مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۳ شماره ۱ صفحه های ۹۹ تا ۱۱۴ (۱۴۰۱)
مقاله پژوهشی

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 ندری ، اصغر ابراهیم‌زاده*، 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 می‌تواند روشی مؤثر باشد. به همین منظور، مطالعه به‌کارگیری ملاتونین در کنترل آسیب سرمازدگی در محصول خیار، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح به‌طور کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل زمان‌های مختلف انبارمانی (شاهد یا روز برداشت، ۴، ۸ و ۱۲ روز پس از برداشت) و غلظت‌های مختلف ملاتونین (صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. برخی از ویژگی‌های زیست‌شیمیایی و فیزیولوژیکی شامل فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و لیپوکسی ژناز)، مالون‌دی‌آلدهید، محتوای فنول، پروتئین کل، نشت الکترولیت‌ها، مواد جامد محلول کل و سفتی میوه اندازه‌گیری 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 کاهشی داشت. در سوپراکسیددیسموتاز و پروتئین کل، این افزایش تا روز چهارم انبارمانی بود و پس از آن روندی کاهشی نشان داد. همچنین، در هر کدام از سطوح ملاتونین با افزایش زمان انبارداری تا زمان ۱۲ روز، میزان مالون‌دی‌آلدهید 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 آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سفتی میوه کاهش داشت. به‌طور کلی، نتایج نشان داد تیمار ملاتونین به‌ویژه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار توانست باعث کاهش صدمه سرما شود و کیفیت میوه‌های خیار را در طول انبار سرد حفظ نماید.

واژه‌های کلیدی: انبارمانی، تنش سرمایی، خیار، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، غوطه‌وری، نشت الکترولیت‌ها.

مقدمه

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. یکی از مهمترین سبزی‌های میوه‌ای از لحاظ اقتصادی می‌باشد و به علت داشتن مقادیر بالایی از ویتامین‌ها، نمک های معدنی و اسیدهای آلی، در تغذیه انسان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. میوه خیار به دلیل دارا بودن آب زیاد و پتانسیل بالای آب از دست دهی، عمر قفسه‌ای 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 به‌دلیل قرارگرفتن در معرض آسیب‌ها و ساییدگی و صدمه‌های مکانیکی در طی مراحل پس از برداشت و عملیات انبارداری، به شدت کاهش می‌یابد (۱۴،

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۸

۲- به‌ترتیب دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد، و دانشیاران گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (acebrahimzadeh@gmail.com).

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 طوری‌که با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی 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 پروپانوئید به ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۱۲). ترکیبات فنیل پروپانوئیدی 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 هیچ گونه آسیب مکانیکی ندیده بودند جهت اعمال تیمارها انتخاب شدند.

۱- Chilling Injury ۲- Nagin ۳- Enza Zaden

آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا 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 ازاد 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[۱])

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 (C_1) اندازه‌گیری شد. پس از قرارگیری همان نمونه‌ها در بن‌ماری آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه، هدایت الکتریکی ثانویه (C_2) بعد از رسیدن به دمای محیط اندازه‌گیری گردید. شاخص پایداری غشاء از فرمول زیر محاسبه و به‌صورت درصد بیان گردید (۴۰).

رابطه ۱: $\text{شاخص پایداری غشا} = [1-\frac{C1}{C2}] \times ۱۰۰$

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 g ۱۰۰۰۰ 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 ۰/۲گرم 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 فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتر منتقل شد و ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج به آن افزوده گردید. پس از ورتکس، محلول به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت

۱- Total Soluble Solution

۱۱۰۰۰ دور در هر دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و سپس روشناور حاصل برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. محلول سوبسترا حاوی ۵۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید که به ۵۰ میلی‌لیتر توین۲۰ و ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸) اضافه گردید و با دستگاه آلتراسونیک بهم زده شد. این آمیخته با ۲۰ میکرولیتر NaOH ۱ میلی‌مولار شفاف شد و با اضافه کردن بافر استخراج به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید. مواد استفاده شده شامل ۲۸۵۰ میکرولیتر بافر K_2HPO_4، ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر سوبسترا بود و واکنش به‌مدت ۱ دقیقه در ۲۵ درجه سلسیوس انجام گرفت. سپس جذب حاصل از واکنش در ۲۳۴ نانومتر خوانده شد و فعالیت آنزیم به‌ازای میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی گزارش گردید (۲۳).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)[۱]

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

آنزیم آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط Asada و Nakano (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 نیتروبلوتترازولیوم 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.

مالون‌دی‌آلدهید

غلظت مالون‌دی‌آلدهید 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 میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱ درصد کوبیده و سانتریفوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر 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 دی آلدئید با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$A=EBC$

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

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 طوریکه 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

۱- Phenylalanine ammonia- lyase

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).

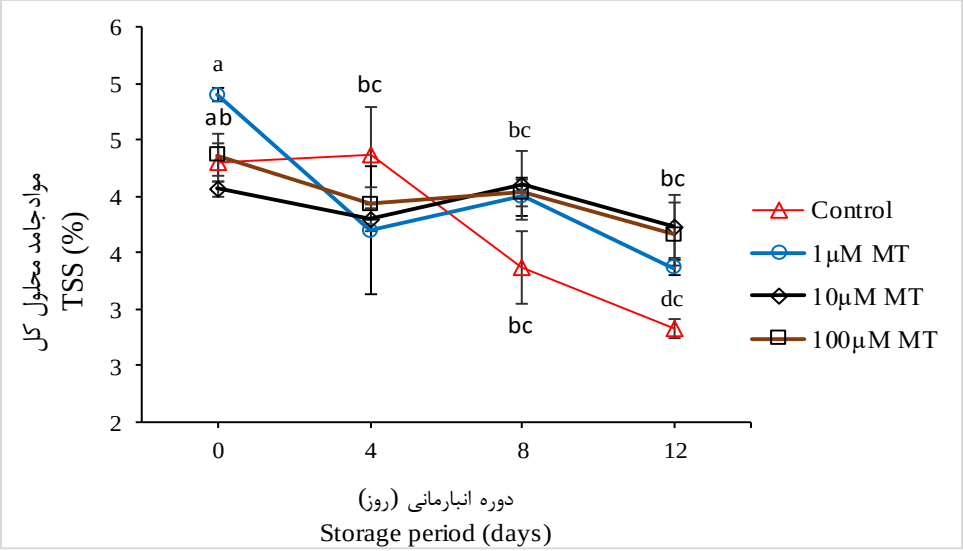


Fig. 1. Effect of different concentrations of melatonin on total soluble solids of cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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 به‌گونه‌ای 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 تعیین کننده جهت تحمل به تنش سرمایی عمل می‌کند (۱۳). طی پژوهشی، Jannatizadeh و همکاران (۱۸) دریافتند گوجه‌فرنگی‌های تیمارشده با ملاتونین که در شرایط سرمازدگی قرار داشتند، نشت الکترولیت و محتوای مالون‌دی‌آلدهید کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. کاهش پایداری غشاء که به‌صورت 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 اسپات‌های این گیاه که با ۱۰۰ میکرومول ملاتونین تیمار شده بودند را نشان دادند که این ظرفیت محافظتی ناشی از پتانسیل بالای جاروب کنندگی مولکول‌های ROS توسط ملاتونین اعلام شد که نتایج پژوهش حاضر نیز در این راستا می‌باشد (۳).

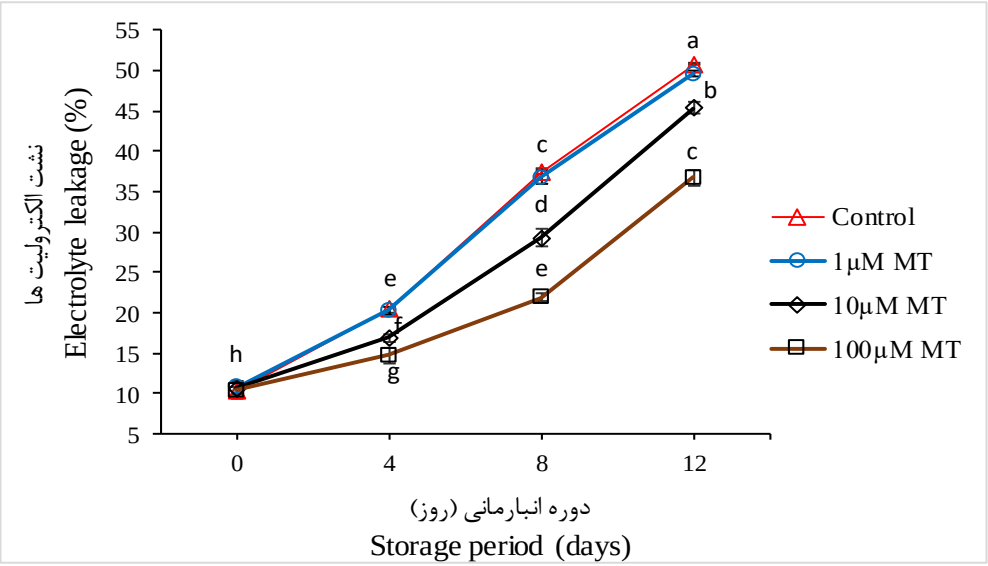


Fig. 2. Effect of different concentrations of melatonin on the percentage of electrolyte leakage of cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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).

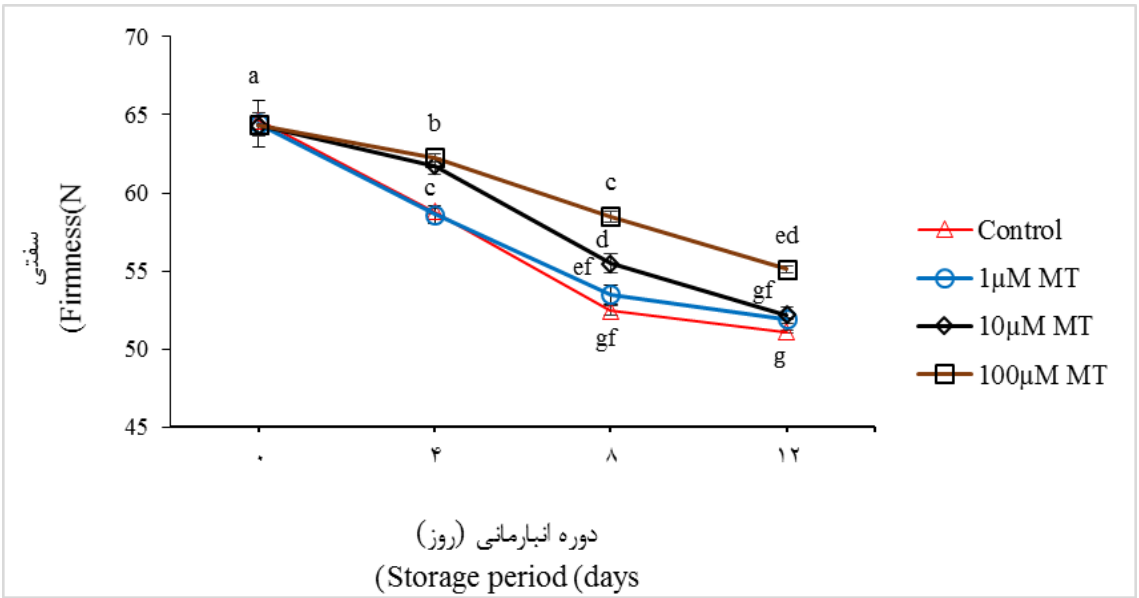


Fig. 3. Effect of different concentrations of melatonin on the fruit firmness of cucumber during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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، بـه تـدریج کـاهش می‌یابـد (۳۰). پژوهش Gao و همکاران (۱۲) نشان داد که تیمار ملاتونین به طور قابل توجهی سفتی میوه هلو را در طول مدت انبـاری 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 نشـان می‌دهـد در میـوه گـیلاس کاربرد ملاتونین منجر به بهبود سفتی میوه می‌شود. به نظر می‌رسد ملاتونین از راه سازوکارهایی ماننـد کـاهش میـزان تـنفس منجر به حفظ کیفیت میوه می‌شود (۳۶).

محتوای پروتئین

نتایج نشان داد ۴ روز بعد از انبارمانی، میزان پروتئین در تمامی تیمارها افزایش یافت؛ اگرچـه بـا افـزایش طـول انبارمـانی، میزان پروتئین کاهش یافت و کمترین (۵۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین (۷۶/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تـر) میـزان 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 تغییرهـای اکسایشـی زنجیره‌هـای جـانبی اسـید آمینـه بـه ساختارها و عملکردهای پروتئین‌ها آسیب می‌رسانند. پـژوهش هـا نشـان می‌دهـد اسـتفاده از تیمـار ملاتـونین در طـول دوره انبارداری محصولات از طریق بیان برخی از ژن‌ها (*LcMsrA1*، *LcMsrA2*، *LcMsrB1* و *LcMsrB2*) کمک قابل توجهی به تـرمیم پروتئین‌ها و محافظت آن‌ها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌کند (۳۹). به نظر می‌رسد استفاده برون‌زا از ملاتونین با افـزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیم‌های مربوط به ترمیم پروتئین اکسید شـده، گونـه‌های اکسـیژن واکنش‌پذیر اضافی میوه‌ها و سبزیجات را در زمان پس از برداشت جارو میکند.

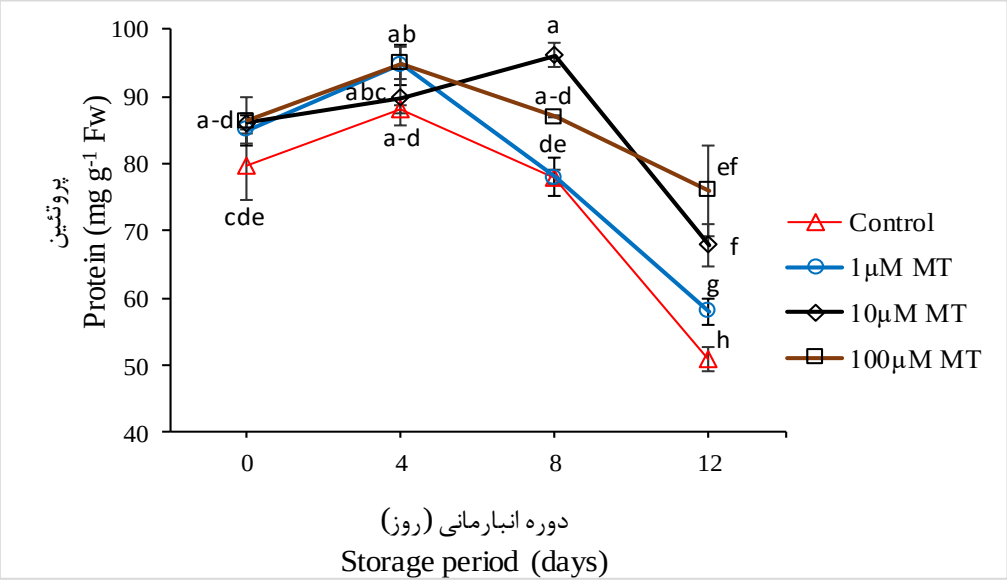


Fig. 4. Effect of different concentrations of melatonin on the protein content of cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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 برگرم 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 آنتی اکسیدانی 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).

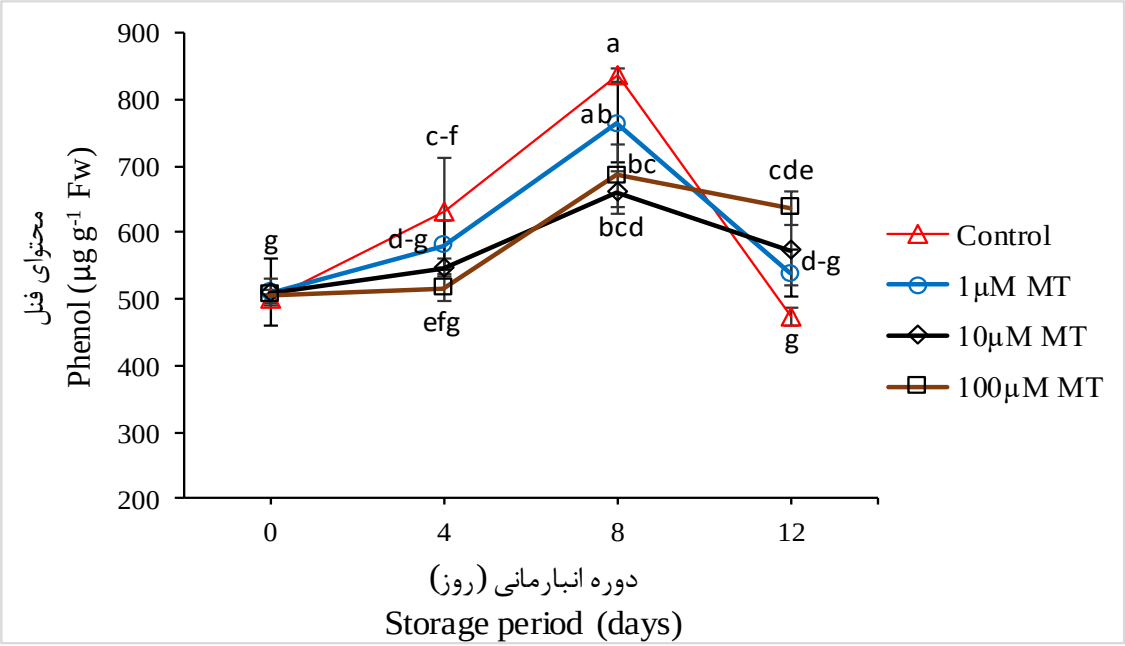


Fig. 5. Effect of different concentrations of melatonin on the phenol content in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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 دی آلدهید 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 پراکسیدهیدروژن و آنیون سوپراکسید منجر به افزایش سرمازدگی می‌شود و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند این خسارت را به کمینه برساند (۲۴).

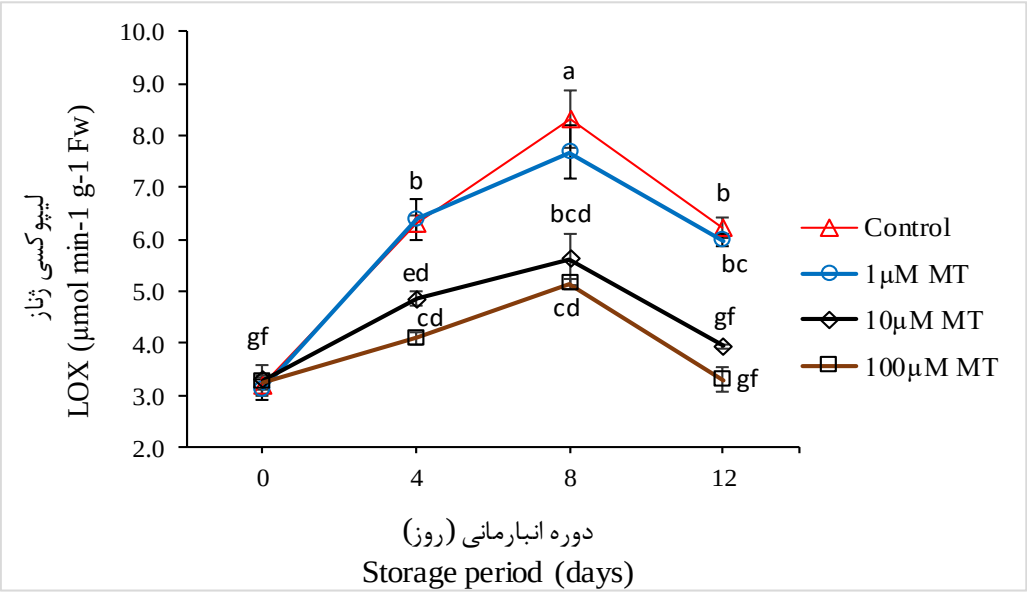


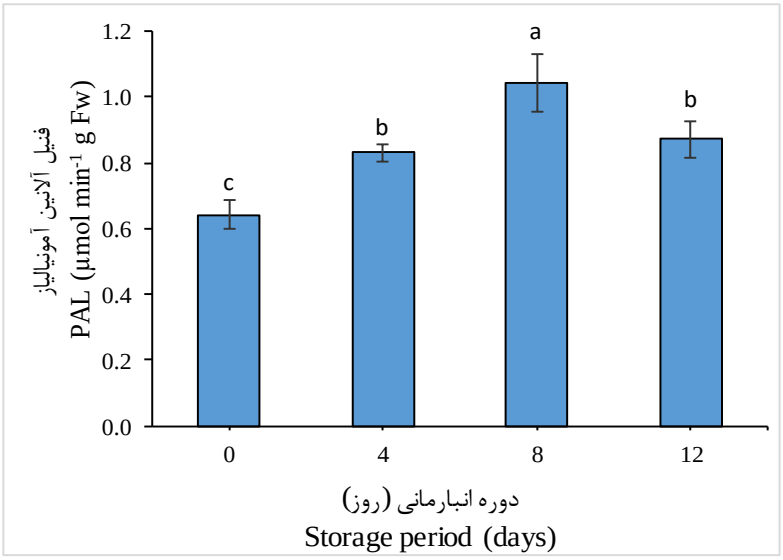
Fig. 6. Effect of different concentrations of melatonin on the LOX activity in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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 معنی دار نبود، اما دو غلظت بالاتر ملاتونین منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد گردید (شکل ۷).

فنیل آلانین آمونیالیاز (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 پروپیانوئیدی، مسیر اولیه تولید بسیاری از ترکیبات طبیعی مانند هیدروکسی سینامیک اسیدها و سپس فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنین و طیف وسیعی از سایر مواد فنولی است. اقدم 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.



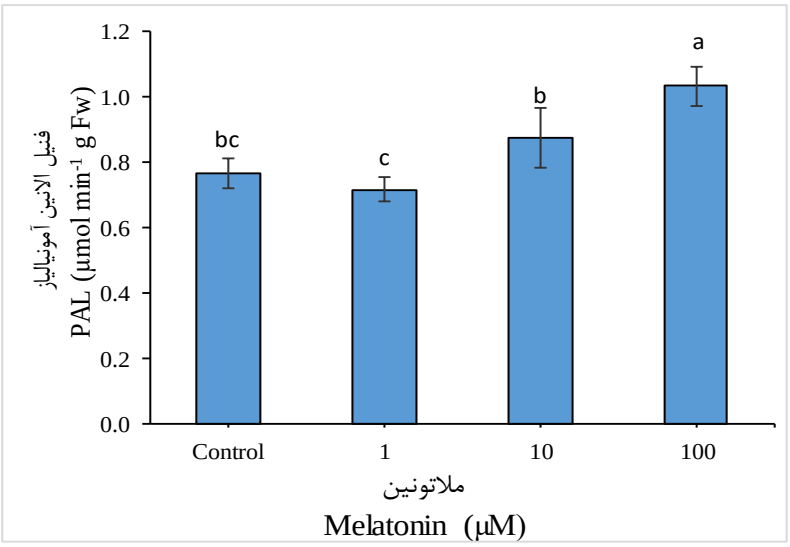


Fig. 7. Effect of storage period(A) and melatonin(B) concentration on the activity of PAL enzyme in cucumber fruit. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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).

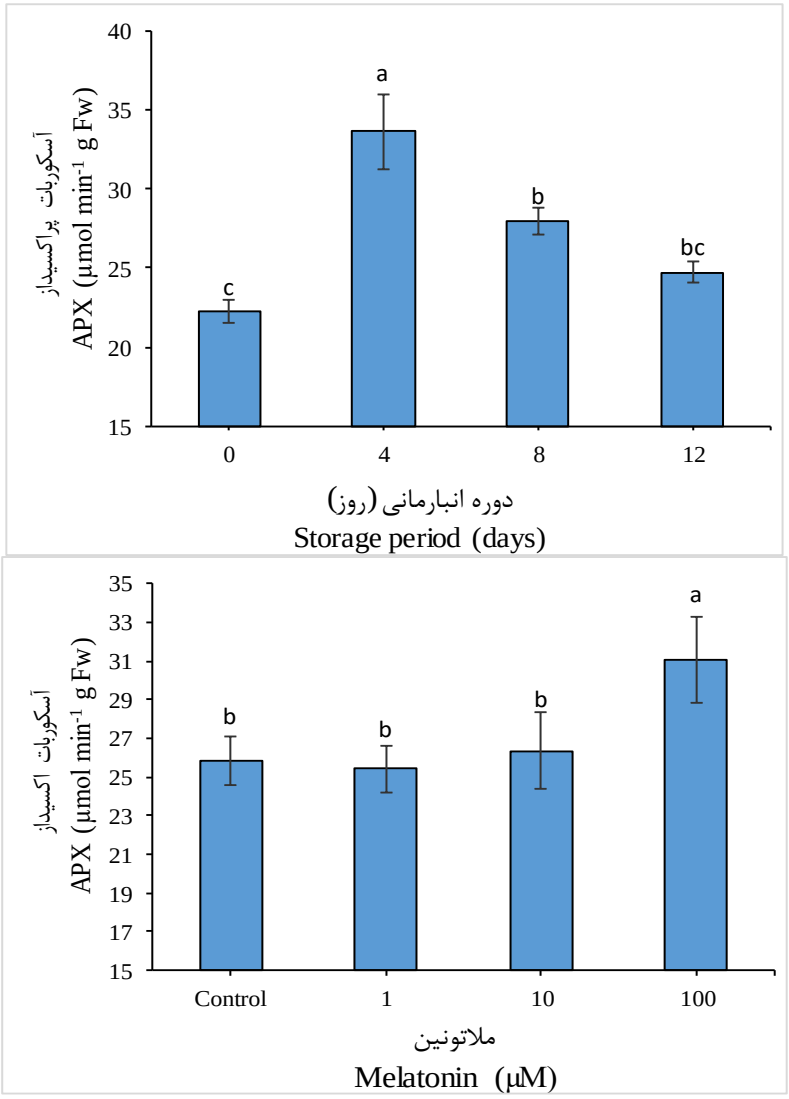


Fig. 8. Effect of storage period (A) and melatonin concentration (B) on the activity of APX enzyme in cucumber fruit. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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 نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار 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).

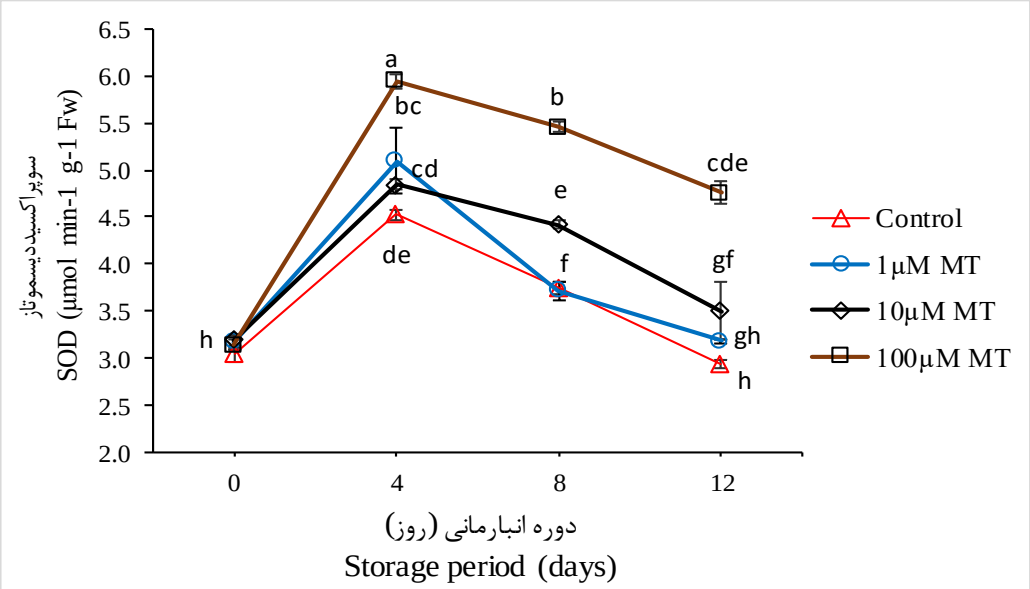


Fig. 9. Effect of different concentrations of melatonin on SOD activity in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test ($P \leq 0.05$).

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 آنتی اکسیدانی 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 رادیکاهای 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 آنتی اکسیدانی 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 دی آلدهید

با افزایش طول دوره انبارمانی میوه، میزان مالون دی آلدهید 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 نهایتا مرگ سلول می‌شوند. یکی از واکنش‌هایی کـه در حضـور انـواع اکسـیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدهیدهایی مثل مالون دی آلدهیـد و ترکیب‌هایی مثل اتانول می‌شود. اثر رادیکال‌های فعال اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسـیون آن‌هـا ناشـی از اثـر بـر پیونـدهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد که واکنش‌هـای زنجیرهـای پراکسیداسـیون را تحریـک کـرده و منجـر بـه تخریـب اسیدهای چرب می‌شوند. تیمار ملاتونین میزان پوسیدگی و تنفس را در میوه‌های گیلاس کاهش داد (۳۸). این اثـر بـه وسـیله کاهش مقادیر H_2O_2 و MDA که حاصل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است، اتفاق می‌افتد (۱۷).

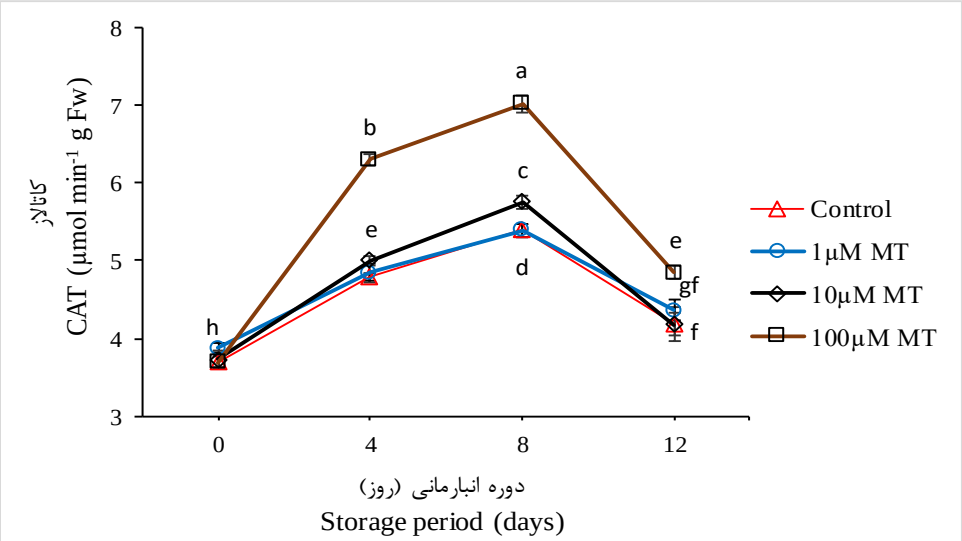


Fig. 10. Effect of different concentrations of melatonin on CAT activity in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference using Duncan's multi-range test (P≤0.05).

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

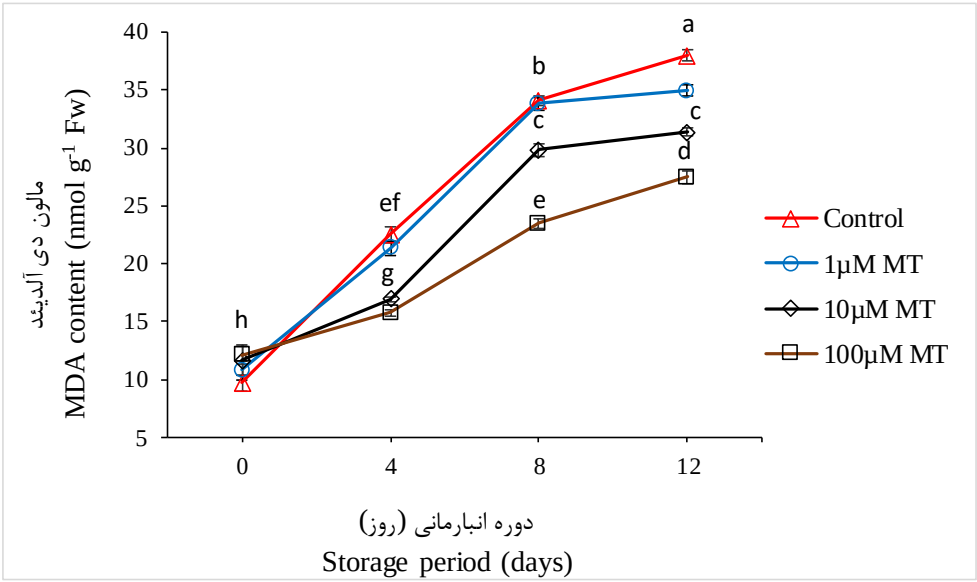


Fig. 11. Effect of different concentrations of melatonin on malondydehyde content in cucumber fruit during storage period. The same letters in each treatment show no significant difference level using Duncan's multi-range test (P≤0.05).

شکل ۱۱- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان مالون دی آلدهید 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.

نتیجه‌گیری

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. به‌طورکلی، 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.

منابع References

1. Aebi, H. 1984. Catalase invitro: Methods of Enzymatic Analysis. Academic press, New York.
2. Aghdam, M.S., A. Jannatizaeh, M. Sabzi Nojadeh, 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 Chemi. 221: 1650-1657.
5. Arnao, M. B. and J. Hernadez-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. Esmaiili, 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. Minguez-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 reduceschilling 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 espesific 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. Tijskens, 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.

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 23 (1): 99-114 (2022)
Research article

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

M. Nadri, A. Ebrahimzadeh*, and S. M. Zahedi[1]

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 μM). 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 lipooxigenase 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 μM, 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).