تأثیر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر رسیدن میوه توت‌فرنگی

سیروان منصوری[۱]، حسن ساری‌خانی*[۲]، محمد سیاری[۳]، مرتضی سلیمانی اقدم[۴]
[۱] دانشجوی دکتری باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
[۲*] دانشیار گروه باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
[۳] دانشیار گروه باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
[۴] استادیار گروه باغبانی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین
*نویسنده مسئول:sarikhanih@gmail.com

چکیده

توت‌فرنگی (*Fragaria×ananassa* Duch.) یک میوه متداول با ارزش تغذیه‌ای و اقتصادی بالا است. دوره رشدی و توسعه میوه آن کوتاه است که موجب مطالعه آسان‌تر فرآیند رشد و رسیدن میوه شده است. بنابراین می‌توان به‌عنوان یک مدل مناسب برای مطالعات میوه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. در این آزمایش اثر تیمار خارجی ملاتونین به‌صورت تزریق غلظت‌های ۰ ، ۱، ۱۰ ، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو مولار در مرحله سبز روشن بر فرآیند رسیدن میوه توت‌فرنگی بررسی شد. میوه‌ها در سه زمان رشدی متفاوت تا رسیدن برداشت و تغییرات رشدی و فیزیولوژیکی آن‌ها بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار در پارامترهای رسیدن در نتیجه کاربرد غلظت‌های متفاوت تیمار ملاتونین بود. نتایج نشان داد که تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار موجب تسریع دررسیدن و تیمار ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب تأخیر در فرآیند رسیدن میوه نسبت به شاهد گردید، درحالی‌که تیمارهای ۱ و ۱۰۰ میکرومولار تأثیری بر رسیدن در مقایسه با شاهد نداشت. نتایج این آزمایش نشان داد تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار موجب افزایش میزان ABA، آنزیم PAL و آنتوسیانین در میوه طی فرآیند رسیدن شد.

کلمات کلیدی: آبسایزیک اسید، آنتوسیانین، توت‌فرنگی، رسیدن ملاتونین

مقدمه

رسیدن میوه یک برنامه بسیار هماهنگ شده است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و حسی است که منجر به تغییر در رنگ، بافت، عطر و طعم، بو و کیفیت تغذیه‌ای می‌گردد (Persanna *et al.*, 2007). همه تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی طی رسیدن به‌وسیله بیان هماهنگ ژن‌های مرتبط با رسیدن میوه ایجاد می‌شود. میوه بر اساس مکانیسم‌های رسیدن به دو گروه تقسیم‌بندی شود. میوه فرازگرا همانند گوجه‌فرنگی، سیب، گلابی و ملون که به‌وسیله افزایش در تنفس و تولید اتیلن تشخیص داده می‌شوند. میوه‌های نافرازگرا همانند انگور، آناناس و توت‌فرنگی که فاقد پیک تنفسی است تشخیص داده می‌شوند. میوه توت‌فرنگی یک میوه نافرازگرا است و باید در مرحله بلوغ کامل برداشت شود تا حداکثر کیفیت خوراکی بدست آید. مکانیسمی که بلوغ و رسیدن را در میوه‌های نافرازگرا تنظیم می‌کند بطور کامل مشخص نیست، اما ممکن است مرتبط با تغییرات در غلظت‌های اکسین، جیبرلین و آبسزیک اسید باشد. پژوهش‌ها نشان داده است که آبسایزیک اسید (ABA) نقش کلیدی دررسیدن میوه‌های نافرازگرا مانند توت‌فرنگی دارد (Villarreal *et al.*, 2010).

میوه توت‌فرنگی(*Fragaria×ananassa* Duch.) یکی از رایج‌ترین انواع توت است که مصرف آن به هر دو صورت تازه‌خوری و فرآوری شده است. این میوه یک منبع غنی از انواع مختلف ترکیبات غذایی مانند قندها، ویتامین‌ها ، مواد معدنی و همچنین ترکیبات زیست فعال مانند اسید اسکوربیک، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی و فولات است که اکثر آن‌ها آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند و به کیفیت بالای تغذیه‌ای کمک می‌کنند .(Tulipani *et al*, 2011; Giampieri *et al.*, 2015). همه این ترکیبات اثر سینرژیک و تجمعی بر ارتقاء سلامت انسان و پیشگیری از بیماری‌ها دارند.

ملاتونین(N-acetyl-5-methoxytryptamine) ایندول آمینی است که از متابولسیم تریپتوفان از طریق سروتونین سنتز می‌شود و یک گروه جدید از هورمون‌های گیاهی است که برای اولین بار در گوجه‌فرنگی در سال ۱۹۹۵ تشخیص داده‌شده است

IrHC2019

(Feng *et al.*,2014). ملاتونین به‌عنوان یک سیگنال و به‌عنوان یک عامل درون‌زا برای کنترل ریتم فیزیولوژیکی است. ملاتونین به‌عنوان یک هورمون (مولکول سیگنالی) داخلی باعث افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند شوری، خشکی، سرما و میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Fan *et al.*, 2012; Arnao and Hernández-Ruiz, 2015). ملاتونین به‌عنوان یک مولکول ایندول آمین نه‌تنها غیرمضر و مفید عمل می‌کند بلکه به‌عنوان یک مولکول سیگنالی برای کاهش تنش‌های زنده و غیرزنده و همچنین در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش دارند (Arnao and Hernández-Ruiz, 2015). ملاتونین در بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها مانند گوجه‌فرنگی، سیب، گیلاس، موز و توت‌فرنگی وجود دارد (Feng *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2015). اخیراً تیمار ملاتونین خارجی به‌عنوان یک تیمار مؤثر در رسیدن و بهبود کیفیت محصول گوجه‌فرنگی (Sun *et al.*, 2015)، تأخیر انداختن پیری و افزایش مقاومت به یخزدگی در سردخانه در میوه هلو (Gao *et al.*, 2016)، کاهش زوال پس از برداشت و حفظ کیفیت میوه‌های توت‌فرنگی طی انبارمانی نقش دارد (Aghdam and Fard, 2017).

در سال‌های اخیر مطالعه در مورد اثر ملاتونین بر فیزیولوژی رشد و نمو محصولات افزایش‌یافته است. باوجود گزارش‌هایی مبنی براثر ملاتونین بر عوامل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی محصولات مختلف اما تاکنون اثر این ماده بر رسیدن و برخی عوامل و ژن‌های مؤثر بر رسیدن توت‌فرنگی بررسی نشده است.

مواد و روش‌ها

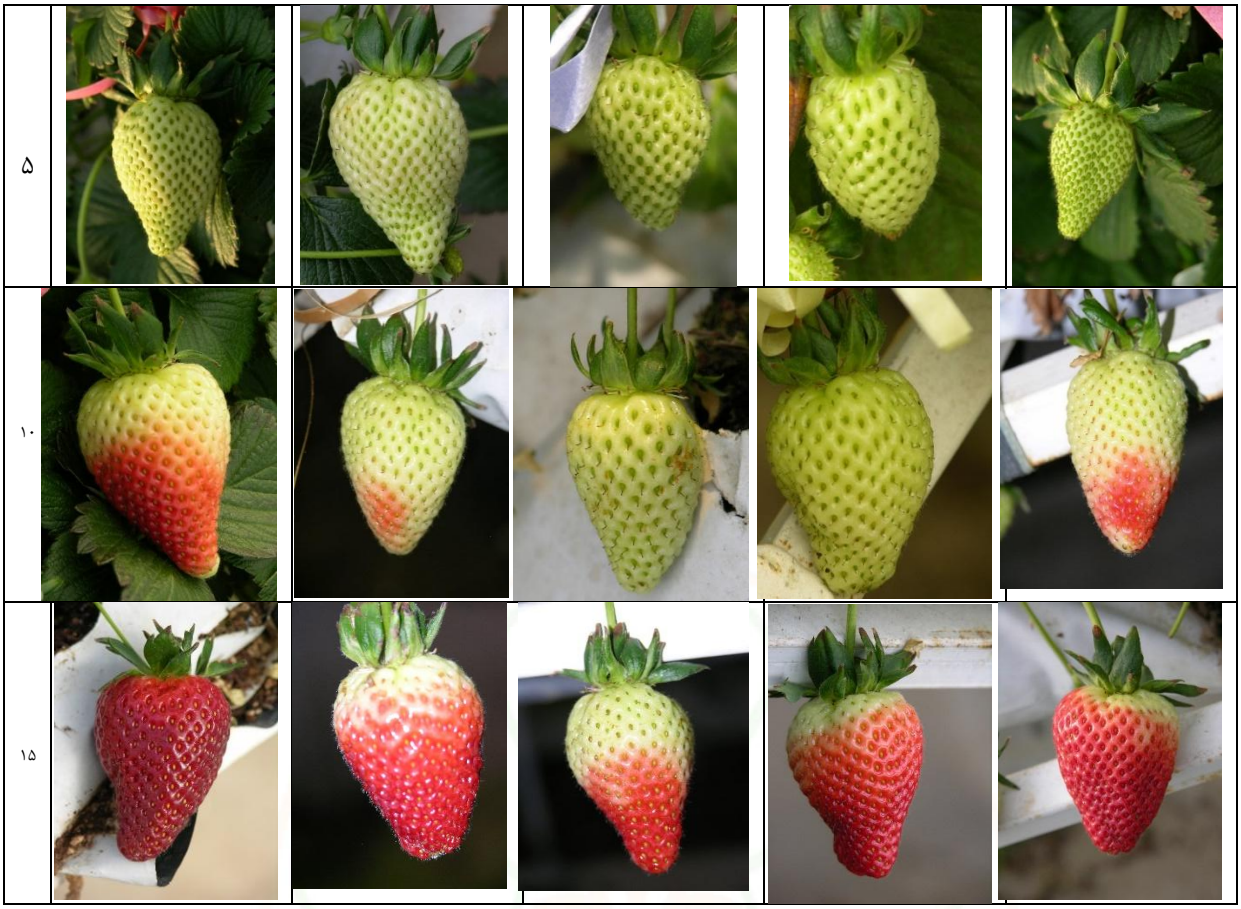
پژوهش حاضر در گلخانه گروه باغبانی دانشگاه بوعلی سینا روی بوته‌های توت‌فرنگی رقم پاروس انجام شد. باهدف بررسی اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر رسیدن توت‌فرنگی و انتخاب مؤثرترین غلظت‌ها، پس از انتخاب بوته‌هایی مناسب و یکسان، ابتدا از هر گل‌آذین دو میوه کاملا یکسان انتخاب شده و بقیه گل‌ها و میوه‌ها حذف شدند. سپس تیمار ملاتونین با غلظت‌های ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار توسط میکرو سرنگ به میزان ۱۰ میکرولیتر از قسمت دم میوه در مرحله سبز روشن تزریق شد (Jia *et al.*,2013) و از آب مقطر به‌عنوان شاهد استفاده شد. سپس به‌منظور بررسی و ارزیابی اثر ملاتونین در زمان‌های ۵، ۱۰و ۱۵ روز پس از تیمار، میوه‌ها برداشت شدند. در آزمایشگاه میزان ABA بر حسب نانوگرم بر گرم (Kelen *et al.*,2004)، محتوای آنتوسیانین کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر (Cheng and Breen, 1991) و آنزیم PAL برحسب واحد (Chen *et al.*, 2008) طی مراحل رسیدن ارزیابی شد. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی در ۵ تکرار انجام شد. داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹/۲) تجزیه شده و مقایسات میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر فرآیند رسیدن توت‌فرنگی نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار موجب تسریع دررسیدن شد و در روز ۱۵ نسبت به شاهد رسیده‌تر شده است. تیمار ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب تأخیر دررسیدن نسبت به نمونه‌های شاهد گردید درحالی‌که غلظت‌های ۱ و ۱۰۰ میکرومولار تأثیری بر رسیدن میوه نسبت به شاهد نداشت. بنابراین غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین به‌عنوان غلظت‌های مؤثر بر رسیدن انتخاب و ارزیابی صفات کمی و کیفی در روند رسیدن روی این دو غلظت انجام شد (شکل-۱).

شاهد(تیمار آب)	۱ میکرومولار	۱۰ میکرومولار	۱۰۰ میکرومولار	۱۰۰۰ میکرومولار	روز

IrHC2019



شکل ۱- اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر فرآیند رسیدن میوه توت‌فرنگی رقم پاروس

آبسزیک اسید (ABA)

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانش نشان داد تیمارهای ۱۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین بر میزان آبسزیک اسید درونی میوه معنی‌دار بوده و تیمار ۱۰۰۰ موجب افزایش میزان آبسزیک اسید درونی میوه نسبت به شاهد شد و موجب تسریع دررسیدن میوه نسبت به شاهد گردید. همچنین تیمار ۱۰ میکرومولار موجب کاهش میزان تولید آبسزیک اسید نسبت به نمونه‌های شاهد و تأخیر دررسیدن شد (شکل-۲). گزارش‌های زیادی مبنی بر اثر ABA بر توسعه و رسیدن میوه توت‌فرنگی وجود دارد. برای اثبات این موضوع میزان ABA در طی رسیدن میوه اندازه‌گیری شد و نشان داده شد که طی پروسه رسیدن میزان آن افزایش می‌یابد (Hai-Feng Jia *et al*.,2011). نتایج دیگر محققان نشان داده که تنظیم و بیان ژن‌های مربوط به رسیدن در میوه‌های نافرازگرا مانند تنظیم قند و متابولیسم رنگ در ارتباط با ژن‌هایی است که در اثر تجمع ABA و مسیرهایی که شامل دریافت کننده‌هایABA، پیام رسان‌های ثانویه، پروتئین‌کیناز، پروتئین‌فسفاتاز Cs۲ و عوامل رونویسی است. Medina و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی نقش اکسین و ABA دررسیدن توت‌فرنگی، گزارش کردند که اکسین نقش ابتدایی و آغازین در توسعه و رسیدن میوه توت‌فرنگی دارد و موجب بزرگ شدن نهنج می‌شود و ABA باعث بیان ژن‌های مؤثر دررسیدن می‌شود. ABA باعث بیان ژن FaMYB10 و از این طریق باعث بیان ژن‌های مسیر فلاونوییدها و آنتوسیانین‌ها می‌شود (Kadomura *et al*., 2014).

آنزیم PAL

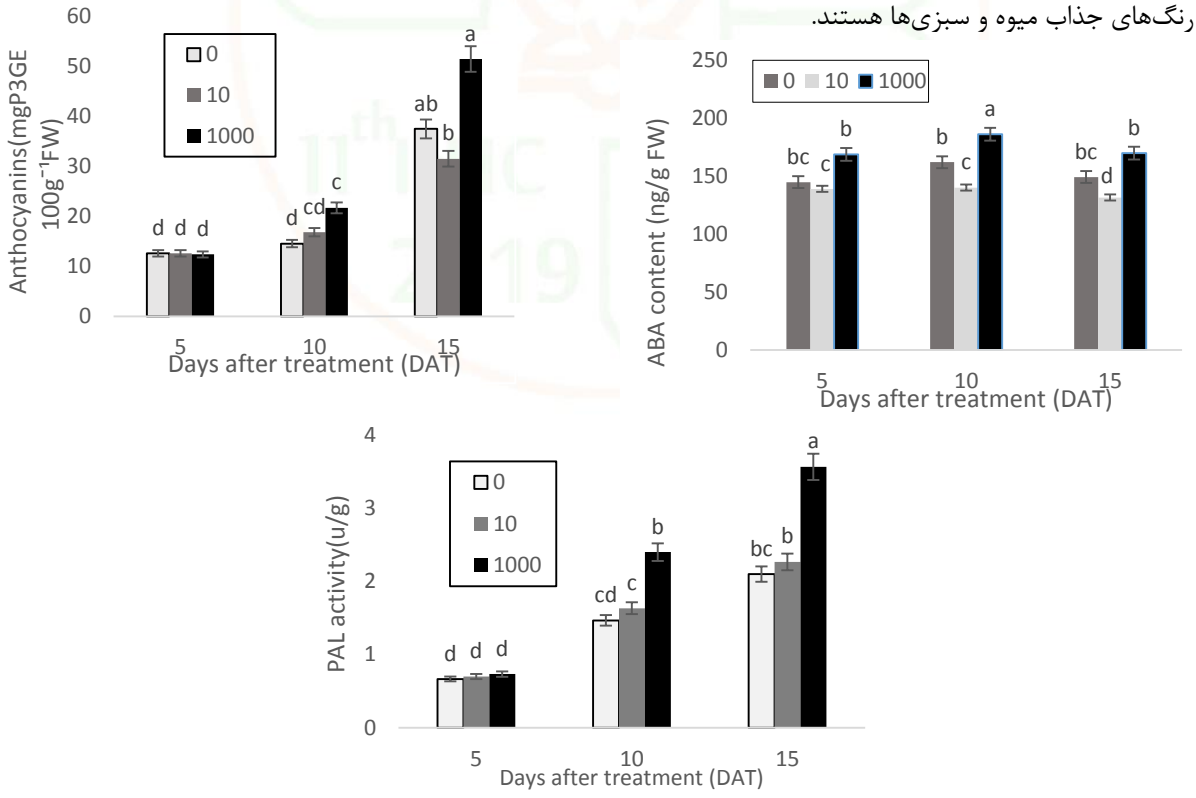
اثر غلظت‌های متفاوت ملاتونین در زمان‌های مختلف طی پروسه رسیدن نشان می‌دهند که تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار موجب افزایش میزان آنزیم PAL نسبت به شاهد شده است. از زمان ۱۰ روز پس از تیمار اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین با تیمارهای شاهد و ۱۰ میکرومولار مشاهده شد که این اختلاف در زمان ۱۵ روز پس از تیمار به بیشترین مقدار خود رسید (شکل- ۲). PAL آنزیم اصلی در اتصال مسیر سنتزی اسیدهای آمینه آروماتیک و متابولیت‌های

IrHC2019

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 تحت تأثیر مرحله رشد، تمایزیابی سلول و همچنین تنش‌های زنده و غیرزنده تغییر می‌یابد. درواقع PAL آنزیم کلیدی در مسیر شیکمیک اسید و متابولیسم فنیل پروپانوئید است(Dixon and Paiva 1995). مسیر فنیل پروپانوئیدی، مسیر اولیه تولید بسیاری از ترکیبات طبیعی مانند هیدروکسی سینامیک اسیدها و سپس فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنین، کومارین، استیلبن و طیف وسیعی از سایر مواد فنولی است. اقدم و فرد(۲۰۱۸) دریافتند تیمار ملاتونین باعث افزایش میزان آنزیم PAL در طی انبارمانی نسبت به شاهد شد.. Sun و همکاران (۲۰۱۶) نتیجه گرفتند که ملاتونین باعث تنظیم مثبت در بیان ژن‌های مهم در مسیر سنتز فنیل پروپانوئید مانند CHS2, CHS1 و PAL می‌گردد که باعث تجمع فنل کل و فلاونوئید می‌شود. ترکیبات فنلی در میوه‌های بری رنگی فراوان هستند، بنابراین به‌عنوان یکی از مهمترین منابع حاوی فنولیک در رژیم غذایی ما است.

آنتوسیانین

نتایج نشان داد که تیمار غلظت‌های ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین سبب افزایش میزان آنتوسیانین داخلی میوه طی مراحل رسیدن شد. همچنین تیمار غلظت‌های ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب کاهش میزان آنتوسیانین نسبت به نمونه‌های شاهد گردید. روند افزایش میزان آنتوسیانین از زمان تیمار تا مرحله رسیدن میوه افزایشی است و بیشترین میزان آن در زمان رسیدن میوه است. آنتوسیانین‌ها نیز متعلق به یک نوع از فلاونوئیدها هستند که از طریق مسیر فنیل پروپانوئید ساخته می‌شوند. Zhang و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که تجمع آنتوسیانین بالاتر در گیاه کلم در پاسخ به تیمار ملاتونین نتیجه بیان بیشتر ژن‌های بیوسنتزی فنیل پروپانوئید (PAL ، C4H، CHS، CHI، F3H و غیره) بود. ژن Chalcone synthase مسئول بیوسنتز آنتوسیانین‌ها در توت‌فرنگی است. همچنین با توجه به اثر ملاتونین بر میزان ABA داخلی می‌توان به نتایج Gange و همکاران (۲۰۱۶) اشاره کرد که دریافتند ا ثر ABA در فرآیند رسیدن میوه سبب تنظیم مثبت تولید آنتوسیانین در انگور شد. آنتوسیانین‌ها گلوکوزیدهای آنتوسیانیدین ها هستند که مسئول رنگ‌های جذاب میوه و سبزی‌ها هستند.



شکل۲- اثر ملاتونین بر تغییرات ABA، آنزیم PAL و آنتوسیانین طی رسیدن توت‌فرنگی

IrHC2019

نتیجه‌گیری

روند درست رسیدن میوه در افزایش کیفیت و عمر پس از برداشت محصول ضروری است و در تعیین قیمت و سود نهایی محصولات اهمیت دارد. بااین‌حال، رسیدن میوه یک فرایند پیچیده است که در آن بسیاری از عوامل دخیل هستند، ازجمله این موارد کنترل هورمونی است که باعث تنظیم تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی می‌شود و در کیفیت غذایی محصول نقش دارند. در میوه‌های نافرازگرا مانند توت‌فرنگی و انگور فرآیند رسیدن عمدتاً از طریق تجمع هورمون آبسزیک اسید کنترل می‌شود. بااین‌وجود مطالعات اخیر نشان می‌دهد که فرآیند رسیدن تنها تحت تأثیر تولید یک هورمون نیست بلکه به نظر می‌رسد نتیجه یک تعادل هورمونی کنترل‌شده است. بنابراین ملاتونین از هورمون‌هایی است که در سیگنالینگ و تنظیم فرآیند رسیدن نقش دارد.

منابع

Aghdam, M.S. and Fard, J.R., 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria* × *anannasa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. Food Chemistry. 221, 1650–1657.

Arnao, M. B. and Hernández-Ruiz, J. 2018. Melatonin and its relationship to plant hormones. Trends in plant science. 121, 195–207.

Fan, Y., Xu, Y., Wang, D., Zhang, L., Sun, J., Sun, L. and Zhang, B., 2009. Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) preservation quality. Postharvest Biology and Technology, 53, 84–90.

Feng, X., Wang, M., Zhao, Y., Han, P. and Dai, Y., 2014. Melatonin from different fruit sources, functional roles, and analytical methods. Trends Food Science. Technology, 37, 21–31.

Giampieri, F., Forbes-Hernandez, T.Y., Gasparrini, M., Alvarez-Suarez, J.M., Afrin, S,. Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B. and Battino, M., 2015. Strawberry as a health promoter: an evidence based review. Food Chemistry, 6, 1386–1398.

Hernandez-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V.D., Velez, D. and Gavara, R., 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry, 110, 428–435.

Kadomura-Ishikawa, Y., Miyawaki, K., Takahashi, A., Masuda, T. and Noji, S. 2015. Light and abscisic acid independently regulated FaMYB10 in *Fragaria*× *ananassa* fruit. Planta, 241(4), 953-965.

Li, Y., Lua, Y., Lia, L., Chu, Z., Zhang, H., Li, H., 2019. Impairment of hormone pathways results in a general disturbance of fruit primary metabolism in tomato. Food Chemistry, 274, 170–179.

Medina-Puche, L., Blanco-Portales, R., Molina-Hidalgo, F.J., Cumplido-Laso, G., García-Caparrós, N., Moyano-Cañete, E., Caballero-Repullo, J.L., Muñoz-Blanco, J. and Rodríguez-Franco, A. 2016. Extensive transcriptomic studies on the roles played by abscisic acid and auxins in the development and ripening of strawberry fruits. Functional & Integrative Genomics, 16(6), 671-692.

Prasanna V., Prabha T.N. and Tharanathan R.N. 2007. Fruit ripening phenomena—An overview. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47, 1–19.

Sun, Q., Zhang, N., Wang, J., Zhang, H., Li, D., Shi, J., Li, R., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S. and Guo, Y.D., 2015. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. Journal of experimental botany, 66, 657–668.

Tulipani, S., Marzban, G., Herndl, A., Laimer, M., Mezzetti, B. and Battino, M., 2011. Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry. Food Chemistry, 124, 906–913.

Villarreal, N.M., Bustamante, C.A., Civello, P.M., and Martínez, G.A. 2010. Effect of ethylene and 1-MCP treatments on strawberry fruit ripening. Journal of the Sciene, Food and Agriculture, 90,683–689.

Zheng Z, Xu X, Crosley RA, Greenwalt SA, Sun Y, Blakeslee 2010. The protein kinase SnRK2.6 mediates the regulation of sucrose metabolism and plant growth in Arabidopsis. Plant Physiology, 153:99- 113.

IrHC2019

Effects of melatonin on the ripening of strawberry fruit

Sirvan Mansouri[1], Hassan Sarikhani[2]*, Mohammad Sayari [3], Morteza Soleimani Aghdam [4]
[1] Ph.D. Student of Horticultural Science, University of Bu-Ali Sina Hamedan, Iran
[2*] Associated professor of Horticultural Science, University of Bu-Ali Sina Hamedan, Iran
[3] Associated professor of Horticultural Science, University of Bu-Ali Sina Hamedan, Iran
[4] Assistant professor of Horticultural Science, University of Imam Qazvin, Ira
[*]*sarikhanih@gmail.com*

Abstract
Strawberry *(Fragaria×ananassa* Duch.) is a common fruit with considerable nutritional and economic value. Its growth and developmental stages of fruit is short that facilitates the study of the process of growth and development fruit. Therefore, it is used as a model plant for studies of fruit trees. In this study, the effect of exogenous melatonin on the regulation of strawberry fruit ripening was studied by injecting 0, 1, 10, 100 and 1000 μmol L^{-1} melatonin solution into the light green stage fruit. In addition, fruits was harvest in 3 stage of fruit growth. The results of this experiment indicated that the application of appropriate concentration of melatonin solution during the cultivation process could significantly change the strawberry fruit ripening index. Using 1000 μmol L^{-1} melatonin solution as a treatment, could increase the content of endogenous ABA, PAL and improve the anthocyanins accumulation of strawberry. Ripening of strawberry fruit was clearly delayed by the 10 μmol L^{-1} melatonin treatment.

Keywords: ABA, Melatonin, PAL, Ripening, Strawberry

IrHC2019