی گوجه‌فرنگی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته است، که نشان‌دهنده تأثیر گابا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با کاربرد گابا افزایش یافته و منجر به کاهش علایم سرمازدگی در گیاهچه‌های گندم شده است (Malekzadeh et al., 2014). کاربرد گابا در غلظت ۲۰ میلی‌مولار در میوه موز باعث کاهش آسیب سرمازدگی، تجمع پرولین، افزایش فنل کل، افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و حفظ کیفیت گردید (Deng et al., 2010).

گابا باعث افزایش انسجام غشاهای سلولی همچون غشای پلاسمایی و تیلاکوئیدی و مانع تخریب دستگاه فتوسنتزی می‌شود. این عملکرد باعث افزایش میزان کلروفیل و افزایش فتوسنتز شده و در رشد و نمو گیاه نقش بسزایی دارد (Shelp et al., 2012). گزارش شده است که در طی تنش سرما متابولیسم گابا در بافت میوه هلو افزایش می‌یابد، که باعث کاهش آسیب سرمایی می‌شود، کم شدن آسیب سرمایی در میوه‌های هلوی تیمار شده با گابا در انبار سرد ممکن است در نتیجه تجمع پرولین باشد (Shang et al., 2011).

گزارش شده که محلولپاشی پس از برداشت گاما‌آمینوبوتریک اسید بر گیلان رقم تک دانه مشهد سبب حفظ مقدار اسیدهای قابل تیتراسیون، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل، فلاونوئید کل در میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد بعد از ۳۰ روز انبارمانی شده است. در حالی که مقدار pH در میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های تیمار نشده در طول انبارمانی کاهش یافت (Hassanpour et al., 2018).

کاربرد خارجی پرولین سبب کاهش خسارت تنش اکسیداتیو و کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد می‌شود

می‌گردد، عامل بیماری بتواند در میوه رشد کند و آسیب‌پذیری نسبت به بیمارهای بعد از برداشت افزایش یابد (Crisosto and Kader, 2000).

محصولات باغبانی به دلیل داشتن آب زیاد، به طور طبیعی آمادگی تخریب را دارند. آنها از لحاظ بیولوژیکی بسیار فعال بوده و تنفس، تبخیر و تعرق، رسیدن و سایر فعالیت‌های بیوشیمیایی، منجر به از بین رفتن کیفیت در آنها می‌شود (Thumula, 2006). کاهش سرعت رسیدن و به تعویق انداختن مرحله پیری در همه میوه‌ها به منظور افزایش عمر نگهداری آن بسیار ضروری است (Crisosto and Kader, 2000).

گابا از آمینواسیدهای آزاد و در سلول‌های گیاهی به مقدار قابل توجهی تجمع پیدا می‌کند و در پاسخ به تنش در گیاهان تجمع می‌یابد. تنش‌های مختلف از قبیل تغییرات دما و برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد در بافت‌های گیاهی باعث تجمع گابا می‌شوند (Shelp et al., 2012).

از نقش‌های احتمالی گابا می‌توان به حفظ تعادل کربن به نیتروژن، رشد و هدایت دانه‌گرده، تنظیم pH سیتوسولی، حفاظت در مقابل تنش اکسیداتیو، جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در تنش‌های مختلف محیطی، دفاع در برابر حشرات، مشارکت در چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید، متابولیسم نیتروژن تنظیم‌کننده اسمزی نمو گیاه اشاره کرد (Nayyar et al., 2014).

پرولین یکی از ترکیبات ذخیره‌ای و یک ماده قابل حل است که دارای وزن مولکولی پایین است و تولید و تجمع پرولین از سازگاری‌های مهم فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو است. در واقع پرولین می‌تواند به عنوان منبع ذخیره کربن و نیتروژن برای بافت‌های در حال ترمیم، یک ترکیب مؤثر در تنظیم و تعدیل فشار اسمزی، یک بافر برای تثبیت pH، یک پاک‌کننده گونه اکسیژن واکنش‌گر در سلول و نیز به عنوان یک مولکول محافظ، عمل کند (Ashraf and Foolad, 2007).

پرولین نقش مهمی را در سلول‌های گیاهی در پاسخ‌های سازگارکننده و محافظتی در مقابل تنش‌ها ایفا می‌کند و از

دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد، به مدت چهار ماه نگهداری شدند.

در نهایت به فاصله هر ۳۰ روز یکبار، تعدادی از میوه‌ها را از سردخانه خارج نموده و برای بررسی عمر انبارمانی و تغییرات بیوشیمیایی میوه، نظیر میزان آسیب‌دیدگی میوه، اسیدهای آلی، میزان مواد جامد محلول، pH، فعالیت آنزیم‌های پرکسیداز و کاتالاز، پروکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یون بررسی شدند.

**اندازه‌گیری میوه‌های آسیب‌دیده:** ارزیابی میزان میوه‌های آسیب‌دیده در لیموشیرین ۳۰ روزی یکبار به مدت چهار ماه نگهداری در دمای پایین صورت گرفت. وجود لکه‌های قهوه‌ای رنگ به همراه فرورفتگی‌های سطح میوه و پوسیدگی روی سطح میوه به عنوان میوه‌های آسیب‌دیده (هر گونه علایمی که از بازارپسندی میوه می‌کاهد، به عنوان آسیب در نظر گرفته شد) در نظر گرفته شد. میزان میوه‌های آسیب‌دیده بدین صورت محاسبه گردید (Nilprapruck *et al.*, 2008).

رابطه ۱)

درصد میوه‌های آسیب‌دیده = (تعداد کل میوه - تعداد میوه سالم / تعداد کل میوه) × ۱۰۰

**اندازه‌گیری نشت یونی:** اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا از روش (Dhindsa *et al.*, 1981) انجام شد. در این روش ابتدا ۰/۱ گرم از پوست میوه توزین گردیده و سپس به قطعات مساوی کوچک‌تر تقسیم و در لوله‌ای کوچک در پوشدار قرار داده شدند و در ادامه به هر کدام ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردیده و به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند، پس از آن هدایت الکتریکی محلول حاصله با دستگاه EC متر مدل Metrom (ساخت سوئیس) اندازه‌گیری شد. که بدین صورت EC1، بدست آمد.

برای اندازه‌گیری EC2، ابتدا نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت فریز شده (دمای ۲۰- درجه) و ۲۴ ساعت دیگر در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند و مجدد هدایت الکتریکی محلول حاصله اندازه‌گیری شد (EC2) در پایان میزان نشت یونی با استفاده از نسبت  $EC_1/EC_2 \times 100$  محاسبه گردید.

(Mansour, 2000). تا کنون گزارشی مبنی بر کاربرد پرولین جهت افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغی ارایه نشده است و این اولین گزارش در این زمینه است. گابا از طریق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مسیرهای متابولیسم نیتروژن، تجمع آلانین محافظ در برابر تنش و جلوگیری از تجمع ROS و مرگ سلول و حذف ROS رابه‌بود دهد (Barbosa *et al.*, 2010).

هدف از این پژوهش بررسی کاربرد تیمار بعد از برداشت پرولین و گابا روی حفظ صفات شیمیایی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب سرمازدگی و ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی میوه‌ها و حفظ کیفیت ظاهری میوه‌های لیموشیرین طی انبارمانی بوده است.

#### مواد و روش‌ها

آزمایش در آزمایشگاه بخش علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شده است. میوه‌های لیموشیرین سالم، یکنواخت و عاری از هر نوع عامل بیماری‌زا به منظور اعمال تیمار بکار برده شدند. میوه‌ها در از یک باغ تجاری واقع در جیرفت در استان کرمان در زمان رسیدن کامل (در آذرماه) برداشت شدند. ابتدا میوه‌ها با آب معمولی کاملاً شسته شدند تا تمام مواد زایدی که به سطح میوه چسبیده بودند از آن جدا، سپس با آب ۳۵ درجه سانتی‌گراد شستشو تا میوه‌ها از هر نوع عامل بیماری‌زایی سطحی تمیز گردند و در نهایت میوه‌ها به طور کامل خشک و با مواد شیمیایی مورد نظر تیمار شدند.

برای انجام تیمار، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول گابا و پرولین با غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومول بر لیتر و آب مقطر (شاهد) به مدت پنج دقیقه با روش غوطه‌ورکردن، (دمای محلول‌ها  $20 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد) استفاده شدند. بعد از تیمار، میوه‌ها از محلول خارج و در سبدهایی قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. بعد از خشک‌شدن و جذب‌شدن کامل مواد مذکور توسط میوه‌ها، در بسته‌های پنج تایی در ظروف یکبار مصرف شفاف، قرار داده شدند و آنها به سردخانه منتقل و در

رابطه ۳)

$$A = S.N.F.E/C \times 100$$

A = مقدار اسید در عصاره میوه (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر)، S =

مقدار سدیم مصرف شده بر حسب میلی لیتر، N = نرمالیت

NaOH، F = فاکتور NaOH، C = مقدار عصاره میوه (ml)، E =

اکی والان اسید مورد نظر و اندازه گیری میزان اسیدیته (pH)

جهت تعیین اسیدیته آب میوه از عصاره صاف شده میوه و

با استفاده از دستگاه pH متر (مدل ۳۳۲۰ ساخت شرکت

Jenway انگلستان) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری

انجام گرفت.

اندازه گیری پراکسید هیدروژن: ۰/۱ گرم از بافت گیاهی را

با ۳ میلی لیتر تری کلور استیک اسید (۰/۱ درصد یعنی ۰/۱

گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب) در حمام یخ مخلوط کرده بعد در

۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ نموده و سپس ۰/۵

میلی لیتر از عصاره حاصل با ۰/۵ میلی لیتر از بافر فسفات

پتاسیم ۱۰ میلی مولار با pH = ۷ و ۱ میلی لیتر یدید پتاسیم (KI)

یک مولار مخلوط و سپس هر نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر

خوانده شد (Velikova et al., 2000).

اندازه گیری فعالیت آنزیم، استخراج پروتئین: ابتدا یک

گرم بافت گیاهی را در هاون حاوی ۵ میلی لیتر بافر تریس-

HCL ۰/۰۵ مولار با pH = ۷/۵ سائیده تا محلول همگنی بدست

آید. محلول را به لوله سانتریفیوژ منتقل نموده و بعد از ۱۰

دقیقه سکون به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴

درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال دار،

سانتریفیوژ نموده، سپس لوله ها به آرامی از دستگاه خارج و

محلول رویی را در لوله آزمایش ریخته و عصاره پروتئینی

حاصل شد که برای سنجش فعالیت آنزیم های پراکسیداز و

پلی فنل اکسیداز بکار رفت.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: پس از آماده سازی عصاره

پروتئینی، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به معرف های

زیر نیاز است:

۲ میلی لیتر بافر تریس ۱۰۰ میلی مولار pH = ۷/۵، ۳۰۰

میکرو لیتر آب اکسیژنه ۵ میلی مولار، ۲۰۰ میکرو لیتر پیروگال

۱۰ میلی مولار

اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشا: بر طبق این

روش (Dhindsa et al., 1981) ۰/۲ گرم از بافت تازه گیاهی

وزن شده و در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر تری کلور استیک

اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل با استفاده

از سانتریفیوژ مدل NAPco2028R ساخت کشور سوئیس به

مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد، به یک میلی لیتر از

محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی لیتر محلول TCA

۲۰ درصد، که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA)

بود، اضافه شد.

مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه

سانتیگراد حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در

یخ سرد شد و دوباره مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در

۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از

اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد، ماده مورد

نظر در این طول موج، کمپلکس قرمز رنگ (MDA-TBA)

است، برای حذف ترکیبات اضافی، جذب نمونه ها در طول موج

۶۰۰ نانومتر خوانده و از جذب نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر

کسر گردید و برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی

معادل  $155 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  و معادله زیر استفاده گردید:

رابطه ۲)

$$A = \epsilon BC$$

در این معادله، A جذب خوانده شده،  $\epsilon$  ضریب خاموشی،

B عرض کووت و C غلظت کمپلکس بر حسب میلی مولار

است. نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب نانومول بر گرم

وزن تر محاسبه شد (Dhindsa et al., 1981).

اندازه گیری اسید آلی: برای اندازه گیری اسیدهای آلی ابتدا

۱۰ میلی لیتر از عصاره میوه را توسط پیپت داخل ظرف

شیشه ای ریخته و به آن ۲۰ تا ۴۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد

(Basiouny, 1996). سپس عمل سنجش حجمی (تیتراسیون)

توسط هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال انجام داده شد. بر اساس

مقدار هیدروکسید سدیم مصرف شده در عمل تیتراسیون، مقدار

اسید را در عصاره میوه به صورت درصد یا گرم اسید در ۱۰۰

میلی لیتر عصاره میوه محاسبه گردید. برای این منظور از معادله

زیر استفاده شد:

۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. برای محاسبه فاکتور مخلوط  
ید از معادله زیر استفاده شد (Basiouny, 1996).  
رابطه ۳)

$$F=A/B \times N \times 88.1$$

F=فاکتور مخلوط ید، A=مقدار اسید آسکوربیک خالص  
(میلی گرم)، B=مقدار مخلوط ید مصرف شده (میلی گرم)،  
N=نرمالیتته مخلوط ید

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS9.2 صورت  
گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام  
شده است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای  
دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و مقایسه میانگین اثرات  
متقابل توسط نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت. نمودارها  
توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

### نتایج

**اثر پرولین و گابا روی درصد میوه آسیب‌دیده لیموشیرین:**  
طبق نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، با گذشت زمان  
درصد میوه‌های آسیب‌دیده افزایش یافته است به‌طوری‌که با  
کاربرد تیمارهای پرولین و گابا در میوه‌های لیموشیرین درصد  
میوه‌های آسیب‌دیده طی انبارمانی کاهش پیدا کرد.

به‌طوری‌که طی چهار ماه انبارمانی میوه‌های لیموشیرین،  
بیشترین درصد میوه‌های آسیب‌دیده مربوط به تیمار شاهد و  
کمترین درصد پس از پایان دوره انبارمانی در میوه‌های  
تیمارشده با پرولین ۲۵۰ میکرومول و گابا ۲۰۰ میکرومول  
مشاهده شد، که در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن  
تفاوت معنی‌داری با هم داشتند (جدول ۱ و شکل ۱).

**نشت یونی:** نتایج مربوط به صفت نشت یونی نشان داد که  
با گذشت زمان بیشترین میزان نشت یونی در میوه‌های شاهد  
و کمترین مربوط به میوه‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰  
میکرومول گابا بود (جدول ۲). سایر تیمارها نیز میزان نشت  
یونی را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دادند. غوطه‌وری بر  
نشت یونی در زمان برداشت تأثیر نداشت، پرولین ۵۰۰  
میکرومول تأثیر مثبتی بر کاهش نشت یونی نداشته و فاقد

که همگی آنها را در حمام یخ با هم مخلوط نموده و ۵۰  
میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه نموده و منحنی تغییرات جذب  
در طول موج ۴۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد  
(Kochba et al., 1977).

### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت کاتالاز

براساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر  
صورت گرفت (Dhindsa et al., 1981). براساس این روش  
مخلوط واکنش ۳ میلی لیتر (شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰  
میلی مولار (pH=۷)، آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰  
میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به  
مخلوط واکنش، واکنش شروع شد و کاهش در جذب آب  
اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از  
دستگاه اسپکتروفتومتری Cary 500 ساخت شرکت  
Varian اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار آنزیمی است  
که یک میلی مول آب اکسیژنه را در مدت یک دقیقه تجزیه کند.  
چون میزان فعالیت آنزیم براساس غلظت آب اکسیژنه  
تجزیه شده محاسبه شد. غلظت آب اکسیژنه مصرف شده با  
استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

### اندازه‌گیری مواد جامد محلول (TSS): در این تحقیق

اندازه‌گیری مواد جامد محلول (TSS) توسط رفاکتومتر دستی  
(مدل H 50 از شرکت Atago ژاپن) صورت گرفته است  
(Zokaei-Khosroshahi and Esna-Ashari, 2007).

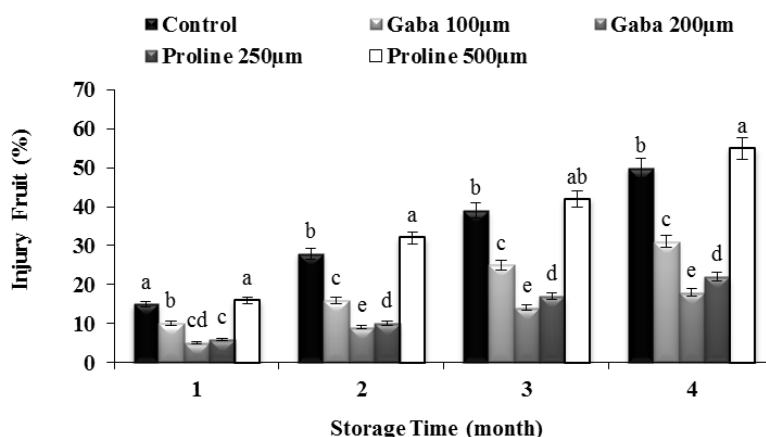
### اندازه‌گیری اسید آسکوربیک: برای اندازه‌گیری اسید

آسکوربیک ۱/۲۶۹ گرم ید را با ۱۶/۶ گرم یدید پتاسیم در آب  
مقطر مخلوط کرده و حجم آن به یک لیتر رسانده شد. در این  
مخلوط، نرمالیتته ید ۰/۰۱ نرمال است، اما قبل از آزمایش باید  
فاکتور آن اندازه‌گیری شود. برای این منظور مخلوط حاضر  
شده را ۱ الی ۲ روز نگهداری کرده، سپس ۲۰ میلی لیتر از  
مخلوط فوق را در یک ظرف دیگر ریخته، روی آن ۲ میلی لیتر  
محلول نشاسته یک درصد اضافه می‌نماید. این مخلوط با  
محلول اسید آسکوربیک خالص تیترا شد. به طوری‌که در نقطه  
پایان محلول به رنگ خاکستری کم‌رنگ در آید. برای تهیه  
محلول اسید آسکوربیک ۱۰۰ میلی لیتر پودر خالص آن را در

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان درصد میوه‌های آسیب‌دیده لیموشیرین طی انبارمانی

میانگین مربعات				درجه		منابع تغییرات
ماه سوم	ماه دوم	ماه اول	قبل از انبارمانی	آزادی		
۲/۷۰*	۱/۶۰*	۰/۸۹*	۰/۵۴*	-	۴	تیمار
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	-	۱۰	خطا
۱/۰۷	۱/۰۸	۱/۴۷	۱/۸۰	-		ضریب تغییرات (%)

\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، ns عدم معنی داری



شکل ۱- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی درصد میوه آسیب‌دیده در میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی

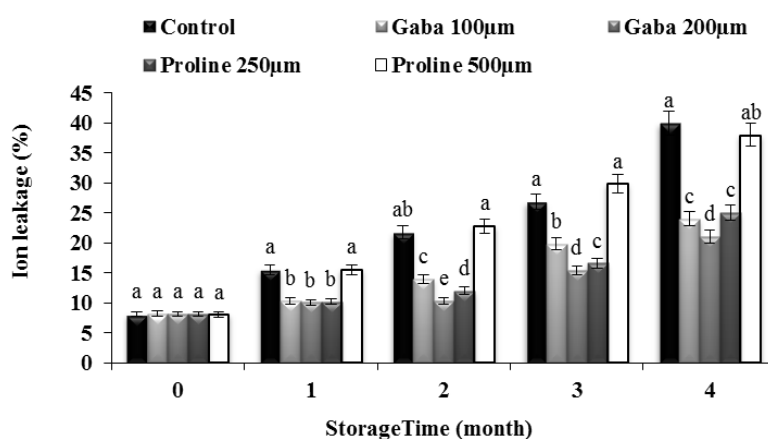
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان نشت یون لیموشیرین طی انبارمانی

میانگین مربعات				درجه		منابع تغییرات
ماه سوم	ماه دوم	ماه اول	قبل از انبارمانی	آزادی		
۱/۸۸*	۱/۰۰۵*	۰/۳۶*	۰/۱۳*	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۴	تیمار
۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۱۰	خطا
۱/۸۶	۰/۹۷	۰/۹۹	۱/۱۸	۱/۰۴		ضریب تغییرات (%)

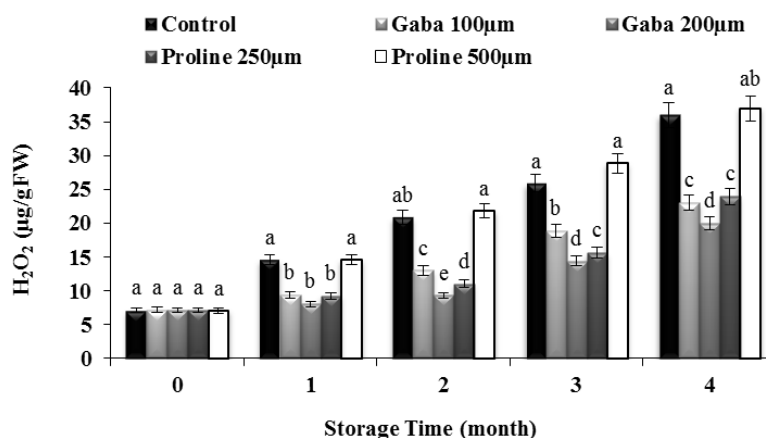
\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، ns عدم معنی داری

هیدروژن (شکل ۳) و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (شکل ۴) میوه‌های تیمار شده و تیمار نشده، طی انبارمانی افزایش پیدا کرد، ولی میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا میوه‌های شاهد و تیمار پرولین ۵۰۰ میکرومول طی انبارمانی بیشتر افزایش یافت. به‌طوریکه طی چهار ماه انبارمانی میوه‌های لیموشیرین، بیشترین میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا مربوط به میوه‌های شاهد (تیمار- نشده) و غلظت ۵۰۰ میکرومول پرولین و کمترین

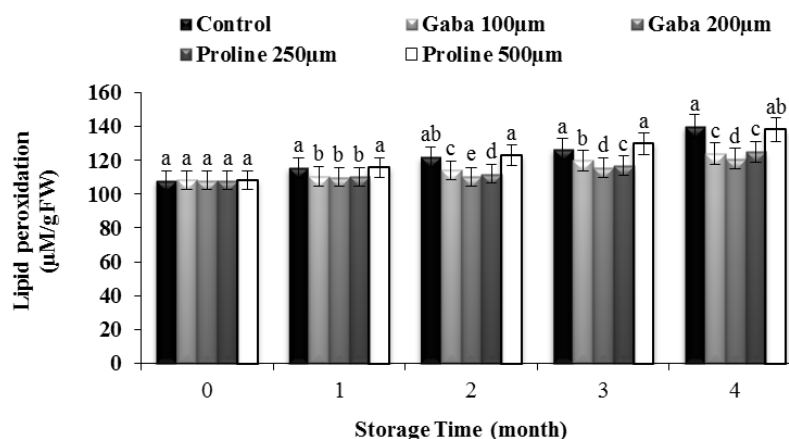
اختلاف معنی دار با تیمار شاهد بود (شکل ۲). به‌طوریکه در پایان چهار ماه از شروع انبارمانی، میزان نشت یونی در میوه‌های شاهد نسبت به میوه‌های تیمار شده افزایش یافته است. به‌طوریکه کمترین میزان در میوه‌های تیمار شده با گابا ۲۰۰ میکرومولار بوده است. پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها: طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر (جدول ۳)، تیمار پس از برداشت میوه‌های لیموشیرین با پرولین و گابا نشان داد، پراکسید



شکل ۲- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی درصد نشت یونی در میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی



شکل ۳- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی میزان پراکسید هیدروژن در میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی



شکل ۴- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی میزان پراکسیداسیون لیپیدها میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی

لیپیدهای غشا را در مقایسه با شاهد کاهش دادند (شکل‌های ۳ و ۴).

میزان پس از پایان دوره انبارمانی مربوط به میوه‌های تیمار شده با گابا ۲۰۰ میکرومول بود. سایر تیمارها نیز پراکسیداسیون

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشای لیموشیرین طی انبارمانی

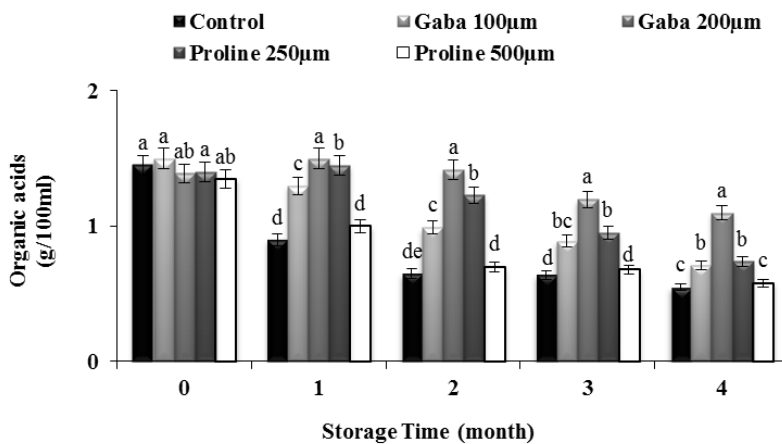
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۱۴/۵۴ <sup>ns</sup>	۲۳/۷۸*	۲۴/۲۸*	۲۶/۳۷*
خطا	۱۰	۵/۸۲	۳/۳۱	۲/۳۳	۲/۶۰
ضریب تغییرات (%)		۱۴/۸۲	۱۰/۳۲	۸/۲۹	۵/۴۷

\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup> عدم معنی داری

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان اسیدهای آلی لیموشیرین طی انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۱۸/۳۱ <sup>ns</sup>	۱۸/۶۵*	۱۹/۹۲*	۲۲/۸۳*
خطا	۱۰	۵/۹۹	۵/۴۵	۵/۸۵	۵/۶۱
ضریب تغییرات (%)		۱۶/۰۴	۱۵/۱۳	۱۵/۲۵	۱۴/۵۴

\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup> عدم معنی داری



شکل ۵- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی میزان اسید آلی میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی

نشان دادند. به گونه‌ای که طی چهار ماه انبارمانی میوه‌های لیموشیرین، بیشترین میزان اسیدهای آلی مربوط به گابا ۲۰۰ میکرومول و کمترین میزان آن پس از پایان دوره انبارمانی مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۵).

درصد مواد جامد محلول: تیمار پس از برداشت میوه‌های لیموشیرین با پرولین و گابا نشان داد (جدول ۶)، مواد جامد محلول میوه‌های لیموشیرین تیمار شده و تیمار نشده، طی

اسیدهای آلی: طبق نتایج بدست آمده (جدول ۴) از این پژوهش، غلظت اسیدهای آلی طی انبارداری کاهش پیدا کرد، کمترین کاهش در غلظت اسیدهای آلی در میوه‌های تیمار شده با گابا ۲۰۰ میکرومولار مشاهده شد. تیمار پس از برداشت میوه‌های لیموشیرین با پرولین و گابا نشان داد، اسیدهای آلی میوه‌ها طی انبارمانی کاهش پیدا کرد، ولی میوه‌های تیمار شده با پرولین و گابا اسیدهای آلی را طی انبارمانی کاهش کمتری را



جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان pH لیموشیرین طی انبارمانی

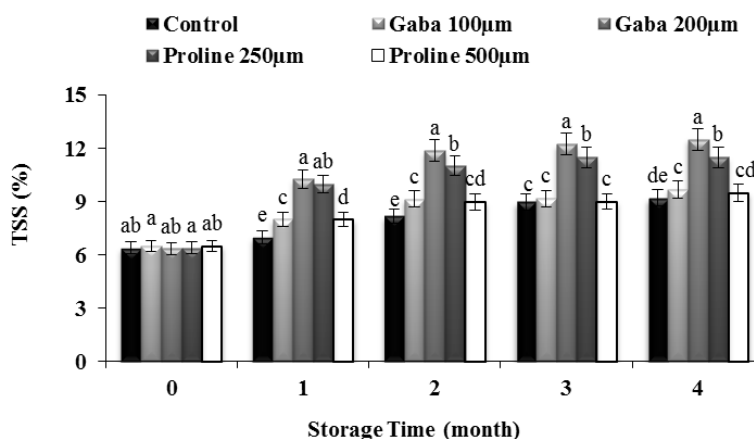
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۵/۶۹ <sup>ns</sup>	۱/۴۹*	۰/۸۶*	۱/۲۳*
خطا	۱۰	۳/۱۴	۲/۲۷	۱/۳۸	۱/۶۳
ضریب تغییرات (%)		۹/۶۵	۷/۷۱	۵/۷۵	۶/۰۶

\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup>عدم معنی داری

جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان مواد جامد محلول لیموشیرین طی انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۸*	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۴*
خطا	۱۰	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۳
ضریب تغییرات (%)		۲۳/۶۳	۲۰/۱۱	۲۱/۷۸	۱۱/۷۱

\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup>عدم معنی داری



شکل ۶- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی درصد مواد جامد محلول میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی

میوه‌ها است. با افزایش مدت انبارمانی میزان مواد جامد محلول به‌طور کلی افزایش می‌یابد که منجر به کاهش میزان رطوبت در میوه‌ها می‌شود.

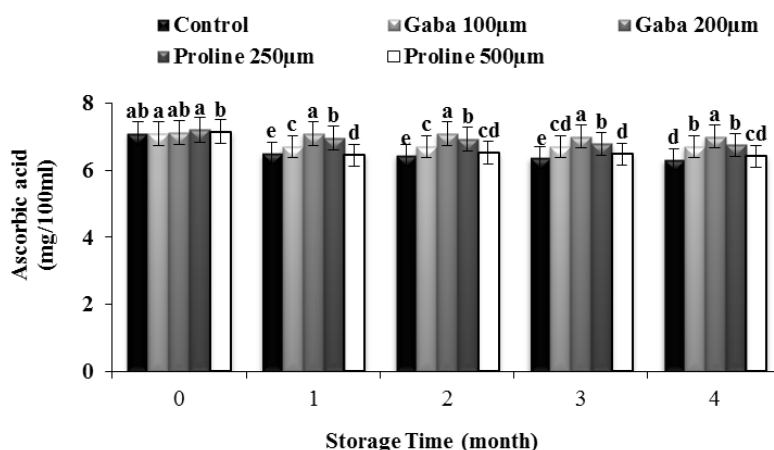
اسید آسکوربیک (ویتامین ث): نتایج حاصل از بررسی داده‌های مربوط به اسید آسکوربیک نشان داد که اثر تیمارهای مختلف بر این صفت در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۷). طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، تیمار پس از

انبارمانی افزایش پیدا کرد، ولی میوه‌های تیمار شده با پرولین و گابا مواد جامد محلول را طی انبارمانی بیشتر افزایش دادند. به‌طوریکه طی چهار ماه انبارمانی میوه‌های لیموشیرین، بیشترین میزان مواد جامد محلول در میوه‌های تیمار شده با پرولین ۲۵۰ میکرومول و گابا ۲۰۰ میکرومول و کمترین میزان آن پس از پایان دوره انبارمانی در تیمار شاهد مشاهده گردید (شکل ۶). میزان مواد جامد محلول یکی از عوامل مهم در کیفیت

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان ویتامین ث لیموشیرین طی انبارمانی

میانگین مربعات				درجه		منابع تغییرات
ماه سوم	ماه دوم	ماه اول	قبل از انبارمانی	آزادی	قبل از انبارمانی	
۰/۰۰۰۲*	۰/۰۰۰۶*	۰/۰۰۰۶*	۰/۰۰۰۲ <sup>ns</sup>	۴	تیمار	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۱۰	۰/۰۰۱	۱۰	خطا	
۱۷/۲۶	۱۲/۹۰	۱۵/۰۹	۱۲/۲۲		ضریب تغییرات (%)	

\*معنی دار در سطح ۰.۱، \*معنی دار در سطح ۰.۵، <sup>ns</sup> عدم معنی داری



شکل ۷- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی اسید آسکوربیک میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی

آمده از پژوهش حاضر (جدول‌های ۸، ۹ و ۱۰)، تیمار پس از برداشت میوه‌های لیموشیرین با پرولین و گابا نشان داد، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (شکل ۸) و کاتالاز (شکل ۹) میوه‌های لیموشیرین تیمار شده با پرولین و گابا طی انبارمانی افزایش ولی میزان آن در میوه‌های تیمار نشده طی انبارمانی کاهش پیدا کرد.

به‌طوریکه طی چهارماه انبارمانی میوه‌های لیموشیرین، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به تیمار ۲۵۰ میکرومول پرولین و ۲۰۰ میکرومول گابا و کمترین میزان آن پس از پایان دوره انبارمانی مربوط به تیمار شاهد بوده است (شکل‌های ۸ و ۹).

#### بحث

زمانی که میوه در سردخانه یا یخچال برای مدت طولانی نگهداری می‌شود، ممکن است هیچ گونه علائم سرمازدگی از خود نشان ندهند و به نظر سالم باشند. یکی از دلایل افزایش

برداشت میوه‌های لیموشیرین با پرولین و گابا نشان داد، میزان اسید آسکوربیک میوه‌های لیموشیرین تیمار شده و تیمار نشده، طی انبارمانی افزایش پیدا کرد، ولی میوه‌های تیمار شده با پرولین و گابا، اسید آسکوربیک را طی انبارمانی بیشتر حفظ شد.

به‌طوریکه طی چهار ماه انبارمانی میوه‌های لیموشیرین، بیشترین میزان اسید آسکوربیک در میوه‌های تیمار شده با گابا ۲۰۰ میکرومول و کمترین میزان آن پس از پایان دوره انبارمانی در تیمار شاهد مشاهده گردید، که در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم داشتند، سایر تیمارها نیز مواد جامد محلول را در مقایسه با شاهد افزایش دادند غلظت ویتامین ث طی انبارداری کاهش پیدا کرد، کمترین کاهش در غلظت اسیدهای آلی در میوه‌های تیمار شده با پاپا ۲۰۰ میکرومولار مشاهده شد (شکل ۷).

فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز: طبق نتایج به دست

جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان پراکسید هیدروژن لیموشیرین طی انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۰۴*	۰/۰۰۰۶*
خطا	۱۰	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (%)		۲۶/۱۴	۱۵/۷۱	۲۲/۸۹	۲۵/۱۷

\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup> عدم معنی داری

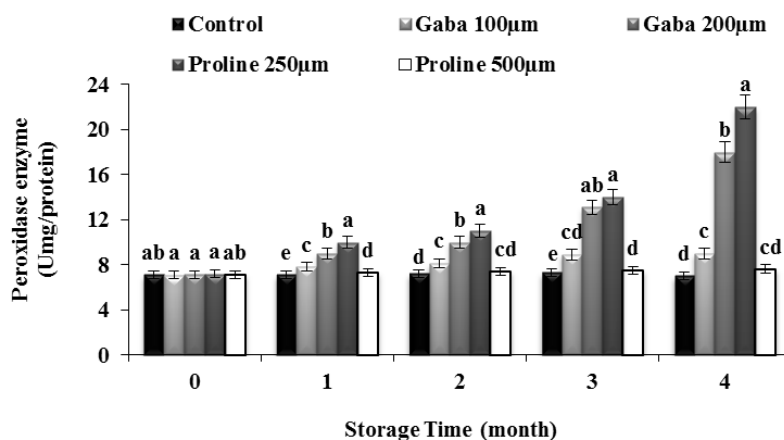
جدول ۹- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز لیموشیرین طی انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۰/۱۹ <sup>ns</sup>	۰/۱۸*	۰/۱۷*	۰/۲۱*
خطا	۱۰	۰/۰۶۰	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۷
ضریب تغییرات (%)		۵/۵۴	۴/۸۸	۴/۴۶	۵/۲۹

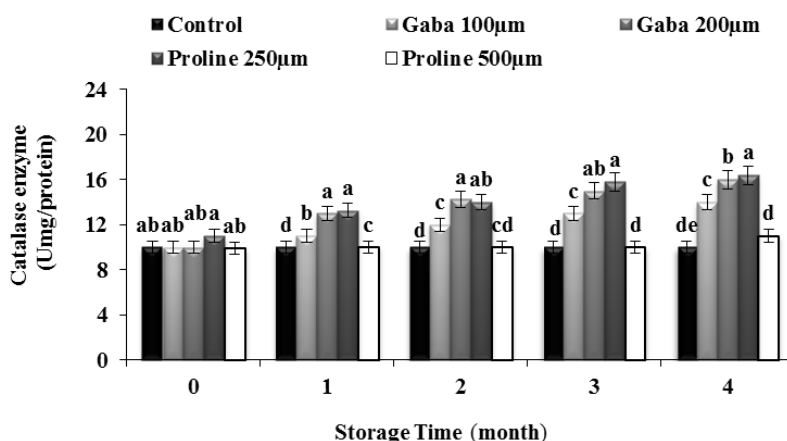
\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup> عدم معنی داری

جدول ۱۰- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پرولین و گابا بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز لیموشیرین طی انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		قبل از انبارمانی	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
تیمار	۴	۰/۳۷ <sup>ns</sup>	۰/۵۵*	۰/۳۹*	۰/۲۷*
خطا	۱۰	۰/۰۲	۰/۳۴	۰/۰۵	۰/۰۸
ضریب تغییرات (%)		۳/۴۹	۱۲/۲۴	۱/۵۳	۵/۸۰

\*\*معنی دار در سطح ۱٪، \*معنی دار در سطح ۵٪، <sup>ns</sup> عدم معنی داری

شکل ۸- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی



شکل ۹- اثرات تیمارهای پرولین و گابا روی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز میوه لیموشیرین طی دوره انبارمانی

بلکه همچنین باعث تشدید تنش اکسایشی از طریق تولید رادیکال‌های حاصل از لیپیدها می‌شود (Parida and Das, 2005). گابا باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و کاهش نشت یونی در میوه‌های موز ذخیره‌شده در انبار شد که نتایج حاصل از تحقیق حاضر را تأیید می‌نماید (Wang *et al.*, 2014).

کاربرد خارجی پرولین بر روی گیاهان منجر به محافظت از غشای سلولی شده و از آسیب به آنزیم‌ها در تنش‌های مختلف جلوگیری می‌کند (Ashraf and Foolad, 2007). همچنین، پرولین به وسیله حفظ پایداری ردوکس (Hoque *et al.*, 2008) و مهار انواع اکسیژن فعال (Chen *et al.*, 2006) سلول‌های گیاهی را در برابر تنش محافظت می‌کند و در تحقیق حاضر، پرولین نیز با حفظ و پایداری غشا سلول از نشت یون و پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری نموده است.

نقش پرولین در مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر از نقش اسمزی این اسیدآمین است (Hong *et al.*, 2000). کاربرد خارجی پرولین از طریق پروتئین‌های محافظت‌کننده (Khedr *et al.*, 2003)، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (Banu *et al.*, 2009) و جلوگیری از اکسیداسیون پروتئین‌ها (Hoque *et al.*, 2008) موجب تحمل به تنش می‌شود که نتایج حاصل از پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.

در طی دوره انبارمانی افزایش در تجزیه اسیدهای آلی، ترکیبات ساختاری و کربوهیدرات‌ها در میوه زردآلو (Zokaee *et al.*, 2008)، توت‌فرنگی

درصد میوه‌های آسیب‌دیده طی دوره انبارمانی خسارت سرمازدگی است. علائم سرمازدگی به لحاظ تخریب بافت در گوشت میوه پس از انتقال میوه از انبار سرد به دمای اتاق بروز می‌کند (Lurie and Crisosto, 2005). طبق نتایج، نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا با افزایش مدت زمان انبارمانی روند افزایشی داشته و بیشترین مقدار آن در میوه‌های شاهد بعد از چهار ماه نگهداری مشاهده شد. تیمارهای گابا و پرولین طی دوره انبارمانی میزان نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را نسبت به شاهد کاهش دادند. تنش سرما از طریق تأثیر بر نفوذپذیری سبب افزایش نشت محلول‌های سلولی و همچنین تجمع مالون دی‌آلدئید به دنبال پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی موجب آسیب در محصولات می‌شود (Asghari *et al.*, 2015). از عواملی که به عنوان شاخص‌های آسیب غشایی به منظور اندازه‌گیری غیرمستقیم انسجام غشای سلولی مورد توجه قرار گرفته است، نشت یونی کاهش انسجام غشای سلولی و وقوع سرمازدگی را در محصولات باغی نشان دهند (Shang *et al.*, 2011). پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان یکی از مخرب‌ترین فرآیندهای شناخته‌شده که در هر موجود زنده رخ می‌دهد، شناخته می‌شود. آسیب غشایی گاهی به عنوان یک پارامتر تنها برای تعیین سطح تخریب چربی‌ها تحت تنش‌های مختلف در نظر گرفته می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها زمانی اتفاق می‌افتد که سطوح بالای ROS ایجاد شود، بنابراین نه تنها به طور مستقیم بر عملکرد نرمال سلولی تأثیر می‌گذارد،

کاربرد پس از برداشت گابا در میوه‌های هلو و گلابی باعث حفظ مواد جامد محلول شده است (Yu *et al.*, 2014) که با نتایج ما مطابقت دارد. طی پژوهش حاضر محتوای مواد جامد محلول افزایش یافت، که این احتمالاً در اثر مصرف اسیدهای آلی در فرآیند تنفس و تبدیل آنها به دی‌اکسید کربن و آب است.

محتوای اسید آسکوربیک موجود در میوه‌ها و سبزی‌ها می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله تفاوت ژنوتیپی، شرایط آب و هوایی دوره رشد، روش‌های تربیت، بلوغ و زمان برداشت و شرایط نگهداری پس از برداشت قرار گیرد. در بین ویتامین‌ها، اسید آسکوربیک حداقل پایداری را دارد و به دلیل اکسیداسیون، خیلی حساس به تجزیه است (Lee and Kader, 2000).

در اثر افزایش متابولیسم اکسیداتیو طی رسیدن میوه‌ها و در دوره نگهداری، گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند و اسید آسکوربیک نقش مهمی در سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن (به صورت مستقیم توسط رادیکال‌های آزاد مصرف می‌شود) به ویژه پراکسید هیدروژن دارد (Spinardi, 2005).

در این تحقیق اثر اصلی گابا و پرولین موجب افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد شده است. نقش این تیمارها بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تیمار شده چشم‌گیر بود. سیستم آنتی‌اکسیدانی به وسیله سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن، میوه‌ها را از ناهنجاری‌ها محافظت کرده و در حقیقت باعث افزایش کیفیت تغذیه‌ای و ظاهری میوه‌ها می‌شود (Sayyari *et al.*, 2009). روند افزایش میزان سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاربرد گابا در میوه موز ادامه داشته و موجب کاهش سرمازدگی در این محصول در طی دوره نگهداری شده است (Wang *et al.*, 2014) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در دانه‌های گوجه‌فرنگی که با گابا تیمار شده بودند، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به ویژه آنزیم کاتالاز طی تنش مشاهده شده است (Malekzadeh *et al.*, 2014). آزمایشات انجام‌شده توسط پژوهشگران نشان‌دهنده افزایش

(Zokaee-Khosroshahi *et al.*, 2007) و آلو (Guo, 2010) نیز مشاهده شده است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

از طرف دیگر گزارش شده است که افزایش pH ممکن است به علت تغییر در مقدار اسیدهای آلی در طول دوره انبارمانی باشد ولی این افزایش در میوه‌ها بسته به نوع آن متفاوت است چون علاوه بر اسیدها سایر مواد موجود در میوه نظیر قندها نیز امکان تأثیر بر pH را دارند (Pila *et al.*, 2010).

یکی از دلایل اثر تیمار گابا بر میزان اسیدپسته احتمالاً مربوط به فعالیت سیستم آنزیمی گلوتامات دهیدروژناز باشد که برای فعالیت خود به شرایط اسیدی نیاز دارد. نتایج حاکی از آن است که گابا نقش مهمی در حفظ pH سیتوپلاسم سلول در طی تجمع اسیدهای آلی در طول دوره نمو در گوجه‌فرنگی دارد و باعث حفظ و تنظیم pH می‌شود (Trobacher *et al.*, 2013).

همچنین کاربرد گابا در پس از برداشت منجر به حفظ میزان pH در میوه هلو شده است (Shang *et al.*, 2011). از آنجا که اسیدهای آلی به عنوان سوبسترا برای واکنش‌های آنزیمی تنفس به کار می‌روند، انتظار می‌رود طی دوره پس از برداشت، اسید آلی میوه کاهش و مقدار pH آن افزایش یابد (Kazemi *et al.*, 2011).

کاربرد پس از برداشت گابا در گلابی باعث حفظ اسیدهای آلی شده است (Yu *et al.*, 2014). با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام‌شده، می‌توان افزایش میزان مواد جامد محلول در میوه‌ها را به تبدیل نشاسته به قندهای محلول در مدت انبارمانی نسبت داد (Kazemi *et al.*, 2011).

همچنین مشخص شده که دیواره سلولی شامل مقادیر زیادی پلی‌ساکارید از جمله سلولز است که توسط آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی قابل هضم هستند و در نتیجه موجب افزایش معنی‌داری در میزان مواد جامد محلول می‌شود (Sayyari *et al.*, 2009). گابا با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و با جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی از تجزیه کربوهیدرات‌ها و قندها جلوگیری کرده و مانع افزایش مواد جامد محلول می‌گردد (Yang *et al.*, 2011).

گزارش شده است کاربرد پرولین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نسبت به شرایط نرمال و تنش می‌شود (Yan *et al.*, 2000) که در تحقیق انجام‌شده نیز چنین نتایجی حاصل شده است.

### نتیجه‌گیری

براساس پژوهش انجام‌گرفته می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد گابا ۲۰۰ میکرومول و پرولین ۲۵۰ میکرومول اثرات مطلوبی روی حفظ کیفیت، ماندگاری و بازاریابی در میوه‌های لیموشیرین طی دوره انبارمانی داشته است. پرولین و گابا با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن بیشترین تأثیر را روی بهبود کیفیت پس از برداشت میوه‌های لیموشیرین دارد.

فعالیت کاتالاز (Aggarwal *et al.*, 2011) و پراکسیداز (Hua and Guo, 2002) در اثر کاربرد پرولین است. همچنین افزایش میزان فعالیت کاتالاز را در اثر کاربرد پرولین مشاهده کردند (Aggarwal *et al.*, 2011) که نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌نماید.

کاربرد تیمار پس از برداشت گابا در میوه موز باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شده و چون این آنزیم در چوبی‌شدن دیواره سلولی نقش دارد احتمالاً با افزایش استحکام دیواره سلولی باعث کاهش میزان سرمازدگی و در نتیجه سفتی و افزایش کیفیت محصول برای مدت زمان طولانی شده است (Wang *et al.*, 2014). تجمع پرولین علاوه بر کاهش مستقیم آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو می‌تواند با حفاظت از آنزیم‌های درگیر در سیستم آنتی‌اکسیدانی به مهار ROS کمک کند (Ashraf and Foolad, 2007) با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

### منابع

- Aggarwal, M., Sharma, S., Kaur, N., Pathania, D., Bhandhari, V., Kaushal, N., Kaur, R., Singh, K., Srivastava, A., & Nayyar, H. (2011). Exogenous proline application reduces phytoxic effects of selenium by minimizing oxidative stress and improves growth in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Biological Trace Element Research*, 140, 354-367.
- Asghari, M. & Hasanlooee, A. R. (2015). Interaction effects of salicylic acid and methyljasmonate on total antioxidant content, catalase and peroxidase enzymes activity in "Sabrosa" strawberry fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 197, 490-495.
- Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
- Barbosa, J. M., Sing, N. K., Cherry, J. H., & Locy, R. D. (2010). Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiology Biochemistry*, 48, 443-450.
- Banu, M. N. A., Hoque, M. A., Watanabe-Sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., & Shimoishi, Y. (2009). Proline and glycine betaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 166, 146-156.
- Basiouny, F. M. (1996). Blueberry fruit quality and storability influenced by postharvest application of polyamines and heat treatments. *Proceeding Fland State Horticulturae Society*, 109, 269-272.
- Crisosto, C. H. & Kader, A. A. (2000). Plum and fresh prune postharvest quality maintenance guidelines. *Pomology Department University of California Davis, CA*; 95616.
- Chen, C., Wanduragala, S., Becker, D. F., & Dickman, M. B. (2006). Tomato QM-like protein protects *Saccharomyces cerevisiae* cells against oxidative stress by regulating intracellular proline levels. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4001-4006.
- Dhindsa, R. S., Dhindsa, P., & Thorpe, A. T. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal Experimental Botany*, 32, 93-101.
- Deng, Y., Xu, L. J., Zeng, X., Li, Z. Y., Qin, B. B., & He, N. Y. (2010). New perspective of GABA as an inhibitor of formation of advanced lipid oxidation end-products: Its interaction with malondialdehyde. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 6, 318-324.
- Fotouhi Ghazvini, R. & Fattahi Moghaddam, J. (2007). *Citrus growing in Iran*. University of Guilan Press, Iran.

- Guo, X., Wang, Y., Li, L., Wang, G., & Chen, X. (2010). Principal components analysis of the influence of 1-MCP and salicylic acid treatment on fruit quality of "Angeleno" plum. *Food Science*, 31, 416-422.
- Hassanpour, H., Bisti, A., & Nojavan, S. (2018). Effect of postharvest treatment of gamma-amino butyric acid on some biochemical and antioxidant properties of Sweet Cherry cv. TakDaneyeh Mashhad. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture)*, 14(2), 67-78. (In Persian).
- Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., & Murata, Y. (2008). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164, 553-561.
- Hua, B. & Guo, W. Y. (2002). Effect of exogenous proline on SOD and POD activity of soybean callus under salt stress. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 17, 37-40.
- Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., & Verma, D. P. S. (2000). Removal of feedback inhibition of D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiology*, 122, 1129-1136.
- Kochba, J., Lavee, S., & Spiegel-Roy, P. (1977). Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic 'Shamouti' orange ovular callus lines. *Plant and Cell Physiology*, 18, 463-497.
- Khedr, A. H. A., Abbas, M. A., Wahid, A. A. A., Quick, W. P., & Abogadallah, G. M. (2003). Proline induces the expression of salt-stress-responsive protein and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt-stress. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2553-2562.
- Kazemi, M., Aran, M., & Zamani, S. (2011). Effect of calcium chloride and salicylic acid treatments on quality characteristics of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) during storage. *American Journal of Plant Physiology*, 6(3), 183-189.
- Lee, S. K. & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 207-220.
- Lurie, S. & Crisosto, C. (2005). Chilling injury in peach and nectarine. *Postharvest Biology and Technology*, 37, 195-208.
- Mansour, M. M. F. (2000). Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biology Plant*, 43, 491-500.
- Malekzadeh, P., Khara, J., & Heidari, R. (2014). Alleviating effects of exogenous Gamma-aminobutyric acid on tomato seedling under chilling stress. *Journal of Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(1), 133-137.
- Nilprapruck, P., Authanithe, F., & Keebjan, P. (2008). Effect of exogenous methyl jasmonate on chilling injury and quality of pineapple. *Silpakorn University Science and Technology*, 2, 33-42.
- Nayyar, H., Kaur, R., Kaur, S., & Singh, R. (2014).  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) imparts partial protection from heat stress injury to rice seedlings by improving leaf turgor and up regulating osmoprotectants and antioxidants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, 408-419.
- Pila, N., Gol, N. B., & Rao, T. V. R. (2010). Effect of post-harvest treatments on physicochemical characteristics and shelf life of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Fruits during Storage. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 9, 470-479.
- Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: Review. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 60, 324-349.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., & Valero, D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 152-154.
- Spinardi, A. M. (2005). Effect of harvest date and storage on antioxidant systems in pears. *Acta Horticulture*, 682, 10-18.
- Shelp, B. J., Bozzo, G. G., Trobacher, C. P., Zarei, A., Deyman, K. L., & Brikis, C. J. (2012). Contribution of putrescine to  $\gamma$ -amino butyrate (GABA) production in response to abiotic stress. *Journal of Plant Science*, 193, 130-135.
- Shang, H. T., Cao, S. F., Yang, Z. F., Cai, Y. T., & Zheng, Y. H. (2011). Effect of exogenous  $\gamma$  aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 1264-1268.
- Trobacher, C. P., Clark, S. M., Bozzo, G. G., Mullen, R. T., DeEll, J. R., & Shelp, B. J. (2013). Catabolism of GABA in apple fruit: Subcellular localization and biochemical characterization of two  $\gamma$ -amino butyrate transaminases. *Postharvest Biology and Technology*, 75, 106-113.
- Thumula, P. (2006). Studies on Storage Behavior of Tomatoes Coated with Chitosan-Lysozyme Films. PhD. Thesis. McGill University Montreal.
- Yu, Ch., Zeng, L., Sheng, K., Chen, F., Zhou, T., Zheng, X., & Yu, T. (2014).  $\Gamma$ -Aminobutyric acid induces resistance against *Penicillium expansum* by priming of defense responses in pear fruit. *Journal of Food Chemistry*, 159, 29-37.
- Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011).  $\Gamma$ -Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit. *Food Chemistry*, 129(4), 1619-1622.

- Yan, H., Gang, L. Z., Zhao, C. Y., & Guo, W. Y. (2000). Effects of exogenous proline on the physiology of soybean plantlets regenerated from embryos in vitro and on the ultra-structure of their mitochondria under NaCl stress. *Soybean Science*, 19, 314-319.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66.
- Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S. H., & 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.
- Zokaeekhosroshahi, M., Esna-Ashari, M., & Ershadi, A. (2007). Effect of exogenous putrescine on post-harvest life of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruit, cultivar Selva. *Scientia Horticulturae*, 114, 27-32.
- Zokaeekhosroshahi, M. & Esna-Ashari, M. (2008). Effect of exogenous putrescine treatment on the quality and storage life of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 1278-1289.



## Evaluation of the effect of GABA and proline treatments on quality maintenance postharvest in sweet lemon (*Citrus limetta*) fruit

Tayebeh Heydari<sup>1</sup>, Zahra Pakkish<sup>\*1</sup> and Soheila Mohammadrezakhani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

<sup>2</sup> South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Jiroft, Iran  
(Received: 2024/02/06, Accepted: 2024/06/16)

### Abstract

One of the basic ways to increase the storage life of fruits is to use treatments that can increase their quality and marketability. In this research, compounds such as proline and GABA have been used due to their antioxidant properties in order to protect cell membranes, maintain quality and increase shelf life during the post-harvest period in sweet lemon fruits. The treatments included concentrations of GABA 100 and 200 mM/l, proline 250 and 500 mM/l, and distilled water (control). Then the desired fruits were treated in the desired solutions for 5 minutes by the immersion method. After the fruits were completely dried, they were placed in packs of 5 and transferred to the cold room, where they were kept at a temperature of 12 degrees Celsius for 4 months. Once every 30 days, a number of fruits were taken out of the cold room, and similar traits were observed. The percentage of fruit damage, organic acids, amount of dissolved solids, activity of peroxidase and catalase enzymes, hydrogen peroxide, lipid peroxidation and leakage were investigated. The results showed that the amount of damage, ion leakage, hydrogen peroxide and lipid peroxidation in the fruits treated with GABA 200 mM/l and proline 250 mM/l decreased compared to the control. The treatment of sweet lemon fruits with GABA 200 mM/l and proline 250 mM/l has led to an increase in the amount of soluble solids and organic acids, as well as the activity of peroxidase and catalase enzymes. Therefore, the use of GABA and proelin can be recommended to increase the storage life of fruit at the commercial level.

**Keywords:** Antioxidant, Activity of peroxidase and catalase enzymes, Storage, Fruit quality

Corresponding author, Email: ZahraPakkish@uk.ac.ir