

بررسی اثر اسیدسالیسیلیک، کیتوسان و زمان نگهداری بر برخی ویژگی‌های کمی و کیفی توت‌فرنگی رقم «سلوا» پس از برداشت

محمدرضا اصغری^۱ - فرهاد اصغری^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۶

چکیده

اثر اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار و کیتوسان در غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ درصد بر عمر پس از برداشت و کیفیت میوه‌های توت‌فرنگی رقم 'سلوا' پس از ۷ و ۱۴ روز نگهداری در سردخانه با دمای 2 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۵ درصد مورد مطالعه قرار گرفت. پوسیدگی میوه‌ها، کیفیت ظاهری و بازارپسندی، مواد جامد محلول، میزان اسیدآسکوربیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره میوه پس از ۷ و ۱۴ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. کیتوسان ۱ درصد باعث کاهش پوسیدگی و حفظ کیفیت ظاهری و بازارپسندی میوه‌ها نسبت به میوه‌های شاهد گردید. اسیدسالیسیلیک در غلظت ۱ میلی‌مولار در ترکیب با کیتوسان ۱ درصد به صورت معنی‌داری باعث حفظ میزان مواد جامد محلول، میزان ویتامین C و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل گردید و تأثیر آن بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هفته اول نگهداری مؤثرتر بود. کاربرد اسیدسالیسیلیک در هر دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار باعث حفظ اسیدیت کل گردید.

واژه‌های کلیدی: توت‌فرنگی، اسیدسالیسیلیک، کیتوسان، عمر پس از برداشت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

محصولات برداشت شده استفاده از قارچ‌کش‌های مصنوعی و سنتتیک می‌باشد، اما نگرانی‌های بین‌المللی برای استفاده از این ترکیبات وجود دارد. زیرا دارای اثرات زیانبار بر سلامتی انسان و محیط زیست بوده و امکان ایجاد مقاومت در پاتوژن‌ها نسبت به قارچ‌کش‌ها نیز وجود دارد. از این رو گرایش جهانی زیادی به استفاده از ترکیبات سالم و طبیعی به جای استفاده از قارچ‌کش‌های مصنوعی بوجود آمده است (۱۲، ۲۱، ۳۰ و ۴۱). در این آزمایش برای اولین بار از ترکیب توام دو ماده طبیعی سازگار با محیط زیست کیتوسان و اسید سالیسیلیک برای نگهداری و کنترل پوسیدگی توت‌فرنگی استفاده شده است.

کیتوسان (پلی-بتا-ان استیل دی گلوکز آمین) که از پوسته بیرونی سخت پوستان دریایی تولید می‌شود، به‌خاطر ویژگی‌هایی مانند طبیعی بودن، فعالیت ضد قارچی و تحریک پاسخ‌های دفاعی در بافت‌های گیاهی کاربردهای مؤثری در نگهداری مواد غذایی دارد (۵۴). گزارش شده است که کیتوسان اثر بازدارنده بر رشد قارچ‌های *Aspergillus* و *Alternaria alternate* *Puccinia arachidis* دارد (۴۲، ۴۳ و ۴۸). کاربرد کیتوسان باعث فعال شدن آنزیم‌های دفاعی در بافت‌های گیاهان می‌گردد. برای مثال کاربرد کیتوسان باعث فعال شدن آنزیم فینیل‌آلانین‌آمونیا لیاز (PAL) در انگور

توت‌فرنگی با نام علمی *Fragaria ananassa* یکی از مهمترین میوه‌های غیر کلیماکتریک^۴ می‌باشد که دارای ارزش اقتصادی بالایی است. میوه توت‌فرنگی باید در زمان بلوغ کامل که از حداکثر کیفیت ظاهری (از لحاظ تردی، رنگ، نداشتن پوسیدگی یا ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی)، بافت (از لحاظ سفتی و آبداربودن)، عطر و بوی مطلوب و ارزش تغذیه‌ای (از لحاظ ویتامین‌ها، عناصر معدنی و فیبرهای خوراکی) برخوردار باشد، برداشت گردد. پوسیدگی‌های بعد از برداشت از عوامل اصلی از بین رفتن میوه‌ها و سبزی‌های برداشت شده می‌باشند (۳۱). کپک خاکستری که قارچ مولد آن *Bothrytis cinerea* می‌باشد یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های آلوده کننده میوه توت‌فرنگی است که از لحاظ اقتصادی خسارت زیادی به محصول وارد می‌کند (۲۹). مؤثرترین و آسان‌ترین راه برای کنترل پوسیدگی در

۱ و ۲- دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی، ارومیه
* - نویسنده مسئول: (Email: asghari.farhad@yahoo.com)

آب به آن اضافه و حدود ۵ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه گردید. پس از حل شدن کیتوسان، مخلوط با آب مقطر به حجم یک لیتر رسید. pH محلول‌های کیتوسان با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال به ۵/۶ رسانده شد. در این بررسی اسیدسالیسیلیک (SA) در ۳ سطح با غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی مولار و کیتوسان (Ch) در ۳ سطح با غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ درصد مورد استفاده قرار گرفتند. هر تیماری دارای ۷ تکرار بوده و صفات مورد ارزیابی در پایان هفته اول و دوم نگهداری اندازه‌گیری شدند. لذا این آزمایش بصورت فاکتوریل ($3 \times 3 \times 2 \times 7 = 126$) در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی اجراء گردید. هر تکرار شامل ۱۵ عدد میوه توت‌فرنگی رقم سلوا بود. پس از اعمال تیمارها تمام میوه‌ها به سردخانه با دمای $5 \pm 0^\circ C$ و رطوبت نسبی ۹۵-۸۵ درصد منتقل گردیدند و صفات مورد ارزیابی در پایان هفته اول و دوم نگهداری اندازه‌گیری شدند. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel رسم گردیدند.

ارزیابی میزان پوسیدگی میوه‌ها

میزان پوسیدگی میوه‌ها از طریق مشاهده ظاهری و نمره‌دهی^۱ به آن‌ها به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفت: ۱= فاقد پوسیدگی، ۲= پوسیدگی خیلی کم (تا ۵ درصد)، ۳= پوسیدگی کم (۵ تا ۲۰ درصد)، ۴= پوسیدگی متوسط (آلودگی بین ۲۰ تا ۵۰ درصد) و ۵= پوسیدگی شدید (آلودگی بیش از ۵۰ درصد) (۵۵).

اندازه‌گیری مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون و ویتامین C

برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون آب میوه، به ترتیب از رفرکتومتر دستی مدل Atagor-50 و تیتراسیون با سود یک دهم نرمال تا رسیدن به $pH=8/3$ استفاده گردید (ایالا-زاوالا و همکاران ۲۰۰۷). اندازه‌گیری میزان ویتامین C موجود در آب میوه از طریق روش دی کلروفنل ایندوفنل انجام پذیرفت به این ترتیب که ۲۰ میلی لیتر عصاره میوه توت‌فرنگی با ۲۰ میلی لیتر اسید متافسفریک ۶ درصد مخلوط گردید و ۲۵ میلی لیتر از محلول به دست آمده با اسید متافسفریک ۳ درصد به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۱۰ میلی لیتر از این محلول برداشته، و با محلول دی کلروفنل ایندوفنل تیتر گردید. تیتراسیون تا زمانی که محلول به رنگ قرمز آجری تغییر رنگ دهد ادامه یافت. میزان ویتامین C بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید (۳۸):

و فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکوناز در مرکبات، توت‌فرنگی و تمشک می‌گردد (۲۴ و ۴۶). در آزمایش‌های مختلفی که بر روی میوه توت‌فرنگی انجام گرفته، گزارش شده‌است که کاربرد پوشش‌های کیتوسانی باعث محدود کردن پوسیدگی‌های قارچی و تأخیر در رسیدن محصول می‌شود (۲۹، ۴۴ و ۵۷).

اسیدسالیسیلیک یک ترکیب فنلی ساده است که در بسیاری از فرایندهای رشد و نمو گیاهی دخالت دارد (۴ و ۶). فی‌ون و همکاران (۲۶) گزارش کردند که اسیدسالیسیلیک موجب تجمع mRNA فنیل آلانین آمونیاک و سنتز فنیل آلانین آمونیاک و افزایش فعالیت آن می‌گردد که این پروتئین نیز سبب فعال شدن سیستم دفاعی گیاه در مقابل پاتوژن‌ها می‌شود و ممکن است عامل فعال کردن سیستم مقاومت القایی اسیدسالیسیلیک باشد. ثابت شده‌است که اسیدسالیسیلیک در غلظت مشخص میزان تنفس را در گیاهان و میوه‌های برداشت شده توت‌فرنگی کاهش می‌دهد. کاهش فعالیت متابولیسی منجر به کاهش اتلاف آب و کاهش تنفس و نهایتاً منجر به تأخیر در پیری می‌شود (۶ و ۷). ثابت شده است که تیمار میوه‌های موز با اسیدسالیسیلیک منجر به کاهش میزان تنفس و تأخیر در شروع نقطه اوج کیماتریکی می‌گردد که میزان این اثر به غلظت اسیدسالیسیلیک بستگی دارد (۵۲). ردی و همکاران (۴۴) نشان دادند که اسپری قبل از برداشت گیاهان توت‌فرنگی میزان آلودگی میوه‌ها به کپک خاکستری را در طی نگهداری میوه‌ها کاهش می‌دهد. هدف از اجرای این پژوهش بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک و کیتوسان بر میزان پوسیدگی و کیفیت ظاهری، عمر پس از برداشت و خصوصیات کیفی نظیر مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، ویتامین C و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در میوه توت‌فرنگی رقم سلوا در طول مدت نگهداری در سردخانه بود.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی و اعمال تیمارها

میوه‌های توت‌فرنگی رقم سلوا در مرحله رسیدن تجاری هنگامی که بیش از ۷۵ درصد سطح آن‌ها دارای رنگ قرمز و اندازه مناسب بودند برداشت شده و سپس با دقت به آزمایشگاه انتقال یافتند. میوه‌های با شکل غیرطبیعی و معایب فیزیکی حذف شده و میوه‌های سالم و یکنواخت انتخاب گردیدند. به منظور تهیه محلول‌های اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار به مقدار ۰/۱۳۸ گرم و برای محلول ۲ میلی مولار ۰/۲۷۶ گرم از پودر اسیدسالیسیلیک توزین، و در سود ۰/۱ نرمال حل و سپس به حجم یک لیتر رسانده شد، سپس با افزودن اسید استیک pH محلول بین ۴/۲ تا ۴/۵ تنظیم شد. جهت تهیه کیتوسان در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد پس از توزین کیتوسان (۱۰ گرم برای غلظت ۱ درصد و ۵ گرم برای غلظت ۰/۵ درصد) مقادری

میزان پوسیدگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). با توجه به شکل ۱، مشاهده می‌شود که به‌طور کلی در هفته اول نگهداری اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از لحاظ آلودگی به پوسیدگی وجود نداشته‌است. در حالی که در هفته دوم نگهداری، میزان پوسیدگی به‌طور معنی‌داری نسبت به هفته اول افزایش یافت که بیشترین میزان پوسیدگی در تیمار ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک به علاوه ۱ درصد کیتوسان مشاهده گردید. کاربرد کیتوسان در غلظت ۱ درصد باعث کاهش آلودگی و حفظ بهتر کیفیت ظاهری و بازاریابی میوه‌ها شد (شکل ۱). به‌عبارت دیگر کاربرد کیتوسان ۱ درصد به تنهایی بیشترین تأثیر را در کاهش آلودگی‌های قارچی داشت. تیمارهای اسیدسالیسیلیک ۱ و ۲ میلی‌مولار نیز بدون داشتن اختلاف معنی‌دار با یکدیگر باعث کاهش پوسیدگی گردیدند. نتایج نشان می‌دهد که کاربرد کیتوسان بطور مؤثری باعث کاهش پوسیدگی‌های قارچی در پایان دوره انباری نسبت به میوه‌های شاهد گردید و اثرات بازدارندگی و مهارکنندگی کیتوسان بر علیه پاتوژن‌ها به‌طور معنی‌داری به غلظت کیتوسان کاربردی بستگی دارد که با افزایش غلظت آن اثر بازدارندگی آن افزایش یافت. کیتوسان ۱ درصد مؤثرتر از کیتوسان ۰/۵ درصد بود.

مواد جامد محلول کل (TSS)

جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر متقابل زمان نگهداری و اسیدسالیسیلیک در سطح احتمال ۵ درصد و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و کیتوسان در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان مواد جامد محلول معنی‌دار بوده‌است (جدول ۱). تفاوت غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک در هفته اول نگهداری با شاهد معنی‌دار نبود، اما در بلند مدت کاربرد اسیدسالیسیلیک در غلظت ۱ میلی‌مولار باعث حفظ بهتر در میزان TSS گردید. بطور کلی در طول مدت نگهداری میزان مواد جامد محلول کاهش یافت اما استفاده از تیمار ترکیبی اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد و نیز تیمار اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار به تنهایی باعث افزایش جزئی اما غیرمعنی‌دار در میزان مواد جامد محلول کل نسبت به شاهد گردید (شکل ۲).

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثرات ساده زمان نگهداری و اسیدسالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل اسیدسالیسیلیک و کیتوسان و نیز کیتوسان و زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان اسیدهای قابل تیتراسیون معنی‌دار بوده‌است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل کیتوسان و زمان نگهداری نشان می‌دهد که به‌طور کلی میزان TA

$$AA = \frac{v \times j}{W} \times 100$$

در این فرمول W میزان نمونه بر حسب گرم در حجم معینی از محلول تیتر شده، V و Z به ترتیب مقدار رنگ مورد استفاده بر حسب میلی‌لیتر در تیتراسیون حجم معینی از نمونه صاف شده و اکی والان اسید آسکوربیک که بر حسب میلی‌گرم اسیدآسکوربیک در میلی‌لیتر رنگ بیان می‌شود.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

به منظور ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌های مورد مطالعه از روش FRAP^۱ استفاده شد (۱۴). محلول نهایی کار FRAP با مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی‌لیتر TPTZ^۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر کلرور آهن آماده شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از محلول داخل ظروف پلت ریخته، و به آن ۱۰ میکرولیتر از عصاره میوه (که حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره میوه و ۶ میلی‌لیتر بافر فسفات بود) اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها داخل دستگاه الیزا مدل Fax-Stat2100 قرار گرفتند و در طول موج ۵۹۳ نانومتر میزان جذب خوانده شد و در نهایت با رسم منحنی استاندارد میزان آنتی‌اکسیدان کل بر حسب میلی‌مول آهن در ۱۰۰ گرم وزن تر تعیین گردید. در این روش از سولفات آهن با غلظت‌های ۲۵ تا ۱۰۰۰ میکرومول در لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد. با استفاده از این روش، توانایی عصاره‌های میوه در احیای یون‌های Fe³⁺ و تبدیل آن به یون‌های Fe²⁺ اندازه‌گیری می‌شود. Fe²⁺ حاصل در pH اسیدی و در حضور معرف TPTZ، مجموعه Fe-TPTZ را تشکیل می‌دهد که رنگ حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر با اسپکترومتر قابل اندازه‌گیری است. این واکنش غیراختصاصی بوده و هر مولکولی که در شرایط مذکور قابلیت احیای یون فریک را داشته باشد در این واکنش شرکت می‌نماید.

نتایج

پس از انجام بررسی‌ها و اندازه‌گیری صفات کیفی مورد نظر داده‌های بدست آمده برای هر یک از این صفات بطور جداگانه تجزیه واریانس و میانگین‌های حاصل از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج در جدول ۱، آورده شده‌است.

پوسیدگی

نتایج تجزیه داده‌های مربوط به اندازه‌گیری میزان پوسیدگی نشان می‌دهد که اثر متقابل اسیدسالیسیلیک، کیتوسان و زمان نگهداری بر

1- Ferric reducing antioxidant power
2- 2,4,6, Tripyridyl-S-Triazin

بر مقدار ویتامین C معنی دار بوده است. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل اسیدسالیسیلیک، کیتوسان و زمان نگهداری مشخص کرد که کاربرد کلیه تیمارها به جز تیمار اسیدسالیسیلیک ۲ میلی مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، در هفته اول نگهداری باعث افزایش میزان ویتامین C میوه‌های توت‌فرنگی نسبت به میوه‌های شاهد گردید و بیشترین میزان ویتامین C در اثر کاربرد توأم اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار و کیتوسان ۱ درصد مشاهده شد.

در پایان مدت نگهداری کاهش یافته است اما میزان این کاهش در میوه‌های تیمار شده با کیتوسان ۱ درصد نسبت به شاهد کمتر بود. اسیدسالیسیلیک در هر دو غلظت به‌طور معنی‌داری باعث حفظ اسیدهای آلی و جلوگیری از کاهش آن‌ها گردید (شکل ۳).

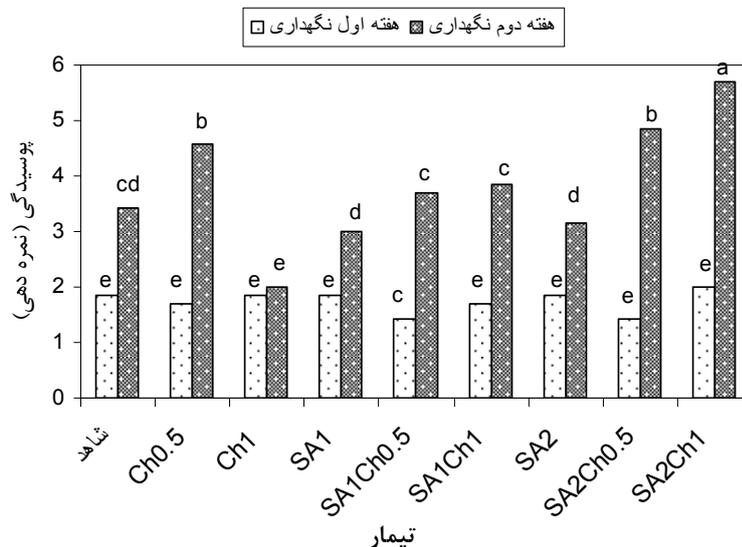
ویتامین C (اسید آسکوربیک)

بر اساس نتایج مندرج در جدول ۱، اثر متقابل سه گانه اسیدسالیسیلیک، کیتوسان و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد

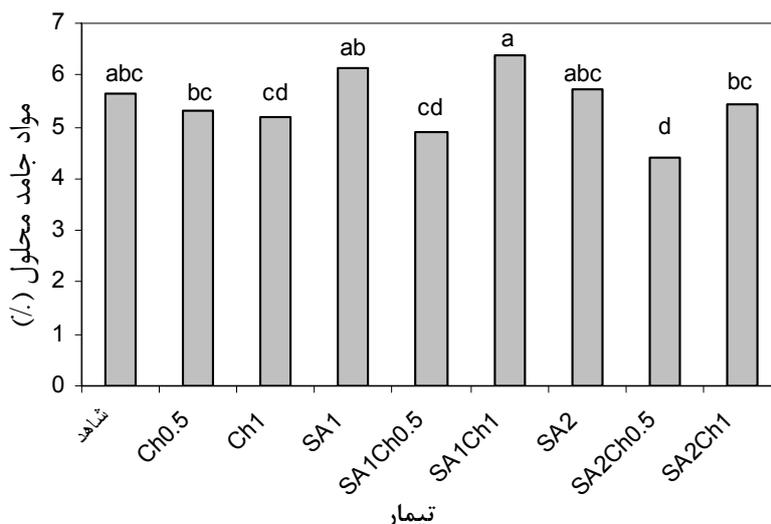
جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر کاربرد اسیدسالیسیلیک، کیتوسان، زمان نگهداری و اثر متقابل آنها بر صفات اندازه‌گیری شده

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجات آزادی	پوسیدگی	مواد جامد محلول کل (TSS)	اسیدیته کل (TA)	Vitamin C	فعالیت آنتی اکسیدان کل
زمان نگهداری	۱	۱۳۴/۱۲**	۱/۹۰*	۰/۱۱۴**	۵۵۱۸/۲۷**	۴۳/۶۵**
اسیدسالیسیلیک	۲	۴/۷۷**	۴/۳۵**	۰/۰۲**	۵۹۸/۳۲**	۱/۸۴**
زمان × اسیدسالیسیلیک	۲	۴/۶۷**	۱/۵۱*	۰/۰۰۸ ^{ns}	۹۱۵/۲۸**	۰/۶۷*
کیتوسان	۲	۲/۱۲**	۱۱/۱۵**	۰/۲۱۳**	۵۰۶/۹**	۵/۷۲**
کیتوسان × زمان	۲	۶/۱۲**	۰/۵۹ ^{ns}	۰/۰۱۴*	۱۰۱۶/۴۶**	۳/۶۴**
اسیدسالیسیلیک × کیتوسان	۴	۴/۹۹**	۲/۷۲**	۰/۰۰۹*	۳۹۴/۹**	۲/۰۶**
کیتوسان × اسیدسالیسیلیک × زمان	۴	۳/۹۲**	۰/۵ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۱۰۷۶/۰۴**	۰/۶**
خطای آزمایش	۱۰۸	۰/۲۶	۰/۵	۰/۰۰۳	۹۲/۰۹	۰/۱۳
ضریب تغییرات (%)		۱۸/۵۳	۱۲/۹۵	۱۰/۳۹	۱۸/۲۹	۹/۹۷

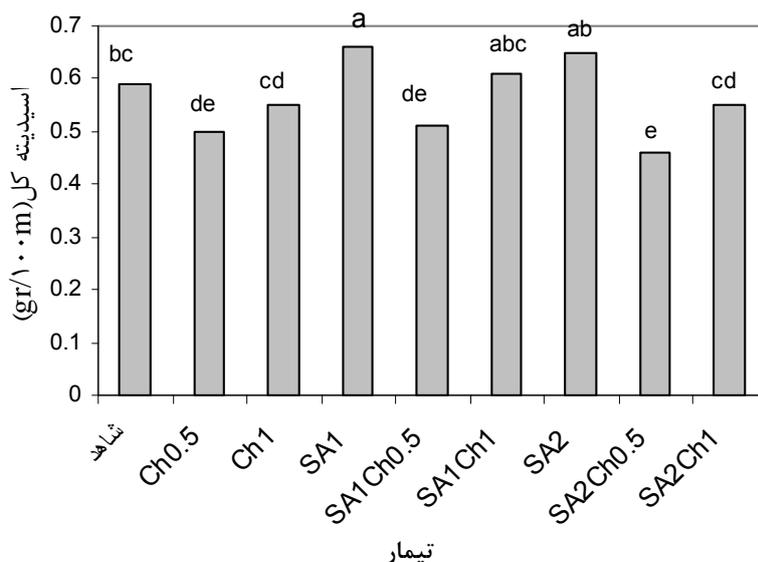
ns، * و ** - به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪



شکل ۱- اثر اسیدسالیسیلیک، کیتوسان و زمان نگهداری بر میزان پوسیدگی میوه توت‌فرنگی رقم سلوا. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند. (شاهد: بدون تیمار، Ch0.5: کیتوسان ۰/۵ درصد، Ch1: کیتوسان ۱ درصد، SA1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار، SA1Ch0.5: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، SA1Ch1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار و کیتوسان ۱ درصد، SA2: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی مولار، SA2Ch0.5: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، SA2Ch1: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی مولار و کیتوسان ۱ درصد)



شکل ۲- اثر اسیدسالیسیلیک و کیتوسان بر میزان مواد جامد محلول میوه توت‌فرنگی رقم سلوا. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند. (شاهد: بدون تیمار، Ch0.5: کیتوسان ۰/۵ درصد، Ch1: کیتوسان ۱ درصد، SA1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار، SA1Ch0.5: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، SA1Ch1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد، SA2: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار، SA2Ch0.5: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، SA2Ch1: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد)



شکل ۳- اثر اسیدسالیسیلیک و کیتوسان بر میزان اسیدهای آلی کل میوه توت‌فرنگی رقم سلوا. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند. (شاهد: بدون تیمار، Ch0.5: کیتوسان ۰/۵ درصد، Ch1: کیتوسان ۱ درصد، SA1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار، SA1Ch0.5: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، SA1Ch1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد، SA2: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار، SA2Ch0.5: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد، SA2Ch1: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

طبق نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل اسیدسالیسیلیک، کیتوسان و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بوده است (جدول ۱).

با افزایش دوره نگهداری میزان ویتامین ث بطور معنی‌داری روند کاهشی نشان داد اما میزان این کاهش در میوه‌های تیمار شده با اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و کیتوسان ۰/۵ درصد کمتر بود (شکل ۴).

اسیدسالیسیلیک باعث کاهش تولید و اثر اتیلن و کاهش تنفس و حفظ دیواره‌های سلولی می‌شود که نتیجه آن حفظ بهتر مواد جامد محلول واقعی سلول‌ها می‌باشد.

میوه برداشت شده یک موجود زنده بوده و تمام فعالیت‌های متابولیکی آن خصوصاً تنفس که منجر به مصرف ذخایر انرژی میوه‌ها می‌شود، همچنان ادامه می‌یابد، در این فرایند، قندها و اسیدهای آلی به عنوان سوسترای اصلی در فرایند سوخت و ساز مصرف می‌شوند و مسلماً هر عاملی که محدود کننده فعالیت‌های متابولیکی باشد، باعث حفظ اسیدهای آلی خواهد بود. در این بررسی کاربرد اسیدسالیسیلیک در هر دو غلظت به صورت معنی‌داری باعث حفظ اسیدهای آلی کل در پایان دوره نگهداری نسبت به میوه‌های شاهد گردید. نقش بازدارندگی اسیدسالیسیلیک در جلوگیری از تولید و اثر اتیلن توسط اصغری (۱) گزارش شده است. ایشان در آزمایش‌های خود بر روی گیاه توت‌فرنگی دریافتند که کاربرد اسیدسالیسیلیک در غلظت ۲ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار در میزان اتیلن تولیدی میوه‌ها می‌گردد. اسیدسالیسیلیک دارای اثر آنتاگونیستی بر اتیلن بوده و از اثر آن جلوگیری می‌کند، از طرفی به واسطه جلوگیری از فعالیت و تولید ACC اکسیداز و سنتاز از بیوستنز جلوگیری می‌کند (۲۵، ۳۳ و ۴۷). کیتوسان با تشکیل یک لایه عایق باعث تغییر در غلظت گازها شده و با کاهش تنفس و تولید اتیلن باعث کاهش مصرف اسیدهای آلی در میوه‌ها می‌شود. نقش کیتوسان در حفظ اسیدهای آلی در میوه‌های مختلفی مانند توت‌فرنگی، هلو و گوجه‌فرنگی گزارش شده است (۲۲، ۳۶ و ۵۰).

میوه توت‌فرنگی منبع غنی از ویتامین C می‌باشد و میزان ویتامین C آن بین ۹۰-۴۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر متغیر می‌باشد (۳۹). در طول دوره نگهداری میزان اسیدآسکوربیک که یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم است کاهش می‌یابد که دلیل آن مصرف این ویتامین در جریان خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۴۹). نتایج این تحقیق در خصوص نقش اسیدسالیسیلیک در افزایش میزان آسکوربات کل با نتایج آزمایش‌های دات و همکاران (۱۹) بر روی گیاه خردل، اصغری (۱) بر روی توت‌فرنگی و روحی (۲) بر روی کیوی مطابقت دارد. گزارش شده است در هلوهای تیمار شده با کیتوسان در مقایسه با میوه‌های شاهد میزان ویتامین C بالاتر بوده و مشخص گردیده که متابولیسم در میوه‌های غوطه‌ور شده در محلول کیتوسان نسبت به میوه‌های غوطه‌ور نشده کمتر است (۳۶ و ۵۰). مشخص گردید که رابطه خطی نزدیکی بین ویتامین C و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل وجود دارد که افزایش هر کدام باعث افزایش دیگری می‌شود. اسیدسالیسیلیک به واسطه فعال کردن یک ایزوآنزیم جدید آسکوربات پراکسیداز سبب افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی و افزایش مقدار ویتامین C میوه‌ها می‌شود (۵۲). اسیدسالیسیلیک و کیتوسان هر دو باعث

بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو زمان نگهداری در میوه‌های تیمار شده با تیمار اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد مشاهده گردید و بعد از آن میوه‌های تیمار شده با اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و کیتوسان ۱ درصد قرار داشتند که نشان‌دهنده اثر سینرژیستی این دو تیمار در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت‌فرنگی می‌باشد (شکل ۵).

بحث

کاهش معنی‌دار در پوسیدگی‌های انباری میوه‌های سیب، کیوی، هلو و دیگر میوه‌ها در اثر کاربرد کیتوسان به ثبت رسیده است (۱۱) و (۲۰). نقش کیتوسان در حفظ کیفیت و بازاریابی بیشتر به دلیل تأثیر مستقیم آن در جلوگیری از رشد قارچ‌ها، پوسیدگی‌ها و حفظ رنگ میوه می‌باشد. پوشش کیتوسان به صورت یک غشاء محافظ ثانوی در سطح میوه دارای مکانیسم محدودکنندگی است. به طوری که میوه‌ها را در برابر آلودگی‌های قارچی حفاظت نموده و در طول مدت نگهداری موجب کاهش پوسیدگی می‌شود (۱۷). کیتوسان با ایجاد مانعی در مقابل عبور گازها باعث تغییر اتمسفر اطراف سلول‌های میوه شده و در نتیجه رشد قارچ‌ها را محدود می‌کند. همچنین باعث القاء مقاومت در مقابل بیماری شده و نیز مستقیماً اثر بازدارندگی بر رشد قارچ‌ها دارد. کاهش فرایند پیری و حفظ ساختار سلول‌ها باعث حفظ مقاومت به عوامل بیماری‌زا و کاهش رشد پوسیدگی و در نتیجه حفظ بازار پسندی و ظاهر میوه می‌شود.

هر عامل محدودکننده تنفس و تولید اتیلن می‌تواند به واسطه کاهش مصرف قندها از کاهش مواد جامد قابل حل جلوگیری کند. پوشش‌های خوراکی با کاهش تبادل گازها از اتلاف آب جلوگیری کرده و باعث تثبیت اجزای دیواره سلولی مانند پلی‌پورونیدها و همی‌سلولزها و نیز کاهش تنفس و حفظ میزان مواد جامد محلول می‌شوند. پوشش کیتوسان به دلیل ایجاد یک لایه نیمه‌تراوا در اطراف میوه، همچنین ایجاد یک اتمسفر تغییر یافته داخلی موجب کاهش تنفس و تولید اتیلن و جلوگیری از اثر اتیلن شده، در نتیجه باعث حفظ مواد جامد قابل حل و افزایش عمر محصول می‌شود (۸، ۱۲ و ۳۲). در میوه‌های برداشت شده، اسیدسالیسیلیک باعث کاهش تنفس و تولید اتیلن می‌گردد که نتیجه آن کاهش مصرف قندها و حفظ مواد جامد قابل حل می‌باشد. از طرف دیگر با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی محصول از اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها و تخریب غشاء توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (۱۸). افزایش سریع و غیرعادی مواد جامد محلول در میوه‌های شاهد به دلیل پیشرفت پیری و حل شدن دیواره‌های سلولی می‌باشد که به صورت مواد جامد محلول در می‌آیند. کاهش فرایند پیری در میوه‌های تیمار شده با کیتوسان و

می‌اندازد. گزارش شده است که میوه‌های موز تیمار شده با اسیدسالیسیلیک دارای فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و لیپوکسی‌ژناز پایین‌تری بوده‌اند و با افزایش غلظت اسیدسالیسیلیک میزان فعالیت آن‌ها کاهش یافته‌است (۵۱). اصغری (۱) در تحقیقات خود بر روی توت‌فرنگی گزارش کرد که کاربرد اسیدسالیسیلیک بطور مستقیم باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه می‌شود و هم‌طور غیرمستقیم پتانسیل محصول را در تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به واسطه افزایش خاصیت ضد استرس و هورمون‌های اکسین و سیتوکینین و فعال نمودن سیستم مقاومت القایی در گیاه افزایش می‌دهد. اثر کیتوسان در حفظ پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این است که به صورت یک پوشش خوراکی باعث کاهش تبادل گازها و در نتیجه کاهش تنفس و تولید اتیلن و در نتیجه کاهش پیری و مانع از آسیب به دیواره سلولی سلول‌ها شده و از آزاد شدن آنزیم آسکوربات اکسیداز، که عامل اصلی اکسیداسیون ویتامین C است، جلوگیری می‌کند (۵۶). کیتوسان به دلیل ایجاد اتمسفر تغییر یافته باعث کاهش اکسیژن و در نتیجه کاهش اکسیداسیون فنل‌ها و ویتامین C شده و تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد. در آزمایش‌های انجام گرفته بر روی میوه گوجه‌فرنگی به‌منظور کنترل پوسیدگی مشخص گردید که کاربرد کیتوسان باعث آسیب رساندن به غشاء پلاسمایی و افزایش ترشح شیره سلولی اسپور گردیده و در نهایت از جوانه‌زنی و رشد میسیلیوم قارچ بوتریس جلوگیری می‌کند (۳۷). اثر بازدارندگی کیتوسان بر پاتوژن‌های *Bothrytis cinerea* و *Penicillium expansum* در گزارش‌های مختلفی آمده‌است (۳، ۱۳ و ۲۳).

سپاسگزاری

از مساعدت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی و از همکاری صمیمانه آقایان جواد فرخی و رامین حاجی تقی‌لو تشکر و قدردانی می‌گردد.

کاهش تنفس و تولید اتیلن و به‌طور کلی روند پیری شده و در نتیجه میزان تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند که نتیجه آن مصرف کمتر آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین C می‌باشد (۵۱) در این آزمایش مشخص گردید، با افزایش مدت نگهداری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد، زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد اکسیده شده و رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند، با پیشرفت پیری چون تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد بنابراین با مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل کاهش می‌یابد. در تأیید این مطلب گزارش شده‌است که در توت‌فرنگی در طول دوره نگهداری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد که این کاهش در ارتباط با کاهش اسیدآسکوربیک و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۷). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و سبزی‌ها شامل ترکیبات آنزیمی مثل آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و... هم‌چنین ترکیبات غیر آنزیمی شامل ویتامین C، ترکیبات فنلی، کارتینوئیدها و... می‌باشد (۵ و ۴۰). در این تحقیق مشخص گردید رابطه خطی معنی‌داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت‌فرنگی و میزان ویتامین C وجود دارد به‌طوری‌که هر دو به یک صورت تحت تأثیر تیمارهای مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج این پژوهش در رابطه با نقش اساسی اسیدسالیسیلیک در افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان کل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد با نتایج فودور و همکاران (۲۸)، چن و همکاران (۱۶)، باندورسکا و همکاران (۹) و اصغری (۱) مطابقت دارد. از ترکیبات فنلی که در توت‌فرنگی به مقدار زیاد وجود داشته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند آنتوسیانین‌ها هستند. فنل‌ها در مقادیر زیاد به عنوان مواد اکسید شونده بکار رفته و باعث ایجاد رنگ قهوه‌ای می‌شوند (۴۵). باسکارا ردی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که محلول پاشی توت‌فرنگی با کیتوسان معمولاً باعث بهبود وضعیت ظاهری میوه و افزایش رنگ می‌شود. لی و چانگ (۳۴) و زانگ و کوانتیچ (۵۵ و ۵۶) گزارش دادند که کاربرد پس از برداشت کیتوسان کاهش آنتوسیانین در لیچی، توت‌فرنگی و تمشک را به تأخیر

منابع

- ۱- اصغری م. ۱۳۸۵. تأثیر استفاده از اسیدسالیسیلیک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تولید اتیلن و فرآیند پیری، آلودگی‌های قارچی و برخی صفات کیفی میوه توت‌فرنگی رقم سلوا. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۱۷۱ صفحه.
- ۲- روحی ز. ۱۳۸۸. بررسی اثر پس از برداشت اسیدسالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های کیفی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه کیوی رقم هایوارد. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ۱۵۰ صفحه.
- 3- Ait-Barka E., Eullaffroy P., Clement C. and Vernet G. 2004. Chitosan improves development, and protects *vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. Plant Cell Reports, 22(8): 608-614.
- 4- Arnao M.B., Cano A., Hernandez-Ruiz J., Garcia-Canovas F. and Acosta M. 1996. Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: a new approach for determining total antioxidant status of foods. Analytical Biochemistry, 236(2): 255-261.
- 5- Arora A., Sairam R.K. and Srivastava G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science, 28(10): 1227-1238.
- 6- Asghari M.R. and Soleimani Aghdam M. 2010. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural

- crops. Trends in Food Science and Technology, 21(10): 502-509.
- 7- Babalar M., Asghari M., Talaei A. and Khosroshahi A. 2007. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. Food Chemistry, 105(2): 449-453.
 - 8- Bai R.K., Huang M.Y. and Jiang Y.Y. 1988. Selective permeabilities of chitosan-acetic acid complex membrane and chitosan-polymer complex membranes for oxygen and carbon dioxide. Polymer Bulletin, 20(1): 83-89.
 - 9- Bandurska H., Kozłowska M. and Stroinski A. 2003. The role of salicylic acid in plant response to biotic and abiotic stress. Acta Physiologica Plantarum, 25 (3): 113-118.
 - 10- Bautista-Banos S., Hernandez-Lauzardo A.N., Velazquez-del Valle M.G., Hernandez-Lopez M., Ait Barka E., Bosquez-Molina E. and Wilson C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection, 25(4): 108-118.
 - 11- Bautista-Banos S., DeLucca A.J. and Wilson C.L. 2004. Evaluation of the antifungal activity of natural compounds to reduce postharvest blue mould of apples during storage. Mexican Journal Phytopathol, 22(4): 362-369.
 - 12- Bautista-Banos S., Hernandez-Lauzardo A.N., Velazquez-del Valle M.G., Hernandez-Lopez M., Ait Barka E., Bosquez-Molina E. and Wilson C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection, 25(6): 108-118.
 - 13- Benschalom N., Ardi R., Po R., Aki C. and Falik E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. Crop Protection, 22(2): 285-290.
 - 14- Benzie I.F. and Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measurement of "antioxidant power": The Frap assay. Analytical Biochemistry, 239(0292): 70-76.
 - 15- Bhaskara Reddy B.M.V., Belkacemi K., Corcuff F.C., Arul J. and Angers P. 2000. effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. Postharvest Biology Technology, 20(5): 39-51.
 - 16- Chen Z., Lyer S., Caplan A., Klessig D.F. and Fan B. 1997. Differential accumulation of salicylic acid and salicylic acid-sensitive catalase in different rice tissues. Plant Physiology, 114(1): 193-201.
 - 17- Chien P.J., Sheu F. and Lin H.R. 2007. Quality assessment of low molecular weight chitosan coating on sliced red pitayas, Journal of Food Engineering, 79(2): 736-740.
 - 18- Choudhury S. and Panda S.K. 2000. Role of Salicylic Acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. Bulgarian Journal of Plant Physiol, 30(3-4): 95-110.
 - 19- Dat J.F., Foyer C.H. and Scott I.M. 1998. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings. Plant Physiology, 118(5): 1455-1461.
 - 20- Du J., Gemma H. and Iwahori S. 1997. Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear and kiwifruit. Horticultural Science, 66(1): 15-22.
 - 21- Eckert J.W. and Ogawa J.M. 1988. The chemical control of postharvest diseases: deciduous fruits, berries, vegetables and root/tuber crops. Annual Review Phytopathology, 26(3): 433-469.
 - 22- El Ghaouth A., Ponnampalam R., Castaigne F. and Arul J. 1992. Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. HortScience, 27(9): 1016-1018.
 - 23- El Ghaouth A., Smilanick J.L. and Wilson C.L. 2000. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. Postharvest Biology Technology, 19(1): 103-110.
 - 24- Fajardo J.E., Waniska R.D., Cuero R.G. and Pettit R.E. 1998. Phenolic compounds in peanut seeds enhanced elicitation by chitosan and effects on growth and *a.atoxin* B1 production by *Aspergillus flavus*. Food Biotechnol, 9(2): 59-78.
 - 25- Fan H. and He C.S. 1998. Inhibition of ethylene generation of post-harvest apple fruit by salicylic acid. Plant Physiology Commun, 34(1): 248-250.
 - 26- Fei Wen P., Chen J., Kong W.F., Pan Q., Wan H. and Huang W.D. 2005. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. Plant Science, 169(3):115-123.
 - 27- Ferreyra M.R., Vina S.Z., Mugridge A. and Chaves A.R. 2007. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. Science Horticulturae, 112(2):27-32.
 - 28- Fodor J., Gullner g., Adam A.L., Barna B., Komives T. and Kirly Z. 1997. Local and systemic response of antioxidants to tabbaco mosaic virus infection and to salicylic acid in tobacco. Plant Physiology, 114(2): 1443(4)-1451.
 - 29- Hernandez-Munoz P., Almenar E., Del Valle V., 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 (1): 428-435.
 - 30- Holmes G.J. and Eckert J.W. 1999. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. Phytopathology, 89(9): 716-721.
 - 31- Janisiewicz W.J. and Korsten L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annu. Rev. Phytopathology, 40(2): 411-441.

- 32-Jiang Y., Li J. and Jiang W. 2005. Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. *Food Science and Technology*, 38(4): 757-761.
- 33-Leslie C.A. and Romani R.J. 1988. Inhibition of ethylene biosynthesis by salicylic acid. *Plant Physiology*, 88(3): 833-837.
- 34-Li C-F. and Chung Y-C. 1986. The benefits of chitosan to postharvest storage and the quality of fresh strawberries. In: Muzarelli, R., Jeuniaux, C., Graham, G.W. (Eds.), *Chitin in Nature and Technology*. Plenum Press, New York, USA, pp. 908-913.
- 35-Li H. and Yu T. 2000. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal Science Food Agriculture*, 81(2): 269-274.
- 36-Liu J., Tian S.P., Meng X.H. and Xu Y. 2007. Control effects of chitosan on postharvest diseases and physiological response of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 44(5): 300-306.
- 37-Manolopoulou H. and Papadopoulou P. 1998. A study of respiratory and physico-chemical change of four Kiwifruit cultivar during cold-storage. *Food chemistry*, 63(4): 529-534.
- 38-McCance R.A. and Widdowson E.M. 1978. *The Composition of Foods*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, London.
- 39-Miller N.J. and Rice-Evans C.A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and black current drink. *Food Chemistry*, 60(4): 331-337.
- 40-Norman C. 1988. EPA sets new policy on pesticide cancer risks. *Science*, 242(1): 366-367.
- 41-Plascencia-Jatomea M., Viniestra G., Olayo R., Castillo-Ortega M.M. and Shirai K. 2003. Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. *Macromol. BioScience*, 3(10): 582-586.
- 42-Reddy B.M.V., Arul J., Ait Barka E., Angers P., Richard C. and Castaigne F. 1998. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. lycopersici. *Biocontrol Science and Technology*, 8(2): 33-43.
- 43-Reddy B.M.V., Belkacemi K., Corcuff R., Castaigne F. and Arul J. 2000. Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 20(2): 39-51.
- 44-Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. and Glover W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4): 401-436.
- 45-Romanazzi G., Nigro F., Ippolito A., Venere Di. and Salerno M. 2002. Effects of Pre-and postharvest chitosan treatments to control storage gray mold of table grapes. *Journal Food Science*, 67(5): 1862-1867.
- 46-Roustan J.P., Latche A. and Falot J. 1990. Inhibition of ethylene production and stimulation of carrot somatic embryogenesis by salicylic acid. *Biol. Plant*, 32(4): 273-276.
- 47-Sathiyabama M. and Balasubramanian R. 1998. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. *Crop Protection*, 17(1): 307-331.
- 48-Smimoff N. 1995. Antioxidant system and plant response to the environment. In: Smimoff, N. (Ed.), *Environment and Plant Metabolism*. Bios Scientific Publisher, Oxford, United Kingdom 217-243.
- 49-Srinivasa P.C., Baskaran R., Armes M.N., Harish Prashanth K.V. and Tharanathan R.N. 2002. Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan. *Eur. Food Reserch and Technology*, 215(3): 504-508.
- 50-Srivastava M.K. and Dwivedi U.N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science*, 158(1-2): 87-96.
- 51-Tari I., Csiszar J., Szalai G., Horvath F., Pecsvaradi A., Kiss G., Szepesi A., Szabi M.T. and Erdei L., 2002. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. *Proceeding of the 7th Hungarian Congress On Plant Physiology*, 46(3-4): 55-56.
- 52-Terry L.A. and Joyce D.C. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. *Postharvest Biology and Technology*, 32(3): 1-13.
- 53-Yu Z., Song C.K., Jun C.Q., Long Z.S. and Ping R.Y. 2003. Effects of Acetylsalicylic Acid (ASA) and ethylene treatments on ripening and softening of postharvest Kiwifruit. *Acta Botanica Sinica*, 45(1): 1447-1452.
- 54-Zhang D. and Quantick P.C. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) fruit. *Postharvest Biology Technology*, 12(5): 195-202.
- 55-Zhang D. and Quantick P.C. 1998. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal Horticultural Science Biotechnol*, 73(6): 763-767.