نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 504-492
شاپا: 4730 - 2008

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 492-504
ISSN: 2008 - 4730

بررسی تاثیرکاربرد اکسید نیتریک بر کاهش اثرات نامطلوب سرما بر میوه پرتقال واشنگتن ناول (*Citrus sinensis* L. cv. Washington Navel) طی انبارداری

بهاره قربانی[1*] - زهرا پاک کیش[2]

تاریخ دریافت: 1394/05/10
تاریخ پذیرش: 1395/12/03

چکیده

پرتقال واشنگتن ناول یکی از مهمترین مرکبات در ایران است. میوه پرتقال واشنگتن ناول که در دمای زیر 5 درجه سانتیگراد نگه داشته شود، عارضه فرورفتگی در پوست را به شدت نشان می دهد و افزایش در شدت علائم سرمازدگی با دمای پایین تر و مدت زمان انبارداری طولانی تر، افزایش می یابد. این آزمایش به منظور بررسی اثر اکسید نیتریک ، برکاهش خسارت سرمازدگی و ویژگی‌های بیوشیمیایی پرتقال رقم واشنگتن ناول طی انبارداری انجام شده است. میوه‌های این رقم تجاری با غلظت‌های صفر (شاهد)، 0/25 و 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک تیمار و سپس در دمای 1±5 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی 90- 85 درصد، به مدت 5 ماه نگهداری شدند و ویژگی‌هایی نظیر سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها، پراکسید هیدروژن، مواد جامد محلول، اسیدهای آلی، pH، اسیدآسکوربیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز و کاتالاز) طی 5 ماه انبارداری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد، کاربرد 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک نسبت به شاهد، به طور معنی‌داری خسارت سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن را کاهش و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را افزایش داد. طبق این نتایج، مواد جامد محلول کل، pH، اسیدآسکوربیک میوه‌های تیمار شده و شاهد در طی دوره انبارداری روند افزایشی و میزان اسیدهای آلی روند کاهشی داشتند، اما استفاده از تیمار اکسید نیتریک، تغییرات دو روند مذکور را نسبت به شاهد کمتر تغییر داد. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میوه‌های تیمار شده با اکسید نیتریک نسبت به شاهد، بسیار افزایش یافت. به طور کلی طبق نتایج حاصل از این پژوهش، میوه‌های تیمار شده با 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک ، دارای بالاترین کیفیت و بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کمترین خسارت سرمازدگی بودند.

واژه‌های کلیدی: انبارداری،آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرتقال، اکسید نیتریک

مقدمه

پرتقال (*Citrus sinensis* L.) یکی از بازارپسندترین محصولات کشاورزی است. میوه پرتقال حاوی املاح و سرشار از ویتامین‌های بسیار زیادی می‌باشد که جنبه دارویی و غذایی دارد (7) و تولید آن نیز در ایران سابقه تاریخی و طولانی دارد (12). در بین مهم‌ترین محصولات باغبانی ایران، می‌توان به انار، انجیر، خرما، پسته، سیب، زردآلو و پرتقال اشاره کرد که ایران در بین کشورهای تولید کننده پرتقال مقام هشتم را دارا می‌باشد و این جایگاه خوبی در میان کشور-های تولیدکننده مرکبات می‌باشد (10). شرایط اقلیمی متنوع ایران موجب شده است که تنوع بسیاری زیادی در ارقام و گونه‌های درختان میوه وجود داشته باشد و میوه‌های تولید شده از کیفیت مناسبی برخوردار باشند (12). پرتقال واشنگتن ناول، به عنوان زودرس‌ترین رقم پرتقال وارد بازار مصرف می‌گردد و چون محصول نوبرانه پرتقال است، باغداران بیشتر تمایل به کشت و کار این رقم نشان می‌دهند. افزایش عمر انباری به منظور افزایش بازارپسندی این رقم حائز اهمیت زیادی می‌باشد. بنابراین، شرایط قبل از برداشت و بهینه نمودن شرایط بعد از برداشت، تأثیر معنی‌داری روی کیفیت میوه خواهد داشت (12). حساسیت به دمای پایین با ظهور علایم سرمازدگی از مشکلات عمده پس از برداشت محصولات باغی می باشد. این پدیده باعث محدود کردن عمر انبارداری و کاهش کیفیت محصولات حساس به سرما می گردد. تغییر واکنش های بیوشیمیایی و فیزیولوژی مختلف در داخل میوه به همراه وقوع نابسامانی های ظاهری از علایم سرمازدگی می باشد (22). استفاده از تکنولوژی سردخانه به عنوان

1 و 2- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم باغبانی و استادیار پژوهشکده باغبانی، دانشگاه شهید باهنر،کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: ghorbani.bahareh@ymail.com)
DOI: 10.22067/jhorts4.v31i3.48300

ابزاری در جهت گسترش عمر نگهداری میوه ها و سبزی ها دارای اهمیت است. بدین منظور تکنیک های مختلفی شکل گرفته تا میزان سرمازدگی را کاهش دهند (1 و 23).

اکسید نیتریک یک رادیکال آزاد گازی شکل بسیار واکنش پذیر است که در سال های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است این ترکیب توسط گیاه تولید می شود و در غلظت های کم عمر انباری برخی از میوه ها، سبزی ها و گل های بریده را افزایش داده است (27). بر اساس گزارشات زو و همکاران (2006) در هلوهای تیمار شده با 5 و 10 میکرومول در لیتر اکسید نیتریک فعالیت آنزیمهای آ - سی - سی اکسیداز[1]، لیپوکسیژناز و میزان تولید اتیلن کاهش یافت. تیمار میوه های توت فرنگی با نیتریک اکسید با کاهش تولید اتیلن و کاهش سرعت تنفس پیری میوه ها را به تاخیر انداخته و از تغییر مواد جامد محلول و کاهش اسیدیته جلوگیری نمود (2). همچنین تیمار میوه کیوی با اکسید نیتریک سبب افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی و حفظ محتوای ویتامین ث و ای میوه شده و آسیب اکسایشی ناشی از اکسیژن های بازفعال شده را کاهش داده است (31). علاوه بر این ها اکسید نیتریک باعث کاهش علایم سرمازدگی در بسیاری از میوه ها از جمله هلو، انبه، آلو، ازگیل در طول انبار داری می شود (۳۲،۳۰،۲۹،۲۵). براساس گزارش ویو و همکاران (28) کاربرد اکسید نیتریک در غلظت 60 میلی مول بر لیتر بیشترین اثر را در کاهش آسیب سرمازدگی میوه های موز داشته است، همچنین با کاربرد تیمار مذکور میزان نشت یونی و میزان مالونیل دی آلدهید کاهش یافت.

در پژوهش حاضر به بررسی اثر اکسید نیتریک بر خواص بیوشیمیایی و کیفی میوه پرتقال واشنگتن ناول در طی دوره انبارداری پرداخته شد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر اکسید نیتریک بر کاهش سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش میزان پراکسید هیدروژن همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی تغییرات کیفی و بیوشیمیایی این محصول طی دوره انبارداری بوده‌است.

مواد و روش‌ها

میوه‌های پرتقال رقم واشنگتن ناول که روی پایه نارنج پیوند زده شده بودند و 20 سال سن داشتند، از اطراف درخت بطور تصادفی از یک باغ تجاری واقع در جنوب استان کرمان، شهرستان جیرفت در نیمه اسفند سال 1392 زمانی که میزان مواد جامد محلول کل آن ها به 7 تا10 درصد رسید (با کمک دستگاه رفرکتومتر دستی میزان کل مواد جامد محلول بررسی شد)، برداشت شدند (7) و سپس میوه‌ها به سرعت به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شدند. به منظور اعمال تیمارها، میوه‌های سالم، یکنواخت و عاری از هر نوع عامل بیماری زا انتخاب شدند و با آب معمولی کاملاً شسته تا تمام مواد زایدی که به سطح میوه چسبیده بودند، از آن جدا شوند. سپس میوه ها با آب 35 درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه شسته شدند تا از هر نوع عامل بیماری‌زایی سطحی تمیز گردند. در نهایت میوه‌ها به طور کامل خشک و با اکسید نیتریک (از ماده ای به نام سدیم نیتروپروساید که آزادکننده نیتریک اکسید هست استفاده شد) تیمار شدند. جهت اعمال تیمار اکسید نیتریک طی 5 ماه برای هر تیمار 250 میوه پرتقال درنظر گرفته شد. برای اعمال تیمار از غلظت‌های 0/25 و 0/5 میلی مولار نیتریک اکسید و آب مقطر (شاهد) به مدت 5 دقیقه با روش غوطه‌ور کردن، استفاده گردید. پس از اعمال تیمار میوه‌ها در سبدهایی به اندازه 35× 35 × 15 قرار داده شده تا کاملا" خشک شدند. بعد از خشک شدن، به سردخانه با دمای 5±1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی5 ±90 درصد (۱۱،۱۹،۲۳) به مدت 5 ماه قرار داده شدند. پس از آن نیز طی فواصل زمانی هر 30 روز یکبار، صفات زیر ارزیابی شدند. طی این آزمایش برای هر سی روز اندازه گیری صفات مورد نظر10 عدد میوه از هر تکرار استفاده شد و با توجه به تعداد تیمار و تکرار مجموعا 600 میوه استفاده شد.

سرمازدگی: ارزیابی میزان سرمازدگی در طول 5 ماه نگهداری میوه‌ها در دمای پایین انجام گرفت. وجود لکه‌های فرورفته قهوه‌ای رنگ در سطح میوه به همراه فرورفتگی‌های سطح میوه به عنوان علایم سرمازدگی در نظر گرفته شد. خسارت سرمازدگی به روش (نیل پراپورک) و با فرمول زیر محاسبه گردید (18):

درصد خسارت سرمازدگی = (تعدادکل میوه / تعداد میوه سرمازده - تعدادکل میوه) ×100

نشت یون: به منظور اندازه‌گیری نشت یون هدایت الکتریکی (EC)[2] محلول حاوی نمونه ها (قسمتی از بافت گوشت میوه پرتقال و به طور تصادفی از ده میوه استفاده شد) توسط دستگاه EC متر سنجیده شده که در واقع (EC_1) نمونه‌ها بدست آمد، بعد از سرد شدن نمونه‌ها برای بار دوم هدایت الکترنیکی (EC_2) محلول حاوی برش-های جوانه سنجیده شد (21). برای بدست آوردن مقدار نشت یون از رابطه زیر استفاده گردید:

$$EL=EC_1/EC_2\times100$$

پراکسیداسیون لیپید غشاء: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون‌دآلدئید حاصل از این واکنش به روش هیس و پاکر (13) اندازه‌گیری شد (13). بر طبق این روش 0/2 گرم از بافت تازه گیاهی وزن شده و در هاون چینی حاوی 5 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) 0/1 درصد سائیده شد.

1- ACC oxidase

1- Electrical Conductivity

عصاره حاصل با استفاده ازسانتریفیوژ مدل NAPco2028R به مدت 10 دقیقه در 10000gسانتریفیوژ شد، به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، 4 میلی لیتر محلول TCA 20 درصد که حاوی 0/5 درصد تیوباربیتیوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت 30 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی گراد حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط حاصل به مدت 10 دقیقه در 10000 سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 532 نانومتر خوانده شد، ماده مورد نظر در این طول موج، کمپلکس قرمز رنگ (MDA-TBA) است، برای حذف ترکیبات اضافی، جذب نمونه ها در طول موج 600 نانومتر خوانده و از جذب نمونه در طول موج 532 نانومتر کسر گردیدو برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل 155 میلی مولار بر سانتیمتر و معادله زیر استفاده گردید.

A=€BC

که در این معادله، A جذب خوانده شده ،€ ضریب خاموشی ،B عرض کووت و Cغلظت کمپلکس بر حسب میلی‌مولار است.

پراکسید هیدروژن: برای سنجش پراکسید هیدروژن 0/1 گرم از بافت گیاهی را با 3 میلی‌لیتر تری‌کلروراستیک اسید در حمام یخ مخلوط استفاده شد و سپس هر نمونه در طول موج 390 نانومتر خوانده شد (26).

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ها عصاره پروتئین بدینگونه تهیه شد که یک گرم بافت گیاهی در هاون حاوی 5 میلی‌لیتر بافر تریس هیدروژن کلرید 0/05 مولار با pH=7/5 سائیده شد تا محلول همگنی به دست آید. بعد از انتقال به لوله سانتریفیوژ، به مدت 25 دقیقه در 10000 دور و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند، سپس لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول‌رویی را در لوله آزمایش ریخته و عصاره پروتیئنی حاصل شد که برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز مورد استفاده قرار گرفت (5).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

2 میلی‌لیتر بافر تریس 100 میلی‌مولار (pH=7/5)، 300 میکرولیتر آب اکسیژنه 5 میلی‌مولار و 200 میکرولیتر پیروگالل 10 میلی‌مولار که همگی آن‌ها را در حمام یخ با هم مخلوط نموده و منحنی تغییرات جذب در طول موج 425 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (15).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج 240 نانومتر صورت گرفت (9). میزان فعالیت آنزیم بر اساس غلظت آب اکسیژنه تجزیه شده، محاسبه شد، لذا غلظت آب اکسیژنه مصرف شده با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

اسیدهای‌آلی: برای اندازه‌گیری اسیدهای قابل تیتراسیون، 10 میلی‌لیتر از عصاره میوه با 20 تا 40 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و سپس به محلول فوق چند قطره فنول فتالئین یک درصد اضافه گردید. در نهایت عمل سنجش حجمی (تیتراسیون) توسط هیدروکسیدسدیم 0/1 نرمال تا رسیدن به pH=7 انجام شد (6).

اسیدیته: جهت تعیین اسیدیته آب‌میوه از عصاره صاف شده میوه و با استفاده از دستگاه pH متر در دمای 20 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری انجام گرفت.

اسید آسکوربیک: برای اندازه‌گیری اسید آسکوربیک، 1/269 گرم ید را با 16/6 گرم یدیدپتاسیم در آب مقطر مخلوط کرده و حجم آن به یک لیتر رسانده شد. سپس 20 میلی‌لیتر از مخلوط فوق را در یک ظرف دیگر ریخته، این مخلوط را با محلول اسید آسکوربیک خالص تیتر شد. برای محاسبه فاکتور مخلوط ید از معادله زیر استفاده شد (6).

$$F=\frac{A}{B\times N\times 88.1}$$

F- فاکتور مخلوط ید، A- مقدار اسید آسکوربیک خالص (میلی‌گرم)، B- مقدار مخلوط ید مصرف شده (میلی‌گرم)،N- نرمالیته مخلوط ید

بعد از تعیین فاکتور ید، 10 میلی‌لیتر از عصاره میوه را در یک ظرف ریخته و به آن 2 میلی‌لیتر نشاسته 1 درصد اضافه می‌شود. سرانجام با استفاده از فرمول زیر مقدار اسید آسکوربیک در عصاره میوه محاسبه می‌شود:

$$A=\frac{S\times N\times F\times 88.1}{10}\times 100$$

A - مقدار اسید اسکوربیک در عصاره میوه (میلی‌گرم در 100 میلی لیتر)، S - مقدار محلول ید مصرف شده (میلی لیتر)

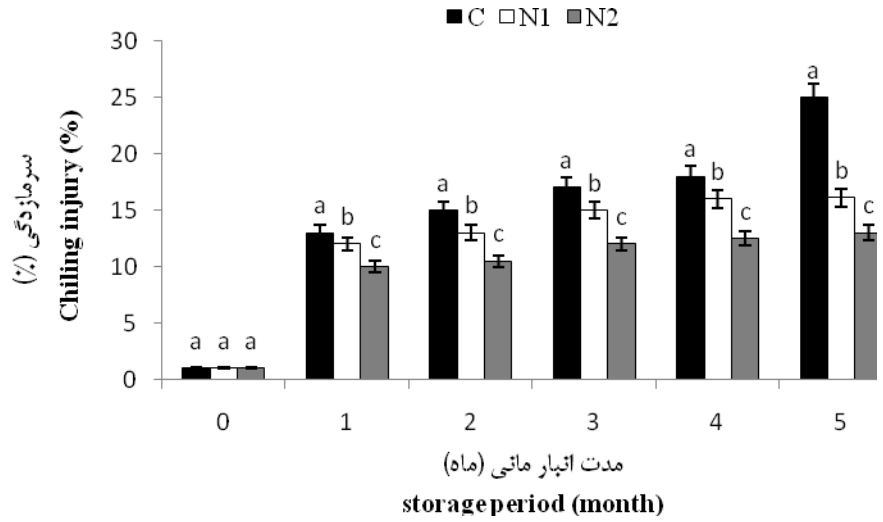
مواد جامد محلول کل: در این تحقیق اندازه‌گیری مواد جامد محلول توسط رفراکتومتر دستی (مدل MT-098P8A) ، صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تیمار و در 3 تکرار انجام گرفت. در هر تکرار و در هر زمان، 10 عدد میوه استفاده شد. تجزیه آماری و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن به کمک نرم افزار SAS (Ver. 9.1) انجام گرفت و برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

خسارت سرمازدگی و نشت یون: طبق نتایج بدست آمده، قهوه‌ای شدن پوست میوه‌ها و نشت یون طی انبارداری افزایش یافت و تیمار اکسید نیتریک به طور معنی‌داری خسارت سرمازدگی و نشت

یون را کاهش داد (شکل 1 و 2 و3 کاهش خسارت سرمازدگی با غلظت‌های تیمار شده اکسید نیتریک رابطه داشته و کمترین میزان آسیب میوه مربوط به بالاترین غلظت اکسید نیتریک بود و با شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. بر اساس تحقیقات انجام شده روی فرآورده‌های برداشته شده باغبانی، آسیب سرمازدگی همراه با نشت یون و پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد. طی تنش سرما، آسیب‌هایی به سلول وارد می‌شود که به صورت ناهنجاری‌هایی روی سطح گیاه یا فرآورده، مشخص می گردند که این نابسامانی‌های ظاهری به دلیل افزایش اکسیدان‌هایی مانند پر اکسید هیدروژن و نشت یون ایجاد می‌شوند (3). زو و همکارانش (31) گزارش کردند که اکسید نیتریک مانع سنتز اتیلن در گیاه توت فرنگی در طول مدت نگهداری در انبار می گردد و عمر انبارمانی را با کاهش فرایند رسیدن و افزایش مقاومت به دمای پایین افزایش دهد (16) که این یافته ها نتایج حاصل از این پژوهش را تایید می نمایند. طبق نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، تیمار اکسید نیتریک با مکانیسم هایی که در مورد آن شرح داده شد، آسیب سرمازدگی را در میوه های پرتقال طی انبار مانی کاهش داده است.

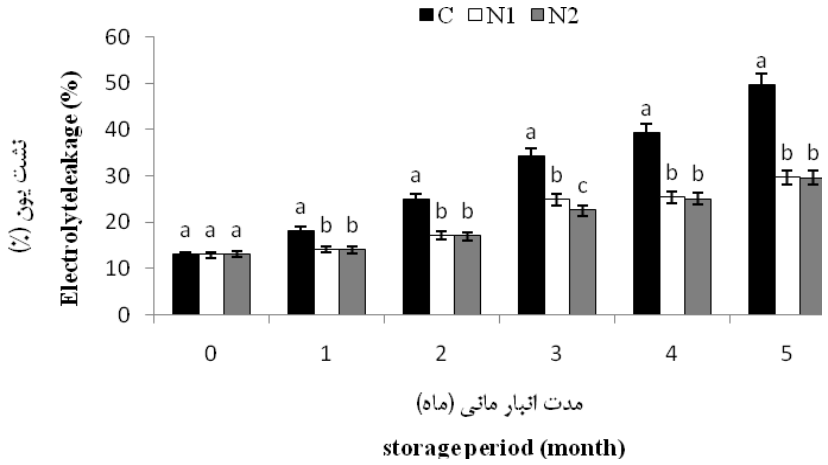


شکل1- اثر تیمار اکسید نیتریک روی خسارت سرمازدگی (درصد) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبار مانی.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. . در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 1- Effect of nitric oxide treatment on chilling injury (%) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).

شکل2- اثر تیمار اکسید نیتریک روی خسارت سرمازدگی (درصد) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبار مانی.

Figure 2- Effect of nitric oxide treatment on chilling injury (%) of Washington Navel orange fruit during storage

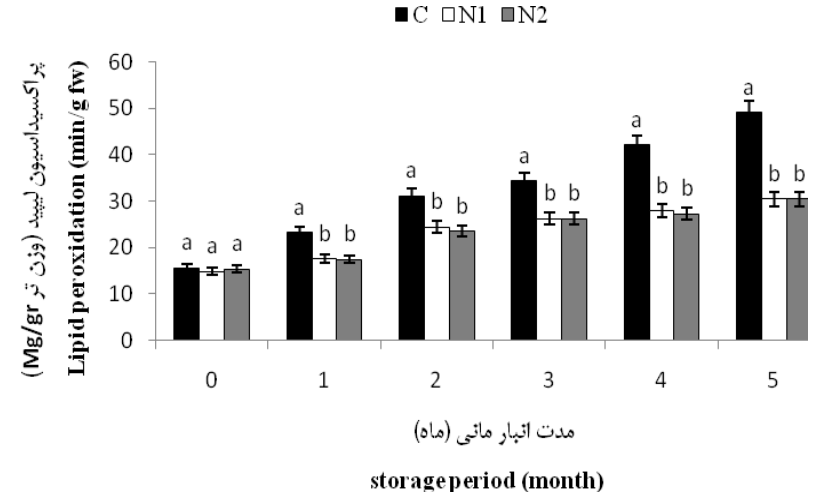


شکل3- اثر تیمار اکسید نیتریک روی نشت یون (درصد) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبار مانی.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 3- Effect of nitric oxide treatment on electrolyte leakage (%) of Washington Navel orange fruit during storage C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و میزان پراکسید هیدروژن:

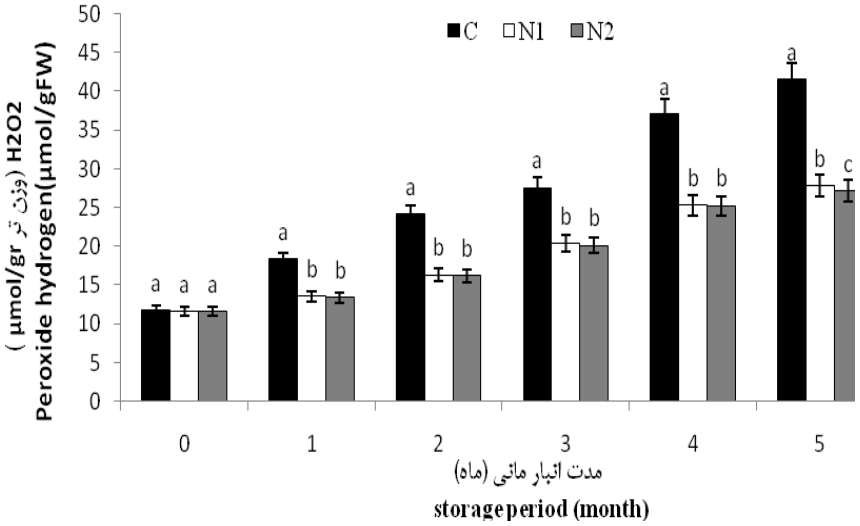
طی انبارداری میوه پرتقال واشنگتن ناول میزان پر اکسیداسیون لیپیدها و پر اکسیدهیدروژن در میوه های تیمار شده و شاهد روند افزایشی داشت و بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها و پر اکسیدهیدروژن در میوه‌های شاهد مشاهده گردید. به طوری که میوه‌های تیمار شده با اکسید نیتریک ، میزان پر اکسیداسیون لیپیدها و پر اکسیدهیدروژن کمتری را نشان دادند.



شکل4- اثر تیمار اکسید نیتریک بر پراکسیداسیون لیپید (Mg/gFW) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبارداری.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 4- Effect of nitric oxide treatment on lipid peroxidation (Mg/gFW) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are

not significantly different (p≤0.05).



شکل 5- اثر تیمار اکسید نیتریک بر پراکسیدهیدروژن (µmol/gFW) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبارداری.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 5- Effect of nitric oxide treatment on hydrogen peroxide (µmol/gFW) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).

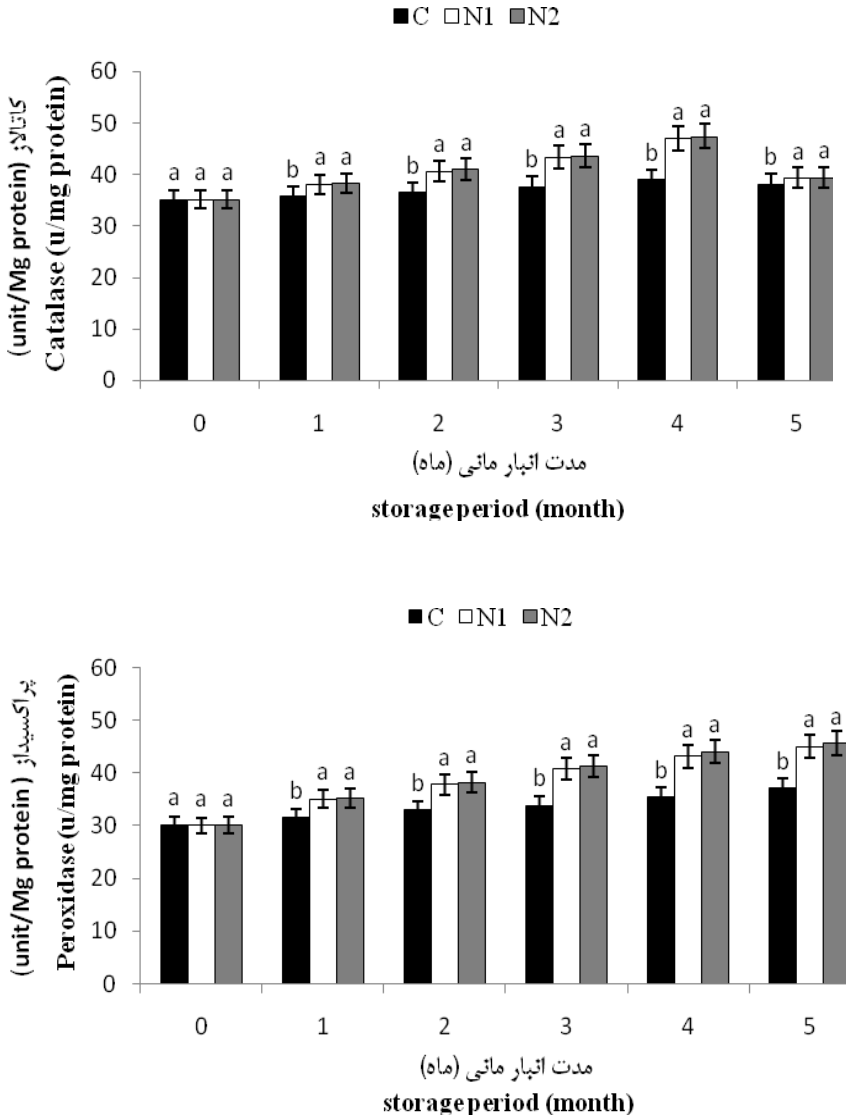
میوه‌های تیمار شده با 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک کمترین پر اکسیداسیون لیپیدها و پر اکسیدهیدروژن را نشان دادند که در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری وجود (شکل4 و5). افـزایش در نشـت کلی یون‌ها بخصوص پتاسیم باعث ایجاد حساسیت‌هـای سـرمایی در بافت کالوس گریپ‌فروت (11) و در مرکبات شده‌است (24). انبارداری در دمای کم به طور کلی، برای کـاهش زوال در میـوه‌هـای مرکبـات استفاده شده‌است، اما میوه‌های مرکبات حساس به سرما شده و ممکن است توسط دمای پایین خسارت ببینند (20). یانـگ و همکـاران (18) گزارش نمودند، کاربرد اکسید نیتریک با غلظت 25 میکرو مـولار روی میوه خیار، عمر انبار مانی را افزایش داد، زیرا این ماده با فعـال کـردن مکانسیم های آنتی اکسیدانی، نظیر آنزیم های کاتـالاز، پراکسـیداز و آسکوربات پراکسیداز، گونه های فعال اکسیژن و رادیکال هـای آزاد را از بین می برند و بدین ترتیب عمر انبـار مـانی را بـا کـاهش آسـیب سرمازدگی به حداقل می رسانند، کـه نتـایج بدسـت آمـده از تحقیـق حاضر، با پژوهش های انجام شده روی خیار مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: طبق نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در میوه‌های شـاهد و تیمار شده طی انبارداری افزایش یافت. به‌طوری که بیشـترین میـزان فعالیت آنزیمی در میوه‌های تیمار شده با اکسـید نیتریـک بخصـوص غلظت بالاتر نیتریک اکسید (0/5 میلی مـولار) و کمتـرین میـزان در میوه های شاهد دیده شـد (شـکل 6). طبـق تحقیقـات انجـام شـده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی طی انواع تنش بخصوص تنش سـرما افزایش می‌یابد (19) زیرا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با خاصـیت آنتـی-اکسیدانی خود، باعـث حـذف رادیکـال‌هـای آزاد و گونـه‌هـای فعـال اکسیژن شده و از تخریب غشاء سلول، نشت یون و پـر اکسیداسـیون لیپیدهای غشا به طور معنی‌دار جلـوگیری مـی‌نماینـد بنـابراین، ایـن یافته‌ها نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر را تأیید می‌نمایند

مواد جامد محلول: طی5 ماه انبارمانی، مواد جامـد محلـول در میوه های تیمار شده و نشده، افزایش یافت، بطوریکه تیمار 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک بیشترین و شاهد کمترین درصد میزان مواد جامد محلول را طی انبارمانی دارا بودند (شکل 7). میزان مواد جامد محلول، یکی از عوامل مهم در کیفیت میوه پرتقال مـی‌باشـند و کـاهش ایـن مواد از کیفیت و بازارپسندی محصول می‌کاهد. تا کنون گزارشی مبنی بر اثر نیتریک اکسید روی ویژگی های کیفی و بیوشیمیایی میـوه هـا ارائه نشده است و این در حالی است که نتـایج برخـی از پـژوهش‌هـا حاکی از آن است که کاربرد ترکیبات شـیمیایی روی میـوه هـا طـی انبارمانی باعث افزایش ویژگی های کیفی میوه ها می گردند، زیرا این ترکیبات، روند تغییرات مواد جامد محلول رابه دلیل کند شـدن فرآینـد رسیدن میوه و کاهش تنفس تعدیل می‌نماینـد (14) و احتمـالا تیمـار اکسید نیتریک ، با تاثیری که روی کند شدن روند رسیدن و کـاهش سرعت تنفس سلول های فرآورده طی انبارمانی، از مواد جامد محلـول محافظت می نماید، به طوری که طبق نتایج بدسـت آمـده از تحقیـق

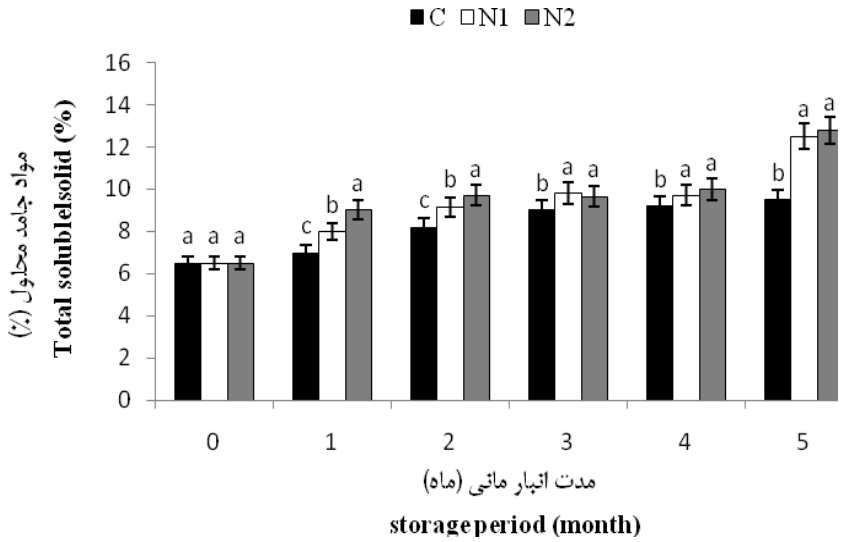
حاضر تیمار میوه های پرتقال با اکسید نیتریک نسبت به تیمار شاهد روند تغییرات مواد جامد محلول را کمتر کاهش داده است، که با پژوهش های پیشین مبنی بر اثر اکسید نیتریک در تاخیر در رسیدگی و افزایش کیفیت فرآورده ها طی انبارمانی مطابقت دارد (4).

اسید آسکوربیک، اسید قابل تیتراسیون و pH : طبق پژوهش حاضر، سیر افزایشی در میزان اسکوربیک و pH (شکل 8 و 9) و روند کاهشی اسیدهای‌آلی میوه (شکل10) در تمامی میوه‌های تیمار شده و شاهد در طی دوره انبارمانی مشاهده شد، بطوریکه بیشترین میزان pH و اسید اسکوربیک در انتهای دوره انبارداری در تیمار اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار مشاهده گردید و روند این تغییرات در میوه‌های تیمار شده کمتر از شاهد بود.



شکل 6- اثر تیمار اکسید نیتریک بر میزان فعالیت کاتالاز و آنزیم پراکسیداز (U/mg protein) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبارداری.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 6- Effect of nitric oxide treatment on catalase and peroxidase (U/mg protein) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).



شکل 7- اثر تیمار اکسید نیتریک بر مواد جامد محلول (درصد) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبارداری.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

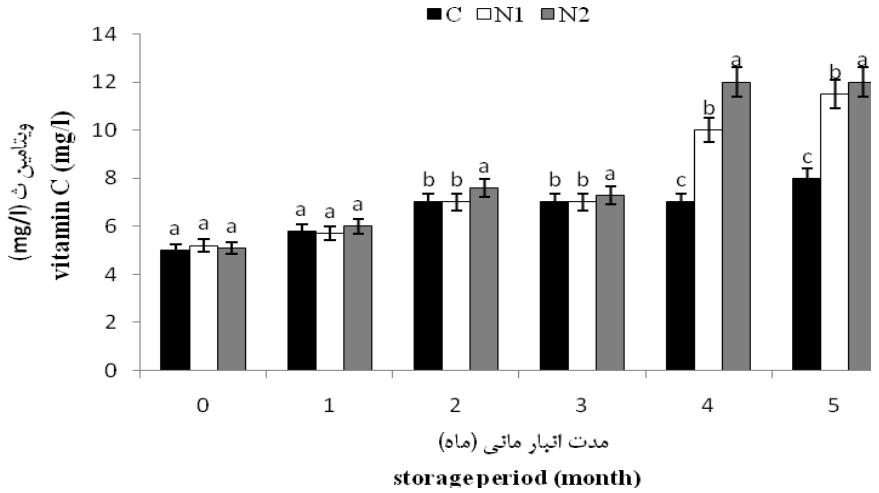
Figure 7- Effect of nitric oxide treatment on total soluble solids (%) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$).

اسید اسکوربیک از جمله آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی می باشد که در شرایط تنش در سلول های زنده سنتز می شود (17). بوردرلو و همکاران (2006) نیز گزارش کردند، کاهش برخی از مواد غذایی مانند اسید اسکوربیک یک فاکتور بحرانی در عمر انبارمانی در بعضی محصولات مانند آب میوه مرکبات است (6). از آنجایی که نقش اکسید نیتریک در افزایش مقاومت سلول های زنده در انواع تنش ها به دلیل افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی آنهاست، بنابراین افزایش در میزان اسید اسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی در میوه های تیمار شده، فرایندی طبیعی است و نتایج حاصل از این پژوهش را تایید می نماید (18).

روند تغییرات اسیدهای آلی در این تحقیق حاکی از کاهش مقدار این اسیدها در طی دوره انبارمانی بود. به گونه‌ای که در کلیه تیمارها و شاهد با افزایش طول دوره انبار مانی، مقدار اسیدهای آلی نیز کاهش پیدا نمود. مقایسه بین تیمارها در زمان‌های مختلف نمونه برداری مشخص کرد، در بین تیمارهای به کار رفته، بیشترین مقدار اسیدهای آلی در طول دوره انبار مانی، متعلق به تیمار 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک بوده است. نتایج حاصل از اندازه گیری pH نشان داد، پرتقال‌های مورد تیمار با اکسید نیتریک، عکس روند تغییرات اسیدهای آلی بوده است. اسید سیتریک بعنوان اسید غالب در میوه های پرتقال می باشد (8). طعم و مزه در نتیجه حضور قندها و اسیدهای آلی در میوه پرتقال می باشد، از آنجایکه بیشتر اسیدهای آلی متابولیت‌های ثانویه‌ای هستندکه در نتیجه چرخه اسید سیتریک بوجود آمده و در طی تنفس مصرف می‌شوند، بنابراین طی انبار مانی، میزان اسیدهای آلی کاهش و اسیدیته افزایش می یابد و تیمار اکسید نیتریک پیری را به تاخیر می اندازد این امر را لشم و همکاران در سال (16) مشاهده کرد که میزان اکسید نیتریک در میوه های رسیده و گلهای پیر کمتر از میوه های کال و گلهای جوان و شاداب است و بنابراین نتیجه گیری کرد کاهش تولید اکسید نیتریک با پیری و بلوغ ارتباط دارد (17). برای اثبات چنین فرضیه ای او و همکارانش از اکسید نیتریک خارجی در گلها، میوه ها و سبزیجات استفاده کردند و مشاهده نمودند که در تمام موارد، اکسید نیتریک طول عمر محصولات را پس از برداشت افزایش داده و پیری را به تاخیر می اندازد و کیفیت فرآورده را نیز طی انبار مانی بهبود می بخشند، که این یافته ها، نتایج حاصل از این تحقیق را تایید می نمایند (19).

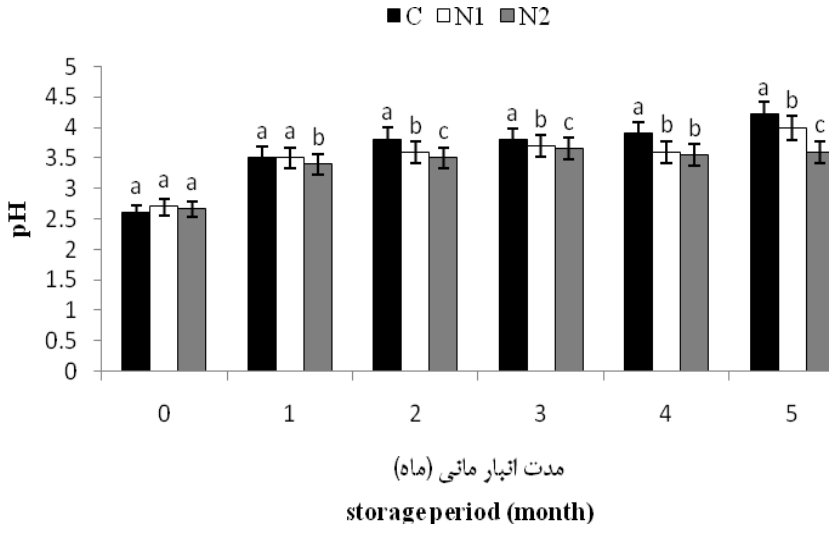
نتیجه‌گیری

حساسیت به دمای پایین باعث محدود کردن عمر انبارداری و کاهش کیفیت میوه‌ها می شود. تغییر در واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مختلف در داخل میوه به همراه وقوع نابسامانی‌های ظاهری از عوامل کاهش بازارپسندی در میوه‌ها در دمای پایین و در طول انبارداری می‌باشند. اخیراً استفاده از موادی مانند اکسید نیتریک به منظور افزایش عمر انبارداری میوه‌ها مورد توجه قرار گرفته است.



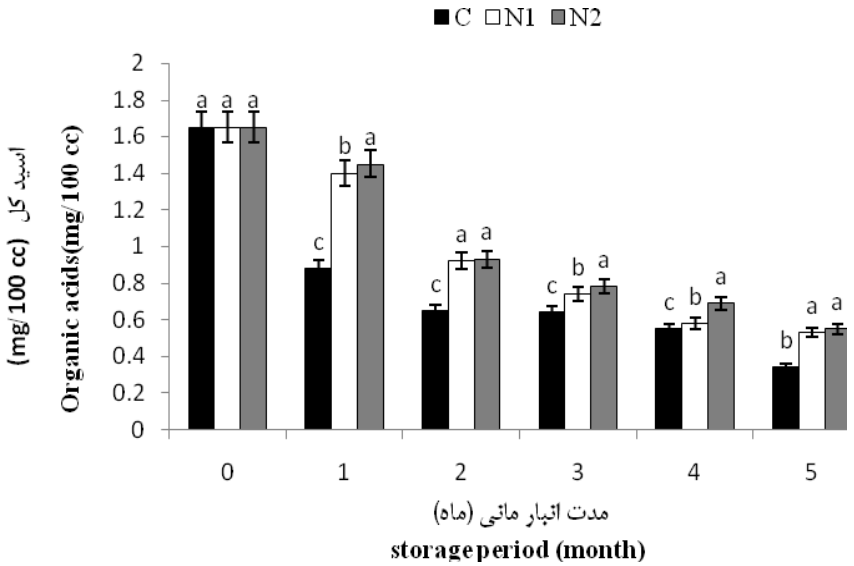
شکل 8- اثر تیمار اکسید نیتریک روی میزان اسید آسکوربیک (ویتامین ث) (mg/100ml) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبار مانی.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 8- Effect of nitric oxide treatment on ascorbic acid (vitamin C) content (mg/100 ml) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).



شکل 9- اثر تیمار اکسید نیتریک روی pH میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبار مانی.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 9 - Effect of nitric oxide treatment on pH of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).



شکل 10- اثر تیمار اکسید نیتریک روی اسید قابل تیتراسیون (g/100ml) میوه پرتقال واشنگتن ناول طی انبار مانی.C : شاهد، N1: اکسید نیتریک 0/25 میلی مولار و N2 : اکسید نیتریک 0/5 میلی مولار. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Figure 10 - Effect of nitric oxide treatment on titratable acidity (g/100 ml) of Washington Navel orange fruit during storage. C: control fruit; N1: nitric oxide 0.25 mM; N2: nitric oxide 0.5 mM. For each column means followed by the same letter are not significantly different (p≤0.05).

طبق تحقیق حاضر، کاربرد اکسید نیتریک نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری خسارت سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها و پراکسید هیدروژن را کاهش داد. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میوه‌های تیمار شده با اکسید نیتریک نسبت به شاهد، بسیار افزایش یافت. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، میوه‌های تیمار شده با 0/5 میلی مولار اکسید نیتریک دارای بالاترین کیفیت و بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کمترین خسارت سرمازدگی بودند. تحقیقات نشان داده است که اکسید نیتریک ، از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن که باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و نشت یون می‌شوند، جلوگیری می‌نمایند و به دنبال این تغییر کاهش خسارت سرمازدگی نیز کاهش می‌یابد. در تنش سرمازدگی، مرگ سلول بر اثر افزایش رادیکال آزاد افزایش می‌یابد و علاوه بر نقش اکسید نیتریک در کاهش ناهنجاری‌های انباری، شواهد نشان داد که اکسید نیتریک نقش مهمی در بهبود ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی فرآورده‌های باغبانی طی انبارداری دارند. تیمار اعمال شده، خسارت سرمازدگی محصول مرکبات را به شدت تحت تأثیر قرار داده و کاهش می‌دهد، بنابراین بهبود انبارداری مرکبات بخصوص پرتقال نقش مهمی در سود اقتصادی باغداران دارد، بنابراین طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر، استفاده از تیمار اکسید نیتریک خسارت سرمازدگی، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدها را طی انبارداری میوه پرتقال کاهش داده‌است و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده است. به نظر می‌رسدکه استفاده از تیمارهای اکسید نیتریک بخصوص غلظت 0/5 میلی مولار آن می‌تواند نقش مهمی در کاهش خسارت سرمازدگی و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی میوه طی انبارداری ایفاء نماید و جهت افزایش عمر انبارداری فرآورده های باغبانی توصیه می گردد.

منابع

1- Aghdam M.S., and Bodbodak S. 2013. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. Scientia Horticulturae. 156: 73-85.
2-Asghari M.R., and Abdollahi R. 2012. Changes in quality of strawberries during cold storage in response to postharvest nitric oxide and putrescine treatments. Acta Alimentaria 12:1-13.
3-Basiouny F.M. 1996. Blueberry fruit quality and storability influenced by postharvest application of polyamines and heat treatments. Proceeding Fland State Horticultural Society, 109, 269-272.
4-Beligni M.V., and Lamatina L .1999. Nitric oxide counteract cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species

in plant tissues. Planta 208: 337-344.
5-Bradford M.M. 1976.A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 248- 254.
6-Burdurlu H.S., Nuray K., and Feryal K. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. Journal of Food Engineering, 74, 211-216.
7-Chang K. 1992. The evaluation of citrus demand and supply.Proceeding of International Society Citric, Italy. 3: 1153-1155.
8-Cioroi M. 2007. Study on L-ascorbic acid contents from exotic fruits. Cercetari Agronomicin Moldova.1:23-27.
9-Dhindsa R.S., Dhindsa P., and Thorpe A.T. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. Journal Experimental Botany, 32, 93-101.
10-FAO. 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations Website. in: http:// www.faosat.org.
11-Forney C.F., and Peterson S.J. 1990.Chilling induced potassium leakage of cultured Citrus cells. Physiologia Plantarum, 78, 193-196.
12-Fotouhi-Ghazvini R., and Fattahi-Moghadam J. 2006. Citrus Growth in Iran. University of Guilan. Rasht. Iran. 305p. (in Persian with English abstract)
13-Heath R.L., and Packer L.1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophysiology, 125,189-198.
14-Kelebek H., Selli S., Canbas A., and Cabaroglu T. 2009. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic composition and antioxidant capacity of orange wine made from a Turkish cv. Kozan. Microchemical Journal. 91:187-192.
15-Kochba J., Lavee S., and Spiegel-Roy P. 1977. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic 'Shamouti' orange ovular callus lines. Plant and Cell Physiology, 18, 463-497.
16-Leshem Y.Y., and Haramaty E. 1996. Nitric oxide in biological systems. Plant Growth Regulator. 18: 155-159.
17-Leshem Y.Y., and Haramaty E.1998.The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* foliage. Journal of Plant Physiology. 148: 258-263.
18-Nilpraprucк P., Authanithee F., and Keebjan P. 2008. Effect of exogenous methyljasmonate on chilling injury and quality of pineapple. Silpakorn University Science and Techology. 2: 33-42.
19-Pantastico E.B., Soule J., and Grierson W. 1968. Chilling injury in tropical and subtropical fruits: II.limes and grapefruit. Proceeding of Tropical Region American Society. Horticultural Science, 12, 171-183.
20-Purvis A.C. 1985. Relationship between chilling injury of grape fruit and moisture loss during storage. Amelioration by polyethylene shrink film. Journal of American Society Horticultural Science, 110, 385-388.
21-Sairam R.K., Deshmukh P.S., and Shukla, D.S. 1997. Tolerance to drought and temperature stress is relation to increased antioxidant enzyme activity in Wheat. Journal of Agronomy Crop Science, 178, 171-177.
22-Schirra M., and D'hallewin G.1997. Storage performance of "Fortune" mandarins following hot water dips. Postharvest Biology and Technology, 10: 229-238.
23-Schirra M., Mulas M., Fadda A., Mignani I., and Lurie S. 2005. Chemical and quality traits of 'Olinda' and 'Campbell' oranges after heat treatment at 44 or 46_C for fruit fly disinfestations. Lebenson. Wiss. Technology. 38:519-527.
24-Shahbaz M., and Ashraf M. 2007. Influence of exogenous application of nitric oxide on growth and mineral nutrients of wheat under saline conditions. Plant Physiology, 143, 513-522.
25-Singh S.P., Singh Z., and Swinny E.E. 2009. Postharvest nitric oxide fumigation delay fruit ripening and alleviates chilling injury during cold storage of Japanese plums (*Prunus salicina* L.). Postharvest Biology and and Technology. 53: 101-108.
26-Velikova V., Yordanov I., and Edreva A. 2000. Oxidaive stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151, 59-66.
27-Wills R.B.H., and Bowyer M.C. 2000. Use of nitric oxide to extend the postharvest life of horticultural produce. Acta Horticulturael. 217:141-147.
28-Wu B., Guo Q., Li Q., and Ha Y. 2014. Impact of postharvest nitric oxide treatment on antioxidant enzymes and related genes in banana fruit in response to chilling tolerance. Postharvest Biology and Technology.92:157-163.
29-Xu M., Dong J., Zhang M., Xu X., and Sun L. 2012. Cold-induced endogenous nitric oxide Generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest
Storage. Postharvest Biology and Technology.65:5-12.
30- Zaharah S.S., and Singh Z. 2011. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango. . Postharvest Biology and Technology.60:202-210.
31- Zhu S., Sun L., Liu M., and Zhou J. 2008. Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 88: 2324-2331.
32 -Zhu L. Q., Zhou J ., and Zhu S.H. 2010. Effect of a combination of nitric oxide treatment and intermittent warming on prevention of chilling injury of 'Feicheng'peach fruit during storage. Food Chemistry. 121: 165-170.

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 492-504
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 504-492
شاپا: 2008 - 4730

Effect of Nitric Oxide Application on Reduction of Undesirable Effects of Chilling on Washington Navel orange (*Citrus sinensis* L.) Fruit during Storage

B. Ghorbani[1*]- Z. Pakkish[2]

Received: 01-08-2015
Accepted: 21-02-2017

Introduction: Chilling injury (CI) is the primary postharvest problem of orange (*Citrus sinensis* L.) and many other horticultural crops during storage. Washington Navel orange fruits are susceptible to CI during storage below 5°C, and the main CI symptoms are surface pitting, browning, discoloration and decay. Several promising methods have been developed to alleviate CI symptoms of orange fruit. These include postharvest physical treatments with UV-C, modified atmosphere packaging, temperature conditioning, and chemical treatments with plant growth regulators. Oxidative stress from excessive reactive oxygen species (ROS) has been associated with appearance of chilling damage in fruits. The oxidation of ROS is due to their reaction with numerous cell components coursing a cascade of oxidative reactions and consequent inactivation of enzymes, lipid peroxidation, protein degradation, and DNA damage. Aerobic organisms have evolved well-developed defense systems to establish a fine-tuned balance between ROS production and removal plants are protected against ROS effects by a complex antioxidant system. This involved both lipid soluble antioxidant (α- tocopherol and carotenoids) and water soluble reductants (glutathion and ascorbate) and enzymes, such as catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD). Previous studies have shown that there is a positive relationship between the antioxidant enzymes activity and the chilling tolerance in harvested fruits. Nitric oxide (NO) is an important signaling molecule involved in many plant physiological processes. It has also been indicated that NO protects plant cells against oxidative stress by reducing ROS accumulation. When exogenously applied, NO has been shown to result in an improved chilling tolerance and reduced incidence of chilling injury in several fruits. The objectives of this study were to evaluate the effects of NO on chilling injury, lipid peroxidation content, peroxide hydrogen content, and the induction of antioxidant enzymes in Washington Navel orange (*Citrus sinensis* L.) fruit during storage at 5±1°C.

Materials and Methods: Washington Navel orange (*Citrus sinensis* L.) fruits were harvested at commercial maturity from a commercial orchard in Kerman, Iran, and transported to the laboratory on the same day. Orange fruits were treated with 0.25 and 0.5 mM nitric oxide for 5 min and then stored at 5±1°C and relative humidity of 85-90 % for 5 months. No nitric oxide use was considered as control. The experiment was arranged in completely randomized design (CRD) with three replicates. Characteristics such as chilling injury, total soluble solids, titratable acidity, pH, ascorbic acid, and activity of antioxidant enzymes (peroxidase and catalase) were evaluated in the present experiment.

Results and Discussion: The results showed that use of nitric oxide in fruits reduced significantly chilling injury, ion leakage, lipid peroxidation and hydrogen peroxide compared to control, though it increased activity of antioxidant enzymes. According to these results, unlike organic acids which decreased in treated and non-treated fruits, total soluble solids, ascorbic acid and pH of the fruits increased during storage, however, nitric oxide treatment reduced the rate of changes, be either reducing or increasing, in the mentioned parameters compared to control. So, fruits treated with 0.5 mMol nitric oxide showed the highest effect on the reduction of chilling injury.

In the present study, the results indicated that NO significantly reduced CI of orange fruits during storage at 5±1 °C. NO has been applied to reduce the development of chilling injury symptoms in a number of horticultural crops. Thus NO has the potential of application in postharvest treatment by alleviating chilling injury and maintaining quality, and the aim of this study was to determine how NO alleviates the anti-oxidative systems, probably one of the mechanisms of improved chilling tolerance, of orange fruit during chilling stress. This indicates that the chilling tolerance of orange fruit was also enhanced by postharvest treatment with NO. Lipid peroxidation and protective enzyme systems are often evaluated in studies of plant mechanisms under various stresses. Low temperature disrupts the balance of active oxygen species metabolism, leading to their accumulation and destruction of scavenging enzymes such as catalase and peroxidase. In the present study,

1and 2- MSc. Student of Horticultural Science and Assistant Professor, Horticultural Research Institute, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
(*- Corresponding Author Email: ghorbani.bahareh@ymail.com)

exogenous per-treatment with nitric oxide at 0.25 and 0.5 mM significantly decreased the lipid peroxidation content and electrolyte leakage of cold stored orange fruit compared to untreated fruits. The level of H_2O_2 was maintained by NO treatment, which led to an increase in chilling tolerance. It has been reported that the improvement of chilling tolerance in harvested horticultural crops is related to the enhancement in activates of antioxidant enzyme. Researchers found that chilling-tolerant mandarins have a higher antioxidant enzyme activity than the chilling-sensitive ones. A number of postharvest treatments that induce chilling tolerance and alleviate chilling injury also enhanced antioxidant enzyme activity. However, to the best of our knowledge, this is the first paper reporting the beneficial effects of NO on CI of postharvest orange fruits. In this study, there was a continuous increase in peel and pulp lipid peroxidation content in all fruits, but the application of NO significantly delayed the increase of lipid peroxidation. Moreover, the change in membrane permeability (revealed by H_2O_2 content) showed trends similar to lipid peroxidation content; in other words, peel and pulp H_2O_2 content increased with storage duration, but NO markedly delayed the increase. NO has been considered to be involved in a network of interacting signal transduction pathways, which regulate defense responses to abiotic stress. The detoxification of ROS is dependent on antioxidant enzymes such as CAT and POD. The increase in these enzymes' activity contributes to the adaptation of plants to cold stress and ameliorates oxidative damage such as lipid peroxidation (lipid peroxidation increase as indicator) and H_2O_2 content.

Conclusion: In conclusion, application of NO reduced CI of oranges stored at 5±1°C and maintained oranges quality as well. The chilling injury, lipid peroxidation, and peroxide hydrogen were significantly reduced by NO treatment especially at 0.5 mM. Induced cold resistance by NO treatment may be due to the stimulation of antioxidant enzymes, and protection against membrane oxidative damage, decreased lipid peroxidation and H_2O_2 content in orange fruits. These results may have implications for the use of NO in managing postharvest CI of other subtropical fruits stored at low temperatures.

Keywords: Storage, Antioxidant enzyme, Orange, nitric oxide