مقاله پژوهشی

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

**بهروز همت­جو[[1]](#footnote-1)**\*، **محمدرضا اصغری[[2]](#footnote-2)**، **حمید حسن­پور[[3]](#footnote-3)**

(تاریخ دریافت: 23/4/1398- تاریخ پذیرش: 30/8/1398)

**چکیده**

با توجه به سرعت زوال بالای میوه آلو در دوره پس از برداشت و محدودیت استفاده از مواد شیمیایی، معرفی روش­های طبیعی و سالم برای حفظ کیفیت و سلامت غذایی آلو ضروری می­باشد. در این پژوهش تأثیر تیمارهای پس از برداشت گاماآمینوبوتیریک اسید (گابا) (صفر، 10 و 20 میلی­مول در لیتر) و اسید سالیسیلیک (صفر، 1 و 2 میلی­مول در لیتر) بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی میوه آلو در دو زمان 16 و 34 روز پس از نگهداری در دمای c˚5/0±1 و رطوبت نسبی 85 تا 95 درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام شد. ارزیابی خصوصیات بیوشیمیایی در دو زمان 16 و 34 روز پس از انبار و پس از اینکه به مدت 24 ساعت در دمای 25 درجه سانتی­گراد قرار گرفتند، انجام گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز، آنزیم فنیل­آلانین آمونیالیاز و محتوای فنل کل و فلاونوئید کل در دوره انبارداری ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که تیمار ترکیبی گابا و اسید سالیسیلیک به طور معنی­داری باعث حفظ میزان فنل کل، فلاونوئید کل و افزایش فعالیت آنزیم فنیل­آلانین آمونیالیاز گردید و تیمار 2 میلی­مولار اسید سالیسیلیک موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد و سایر تیمارها گردید. بطور کلی نتایج نشان داد که تیمارهای گابا و اسید سالیسیلیک می­تواند به طور موثری به حفظ خواص کیفی میوه آلو "شابلون" کمک کند.

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

**مقدمه**

آلوی رقم شابلون (*Prunus salicina* Lindellcv. Shablon) جزو میوه­­های هسته­دار بوده و به عنوان یکی از درختان منطقه سرد و معتدل مورد کشت قرار می­گیرد (منگناریس[[4]](#footnote-4) و همکاران، 2007). آلو دارای طیف وسیعی از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، ویتامین­ها (A، E و C)، مواد معدنی (پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم)، آنتوسیانین­ها و ترکیبات فیتوشیمیایی است که باعث ایجاد ظرفیت آنتی اکسیدانی قوی در آلو می­گردد (کلی و آبت[[5]](#footnote-5)، 2012). این میوه دارای فعالیت متابولیکی بالاست، بنابراین در طول انبارداری سریع فاسد می­گردد و به همین دلیل عمر قفسه­ای آن کم می­باشد (سینگ[[6]](#footnote-6) و همکاران، 2009). ترکیبات زیست فعال موجود در میوه­های تازه آلو نقش مهمی در حفظ سلامت غذایی ایفا می­کنند (هانم[[7]](#footnote-7)، 2004). آنتی­اکسیدان­های موجود در بافت میوه مسئول حذف رادیکال­های آزاد در سلول­های گیاهی هستند (اصغری و سلیمانی­اقدم[[8]](#footnote-8)، 2010). ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در آلو نظیر فلاونوئیدها، فنل­ها و آنتوسیانین­ها دارای ظرفیت آنتی­اکسیدانی قابل توجهی هستند که می­توانند سلول­ها را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه­های فعال اکسیژن (ROS) محافظت کنند (چان[[9]](#footnote-9) و همکاران، 2003). امروزه در تکنولوژی پس از برداشت تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی و سالم، بیشتر شده است، که ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان مانند سالیسیلیک اسید و گاماآمینو بوتیریک اسید(گابا) نمونه­ای از این ترکیبات هستند که می­توانند در افزایش عمر قفسه­ای و حفظ کیفیت محصولات باغی مورد استفاده قرار گیرند.

گابا به­عنوان يک اسيد‌آمينه غيرپروتئيني در حيوانات، گياهان و باكتري­ها محسوب مي‌شود که اثرات خوبی در تحریک سیستم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌ها نشان می‌دهد (کلارک[[10]](#footnote-10) و همکاران، 2009). گابا در برابر افزایش دی‌اکسید‌‌کربن و تنش‌هایی مانند تحریک مکانیکی، زخم‌های مکانیکی، اسیدی شدن سیتوسول، شوری، کمبود اکسیژن، خشکی و سرما در گیاه تجمع می‌یابد که پاسخ متابولیکی در گیاه است (شلپ[[11]](#footnote-11) و همکاران، 2012). گابا می‌تواند به صورت مستقیم از پلی‌آمین‌ها که در پاسخ به تنش‌های غیر‌زیستی تجمع می‌یابند، تشکیل شود (آلکزار[[12]](#footnote-12) و همکاران، 2010). نتایج مطالعات اخیر روی میوه موز نشان می­دهد که تیمار با گابا می تواند محتوای فنل کل، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و ظرفیت آنتی­اکسیدان را افزایش دهد (وانگ[[13]](#footnote-13) و همکاران، 2014). تیمار پس از برداشت گابا در میوه هلو با افزایش تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث حفظ خصوصیات فیزیکی و کیفیت تغذیه­ای میوه گردید (یانگ[[14]](#footnote-14) و همکاران، 2011). با این حال، اطلاعات در مورد استفاده از گابا به عنوان تیمار پس از برداشت محدود است.

اسید سالیسیلیک جزو ترکیبات فنلی است که در فرآیند فیزیولوژی گیاه نقش مهمی را ایفا می­کند و مانع از زوال پس از برداشت در محصولات باغی می­شود (اصغری و سلیمانی­اقدم، 2010). این ترکیب به *عنوان یک* هورمون گیاهی در افزايش فعاليت آنزيم PAL نقش داشته که با افزايش فعاليت اين آنزيم، سنتز و تجمع تركيبات فنلي افزايش می‌یابد. تركيبات فنلي به­دلیل داشتن خواص آنتي‌اكسيداني، موجب افزایش مقاومت بافت به تنش‌هاي زنده و غيرزنده در محصولات می­گردد (دخانیه[[15]](#footnote-15) و همکاران، 2013).

اسید سالیسیلیک به طور طبیعی در طیف گسترده­ای از گیاهان آلی دیده می­شود و به عنوان عامل محرک و یا سیگنالی درگیر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله تأخیر در رسیدن و پیری میوه نقش دارد (والرو[[16]](#footnote-16) و همکاران، 2011). تیمار میوه زردآلو با اسید سالیسیلیک باعث حفظ محتوای فنل کل در پس از برداشت این میوه شده است (وانگ و همکاران، 2015). اسید سالیسیلیک با مهار بیوسنتز و عملکرد اتیلن موجب تأخیر در پیری میوه و ارتقاء کیفیت میوه­ها می­گردد (چان[[17]](#footnote-17) و همکاران، 2007). کاربرد اسید سالیسیلیک در

میوه توت فرنگی در دوره پس از برداشت با افزایش فعالیت آنزیم­های دفاعی و ظرفیت آنتی­اکسیدانی موجب افزایش عمر قفسه­ای، حفظ و بهبود کیفیت تغذیه­ای میوه شده است (اصغری و رشید حسنلویی، 2015). آنزیم PAL نقش مهمی در بیوسنتز ترکیبات فنلی دارد که این مسیر توسط اسید سالیسیلیک تنظیم می­شود (دخانیه و همکاران، 2013). هدف از این پژوهش بررسی اثر متقابل دو ترکیب طبیعی گابا و اسید سالیسیلیک است که انتظار می­رود بتواند بعنوان یک روش عاری از اثرات زیست محیطی، موجب افزایش عمر قفسه­ای، حفظ خصوصیات فیزیکی و کیفیت تغذیه­ای میوه آلو در دوره پس از برداشت گردد.

**مواد و روش**

**تهیه مواد گیاهی و اعمال تیمار**

میوه­های آلو رقم شابلون پس از رسيدن كامل تجاري (محتوای مواد جامد محلول 10 تا 12 درجه بریکس) از باغ آلوی واقع در 30 كيلومتري جاده اروميه - سلماس برداشت شده و جهت انجام تيمارها و آزمايشات به آزمايشگاه فيزيولوژي پس از برداشت گروه علوم باغباني دانشگاه اروميه منتقل گرديدند. این پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملأ تصادفی با 4 تکرار، سه غلظت گابا (با فرمول شیمیایی C4H9NO2 و جرم مولی g/mol12/103 ساخت شرکت مرک آلمان) (صفر، 10 و 20 میلی‌مولار)، سه غلظت اسید سالیسیلیک (ساخت شرکت سیگما) (صفر، 1 و 2 میلی‌مولار) و دو زمان نگهداری (16 و 34 روز) به اجرا درآمد. نحوه­ اعمال تیمارها به این صورت بود که پس از جداسازي ميوه‌هاي سالم ابتدا ميوه‌ها با اسيد ساليسيليك در غلظت‌هاي صفر، 1 و 2 ميلي‌مولار به مدت 5 دقیقه غوطه‌ور شده و پس از خشك شدن کامل، در محلول گابا در غلظت‌ صفر، 10 و 20 میلی مولار به مدت 13 دقیقه قرار داده شدند. بعد از يك ساعت میوه­ها در داخل ظروف پلاستيكي در بسته (ظروف یکبار مصرف لانچ باکس) قرار داده شد و به مدت 34 روز در دمای c˚5/0±1 با رطوبت نسبی 85 تا 95 درصد در سردخانه نگهداری شدند. صفات مورد نظر پس از 16 و 34 روز نگهداری در سردخانه و بعد از اینکه به مدت 24 ساعت در دمای اتاق (20 تا 25 درجه سانتی­گراد) قرار گرفتند، اندازه­گیری شدند.

**اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز**

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه­گیری سرعت حذف پر­اکسید هیدروژن براساس روش بیرس و سیزر[[18]](#footnote-18) (۱٩۵٢) با كمي تغييرات صورت پذيرفت. مخلوط واکنش شامل ٥/۲ میلی­لیتر بافر ­فسفات سدیم ­۵۰ میلی­مولار با ۷=pH محتوی ٢/۰ میلی­لیتر H2O2 یک درصد و ٣/۰ میلی­لیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از معادله 1 به صورت کاهش در طی یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico2100SUv) در طول موج ٢٤۰ نانومتر محاسبه شد. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت است از میزان تغییر کاتالاز به مقدار ۰۱/۰ در دقیقه در یک میلی­لیتر از عصاره آنزیم بود.

(معادله 1) = $\frac{∆A}{Min}$ \* $\frac{1}{0/0436}$ \*$\frac{Total volume}{sample volume}$\* df فعالیت آنزیم

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

**اندازه گیری فعالیت آنزیم PAL**

برای تهیه عصاره گیاهی از نمونه­های میوه جهت سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز از بافر استخراج که شامل بافر بورات 1/0 مولار (H3BO3/Na2B4O7.10H2O) با pH برابر 7 و 1/0 درصد پلی­وینیل پیرولیدون[[19]](#footnote-19) و 2-­ مرکاپتو اتانول[[20]](#footnote-20) 4/1 میلی­مولار می­باشد، استفاده گردید. عصاره حاصل به مدت 15 دقیقه در 16000 دور در دمای 4 درجه سانتی­گراد سانتریفوژ گردید. بافر سنجش شامل 4/0 میلی­لیتر عصاره­ی آنزیمی، 5/0 میلی لیتر بافر بورات 1/0 مولار با pH برابر 8/8 و 5/0 میلی لیتر L- فنیل­آلانین 12 میلی­مولار به مدت 30 دقیقه درون حمام آب گرم با دمای 30 درجه سانتی­گراد قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس تشکیل سینامیک اسید بوده، لذا 30 دقیقه زمان و دمای 30 درجه سانتی­گراد برای تشکیل این ترکیب لازم است. تغییرات جذب در طول موج 290 نانومتر با سل­های کوارتز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico2100SUv) قرائت شده و واحد فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک

اسید (9630 mM-1 cm-1) بر حسب واحدnmol trans- cinamic acid mg-1 protein min-1 محاسبه گردید (کارتیکیین[[21]](#footnote-21) و همکاران، 2006).

**اندازه­گیری محتوای فلاونوئید کل**

برای ارزیابی فلاونوئید کل ابتدا 500 میکرولیتر عصاره تهیه شده را با 150 میکرولیتر نیتریت­سدیم 5 درصد مخلوط کرده و بعد از 5 دقیقه، 300 میکرولیتر کلرید آلومینیوم 10درصد به آن اضافه شد و بعد از 5 دقیقه یک میلی­لیتر سود (NaOH) 1 مولار اضافه شد. در نهایت حجم نهایی را به 5 میلی­لیتر رسانده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج 510 نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاونوئید کل از معادله 2 و بر حسب میلی­گرم کاتچین بر گرم وزن تر بدست آمد (یانگژه[[22]](#footnote-22) و همکاران، 2007).

(معادله 2) $y=0.002x+0.011$

**اندازه­گیری محتوای فنل کل**

اندازه­گیری ترکیبات فنلی با استفاده از روش فولین سیوکالتیو[[23]](#footnote-23) به شرح زیر انجام شد: ابتدا عصاره ميوه با آب میوه­گیری تهیه شده و از كاغذ صافي عبور داده شد و در میکروتیوب دو میلی­لیتر ریخته شد. سپس آب میوه را سانتریفیوژ کرده و محلول رویی درون میکروتیوب دیگری ریخته شد. 1/۰ میلی­لیتر از محلول رویی را برداشته و روی آن سه میلی­لیتر آب مقطر و به دنبال آن 5/0 میلی لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو 10 درصد اضافه شد و پس از قرار دادن به مدت سه تا پنج دقیقه در دماي اتاق 5/1 ميلي­ليتر محلول كربنات سديم به آن اضافه شد و به مدت یک ساعت در دماي اتاق قرار گرفت. از محلول تهیه شده به مقدار لازم برداشته و جذب آن در دستگاه اسپكتروفتومتر در طول موج ٧۶۵ نانومتر قرائت شد (واترهاوس[[24]](#footnote-24)، 2002).

داده­ها با استفاده از نرم­افزار آماری SASنسخه (2/9)، تجزيه و تحليل و مقايسه ميانگين­ها با استفاده از آزمون چند دامنه­اي دانكن انجام گرفت (جدول 1).

**نتایج و بحث**

**فعالیت آنزیم کاتالاز**

با توجه به جدول 1 اثر متقابل گابا و اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی­دار می­باشد. بیشترین فعالیت این آنزیم بعد از 35 روز انبارداری در میوه‌های تیمار شده با 2 میلی­مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. پس از 17 روز انبارداری کمترین فعالیت این آنزیم در میوه­هایی مشاهده شد که با 10 میلی­مولار گابا تیمار شده بودند. تیمارهای 20 میلی­مولار گابا و تیمار ترکیبی 10 میلی­مولار گابا و 2 میلی مولار اسید سالیسیلیک نیز بعد از 35 روز انبارداری باعث افزایش فعالیت این آنزیم شده است. بعد از ۱۷ روز انبارداری تفاوت معنی­داری بین دو تیمار اسید سالیسیلیک و تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک و گابا وجود داشت در حالیکه پس از ۳۵ روز انبارداری هیچ تفاوت معنی­داری بین این دو تیمار مشاهده نگردید (شکل 1).

رادیکال­های آزاد و گونه­های فعال اکسیژن (ROS) در طول متابولیسم طبیعی سلول­ها و همچنین در پاسخ به تنش­های زنده و غیرزنده تجمع پیدا می­کنند که آنتی اکسیدان­ها نقش پاک­­سازی این رادیکال‌های آزاد را برعهده دارند. با پیر شدن بافت­ها و میوه­ها، فعالیت‌های متابولیکی افزایش و در نتیجه رادیکال‌های آزاد و تولید گونه­های فعال اکسیژن همزمان افزایش می­یابد. پس در نتیجه هر عاملی که باعث کاهش فعالیت­های متابولیکی سلول شود منجر به کاهش در میزان رادیکال­های آزاد شده و با حفظ سیستم آنتی­اکسیدانی، پیری و  تخریب بافت میوه دیرتر اتفاق می­افتد. در این میان افزایش ظرفیت آنتی­اکسیدانی با کاربرد اسید سالیسیلیک در بسیاری از میوه­ها مورد تأیید محققان مختلف می­باشد (سیاری[[25]](#footnote-25) و همکاران، 2011؛ تارن[[26]](#footnote-26) و همکاران، 2012). در گیاهان گابا نیز می­تواند در پاسخ به تنش­های مختلف به سرعت تجمع پیدا کند و در سیستم دفاعی در برابر آن عمل کند. به جز اثر غیرمستقیم گابا در افزایش ظرفیت آنتی­اکسیدانی، دارای توانایی پاکسازی گونه­های فعال اکسیژن تولید شده تحت تنش می­باشد (شلپ[[27]](#footnote-27) و همکاران، 1999؛ لیو[[28]](#footnote-28) و همکاران، 2011). در این

**جدول 1- تجزیه واریانس تأثیر تیمار پس از برداشت گابا و اسید سالیسیلیک روی فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای فنل کل، فعالیت آنزیم**

|  |  |
| --- | --- |
| **تیمار** | **میانگین مربعات** |
| درجه آزادی | آنزیم کاتالاز | فنل کل | آنزیم PAL | فلاونوئید کل |
| گابا | 2 | \*48/316 | \*\*27/3043 | \*0082/0 | \*94/449 |
| سالیسلیک اسید | 2 | \*25/313 | \*15/2249 | \*\*0114/0 | \*\*01/1410 |
| زمان | 1 | \*\*25/1105 | \*\*68/73646 | \*0108/0 | \*\*38/1233 |
| گابا× اسید سالیسیلیک  | 4 | \*\*96/498 | \*\*86/2760 | \*\*0118/0 | \*88/436 |
| گابا × زمان | 2 | \*\*01/920 | ns95/1839 | \*\*0003/0 | ns58/316 |
| سالیسیلیک اسید × زمان | 2 | ns53/5 | ns68/1577 | \*\*0170/0 | \*43/576 |
| گابا× اسید سالیسیلیک ×زمان | 4 | \*\*75/458 | \*\*16/6301 | \*\*0117/0 | \*\*65/2948 |
| اشتباه آزمایشی | 54 | 70/72 | 29/583 | 0026/0 | 28/136 |
| ضریب تغییرات |  | 61/10 | 27/10 | 08/17 | 08/13 |

**PAL و فلاونوئید کل میوه آلوی رقم شابلون طی دوره­ انبارداری**

ns، \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی­دار، معنی­دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد.

تحقیق، اثرات ساده اسید سالیسیلیک و همچنین در ترکیب با گابا باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است (شکل 1).

در این پژوهش اسید سالیسیلیک به تنهایی و همچنین در ترکیب با گابا باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است. اثرات مثبت اسید سالیسیلیک و گابا در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز که به عنوان حذف کننده رادیکال­های آزاد در سیستم آنتی­اکسیدانی فعالیت می­کند، در این پژوهش مشاهده شد. نتایج نشان­دهنده این است که هر کدام از این ترکیبات طبیعی به شیوه­ای متفاوت در سیستم آنتی اکسیدانی در برابر رادیکال­های آزاد در بخش­های مختلف بافت گیاهی عمل می­کنند. با توجه به اینکه سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده درون­زا در القاء مقاومت موضعی و سیستمیک در بسیاری از بافت­های گیاهی نقش دارد (اصغری و سلیمانی­اقدم، 2010)، می­توان گفت که این ترکیب در طی پس از برداشت موجب حفظ بافت میوه خواهد شد. نتایج مشابه در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در دوره پس از برداشت در میوه توت­فرنگی که با اسید سالیسیلیک تیمار شده بودند گزارش شده است (اصغری و رشیدحسنلویی، 2015). تیمار با اسید سالیسیلیک فعالیت آنزیم­ کاتالاز در میوه­های هلو، سیب و زردآلو را افزایش داده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (موو[[29]](#footnote-29) و همکاران، 2008؛ تارن و همکاران، 2012؛ وانگ و همکاران، 2015).

گابا نیز از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی­اکسیدانی منجر به پاکسازی رادیکال­های آزاد شده است و از این طریق بافت را در برابر تنش­ها محافظت می­کند (سلیمانی اقدم[[30]](#footnote-30) و همکاران، 2016). یانگ و همکاران (2011) گزارش کردند که تیمار میوه­های هلو با گابا باعث افزایش آنزیم­های آنتی اکسیدانی نظیرکاتالاز شده است، که تأیید کننده نتایج تحقیق حاضر می­باشد.

**محتوای فنل کل**

با توجه به جدول تجزیه واریانس اثرات متقابل سه جانبه گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری روی محتوای فنل کل میوه آلو معنی­دار بود. در دوره دوم انبارداری بالاترین میزان فنل کل مربوط به میوه­هایی بود که با تیمار ترکیبی 2 میلی­مولار اسید سالیسیلیک و 10 میلی­مولار گابا تیمار شده بودند. که این امر نشان دهنده اثرات توأم دو ترکیب طبیعی در افزایش محتوای فنل کل میوه می­باشد. تأثیر اسید سالیسیلیک در افزایش اثرات مثبت گابا روی محتوای فنل کل میوه به طور معنی­داری در دوره انبارداری طولانی مدت افزایش پیدا کرده بود.

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

**شکل 1- مقایسه میانگین اثر متقابل گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر فعالیت آنزیم کاتالاز میوه آلوی رقم شابلون.** (SA1mM: 1میلی­مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: 2میلی­مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: 10 میلی­مولار گابا، GABA20mM: 20 میلی­مولار گابا).

اسید سینامیک و توسط آنزیم PAL سنتز می­شود. فنل­ها نقش مهمی در سیستم دفاعی در برابر گونه­های فعال اکسیژن ایفا می­کنند (تسای[[31]](#footnote-31) و همکاران، 2006). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسید سالیسیلیک و گابا به صورت معنی­داری باعث افزایش فنل کل شده است. گابا با تأثیری که بر تحریک فعالیت آنزیم PAL دارد باعث تولید ترکیبات فنلی شده در نتیجه منجر به افزایش ظرفیت آنتی­اکسیدانی در بافت میوه می­گردد. ترکیبات فنلی در ارزش تغذیه­ای و کیفیت میوه از طریق تغییر در رنگ، عطر و طعم موثر هستند. افزایش میزان فنل کل در میوه‌های هلو و موز که با گابا تیمار شده بودند نیز مشاهده شده است که با نتایج تحقیق حاضر همسو می­باشد (یانگ و همکاران، 2011؛ وانگ و همکاران، 2014). همچنین افزایش در میزان فنل کل در گل­های شاخه بریده آنتوریوم تیمار شده با گابا نیز مشاهده شده است (سلیمانی­اقدم و همکاران، 2016). با توجه به نتایج می­توان گفت که افزایش ترکیبات فنلی احتمالاً با افزایش در میزان فعالیت آنزیم PAL همراه بوده است. همچنین اسید سالیسیلیک کاربردی در پس از برداشت منجر به افزایش میزان فنل کل در پرتقال ناول، عناب و گیلاس شده است که تأیید کننده نتایج این پژوهش می­باشد (هووانگ[[32]](#footnote-32) و همکاران، 2008؛ کاو[[33]](#footnote-33) و همکاران، 2013؛ گیمنز[[34]](#footnote-34) و همکاران، 2014). هنوز مکانیسم دقیق اسید سالیسیلیک در افزایش ترکیبات فنلی مشخص نشده است. ممکن است پراکسیدهیدروژننقش کلیدی در تنظیم فعالیت PAL و تجمع ترکیبات فنلی داشته باشد که در این تحقیق میزان تجمع ترکیبات فنلی به احتمال زیاد تحت تأثیر آنزیم PAL قرار گرفته است.

**فعالیت آنزیم PAL**

 با توجه به شکل 3 میوه­هایی که با 20 میلی­مولار گابا تیمار شده بودند، بیشترین فعالیت آنزیم PAL را نسبت به بقیه تیمار­ها نشان دادند. علاوه بر این میزان فعالیت این آنزیم در میوه­های تیمار شده با تیمار ترکیبی 10 میلی مولار گابا و 1 میلی­مولار اسید سالیسیلیک بعد از ۳۵ روز انبارداری نسبت به تیمار شاهد کمتر شده بود.  همچنین در میوه­های تیمار شده با 1 میلی­مولار سالیسیلیک اسید و 10 میلی­مولار گابا در دوره اول انبارداری (روز 17م انبارداری) باعث افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به میوه­های شاهد شد در حالی که در دوره دوم انبارداری

**شکل 2- مقایسه میانگین متقابل گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر محتوای فنل کل میوه آلوی رقم شابلون.** (SA1mM: 1میلی­مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: 2میلی­مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: 10 میلی­مولار گابا، GABA20mM: 20 میلی­مولار گابا).

(روز 35م انبارداری) نتایج برعکس مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که اثر زمان روی فعالیت این آنزیم تأثیر منفی داشته است و فعالیت این آنزیم در همه تیمارها در دوره دوم نسبت به دوره اول اندازه­گیری کاهش پیدا کرده است.

آنزیم PAL آنزیم موثر در متابولیسم فنیل پروپانوئید می­باشد و باعث کاتالیز فنیل­آلانین به سیانیک اسید می­شود (دیکسون و پایوا[[35]](#footnote-35)، 1995؛ استراک[[36]](#footnote-36)، 1997). آنزیم PAL توسط گابا و سالیسیلیک اسید فعال می‌شود که در بیوسنتز فنل­ها و سالیسیلیک اسید نقش دارد و باعث فعال شدن مقاومت موضعی و سیستمیک می‌شود. با توجه به نتایج این پژوهش در میوه­های تیمار شده با سالیسیلیک اسید و گابا، فعالیت آنزیم PAL نسبت به میوه­های کنترل افزایش پیدا کرده است (شکل 3). این امر نشان دهنده این است که اسید سالیسیلیک و گابا باعث راه­اندازی یک آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز متابولیت­های ثانویه در میوه آلو شده است. بنابراین نتایج نشان دهنده آن است که اسید سالیسیلیک و گابا ممکن است به عنوان یک مولکول بالقوه برای فعال کردن مسیر فلاونوئید- فنیل پروپانوئید در بافت­های گیاهی باشد، که منجر به افزایش ظرفیت آنتی­اکسیدانی میوه می­شود. تیمار میوه­های موز با گابا باعث افزایش فعالیت PAL شد که این امر منجر به افزایش میزان فنل کل در میوه­های تیمار شده با گابا نسبت به شاهد شد، که با نتایج مشاهده شده در این تحقیق مطابقت داشت (وانگ و همکاران، 2016). کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه پرتقال موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL شد که این امر منجر به افزایش محتوای فنلی و حفظ میوه در طی دوره پس از برداشت گرید (زو[[37]](#footnote-37) و همکاران، 2014). کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه زردآلو نیز در طی دوره پس از برداشت منجر به افزایش فعالیت آنزیم شد (وانگ و همکاران، 2015). این آنزیم به هنگام تولید رادیکال­های آزاد در بافت تجمع می­یابد که این امر ممکن است به­دلیل پراکسید هیدروژنی باشد که به­عنوان سیگنال عمل کرده و موجب افزایش فعالیت این آنزیم می­گردد که احتمالا اسید سالیسیلیک به دلیل تنظیم متابولیسم پراکسید هیدروژن موجب کاتالیز این فرآیند می­گردد (اصغری و سلیمانی اقدم، 2010).

**شکل 3- اثر متقابل گابا و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم PAL میوه آلوی رقم شابلون.** (SA1mM: 1میلی­مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: 2میلی­مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: 10 میلی­مولار گابا، GABA20mM: 20 میلی­مولار گابا).

**محتوای فلاونوئید کل**

میوه­های تیمار شده با اسید سالیسیلیک و تیمار ترکیبی 2 میلی­مولار اسید سالیسیلیک و 20 میلی­مولار گابا بیشترین میزان فنل کل را نشان دادند (شکل 4). با افزایش غلظت تیمارها، میزان فنل کل میوه زیاد شد (شکل 4). نتایج نشان داد که اثرات سینرژیستی اسید سالیسیلیک و گابا در طول دوره انبارداری باعث افزایش فنل کل شد (شکل 4).

فلاونوئیدها جزو سیستم آنتی­اکسیدانی غیر­آنزیمی بوده و نقش مهمی در خنثی­سازی اثرات رادیکال­های آزاد بازی می‌کنند در نتیجه باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می­شوند (حسن­پور و همکاران، 2011). طبق نتایج، تیمارهای اسید سالیسیلیک و گابا در ترکیب با همدیگر روی فلاونوئید کل تأثیر مثبتی داشتند و میزان فلاونوئید کل را نسبت به میوه­های شاهد افزایش دادند (شکل 4). اثر گابا در افزایش میزان فلاونوئید کل ممکن است به دلیل تحریک تولید و فعالیت آنزیم PAL بوده که در واقع باعث تحریک مسیر فنیل پروپانوئیدی می‌شود (سلیمانی اقدم و همکاران، 2016). مسیر فنیل پروپانوئیدی باعث سنتز ترکیبات فنلی نظیر ترکیبات فلاونوئیدی می‌شود. تیمار میوه­های هلو در دوره پس از برداشت با غلظت­های مختلف گابا باعث افزایش میزان فلاونوئید کل شده است (یانگ و همکاران، 2011). کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه پرتقال و زردآلو باعث افزایش تجمع فلاونوئید کل شد که این امر در نتیجه فعال شدن سیستم­های دفاعی و آنتی­اکسیدانی در اثر اسید سالیسیلیک می­باشد که با نتایج این تحقیق همسو بودند (هوانگ، 2008؛ وانگ و همکاران، 2015). زمان انبارداری روی میزان فلاونوئید کل تأثیر معنی­دار داشته و به تدریج در طول دوره نگهداری کاهش يافت به طوري كه در دوره دوم نگهداری میزان فنل کل نسبت به دوره­ اول نگهداری کمتر شد. اسید سالیسیلیک در اثر تحریک فعالیت آنزیم PAL باعث تجمع فلاونوئید کل و دیگر متابولیت­ها در گیاه می­شود (کیم[[38]](#footnote-38) و همکاران، 2006). افزایش میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل در این تحقیق تحت تیمار گابا و اسید سالیسیلیک می­تواند از افزایش بیان ژن­های درگیر در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها به ویژه افزایش بیان ژن مسئول سنتز آنزیم PAL که اولین آنزیم در مسیر سنتز ترکیب­های فنلی بویژه فلاونوئید­ها است، ناشی شده باشد.

**شکل 4- مقایسه میانگین اثر متقابل گابا، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر محتوای فلاونوئید کل میوه آلوی رقم شابلون.** (SA1mM: 1میلی­مولار اسید سالیسیلیک، SA2mM: 2میلی­مولار اسید سالیسیلیک، GABA10mM: 10 میلی­مولار گابا، GABA20mM: 20 میلی­مولار گابا).

**نتیجه­گیری کلی**

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

**منابع**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1. 1- دانشجوی سابق کارشناسی­ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

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

3- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه. [↑](#footnote-ref-1)
2. ٭ پست الکترونیک: hemmatjo.b71@gmail.com [↑](#footnote-ref-2)
3. [↑](#footnote-ref-3)
4. 1. Manganaris [↑](#footnote-ref-4)
5. 2. Kole and Abbott [↑](#footnote-ref-5)
6. . Singh [↑](#footnote-ref-6)
7. . Hannum [↑](#footnote-ref-7)
8. . Asghari and Soleimani Aghdam [↑](#footnote-ref-8)
9. . Chun [↑](#footnote-ref-9)
10. . Clark [↑](#footnote-ref-10)
11. . Shelp [↑](#footnote-ref-11)
12. . Alcazar [↑](#footnote-ref-12)
13. . Wang [↑](#footnote-ref-13)
14. . Yang [↑](#footnote-ref-14)
15. . Dokhanieh [↑](#footnote-ref-15)
16. . Valero [↑](#footnote-ref-16)
17. . Chan [↑](#footnote-ref-17)
18. . Beers and Seizer [↑](#footnote-ref-18)
19. 2. Polyvinyl-pyrolidone [↑](#footnote-ref-19)
20. 3. Mercaptoethanol [↑](#footnote-ref-20)
21. . Karthikeyan [↑](#footnote-ref-21)
22. . Youngjae [↑](#footnote-ref-22)
23. . Folin ciucaeltiu [↑](#footnote-ref-23)
24. . Waterhouse [↑](#footnote-ref-24)
25. . Sayyari [↑](#footnote-ref-25)
26. . Tareen [↑](#footnote-ref-26)
27. . Shelp [↑](#footnote-ref-27)
28. . Liu [↑](#footnote-ref-28)
29. . Mo [↑](#footnote-ref-29)
30. . Soleimani Aghdam [↑](#footnote-ref-30)
31. . Tsai [↑](#footnote-ref-31)
32. . Huang [↑](#footnote-ref-32)
33. . Cao [↑](#footnote-ref-33)
34. . Gimenez [↑](#footnote-ref-34)
35. . Dixon and Paiva [↑](#footnote-ref-35)
36. . Strack [↑](#footnote-ref-36)
37. . Zhou [↑](#footnote-ref-37)
38. . Kim [↑](#footnote-ref-38)