تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های کیفی و بهبود رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار

افسانه الهویرن[1]، علیرضا فرخزاد[2]* و محمدرضا اصغری[3]

۱- دانشجوی کارشناشی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲*- **نویسنده مسئول:** استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه (a.farokhzad@urmia.ac.ir)

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۳۱

چکیده

در آزمایش حاضر اثر محلول‌پاشی با غلظت‌های ۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک، در طول فصل تابستان بر برخی خصوصیات کیفی و بهبود رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ٤ تکرار (هر تکرار شامل یک درخت) انجام شد. نتایج نشان داد محلول‌پاشی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک به‌طور معنی‌داری میزان مواد جامد محلول کل میوه و آنتوسیانین را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. میزان اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، ویتامین ث، آنتی‌اکسیدان کل، فلاونوئیدهای کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) با افزایش غلظت اسید آسکوربیک افزایش معنی‌داری داشت ولی pH آب میوه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. نتایج نشان داد محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک احتمالاً به دلیل افزایش میزان مواد جامد محلول به‌عنوان سوبسترای اصلی در مسیر ساخت آنتوسیانین و افزایش میزان فعالیت آنزیم PAL به‌عنوان کلیدی‌ترین آنزیم درگیر در مسیر ساخت فلاونوئیدها از جمله آنتوسیانین، باعث بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار می‌گردد.

کلید واژه‌ها: آنزیم، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، کیفیت، میوه سیب.

مقدمه

سیب (*Malus domestica* L.) از خانواده گلسرخیان[1] و از مهم‌ترین میوه‌های مناطق معتدله می‌باشد (Ahmadi-Afzadi, 2012). یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که در حال حاضر در امر تولید سیب وجود دارد، کیفیت پایین میوه‌های تولیدی در اثر استفاده از ارقام قدیمی، مدیریت ناصحیح باغات و عدم استفاده از ترکیبات مغذی و ارگانیک جهت بهبود کیفیت میوه‌ها می‌باشد. در میان انواع تیمارهای مورد استفاده جهت بهبود خصوصیات مطلوب میوه، آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه اسید آسکوربیک، از جمله ترکیباتی هستند که در جهت بهبود رشد رویشی و بالا بردن کمیت و کیفیت میوه استفاده می‌شوند (Shazly *et al*., 2013).

اسید آسکوربیک از جمله مواد طبیعی می‌باشد که در تولید محصولات ارگانیک حائز اهمیت ویژه می‌باشد. اسید آسکوربیک کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های هیدروکسی لازم می‌باشد (Elade, 1992). در حضور اسید آسکوربیک فعالیت چرخه گلوتاتیون–آسکوربات و کاتالاز افزایش یافته و سیستم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو تقویت می‌شود (Dixit *et al*., 2001). اسید آسکوربیک موجب تحریک تقسیم

1- Rosaceae

سلولی شده و هم‌چنین موجب توسعه سلولی و رشد طولی می‌شود (Horemanse *et al.*, 2006). نتایج تحقیقات Zulaikha (۲۰۱۳) نشان‌دهنده اثر گسترده اسید آسکوربیک بر فتوسنتز، افزایش هدایت روزنه‌ای، تنفس، کلروفیل، سطح برگ و وزن برگ زیتون می‌باشد. تأثیر مثبت اسید آسکوربیک بر عملکرد، به علت فعالیت آن مانند اکسین‌های طبیعی و نقش مؤثر آن روی بیوسنتز کربوهیدرات‌ها می‌باشد (Shazly *et al.*, 2013).

Farahat و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک روی درختان سیب رقم آنا[1]، نشان دادند محلول‌پاشی اسید آسکوربیک در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش رشد رویشی، طول شاخه و سطح برگ درختان سیب گردید. هم‌چنین گزارش گردیده است محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی نهال‌های زیتون دو ساله رقم حاج بلانکا[2]، به‌طور قابل توجهی سطح برگ و تعداد شاخه‌ها را افزایش داد، هم‌چنین کاربرد اسید آسکوربیک در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر، به‌طور معنی‌داری موجب افزایش میزان کلروفیل و وزن خشک ریشه گردید (Zulaikha, 2013). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک به علت تأثیر آن در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، باعث افزایش فتوسنتز شده و در نتیجه میزان کربوهیدرات‌ها را افزایش می‌دهد (Fayed, 2010).

Hafez و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر روی میوه‌های گلابی رقم لی کنت[3] موجب افزایش میزان کل مواد جامد محلول، قند کل و قندهای غیرکاهشی گردید. محلول‌پاشی ۶۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سیتریک و اسید آسکوربیک روی هلوهای ۶ ساله رقم Swelling، باعث افزایش TSS، TSS/Acid، قندهای کل، قندهای غیرکاهشی، آنتوسیانین و سفتی میوه گردید درحالی‌که میزان اسیدهای آلی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش و در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت (Shazly *et al.*, 2013). Fayed (۲۰۱۰) گزارش کرد که محلول‌پاشی اسید سیتریک و اسیدآسکوربیک روی انگور رقم Thompson seedless باعث افزایش مواد جامد محلول، TSS/Acid و کاهش اسیدیته گردید. استفاده از اسید آسکوربیک به دلیل افزایش میزان آنتوسیانین و کاهش میزان کلروفیل a و b میوه، نقش مهمی‌را در رنگ‌گیری بهتر میوه که شاخص بسیار مهمی در کیفیت می‌باشد، ایفا می‌کنند (Farag and Nagy, 2012). رنگ‌گیری بهتر میوه‌های پوست قرمز مانند رقم رداسپار سیب، نیازمند برداشت دیر هنگام بوده که این امر باعث کاهش عمر پس از برداشت میوه‌ها می‌شود. علاوه براین در شرایط آب و هوایی شهرستان ارومیه برداشت دیر هنگام میوه‌ها، احتمال مواجه شدن با شرایط نامساعد آب و هوایی مانند بادهای شدید و بارندگی اواخر فصل را افزایش داده و سبب افزایش ریزش‌های قبل از برداشت می‌شود. با توجه به اهمیتی که افزایش کیفیت میوه سیب در امر بازارپسندی و جلب مشتری دارد، پژوهش حاضر در جهت بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری میوه سیب رقم رد اسپار انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در باغ سیب دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه روی درختان سیب رقم رداسپار ۱۲ ساله پیوند شده روی پایه MM106 به‌صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار (هر تکرار شامل یک درخت) با محلول‌پاشی سه غلظت (۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) اسید آسکوربیک (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) به اجرا در آمد. درختان در طول فصل رشد به‌صورت هفتگی با سیستم آبیاری قطره‌ای آبیاری و در سه مرحله مبارزه با آفات و بیماری‌ها انجام گرفت. در طول فصل رشد از هیچ گونه تیمار کودی استفاده نشد. محلول‌پاشی (۵ لیتر برای هر درخت) در ساعات خنک روز (ساعت ۸ تا ۹ صبح) با کمک سمپاش پشتی انجام

1- Anna
2- Hoj Blanca
3- Le-Conte

گرفت. برای درختان شاهد از ۵ لیتر آب معمولی استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل یک درخت و در کل از ۱۲ درخت سیب استفاده گردید. محلول‌پاشی در سه زمان (۳۰ تیر و ۲۵ مرداد و ۲۰ شهریور) به فاصله ۲۵ روز تکرار شده و برداشت میوه‌ها در ۵ مهر ماه انجام گرفت. از هر درخت ۲۰ میوه برداشت شد و برای هر صفت از ۵ میوه استفاده گردید برخی خصوصیات کیفی میوه سیب رقم رداسپار از قبیل درصد مواد جامد محلول، میزان pH، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، میزان ویتامین ث، محتوی آنتی‌اکسیدان کل، میزان آنتوسیانین کل میوه، فلاونوئیدهای کل میوه و میزان فعالیت آنزیم PAL در پوست و گوشت میوه درزمان برداشت اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مواد جامد محلول (TSS)، pH و اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

برای اندازه‌گیری میزان مواد جامد محلول میوه‌ها از رفراکتومتر دستی مدل ATAGO، برای تعیین میزان pH آب میوه از دستگاه pH متر مدل CP-411 (ساخت کشور لهستان) و برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون با محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با pH=۸/۲ استفاده شد (AOAC, 1990).

اندازه‌گیری ویتامین ث

مقدار اسید آسکوربیک پس از تهیه آب میوه با دستگاه آب میوه‌گیری با استفاده از روش تیتراسیون اندازه‌گیری شد. ده میلی‌لیتر از عصاره میوه پس از افزودن ۲ سی‌سی نشاسته با یدید پتاسیم (KI) ۰/۰۱ نرمال تا ته‌نشین شدن ذرات نشاسته تیتراسیون انجام شد و بر اساس مقدار یدورپتاسیم مصرف شده در تیتراسیون و رابطه A.A=(S×N×F×88.1/C)×100 مقدار اسید آسکوربیک بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر محاسبه شد (AOAC, 1990).

اندازه‌گیری محتوای آنتی‌اکسیدان کل

تعیین محتوای آنتی‌اکسیدان کل با استفاده از دی‌پی‌پی‌اچ (DPPH) انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم DPPH با متانول ۸۰ درصد به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۵۰ میکرولیتر آب میوه گذرانده شده از صافی با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH تهیه شده، مخلوط کرده و بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و در فرمول زیر جاگذاری شد:

$$\%\text{DPPHsc} = \frac{(\text{Abs control})_{t=30\ min} - (\text{Abs sample})_{t=30\ min}}{(\text{Abs control})_{t=30\ min}}$$

که Abs sample میزان جذب DPPH در حضور نمونه عصاره و Abs control جذب DPPH بدون عصاره می‌باشد (Chiou *et al.*, 2007).

اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین پوست میوه

برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین، ۰/۱ گرم از پوست میوه تازه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل ۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) ساییده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. بعد از ۲۴ ساعت جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی $150\ cm^{-1}\ mM^{-1}$ استفاده شد (Fulcki and Francis, 1968).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدهای کل

برای اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدهای کل، ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آب میوه را با ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیم ۱۰ درصد اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه یک میلی‌لیتر سود ۱ مولار اضافه شده و در نهایت حجم نهایی به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار فلاونوئیدهای کل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردیده و فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر (mg/gFW) محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)

برای تهیه عصاره گیاهی از بافت میوه (گوشت و پوست) جهت سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز از بافر استخراج حاوی بافر بورات (۰/۱ مولار با pH برابر ۷)، ۰/۱ درصد پلی وینیل پیرولیدون[1] و ۲-مرکاپتواتانول[2] (۱/۴ میلی مولار) استفاده گردید. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. بافر سنجش شامل ۰/۴ میلی‌لیتر عصاره‌ی آنزیمی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر بورات (۰/۱ مولار با pH برابر ۸/۸) و ۰/۵ میلی‌لیتر L-فنیل آلانین (۱۲ میلی مولار)، به مدت ۳۰ دقیقه در درون حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و واحد فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید (9630 $mM^{-1}\ cm^{-1}$) بر حسب واحد نانو مول سینامیک اسید در ۳۰ دقیقه (nmolcinacid/30min) محاسبه گردید (Dickerson *et al*., 1984).

آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

کل مواد جامد محلول (TSS)

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان مواد جامد محلول داشت (جدول ۱).

بیشترین میزان افزایش کل مواد جامد محلول در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک بود که با کل مواد جامد محلول در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک تفاوت معنی‌داری نداشت ولی به‌طور معنی‌داری بیشتر از کل مواد جامد محلول در تیمار شاهد بود (شکل ۱). این نتایج موافق یافته‌های Hafez و همکاران (۲۰۱۰) است که افزایش میزان مواد جامد محلول، قند کل و قندهای غیرکاهشی را با محلول‌پاشی اسید آسکوربیک روی میوه‌های گلابی (Le-Conte) گزارش کردند. اسید آسکوربیک همانند اکسین‌های طبیعی عمل کرده و باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود و از این طریق باعث افزایش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها می‌شود (Fayed, 2010). احتمالاً اسید آسکوربیک با افزایش هدایت روزنه‌ای، میزان کلروفیل، سطح و وزن برگ‌ها نقش مثبت خود را در افزایش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها ایفا می‌کند (Zolaikha, 2013).

pH آب میوه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر pH آب میوه داشت (جدول ۱). کمترین میزان pH در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک مشاهده گردید که به‌طور معنی‌داری کمتر از pH میوه در تیمار شاهد بود. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک از لحاظ تاثیر بر pH آب میوه وجود نداشت (شکل ۲).

اسید آسکوربیک به علت ماهیت اسیدی و آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده به‌ویژه پلی فنل اکسیداز و تأخیر در مصرف اسیدهای آلی در واکنش‌های متابولیکی از جمله تنفس می‌شود (Lamikanra and Watson, 2003). اسیدآسکوربیک دارای خاصیت اسیدی است، بنابراین باعث کاهش pH آب میوه می‌گردد (Asghari and Majdi, 2010). نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج یافته‌های Fayed (۲۰۱۰) مبنی بر کاهش اسیدیته میوه انگور رقم *Thompson Seedless* با کاربرد اسید آسکوربیک مطابقت داشت.

1- Polyvinyl-pyrolidone
2- 2-Mercaptoethanol

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر برخی صفات کیفی اندازه‌گیری شده در سیب رقم رد اسپار

Table 1. ANOVA for the effect of foliar spray with ascorbic acid on some qualitative characteristics of 'Red Spur' apple cultivar

			میانگین مربعات MS			
منبع تغییرات S.O.V		درجه آزادی df	مواد جامد محلول TSS	واکنش خاک pH	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	ویتامین ث VC
بلوک	Block	3	0.11^{ns}	0.01^{*}	0.0002^{ns}	0.03^{ns}
اسیدآسکوربیک	Ascorbic acid	2	13.57^{**}	0.07^{**}	0.01^{**}	24.44^{**}
اشتباه آزمایشی	Error	24	0.11	0.004	0.0007	1.71
ضریب تغییرات (درصد)	CV (%)	-	2.64	1.73	6.69	14.3

ns، * و ** به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, * and ** no significant differences, significant at the 5 and 1 % probadility level, respectively.

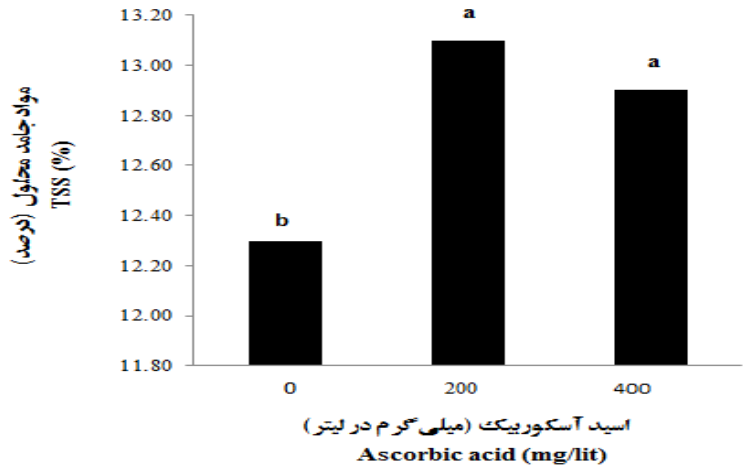
جدول۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر برخی صفات اندازه‌گیری شده در سیب رقم رد اسپار

Table1. ANOVA for the effect of foliar spray with ascorbic acid on some qualitative characteristics of 'Red Spur' apple cultivar

			میانگین مربعات MS				
منبع تغییرات S.O.V		درجه آزادی df	آنتی اکسیدان Total antioxidant	آنتوسیانین anthocyanin	فلاونوئیدهای کل Total flavonoids	فنیل آلانین آمونیالیاز PAL
بلوک	Block	3	0.5^{ns}	1.1^{ns}	4.39^{ns}	0.002^{*}
اسیدآسکوربیک	Ascorbic acid	2	132.09^{**}	3.89^{**}	1.64^{**}	0.003^{*}
اشتباه آزمایشی	Error	24	8.57	0.5	3.46	0.0008
ضریب تغییرات (درصد)	CV (%)	-	9.04	10.65	1.48	10.16

ns، * و ** به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

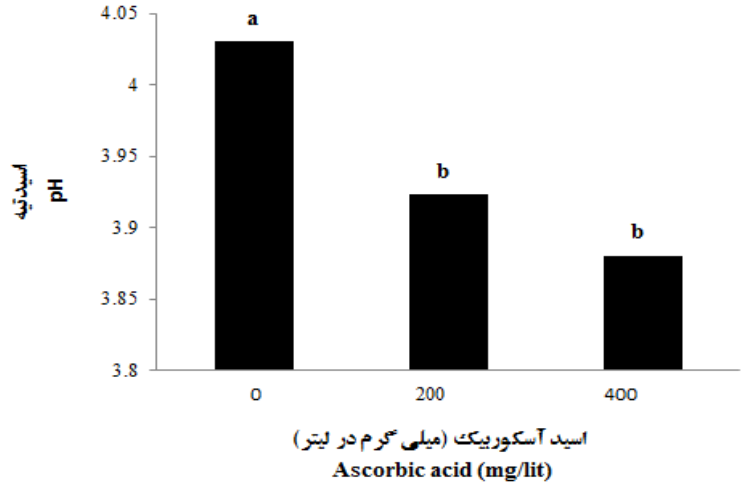
ns, * and ** no significant differences, significant at the 5 and 1 % probadility level, respectively.



نمودار ۱- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر درصد مواد جامد محلول در میوه سیب رقم رد اسپار

***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**

Fig. 1. Effect of foliar spray with ascorbic acid on TSS content of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**



نمودار ۲- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر pH میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**
Fig. 2. Effect of foliar spray with ascorbic acid on PH of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**

اسیدیته کل قابل تیتراسیون (TA)

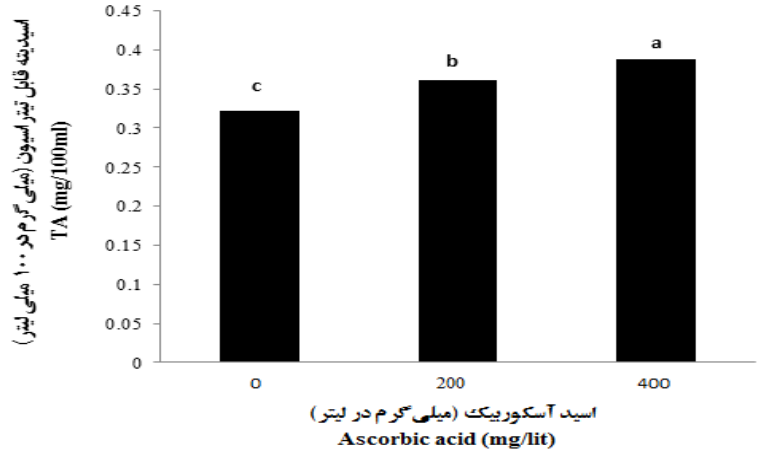
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رداسپار داشت. با افزایش غلظت اسید آسکوربیک میزان اسیدیته قابل تیتراسیون به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳).

هر عاملی که باعث کاهش تنفس و تولید اتیلن شود، به واسطه کاهش مصرف قندها از کاهش اسیدهای آلی جلوگیری می‌کند (Jalili Marandi, 2012). اسید آسکوربیک به علت ماهیت اسیدی و با تأخیر در فرآیند تنفس باعث افزایش و حفظ اسیدیته کل قابل تیتراسیون گردید (Lamikanra and Watson, 2003). Shazly و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در میوه هلو رقم Swelling با تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک نسبت به شاهد، افزایش ولی در غلظت‌های ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک کاهش یافت. افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون کل میوه با محلول‌پاشی اسید آسکوربیک توسط Fayed (۲۰۱۰) در انگور رقم *Thompson Seedless* نیز گزارش شده است.

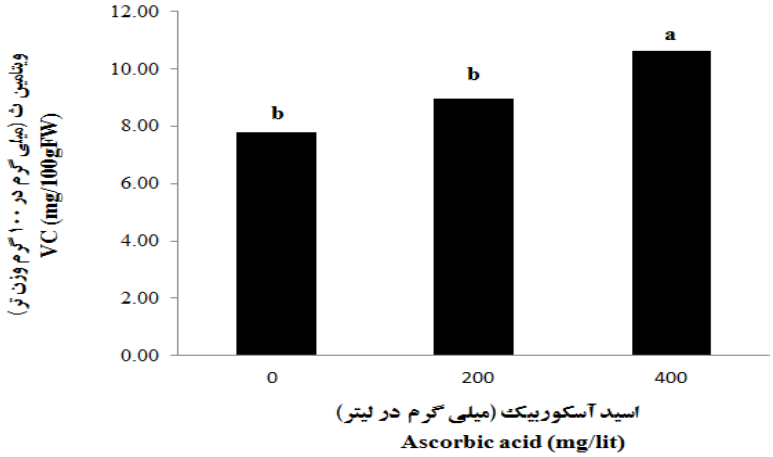
ویتامین ث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان ویتامین ث میوه داشت (جدول ۱).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت اسید آسکوربیک بر میزان ویتامین ث میوه افزوده شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان ویتامین ث در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک مشاهده شد. بین غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و تیمار شاهد، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴). عواملی که سبب حفظ غشا و ساختار سلول گردند، باعث حفظ ویتامین ث می‌گردند (Ruoyi *et al.*, 2005). اسید آسکوربیک به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث حفاظت از غشاء سلولی و حفظ محتویات سلولی از جمله ویتامین ث می‌گردد. نتایج ما موافق یافته‌های Ezz و همکاران (۲۰۱۲) است که گزارش کردند محلول‌پاشی درختان انبه با اسید آسکوربیک باعث افزایش ویتامین ث میوه گردید. نتایج مشابهی نیز توسط Hegab (۲۰۰۰) مبنی بر افزایش ویتامین ث میوه با محلول‌پاشی اسید آسکوربیک در درختان نارنگی رقم Blady mandarin گزارش گردید.



نمودار ۳- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر اسیدیته کل قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**
Fig. 3. Effect of foliar spray with ascorbic acid on TA content of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**



نمودار ٤- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان ویتامین ث میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**
Fig. 4. Effect of foliar spray with ascorbic acid on VC content of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**

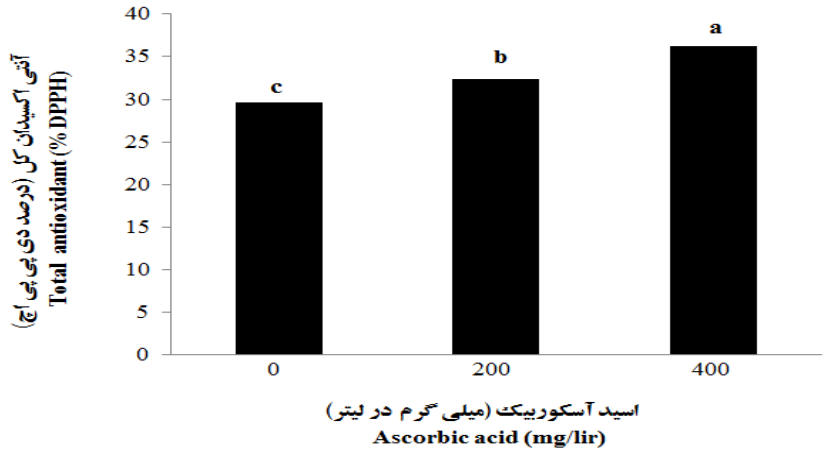
میزان آنتی‌اکسیدان کل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان آنتی‌اکسیدان میوه داشت (جدول ۲). نتایج مربوط به مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش غلظت اسید آسکوربیک، محتوای آنتی‌اکسیدان کل میوه سیب رقم رداسپار افزایش یافت. بین دو غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و شاهد در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. با این که هر دو غلظت استفاده شده اسید آسکوربیک تأثیر معنی‌داری در افزایش میزان آنتی‌اکسیدان کل داشت، ولی غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک نسبت به غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین افزایش معنی دار را نسبت به تیمار شاهد نشان داد (شکل ۵). اسید آسکوربیک در سیتوسل، واکوئل، میتوکندری و دیواره سلولی گیاه

وجود دارد و همراه با ترکیبات دیگری مانند توکوفرول، کاروتنوئیدها و فنل‌ها سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی را در گیاهان تشکیل می‌دهد. این اسید از آنتی‌اکسیدان‌های بسیار قوی می‌باشد که با انواع اکسیژن‌های فعال ترکیب شده و با احیای رادیکال‌های آزاد موجب بازدارندگی آن‌ها می‌شود (Smirnoff and Wheeler, 2000). علاوه بر این‌که اسید آسکوربیک به‌عنوان سوبسترای آنزیم آسکوربات پراکسیداز، در تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نقش دارد، می‌تواند به‌طور مستقیم موجب بی‌اثر شدن سوپراکسید اکسیژن شده و نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان ثانویه در چرخه‌های احیایی اشکال اکسید شده α-توکوفرول و آنتی‌اکسیدان‌ها ی چربی دوست دیگر عمل کند (Laspina *et al.*, 2005). در حضور اسید آسکوربیک، فعالیت چرخه گلوتاتیون- آسکوربات و در نتیجه تجزیه‌کننده‌های H_2O_2 افزایش یافته و به دنبال آن با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، با تنش اکسیداتیو مقابله می‌شود (Dixit *et al.*, 2001).

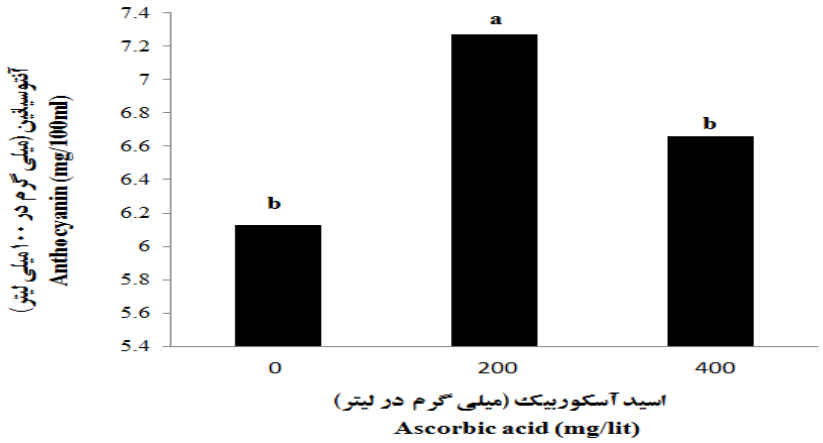
میزان آنتوسیانین

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان آنتوسیانین میوه رقم رداسپار داشت (جدول ۲). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث بیشترین افزایش در میزان آنتوسیانین میوه گردید و این افزایش نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود. در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک با وجود افزایش در میزان آنتوسیانین، تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد (شکل ۶). این نتایج موافق یافته‌های Farag and Nagy (۲۰۱۲) می‌باشد، مطابق یافته‌های ایشان محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید سیتریک بر روی درختان سیب رقم *Anna* با افزایش میزان آنتوسیانین و کاهش میزان کلروفیل a و b میوه و ارتقاء کیفیت میوه همراه بود. این تأثیر مثبت اسید آسکوربیک در افزایش میزان آنتوسیانین، به علت تأثیرگسترده اسید آسکوربیک در افزایش فتوسنتز، افزایش هدایت روزنه‌ای، افزایش سطح برگ و افزایش وزن برگ می‌باشد (Zolaikha, 2013). Shazly و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید سیتریک در درختان هلو رقم *Swelling* باعث افزایش معنی‌داری در میزان آنتوسیانین میوه گردید. افزایش آنتوسیانین و کاهش میزان کلروفیل a و b میوه در نتیجه کاربرد آسکوربیک و اسید سیتریک، به علت بیشتر کردن فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌باشد (Farag and Nagy, 2012).



نمودار ۵- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر محتوای آنتی‌اکسیدان کل میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**

Fig. 5. Effect of foliar spray with ascorbic acid on total antioxidant content of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**



نمودار ٦- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان آنتوسیانین میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**

Fig. 6. Effect of foliar spray with ascorbic acid on anthocyanin content of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**

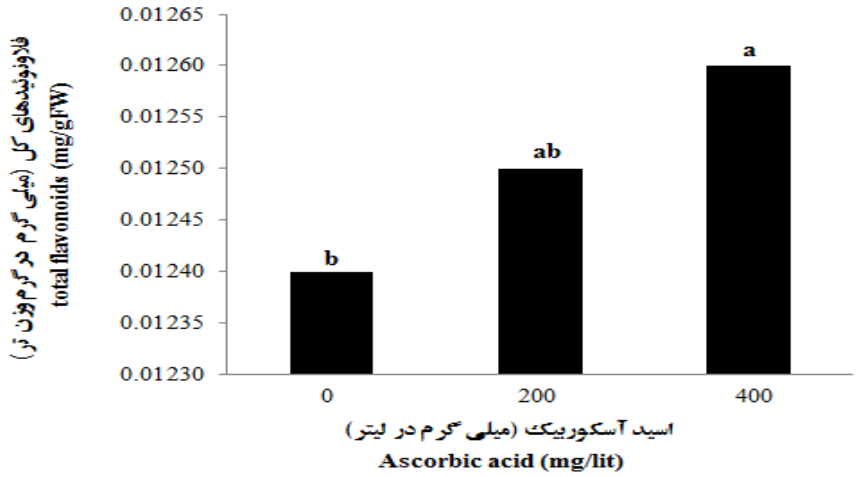
کل فلاونوئیدها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونوئیدهای کل میوه داشت (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک نشان داد که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث بیشترین افزایش میزان فلاونوئیدهای کل در میوه سیب رقم رداسپار گردید (شکل ۷). سیب منبع غنی از ترکیبات فنلی بویژه فلاونوئیدها است که فعالیت و غلظت این ترکیبات با توجه به رقم، مرحله بلوغ، شرایط محیطی و بخش‌های مختلف میوه متفاوت است. گروه‌های اصلی فلاونوئیدها در میوه سیب فلاونول‌ها یا کوئرستین ۳-گلیکوزید، فلاوان ۳-ال‌های منومر و الیگومر مثل کاتچین، اپی‌کاتچین، پروسیانیدین‌ها و دی هیدروچالکون‌هایی مثل فلوریدزین هستند. سیب رقم رداسپار دارای بیشترین مقدار کاتچین و فلوریدزین می‌باشد. فلاونوئیدها به علت داشتن توانائی آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت انتقال الکترون‌ها، کاهش پر اکسیداسیون هیدروژن، کاهش رادیکال‌های آلفاتوکوفرول دارای اثرات حفاظتی مفیدی می‌باشند، علاوه بر این مشخص شده است که ترکیبات فلاونوئیدی دارای خاصیت ضد جهش، ضد میکروبی، ضد ویروس و ضد سرطان نیز هستند (Ghorbani *et al*., 2010) از آنجایی که اسید آسکوربیک باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) می‌گردد (He and Luo, 2007). می‌تواند باعث فعال شدن مسیر ساخت مواد فنلی بویژه فلاونوئیدهای کل می‌شود.

میزان فعالیت آنزیم PAL

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم PAL میوه داشت (جدول ۲). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت اسید آسکوربیک فعالیت آنزیم PAL افزایش پیدا کرد، به‌طوری‌که بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک مشاهده گردید که به‌طور معنی‌داری بیشتر از فعالیت آنزیم در تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و تیمار شاهد بود (شکل ۸). فعالیت آنزیم PAL و بسیاری از آنزیم‌های دیگر تحت تاثیر pH محیط قرار می‌گیرد، اسید آسکوربیک دارای خاصیت اسیدی است بنابراین باعث کاهش pH شده و در نتیجه فعالیت این آنزیم را افزایش می‌دهد (He and Luo, 2007). مشخص شده است که اسید آسکوربیک با افزایش فعالیت آنزیم PAL، واکنش‌های مسیر فنیل پروپانوئید را تحریک کرده و باعث افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (Winkle-

Shirley, 2001). ترکیبات فنلی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که بیوسنتز آن‌ها در پوست میوه سیب و سایر بافت‌های گیاهی از طریق دو مسیر شیکمیک اسید و استات- موالونات تحت تأثیر مرحله نموی گیاه و فاکتورهای بیرونی انجام می‌گیرد. از جمله ترکیبات فنلی سیب فلاونول‌ها و آنتوسیانین هستند که سیانیدین ۳-گالاکتوزید مهم‌ترین آنتوسیانین پوست سیب می‌باشد. فاکتورهای بیوشیمیایی مؤثر در تولید آنتوسیانین، قندها و فعالیت آنزیم PAL می‌باشد (Lancaster *et al.*, 1994). تحریک فعالیت آنزیم PAL از طریق فعال کردن مسیر بیوسنتز رنگدانه‌های فنولیکی از جمله آنتوسیانین‌ها، که مهم‌ترین رنگیزه سیب رد اسپار می‌باشد، می‌تواند نقش مهمی‌در بهبود رنگ‌گیری میوه سیب رد اسپار داشته باشد.



نمودار ۷- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان فلاونوئیدهای کل میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**
Fig. 7. Effect of foliar spray with ascorbic acid on total flavonoid content of 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**

نمودار ۸- تأثیر محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک بر میزان فعالیت آنزیم PAL میوه سیب رقم رد اسپار
***میانگین‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.**
Fig. 8. Effect of foliar spray with ascorbic acid on PAL enzyme activity in 'Red Spur' apple fruit (P≤0.05).
***Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level in Duncan's Multiple Range Test.**

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با غلظت‌های مختلف اثرات معنی‌داری بر صفات مورد اندازه‌گیری داشته و باعث بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری بهتر میوه سیب رقم رد اسپار می‌گردد. کیفیت پایین میوه‌ها و عدم رنگ‌گیری مطلوب آن‌ها از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در کاهش ماندگاری و بازارپسندی آن محسوب می‌شود. اسید آسکوربیک با تأثیر مستقیم روی رادیکال‌های آزاد و حذف آن‌ها، تنظیم بیان ژن، تنظیم فعالیت و حفاظت از آنزیم‌ها در بسیاری از رفتارهای فیزیولوژیکی گیاه تأثیر می‌گذارد. اسید آسکوربیک به‌عنوان کوفاکتور در واکنش‌های فتوسنتزی عمل کرده و *به علت* خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل و کاروتنوئیدها جلوگیری می‌کند و با دخالت در تقسیم سلولی و افزایش رشد در سطح برگ‌ها و شاخه‌ها و عمل اکسین مانندش، باعث افزایش فعالیت فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها می‌گردد. در پژوهش حاضر استفاده از اسید آسکوربیک باعث افزایش TSS، میزان ویتامین ث و محتوای آنتی‌اکسیدان کل میوه‌ها گردید. مشخص شده است که اسید آسکوربیک با افزایش میزان فعالیت آنزیم PAL که در این پژوهش نیز مشاهده گردید، مسیر فنیل پروپانوئیدی را فعال کرده و باعث افزایش ساخت فلاونوئیدهای کل و آنتوسیانین می‌شود. بر اساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تیمار میوه‌های سیب پوست قرمز با اسید آسکوربیک به خصوص در مناطقی که مشکل رنگ‌گیری میوه وجود دارد و یا در مناطقی که به دلیل بارندگی‌ها و شرایط نامساعد آب هوایی در اواخر فصل و کاهش عمر انبارداری، امکان برداشت دیر هنگام میوه برای رنگ‌گیری بهتر امکان پذیر نمی‌باشد، می‌تواند کیفیت میوه سیب رقم رداسپار را افزایش دهد.

Refrences

1. Ahmadi-Afzadi, M. 2012. Genetic and biochemical properties of apples that effect storability and nutritional value. Introductory paper at the faculty of landscape planning. Horticulture and Agricultural Science, 120(3): 1-40.

2. AOAC, 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15th. ed. Helrich, K. (ed.). AOAC: Arlington, VA. 703 p.

3. Asghari, M.R. and Majdi, V. 2010. Effect of ascorbic acid and $CaCl_2$ treatments on quality attributes and shef-life of fresh cut ‘Golden Delicious’ apples. Food Reaserch, 2(2): 24-32. [In Farsi]

4. Chiou, A., Karathanos, V.T., Mylona, A., Salta, F.N., Preventi, F., and Andrikopoulos, N.K. 2007. Grape (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. Food Chemistry, 102: 516-522.

5. Dickerson, D.P., Pascholati, S.F., Hagerman, A.E., Butler, L.G., and Nicholson, R.L. 1984. Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxy cinnamate CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum.* Physioly Plant Patholgy, 25: 111-123.

6. Dixit, V., Pandy, V., and Shyam, R. 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Journal of Experimental Botany, 52: 1101-1109.

7. Elade, Y. 1992. The use of antioxidants to control gray mould (*botrytic cibera*) and white mould (Sclerotiorum) in various crops. Plant Pathology, 141(7): 417-426.

8. Ezz, T.M., Aly, M.A., and Awad, R.M. 2012. Storabgability of mango fruits improvement by some natural preharvest applications. Atiner Conference Paper Series, 2241-2891.

9. Farag, K.M. and Nagy, N.M.N. 2012. Effect of pre and post-harvest calcium and magnesium compounds and their combination treatments on Anna apple fruit quality and shelf life. Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants, 4(2): 155-168.

10. Farahat, M.M.S., Ibrahim, L.S., and Queesni, E.M.F. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of cupressus *semper virens* L. to foliar application of ascorbic acid and zinc at Nubara. World Journal of Agricultural Science, 3(4): 496-502.

11. Fayed, T.A. 2010. Effect of some antioxidants on growth, yield and bunch characteristics of Thompson seedless grapevine. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 8(3): 322-328.

12. Fulcki, T. and Francis, F.J. 1968. Quantitative method for anthocyanins extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. Journal of Food Science, 33: 72-77.

13. Ghorbani, A., Bakhshi, D., Haj Najari, H., Ghasemnezhad, M., and Taghidost, P. 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and import variant of apple in Karaj. Journal of Horticultural Science, 24(1): 83-90. [In Farsi]

14. Hafez, O.M., Hamouda, H.A., and Abd- El- Mageed, M.A. 2010. Effect of calcium and some antioxidants treatments on storability of "Le- Conte" pear fruits and its volatile components. Nature and Science, 8(5): 109-126.

15. He, Q. and Luo, Y. 2007. Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. Stewart Postharvest Review, 3: 123-132.

16. Hegab, Y.M. 2000. Response of balady mandarin trees to citric acid and ascorbic acid application combined with iron and zinc. Journal of Applied Science, 15(10): 194-208.

17. Horemans, N., Foyer, C.H., Potters, G., and Asard, H. 2006. Ascorbate function and associated transport system in plants. Plant Physiology and Biochemistry, 38: 531-540.

18. Jalili Marandi, R. 2012. Post Harvest Physiology, 276 p. [In Farsi]

19. Lamikanara, O. and Watson, M.A. 2003. Biochemical changes associated with fresh-cut fruit processing and storage. Freshness and Shelf life of Food, 836: 52-68.

20. Lancaster, J.E., Grant, J.E., Lister, C.E., and Taylor, M.C. 1994. Skin color in apples influence of co-pigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. Journal of American Society for Horticultural Science, 119: 63-69.

21. Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L., and Benavides, M.P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress-plant. Plant Science, 169: 323-330.

22. Ruoyi, K., Zhifang, Y., and Zhaoxin, L. 2005. Effect of coating and intermittent warming on enzymes, soluble pectin substances and ascorbic acid of *Prunus persica* (Cv. Zhonghuashoutao) during refrigerated storage. Food Research International, 38(3): 331-336.

23. Shazly, S.M., Eisa, A.M., Moatamed, A.M.H., and Kotb, H.R.M. 2013. Effect of some Agro-chemical pre harvest foliar application on yield and quality of 'Swelling' peach trees. Alexander Journal of Agricultural Research, 58(3): 219-229.

24. Smirnoff, N. and Wheeler, G.L. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. CRC Critical Review in Plant Science, 19: 267-290.

25. Winkle-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology, 126: 485-493.

26. Zulaikha, R. 2013. Effect of foliar spray of ascorbic acid, Zn, seaweed extracts force and bio fertilizers on vegetative growth and root growth of olive (*Olea europea* L.) transplants cv. Hogblanca International Journal of Pure and Applied Sciences, 17(2): 79-89.