

اثر سالیسیلیک اسید در القای مقاومت به سرمازدگی، کنترل پوسیدگی و حفظ کیفیت میوه لیموشیرین (*Citrus limetta*)

عبدالحسین ابوطالبی^{۱*}، بهنام بهروزنام^۲ و زهرا پشتگه^۳
۱، ۲، ۳، استادیاران و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
(تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۳۰ - تاریخ تصویب: ۹۰/۱۱/۲۳)

چکیده

در این مطالعه اثر سطوح مختلف سالیسیلیک اسید بر القای مقاومت به سرمازدگی و کیفیت میوه لیموشیرین مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور میوه لیموشیرین در غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به صورت غوطه‌وری به مدت ۵ دقیقه تیمار و پس از بسته‌بندی در کیسه پلاستیکی بصورت تکی به انبار سرد (± 1 درجه سانتی‌گراد) منتقل و مدت دو ماه نگهداری شدند. یک گروه میوه نیز بدون اعمال هیچ تیماری به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از پایان مدت آزمایش، میوه‌ها به مدت ۵ روز به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و اثر تیمارها بر درصد میوه‌های سرمازده، کل مواد جامد محلول، درصد نشت یونی، ویتامین ث و درصد میوه‌های پوسیده بررسی شد. بر اساس نتایج سالیسیلیک اسید باعث کاهش سرمازدگی، حفظ کیفیت ظاهری و جلوگیری از آب از دست‌دهی میوه گردید، بدون آنکه اثر نامطلوب بر کیفیت محصول داشته باشد. بیشترین درصد میوه سرمازده در تیمار شاهد و آب مقطر و کمترین آن در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید وجود داشت. از لحاظ میزان کاهش وزن، ویتامین ث و اسید کل، تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های تیمار شده با سالیسیلیک اسید و شاهد وجود داشت اما هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین آنها از لحاظ میزان مواد جامد محلول و pH عصاره دیده نشد. در مجموع، تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید، میوه‌های با بالاترین کیفیت ظاهری و بیشترین اثر بازدارندگی بر سرمازدگی داشت.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، انبار سرد، سرمازدگی، پوسیدگی، پس از برداشت

مقدمه

بعد از برداشت محصول، مقداری از محصول به فروش می‌رسد و بقیه در سردخانه نگهداری می‌شوند. سرد کردن به احتمال زیاد قدیمی‌ترین و رایج‌ترین روشی است که حداقل در کشورهای در حال توسعه برای طولانی کردن عمر محصول مورد استفاده قرار می‌گیرد. لیموشیرین از مرکبات قابل رقابت در بازارهای جهانی و

سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد در تازه‌ترین گزارش خود (FAO, 2007)، رتبه ایران را با تولید سالیانه حدود ۴ میلیون تن مرکبات جزء ۲۰ کشور برتر دنیا معرفی نموده است. بر اساس این گزارش ایران سومین تولیدکننده لیمو و لایم در جهان است. معمولاً

در میزان نشت یون در میوه‌های انار نگهداری شده در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد را نشان داد و تیمار سالیسیلیک اسید تاثیر قابل توجهی بر کاهش نشت یون، در این میوه‌ها داشت. تیمار سالیسیلیک اسید، بر کاهش حساسیت به سرمازدگی تاثیر گذار بود و در پایان سالیسیلیک اسید با غلظت ۲ میلی‌مولار، به منظور کاهش خسارت سرمازدگی در انار توصیه گردید. با این وجود مطالعات گسترده‌ای در مورد امکان نقش سالیسیلیک اسید در کنترل خسارت سرمازدگی میوه‌های لیموشیرین، گزارش نشده است. بنابراین هدف از این تحقیق، ارزیابی نقش سالیسیلیک اسید و تعیین غلظت مناسب آن در کنترل خسارت سرمازدگی میوه لیموشیرین در دمای پایین انبارداری بوده است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر سالیسیلیک اسید در القای مقاومت به سرمازدگی، کنترل پوسیدگی و حفظ کیفیت میوه لیموشیرین، این پژوهش در سال ۱۳۸۹ در قالب طرح کاملا تصادفی در پنج تیمار و چهار تکرار (هر تکرار ۲۵ عدد میوه) صورت گرفت. بدین منظور میوه لیموشیرین (*Citrus limetta*) در مرحله رنگ‌گیری کامل از باغ سازمان حلال احمر شهرستان جهرم، برداشت و به محل آزمایش منتقل و به گروه‌های ۱۰۰ عددی تقسیم شدند. تیمارها شامل شاهد (بدون شستشو)، آب مقطر و سالیسیلیک اسید با غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. اعمال تیمارها بصورت غوطه‌وری به مدت ۵ دقیقه بود. بعد از خشک شدن سطح میوه‌ها، آنها را بصورت تکی درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی کرده و به سردخانه با دمای 1 ± 4 درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. پس از گذشت ۲ ماه، میوه‌ها برای مدت ۵ روز به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بعد از اتمام دوره آزمایش، ۵ عدد میوه از هر تکرار بصورت تصادفی جهت نمونه‌گیری انتخاب شد. فاکتورهای مورد ارزیابی شامل درصد نشت یون، درصد میوه‌های سرمازده، کل مواد جامد محلول، میزان اسید کل، ویتامین، و pH آب میوه و درصد میوه‌های پوسیده بود. درصد نشت یون به روش Lutts et al., 1996 محاسبه گردید. بدین منظور میوه‌ها

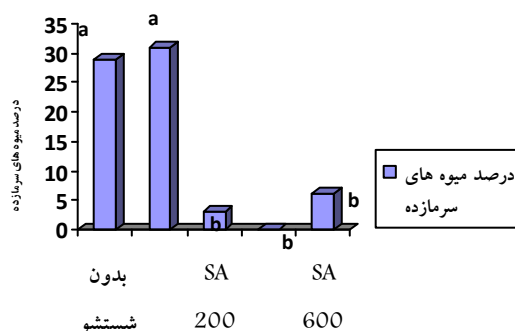
منطقه‌ای می‌باشد، که حساسیت بیشتری نسبت به سرمازدگی نشان می‌دهد. لیموها به طور معمول در دمای ۱۳ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند، که این دما منجر به پوسیدگی شدید محصول می‌گردد. از طرف دیگر نگهداری در دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد باعث سرمازدگی در آنها می‌شود که به صورت فرورفتگی پوست، قهوه‌ای شدن داخل میوه و تغییر در رنگ آب میوه، بروز می‌نماید (Cohen & Schiffman-Nadel, 1978; Houk et al. 1990). روش‌هایی مانند کاربرد کلسیم و تیمارهای دمایی خسارت سرمازدگی را در لیموها کاهش داده‌اند (Hopper & Cassidy, 2006). سالیسیلیک اسید یک هورمون گیاهی محسوب می‌شود. در بسیاری از شرایط تنش‌زا به عنوان یک مکانیزم دفاعی، میزان بالای سالیسیلیک اسید در گیاه تجمع می‌یابد. به تازگی نقش سالیسیلیک اسید به عنوان یک سیگنال مولکولی در القای مقاومت سیستمیک و تولید پروتئین‌های پاتوژنی مطلوب، به طور وسیع مورد بررسی قرار گرفته است. علاوه بر این استخراج سالیسیلات‌ها از برخی میوه‌ها و سبزی‌ها، بیانگر این است که این ترکیبات با پتانسیل سلامت در ارتباط بوده و به عنوان ترکیبات سالم شناخته شده‌اند (Beckers & Spoel, 2006; Raskin, 1992; Shah, 2003). محققین تاثیر سودمندی از سالیسیلیک اسید را ارائه کردند. کاربرد سالیسیلیک اسید، به هر دو صورت قبل یا پس از برداشت، پوسیدگی قارچی در گیلان را از طریق القای سیستم مقاومتی و تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کاهش داده است (Chan & Tian, 2006). همچنین سالیسیلیک اسید از طریق تاثیر بر تولید اتیلن، با کاهش میزان اتیلن تولیدی و تنفس، رسیدن میوه کیوی را به تاخیر انداخته و عمر انباری آن را افزایش داده است (Zhang et al., 2003). علاوه بر این، در میوه‌های حساس به خسارت سرمازدگی، پیش تیمار با سالیسیلیک اسید خسارت سرمازدگی را کاهش داده است. گزارش شده است که در هلو، سالیسیلیک اسید از طریق تحریک تولید پروتئین‌های شوک حرارتی و القای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، خسارت سرمازدگی را کاهش داد (Wang et al., 2006). نتایج حاصل از تحقیق Sayyari et al. (2009)، افزایش

می‌باشد. میزان مواد جامد محلول آب میوه لیموشیرین، با استفاده از عصاره‌های تهیه شده و رفراکتومتر اندازه‌گیری گردید. ایجاد لکه‌های قهوه‌ای روی پوست از علائم سرمازدگی در میوه لیموشیرین است که میزان آن به صورت مشاهده‌ای بررسی و بر مبنای درصدی از کل پوست بیان گردید.

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که خسارت سرمازدگی و حساسیت به دمای پایین در تمام تیمارها با بروز علائمی از قبیل ایجاد فرورفتگی در پوست، قهوه‌ای شدن پوست و افزایش درصد نشت یون و به دنبال آن فساد قارچی میوه، همراه بود. شدت این علائم به مقدار قابل توجهی با کاربرد سالیسیلیک اسید به ویژه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر، کاهش یافت (نمودار ۱). البته بین غلظت‌های بکار رفته تفاوت معنی‌دار نبود. در واقع شدت خسارت سرمازدگی در میوه‌های تیمارهای مختلف سالیسیلیک اسید پس از دو ماه انبارداری و ۵ روز نگه داری در دمای اتاق، از شدت خسارت میوه‌های شاهد و تیمار آب مقطر، با اختلاف معنی‌دار کمتر بود. همانند نتایج این آزمایش در هلو نیز گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با غلظت یک میلی مولار خسارت سرمازدگی را کاهش داد (Wang et al., 2006).



نمودار ۱- مقایسه میانگین اثر سالیسیلیک اسید و آب مقطر

بر درصد میوه‌های سرمازده

ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. SA = سالیسیلیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)

با مواد شوینده و آب مقطر شسته شده و سپس با آب ۲ بار تقطیر آبکشی گردیدند. از پوست هر میوه ۲ دیسک به قطر یک سانتی‌متر تهیه و به درون ارلن حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب ۲ بار تقطیر منتقل شدند و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با دور متوسط قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی آب درون ارلن بوسیله EC متر اندازه‌گیری (L_1) گردید. ظرف‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت درون اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی-گراد قرار گرفته و بار دیگر هدایت الکتریکی محلول حاوی نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت قرار دادن در دمای اتاق اندازه‌گیری (L_0) شد. در پایان درصد نشت یون با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$= (L_1 / L_0) \times 100 = \text{درصد نشت یون}$$

به منظور اندازه‌گیری میزان ویتامین ث، در یک ارلن محلولی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر عصاره میوه، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱٪ تهیه و توسط محلولی حاوی ۱/۶ گرم ید و ۱۶ گرم یدور پتاسیم که به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسیده بود، تیترو گردید. به محض مشاهده اولین تغییر رنگ، عدد یادداشت گردید. از ضرب عدد حاصل در عدد ثابت ۰/۸۸ میزان ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه تعیین گردید (Cohen & Schiffman-Nadel, 1978). جهت تعیین اسید کل، ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره هر نمونه درون ارلن ریخته شد و پس از اضافه کردن ۲۰ سی‌سی آب مقطر و ۳ قطره فنل فتالین، با سود ۰/۱ نرمال تیترو گردید تا رنگ صورتی کم رنگ ظاهر گردید. اسید کل با استفاده از رابطه زیر محاسبه و بر حسب درصد بیان شد (Houk et al., 1990).

$$\text{حجم سود مصرفی در تیتراسیون} \times \text{وزن اکی‌والان اسید} = \text{اسید کل (\%)} \\ \text{وزن نمونه} \times 100 / 10 \times 100$$

به منظور اندازه‌گیری درصد کاهش وزن میوه، قبل از انبارداری و پس از اتمام دوره انبارداری وزن خالص میوه‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. سپس درصد کاهش وزن هر تکرار از طریق رابطه زیر محاسبه گردید. $100 \times (\text{وزن اولیه} / \text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}) = \text{درصد کاهش وزن}$ در این فرمول وزن اولیه مربوط به وزن میوه‌ها قبل از انتقال به انبار و وزن ثانویه مربوط به وزن میوه‌ها پس از اتمام دوره انبارداری و ۵ روز قرار گرفتن در دمای اتاق

میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند. به طور کلی تیمار سالیسیلیک اسید به میزان قابل توجهی در حفظ اسید میوه در طول انبارداری موثر واقع گردید. البته اختلاف بین غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن معنی‌دار نبود (جدول ۱) که با نتایج Sayyari et al. (2009) همخوانی دارد.

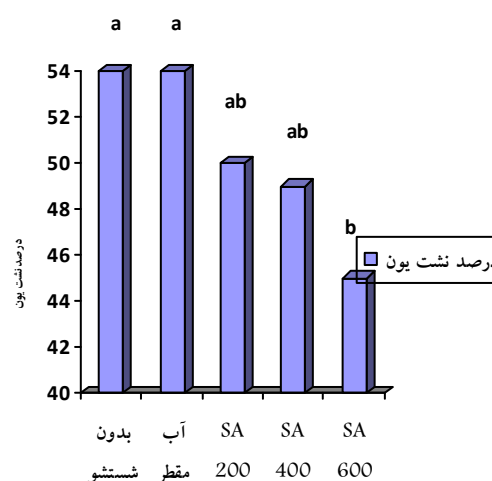
براساس نتایج درصد افزایش میزان مواد جامد محلول در تیمار شاهد و تیمارهای سالیسیلیک اسید بدون اختلاف معنی‌دار بود و درصد افزایش مواد جامد محلول در تیمار آب مقطر با اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، پایین‌تر از تیمار سالیسیلیک اسید ۶۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر بود (جدول ۱) که این مسئله به احتمال زیاد می‌تواند به علت تاثیر شستشو بر پوشش‌های سطحی میوه در تیمار آب مقطر باشد. این نتیجه نیز با نتایج اعلام شده توسط Sayyari et al. (2009) همخوانی دارد.

سالیسیلیک اسید مقاومت بافت‌های حساس به سرمازدگی را افزایش داده و بدین طریق باعث کاهش خسارت سرمازدگی می‌شود. شرایط سرمازدگی در بافت‌های گیاهی باعث تغییرات لیپیدهای غشاء سلولی از فرم مایع کریستالی به فرم جامد زله‌ای می‌شود و در نتیجه منجر به افزایش نفوذپذیری غشا و نشت یون‌ها از غشا می‌گردد.

افزایش نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع غشا موجب سازگاری موقت و یا دائمی به دمای پایین می‌شود که از این موضوع به عنوان یک فاکتور اساسی در افزایش مقاومت غشا تحت شرایط سرمازدگی یاد می‌شود (Mirdehghan et al., 2006).

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که تیمار سالیسیلیک اسید، منجر به سازگاری به دمای پایین شد و در حفظ سیالیت غشا در دمای پایین موثر واقع گردید و در نتیجه درصد نشت یون و خسارت سرمازدگی به میزان قابل توجهی در میوه کاهش یافت. از میان غلظت‌های بکار رفته سالیسیلیک اسید، غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر بیشترین تاثیر را در کاهش خسارت

در مقایسه تیمارها با توجه به آزمون دانکن در سطح ۵ درصد، بیشترین درصد نشت یون در تیمار شاهد (۵۴٪) و کمترین آن در تیمار سالیسیلیک اسید ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۴۵٪)، مشاهده شد. به جز تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر سالیسیلیک اسید، سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند (نمودار ۲، جدول ۱). کاهش درصد نشت یون در میوه‌های تیمار شده انار با سالیسیلیک اسید نیز گزارش شده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Sayyari et al., 2009).



نمودار ۲- مقایسه میانگین اثر سالیسیلیک اسید و آب مقطر بر درصد نشت یون

ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. SA = سالیسیلیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)

با توجه به نتایج حاصل، نوع تیمار تاثیر معنی‌دار بر مقدار ویتامین ث عصاره‌ی میوه داشتند. به طور کلی تیمار شاهد بیشترین درصد کاهش ویتامین ث را به خود اختصاص داد (۳۲٪) و کمترین درصد کاهش ویتامین ث مربوط به تیمارهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید (۲۰٪) بود که اختلاف آنها با سایر تیمارها، معنی‌دار بود. از داده‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که موثرترین غلظت سالیسیلیک اسید در حفظ ویتامین ث، ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر بوده و نیاز به غلظت بالاتر احساس نمی‌شود (جدول ۱). کمترین مقدار درصد کاهش اسید کل، مربوط به تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید بود و تیمارهای ۶۰۰ و ۲۰۰

سرمازدگی و حفظ ویتامین ث و سایر خصوصیات کیفی میوه لیموشیرین داشت. اما آزمایشات دقیق و جامعی باید انجام شود تا به مکانیزم یا مکانیزم‌هایی که سالیسیلیک اسید کیفیت میوه‌های انبار شده در دمای پایین را بهبود می‌بخشد، پی برد.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر سالیسیلیک اسید بر صفات لیموشیرین

تیمار	بدون شستشو	آب مقطر	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰
صفت مورد بررسی	میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید				
درصد افزایش pH	۲۳a	۲۳a	۲۲a	۲۰a	۲۰a
درصد افزایش TSS	۲۰ab	۱۶b	۲۳ab	۲۱ab	۲۴a
درصد کاهش اسید کل	۵۲a	۴۶a	۳۶b	۳۱b	۳۲b
درصد نشت یون	۵۴a	۵۴a	۵۰ab	۴۹ab	۴۵b
درصد کاهش ویتامین ث	۳۱a	۳۲a	۲۸a	۲۰b	۲۰b
درصد میوه‌های کپک زده	۸ab	۱۰a	۶bc	۲c	۷ab
درصد میوه‌های سرمازده	۲۹a	۳۱a	۳b	۰/۰b	۶b

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

لازم به ذکر است که استفاده از دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، به همراه کاربرد سالیسیلیک اسید، تاثیر بسزایی در کنترل بیماری‌های قارچی لیمو شیرین در سردخانه داشت و توسعه کپک‌زدگی تنها در میوه‌های سرمازده تیمار شاهد و آب مقطر مشاهده گردید.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان سالیسیلیک اسید با غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر را مؤثرترین تیمار در کاهش خسارت سرمازدگی و حفظ خصوصیات کیفی میوه لیموشیرین معرفی کرد. در پایان

REFERENCES

- Beckers, G.J.M. & Spoel, S.H. (2006) Fine-tuning plant defence signaling: salicylate versus jasmonate. *Plant Biology*, 8: 1-10.
- Chan, Z. & Tian, S. (2006) Induction of H₂O₂-metabolizing enzymes and total protein synthesis by antagonist and salicylic acid in harvested sweet cherry fruit. *Postharvest Biology & Technology*, 39: 314-320.
- Cohen, E., & Schiffman-Nadel, M. (1978) Storage capability at different temperatures of lemons grown in Israel, *Scientia Horticultura*, 9: 251-257.
- 4- Food and Agricultural Organization, (2007) A report: World Agriculture Towards: 2015/2030. Accessed August 30, 2010, from <http://www.fao.org/english/newsroom/news>
- Hoper, L. & Cassidy, A. (2006). A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 1805-1813.
- Houk, L.G., Jenner J.F. & Mackey, B.E. (1990) Seasonal variability of the response of desert lemons to rind injury and decay caused by quarantine cold treatments. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 65: 611-617.
- Lutts, S., Kinet, J.M. & Bouharmont, J. (1996) Effects of various salts and mannitol on ion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) callus cultures. *Journal of Plant Physiology*, 149:1896-905.

8. Mirdehghan S.H, Rahemi, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Serrano M. & Valero, D. (2006) Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat temperature. *Postharvest Biology & Technology*, 44: 19-25
9. Raskin, I. (1992) Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99: 799-803.
10. 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 & Technology*, 53: 152-154.
11. Shah, J. (2003) The salicylic acid loop in plant defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 365-371.
12. Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S. & Archbold, D.D. (2006) Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology & Technology*, 41: 244-251.
13. Zhang, Y., Chen, K., Zhang, S. & Ferguson, I. (2003) The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biology & Technology*, 28: 67-74.