جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد
مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۹ شماره ۱ صفحه های ۵۹ تا ۶۸ (۱۳۸۷)

تاثیر تیمار های دمایی بر کاهش اسیدیته و بهبود کیفیت میوه نارنگی 'ساتسوما' و ارتباط آن با فعالیت آنزیم آکونیتاز، ATPase و PPase واکوئلی[۱]

EFFECTS OF HEAT TREATMENTS ON REDUCING ACIDITY FOR IMPROVING QUALITY IN 'SATSUMA' MANDARIN FRUIT AND ITS RELATION WITH ACONITASE, VACOULAR ATPASE AND PPASE ACTIVITY

محمود قاسم نژاد، مصباح بابالار و یونس مستوفی[۲]

چکیده

میزان اسیدیته میوه به عوامل محیطی، عملیات باغی پیش از برداشت و شرایط نگهداری پس از برداشت وابسته است. دراین پژوهش تاثیر تیمارهای مختلف دمایی (آماده سازی دمایی و غوطه وری میوه ها در آب گرم) میزان اسیدیته و فعالیت آنزیم های کلیدی در سنتز و انباشت اسیدهای آلی میوه نارنگی رقم'ساتسوما' مورد بررسی قرار گرفت. میزان اسیدیته و فعالیت آنزیم ها کلیدی در دوره نگهداری در انبار تغییر کرد. هر چند فعالیت آنزیم آکونیتاز (Aconitase) در کیسه های آبدار گوشت میوه نارنگی در دوره انبارمانی کاهش یافت آنزیم ایزوسیتریک دی هیدروژناز (ICDH) افزایش جزئی نشان داد. دوره انبارمانی سطح بیان ژن های V-PPase و V-ATPase در اغلب میوه های تیمار شده افزایش یافت که با کاهش میزان اسیدیته گوشت میوه ارتباط دارد. تیمار دمایی تفاوت معنی داری بر میزان اسیدیته میوه ها نگذاشت. در عوض، میزان قند و نسبت قند به اسید ممکن است وابسته به نوع تیمارهای دمایی باشد. میزان بیان ژن های آنزیم های V-PPase و V-ATPase در بافت گوشت میوه به طور قابل ملاحظه ای تحت تاثیر انوع تیمار دمایی قرار گرفت.

کلمات کلیدی: آکونیتاز، ایزوسیتریک دی هیدروژناز، نارنگی'ساتسوما'، V-ATPase و V-PPase.

مقدمه

انبارداری طولانی مدت میوه مرکبات با کاهش میزان قند و اسید همراه است (۲۴). میزان اسیدیته به همراه قند تشکیل دهنده طعم میوه است (۱۸) و همچنین میزان آن در مرکبات تعیین کننده حداقل استاندارد لازم برای رسیدن میوه و عرضه آن به بازار می باشد (۱۶، ۱۷). اسیدهای آلی تجمع یافته در میوه پیش ماده مناسبی برای تعداد زیادی از فرایندهای متابولیکی در انبار است (۱۲، ۲۶). غلظت نهایی اسیدهای آلی در میوه نتیجه سه فرایند جداگانه شامل سنتز آن ها در میتوکندری، ذخیره شدن در واکوئل و جابجا شدن آن ها بین اندامک های یاخته ای در نمو میوه است (۱۴، ۱۵). از جمله آنزیم هایی که نقش کلیدی در میزان تجمع اسید آلی میوه دارد، آنزیم آکونیتاز است. کاهش فعالیت

۱- تاریخ دریافت: ۸۶/۵/۳۱ تاریخ پذیرش: ۸۷/۴/۱۹

۲ - به ترتیب دانشجوی پیشین دکتری، دانشگاه تهران (اکنون استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان)، دانشیار و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، تهران، جمهوری اسلامی ایران.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آنزیم آکونیتاز میتوکندری سبب افزایش موضعی سیترات و انتقال آن به واکوئل از طریق ناقل های وابسته به ATP یعنی V- ATPase و V-PPase می شود. این آنزیم ها نقش کلیدی در کاهش اسیدیته میوه های نارنگی ساتسوما در رسیدگی میوه نقش کلیدی دارند (۳، ۴). در میوه پرتقال 'والنسیا' ثابت گردیده که در پایان مرحله رسیدن زمانی که اسیدیته میوه کاهش می یابد فعالیت آنزیم V-PPase افزایش می یابد (۱۵). وقتی سطح اسید آلی تولید شده در میتوکندری به حالت ثابت و یکنواخت رسید و یا رو به کاهش نهاد اسیدهای آلی تجمع یافته در واکوئل وارد سیتوپلاسم می شوند. آنزیم های آکونیتاز و ایزوسیتریک دی هیدروژناز موجود در سیتوپلاسم به ترتیب تبدیل سیتریک اسید به ایزوسیتریک اسید و ایزو سیترات به آلفاکتوگلوتارات می شوند (۱۵). با مصرف اسیدهای آلی، pH یاخته ای در برابر تنش های محیطی تنظیم می شود (۱۳). اسید غالب در میوه مرکبات سیتریک اسید است که بیش از ۹۰٪ اسید میوه را تشکیل می دهد (۲) و میزان آن به نوع رقم، پایه، شرایط محیطی و عملیات باغی قبل از برداشت بستگی دارد (۱۶، ۱۷). وجود آب و هوای خنک در نواحی تولید میوه مرکبات، باعث پایین ماندن نسبت قند به اسید زمان برداشت می شود. مارش و همکاران (۱۷) پیشنهاد کردند که نگهداری میوه های نارنگی رقم'ساتسوما' در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ روز قبل از انبارداری میزان اسیدیته واکوئل را کاهش داد (۱۷).

با توجه به شناخت نوع آنزیم های موثر در تجمع و سنتز اسیدهای آلی، به کاربردن تیمارهای مناسب در جهت تغییر فعالیت این آنزیم ها و همچنین کاهش اسیدیته میوه مورد توجه است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تاثیر تیمار دمایی مختلف در کاهش اسیدهای آلی تجمع یافته میوه نارنگی ساتسوما در جهت بهبود کیفیت آن بود. همچنین ارتباط آن با فعالیت آنزیم های آکونیتاز، ایزو سینریک دی هیدروژناز و فعالیت پمپ های پروتونی بحث شده است.

مواد و روش ها

میوه های نارنگی رقم زودرس 'ساتسوما' از یک باغ تجاری واقع در شهر کری کری[۱] نیوزیلند تهیه و سپس برای انجام آزمایش به موسسه پژوهش های باغبانی واقع در شهر آکلند منتقل شد. میوه ها بر اساس یکنواختی در اندازه، رنگ و عاری بودن از عوامل بیماریزا انتخاب و در گروه های ۲۰ تایی برای انجام تیمار توزیع گردیدند. هر یک از تیمارها در سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی به آزمایش گذاشته شدند. برای تیمار آب گرم[۲] میوه ها پس از چیده شدن در داخل سبدهای فلزی با روکش پلاستیکی در داخل آب گرم با دماهای ۴۵، ۴۷/۵، ۵۰، ۵۲/۵ و ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ و ۵ دقیقه مطابق روش ولف و لی (۲۸) و ولف و همکاران (۲۷) غوطه ور شدند. پس از اعمال تیمار، میوه ها خشک شده و پس از آن در دمای ۲ درجه سانتیگراد به مدت ۸ هفته انبار شدند. تیمار شاهد میوه هایی بودند که در آب معمولی غوطه ور گردیدند. در مرحله دوم آزمایش از تیمار آماده سازی دمایی[۳] با دمای بالا و پایین استفاده گردید. برای انجام تیمار آماده سازی با دمای پایین[۴] ، میوه ها به مدت دو هفته در دمای ۶ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس در سردخانه با دمای ۲ درجه سانتیگراد انبار گردیدند. آماده سازی با دمای بالا[۵] قبل از این که میوه ها به دمای اصلی سردخانه منتقل شوند در دمای ۲۰ و ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ روز قرار گرفتند. تیمار شاهد در واقع سه سبد اضافی شامل ۲۰ عدد میوه در هر سبد بود که بدون هیچ گونه تیماری بیدرنگ به

۱- Keri Keri ۲- Hot water dipping ۳- Temperature conditioning ۴- Low temperature conditioning
۵- High temperature conditioning

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سردخانه منتقل شدند. تمامی میوه ها پس از انجام تیمار غوطه وری و آماده سازی به سردخانه با دمای ۲ درجه سانتیگراد به مدت ۸ هفته منتقل گردیدند. تجزیه شیمیایی آب میوه برای اندازه گیری صفات کیفی پس از یک روز، ۴ و ۸ هفته انبارمانی میوه ها در دمای ۲ درجه سانتیگراد انجام گرفت. میزان قند موجود در عصاره ۱۰ عدد میوه به طور جداگانه با رفرکتومتر دیجیتالی (مدل Atago, Japan) اندازه گیری شد. میزان اسیدیته قابل تیتراسیون با سود یک دهم نرمال تا pH= ۸/۳ با دستگاه اتوتیتراتور (Autotitratore 716, Metrohm, Switzerland) تعیین گردید. برای اندازگیری فعالیت آنزیم آکونیتاز (Aconitase) و ایزوسیتریک دی هیدروژناز (ICDH) بافت گوشت سه میوه در هر تیمار بیدرنگ یک روز پس از اعمال تیمار و نیز در پایان دوره انبارداری جدا و به قطعه های کوچک تر خرد شده و پس از منجمد کردن با نیتروژن مایع در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد تا قبل از اندازه گیری فعالیت آنزیم ها نگه داشته شدند. اندازه گیری فعالیت آنزیم ها طبق روش سدکا و همکاران (۲۳) پس از اضافه کردن نمونه به پیش ماده تهیه شده در طول موج ۳۴۰ نانومتر به ازای تغییر جذب نور در هر ۱۰ ثانیه در طول ۱۰ دقیقه با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (SpectraMax 384, Molecular Devices, Sunnyvale) اندازه گیری گردید. اندازه میزان پروتئین کل از روش برادفورد با استفاده از سرم آلبومن گاوی به عنوان محلول استاندارد تعیین گردید (۱) و سپس میزان فعالیت آنزیم ها بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین بیان شد. اندازه گیری صفات فوق برای هر یک از تیمارها در سه بار اندازه گیری شد. برای مطالعه سطح بیان ژن آنزیم های V-ATPase و V-PPase ابتدا RNA تنها از بافت گوشت میوه بعضی از تیمارها طبق روش گومز (۱۰) استخراج شد، سپس سنتز cDNA با کمک Superscript ™ III طبق روش جراد (۹) انجام گرفت. برای بررسی سطح بیان ژن ها از روش Real-time PCR از طریق لایت سایکلر[۱] (Roche Diagnostics, Mannheim, DE) انجام گرفت. آغازگرهای مورد استفاده در ارزیابی بیان ژن ها در واکنش زنجیره پلی مراز زمان واقعی در جدول ۱ نشان داده شده است. سایبرگرین[۲] به عنوان رنگ فلورسنتی در تعیین میزان DNA تکثیر شده از mRNA در بافت های میوه ها مورد استفاده قرار گرفت. آغازگر بتااکتین[۳] به عنوان ژن استاندارد برای مقایسه سطح بیان ژن های V-ATPase و V- PPase استفاده شد. آزمایش واکنش PCR در سه بار برای هر نمونه صورت گرفت و سپس داده ها بر اساس میزان بیان ژن بتا اکتین نرمال گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

جدول ۲ نشان می دهد که میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در دوره نگهداری طولانی مدت میوه های تیمار شده در انبار کاهش یافته ولی این کاهش در میزان قند ناچیز بوده و اختلاف معنی داری را ایجاد نکرده است. کاهش اسیدیته باعث افزایش نسبت قند به اسید گردید. بیشترین نسبت قند به اسیدیته در پایان دوره انبارداری به دست آمد. اگرچه در میوه های که تیمار آماده سازی دمایی شدند اختلاف معنی داری را با ۴ هفته نگهداری میوه در انبار نشان نداد (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم کلیدی سنتز اسیدهای آلی آکونیتاز گوشت میوه به طور معنی داری تحت تاثیر

۱- Light cycler ۲- Sybergreen ۳- ß- actine

طول دوره نگهداری قرار گرفت. یک روز پس از اعمال تیمار فعالیت آنزیم آکونیتاز بالا بود ولی این بالا بودن فعالیت تا پایان دوره انباری دوام نداشت و به تدریج از میزان آن تا پایان دوره نگهداری کاسته شد. در مقابل فعالیت آنزیم ایزوسیتریک دی هیدروژناز موجود در گوشت میوه ها افزایش جزئی در دوره انبارمانی میوه ها از خود نشان داد اگرچه اختلاف معنی داری بین دو زمان اندازه گیری در میوه های غوطه ور شده در آب گرم دیده نشد (جدول ۲).

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی استفاده شده در ارزیابی سطح بیان ژن ها در واکنش های زنجیره چند شکلی زمان واقعی.

Table 1. Special primers used for evaluation gene expression in real time PCR.

Backward primer آغازگر پس رو	Forward primer آغازگر پیش رو	NCBI reference	Target gene ژن هدف
AAC TCC CGC CAT AAC AAC TG	AGG TAT GGG AGC TGC GTA TG	AB036924	Vacuolar ATPase
TGG TGA ATG ACG ATG GAA GA	GGC TGT CAA GGA AAT TGA GC	AU 300671	Vacuolar PPase
CCG TGC TCA ATT GGG TAT TT	CAC TGG AGT CAT GGT TGG AA	Z323632	β-actin

پس از ۸ هفته نگهداری در دمای ۲ درجه سانتیگراد، مشاهده گردید که میوه هایی که در دمای ۶ درجه سانتی گراد به مدت ۲ هفته آماده سازی شده بودند نسبت به سایر تیمارها کمترین میزان قند را داشتند در حالی که کمترین نسبت قند به اسید مربوط به آماده سازی میوه ها در دمای ۶ و ۳۰ درجه سانتیگراد به ترتیب پس از ۲ هفته و ۳ روز بوده است (جدول ۳). بر اساس نتایج به دست آمده میزان اسیدیته میوه های آماده سازی شده در مقایسه با هم و تیمار شاهد اختلاف معنی داری را نشان ندادند (جدول ۳). پس از ۸ هفته نگهداری در دمای ۲ درجه سانتیگراد میوه هایی که در دمای ۶ درجه سانتیگراد پیش تیمار آماده سازی شده بودند بالاترین میزان فعالیت آنزیم آکونیتار را از خود نشان دادند اما هیچ گونه اختلاف معنی دار بین میوه های تیمار شده و شاهد برای آنزیم ایزوسیتریک دی هیدروژناز مشاهده نشد (جدول ۳).

غوطه ور کردن میوه ها در آب گرم در جلوگیری از کاهش میزان قند در دوره انبارداری در مقایسه با میوه های تیمار نشده موثرتر بود، میوه هایی که در آب ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه غوطه ور شدند در مقایسه با سایر تیمارها باعث حفظ میزان قند در مقایسه با سایر تیمارها گردید به نحوی که در پایان دوره انبارداری بالاترین نسبت قند به اسید حاصل شد. پس از ۸ هفته انبارداری هیچ گونه اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف برای فعالیت آنزیم آکونیتاز دیده نشد و نتوانست تفاوت معنی داری در میزان اسیدیته ایجاد کند. مقایسه میانگین ها نشان داد که در پایان دوره نگهداری میوه هایی که در آب گرم با دمایی ۵۲/۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه غوطه‌ور شدند فعالیت آنزیم ایزوسیتریک دی هیدروژناز بالاتری را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند (جدول ۴).

جدول ۲- اثر غوطه ور کردن در آب گرم و آماده سازی دمایی بر میزان قند، اسید، فعالیت آنزیم های آکونیتاز و ایزوسیتریک دی هیدروژناز میوه نارنگی ‘ساتسوما’.

Table 2. Effects of hot water dipping and temperature conditioning on sugar, acidity content, activity of aconitase and isocitric-dehydrogenase (ICDH) of ‘Satsuma’ mandarin fruits.

Hot water dipping			Temperature conditioning			
8 Weeks هشت هفته	4 Weeks چهار هفته	One day یک روز	8 Weeks هشت هفته	4 Weeks چهار هفته	One day یک روز	
11 a	11.8 a	11.21 a	10.84 a	11.21 a	11.21 a	Sugar (%) قند (٪)
1.31 c	1.52 b	2.25 a	1.54 b	1.64 b	2.25 a	Acidity (%) اسید (٪)
8.7 a	7.85 b	4.98 c	7.36 a	6.88 a	4.98 b	Sugar/Acid قند به اسید
14.21 b	-	21.08 a	12.31 b	-	17.54 a	Aconitase آکونیتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)
5.52 a	-	5.3 a	6.02 a	-	5.1 b	ICDH ایزوسیتریک دی هیدروژناز (واحد بر میلی گرم پروتئین)

† Values in each row followed by the same letter are not significantly different by DMRT, P=0.01.

† مقادیری که در هر ردیف درارای حروف مشابه هستند توسط آزمون چند دامنه ای در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری ندارد.

نتایج نشان داد که بیان ژن V-PPase گوشت میوه تیمار شده در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافته است (جدول ۵). نگهداری میوه ها در دمای پایین میزان بیان ژن V- PPase را اندکی افزایش می دهد، به جز میوه هایی که در دمای ۶ درجه سانتی گراد به مدت ۱۴ روز آماده سازی شده بودند. تیمار میوه با آب گرم ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه سطح نسخه ها ژن V- PPase در مقایسه با میوه های شاهد چند برابر افزایش یافت که می‌تواند ارتباط مثبت با درصد اسیدیته میوه داشته باشد. سطح بیان ژن V-ATPase موجود در گوشت اغلب میوه های تیمار شده در مقایسه با شاهد پس از اعمال تیمار، افزایش یافت و تا پایان دوره نگهداری در سطح بالایی حفظ گردید (جدول ۵). بالاتر بودن سطح بیان این ژن می تواند میزان اسیدیته آب میوه را کاهش دهد.

میوه هایی که با دمای ۶ درجه سانتی گراد به مدت ۲ هفته قرار گرفتند بیان ژن V-ATPase کمتری داشتند.

جدول ۳- اثر آماده سازی دمایی بر میزان اسیدیته، قند و فعالیت آنزیم های آکونیتاز و ایزوسیتریک دی هیدروژناز میوه نارنگی 'ساتسوما' در پایان دوره انباری.

Table 3. Effects of temperature conditioning on acidity, sugar and aconitase and CDH (isocitric-dehydrogenase) activity of 'Satsuna' mandarin at the end of storage.

ICDH ایزوسیتریک دی هیدروژناز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	Aconitase آکونیتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	Sugar/Acidity قند به اسید	Acidity (%) اسیدیته (٪)	Sugar (%) قند (٪)	Temperature conditioning آماده سازی دمایی
5.02a	14.22bc	7.89a	1.52a	11.43a	Control
6.05a	16.69a	6.56b	1.56a	10.17b	6
6.08a	12.61c	7.66ab	1.48a	11.04a	20
5.15a	15.82ab	6.57b	1.77a	11.36a	30

† Values within each column followed by the same letter are not significantly different by DMRT, P=0.01.

† مقادیری که در هر ستون با حروف مشابه هستند توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری ندارند.

بحث

تیمار با آب گرم روش سریع و امید بخشی در کنترل آفات و بیماری های میوه ها می باشد که همزمان مقاومت به سرمازدگی را در میوه های مرکبات انگیخته می کند (۷). آماده سازی دمایی روش تجاری پذیرفته شده ای برای انگیزش مقاومت به سرمازدگی است (۱۱، ۲۷). یعنی وقتی میوه برای مدت کوتاه در دمای پایین ولی بالاتر از نقطه سرمازدگی قرار گیرند قادرند دمای پایین تر بعدی را تحمل نمایند. نگهداری میوه های مرکبات به مدت طولانی باعث تغییر میزان قند و اسید می شود (۵). کاهش میزان اسیدیته به دلیل تبدیل بالای سیتریک اسید به مواد دیگر در دوره انبارداری می باشد (۲۰). میزان قند محلول میوه ها نیز به طور معمول در دوره انبارداری کاهش می یابد (۲۲). در پژوهش حاضر افزایش در طول دوره انبارداری با کاهش در میزان قند و اسیدیته میوه ها همراه بود نسبت این کاهش در میزان اسیدیته بیشتر از قند بوده در نتیجه باعث افزایش نسبت قند به اسید گردیده است (جدول ۲). میزان قند و اسید تجمع یافته در میوه تحت تاثیر تیمار پس از برداشت قرار می گیرد (۷، ۸). در این پژوهش اختلاف معنی داری بین میوه های تیمارشده و تیمار نشده در میزان اسیدیته مشاهده نشد (جدول های ۲ و ۳). گزارش هایی وجود دارد که نشان می دهد قرار دادن میوه ها در دمای بالا نسبت قند به اسید را افزایش می دهد (۲۱). مارش و همکاران (۱۵، ۱۶) نشان دادند که نگهداری میوه های نارنگی رقم ساتسوما در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز، قبل از نگهداری میوه‌ها در دمای پایین سردخانه میزان اسیدیته واکوئل را کاهش می‌دهد. کاهش

میزان اسیدیته موجود در میوه مرکبات به مقدار زیادی توسط آنزیم آکونیتاز و ایزوسیتریک دی‌هیدروژناز کنترل می‌شود (۲۳). در پژوهش حاضر اثر بعضی از تیمارها بر فعالیت این دو آنزیم نتوانست اختلاف معنی داری بر

جدول ۴- اثر غوطه ور کردن میوه ها در آب گرم بر میزان اسیدیته و قند و فعالیت آنزیم آکونیتاز و ایزوسیتریک دی هیدروژناز میوه نارنگی ‘ساتسوما’ پس از ۸ هفته انبارداری.

Table 4. The effect of hot water dipping on acidity, sugar and activity of aconitase and CDH(IsocitricDehydrogenase) of ‘Satsuma’ mandarin at the end of storage .

ICDH ایزوسیتریک دی هیدروژناز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	Aconitase آکونیتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	Suger / acid قند به اسید	Acidityاسیدیته (٪)	sugar قند(٪)	Hot water آب گرم	Dipping time زمان غوطه وری
4.94 ab	20.23 a	7.3b	1.4a	11.14 c	Control	Control
5.4 ab	15.78 a	7.51b	1.44a	10.83 cb	45	2 min
5.12 ab	18.55 a	7.08b	1.55a	10.51cb	47.5	
4.81 ab	18.65 a	8.60a	1.44a	12.52 a	50	
5.27 ab	15.52 a	7.76ab	1.39a	10.57cb	52.5	
5.05 ab	14.89 a	7.74ab	1.34a	10.40 cb	55	
4.02 b	19.15 a	7.12 b	1.49a	10.55 cb	45	5 min
5.18 ab	15.28 a	7.72ab	1.43a	10.89cb	47.5	
5.53 ab	17.21 a	7.67 b	1.47a	10.98 b	50	
6.9 a	21 a	7.56 b	1.43a	10.79cb	52.5	
5.98 ab	18.21a	7.42 b	1.39a	10.24cb	55	

† Values within each column followed by the same letter are not significantly different by DMRT, P=0.01.

† مقادیری که در هر ستون با حروف مشابه هستند توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری ندارند.

میزان اسیدیته ایجاد کند. میزان فعالیت این دو آنزیم در گوشت میوه به طور قابل ملاحظه ای در دوره انبارمانی تغییر کرد. بیدرنگ پس از تیمار، میزان فعالیت آنزیم آکونیتاز بالا رفت ولی بالا بودن فعالیت این آنزیم برای مدت زمان طولانی پس از اعمال تیمار دوام نداشت و به تدریج از میزان آن تا پایان دوره نگهداری کاسته شد. برعکس فعالیت آنزیم ایزوسیتریک دی هیدروژناز افزایش جزیی در دوره انبارمانی پیدا کرد. مقایسه میانگین ها نشان داد که فعالیت آنزیم آکونیتاز میوه هایی که ۳ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و یا این که ۲ هفته در دمای ۶ درجه سانتیگراد قرار داشتند به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافته ولی این افزایش فعالیت آنزیم نتوانست پس از ۸ هفته انبارداری در دمای پایین دوام داشته باشد تا بتواند اختلاف قابل ملاحظه ای در میزان اسیدیته ایجاد کند. عمل انتقال اسیدهای آلی از سیتوپلاسم به واکوئل با کمک پمپ پروتونی اختصاصی در غشای واکوئل V-ATPase و V-PPase صورت می گیرد (۶، ۱۹). در این پژوهش سطح بیان ژن های اختصاصی V-PPase و V-ATPase یاخته های گوشت

میوه نارنگی ‘ساتسوما’ دردمای پایین انبار مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم V-ATPase پمپ پروتونی اصلی مختص یاخته گیاهی است (۲۵). به دلیل اهمیتی که V-ATPase در واکوئل گیاهی دارد می توان انتظار داشت که میزان فعالیت آن در سازگار شدن با تغییرات محیطی و متابولیکی تعدیل پیدا کند (۳، ۴). میوه مرکبات می تواند حجم زیادی

جدول۵ – اثر تیمارهای دمایی بر سطح بیان ژن های V-PPase و V-ATPase میوه نارنگی‘ساتسوما’ یک روز پس از تیمار و نیز در پایان ۸ هفته انبارداری.

Table 5. The effects of heat treatment on V-PPase and V-ATPase gene expression level in ‘Satsuma’ mandarin fruits, the day after treatment and at the end of 8 weeks of storage.

V-ATPase	V-PPase	زمان نمونه بردای Sampling date	تیمار Treatment
1	1	A day	control
1	1	8 weeks	
1.89	0.36	A day	HWD50†
1.35	0.99	8 weeks	
1.57	0.82	A day	HWD55
6.55	5.66	8 weeks	
2.86	0.83	A day	LTC 6
0.73	0.63	8 weeks	
0.9	0.39	A day	HTC30
1.21	0.73	8 weeks	

† HWD50: غوطه ور کردن در آب ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه

HWD55: غوطه ور کردن در آب ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه

LTC 6 : آماده سازی با دمای ٦ درجه سانتی گراد به مدت ۲ هفته

HTC30: آماده سازی با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز

از سیتریک اسید را در واکوئل یاخته های آبدار و گوشتی خود ذخیره کند (۲). مارش و همکاران (۱۴) ثابت کردند که فعالیت آنزیم V-PPase و V-ATPase باعث تخلیه پروتون از واکوئل در طول مدت رسیدگی میوه می شود. بنابراین یک ارتباط نزدیک بین بالا بودن میزان فعالیت این آنزیم و کاهش اسیدیته وجود دارد. مطالعه سطح بیان ژن V-PPase در گوشت میوه نارنگی ‘ساتسوما’ نشان داد که تیمار دمایی میزان بیان ژن V-PPase را در مقایسه با کنترل کاهش داده است. شرایط انبارمانی میزان بیان ژن های V-PPase و V-ATPase را تغییر داد که می تواند با تغییر در میزان اسید موجود در میوه در ارتباط باشد. قرار دادن میوه ها در دمای ۶ درجه سانتی گراد به مدت دو

هفته سطح بیان ژن های V-PPase و V-ATPase را اندکی افزایش داد که می تواند با کاهش اسیدیته ارتباط داشته باشد. از طرفی بالا بودن بیان این دو ژن در پایان دوره انبارداری در میوه های که به مدت ۲ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد غوطه ور شدند با کاهش شدید اسیدیته در مقایسه به سایر تیمار مرتبط است (جدول ۵).

به طور کلی، استفاده از دمای پایین به همراه تیمار دمایی می تواند عمر انباری میوه نارنگی 'ساتسوما' را افزایش دهد. قرار دادن میوه ها در دمای بالا به مدت چند روز یا غوطه ور کردن آنها در آب گرم به مدت چند دقیقه ممکن است بتواند باعث افزایش نسبت قند به اسید و بهبود کیفیت میوه نارنگی گردد. از این طریق می توان میوه های با کیفیت بالاتر برای عرضه به بازار یا صادرات به دست آورد.

سپاسگزاری

نگارندگان ازمعاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران برای تامین بودجه لازم جهت انجام این پژوهش در کشور نیوزیلند تقدیر و تشکر نموده و نیز از موسسه تحقیقات باغبانی HortResearch کشور نیوزیلند. به خاطر تامین امکانات مورد نیاز برای انجام آزمایش و نیز تامین بخشی از هزینه های تحقیقاتی از طرح های سری FRST C06X0203 کمال تشکر و قدردانی را می نمایند.

REFERENCES منابع

1. 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.
2. Canel, C, J. Baily-Serres and M. l. Roose. 1995. *In vitro* citrate uptake by tonoplast vesicles of acidless citrus juice cells. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120:510-514.
3. Darley, C.P, J.M. Davies and D. Sanders. 1995. Chill-induced changes in the activity and abundance of the vacuolar proton-pumping pyrophosphatase from mung bean hypocotyls. Plant Physiol. 109:659-665.
4. 4 . Dietz, K.J, N. Tavakoli, C. Kluge, T. Mimura, S.S. Sharma, G.C. Harris, A.N. Chardonnens and D. Golldack. 2001. Significance of the V-ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. J. Exp. Bot. 52:1969-1980.
5. Echeveria, E.D and J.Valich. 1988. Carbohydrate and enzyme distribution in protoplasts from 'Valencia' orange juice sac. Phytochemistry 27:73-76.
6. Echeverria, E, P.C. Gonzalez and A. Brune. 1997. Characterization of proton and sugar transport at the tonoplast of sweet lime (*Citrus limmetioides*) juice cells. Physiol. Plant. 101:291–300.
7. Erkan, M, M. Pekmezci1 and C.Y. Wang. 2005. Hot water and curing treatments reduce chilling injury and maintain post-harvest quality of 'Valencia' oranges. Inter. J. Food Sci Tech. 40: 91–96.
8. Ezz, T. M, M. A. Ritenour and J. K. Brecht. 2004. Hot water and elevated CO_2 effects on proline and other compositional changes in relation to postharvest chilling injury of 'Marsh' grapefruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci.129:575-582.
9. Gerad, G.F., J.M. Adlessio., M.L. Kotewicz and M.C. Noon.1986. DNA. 5:271.

10. Gomez, L R and M.A. Gomez-Lim. 1992. A method for extraction of intact RNA from fruits rich in polysaccharides using ripe mango mesocarp. HortScience 27:440-442.
11. Hofman, P.J, B.A. Stubbings, M.F. Adkinsa, R.J. Corcoran, A. White and A.B.Woolf. 2002. Low temperature conditioning treatments before cold disinfestations improve 'Hass' avocado fruit quality. Postharvest Biol. Technol. 28:123-133.
12. Kader, A.A. and M.L. Arpaia. 1992. Postharvest handling systems: Subtropical fruit. postharvest technology of horticultural crops. Regents of the University of California, Division of Agricultural and Natural Resources, Oakland, CA, U.S.A. 233–240.
13. Marsh, K.B, Y. Erner, P. G. Gomzalez and E. Echeverria. 2000. The H^+ translocating Vacuolar pyrophosphatase in acidless citrus cultivalars. Proc. Inter. Soc Citri. IX. 672-673.
14. Marsh, K, P. Gonzalezb and E. Echeveria. 2001. Partial characterization of H-translocating inorganic pyrophosphatase from 3 citrus varieties differing in vacuolar pH. Physiol. Plant. 111:519–526.
15. Marsh, K.B, P. Gonzalez and E. Echeverria. 2000. PPi formation by reversal of the tonoplast bound V-PPiase from 'Valencia' orange juice sac cells. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125: 40–424.
16. Marsh, K.B, A.C. Richardson and E.A. MacRae. 1999. Effect of early and late season temperature on carbohydrate metabolism in 'Satsuma' mandarins. J. Hort. Sci. Biotechnol. 74:443–451.
17. Marsh, K.B, A.C. Richardson and Y. Erner. 2000. Effect of environmental conditions and horticulture practices on citric acid content. Proc. Inter. Soc. Citri. IX. 672-673.
18. Monselise, S. P. 1986. Citrus In: Handbook of Fruit Set and Development. 521–537.
19. Muller, M. L, U. Irkens-Kiesecker., D. Kramer and L.Taiz. 1997. Purification and reconstitution of the vacuolar H-ATPases from lemon fruits and epicotyls. J. Biol. Chem 272:12762–12770.
20. Murata, T. 1977. Studies on the postharvest physiology and storage of citrus fruit. VII. Acid metabolism in 'Satsuma' mandarin fruit during storage. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 46: 283-287.
21. Porat, R, D. Pavoncello, J. Peretz, S. Ben-Yehoshua and S. Lurie. 2000. Effects of various heat treatments on the induction of cold tolerance and on the postharvest qualities of 'Star Ruby' grapefruit. Postharvest Biol Technol. 18:159–165.
22. Rapisarda, P, S. Elisabetta Bellomo and S. Intelisano. 2000. Storage temperature effects on blood orange fruit quality. J. Agric. Food Chem. 49: 3230-3235.
23. Sadka, A., E. Dahana, L. Cohena and K.B. Marsh. 2000. Aconitase activity and expression during the development of lemon fruit. Pysiol. Plant. 108: 255–262.
24. Schirra, M. and G. D'hallewin. 1997. Storage performance of 'Fortune' mandarins following hot water dips. Postharvest Biol. Technol. 10:229-238.
25. Sze, H. 1985. H-Translocating ATPase: Advance in membrane vesicle. Ann. Rev. Plant Physiol. 36: 175-208.
26. Tucker, G.A. 1993. Introduction in Biochemistry of Ripping. Chapman and Hall. London, U.K. 3-43.
27. Woolf, A.B, K.A. Cox, A. White and I.B. Ferguson. 2003. Low temperature conditioning treatments reduced external chilling injury of 'Hass' avocado. Postharvest Biol. Technol. 28:123-133.
28. Woolf, A.B. and M. Lay, Yee 1997. Pretreatments at 38°C of 'Hass' avocado confer thermo tolerance to 50°C hot water treatments. HortScience 32:705-708.