Effect of Exogenous Melatonin Treatment on Nonenzymatic Antioxidant System, Nutritional Value, and Visual Quality of Mature Physalis Fruit

Introduction

The physalis (*Physalis peruviana* L.) is one of the most important members of the Solanaceae family. It is cultivated as a perennial in tropical regions and as an annual in temperate regions. The fruit is a round berry that can be consumed fresh, dried, or used in desserts and jams. Physalis fruits are rich in minerals, vitamins, and phytochemicals with anti-tumor and anti-inflammatory properties, making them a popular "superfood". Globally, there is increasing demand for this crop as a healthy and beneficial food, including in Iran, although detailed statistics on its cultivation in Iran are lacking. Despite its many benefits, physalis faces a major challenge in postharvest handling due to its status as a climacteric fruit, meaning it continues to ripen after being harvested. This characteristic results in a very short postharvest shelf life for physalis. Typically, without any interventions, physalis fruits can only be stored for up to five days before they begin to deteriorate. This rapid loss of quality limits the fruit's marketability, especially in regions far from its production sites. To address this, the application of postharvest treatments that are safe, effective, and capable of extending the shelf life of physalis is crucial. Melatonin, a naturally occurring hormone found in plants and animals, has recently gained attention for its role in regulating various physiological processes in plants, including stress responses, growth, and ripening. Previous studies have indicated that melatonin can delay senescence, reduce oxidative damage, and enhance the antioxidant defense system in fruits. Therefore, it holds promise as a postharvest treatment for climacteric fruits like physalis, where oxidative stress and rapid respiration rates contribute to quality degradation. In the present study, we aimed to explore the potential of exogenous melatonin as a postharvest treatment to improve the storage life and maintain the quality of physalis fruit.

Materials and Methods

Fully orange-colored physalis fruits with yellow calyxes were harvested from a commercial greenhouse in Pasargad County, Fars Province, Iran. After being visually assessed, the fruits were washed with deionized water and air-dried. The experimental design used was factorial, arranged in a completely randomized design, comprising 12 treatments with three replicates per treatment (20 fruits per replicate). The experimental factors included dipping the fruits for five minutes in four concentrations of melatonin solution (100, 200, and 300 µM, and distilled water as a control), and sampling times at three levels (days 7, 14, and 21 of storage). After dipping, the fruits were air-dried for 30 minutes and packaged in polyethylene bags with a 3% perforation rate. They were then stored at 10°C and 90 ± 5% relative humidity for 21 days.

Results and Discussion

Weekly evaluations indicated that, overall, postharvest treatment with melatonin led to a reduction in fruit respiration rate and polyphenol oxidase (PPO) activity in the juice, as well as an improvement or maintenance of skin carotenoid content, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), ascorbic acid, total phenols, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) enzyme activity, and total antioxidant activity in the juice. After 21 days of storage and at the end of the experiment, the assessment of all these attributes revealed that fruits treated with 300 µM melatonin were superior in terms of nutritional value, appearance, and postharvest oxidative stress response mechanisms compared to the other experimental groups. There was no significant difference in total soluble solids and titratable acidity among the fruits treated with different concentrations of melatonin; however, fruits treated with the two higher concentrations of melatonin showed the lowest respiration rate and the highest ascorbic acid content in the juice. Furthermore, fruits treated with 300 µM melatonin exhibited higher levels of total phenols, PAL enzyme activity, total antioxidant activity, and skin carotenoids compared to all other experimental groups, while also showing the lowest PPO enzyme activity.

Conclusion

In conclusion, the results indicate that exogenous melatonin treatment, particularly at a concentration of 300 µM, can significantly improve the postharvest quality and extend the shelf life of physalis fruits by modulating various physiological and biochemical processes. This technique has the potential to enhance the marketability and economic value of harvested physalis as a high-value horticultural product. The findings of this study suggest that melatonin application could be an effective postharvest management strategy for climacteric fruits to maintain their nutritional and commercial quality during storage.

Keywords: Antioxidant capacity, Carotenoid, Marketability, Phenol, Physalis

تأثیر تیمار برون‌زاد ملاتونین بر نظام پاداکسنده غیرآنزیمی، ارزش غذایی و کیفیت بصری میوه‌های بالغ عروسک پشت پرده

لیلا تقی پور[1*]، پریسا حیاتی[2]، مهدی حسینی‌فرهی[2،3]، پدرام عصار[1]

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: L_taghipoor@yahoo.com و Leilataghipour@jahromu.ac.ir

چکیده

عروسک پشت پرده یا فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) یکی از اعضای مهم خانواده سیب‌زمینی سانان محسوب می‌شود. میوه‌های فیسالیس غنی از مواد معدنی، ویتامین‌ها و ترکیبات فیتوشیمیایی با خواص ضد توموری و ضدالتهابی هستند و همین امر آن را بسیار محبوب نموده است. فیسالیس میوه‌ای فرازگرا است که دارای عمر پس از برداشت بسیار کوتاه است و معمولاً حداکثر تا ۵ روز ماندگاری دارد؛ بنابراین، نیاز به استفاده از تیمارهای ایمن پس از برداشت برای حفظ کیفیت و افزایش عمر ماندگاری آن احساس می‌شود. در پژوهش حاضر، میوه‌های فیسالیس با رنگ نارنجی کامل و کاسبرگ‌های زرد از یک گلخانه تجاری در شهرستان پاسارگاد استان فارس برداشت و پس از ارزیابی ظاهری، با آب دیونیزه شسته و در هوای آزاد خشک شدند. طرح آزمایشی مورداستفاده فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۱۲ تیمار با سه تکرار برای هر تیمار (۳۰ میوه در هر تکرار) بود. فاکتورهای آزمایشی شامل غوطه‌وری میوه‌ها به مدت پنج دقیقه در چهار سطح غلظت محلول ملاتونین (۱۰۰، ۲۰۰، و ۳۰۰ میکرومولار و آب مقطر به‌عنوان شاهد) و زمان نمونه‌برداری در سه سطح (روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ انبارمانی) بود. پس از غوطه‌وری، میوه‌های هر گروه به مدت ۳۰ دقیقه در هوای آزاد خشک شدند و در کیسه‌های پلی‌اتیلن با نسبت سوراخ ۳ درصد بسته‌بندی و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵ ± ۹۰ درصد به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. ارزیابی‌های هفتگی نشان داد که به‌طور کلی و نسبت به شاهد، تیمار پس از برداشت ملاتونین منجر به کاهش نرخ تنفس و فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (PPO) در آب‌میوه شد و همچنین موجب بهبود یا حفظ مقادیر کاروتنوئید پوست، مواد جامد محلول کل (TSS)، اسید قابل تیتر (TA)، اسید آسکوربیک، فنول کل، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در آب‌میوه گردید. پس از ۲۱ روز انبارمانی و در پایان آزمایش، ارزیابی مجموع صفات نامبرده نشان داد که میوه‌های تیمار شده با ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین، در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی، از نظر ارزش غذایی، ظاهر، و سازوکارهای مقابله با تنش اکسایشی پس از برداشت برتر بودند. در مورد مواد جامد محلول کل و اسیدیته قابل تیتر، تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف ملاتونین مشاهده نشد؛ اما میوه‌های تیمار شده با دو غلظت بالاتر ملاتونین، کمینه نرخ تنفس و بیشینه مقدار اسید آسکوربیک آب‌میوه را داشتند. همچنین، میوه‌های تیمار شده با ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین، در مقایسه با تمامی گروه‌های آزمایشی دیگر، سطوح بالاتری از فنول کل، فعالیت آنزیم PAL ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و کاروتنوئید پوست داشتند، و کمترین فعالیت آنزیم PPO نیز در این گروه مشاهده شد. در نهایت چنین نتیجه‌گیری شد که تیمار میوه‌های فیسالیس با ملاتونین خارجی، به‌ویژه در غلظت ۳۰۰ میکرومولار، می‌تواند با تعدیل فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلف، به طور قابل‌توجهی کیفیت پس از برداشت و ماندگاری آن‌ها را بهبود بخشد. این

تکنیک پتانسیل افزایش بازارپسندی و ارزش اقتصادی فیسالیس برداشت‌شده را به‌عنوان یک محصول باغی باارزش بالا دارد.

واژه‌های کلیدی: بازارپسندی، ظرفیت پاداکسنده، فنول، فیسالیس، کاروتنوئید

مقدمه

گونه *Physalis peruviana* که به نام‌های فیسالیس و عروسک پشت پرده شناخته می‌شود، یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده سیب‌زمینی سانان است و در مناطق گرمسیری به‌صورت چندساله و در مناطق معتدله به‌صورت یک‌ساله کشت می‌شود. میوهٔ آن، یک سته کروی است و به‌صورت تازه، خشک، و در تهیه دسر و مربا استفاده می‌شود. میوه فیسالیس دارای مقادیر قابل‌توجهی از مواد معدنی و ویتامین‌ها مانند پتاسیم و ویتامین C و حاوی ترکیبات شیمیایی خاصی به نام ویتانولیدها است که خواص ضد تومور و ضدالتهابی دارند و به همین دلیل در طب سنتی حتی برای درمان بیماری‌هایی مانند سرطان، هپاتیت، و بیماری‌های پوستی مصرف می‌شود (Fischer *et al.*, 2011; LoNDoÑo, 2013; Shenstone *et al.*, 2020). هم اکنون تقاضای بین‌المللی برای این محصول به‌عنوان یک "سوپرفود" در حال افزایش است و متناسب با آن علاقه به کشت و پرورش این محصول به‌عنوان یک غذای سالم و مفید در سراسر جهان از جمله ایران روبه‌افزایش است (Goulart Júnior *et al.*, 2017) و البته آمار دقیقی از کشت و پرورش این محصول در ایران موجود نیست.

کاسه گل فیسالیس دائمی است و در زمان برداشت به همراه میوه برداشت می‌شود. به‌صورت قراردادی بر اساس رنگ میوه و پوشش کاسه گل در زمان برداشت، چهار مرحله بلوغ برای میوه‌های فیسالیس وجود دارد: میوه سبز مایل به زرد با کاسه گل سبز (S1)، میوه زرد – نارنجی با کاسه گل زرد – سبز (S2)، میوه نارنجی با کاسه گل زرد (S3) و میوه نارنجی با کاسه گل قهوه‌ای خشک (S4). از نظر تظاهر و کیفیت پس از برداشت و عمر انبارمانی، میوه‌های مراحل ۱ و ۴ علی‌رغم برداشت نامناسب و غیرتجاری هستند؛ اما میوه‌های دو مرحله دیگر به ترتیب برای ارسال به بازارهای دوردست و بازارهای محلی مناسب هستند (Balaguera-López *et al.*, 2016).

ملاتونین، یک مولکول پلی‌تروپیک مشتق از تریپتوفان، به‌صورت درون‌زا در سلول‌های حیوانی، گیاهی، قارچی و پروکاریوتی تولید می‌شود و نقش‌های متعددی در گیاهان ایفا می‌کند. این مولکول باتوجه‌به خواص پاداکسنده خود، در بسیاری از فرایندهای سیگنال‌دهی مرتبط با رشد و نمو گیاهان و همچنین سازگاری با شرایط تنش نقش دارد. ملاتونین به‌عنوان یک هورمون و تنظیم‌کننده گیاهی، با فیتوهورمون‌ها و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و نیتروژن مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، نیتریک اکسید (NO) و سولفید هیدروژن (H_2S) تعامل می‌کند. تحقیقات نشان داده‌اند که ملاتونین در حفظ سبزینه و تأخیر پیری برگ‌ها، تنظیم رسیدگی میوه‌ها پس از برداشت، و مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی نظیر شوری، خشکی، دماهای شدید و تنش فلزات سنگین نقش مؤثری دارد (Soleimani Aghdam *et al.*, 2023; Sun *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2019).

ملاتونین در حفظ کیفیت حسی و تغذیه‌ای پس از برداشت محصولات باغبانی که از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردارند، نقش کلیدی ایفا می‌کند. کاربرد برون‌زاد ملاتونین می‌تواند سطح ملاتونین درون‌زاد را افزایش دهد، آنزیم‌های پاداکسنده و پاداکسنده‌های غیرآنزیمی را تقویت کرده و به بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف کمک کند. شواهد علمی نشان می‌دهند که افزایش مقدار درون‌زاد ملاتونین، چه به‌صورت تحریک غیرمستقیم و چه به‌صورت کاربرد برون‌زاد، می‌تواند به‌عنوان یک ابزار هدفمند برای بهبود بازارپسندی و افزایش درآمد از محصولات باغبانی برداشت شده مورداستفاده قرار گیرد (Soleimani Aghdam *et al.*, 2023; Sun *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2019).

به‌عنوان مثال، در پژوهشی کاربرد ملاتونین در غلظت ۶۰۰ میکرومولار به طور مؤثری از نرم شدن میوه گواوا (*Psidium guajava* L.) جلوگیری نمود. تیمار نامبرده با تقویت نظام پاداکسنده آنزیمی و غیرآنزیمی، و با کاهش مقادیر آنیون‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید، آسیب اکسیداتیو میوه را کاهش داد. در پاسخ به تیمار، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز افزایش یافت. ملاتونین همچنین سبب حفظ بهتر مقادیر فلاونوئیدهای کل و اسید آسکوربیک شد (Fan *et al.*, 2022).

در پژوهشی دیگر تیمار میوه‌های کیوی (*Actinidia chinensis* Planch) با غلظت ۰/۱ میلی مولار ملاتونین نرم شدن میوه و کاهش اسید قابل تیتر را به تأخیر انداخت، افزایش محتوای مواد جامد محلول کل را مهار کرد، نرخ تنفس و تولید اتیلن را کاهش داد و محتوای بالاتری از اسید آسکوربیک را در طول نگهداری حفظ کرد و به این ترتیب سبب بهبود ماندگاری و حفظ کیفیت محصول در دوره انبارمانی شد (Luo *et al.*, 2022).

عمر انبارمانی میوه فیسالیس که از انواع میوه‌های فسادپذیر با الگوی رسیدن فرازگرا است، بدون کاسه گل تنها ۴ الی ۵ روز است (Cedeño & Montenegro, 2004). ازاین‌رو، رویارویی صحیح با چالش موجود در عرضه میوه سالم و باکیفیت در بازارهای محلی به هدف مصرف بلادرنگ و تازه‌خوری ضرورت دارد؛ بنابراین، هدف از پژوهش حاضر تلاش برای بهبود عمر انبارمانی و کیفیت پس از برداشت میوه‌های فیسالیس برداشت شده در مرحله سوم (S3) بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

میوه‌های کاملاً نارنجی فیسالیس با کاسبرگ‌های کاملاً زرد از یک گلخانه تجاری در پاسارگاد (استان فارس) برداشت شدند. این میوه‌ها به‌سرعت با استفاده از جعبه‌های مقوایی به آزمایشگاه منتقل شدند. میوه‌های مناسب با ارزیابی بصری انتخاب شدند که در این ارزیابی به یکنواختی اندازه، رنگ، و عدم وجود آسیب یا آلودگی توجه شد. پس از آن، میوه‌ها با آب دیونیزه شسته و در دمای اتاق خشک شدند.

تیمارها

در ابتدا، ملاتونین تهیه‌شده از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma-Aldrich) ساخت کشور اسپانیا، در اتانول حل شد و سپس با آب مقطر رقیق شد تا به غلظت‌های موردنظر ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار (µM) برسد. هر تیمار شامل غوطه‌ور کردن شصت میوه به مدت ۵ دقیقه در محلول‌های ملاتونین بود و از آب مقطر به‌عنوان کنترل استفاده شد. میوه‌های تیمار شده برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شدند و سپس در کیسه‌های پلی‌اتیلن با ضخامت ۰/۰۳ میلی‌متر (ابعاد ۱۰ × ۵ × ۲۰ سانتی‌متر) با نسبت سوراخ ۳ درصد بسته‌بندی شدند. این میوه‌ها به مدت ۲۱ روز در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۹۰ درصد انبار شدند. میوه‌ها به‌صورت هفتگی از انبار خارج و در طول ۲۱ روز مورد ارزیابی

قرار گرفتند. همچنین، به منظور بررسی و نه برای مقایسه‌های آماری، ویژگی‌های مدنظر در روز اول آزمایش و قبل از شروع دوره نگهداری نیز سنجش شدند.

طرح آزمایشی

طرح آزمایشی مورداستفاده فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) شامل ۱۲ تیمار با سه تکرار برای هر تیمار (۲۰ میوه در هر تکرار) بود. فاکتورهای آزمایشی شامل غوطه‌وری میوه‌ها در چهار سطح غلظت محلول ملاتونین (۱۰۰، ۲۰۰، و ۳۰۰ میکرومولار و آب مقطر به‌عنوان شاهد) و زمان نمونه‌برداری در سه سطح (روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ انبارمانی) بود.

نرخ تنفس میوه

مقدار مشخصی از میوه تازه فیسالیس در یک محفظه شیشه‌ای بدون هوا قرار گرفت و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. میزان دی‌اکسیدکربن تولید شده توسط تنفس میوه با استفاده از حسگر دی‌اکسیدکربن Altro ساخت کشور تایوان اندازه‌گیری شد و به‌صورت میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن به‌ازای کیلوگرم میوه تازه در ساعت بیان شد (Hayati *et al.*, 2023).

مواد جامد محلول کل(TSS) ، اسید قابل تیتر (TA)

مواد جامد محلول کل آب‌میوه با استفاده از یک قند سنج دستی (ATAGO-B933475) اندازه‌گیری و به‌صورت درصد بیان شد. برای تعیین اسید قابل تیتر، روش تیتر کردن با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به اسیدیته ۸/۲ انجام شد. نتایج به‌صورت درصد اسید سیتریک بیان شد (Hayati *et al.*, 2023).

اسید آسکوربیک آب‌میوه

اسید آسکوربیک آب‌میوه با استفاده از روش تیتر کردن ۲،۶–دیکلروفنول‌ایندوفنول اندازه‌گیری شد و به‌صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه گزارش شد (Taghipour & Assar, 2022).

فنول کل آب‌میوه

میزان کل فنول با استفاده از روش رنگ‌سنجی فولین – سیوکالتئو اندازه‌گیری شد (Pennycooke *et al.*, 2005). در این روش، ۱۳۵ میکرولیتر عصاره میوه با ۷۵۰ میکرولیتر معرف فولین – سیوکالتئو ۱۰ درصد و ۶۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد ترکیب شد. مخلوط به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و سپس میزان جذب در ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر خوانش شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون با کاربرد اسید گالیک به‌عنوان استاندارد، میزان فنول کل به‌صورت میکرومول اسید گالیک در گرم وزن تازه میوه کمی‌سازی شد.

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) آب‌میوه

فعالیت PAL با استفاده از روش دی کونا و همکاران (D'Cunha *et al.*, 1996) ارزیابی شد و به‌صورت واحد در هر گرم وزن تازه گزارش شد. به‌اختصار، ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷)، ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل‌آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت

انکوبه شدند. واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۶ مولار متوقف شد و جذب در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر خوانش شد.

فعالیت پاداکسنده کل آب‌میوه

سه میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به ۱ گرم نمونه میوه اضافه شد و مخلوط به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از سانتریفیوژ در دور ۱۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه، مایع رویی جمع‌آوری شد تا میزان کل فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تجزیه و تحلیل شود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون حذف رادیکال‌های آزاد ۲،۲–دی‌فنیل–۱–پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) ارزیابی شد (Hayati *et al.*, 2023). برای این منظور، ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH متانولی ۰/۱ میلی‌مولار با ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی مخلوط شد. مخلوط در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه استراحت داده شد و میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. توانایی پالایش رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

(۱) توانایی پالایش رادیکال‌های آزاد DPPH (درصد بازدارندگی) = ۱۰۰ × (جذب کنترل – جذب نمونه) / جذب کنترل

فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (PPO) آب‌میوه

عصاره‌گیری و سنجش فعالیت آنزیمی طبق روش توضیح داده شده توسط تقی‌پور و همکاران (Taghipour *et al.*, 2021) انجام شد. به‌اختصار، ۵ گرم بافت تازه به مدت ۲ دقیقه در مخلوط‌کن پیش‌سرد شده حاوی ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم سرد (۰/۱ مولار، اسیدیته ۷/۲) با ۱ درصد Triton X-100 همگن شد. همگن حاصل فیلتر و به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ در دمای ۲ درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. مایع رویی برای آزمایش فعالیت آنزیمی نگهداری شد. برای سنجش فعالیت PPO، نرخ اولیه افزایش جذب در ۴۲۰ نانومتر مدنظر قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (اسیدیته ۶)، ۰/۳ میلی‌لیتر کاتکول ۰/۵ مولار به‌عنوان پیش ماده و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود و حجم کل به ۳ میلی‌لیتر رسید. بلانک شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (اسیدیته ۶) بود. دو کنترل استفاده شد: ۲/۷ میلی‌لیتر بافر و ۰/۳ میلی‌لیتر پیش ماده و دیگری ۲/۸ میلی‌لیتر بافر و ۰/۲ میلی‌لیتر پیش ماده. جذب کنترل‌ها از جذب نمونه کسر شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان افزایش در جذب به مقدار ۰/۰۰۱ در دقیقه تعریف شد و فعالیت ویژه آنزیم به‌صورت واحد در هر گرم وزن تازه بیان شد.

کاروتنوئید پوست

برای تعیین میزان کاروتنوئید، ۰/۱ گرم پوست میوه با ۷ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان حلال عصاره‌گیری شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس حجم عصاره به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. میزان جذب در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانش شد. میزان کاروتنوئید با استفاده از معادلات مربوطه محاسبه شد و به‌صورت میکروگرم به ازای هر گرم وزن تازه بیان شد (Hiscox and Israelstam, 1979).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۵ درصد تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه‌های میانگین با استفاده از آزمون کمینه اختلافات معنی‌دار (LSD) انجام شد. تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹،۴ انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس بیانگر اثر معنی‌دار تمام فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش آن‌ها بر تمامی صفات مورد ارزیابی بود (جدول ۱).

نرخ تنفس میوه

روند تغییر نرخ تنفس میوه‌های شاهد و تحت تیمار به‌صورت افزایش معنی‌دار تا روز ۱۴ از دوره انبارمانی و کاهش معنی‌دار متعاقب آن تا پایان دوره بود. در تمام زمان‌های نمونه‌گیری شدت تنفس میوه‌های شاهد به‌صورت معنی داری بیش از میوه‌های تحت تیمار ملاتونین بود. در انتهای آزمایش کمینه میزان نرخ تنفس، به ترتیب با مقادیر حدود ۴۷ و ۴۹ میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن به‌ازای کیلوگرم میوه تازه در ساعت، مربوط به میوه‌های تحت تیمار با غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین بود و میوه های شاهد با حدود ۷۴/۵ میلی‌گرم دی‌اکسیدکربن به‌ازای کیلوگرم میوه تازه در ساعت بیشینه نرخ تنفس را دارا بودند (شکل ۱–الف).

TSS آب‌میوه

در مورد میوه‌های شاهد مقدار TSS آب‌میوه در بازه زمانی روزهای هفتم الی چهاردهم انبارمانی افزایش معنی‌دار یافت؛ اما در ادامه دوره دچار تغییر آماری نشد. در مورد هر کدام از گروه‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف ملاتونین تا چهاردهمین روز انبارمانی تفاوتی در میزان این شاخص نسبت به‌روز هفتم خود مشاهده نشد؛ اما در ادامه به نحوی افزایش اتفاق افتاد که مقدار TSS روز انتهای انبارمانی به‌صورت معنی‌داری نسبت به‌روز هفتم بیشتر بود. به‌هرحال، در هر کدام از زمان‌های نمونه‌گیری تفاوتی بین میزان TSS آب‌میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف ملاتونین وجود نداشت و نسبت به شاهد TSS کمتری داشتند (شکل ۱–ب).

TA آب‌میوه

روند تغییر میزان TA آب‌میوه‌های گروه‌های آزمایشی به‌صورت کاهش معنی‌دار بود با این توضیح که در هر گروه، مقدار اندازه‌گیری شده در هر زمان نسبت به زمان پیشین به‌صورت معنی‌دار کمتر بود. اما تفاوت عمده‌ای بین میزان TA آب‌میوه‌های تحت تیمار با ملاتونین و میوه‌های شاهد وجود داشت و در تمام زمان‌های نمونه‌گیری میوه‌های تحت تیمار میزان TA بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند. در دو زمان نمونه‌گیری انتهایی آزمایش تفاوتی بین خود میوه‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف ملاتونین وجود نداشت (شکل ۱–پ).

اسید آسکوربیک آب‌میوه

در هفتمین روز انبارمانی میزان اسید آسکوربیک میوه‌های تحت تیمار با غلظت‌های مختلف ملاتونین مشابه هم و مشابه با میوه‌های شاهد بود و تنها استثنا میوه‌های تیمار شده با ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین (حاوی ۶۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه) بود که نسبت به شاهد (حاوی ۵۹/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه) اسید آسکوربیک بیشتری داشتند. روند تغییر این شاخص در ادامه دوره انبارمانی و در همه گروه‌های آزمایشی به‌صورت افزایش معنی‌دار تا روز چهاردهم و عدم تغییر معنی‌دار تا انتهای دوره انبارمانی بود. بیشترین مقدار این شاخص در بیست و یکمین روز انبارمانی (حدود ۱۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه) مربوط به میوه‌های تحت تیمار با ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین بود که مشابه با میوه‌های تحت تیمار

با ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین بود اما نسبت به سایر گروه ها به ویژه میوه‌های شاهد (حدود ۱۱۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه) به‌صورت معنی‌دار بیشتر بود (شکل ۱–ت).

فنول کل آب‌میوه

روند تغییر محتوای فنول کل آب‌میوه در تمام گروه‌های آزمایشی به‌صورت افزایش معنی‌دار در بازه زمانی روزهای ۷ الی ۱۴ دوره انبارمانی و کاهش معنی‌دار در طی بازه ۷ روزه انتهای دوره بود. در تمام زمان‌های نمونه‌برداری میوه‌های تحت تیمار با بالاترین غلظت ملاتونین با اختلاف معنی داری بیش ترین محتوای فنول کل آب‌میوه را در بین همه گروه‌های آزمایشی دارا بودند و تفاوت بین سایر گروه‌های آزمایشی نیز در انتهای دوره انبارمانی مشهود شد با این توضیح که هر چه غلظت تیمار به کار رفته بیش تر بود سطح فنول کل آب‌میوه نیز با اختلاف معنی دار بیش تر از سطح مربوط به غلظت‌های کمتر بود. به عبارت دیگر، میوه‌های تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین با حدود ۱۴/۵ میکرومول اسید گالیک در گرم وزن تازه بیش‌ترین و میوه های تحت تیمار با غلظت‌های ۲۰۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین با حدود ۱۳/۵ و ۱۳ میکرومول اسید گالیک در گرم وزن تازه میوه در رتبه‌های بعدی مقدار شاخص نامبرده قرار گرفتند و از نظر آماری تفاوتی بین میوه‌های تحت تیمار با کم‌ترین غلظت ملاتونین و شاهد وجود نداشت. در دو زمان نمونه‌برداری ابتدایی نیز تفاوتی بین فنول کل آب‌میوه‌های شاهد و تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین نبود (شکل ۲–الف).

فعالیت آنزیم PAL آب‌میوه

سطح فعالیت آنزیم PAL در شروع آزمایش ۲۱/۵۵ واحد در هر گرم وزن تازه بود. مقدار این شاخص در میوه‌های شاهد با گذشت زمان انبارمانی با کاهش معنی‌دار در هر زمان نمونه‌گیری نسبت به زمان قبلی همراه بود و در نهایت به ۱۴/۴۴ واحد در هر گرم وزن تازه رسید. در مورد میوه‌های تیمار شده با دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین علی رغم افزایش اولیه به ترتیب حدود ۲/۵ و ۳/۵ واحدی فعالیت آنزیم در روز هفتم نسبت به شروع آزمایش، تغییری در میزان شاخص نامبرده با گذشت بیش‌تر زمان مشاهده نشد. روند تغییر فعالیت آنزیمی در میوه‌های تحت تیمار با غلظت ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین به‌صورت افزایشی بود به‌گونه‌ای که در نهایت در انتهای دوره انبارمانی مقدار این شاخص (۲۷/۶۹ واحد در هر گرم وزن تازه) نسبت به‌روز هفتم (۲۶/۴۱ واحد در هر گرم وزن تازه) به‌صورت معنی‌دار بیشتر بود. البته سطح این شاخص در میوه‌های تحت تیمار با بالاترین غلظت ملاتونین همواره بیش از میوه‌های سایر گروه‌های آزمایشی بود (شکل ۲–ب).

فعالیت پاداکسنده آب‌میوه

روند تغییر سطح فعالیت پاداکسنده تمام گروه‌های آزمایشی به‌صورت کاهش معنی‌دار در طول زمان انبارمانی بود با این توضیح که در مورد هر گروه در هر زمان نمونه‌برداری نسبت به زمان قبلی کاهش معنی‌دار مشاهده شد. استثنا میوه‌های تیمار شده با بالاترین غلظت ملاتونین بودند که تا روز ۱۴ از انبارمانی سطح فعالیت پاداکسنده بی تغییر بود و پس از آن کاهش معنی‌دار اتفاق افتاد. اما به هر حال در تمام زمان‌های نمونه‌برداری میوه‌های تحت تیمار با غلظت‌های بالاتر ملاتونین نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی فعالیت پاداکسنده آب‌میوه بیشتری داشتند. در انتهای دوره انبارمانی، میوه‌های تحت تیمار با غلظت ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین با حدود ۴۰ درصد بیش‌ترین و میوه‌های شاهد با حدود ۲۸ درصد کم‌ترین مقادیر این شاخص را دارا بودند (شکل ۲–پ).

فعالیت آنزیم PPO آب‌میوه

روند تغییر فعالیت آنزیم PPO در تمام گروه‌های آزمایشی به‌صورت کاهش معنی‌دار در تمام زمان‌های نمونه‌برداری نسبت به زمان پیشین بود. به‌طورکلی تیمار میوه‌ها با غلظت‌های بالاتر ملاتونین با کاهش بیش‌تر سطح فعالیت آنزیم PPO همراه بود. از نظر آماری در هر زمان نمونه‌برداری سطح فعالیت آنزیمی میوه‌های تحت تیمار با ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین نسبت به میوه‌های شاهد به‌صورت معنی‌دار کمتر بود و میوه‌های تحت تیمار با ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین حد واسط این دو گروه و با هر دو مشابه بودند. تا چهاردهمین روز از دوره انبارمانی سطح فعالیت آنزیمی میوه‌های دو گروه تیمار شده با غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین مشابه هم بود؛ اما در ادامه دوره انبارمانی میوه‌های تیمار شده با بالاترین غلظت ملاتونین کمینه سطح فعالیت آنزیمی (۳/۴۶ واحد در هر گرم وزن تازه) و میوه‌های شاهد بیشینه سطح آن را (۴/۳۹ واحد در هر گرم وزن تازه) دارا بودند (شکل ۲-ت).

کاروتنوئید پوست میوه

با گذشت زمان انبارمانی سطح کاروتنوئید پوست میوه‌های همه گروه‌های آزمایشی با افزایش معنی‌دار همراه بود. در تمامی زمان‌های نمونه‌گیری میزان کاروتنوئید پوست میوه‌های تحت تیمار نسبت به میوه‌های شاهد بیشتر بود و از نظر عددی میوه‌هایی که تحت تیمار غلظت‌های بالاتر ملاتونین بودند میزان کاروتنوئید بیشتری داشتند. در انتهای دوره انبارمانی تفاوت بین میزان کاروتنوئید پوست میوه‌های تحت تیمار با بالاترین غلظت ملاتونین (حدود ۱۵ میکروگرم به ازای هر گرم وزن تازه) و سایر گروه‌ها، به‌ویژه شاهد (حدود ۱۲ میکروگرم به ازای هر گرم وزن تازه) به طور واضح‌تر مشهود شد (شکل ۳).

بحث

میوه‌ها همانند سایر محصولات باغبانی در مرحله پس از برداشت دچار تنش اکسایشی می‌شوند که برآیند آن تخریب مولکول‌های درشت، اسیدهای نوکلئیک، چربی‌ها، پروتئین‌ها، کاهش عمر انبارمانی و افت کیفیت پس از برداشت است (Tian, 2013).

میوه‌ها نظام‌های پاداکسنده غیرآنزیمی شامل ترکیباتی مانند اسید آسکوربیک، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها را برای مبارزه با گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)، به‌عنوان عامل وقوع آبشار تخریب ساختارها و مولکول‌های حیاتی، توسعه داده‌اند (Miranda *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2019). این نظام‌ها تجمع ROS و پراکسیداسیون چربی‌ها را کاهش می‌دهند و عمر پس از برداشت را با تقویت تمامیت سلولی افزایش می‌دهند (Noctor and Foyer, 1998).

بالاگوئرا-لوپز و همکاران (Balaguera-López *et al.*, 2016) دریافتند که با افزایش بلوغ میوه‌های فیسالیس، مقادیر تولید اتیلن، شدت تنفس، رنگ‌گیری و محتوای TSS بیشتر می‌شود، درحالی‌که میزان اسید تیتر شونده کمتر می‌شود. همان‌طور که در بخش نتایج شرح داده شده است، به‌طورکلی تیمار ملاتونین پس از برداشت منجر به کاهش تنفس و فعالیت PPO آب‌میوه؛ و بهبود یا حفظ مقادیر کاروتنوئید پوست، TSS، TA، اسید آسکوربیک ، فنول کل، فعالیت آنزیم PAL و فعالیت پاداکسنده کل در آب‌میوه شد.

ملاتونین به‌عنوان یک هورمون گیاهی، ترکیبی ایمن و بی‌خطر برای محیط‌زیست شناخته می‌شود و به‌عنوان یک مولکول اصلی سیگنال‌دهی حین رویارویی با تنش‌های زیستی و غیرزیستی عمل می‌کند و خود به‌عنوان یک خنثی‌کننده قوی رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014; Tan *et al.*, 1993). ملاتونین محرک بیان ژن‌های مرتبط با پاداکسنده‌ها، و تقویت‌کننده سازوکار مهار و خنثی‌سازی ROS است. علاوه بر این، ملاتونین ترکیب اسیدهای چرب غشا را تغییر داده و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع (unSFA/SFA) را افزایش داده و سختی غشا را کاهش می‌دهد (Jannatizadeh *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2020). کاربرد برون‌زاد ملاتونین موجب افزایش محتوای ملاتونین درون‌زاد میوه و فعالیت ژن‌های بیوسنتز آن شده و به حفظ کیفیت در شرایط تنش پس از برداشت کمک می‌کند (Dubbels *et al.*, 1995; Hu *et al.*, 2017).

پیرو کاربرد ملاتونین تأخیر در پیری و کندشدن نرخ تنفس میوه اتفاق می‌افتد (Onik *et al.*, 2021; Rastegar *et al.*, 2020; Tian, 2013). توانایی ملاتونین در مهار تنفس و تولید اتیلن و همسویی با مهار فعالیت PPO به حفظ شاخص‌های کیفیت مانند TSS و TA و جلوگیری از قهوه‌ای شدن و تغییر رنگ پوست و بافت گوشت میوه می‌انجامد همان‌طور که پیش‌تر نیز بیان شده است (Bravo & Osorio, 2016; Kumar *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2018).

علاوه بر حذف ROS اضافی از طریق نظام پاداکسنده آنزیمی، چندین پاداکسنده غیرآنزیمی نیز نقش مهمی در کاهش سمیت ROS و کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها ایفا می‌کنند. ملاتونین می‌تواند به‌عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده عمل کند که بیان ژن‌های دفاعی بالادست و پایین‌دست را که کدکننده بسیاری از پاداکسنده‌های غیرآنزیمی هستند، تنظیم می‌کند (Xu *et al.*, 2019).

اسید آسکوربیک (ASA) یک پاداکسنده غیرآنزیمی معمول است که می‌تواند ROS را به طور مستقیم پاک‌سازی کند (Liu *et al.*, 2015). همسو با یافته‌های ما، بهاردواج و همکاران (Bhardwaj *et al.*, 2022) گزارش کردند که تیمار ملاتونین منجر به افزایش سطح اسید آسکوربیک در آب‌میوه انبه (*Mangifera indica*) شد. بخشی از این افزایش به نقش مهم ملاتونین در تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها و اسید آسکوربیک مربوط می‌شود (Hayati *et al.*, 2023). عامل دیگر توانایی ملاتونین در مهار فعالیت‌های متابولیک، کاهش تنفس و تأخیر در پیری میوه است که به حفظ سطح اسید آسکوربیک کمک می‌کند (Rastegar *et al.*, 2020). چنین گزارش شده است که کاربرد ملاتونین خارجی با افزایش رونویسی آنزیم‌های مرتبط با پاداکسنده‌ها چرخه اسید آسکوربیک–گلوتاتیون را در هلو (*Prunus persica*) در دوره پس از برداشت فعال می‌کند که منجر به افزایش سطح اسید آسکوربیک و طولانی‌تر شدن عمر انبارمانی محصول می‌شود (Cao *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2016). اثرات مشابه ملاتونین بر چرخه نامبرده در مورد خیار (*Cucumis sativus*) نیز مشاهده شده است (Zhao *et al.*, 2016).

تیمار با ملاتونین به طور قابل‌توجهی ظرفیت پاداکسنده میوه‌های هسته‌دار را در طول نگهداری بهبود می‌بخشد که به طور مثبت با محتوای فنول کل مرتبط است (Liu *et al.*, 2018; Puerta-Gomez and Cisneros-Zevallos, 2011). تنظیم بالادستی بیان ژن‌های مسیر فنیل‌پروپانوئید توسط ملاتونین باعث افزایش مقادیر فنولیک‌ها می‌شود، همان‌طور که در برخی محصولات باغبانی تیمار شده با ملاتونین گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018). گزارش شده است که ملاتونین می‌تواند فعالیت فنیل‌آلانین آمونیالیاز را که به انباشت فنول‌ها کمک می کند، افزایش دهد که برای مهار پوسیدگی قارچی و افزایش عمرانبارمانی هلو و توت‌فرنگی (*Fragaria×ananassa*) در دوره پس از برداشت مفید است (Gao *et al.*, 2018; Seifi *et al.*, 2013).

ترکیبات فنولی می‌توانند با جلوگیری از وقوع و گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداتیو، از چربی‌های غشایی در برابر پراکسیداسیون محافظت کنند (Pennycooke *et al.*, 2005). علاوه بر این، افزایش تأخیری آنزیم‌های مرتبط با قهوه‌ای شدن مانند پلی‌فنول اکسیداز در میوه‌های لیچی (*Litchi chinensis*) پس از تیمار با ملاتونین با افزایش محتوای فنول کل، فلاونوئیدها، و آنتوسیانین‌ها همخوانی داشت که نشان می‌دهد ملاتونین می‌تواند اکسیداسیون فنولی آنزیمی را مهار کند و قهوه‌ای شدن پوست را به تأخیر بیندازد (Zhang *et al.*, 2018). افزایش متابولیت‌های ثانویه اساسی، شامل فنولیک‌ها، فلاونوئیدها و اسید آسکوربیک در پاسخ به تیمار ملاتونین به حفظ انرژی درون‌سلولی و حذف ROS کمک می‌کند (Gao *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019).

یکی از چالش‌های کلیدی در مدیریت و فراوری پس از برداشت میوه فیسالیس، به‌ویژه میوه‌های ترک‌خورده، قهوه‌ای شدن آنزیمی است که مشکلی رایج در صنعت میوه و سبزی‌ها است و به طور منفی بر کیفیت محصول تأثیر می‌گذارد (Bravo & Osorio, 2016; Falguera *et al.*, 2012). آنزیم مسئول این فرایند، آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (PPO) است که کاتالیزور هیدروکسیلاسیون مونو فنول‌ها به o–دی فنول‌ها و اکسیداسیون بعدی o–دی فنول‌ها به o–کینون‌ها است (Falguera *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2004). این کینون‌ها با آمینواسیدها و پروتئین‌ها واکنش داده و رنگ‌دانه‌های قهوه‌ای تشکیل می‌دهند. فعالیت آنزیمی PPO در طول بلوغ میوه فیسالیس به طور قابل‌توجهی دچار تغییر می‌شود. به این صورت که بالاترین سطح فعالیت آن در مراحل اولیه نمو و کاهش تدریجی حدود ۶۳ درصد از مرحله نارس تا مرحله بیش از حد رسیده گزارش شده است. بااین‌حال، این مقدار هنوز برای قهوه‌ای شدن میوه کافی است (Bravo & Osorio, 2016). در مطالعه حاضر، میوه‌های تیمار شده با ملاتونین به طور مداوم فعالیت آنزیمی کم‌تری نشان دادند و غلظت‌های بیشتر ملاتونین اثربخشی بیش‌تری داشتند؛ بنابراین، این تیمار می‌تواند نه‌تنها برای حفظ کیفیت میوه‌های سالم، بلکه برای استفاده از میوه‌های ترک‌خورده در محصولات فراوری شده مانند آب‌میوه و پالپ، بدون به خطر انداختن ارزش غذایی و خواص ارگانولپتیک آنها مفید باشد. براوو و اسوریو (Bravo & Osorio., 2016) گزارش کردند که کنترل مؤثر فعالیت PPO برای حفظ کیفیت فیسالیس در طول نگهداری و فراوری آن الزامی است و ارزش تجاری و قابلیت فروش محصول را افزایش می‌دهد.

ملاتونین تأثیر قابل‌توجهی بر سنتز کاروتنوئیدها در انواع مختلف گونه‌های گیاهی دارد که اثرات آن به‌شدت وابسته به گونه و رقم گیاه و شرایط محیطی است. ملاتونین به طور مشخص سنتز کاروتنوئیدها را در میوه‌های گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) از طریق سازوکاری وابسته به اتیلن تحریک می‌کند و مقادیر α–کاروتن، β–کاروتن و لیکوپن (به‌عنوان کاروتنوئیدهای حیاتی برای سلامت گیاه و تغذیه انسان) را به طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهد. افزایش بیان ژن‌های بیوسنتز کاروتنوئیدها به‌عنوان منشأ این تغییرات گزارش شده است (Sun *et al.*, 2020). در مقایسه با تأثیر مورد اشاره در گوجه‌فرنگی، تیمار ملاتونین در کلم‌بروکلی (*Brassica oleracea* var. italica) به کاهش مقادیر چندین نوع کاروتنوئید، از جمله β–کاروتن، β–کریپتوکسانتین، زآگزانتین و لوتئین، منجر شده است که به تأخیر در فرایند زردشدن بروکلی کمک می‌کند. سرکوب ژن‌های بیوسنتز کاروتنوئیدها، از جمله BoPSY، BoPDS، BoZDS، BoLCYβ، و BoZEP نقش کلیدی در این رخداد ایفا کرده است (Lou *et al.*, 2023).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تیمار برون‌زاد میوه فیسالیس با ملاتونین در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۳۰۰ میکرومولار موجب بهبود ویژگی‌های کیفی و افزایش عمر انبارمانی این محصول در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. این بدان معناست که استفاده از ملاتونین به‌عنوان یک راهکار مؤثر می‌تواند در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری میوه فیسالیس پس از برداشت مورداستفاده قرار گیرد و در نتیجه، عرضه محصول سالم و تازه به بازار را برای بازه زمانی طولانی‌تر امکان‌پذیر سازد.

منابع

1. Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2014). Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends in Plant Science, 19*(12), 789–797. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.006
2. Balaguera-López, H. E., Martínez-Cárdenas, C. A., & Herrera-Arévalo, A. (2016). Effect of the maturity stage on the postharvest behavior of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits stored at room temperature. *Bioagro, 28*(2), 117–124.
3. Bhardwaj, R., Pareek, S., Mani, S., Domínguez-Ávila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2022). A melatonin treatment delays postharvest senescence, maintains quality, reduces chilling injury, and regulates antioxidant metabolism in mango fruit. *Journal of Food Quality, 2022*, 2379556. https://doi.org/10.1155/2022/2379556
4. Bravo, K., & Osorio, E. (2016). Characterization of polyphenol oxidase from cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruit. *Food Chemistry, 197*, 185–190. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.126
5. Cao, S., Shao, J., Shi, L., Xu, L., Shen, Z., Chen, W., Zhenfeng, Y. (2018). Melatonin increases chilling tolerance in post-harvest peach fruit by alleviating oxidative damage. *Scientific Reports, 8*, 806. https://doi.org/10.1038/s41598-018-19363-5
6. Cedeño, M. M., & Montenegro, D. M. (2004). *Export, logistics and marketing plan for cape gooseberry to the United States market for Frutexpo SCI LTDA* (Master's thesis). Santo Tomas University. USTA Institutional Repository. http://hdl.handle.net/11634/45832
7. D'Cunha, G. B., Satyanarayan, V., & Madhusudanan Nair, P. (1996). Purification of phenylalanine ammonia lyase from *Rhodotorula glutinis*. *Phytochemistry, 42*(1), 17–20. https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00914-0
8. Dubbels, R., Reiter, R. J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H. W., & Schloot, W. (1995). Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research, 18*(1), 28–31. https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1995.tb00136.x
9. Falguera, V., Sánchez-Riaño, A. M., Quintero-Cerón, J. P., Rivera-Barrero, C. A., Méndez-Arteaga, J. J., & Ibarz, A. (2012). Characterization of polyphenol oxidase activity in juices from 12 underutilized tropical fruits with high agroindustrial potential. *Food Bioprocess Technology, 5*, 2921–2927. https://doi.org/10.1007/s11947-011-0521-y
10. Fan, S., Xiong, T., Lei, Q., Tan, Q., Cai, J., Song, Z., Yang, M., Chen, W., Li, X., & Zhu, X. (2022). Melatonin treatment improves postharvest preservation and resistance of guava fruit (*Psidium guajava* L.). *Foods, 11*(3), 262. https://doi.org/10.3390/foods11030262
11. Fischer, G., Herrera, A., & Almanza, P. J. (2011). Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest biology and technology of tropical and*

subtropical fruits (pp. 374-397e). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1533/9780857092762.374
12. Gao, H., Lu, Z., Yang, Y., Wang, D., Yang, T., Cao, M., & Cao, W. (2018). Melatonin treatment reduces chilling injury in peach fruit through its regulation of membrane fatty acid contents and phenolic metabolism. *Food Chemistry, 245*, 659–666. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.008
13. Goulart Júnior, R., Mondardo, M., & Waintuch Reiter, J. M. (2017). *Relatório sobre a fruticultura catarinense: Fruticultura em números – Safra 2014/15* (Epagri Documentos No. 271, 114 pp.). Epagri.
14. Hayati, P., Hosseinifarahi, M., Abdi, G., Radi, M., & Taghipour, L. (2023). Melatonin treatment improves nutritional value and antioxidant enzyme activity of *Physalis peruviana* fruit during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization, 17*(4), 2782–2791. https://doi.org/10.1007/s11694-023-01819-6
15. Hiscox, J., & Israelstam, G. F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Botany, 57*(11), 1332–1334.
16. Hu, W., Yang, H., Tie, W., Yan, Y., Ding, Z., Liu, Y., Wu, C., Wang, J., Reiter, R. J., Tan, D.-X., Shi, H., Xu, B., & Jin, Z. (2017). Natural variation in banana varieties highlights the role of melatonin in postharvest ripening and quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*(43), 9987–9994. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03354
17. Jannatizadeh, A., Aghdam, M. S., Luo, Z., & Razavi, F. (2019). Impact of exogenous melatonin application on chilling injury in tomato fruits during cold storage. *Food Bioprocess Technology, 12*(5), 741–750. https://doi.org/10.1007/s11947-019-2247-1
18. Jiang, Y., Duan, X., Joyce, D., Zhang, Z., & Li, J. (2004). Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chemistry, 88*, 443–446. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.004
19. Kumar, R., Khurana, A., & Sharma, A. K. (2014). Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits. *Journal of Experimental Botany, 65*(17), 4561–4575. https://doi.org/10.1093/jxb/eru277
20. Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W., & Zheng, L. (2018). Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology, 139*, 47-55. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.016
21. Liu, N., Jin, Z., Wang, S., Gong, B., Wen, D., Wang, X., Wei, M., & Shi, Q. (2015). Sodic alkaline stress mitigation with exogenous melatonin involves reactive oxygen metabolism and ion homeostasis in tomato. *Scientia Horticulturae, 181*, 18-25. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.049
22. LoNDoÑo, J. (Ed.). (2013). *Physalis peruviana: fruta andina para el mundo: cultivo, recurso genético, agroindustria, normativa y mercado*. Madrid, Spain: Editorial Académica Española.
23. Lou, J., Wu, C., Wang, H., Cao, S., Wei, Y., Chen, Y., Jiang, S., Shao, X., & Xu, F. (2023). Melatonin treatment delays postharvest senescence of broccoli with regulation of carotenoid metabolism. *Food Chemistry, 408*, 135185. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135185
24. Luo, S., Hu, H., Wang, Y., Zhou, H., Zhang, Y., Zhang, L., & Li, P. (2020). The role of melatonin in alleviating the postharvest browning of lotus seeds through energy metabolism and membrane lipid metabolism. *Postharvest Biology and Technology, 167*, 111243. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111243
25. Luo, Z., Zhang, J., Xiang, M., Zeng, J., Chen, J., & Chen, M. (2022). Exogenous melatonin treatment affects ascorbic acid metabolism in postharvest 'Jinyan' kiwifruit. *Frontiers in Nutrition, 9*, 1081476. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1081476

26. Miranda, S., Vilches, P., Suazo, M., Pavez, L., García, K., Méndez, M. A., González, M., Meisel, L. A., Defilippi, B. G., & del Pozo, T. (2020). Melatonin triggers metabolic and gene expression changes leading to improved quality traits of two sweet cherry cultivars during cold storage. *Food Chemistry, 319*, 126360. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126360
27. Noctor, G., & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology*, *49*, 249–279.
28. Onik, J. C., Wai, S. C., Li, A., Lin, Q., Sun, Q., Wang, Z., & Duan, Y. (2021). Melatonin treatment reduces ethylene production and maintains fruit quality in apple during postharvest storage. *Food Chemistry, 337*, 127753. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127753
29. Pennycooke, J. C., Cox, S., & Stushnoff, C. (2005). Relationship of cold acclimation, total phenolic content, and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia × hybrida*). *Environmental and Experimental Botany, 53*(3), 225–232. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.04.002
30. Puerta-Gomez, A. F., & Cisneros-Zevallos, L. (2011). Postharvest studies beyond fresh market eating quality: Phytochemical antioxidant changes in peach and plum fruit during ripening and advanced senescence. *Postharvest Biology and Technology*, *60*(3), 220–224. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.01.005
31. Rastegar, S., Hassanzadeh Khankahdani, H., & Rahimzadeh, M. (2020). Effects of melatonin treatment on the biochemical changes and antioxidant enzyme activity of mango fruit during storage. *Scientia Horticulturae, 259*, 108835. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108835
32. Seifi, H. S., Curvers, K., De Vleesschauwer, D., Delaere, I., Aziz, A., & Höfte, M. (2013). Concurrent overactivation of the cytosolic glutamine synthetase and the GABA shunt in the ABA-deficient sitiens mutant of tomato leads to resistance against *Botrytis cinerea*. *New Phytologist*, *199*(2), 490–504. https://doi.org/10.1111/nph.12283
33. Shenstone, E., Lippman, Z., & Van Eck, J. (2020). A review of nutritional properties and health benefits of *Physalis* species. *Plant Foods for Human Nutrition*, *75*(3), 316–325. https://doi.org/10.1007/s11130-020-00821-3
34. Soleimani Aghdam, M., Mukherjee, S., Flores, F. B., Arnao, M. B., Luo, Z., & Corpas, F. J. (2023). Functions of melatonin during postharvest of horticultural crops. *Plant & Cell Physiology*, *63*(12), 1764–1786. https://doi.org/10.1093/pcp/pcab175
35. Song, L. L., Wang, J. H., Shafi, M., Liu, Y., Wang, J., Wu, J. S., … & Zheng, W. (2016). Hypobaric treatment effects on chilling injury, mitochondrial dysfunction, and the ascorbate-glutathione (ASA-GSH) cycle in postharvest peach fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(18), 4665–4674. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00623
36. Sun, C., Liu, L., Wang, L., Li, B., Jin, C., & Lin, X. (2021). Melatonin: A master regulator of plant development and stress responses. *Journal of Integrative Plant Biology*, *63*(1), 126–145. https://doi.org/10.1111/jipb.12993
37. Sun, Q., Liu, L., Zhang, L., Lv, H., He, Q., Guo, L., Zhang, X., He, H., Ren, S., Zhang, N., Zhao, B., & Guo, Y.-D. (2020). Melatonin promotes carotenoid biosynthesis in an ethylene-dependent manner in tomato fruits. *Plant Science, 298*, 110580. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110580
38. Taghipour, L., & Assar, P. (2022). The effect of postharvest polyamine application on the physicochemical traits, bioactive compounds, and antioxidant activity of sweet lime fruit. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *23*(1), 167–178. https://journal-irshs.ir/article-1-589-en.html. (In Persian with English abstract)

39. Taghipour, L., Rahemi, M., Assar, P., Mirdehghan, S. H., & Ramezanian, A. (2021). Intermittent warming as an efficient postharvest treatment affects the enzymatic and non-enzymatic responses of pomegranate during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization, 15*(1), 12–22. https://doi.org/10.1007/s11694-020-00607-w
40. Tan, D.-X., Chen, L. D., Poeggeler, B., Manchester, L. C., & Reiter, R. J. (1993). Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine Journal*, *1*(1), 57–60. https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1993.tb00498.x
41. Tian, S. (2013). Molecular mechanisms of fruit ripening and senescence. *Chinese Bulletin of Botany*, *48*(5), 481. https://doi.org/10.3724/SP.J.1259.2013.00481
42. Wang, F., Zhang, X., Yang, Q., & Zhao, Q. (2019). Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries. *Food Chemistry*, *301*, 125311. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125311
43. Xu, B. Y., Su, W., Liu, J. H., Wang, J. B., & Jin, Z. Q. (2007). Differentially expressed cDNAs at the early stage of banana ripening identified by suppression subtractive hybridization and cDNA microarray. *Planta*, *226*(2), 529–539. https://doi.org/10.1007/s00425-007-0502-6
44. Xu, T., Chen, Y., & Kang, H. (2019). Melatonin is a potential target for improving post-harvest preservation of fruits and vegetables. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1388. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01388
45. Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y., Ren, S., Zhao, B., & Guo, Y.-D. (2016). Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 197. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00197
46. Zhang, Y., Huber, D. J., Hu, M., Jiang, G., Gao, Z., Xu, X., Jiang, Y., & Zhang, Z. (2018). Delay of postharvest browning in litchi fruit by melatonin via the enhancing of antioxidative processes and oxidation repair. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(30), 7475–7484. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01922
47. Zhao, H. L., Ye, L., Wang, Y. P., Zhou, X. T., Yang, J. W., Wan, J. W., … & Zhang, J. (2016). Melatonin increases the chilling tolerance of chloroplasts in cucumber seedlings by regulating photosynthetic electron flux and the ascorbate-glutathione cycle. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1314. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01814
48. Zheng, H., Liu, W., Liu, S., Liu, C., & Zheng, L. (2019). Effects of melatonin treatment on the enzymatic browning and nutritional quality of fresh-cut pear fruit. *Food Chemistry*, *299*, 125116. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125116

نسخه پیش انتشار

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمار برون‌زاد ملاتونین بر برخی ویژگی‌های میوه فیسالیس حین انبارمانی.

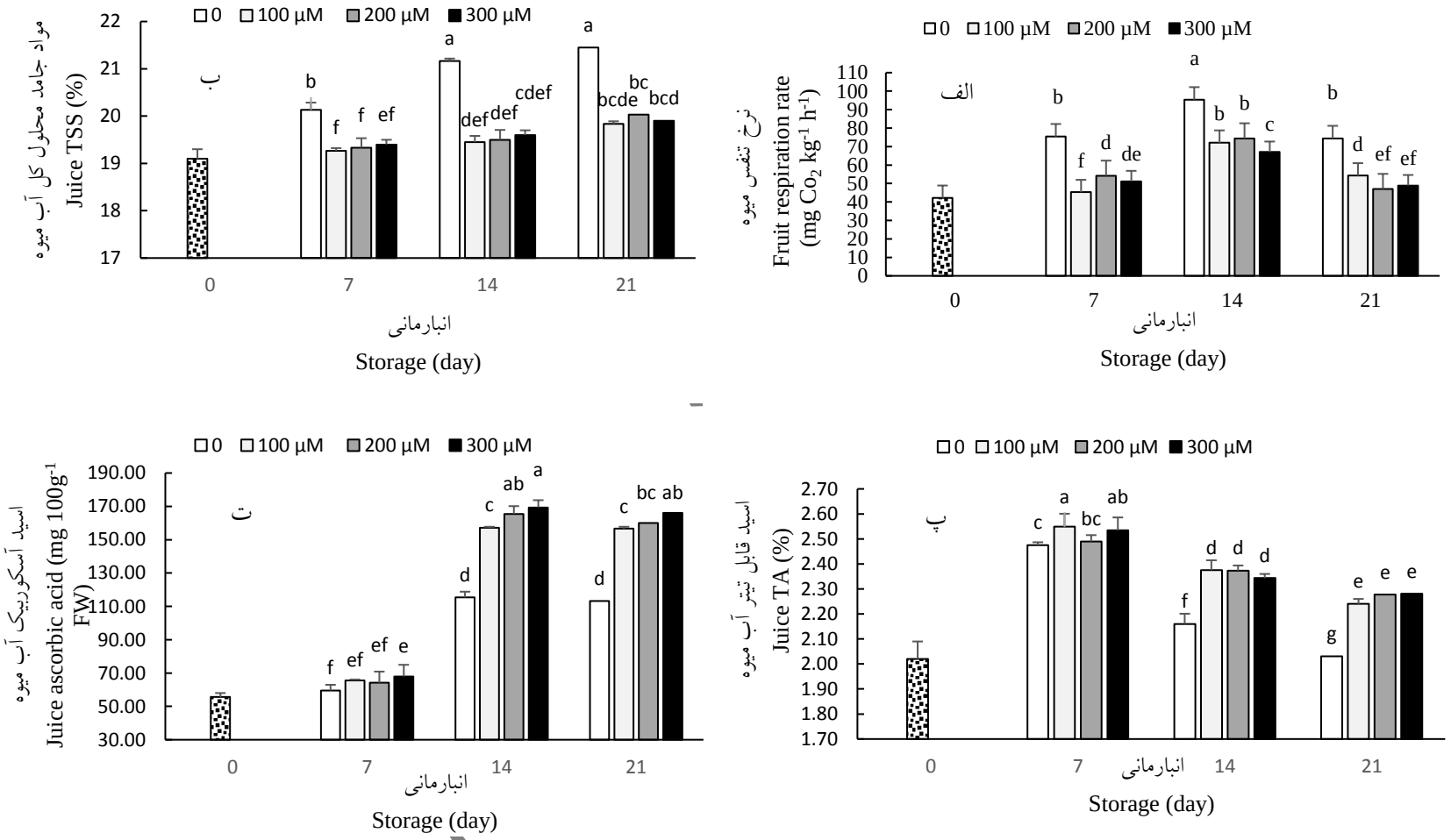
Table 1. Analysis of variance of the effect of exogenous melatonin treatment on certain characteristics of physalis fruit during storage.

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares								
		نرخ تنفس میوه Fruit respiration rate	مواد جامد محلول کل آب میوه Juice TSS	اسید قابل تیتر آب میوه Juice TA	اسید آسکوربیک آب میوه Juice ascorbic acid	فنول کل آب میوه Juice total phenol	فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز آب میوه Juice PAL activity	فعالیت پاداکسنده آب میوه Juice antioxidant activity	فعالیت پلی فنول اکسیداز آب میوه Juice PPO activity	کاروتنوئید پوست Peel carotenoid
غوطه‌وری در ملاتونین Dip in melatonon	3	1370.87**	3.98**	0.06**	2735.98**	4.20**	182.53**	225.32**	28.88**	12.61**
زمان Time	2	1743.29**	1.78**	0.29**	29702.77**	7.71**	4.75**	366.49**	4.60**	36.91**
غوطه‌وری در ملاتونین × زمان Dip in melatonon × time	6	43.18**	0.17*	0.01**	452.82**	0.11*	4.75**	4.21**	0.32*	0.24*
خطا Error	24									
ضریب تغییرات CV (%)		4.66	1.44	1.44	3.61	2.23	2.67	2.38	4.86	4.87

**، * و ns: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

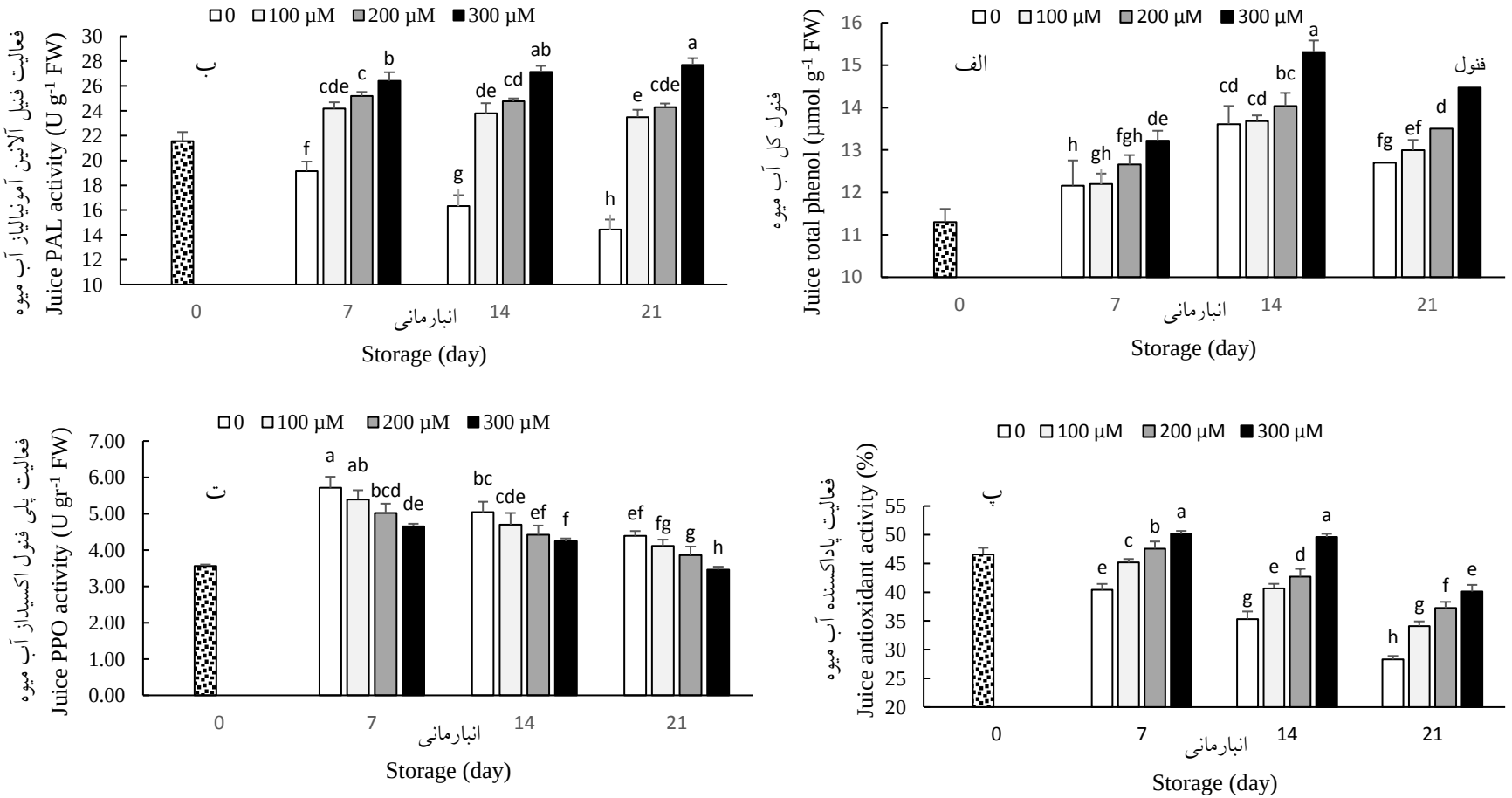
**, *, and ns: significantly different at 1%, 5% and no significant differences, respectively.

نسخه پیش انتشار



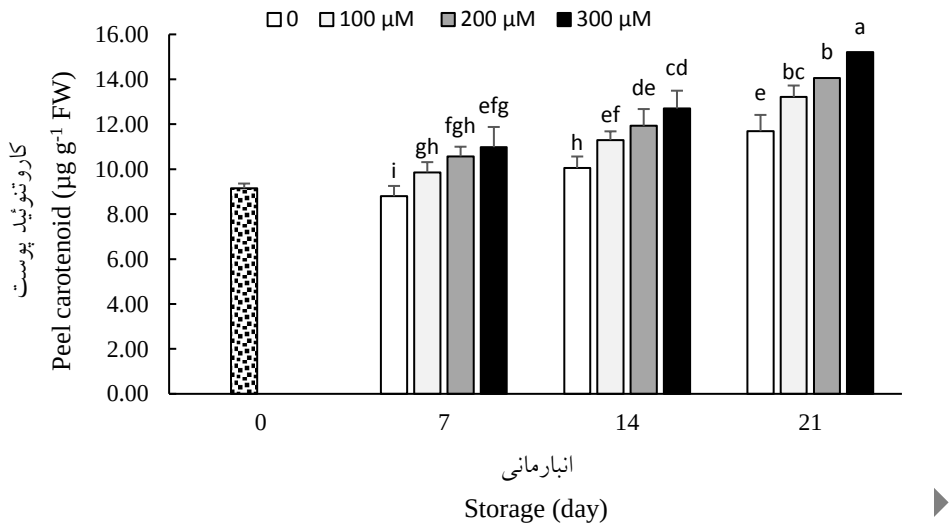
شکل ۱- اثر تیمار ملاتونین (غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، و ۳۰۰ میکرومولار) بر برخی ویژگی های میوه فیسالیس طی ۲۱ روز انبارمانی. تفاوت های آماری با حروف کوچک انگلیسی نمایش داده شده اند.

Figure 1- The effect of melatonin treatment (at concentrations of 100, 200, and 300 µM) on certain characteristics of physalis fruit during 21 days of storage. Statistical differences are indicated by lowercase English letters (LSD, $p \leq 0.05$).



شکل ۲- اثر تیمار ملاتونین (غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، و ۳۰۰ میکرومولار) بر برخی ویژگی های میوه فیسالیس طی ۲۱ روز انبارمانی. تفاوت های آماری با حروف کوچک انگلیسی نمایش داده شده اند.

Figure 2- The effect of melatonin treatment (at concentrations of 100, 200, and 300 µM) on certain characteristics of physalis fruit during 21 days of storage. Statistical differences are indicated by lowercase English letters (LSD, $p \leq 0.05$).



شکل۳- اثر تیمار ملاتونین (غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، و ۳۰۰ میکرومولار) بر کاروتنوئید پوست میوه فیسالیس طی ۲۱ روز انبارمانی. تفاوت های آماری با حروف کوچک انگلیسی نمایش داده شده اند.

Figure 3- The effect of melatonin treatment (at concentrations of 100, 200, and 300 µM) on the peel carotenoid content of physalis fruit during 21 days of storage. Statistical differences are indicated by lowercase English letters (LSD, $p \leq 0.05$).

نسخه پیش انتشار