

تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر کاهش خسارت سرمازدگی میوه خیار رقم

ناگین^۱

Effect of Postharvest Application of Melatonin on reducing Chilling Injury in Cucumber (*Cucumis sativus* L. "Nagin")

مژگان ندیری^۲، اصغر ابراهیمزاده*^۳، سید مرتضی زاهدی^۲

چکیده

استفاده از دمای پایین یک روش موثر برای حفظ کیفیت خیار در طول دوره پس از برداشت است، اما با توجه به حساسیت میوه خیار به صدمه سرمازدگی، استفاده از فنون مناسب برای کنترل سرمازدگی می تواند روشی مؤثر باشد. به همین منظور، مطالعه به کارگیری ملاتونین در کنترل آسیب سرمازدگی در محصول خیار، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح به طور کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل زمان های مختلف انبارمانی (شاهد یا روز برداشت، ۴، ۸ و ۱۲ روز پس از برداشت) و غلظت های مختلف ملاتونین (صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. برخی از ویژگی های زیست شیمیایی و فیزیولوژیکی شامل فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و لیپوکسی ژناز)، مالون دی آلدئید، محتوای فنول، پروتئین کل، نشت الکترولیت ها، مواد جامد محلول کل و سفتی میوه اندازه گیری شد. نتایج نشان داد در هر غلظت از ملاتونین با افزایش زمان نگهداری تا ۸ روز محتوای فنول و فعالیت آنزیم کاتالاز و لیپوکسی ژناز روندی افزایشی و پس از آن کاهش داشت. در سوپراکسید دیسموتاز و پروتئین کل، این افزایش تا روز چهارم انبارمانی بود و پس از آن روندی کاهش نشان داد. همچنین، در هر کدام از سطوح ملاتونین با افزایش زمان انبارداری تا زمان ۱۲ روز، میزان مالون دی آلدئید و نشت الکترولیت روندی افزایشی نشان دادند، اما سفتی میوه دارای روندی کاهش بود. درصد مواد جامد محلول نیز در هر سطح از ملاتونین با افزایش زمان انبارمانی کاهش داشت که این کاهش در تیمار شاهد مشهودتر بود. همچنین، در هر غلظت از ملاتونین با افزایش زمان نگهداری تا ۱۲ روز، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و سفتی میوه کاهش داشت. به طور کلی، نتایج نشان داد تیمار ملاتونین به ویژه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار توانست باعث کاهش صدمه سرما شود و کیفیت میوه های خیار را در طول انبار سرد حفظ نماید.

واژه های کلیدی: انبارمانی، تنش سرمایی، خیار، آنزیم های آنتی اکسیدانی، غوطه وری، نشت الکترولیت ها.

مقدمه

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. یکی از مهمترین سبزی های میوه ای از لحاظ اقتصادی می باشد و به علت داشتن مقادیر بالایی از ویتامین ها، نمک های معدنی و اسیدهای آلی، در تغذیه انسان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. میوه خیار به دلیل دارا بودن آب زیاد و پتانسیل بالای آب از دست دهی، عمر قفسه ای و انبارمانی محدود و کوتاهی دارد. از این رو، کیفیت پس از برداشت و به ویژه کیفیت ظاهری این محصول ارزشمند به دلایل بیان شده و همینطور به دلیل قرار گرفتن در معرض آسیب ها و ساییدگی و صدمه های مکانیکی در طی مراحل پس از برداشت و عملیات انبارداری، به شدت کاهش می یابد (۱۴).

۲۹). دمای پایین یک روش موثر برای حفظ کیفیت محصول در طول دوره پس از برداشت است، اما با توجه به حساسیت خیار به سرمازدگی، زمانی که این محصول در معرض دمای پایین‌تر از ۱۰-۷ درجه سلسیوس قرار می‌گیرد دچار سرمازدگی می‌شود (۴۰). به همین دلیل، لازم است تا فنون مناسب برای کنترل سرمازدگی در خیار گسترش یابد.

میوه خیار قابلیت انبارداری محدودی داشته و فاصله زمان برداشت تا مصرف آن باید بسیار کوتاه باشد تا مواد مغذی آن از بین نرود. بیشینه زمان نگهداری خیار در یخچال یک هفته است که در این مدت اغلب ویژگی‌های مفید آن از بین می‌رود یا کاهش معنی داری پیدا می‌کند (۱۰). میوه خیار به عنوان یک موجود زنده، حساس به عواملی چون رطوبت، دما، اکسیژن و سایر شرایط انبارداری است؛ لذا ویژگی‌های مکانیکی آن می‌تواند در شرایط انبارداری و مدت انبار تغییر نماید. تغییرهای مکانیکی که در محصول های انبار شده رخ می‌دهد، اغلب به دلیل تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی است؛ به طوری که با افزایش مدت و دمای انبار، افزایش تبخیر و تعرق و تنفس بافت منجر به کاهش آب یاخته‌ای و از هم پاشیدگی ساختار ترکیب های دیواره سلولی شده و بافت محصول نرم می‌گردد (۱۴).

پژوهش‌های زیادی برای افزایش تحمل به سرمازدگی یا کاهش شدت نشانه‌های ناشی از آن انجام شده است. استفاده از ساختارها یا مواد پوششی حفاظتی می‌تواند به اجتناب از دمای پایین در گیاهان کمک کند. پوشش‌های خوراکی به عنوان عاملی برای حفاظت محصولات غذایی فسادپذیر از عوامل تخریب از راه کاهش آب از دست‌دهی، کند کردن روند تنفس، بهبود کیفیت بافت، کمک به حفظ ترکیبات معطر فرار و کاهش رشد میکروبی شناخته شده‌اند (۹، ۱۹). به همین دلایل، در سال‌های اخیر، پژوهشگران از روش‌های جدید و از ترکیب‌های جدید که پایه آمینی دارند و یک‌سری هورمون‌ها و شبه‌هورمون‌ها که نقش پیام‌رسانی پس از برداشت در محصولات را به عهده می‌گیرند، استفاده می‌کنند. از جمله موادی که مورد توجه قرار گرفته است، ملاتونین می‌باشد. در سال‌های اخیر، پژوهش‌های قابل توجهی در ارتباط با استفاده از ملاتونین در انبارمانی محصولات، ایجاد مقاومت به قارچ‌ها و همینطور حفظ کیفیت پس از برداشت محصولات مختلف باغبانی صورت گرفته است (۴، ۷، ۲۲). ملاتونین با دفاع آنتی‌اکسیدانی مانع جدی در برابر تنش سرما است؛ به طوری که با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز باعث افزایش تحمل‌پذیری یاخته‌ای در برابر تنش دمایی پایین‌تر از آستانه تحمل می‌گردد (۲۷). ملاتونین باعث افزایش فعالیت ژن‌های کنترل‌کننده فعالیت آنزیم‌های فنیل پروپانویید به ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۱۲). ترکیبات فنیل پروپانوییدی گیاهان در ساختار رنگیزه‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات محافظت‌کننده یافت می‌شوند و در رشد، ریخت‌زایی و پاسخ به تنش‌ها نقش تنظیمی دارند (۳۵).

مولکول ملاتونین در گیاهان به عنوان محرک زیستی شناخته شده است که موجب افزایش تحمل به تنش‌ها از جمله سرما می‌گردد. انباشت ملاتونین در محصولات نه تنها برای سلامتی انسان مفید است، بلکه می‌تواند برای محصولات باغی و زراعی نیز به دلیل نقش آن در کاهش تنش‌های زنده و غیرزنده مفید باشد. ملاتونین به عنوان یک مولکول آمین ایندول مناسب، نه تنها به عنوان مولکولی درون‌زا و مولکول پیام‌دهی برای تعدیل تنش زیستی عمل می‌کند، بلکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی مستقیم نیز دارد (۴۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش ویژه‌ای در انبارمانی و جلوگیری از تنش حاصل از دماهای خارج از آستانه تحمل در پس از برداشت محصولات باغبانی دارد (۱۶). بنابراین، با توجه به اثرات مثبت ملاتونین در پس از برداشت محصولات باغبانی و همچنین حساسیت ویژه خیار به دمای پایین در دوره انبارمانی، پژوهش حاضر برای بررسی اثرهای کاربرد ملاتونین در کنترل آسیب سرمازدگی (CI) خیار رقم ناگین^۲ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، محل اجرای پژوهش و طرح آماری

در این پژوهش میوه خیار رقم ناگین محصول شرکت^۳ نزا زادن هلند به صورت تازه و در زمان بلوغ تجاری (۱۵-۱۰ روز پس از تمام گل) از یک گلخانه تجاری واقع در شهرستان عجب‌شیر (آذربایجان شرقی) برداشت و بی‌درنگ به آزمایشگاه فیزیولوژی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه منتقل شد. میوه‌های یکسان از نظر اندازه و رنگ که هیچ‌گونه آسیب مکانیکی ندیده بودند جهت اعمال تیمارها انتخاب شدند.

آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل ملاتونین (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) در چهار سطح (شامل صفر، یک، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و فاکتور دوم، زمان انبارمانی در چهار سطح (شامل روز برداشت، ۳، ۸ و ۱۲ روز بعد از برداشت) بود. میوه‌های انتخاب شده که شامل سه تکرار در هر تیمار بود و هر تکرار نیز شامل چهار میوه بودند به مدت ۵ دقیقه در تیمارهای مورد نظر غوطه‌ور شدند و بعد از تبخیر آب آزاد سطحی در دمای ۴ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی ۹۰ درصد در سردخانه نگهداری و سپس برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

درصد مواد جامد محلول کل (TSS)

برای اندازه‌گیری میزان مواد جامد محلول کل از دستگاه قندسنج دستی (مدل MT-098P8A) استفاده شد. به این صورت که یک قطره از آب‌میوه روی دستگاه قرار داده شد و سپس عدد مورد نظر به‌عنوان میزان TSS برحسب درصد بریکس یادداشت گردید.

نشت الکترولیت‌ها

برش‌های ۴ میلی‌لیتری از خیار تهیه شدند و به مدت ۳-۲ دقیقه در آب دیونیزه قرار گرفتند. سپس ۱۵ قطعه در ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه روی دستگاه لرزا با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه لرزانده شده و سپس با یک EC سنج، میزان هدایت الکتریکی اولیه (C1) اندازه‌گیری شد. پس از قرارگیری همان نمونه‌ها در بن‌ماری آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه، هدایت الکتریکی ثانویه (C2) بعد از رسیدن به دمای محیط اندازه‌گیری گردید. شاخص پایداری غشاء از فرمول زیر محاسبه و به صورت درصد بیان گردید (۴۰).

$$\text{رابطه ۱:} \quad \left[1 - \frac{C1}{C2}\right] \times 100 = \text{شاخص پایداری غشا}$$

سفتی بافت میوه

سفتی بافت خیار از راه آزمون نفوذسنجی با دستگاه سفتی سنج (مدل TR Faccini) تعیین شد. برای این منظور، از پروب استوانه‌ای تخت به قطر ۸ میلی‌متر با سرعت حرکت ۲/۵ میلی‌متر بر ثانیه استفاده شد. بیشینه نیروی لازم (نیوتن) جهت نفوذ به بافت میوه خیار اندازه‌گیری و ثبت گردید.

سنجش غلظت پروتئین

یک گرم بافت تر در یک هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۰/۰۵ مولار (pH=۷/۵) به طور کامل ساییده شد. محلول همگن به دست آمده به میکروتیوب‌ها منتقل شد و پس از ۱۰ دقیقه سکون، به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سلسیوس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار، سانتریفیوژ گردید. در پایان مرحله سانتریفیوژ، لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی حاصل برای سنجش غلظت پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت (۸).

محتوای فنول کل

اندازه‌گیری فنول کل با استفاده از روش فولین-سیوکالتو انجام شد. مقدار ۰/۲ گرم از بافت تر در هاون چینی توسط ۲ میلی‌لیتر متانول اسیدی ۱٪ هضم گردید. سپس عصاره به‌دست آمده توسط توری صاف گردید و عصاره حاصل به درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس عصاره به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۵۰ میکرولیتر رو شناور حاصل با ۷۵۰ میکرولیتر فولین-سیوکالتو ۱۰٪ مخلوط شد و به این آمیخته، ۷۵۰ میکرولیتر بی‌کربنات سدیم ۶٪ اضافه گردید. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800, Shimadzu, Japan) خوانده شد (۲۱).

فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز

نمونه‌های خیار در داخل هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع پودر شد. ۰/۱ گرم از پودر حاصل به فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتر منتقل شد و ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج به آن افزوده گردید. پس از ورتکس، محلول به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت

۱۱۰۰۰ دور در هر دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و سپس روشنور حاصل برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. محلول سوپسترا حاوی ۵۰ میلی گرم لینولئیک اسید که به ۵۰ میلی لیتر توپین ۲۰ و ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=7/8) اضافه گردید و با دستگاه آلتراسونیک بهم زده شد. این آمیخته با ۲۰ میکرولیتر NaOH ۱ میلی مولار شفاف شد و با اضافه کردن بافر استخراج به حجم ۲۵ میلی لیتر رسید. مواد استفاده شده شامل ۲۸۵۰ میکرولیتر بافر K_2HPO_4 ، ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر سوپسترا بود و واکنش به مدت ۱ دقیقه در ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت. سپس جذب حاصل از واکنش در ۲۳۴ نانومتر خوانده شد و فعالیت آنزیم به ازای میلی گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی گزارش گردید (۲۳).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز (PAL)

بدین منظور ۱ میلی لیتر از بافر استخراج، ۰/۵ میلی لیتر ال-فنیل آلانین ۱۰ میلی مولار، ۰/۴ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط شده و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر کلریدریک اسید ۶ مولار متوقف شد. محلول به دست آمده با ۱۵ میلی لیتر اتیل استات استخراج و سپس اتیل استات بخار گردید، ماده جامد باقی مانده در ۳ میلی لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۵ میلی مولار) حل شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۳۷).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط Nakano و Asada (۲۸) اندازه‌گیری شد. اساس این روش کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ نانومتر است که ناشی از اکسایش آسکوربات می‌باشد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس قابلیت بازدارندگی آن در احیای فتوشیمیایی نیتروبلوترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز نیز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط Aebi (۱) و بر اساس میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

مالون دی‌آلدئید

غلظت مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون غشاء، بر اساس روش Heath و Packer (۱۵) اندازه‌گیری شد. بر اساس این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱ درصد کوبیده و سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی ۴ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید است، اضافه شد. مخلوط در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد و بعد از قرارگیری روی یخ، غلظت مالون دی‌آلدئید با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$A=EBC$$

A = جذب، E = ضریب خاموش معادل $155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ، B = عرض کووت، C = غلظت کمپلکس بر حسب میلی مولار.

واکاوی آماری

تجزیه واریانس ویژگی‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

مواد جامد محلول کل

با افزایش طول دوره نگهداری میوه‌های خیار در سردخانه، میزان TSS کاهش یافت، اما این کاهش در میوه‌های شاهد در مقایسه با سایر تیمارها دارای شدت بیشتری بود؛ به طوری که میزان TSS میوه‌های تیمار شده در ۸ و ۱۲ روز پس از شروع انبار، در مقایسه با شاهد به ترتیب ۲۱/۷ و ۳۴ درصد کاهش داشت (شکل ۱).

افزایش در میزان مواد جامد محلول در طول دوره انبارمانی مرتبط با انتقال مواد پکتینی و هیدرولیز نشاسته همراه با از دست دادن آب میوه مطرح است. طی آزمایشی گزارش شده است که میزان مواد جامد محلول کل، اسیدیته قابل تیتراسیون و

میزان اسید اسکوربیک در میوه لیچی چند روز پس از انبار، در مقایسه با پیش از انبار کاهش یافته است، اما در میوه‌های تیمار شده با ملاتونین میزان بالاتری از این مواد وجود داشت (۶، ۷).

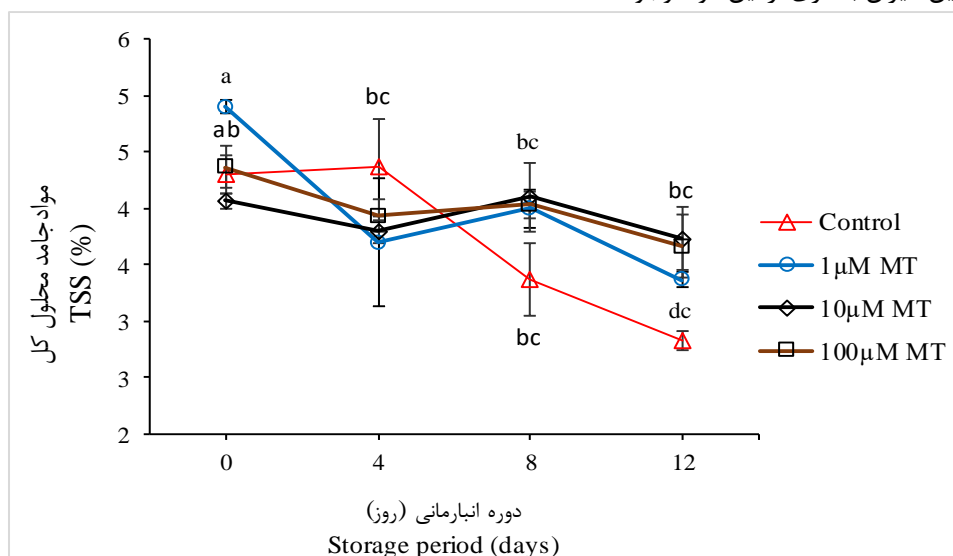


Fig. 1. Effect of different concentrations of melatonin on total soluble solids of cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان مواد جامد محلول کل میوه خیار طی دوره انبارمانی. حرف‌های یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

نشت الکترولیت‌ها

نتایج نشان داد با افزایش دوره نگهداری میوه، میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت، اما این افزایش در تیمار شاهد و ۱ میکرومولار ملاتونین بیشتر از سایر تیمارها بود و هیچ تفاوت معنی‌داری نیز بین این دو تیمار از نظر درصد نشت الکترولیت در دوره‌های انبارمانی مختلف وجود نداشت. با این حال، کاربرد ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین در مقایسه با سایر تیمارها در تمامی زمان‌های نگهداری دارای کمترین نشت الکترولیت بود به گونه‌ای که در ۴، ۸ و ۱۲ روز نگهداری میوه، میزان نشت به ترتیب ۲۷/۸، ۴۱/۵ و ۲۷/۷ درصد از شاهد در همین فواصل زمانی مشابه کاهش داشت (شکل ۲).

نشت الکترولیت‌ها به عنوان یک شاخص نشان‌دهنده وسعت آسیب غشاء یاخته‌ای مطرح است و اندازه‌گیری آن می‌تواند آسیب به ساختار و کارکرد غشاءهای یاخته‌ای در شرایط تنش را نشان دهد. دما یکی از عوامل مهمی است که بر سیالیت، پایداری و انعطاف‌پذیری غشاء اثرگذار است، به همین دلیل از غشاء به عنوان حسگر اولیه زیستی تنش سرما نام می‌برند (۳۱). همچنین، ثابت شده است که بی‌ثباتی غشای یاخته‌ای عامل اصلی آسیب سرمازدگی در گیاهان است (۲۰). افزایش چربی اشباع در غشای یاخته‌ای در زمان سازگاری با سرمازدگی به عنوان یک عامل مهم تعیین‌کننده جهت تحمل به تنش سرمایی عمل می‌کند (۱۳). طی پژوهشی، Jannatizadeh و همکاران (۱۸) دریافتند گوجه‌فرنگی‌های تیمار شده با ملاتونین که در شرایط سرمازدگی قرار داشتند، نشت الکترولیت و محتوای مالون‌دی‌آلدهید کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. کاهش پایداری غشاء که به صورت نشت بالای الکترولیت‌ها از یاخته و همینطور غلظت بالای MDA نمایان می‌شود ناشی از مقادیر بالای ROS می‌باشد که این گونه‌های فعال اکسیژن عامل اصلی در پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد (۴). اقدم و همکاران (۲۰۱۹) طی مطالعه‌ای روی گل آنتوریوم به عنوان گیاهی حساس به سرما، کاهش نشت یونی و غلظت MDA در اسپت‌های این گیاه که با ۱۰۰ میکرومول ملاتونین تیمار شده بودند را نشان دادند که این ظرفیت محافظتی ناشی از پتانسیل بالای جاروب‌کنندگی مولکول‌های ROS توسط ملاتونین اعلام شد که نتایج پژوهش حاضر نیز در این راستا می‌باشد (۳).

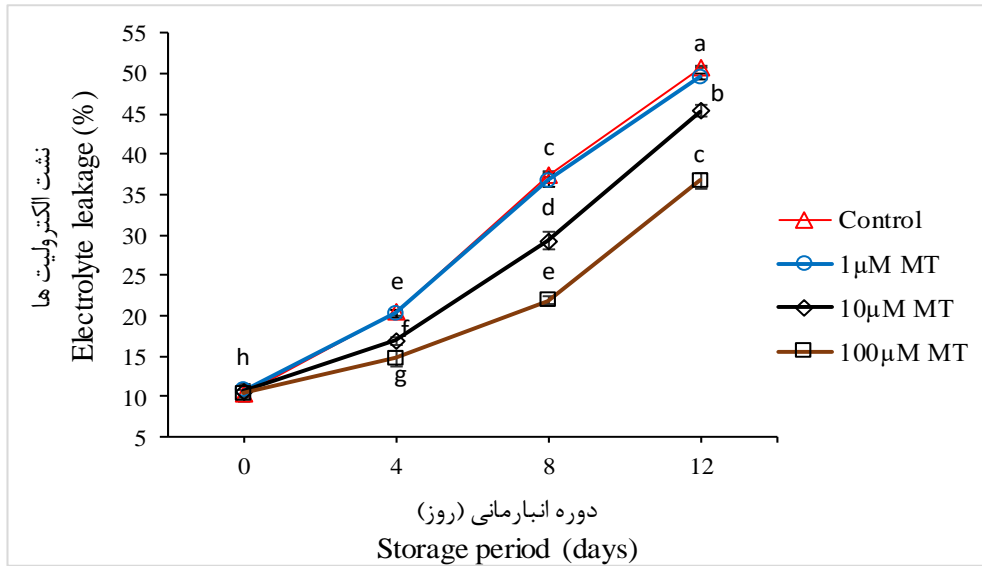


Fig. 2. Effect of different concentrations of melatonin on the percentage of electrolyte leakage of cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر درصد نشت الکترولیت میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

سفتی میوه

نتایج نشان داد که با افزایش طول دوره انبارداری میوه در سردخانه میزان سفتی میوه در تمام تیمارها روند کاهشی داشت، اما بالاترین درصد کاهش (۲۱ درصد) متعلق به تیمار شاهد و کمترین درصد (۱۴ درصد) نیز متعلق به ۱۰۰ میکرومولار در مقایسه با تیمار شاهد بود (شکل ۳).

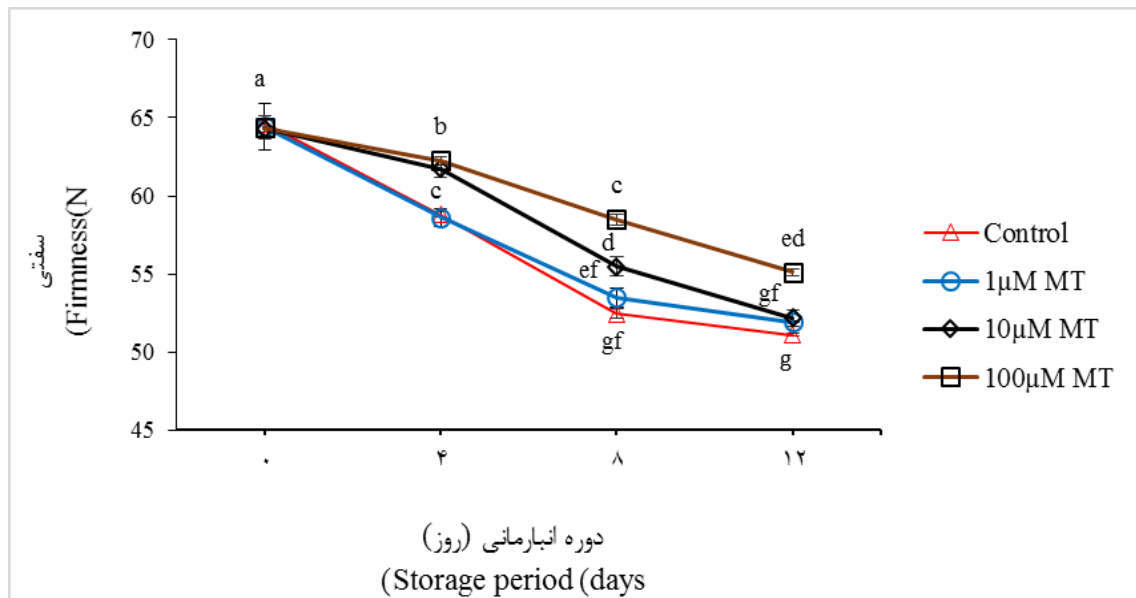


Fig. 3. Effect of different concentrations of melatonin on the fruit firmness of cucumber during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر سفتی میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

کاهش سفتی و تردی خیار به عنوان یک پارامتر کلیدی برای تعیین کیفیت و زمان ماندگاری آن در نظر گرفته می‌شود. در

طی نگهداری میزان سفتی خیار با سرعتی که بستگی به دمای نگهداری و شرایط بسته‌بندی دارد، به تدریج کاهش می‌یابد (۳۰). پژوهش Gao و همکاران (۱۲) نشان داد که تیمار ملاتونین به طور قابل توجهی سفتی میوه هلو را در طول مدت انباری حفظ می‌کند. تیمار ملاتونین می‌تواند سفتی میوه و یکپارچگی غشای یاخته‌ای را در طول مدت انباری حفظ کند که نتیجه آن ممکن است منجر به کاهش آزاد شدن اسید گالاکتورونیک از دیواره یاخته‌ای باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد در میوه گیلاس کاربرد ملاتونین منجر به بهبود سفتی میوه می‌شود. به نظر می‌رسد ملاتونین از راه سازوکارهایی مانند کاهش میزان تنفس منجر به حفظ کیفیت میوه می‌شود (۳۶).

محتوای پروتئین

نتایج نشان داد ۴ روز بعد از انبارمانی، میزان پروتئین در تمامی تیمارها افزایش یافت؛ اگرچه با افزایش طول انبارمانی، میزان پروتئین کاهش یافت و کمترین (۵۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین (۷۶/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) میزان پروتئین در روز ۱۲ متعلق به شاهد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بود (شکل ۴).

در تنش محیطی و فرایند پیری، گونه‌های فعال اکسیژن از راه تغییرهای اکسایشی زنجیره‌های جانبی اسید آمینه به ساختارها و عملکردهای پروتئین‌ها آسیب می‌رسانند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد استفاده از تیمار ملاتونین در طول دوره انبارداری محصولات از طریق بیان برخی از ژن‌ها (*LcMsrA1*, *LcMsrA2*, *LcMsrB1* و *LcMsrB2*) کمک قابل توجهی به ترمیم پروتئین‌ها و محافظت آن‌ها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌کند (۳۹). به نظر می‌رسد استفاده برون‌زا از ملاتونین با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیم‌های مربوط به ترمیم پروتئین اکسید شده، گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر اضافی میوه‌ها و سبزیجات را در زمان پس از برداشت جارو میکند.

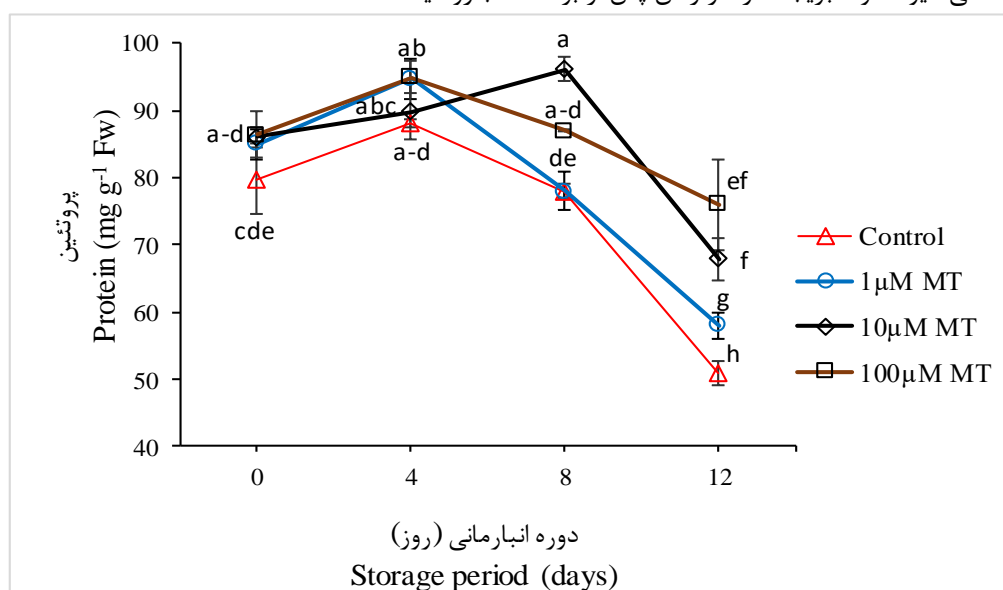


Fig. 4. Effect of different concentrations of melatonin on the protein content of cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر محتوای پروتئین میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

محتوای فنول کل

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش طول دوره انبارمانی میزان فنول کل در تمام سطوح ملاتونین افزایش یافت؛ درحالی‌که در تیمار شاهد در روز ۴ انبارداری، ابتدا افزایش ۲۶ درصدی در غلظت فنول مشاهده گردید، اما نگهداری به مدت ۱۲ روز منجر به کاهش معنی‌دار (۲ درصد) مقدار فنول در میوه خیار در مقایسه با شاهد گردید. با وجود اینکه تیمار یک میکرومولار ملاتونین در مقایسه با سایر غلظت‌ها دارای فنول بالاتری بود، اما با افزایش دوره نگهداری به ۱۲ روز، کمترین میزان فنول را در مقایسه با دو غلظت دیگر داشت و در زمان نگهداری بیان‌شده، تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بالاترین فنول

۶۳۶/۶۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) را به خود اختصاص داد (شکل ۵).

اغلب تنش‌های محیطی سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند و از این راه، آسیب اکسیداتیو ایجاد می‌کنند. تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و توانایی فرونشانی آن‌ها به واسطه سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی میزان خسارت تنش اکسایشی را تعیین می‌کند. ترکیب‌های فنولی شامل گروه زیادی از متابولیت‌های ثانویه است که بسیاری از آن‌ها پتانسیل آنتی‌اکسیدانی دارند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی بیشتر ناشی از قدرت احیاء‌کنندگی و ساختار شیمیایی آن‌ها است که توانا به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه هستند (۵).

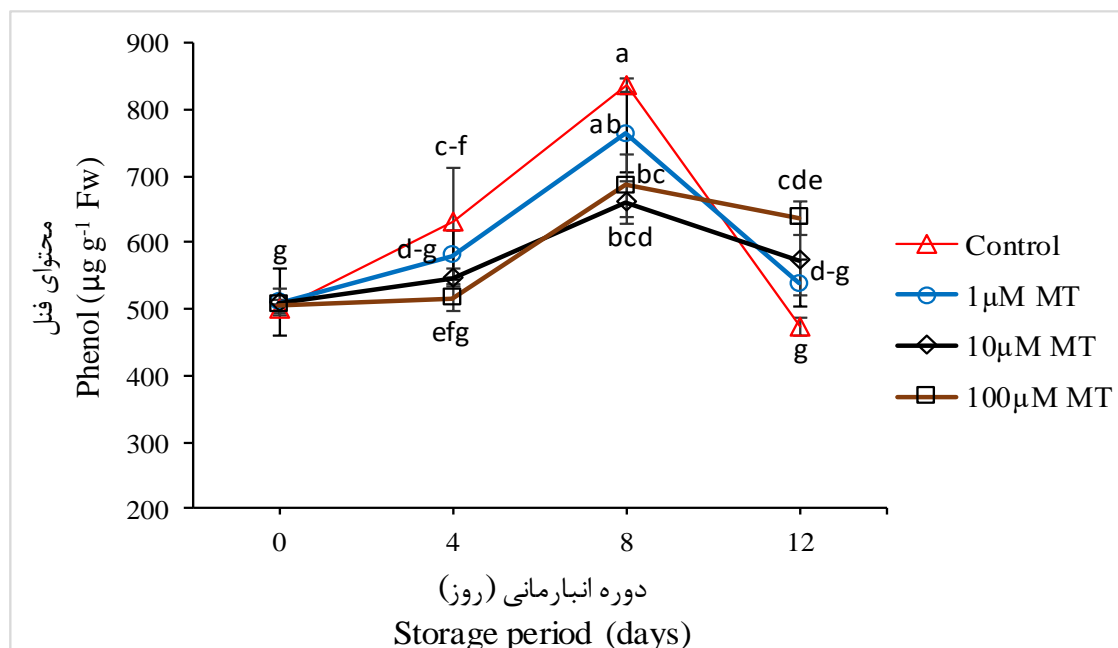


Fig. 5. Effect of different concentrations of melatonin on the phenol content in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان فنول میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز

نتایج نشان داد نگهداری میوه تا ۸ روز در سردخانه منجر به افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در تمامی سطوح تیمار ملاتونین و همین‌طور شاهد گردید، اما پس از آن در طی نگهداری تا روز ۱۲، میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت و کمترین میزان نیز متعلق به دو تیمار ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بود (شکل ۶).

در شرایط تنش سرمایی، غشای یاخته‌ای بر اثر پراکسیداسیون لیپیدها بی‌ثبات می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌تواند به وسیله آنزیم لیپوکسی ژناز تحریک شود؛ به این حالت که آنزیم لیپوکسی ژناز واکنش اکسیژن مولکولی را با اسیدهای چرب غیراشباع حاوی سیس، سیس-۱، ۴-پنتادین کاتالیز می‌کند و از این راه، اسیدهای چرب هیدروکسی تولید می‌شود. افزایش فعالیت لیپوکسی ژناز و محتوای مالون دی‌آلدهید در میوه‌های قرار گرفته در تنش سرمایی مشاهده شده است (۱۲). در مطالعه حاضر، فعال‌سازی آنزیم LOX و تشکیل MDA توسط تیمار ملاتونین در تنش سرمایی در میوه خیار مهار گردید. میرشکاری و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که ملاتونین می‌تواند از راه کاهش فعالیت لیپوکسی ژناز باعث کاهش خسارت سرمازدگی در میوه چیکو گردد که نتایج پژوهش حاضر نیز در این راستاست. تنش اکسیداتیو ناشی از پراکسیدهدیدروژن و آنیون سوپراکسید منجر به افزایش سرمازدگی می‌شود و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند این خسارت را به کمینه برساند (۲۴).

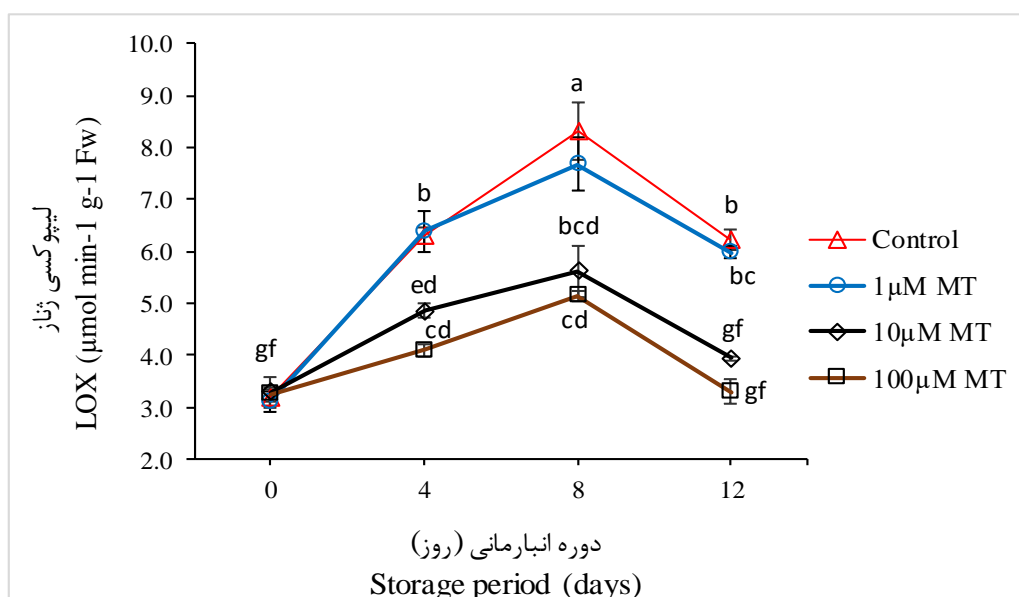


Fig. 6. Effect of different concentrations of melatonin on the LOX activity in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان فعالیت لیپوکسی ژناز میوه خیار در مدت انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

فعالیت آنزیم PAL

بررسی اثرهای اصلی زمان انبارمانی نشان داد با وجود اینکه افزایش طول دوره انبارمانی میوه در مقایسه با شاهد منجر به افزایش فعالیت آنزیم PAL شد، اما بالاترین درصد افزایش (۳۸ درصد) در روز هشتم مشاهده گردید. از سوی دیگر، نتایج نشان داد اثر اصلی غوطه‌وری بر میزان این آنزیم معنی‌دار گردید و فعالیت این آنزیم در غلظت ۱ میلی‌مولار ملاتونین در مقایسه با شاهد کمتر بود. هر چند این اختلاف معنی‌دار نبود، اما دو غلظت بالاتر ملاتونین منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد گردید (شکل ۷).

فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)، آنزیم اصلی در اتصال مسیر ساخت اسیدهای آمینه آروماتیک و متابولیت‌های ثانویه است که شامل گروه وسیعی از ترکیبات فنولی است و نقش کلیدی در تنظیم محصولات حاصل از مسیر فنیل پروپانوئیدی ایفا می‌کند. فعالیت آنزیم PAL، آنزیم کلیدی در مسیر شیکمیک اسید و متابولیسم فنیل پروپانوئید است. مسیر فنیل پروپانوئیدی، مسیر اولیه تولید بسیاری از ترکیبات طبیعی مانند هیدروکسی سینامیک اسیدها و سپس فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنین و طیف وسیعی از سایر مواد فنولی است. اقدام و رضاپورفرد (۴) نشان دادند که تیمار ملاتونین باعث افزایش فعالیت آنزیم PAL در طی انبارمانی شد. همچنین، Sun و همکاران (۳۴) نتیجه گرفتند که ملاتونین باعث تنظیم مثبت در بیان ژن‌های مهم در مسیر ساخت فنیل پروپانوئید مانند PAL می‌گردد که باعث انباشت فنول کل و فلاونوئید می‌شود.

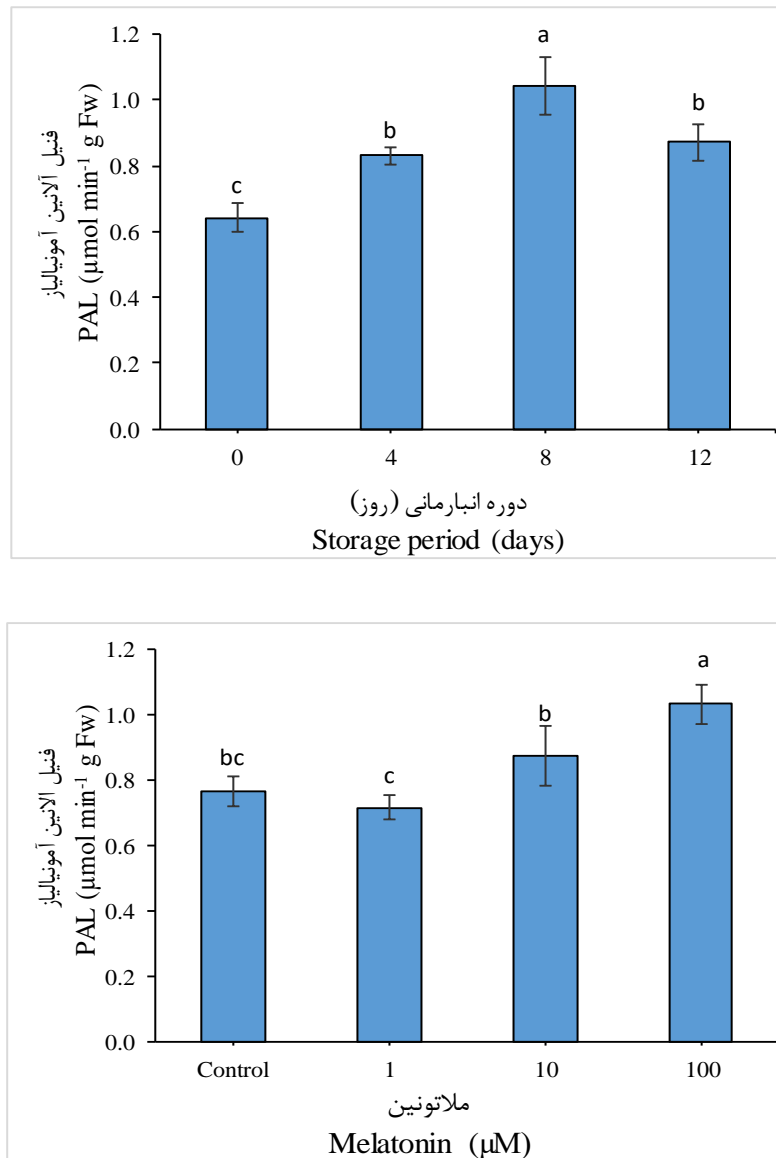


Fig. 7. Effect of storage period(A) and melatonin(B) concentration on the activity of PAL enzyme in cucumber fruit. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۷- مقایسه اثر اصلی طول دوره انبارمانی (الف) و غلظت ملاتونین (ب) بر میزان فعالیت آنزیم PAL میوه خیار. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز

اثرات اصلی زمان انبارمانی نشان داد با وجود اینکه تمام دوره‌های انبارمانی منجر به افزایش فعالیت آنزیم APX شدند، اما بالاترین افزایش در تیمار ۴ روز نگهداری و به میزان ۵۱ درصد در مقایسه با شاهد بود (شکل ۸). همچنین، کاربرد ملاتونین تنها در سطح ۱۰۰ میکرومولار منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم گردید و نسبت به شاهد ۲۰ درصد افزایش داشت (شکل ۸).

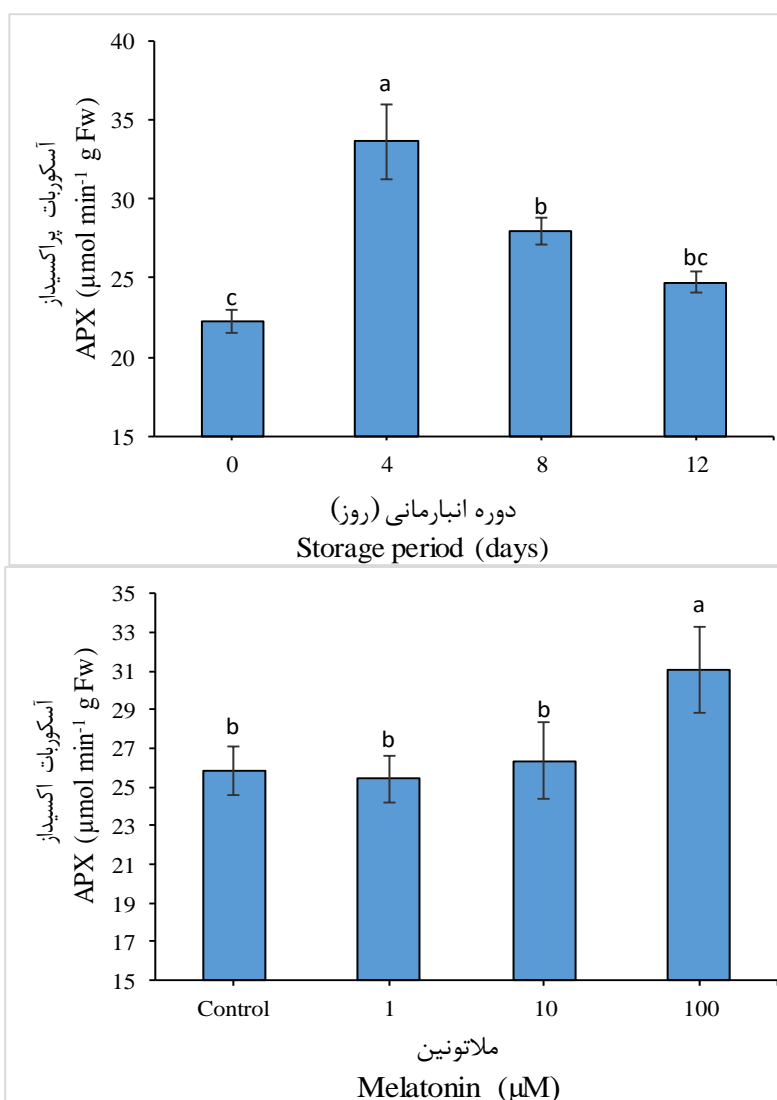


Fig. 8. Effect of storage period (A) and melatonin concentration (B) on the activity of APX enzyme in cucumber fruit. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۸- مقایسه اثر اصلی طول دوره انبارمانی (الف) و غلظت ملاتونین (ب) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میوه خیار. حروف یکسان در هر تیمار نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

کاربرد ملاتونین در تمام دوره‌های انبارمانی در مقایسه با تیمار شاهد، فعالیت SOD بالاتری را نشان داد. همچنین در تمامی تیمارها، نگهداری میوه تا ۴ روز منجر به افزایش فعالیت SOD گردید؛ در حالیکه با افزایش دوره نگهداری، میزان فعالیت آنزیم کاهش یافت. تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین در تمام دوره‌های انبارمانی میوه از بالاترین مقدار فعالیت این آنزیم برخوردار بود؛ به طوری که در مقایسه با تیمار شاهد در مدت زمان‌های ۴، ۸ و ۱۲ روز به ترتیب ۳۱، ۴۶ و ۶۲/۵ درصد افزایش داشت (شکل ۹).

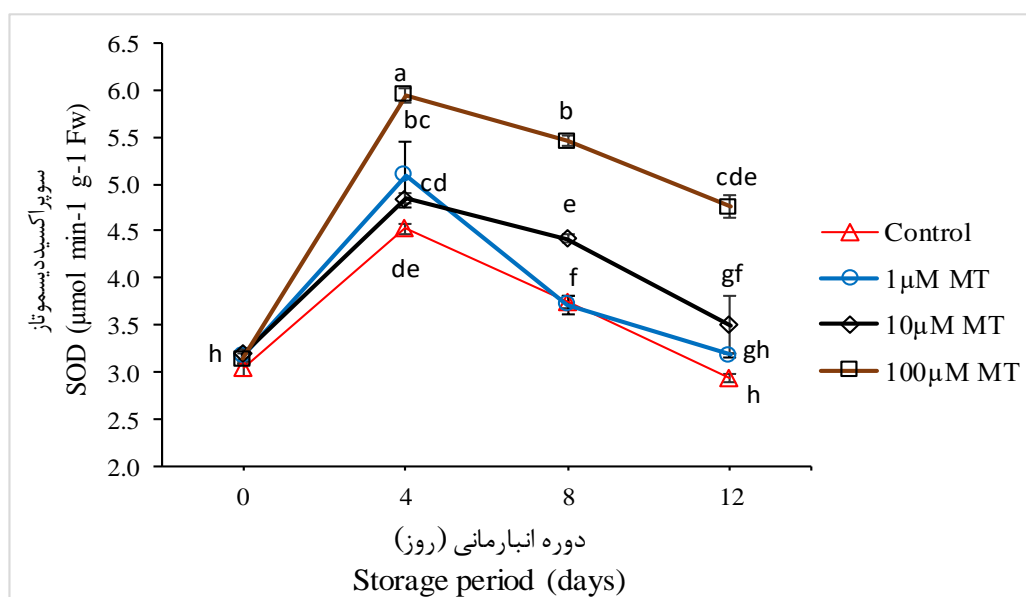


Fig. 9. Effect of different concentrations of melatonin on SOD activity in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۹- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان فعالیت سوپراکسیددیس‌موتاز میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

براساس نتایج به‌دست آمده، در تمامی تیمارها و همین‌طور شاهد، با افزایش طول دوره انبارمانی میوه، میزان آنزیم کاتالاز نیز افزایش یافت، اما با نگهداری میوه‌ها تا ۱۲ روز، فعالیت کاتالاز روندی کاهشی به خود گرفت. بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تمامی دوره‌ها متعلق به غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در تیمار ۸ روز نگهداری و ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار مشاهده گردید که در مقایسه با شاهد در این مدت ۳۰ درصد افزایش داشت (شکل ۱۰). تیمار خارجی ملاتونین در رفع آسیب ناشی از تنش سرمایی در گیاهان نقش بسیار موثری داشته است که از راه سازوکارهای گوناگونی صورت می‌پذیرد (۱۱، ۱۲). ملاتونین در بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی مربوط به گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن نقش مثبتی دارد؛ به طوریکه پژوهش انجام یافته روی آرابیدوپسیس، افزایش تحمل در برابر تنش سرمایی را نشان داد (۷). مطالعات نشان می‌دهد که ملاتونین نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد، بلکه به عنوان یک مولکول پیام‌رسان در سطح یاخته عمل کرده و میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۲۵، ۳۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف از جمله CAT, SOD, APX, GR در گیاهان پتانسیل خاصی در مهار رادیکال‌های آزاد از خود نشان می‌دهند و زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، افزایش می‌یابند (۲۶). تصور می‌شود که ملاتونین در میتوکندری ساخته شده و می‌تواند کارایی زنجیره حمل و نقل میتوکندریایی را افزایش دهد. همچنین، می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد که این کار به نوبه خود از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش اکسایشی حفاظت می‌کند (۲۹). Gao و همکاران (۱۲) گزارش کردند که تیمار ملاتونین روی هلو، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD, CAT و POD را افزایش داد.

مالون دی‌آلدهید

با افزایش طول دوره انبارمانی میوه، میزان مالون دی‌آلدهید نیز در تمامی تیمارها افزایش یافت، اما بالاترین افزایش در تیمار ۱ میکرومولار و شاهد بود. با ۱۲ روز نگهداری میوه نیز بیشترین (۳۷/۹ نانومول بر گرم وزن تر) و کمترین (۲۷/۵ نانومول بر گرم وزن تر) فعالیت به ترتیب متعلق به تیمارهای شاهد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار بود (شکل ۱۱). انواع گونه‌های واکنشگر اکسیژن می‌توانند به ترکیب‌های حیاتی یاخته مانند اسیدهای چرب غیر اشباع، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک حمله نمایند، در نتیجه، سیالیت غشاء، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و ساخت پروتئین‌ها را کاهش داده و

باعث تخریب DNA هسته‌ای و میتوکندریایی و نهایتاً مرگ سلول می‌شوند. یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دی آلدئید و ترکیب‌هایی مثل اتانول می‌شود. اثر رادیکال‌های فعال اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسیون آن‌ها ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد که واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند. تیمار ملاتونین میزان پوسیدگی و تنفس را در میوه‌های گیلای کاهش داد (۳۸). این اثر به وسیله کاهش مقادیر H_2O_2 و MDA که حاصل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است، اتفاق می‌افتد (۱۷).

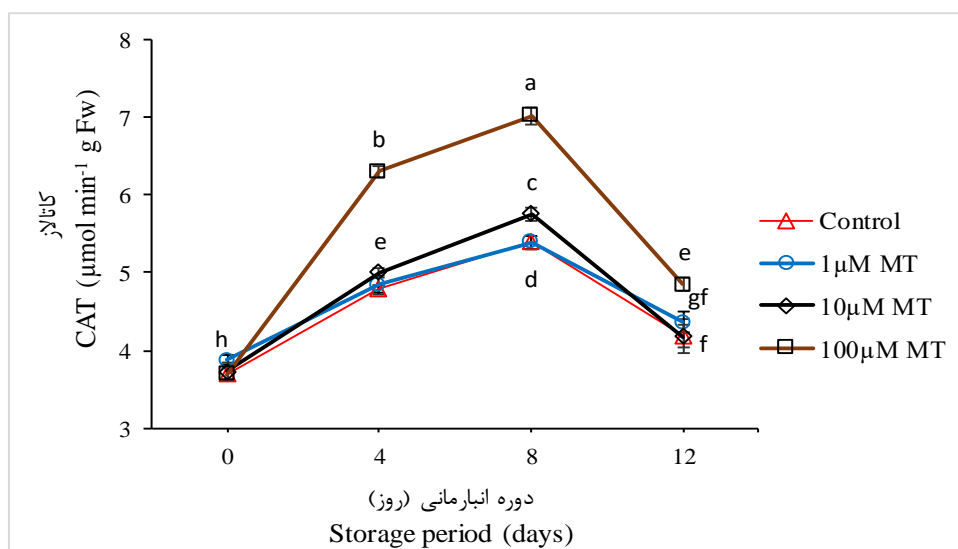


Fig. 10. Effect of different concentrations of melatonin on CAT activity in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۱۰- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان فعالیت کاتالاز میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

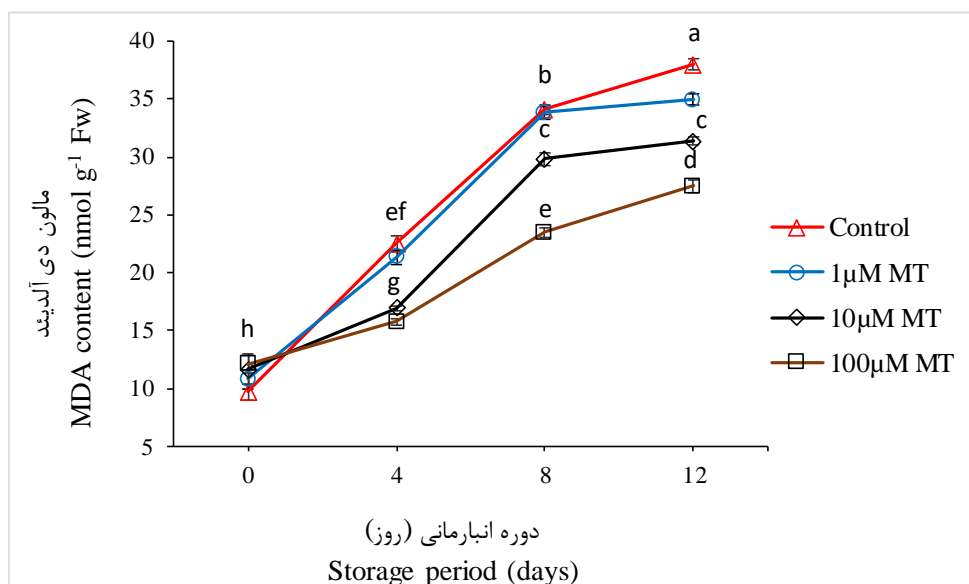


Fig. 11. Effect of different concentrations of melatonin on malondyaldehyde content in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference level using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

شکل ۱۱- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان مالون دی آلدئید میوه خیار طی دوره انبارمانی. حروف یکسان در هر تیمار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد کاربرد پس از برداشت ملاتونین از راه کاهش نشت الکترولیت‌ها و مالون‌دی‌آلدهید باعث حفظ یکپارچگی غشا شده و از این راه باعث حفظ کیفیت میوه خیار و کاهش سرمازدگی می‌شود. همچنین براساس نتایج، تیمار پس از برداشت ملاتونین منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و در نتیجه مهار نشانگرهای اکسیداتیو شد. به‌طور کلی، نتایج حاضر نشان می‌دهد که تیمار پس از برداشت ملاتونین می‌تواند برای کاهش سرمازدگی و در نتیجه برای افزایش عمر پس از برداشت محصول و حفظ کیفیت میوه خیار در زمان نگهداری مفید باشد.

References

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase invitro: Methods of Enzymatic Analysis. Academic press, New York.
2. Aghdam, M.S., A. Jannatizadeh, M. Sabzi Nojاده, and A. Ebrahimzadeh. 2019. Exogenous melatonin ameliorates chilling injury in cut anthurum flowers during low temperature storage. *Postharvest Biol. Technol.* 148:184-191.
3. Aghdam, M.S., A. Jannatizadeh, Z. Luo, and G. Paliyath. 2018. Ensuring sufficient intracellular ATP supplying and friendly extracellular ATP signaling attenuates stresses, delays senescence and maintains quality in horticultural crops during postharvest life. *Trends Food Sci. Technol.* 76: 67-81.
4. Aghdam, M.S. and J. Rezapour Fard. 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria × anannasa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. *Food Chem.* 221: 1650-1657.
5. Arnao, M. B. and J. Hernandez-Ruiz. 2009. Chemical stress by different agents affects the melatonin content of barley roots. *J. Pineal Res.* 46(3): 295-299.
6. Back, K., D. X. Tan, and R. J. Reiter. 2016. Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *J. Pineal Res.* 61(4): 426-437.
7. Bajwa, V. S., M. R. Shukla, Sh. M. Sherif, S. J. Murch, and P. K. Saxena. 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. *J. Pineal Res.* 56(3): 238-245.
8. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
9. Debafort, F., J. A. Quezade-Gallo, and A. Voilley. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critic. Revie. Food. Sci.* 38(4): 299-313.
10. Diab, T., C.G. Biliaderis, D. Gerasopoulos, and E. Sfakiotakis. 2001. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. *J. Sci. Food Agri.* 81(10): 988-1000.
11. Fei, D., L. Bin, and Z. Shuoxin. 2017. Exogenous melatonin ameliorates cold-induced damage in tomato plants. *Sci. Hort.* 219: 264-271.
12. Gao, H., Zh. K. Zhang, H. K. Chia, N. Cheng, Y. Yang, D. N. Wang, T. Yang, and W. Gao. 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Bio.Techno.* 118: 103-110.
13. Graham, D. and B. D. Patterson. 1982. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures: Proteins, metabolism, and acclimation. A Review. *Plant Physiol.* 33: 347-372.
14. Hassanzadeh, N., A. Esmaili sari, and N. Bahramifar. 2012. Dissipation of imidacloprid in greenhouse cucumbers at Single and double dosages spraying. *J. Agr. Sci. Tech.* 14: 557-564.
15. Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.
16. Jalili Marandi, R., H. Dolati Baneh, M. Esmaili, R. Hagitagilo, and R. Ebrahimi Tazekandi. 2012. Effect of pre harvest sprays of ethephon on fruit quality attributes of ghizil uzum grape (*Vitis vinifera* L.). *J. Agric. Sci. Technol.* 26(2):197-205. (In Persian)

17. Jannatizadeh, A. 2019. Exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in pomegranate fruit during cold storage. *Sci. Horti.* 246: 544-549.
18. Jannatizadeh, A., M.S. Aghdam, Z. Luo, and F. Razavi. 2019. Impact of exogenous melatonin application on chilling injury in tomato fruits during cold storage. *Food Biopro. Tech.* 12: 741-750.
19. Lin, D. and Y. Zhao. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 6(3): 60-75.
20. Lyons, J. M. 1973. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 24: 445-466.
21. Marinova, D., F. Riborova, M. Atanassova. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J. Uni. Chemi. Techno. Metallur.* 40(3): 255-260.
22. McHugh, T. H. and E. Senesi. 2000. A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh - cut apples. *J. Food Sci.* 65(3): 480-485.
23. Minguéz-Mosquera, M.I. Jaren-Galan, and J. Garrido-Fernandez. 1993. Lipoxygenase activity during pepper ripening and processing of paprika. *Phytochemistry* 32(5): 1103-1108.
24. Mirshekari, A., B. Madani, E. M. Yahia, J. B. Goiling, and S. Haji Vand. 2019. Postharvest melatonin treatment reduces chilling injury in sapota fruit. *J. Sci. Food Agric.* 100: 1897-1903.
25. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Rends Plant Sci.* 7(9): 405-410.
26. Mukherjee, S. 2019. Recent advancements in the mechanism of nitric oxide signaling associated with hydrogen sulfide and melatonin crosstalk during ethylene-induced fruit ripening in plants. *Nitric Oxide.* 82: 25-34.
27. Mukherjee, S., A. David, S. Yadav, F. Baluska, and S. Ch. Bhatla. 2014. Salt stress - induced seedling growth inhibition coincides with differential distribution of serotonin and melatonin in sunflower seedling roots and cotyledons. *Physiol. Plant.* 152(4): 714-728.
28. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbat especific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.
29. Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60 (3): 324-349.
30. Polydera, A. C, N. Stoforos, and P. S. Taoukis. 2005. Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. *Innov Food Sci. Emerg.* 6:1-9.
31. Saltveit, M. E. and L. L. Morris. 1990. Overview of chilling injury of horticultural crops. In: C. Y. Wang(Ed), *Chilling Injury of Horticultural Crops.* (pp. 3-15.) CRC. Press.
32. Schouten, R.E., L.M.M. Tijsskens, and O. Kooten. 2002. Predicting keeping quality of batches of cucumber fruit based on a physiological mechanism. *Postharvest. Biol. Technol.* 26(2): 209-220.
33. Shi, H., R.J. Reiter, D.X., Tan, and Z.Chan. 2015. Indole-3-acetic acid inducible 17 positively modulates natural leaf senescence through melatonin - mediated pathway in Arabidopsis. *J. Pineal Res.* 58 (1): 26-33.
34. Sun, Q., N. Zhang, J. Wang, H. Zhang, D. Li, J. Shi, R.Li, S. Weeda, B. Zhao, Sh. Ren, and Y-D. Guo. 2015. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. *J. Exp. Bot.,* 66: 657-668.
35. Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology.* Sinauer Associates. 782 p.
36. Wang, F., X. Zhang, Q. Yang, and Q. Zhao. 2019. Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries. *Food Chem.* 301: 12311.
37. Wang, Ch. Y. and L. Qi. 1997. Modified atmosphere packaging alleviates chilling injury in cucumbers. *Postharvest Biol. Technol.* 10(3): 195-200.
38. Wang, F., X. Zhang, Q. Yang, and Q. Zhao. 2019. Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries. *Food. Chem.* 301: 125311

39. Xu, T., C. Yao, and K. Hunseung. 2019. Melatonin is a potential target for improving post-harvest preservation of fruits and vegetables. *Front. Plant Sci.* 10: 1-14.
40. Yang, Q., J. Rao, Sh. Yi, K. Meng, J. Wu, and Y. Hou. 2011. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. *Food Chem.* 127(3): 1237-1242.
41. Yin, L., P. Wang, M. Li, X. Ke, C. Li, D. Liang, Sh. Wu, X. Ma, and Ch. Li. 2013. Exogenous melatonin improves *Malus* resistance to *Marssonina* apple blotch. *J. Pineal Res.* 54(4): 426-434.

Effect of Postharvest Application Melatonin on Reducing Chilling Injury (CI) in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) cv. "Nagin"

M. Nadri, A. Ebrahimzadeh*, and S. M. Zahedi¹

Low temperature is an effective method to maintain product quality during the post-harvest period, but due to the sensitivity of cucumber fruits to chilling injury, the use of proper alternative techniques to chilling control are essential. In order to evaluate the use of melatonin to control chilling damage on cucumber, a factorial experiment based on a completely randomized design was conducted with three replications. The experimental factors included: different storage times (control = harvest day, 4, 8, and 12 days after harvest) and different concentrations of melatonin (0, 1, 10, and 100 μ M). Some biochemical and physiological parameters including PAL activity, antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and lipoxygenase) activities, malondialdehyde, phenolics and total protein content, electrolyte leakage, total soluble solids content and fruit firmness were measured. Melatonin in storage periods increased phenolic content and catalase and lipoxygenase activity. This increase was observed in all tested concentration of melatonin alongwith increasing the storage time up to 8 days but then reduced. Concerning SOD activity and total protein content, the increase was just until the fourth day and then decreased. Also, in all tested levels of melatonin, with storage time up to 12 days, malondyldehyde and electrolyte leakage showed an increasing trend, but fruit firmness had a decreasing pathern. TSS content decreased with time in all melatonin concentrations, which was more evident in untreated fruits. Moreover, in all tested concentration of melatonin, the activity of antioxidant enzymes and fruit firmness decreased by time up to 12 days. Overall, the results showed that melatonin treatment, especially at 100 μ M, could diminish chilling injury and maintain the postharvest quality of cucumber fruits during cold storage.

Keywords: Storage, Chilling stress, Cucumber fruit, Antioxidant enzymes, dipping, Electrolyte leakage.

1. Former M.Sc. Student and Associate Professors, Department of Horticultural Science, University of Maragheh, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (acebrahimzadeh@gmail.com).