دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی و فناوری پس از برداشت محصولات باغبانی

بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی لاین گوجه‌فرنگی با ماندگاری پایین

نگارنده: اسما جعفردقیقی

اساتید راهنما

دکتر حجت اله بداقی

دکتر امین ابراهیمی

اساتید مشاور

دکتر زیبا قسیمی حق

بهمن ۱۳۹۶

شماره: ۳۹۰/ر
تاریخ: ۱۷/۱۱/۱۳۹۶

بسمه تعالی

دانشگاه صنعتی شاهرود

مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره (۳) صورتجلسه نهایی دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم اسما جعفردقیقی با شماره دانشجویی ۹۴۰۴۹۶۴ رشته علوم باغبانی گرایش فیزیولوژی و فناوری پس از برداشت محصولات باغبانی تحت عنوان بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی لاین گوجه‌فرنگی با ماندگاری پایین که در تاریخ ۹۶/۱۱/۴ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می‌گردد :

قبول (با درجه: خیلی خوب) ☑ مردود ☐

نوع تحقیق: نظری ☐ عملی ☐

عضو هیأت داوران	نام ونام خانوادگی	مرتبهٔ علمی	امضاء
۱ـ استادراهنمای اول	دکتر حجت اله بداقی	استادیار	
۲- استادراهنمای دوم	دکتر امین ابراهیمی	استادیار	
۳- استاد مشاور	دکتر زیبا قسیمی حق	استادیار	
۴- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر وجیهه درستکار	استادیار	
۵- استاد ممتحن اول	دکتر پرویز حیدری	استادیار	
۶ـ استاد ممتحن دوم	دکتر مهدی رضایی	استادیار	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده:دکتر محمدرضا عامریان

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

تبصره: در صورتی که کسی مردود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می‌تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود).

تقدیم به:

جاودانه، شیر زن زندگی، "نازنین مادرم"

که والاترین تجلی گذشت، صداقت و عطوفت در زندگیم بوده

بزرگ مرد زندگی، "مهربان پدرم"

که عطر وجودش سایه ای از صفا، محبت و صمیمیت بر زندگیم گسترده

و "همسر مهربانم"

که در سایه همیاری و همدلی او به این منظور نائل شدم

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و درود بر محمّد و خاندان پاک او...

بر حسب وظیفه و از باب " من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر اللهَ عزّ و جلّ" : **ازپدر و مادر عزیزم**، این دو معلم بزرگوارم، که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت هایم گذشته‌اند و در تمام عرصه‌های زندگی یار و یاوری بی‌چشم داشت برای من بوده‌اند؛ از اساتید گرانقدرم؛ **جناب آقای دکتر حجت اله بداقی**، **جناب آقای دکتر امین ابراهیمی** و **سرکار خانم دکتر زیبا قیمی حق** که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛ و از اساتید فرزانه و دلسوز؛ **جناب آقای دکتر پرویز حیدری** و **جناب آقای دکتر مهدی رضایی** که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم

باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی سرکار خانم **دکتر وجیهه درستکار** که زحمت اداره جلسه را بر عهده داشتند سپاسگزارم.

اسماء جعفر دقیقی

بهمن ماه یک هزار و سیصد و نود و شش هجری شمسی

تـعـهـد نـــامـه

اینجانب اسما جعفردقیقی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان‌نامه بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی لاین گوجه‌فرنگی با ماندگاری پایین

تحت راهنمایی دکتر حجت اله بداقی و دکتر امین ابراهیمی متعهد می شوم :

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) اسـتفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شـخصـی افراد دسـترسـی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.**

چکیده:

این تحقیق به منظور بررسی اثرات 1-MCP و بسته‌بندی با اتمسفر تعدیل یافته بر برخی ویژگی‌های دو لاین خالص گوجه‌فرنگی Tomato Black cherry (VEG788) , Tomato Orange Berry (VEG241) و مطالعه چگونگی تغییرات پروفایل بیان تعدادی از ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز اتیلن انجام شد. در این پژوهش گوجه‌فرنگی‌ها در مرحله شکست رنگ از مزرعه برداشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. فاکتور اول دو لاین گوجه‌گیلاسی، فاکتور دوم شامل تیمار فیلم، فیلم همراه با 1-MCP و شاهد و فاکتور سوم شامل چهار زمان بود. آزمایش در سه تکرار انجام شد و گوجه‌فرنگی‌ها طی ۱۶ روز انبارداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نتایج نشان داد که بین تیمار شاهد و دو تیمار دیگر در تمامی صفات (کاهش وزن، pH، مواد جامد محلول، سفتی و کلروفیل) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج الگوی بیان چهار ژن دخیل در مسیر بیوسنتز اتیلن (*ACO1, ACO5, ACS4* و*SAM1*) بررسی شد. نتایج این بخش نشان داد که تیمار فیلم و فیلم همراه با 1-MCP نسبت به شاهد بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز اتیلن را به صورت معنی‌داری کاهش دادند. در مجموع نتایج نشان داد که تیمار فیلم و فیلم همراه با 1-MCP فرآیند رسیدگی و پیری را در گوجه‌فرنگی به تاخیر انداخته است.

کلمات کلیدی: گوجه‌فرنگی، 1-MCP، اتمسفر تعدیل یافته، بیان ژن و اتیلن

فهرست مطالب

فصل اول مقدمه و کلیات ۱

مقدمه ۲

۱- کلیات ۵

۱-۱- خاستگاه ۵

۱-۲- ارزش غذایی گوجه‌فرنگی ۵

۱-۳ - وضعیت تولید گوجه‌فرنگی در جهان و ایران ۶

۱-۴ – گیاهشناسی ۶

۱-۵- اهمیت افزایش ماندگاری گوجه‌فرنگی ۷

۱-۶ - اتیلن ۷

۱-۶-۱ - نحوه تشکیل اتیلن در گیاهان ۹

۱-۶-۲- اثرات فیزیولوژیکی اتیلن در رسیدن و پس از برداشت ۱۰

۱-۶-۲-۱ - رسیدگی میوه ۱۰

۱-۶-۲-۲- پیری ۱۱

۱-۶-۳- روش‌های کنترل اتیلن در پس از برداشت ۱۱

۱-۶-۳-۱- اکسیداسیون با پرمنگنات پتاسیم ۱۱

۱-۶-۳-۲- اکسیداسیون با ازن ۱۱

۱-۶-۳-۳ - ذغال فعال ۱۲

۱-۶-۳-۴- تترازین ۱۲

۱-۶-۳-۵ - سدیم تیوسولفات ۱۲
۱-۶-۳-۶ - آمینواتوکسی وانیل گلایسین و آمینواکسی استیک اسید ۱۳
۱-۶-۳-۷- ۱- متیل سیکلوپروپن (1-MCP)..... ۱۳
۱-۷- بسته‌بندی ۱۳
۱-۷-۱ - نقش بسته‌بندی در افزایش ماندگاری..... ۱۵
۱-۷-۲ - مزایای بسته بندی..... ۱۷
۱-۸ - بیان ژن ۱۸
۱-۹ - PCR زمان واقعی..... ۱۹
۱-۹ – ۱ - مواد شیمیایی مورد نیاز برای مشخص کردن میزان محصول در Real- time PCR ۲۰
۱-۹ – ۱- ۱- رنگ‌های اتصالی به DNA ۲۰
۱-۱۰ – مقایسه روش‌های معمولی PCR با PCR زمان واقعی برای تعیین میزان قطعات هدف ۲۱
۱ – ۱۰ – ۱- مشکلات تشخیص بعد از اتمام واکنش ۲۱
۱ – ۱۱ - مزایا و معایب Real Time PCR ۲۴
۱ – ۱۲- انواع روش‌های Real Time PCR..... ۲۵
۱ – ۱۳ - انواع روش‌های تعیین کمی Real Time ۲۶
۱ – ۱۳ – ۱ - ارزیابی دقیق ۲۶
۱ – ۱۳ – ۲- ارزیابی نسبی ۲۷
۱ – ۱۴ - راندمان تکثیر ۲۷
۱ – ۱۵ - موارد کنترلی ۲۸
۱– ۱۵ – ۱- ژن‌های خانه‌دار ۲۹
۱ – ۱۵ – ۲ -RNA ریبوزومی (rRNA)..... ۲۹
۱- ۱۶ – نرمال‌سازی ۳۰
فصل دوم بررسی منابع ۳۱
۲- ۱- تیمار 1-MCP به عنوان ماده‌ای بازدارنده رقابت آمیز بیوسنتز اتیلن ۳۲
۲- ۲- کاربرد اتمسفر تعدیل یافته بر دوره پس از برداشت ۳۶
۲- ۳- اثر تیمارهای پس از برداشت بر تغییرات بیان ژن مسیر بیوسنتز اتیلن ۳۹

فصل سوم مواد و روش‌ها..... ۴۵

۳-۱- زمان و محل اجرای آزمایش..... ۴۶

۳-۲- موقعیت شهرستان شاهرود از نظر جغرافیایی..... ۴۶

۳-۳- نوع و قالب طرح..... ۴۶

۳-۴ – پرورش دو لاین گوجه‌فرنگی..... ۴۷

۳-۵ - برداشت محصول و اعمال تیمارها..... ۴۷

۳-۶ - صفات فیزیولوژیکی..... ۴۸

۳-۶-۱- اندازه‌گیری میزان کاهش وزن..... ۴۸

۳-۶-۲- اندازه‌گیری مواد جامد محلول..... ۴۸

۳-۶-۳- اندازه‌گیری pH محلول..... ۴۹

۳-۶-۴- اندازه‌گیری سفتی بافت میوه..... ۴۹

۳-۶-۵- اندازه‌گیری کلروفیل..... ۴۹

۳ – ۷ – بررسی بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز اتیلن..... ۵۰

۳ – ۷ – ۱- استخراج RNA..... ۵۰

۳ – ۷ – ۲ - ساخت cDNA..... ۵۱

۳– ۷ – ۳ - طراحی آغازگرها..... ۵۲

۳ – ۷ – ۴- بررسی صحت سنتز آغازگرها..... ۵۳

۳ – ۷ – ۵ - انجام واکنش Real-Time PCR..... ۵۴

۳ – ۷ – ۶- استاندارد سازی..... ۵۵

۳- ۷ – ۷- ارزیابی اختصاصی بودن آغازگرها..... ۵۵

۳ – ۷ – ۸- تجزیه داده‌های Real-Time PCR..... ۵۶

فصل چهارم نتایج و بحث..... ۵۷

۴-۱- نتایج فیزیولوژیکی..... ۵۸

۴-۱-۱- درصد کاهش وزن..... ۵۸

۴-۱-۲- مواد جامد محلول (TSS)..... ۶۰

۴-۱-۳- pH ۶۲
۴-۱-۴ سفتی بافت میوه ۶۴
۴-۱-۵- میزان کلروفیل ۶۸
۴-۱-۶- همبستگی ۷۴
۴-۲- نتایج بیان ژن ۷۵
۴ – ۲ –۱- تغییرات سطوح بیان ژن ACO1 ..... ۷۵
۴ – ۲- ۲- تغییرات سطوح بیان ژن ACO5 ..... ۷۸
۴ –۲ – ۳ - تغییرات سطوح بیان ژن SAM1 ..... ۸۰
۴ – ۲ – ۴ - تغییرات سطوح بیان ژن ACS4 ..... ۸۲
فصل پنجم نتیجه‌گیری و پیشنهادات ۸۵
۵ - ۱ – نتیجه‌گیری کلی ۸۶
۵ - ۲ – پیشنهادات ۸۸
پیوست‌ها ۸۹
منابع ۱۰۲

فهرست اشکال

شکل ۱ – ۱- مسیر بیوسنتز اتیلن ۱۰

شکل ۴ – ۱ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر درصد کاهش وزن ۵۸

شکل ۴ – ۲ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر درصد کاهش وزن ۵۹

شکل ۴ – ۳ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر مواد جامد محلول گوجه‌گیلاسی ۶۱

شکل ۴ – ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر pH گوجه‌گیلاسی ۶۳

شکل ۴ – ۵ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر سفتی گوجه‌گیلاسی ۶۵

شکل ۴ –۶ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در زمان بر سفتی گوجه‌گیلاسی ۶۶

شکل ۴ –۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر سفتی گوجه‌گیلاسی ۶۷

شکل ۴ – ۸ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر میزان کلروفیل a گوجه‌گیلاسی ۶۹

شکل ۴ – ۹ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر میزان کلروفیل کل گوجه‌گیلاسی ۷۰

شکل ۴ –۱۰ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر میزان کلروفیل کل گوجه‌گیلاسی ۷۱

شکل ۴-۱۱- اثر تیمارهای مختلف بر تغییر رنگ دو لاین گوجه‌گیلاسی ۷۳

شکل ۴-۱۲- منحنی ذوب و تکثیر در برخی از ژن‌های مطالعه شده در تیمارهای مختلف در این تحقیق ۷۷

شکل ۴ – ۱۳ – بیان نسبی ژن ACO1 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری ۷۸

شکل ۴ - ۱۴- بیان نسبی ژن ACO5 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری ۸۰

شکل ۴ - ۱۵- بیان نسبی ژن SAM1 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری ۸۲

شکل ۴ - ۱۶- بیان نسبی ژن ACS4 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری ۸۴

فهرست جداول

جدول۳- ۱- ترکیبات مورد استفاده به منظور حذف DNAی ژنومی ۵۰

جدول۳- ۲- ترکیبات مورد استفاده برای ساخت cDNA در مرحله اول ۵۱

جدول ۳- ۳- ترکیبات مورد استفاده برای سنتز cDNA در مرحله دوم..... ۵۲

جدول ۳- ۴ - آغازگرها و مشخصات آن‌ها ۵۲

جدول ۳- ۵- ترکیبات مورد استفاده در واکنش PCR به منظور تایید سنتز cDNA..... ۵۳

جدول ۳ - ۶- برنامه ترمال‌سایکلر برای PCR ۵۳

جدول ۳- ۷ – ترکیبلات مورد استفاده در واکنش PCR زمان واقعی..... ۵۴

جدول پیوست۱- تجزیه واریانس اثر رقم، تیمار و زمان بر صفات پس از برداشت گوجه‌گیلاسی ۹۰

جدول پیوست ۲- تجزیه واریانس اثر رقم، تیمار و زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی ۹۱

جدول پیوست ۳- مقایسه میانگین برای دو لاین گوجه‌گیلاسی ۹۲

جدول پیوست ۴- مقایسه میانگین برای تیمارهای بسته‌بندی ۹۲

جدول پیوست ۵- مقایسه میانگین برای زمان‌های مختلف پس از برداشت..... ۹۲

جدول پیوست ۶- مقایسه میانگین برای دو لاین گوجه‌گیلاسی ۹۳

جدول پیوست ۷- مقایسه میانگین برای تیمارهای بسته‌بندی..... ۹۳

جدول پیوست ۸- مقایسه میانگین برای زمان‌های مختلف پس از برداشت..... ۹۳

جدول پیوست ۹- همبستگی صفات پس از برداشت گوجه‌گیلاسی ۹۴
جدول پیوست ۱۰- اثرات متقابل لاین در تیمار در گوجه‌گیلاسی ۹۵
جدول پیوست ۱۱- اثرات متقابل لاین در تیمار بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی ۹۶
جدول پیوست ۱۲- اثرات متقابل لاین در زمان در گوجه‌گیلاسی ۹۷
جدول پیوست ۱۳- اثرات متقابل لاین در زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی ۹۷
جدول پیوست ۱۴- اثرات متقابل تیمار در زمان در گوجه‌گیلاسی ۹۸
جدول پیوست ۱۵- اثرات متقابل تیمار در زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی ۹۹
جدول پیوست ۱۶- اثرات متقابل لاین در تیمار در زمان در گوجه‌گیلاسی ۹۹
جدول پیوست ۱۷- اثرات متقابل لاین در تیمار در زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی ۱۰۱

فصل اول

مقدمه و کلیات

مقدمه

پژوهش‌های علم نوین ثابت کرده است که مصرف میوه و سبزی سبب پیشگیری بسیاری از بیماری‌های رایج شده است. بنابراین، امروزه در کشورهای پیشرفته سفارش می‌شود که مردم از میوه و سبزی در رژیم غذایی خود بیش از فرآورده‌های دامی استفاده کنند. با توجه به افزایش جمعیت دنیا و نیاز روز افزون مردم به فرآورده‌های باغبانی، جلوگیری از آسیب‌های بین زمان برداشت تا هنگام مصرف بسیار مهم و ضروری است. امروزه کشورهای پیشرفته افزایش عملکرد در واحد سطح را افزایش می‌دهند. باور بر این است که با فناوری‌های نوین، ضایعات فرآورده‌های باغبانی را به حداقل برسانند و در این راه سرمایه‌گذاری کلانی صورت گرفته است (راحمی، ۱۳۸۷). گوجه‌فرنگی با نام علمی *Lycopersicun esculentum* Mill گیاهی از خانواده بادمجانیان (Solanaceae) است، دارای مقادیر زیادی ویتامین‌های A ، C و لیکوپن بوده اما میزان چربی و کالری آن پایین است به گونه‌ای که هر ۱۰۰ گرم گوجه‌فرنگی خام، حاوی ۲۰ کالری انرژی است که این خواص موجب افزایش مصرف خانگی آن است همچنین به دلیل پاره‌ای از خواص دارویی و نیز مغذی بودن، از شهرت زیادی برخوردار است و در علم گیاه‌شناسی در شاخه میوه‌های توت طبقه‌بندی شده است (اسماعیلی[1] و همکاران، ۲۰۱۱). گوجه‌فرنگی علاوه بر دارا بودن اهمیت اقتصادی، یک گزینه مناسب برای تحقیقات فیزیولوژیکی، سلولی، بیوشیمیایی و ژنتیک مولکولی به شمار می رود (هیل و همکاران، ۱۹۸۹). با توجه به اینکه میوه‌ها و سبزی‌ها پس از برداشت به سرعت فاسد شده و دچار افت کیفیت می‌شوند، دستیابی به راه‌کارهایی مناسب برای افزایش دوره ماندگاری و حفظ کیفیت این محصولات بسیار مهم است. به طور کلی راهکارهای بسته‌بندی به علت محافظت محصول در برابر عوامل فاسد کننده، محافظت از محصول، ارتباط با مصرف کننده به عنوان وسیله‌ی بازاریابی و تامین نیاز مصرف‌کنندگان با کاربری آسان

[1] Esmaili

و راحت، نقش مهمی را ایفا می‌کند (مک میلین[1]، ۲۰۰۸). در حال حاضر، برای افزایش عمر انبارداری بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها از بسته‌بندی استفاده می‌کنند. مهمترین فواید بسته‌بندی شامل کاهش تنفس، کاهش تولید و حساسیت اتیلن، کند شدن روند نرم شدن میوه و تغییر ترکیبات داخلی میوه است (آنتونیو[2] و همکاران، ۱۹۹۶). از مهمترین روش‌ها می‌توان به انبارداری در اتمسفر کنترل شده، انبارداری در اتمسفر فشار پایین و بسته‌بندی با اتمسفر تغییریافته (MAP) اشاره کرد. بسته‌بندی در اتمسفر تغییریافته، فرآیند دینامیکی فعال و یا غیرفعال تغییر ترکیب گازی در داخل یک بسته است که بر تعامل بین سرعت تنفس محصول و انتقال گازها از طریق مواد بسته‌بندی متکی است (کالب[3] و همکاران،۲۰۱۲).

فرازگرا[4] بودن گوجه‌فرنگی از علل اصلی محدود بودن دوره نگهداری آن است بنابراین میوه‌های گوجه-فرنگی همزمان با رسیدن، مقداری اتیلن تولید می‌کنند که گاز اتیلن در نقش یک هورمون گیاهی، کار تنظیم و یا تحریک برخی فرآیندهای گیاهی مانند کنترل تنفس، باز شدن گل‌ها، رسیدن میوه‌ها و ریزش برگ‌ها را انجام می‌دهد (الکساندر[5] و گریسون، ۲۰۰۲). تولید و تجمع اتیلن در طول انبارداری می‌تواند باعث صدمه‌های جدی در محصولات باغبانی شود. در واقع اتیلن سبب افزایش شاخص میزان تنفس شده و رسیدگی و پیری را تسریع می‌کند (نارگین و کارلین[6]، ۱۹۹۴). کاربرد گاز ۱- متیل سیکلوپروپن (1-MCP)، یکی از روش‌های نوین برای کنترل اثر اتیلن است. 1-MCP سیکلو آلکنی است با فرمول مولکولی C_4H_6 که به عنوان تنظیم کننده رشد گیاهی استفاده می‌شود. مکانیسم عمل آن ارتباط تنگاتنگی با گیرنده‌های اتیلن در گیاه و احتمال بلوک کردن آن‌ها در برابر اثر اتیلن دارد (سیسلر و سرک[7]، ۲۰۰۳). 1-MCP می‌تواند آثاری متفاوت بر تنفس، تولید اتیلن، ترکیبات فرار، تغییر رنگ، ماده خشک، اسیدیته، سفتی

[1] McMillin
[2] Antonio
[3] caleb
[4] Climacteric
[5] Alexander and Grierson
[6] Nrguyen and carlin
[7] sisler and serek

بافت و سرعت گسترش بیماری‌ها در محصول داشته باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که کاربرد 1-MCP می‌تواند به یک تکنولوژی جدید در حفظ محصولات کشاورزی تبدیل شود (ماتیز[1] و همکاران، ۲۰۰۲).

اهداف این تحقیقات شامل موارد زیر است:

- بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو لاین گوجه‌فرنگی با ماندگاری پایین در شرایط انبارداری (۲۰ درجه‌سانتی‌گراد).
- بررسی پروفایل تغییر بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز اتیلن در پاسخ به تیمار 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن.
- بررسی تغییرات در خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو لاین گوجه‌فرنگی تحت تیمار 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن.

[1] Mattheis

۱- کلیات

۱-۱- خاستگاه گوجه‌فرنگی

باور بر این است که جنس لیکوپرسیکون از خانواده سولاناسه از نواحی مرز ساحلی آمریکای جنوبی از خط استوا تا حدود ۳۰ درجه عرض جغرافیایی منشا گرفته است. شواهد ژنتیکی نشان می‌دهند که اجداد گوجه‌فرنگی گیاهان خودرو و علفی بودند که میوه‌های کوچک و سبز رنگی داشتند و در جزیره گالاپاگوس می‌رویدند. ابتدا در مکزیک به صورت اهلی درآمدند. در قرن ۱۸ گوجه‌فرنگی به عنوان یک میوه خوراکی استفاده شد. در اواسط قرن ۱۹ گوجه‌فرنگی به اروپا معرفی شد. این سبزی ابتدا در ایتالیا و اسپانیا به خاطر جنبه زیبایی و زینتی بودن میوه پرورش می‌یافت. احتمالا اولین گیاهانی که وارد اروپا شدند، دارای میوه‌های زرد بودند به خاطر اینکه در ایتالیا آن را پومودورو (سیب طلایی) نامیدند (پیوست، ۱۳۸۸).

۱-۲- ارزش غذایی گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی سرشار از ویتامین‌های A، B، E، C و K است و موجب تعادل موادآلی بدن می‌شود. همچنین در درمان روماتیسم، نقرس، رفع مسمومیت‌های مزمن، تصلب شرایین، زیاد بودن اوره خون، دفع رسوبات ادراری و صفراوی، یبوست و ورم مخاط روده مفید است. آب تازه گوجه‌فرنگی به مقدار سه فنجان در روز برای بدن بسیار مفید است. میوه این گیاه حاوی چربی، پروتئین، کلسیم، فسفر، آهن، سدیم، پتاسیم، سولانین و نوعی کارتنوئید است. این گیاه به صورت مختلف در تغذیه مورد مصرف قرار می‌گیرد. مصرف خام آن به تنهایی و یا همراه با سایر سبزی‌ها در سالاد و به صورت پخته در غذاهای مختلف معمول است. علاوه بر آن به صورت کنسرو، رب، سس و کچاپ نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بعضی نقاط آن را خشک کرده و در انواع غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقدار کالری گوجه‌فرنگی زیاد نیست و به همین علت مصرف آن در رژیم‌های لاغری توصیه می‌شود. رنگدانه قرمز میوه گوجه‌فرنگی (لیکوپن) یک آنتی‌اکسیدان قوی است که از گسترش فرم‌های مختلف سرطان جلوگیری می‌کند. میوه‌های گوجه‌فرنگی که پخته می‌شوند

سرشار از لیکوپن هستند، در حقیقت با پختن گوجه‌فرنگی لیکوپن آن آزاد می‌شود. گوجه‌فرنگی خام یک پنجم گوجه‌فرنگی پخته دارای لیکوپن است. با این وجود هم گوجه‌فرنگی خام و هم گوجه‌فرنگی پخته هر دو یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان هستند (رحیمی نیا، ۱۳۹۰).

۱-۳ - وضعیت تولید گوجه‌فرنگی در جهان و ایران

براساس آمار خواربار جهانی در سال ۲۰۱۶ میزان تولید گوجه‌فرنگی در جهان ۱۷۷۰۴۲۳۵۹ میلیون تن گزارش شده‌است. در ایران سطح زیر کشت ۱۵۹۱۲۳هکتار، عملکرد ۴۰۰۴۸۴ هزارکیلوگرم در هکتار و تولید ۶۳۷۲۶۳۳ میلیون تن در سال بوده است (فائو، ۲۰۱۶).

۱-۴ – گیاه‌شناسی

گوجه‌فرنگی گیاهی است علفی و یکساله، ساقه آن به صورت سیمپودیال[1] رشد می‌کند. برگ‌ها در گوجه‌فرنگی مرکب و متناوب است. برگ‌ها و ساقه پوشیده از کرک‌های ریز هستند. میوه یک نوع سته است و وزن آن از چند گرم تا بیش از یک کیلوگرم می‌رسد. میوه‌های چندحجره‌ای نسبت به میوه‌های دو حجره‌ای به مراتب خوش طعم‌تر و در مقابل ضربات مقاوم‌ترند. گل‌آذین در گوجه‌فرنگی گرزن بوده که توسط مریستم انتهایی به وجود می‌آید و شامل یک محور اصلی بارده و گل‌های جانبی بدون براکته است (پیوست، ۱۳۸۸). گوجه‌فرنگی تحت شرایط کوتاهی و بلندی روز گل می‌دهد، بنابراین در اکثر عرض‌های جغرافیایی تولید میوه می‌کند. آرایش گل‌آذین به صورت چهار تا ۱۲ گل کامل است. گوجه‌فرنگی‌های اولیه ویژگی‌های گیاه سیب‌زمینی را داشتند یعنی گل دارای پنج بخش بوده در حالی که ارقام جدید گوجه‌فرنگی دارای بیش از پنج گلبرگ زرد و کاسبرگ سبز هستند. گل‌های گوجه‌فرنگی کامل هستند، چرا که هر گل

[1] sympodial

دارای قسمت‌های نر (بساک) و ماده (کلاله، خامه و تخمدان) است. بنابراین این موضوع نشان می‌دهد که هر گل می‌تواند خودش را گرده افشانی کند (جیحونی، ۱۳۸۸).

۱-۵- اهمیت افزایش ماندگاری گوجه‌فرنگی

میوه گوجه‌فرنگی به علت بافت نرم و آبکی، در زمان بعد از برداشت از فسادپذیری بالایی برخوردار است. مخصوصاً زمانی که میوه نرم، فاصله محل تولید تا مصرف زیاد و شرایط حمل و نقل و نگهداری مناسب نباشد، درصد ضایعات میوه خیلی بالا می‌رود. هر اندازه سفتی بافت میوه زیاد باشد، میوه از نگهداری بهتر و کاهش ضایعات کمتری برخوردار خواهد بود. اگر تحت شرایط خاصی بتوان از نرم شدن سریع میوه جلوگیری نمود و کیفیت میوه را حتی برای مدت کوتاهی حفظ کرد، در آن صورت می‌توان از درصد بالای ضایعات این محصول جلوگیری به عمل آورد (هناره و همکاران، ۱۳۸۹). علاوه بر آن ظرفیت بالای تولید اتیلن در گوجه‌فرنگی دلیل رسیدن سریع پس از برداشت این محصول و ضایعات ناشی از آن است. اتیلن در نقش یک هورمون گیاهی، تنظیم برخی از فرآیندهای گیاهی مانند تنفس، بازشدن گل‌ها، رسیدن و ریزش برگ‌ها را انجام می‌دهد (الکساندر و همکاران، ۲۰۰۲).[1]

۱-۶ - اتیلن

میوه‌های فرازگرا و نافرازگرا را می‌توان از راه واکنش آن‌ها نسبت به اتیلن و شیوه تولید اتیلن در هنگام رسیدن از یکدیگر بهتر تشخیص داده و به روشنی ثابت شده است که در هنگام نمو تمام میوه‌ها، مقادیر بسیار اندکی اتیلن تولید می‌شود. به هر حال، میوه‌های فرازگرا همزمان با رسیدن، مقدار اتیلن بیشتری از میوه‌های نافرازگرا تولید می‌کند. اهمیت اتیلن برای رساندن میوه در اوایل قرن بیستم، هنگامی ثابت شد که از بخاری‌های نفت سوز برای سبززدایی یا ایجاد رنگ زرد در لیموی کالیفرنیا استفاده شد. دنی در سال

[1] Alexander

۱۹۲۴ متوجه شد که هنگام استفاده از گرما برای سبززدایی، عامل اصلی سبززدایی اتیلن است و بزودی بسیاری از پژوهشگران نشان دادند که اتیلن می‌تواند رسیدن بسیاری از میوه‌ها را تسریع کند. اتیلن به عنوان عاملی بیرونی که می‌تواند رسیدن را تسریع کند، مورد توجه قرار گرفت، اما در سال ۱۹۳۴، گین دریافت که میوه و دیگر بافت‌های گیاه، مقادیر بسیار اندکی اتیلن تولید می‌کنند (مجید راحمی، ۱۳۸۴). اتیلن هورمونی گیاهی است که هماهنگ با سایر هورمون‌ها (اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و ...) فرآیند رسیدن را تنظیم می‌کند. این هورمون در پاسخ گیاه به تنش‌های زنده و غیرزنده مانند حمله پاتوژن، آسیب‌های مکانیکی، غرقابی و سرما نقش دارد. آخرین مرحله در مسیر بیوسنتزی اتیلن اکسیداسیون دو الکترون ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) و سپس تبدیل آن به اتیلن، دی اکسیدکربن، سیانید و آب است که این عامل توسط آنزیم ۱- آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسیداکسیداز (ACO) انجام می‌گیرد (آدامس و یانگ[1]، ۱۹۷۹). تجمع این گاز و دیگر مواد فرار مانند استالدئید و اتانول در هوای انبار، یک مشکل عمده در مرحله انبارداری محصولات کشاورزی و خصوصاً انواع فرازگرای آن‌ها است. وجود مقادیر کم اتیلن در محیط هوای انبار سبب تسریع رسیدن میوه‌ها می‌شود و واکنش‌های ناخواسته‌ای مانند افزایش طعم تلخ، زرد شدن سبزی‌های برگی و افزایش قابلیت بیماری‌های انباری را به همراه دارد (آکیامز و توگدز[2]، ۲۰۰۰). گوجه‌فرنگی میوه‌ای کلیماتریک است که همانند موز افزایش قابل توجهی در تولید اتیلن در طی انبارداری از خود نشان می‌دهد (واتکینز[3]، ۲۰۰۶) به همین دلیل حفظ کیفیت میوه‌ها و جلوگیری از نرم شدگی سریع آن‌ها به دلیل تولید اتیلن دشوار است. گوجه‌فرنگی‌ها به منظور جلوگیری از صدمات فیزیکی و افزایش عمر قفسه‌ای[4] در مرحله نابالغ برداشت می‌شوند و در طی ذخیره‌سازی و توزیع به نقاط مختلف به

[1]Adams and Yang
[2]Akiyams and Togeds
[3]Watkins
[4] Shelf Life

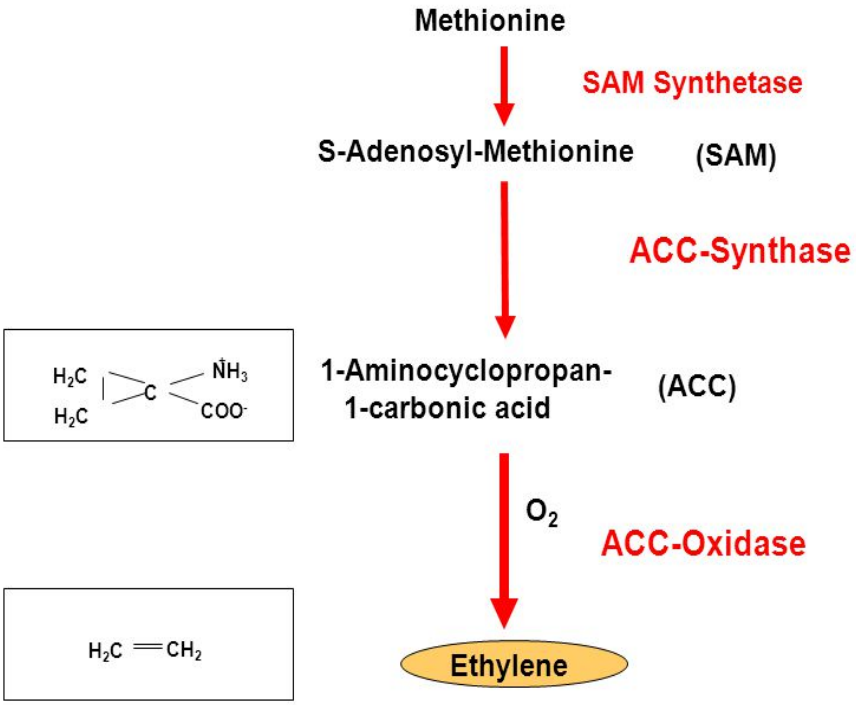
آن‌ها اجازه رسیدگی داده می‌شود (ویلز و کو[1]، ۲۰۰۲). علاوه بر اتیلن داخلی[2]، اتیلن خارجی[3] هم می‌تواند در فرآیندهای رسیدگی، ذخیره‌سازی و نگهداری گوجه‌فرنگی اثر گذار باشد (کامرون و رید[4]، ۲۰۰۱). عوامل ناشی از اتیلن درونی شامل، تولید اتیلن، سرعت تنفس، تغییر رنگ و نرمی است (سیسلر و سرک[5]، ۱۹۹۷).

۱-۶-۱ - نحوه تشکیل اتیلن در گیاهان

اولین گام اصلی در مسیر بیوسنتز اتیلن، تشکیل S - آدنوزیل متیونین و ACC به عنوان پیش‌سازهای اتیلن می‌باشند (یانگ و هافمان[6]، ۱۹۸۴). آنزیم‌هایی که این واکنش را کاتالیز می‌کنند شناسایی شده و با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی خالص شده‌اند. S- آدنوزیل متیونین، پیش‌ساز بیوسنتز اتیلن در گیاهان بوده و به عنوان پیش ماده برای بسیاری از مسیرهای بیوشیمیایی شامل بیوسنتز پلی‌آمین‌ها و اتیلن به کار برده می‌شود. علاوه بر این S - آنوزیل متیونین در واکنش‌های متیلاسیونی که لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را تغییر می‌دهند، دخیل است. براساس این چرخه اولین مرحله اختصاصی بیوسنتز اتیلن، تبدیل S- آدنوزیل متیونین به ACC به وسیله ACC سینتاز است. ACC سینتاز در این واکنش، علاوه بر ACC، ۵- متیل تیوآدنوزین نیز تولید می‌کند که بعدها با استفاده از چرخه تغیر متیونین به متیونین تبدیل می‌شود. این مسیر حفاظت شده، گروه متیل لازم برای دورهای بعدی تولید اتیلن را نیز فراهم می‌کند. از این رو، اتیلن می‌تواند به طور پیوسته و بدون نیاز به افزایش مخزن متیونین ساخته شود. به طور همزمان، گروه سولفور متیونین نیز محافظت می‌شود. در نهایت، ACC به وسیله ACC اکسیداز، اکسید می‌شود تا اتیلن، دی‌اکسیدکربن و سیانید تشکیل شود که توسط بتا - سیانوآلانین سینتاز به بتا - سیانوآلانین، دتوکسی می‌شود تا مانع سمیت تجمع سیانید در طی سنتز مقادیر بالای اتیلن شود.

---

[1] Wills and ku
[2] Endogenous ethylene
[3] exogenous ethylene
[4] Cameron and Reid
[5] Sisler and serk
[6] Yang and Haffman



شکل ۱ – ۱- مسیر بیوسنتز اتیلن

۱-۶-۲- اثرات فیزیولوژیکی اتیلن در رسیدن و پس از برداشت

۱-۶-۲-۱ - رسیدگی میوه

مصریان قدیم ندانسته از مزایای افزایش تولید اتیلن، به‌وسیله انجیرهای مصری نارس بریده شده، جهت تحریک رسیدگی استفاده می‌کردند. در سال‌های اخیر، معین شده است که رسیدگی میوه به وسیله اتیلن، تنظیم می‌گردد. امروزه به طور کلی پذیرفته شده‌است که اتیلن نقش مهمی در رسیدگی میوه‌های کلیماتریک ایفا کرده و ضرب المثل" یک سیب خراب، تمام جعبه را فاسد می‌کند" دارای پایه علمی است. اصطلاح کلیماتریک به میوه‌هایی اطلاق می‌شود که در واکنش به اتیلن می‌رسند و اصطلاح غیرکلیماتریک درمورد میوه‌هایی مطرح است که در معرض اتیلن، تغییری در دوره رسیدن آن‌ها ایجاد نمی‌شود (ریچارد ان. آرتکا، ۱۳۹۳).

۱-۶-۲-۲- پیری

محققان با استفاده از برگ‌ها و گل‌ها نشان دادند که استفاده از اتیلن خارجی فرایند پیری را سریع‌تر کرده و نیز تولید اتیلن در طی مراحل پیری بیشتر می‌شود (ریچارد ان.آرتکا، ۱۳۹۳). پیری تحریک شده توسط اتیلن به وسیله تغییر در ساختار سلول (اینادا[1] و همکاران، ۱۹۹۸) و با افزایش غلظت ترکیبات اکسیژن فعال، مانند رادیکال‌های هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید تسریع می‌شود (آبلس[2] و همکاران، ۱۹۹۲). رسیدگی میوه‌ها پیچیده‌ترین فرآیند تنظیم کنندگی توسط اتیلن است. رسیدگی شامل یکسری از تحولات متابولیکی می‌باشد که سبب تغییراتی در بافت و رنگ میوه‌ها و گل‌ها می‌گردند. این تغییرات متابولیکی نهایتاً به پیری میوه‌ها منجر می‌شود. برخی دگرگونی‌ها در کدهای ژنتیکی به همراه تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی که سبب فرآیند رسیدگی می‌شوند، به وقوع می‌پیوندند (آچاکزایی[3]، ۲۰۰۹).

۱-۶-۳- روش‌های کنترل اتیلن در پس از برداشت

۱-۶-۳-۱- اکسیداسیون با پرمنگنات پتاسیم

پرمنگنات پتاسیم ($KMNO_4$) در کاهش سطوح اتیلن به گونه کامل کارآمد است. از آنجا که پرمنگنات پتاسیم نافرار است، می‌توان آن را از فرآورده جدا ساخت و بدین وسیله خطر آسیب رسیدن به فرآورده را برطرف کرد (راحمی، ۱۳۸۴).

۱-۶-۳-۲- اکسیداسیون با ازن

ازن (O_3) عامل اکسیدکننده مناسبی برای خنثی کردن اتیلن است که به آسانی به وسیله اکسیژن جو و با پرتوفرابنفش تولید می‌شود و از آنجا که به صورت گاز است، به آسانی با اتیلن آمیخته می‌شود. در مورد

[1] Inada
[2] Abeles
[3] Achakzai

ازن باید برخی از احتیاط‌های اولیه در نظر گرفته شود. ازن ماده‌ای فعال است که باعث خوردگی جدار لوله‌ها و اتصالات دستگاه سردخانه شده و نسبت به مواد کاغذی که برای بسته‌بندی به کار می‌روند واکنش می‌دهد. در غلظت‌های بسیار پایین باعث مسموم شدن انسان می‌شود. از سویی، به دلیل مشکلاتی که در کنترل غلظت‌های آن وجود دارد، مانع استفاده گسترده از آن می‌شود (راحمی، ۱۳۸۴).

۱-۶-۳-۳ - ذغال فعال

ذغال فعال[1] که به آن برم افزوده شده، اکسیدکننده کارآمدی برای اتیلن است، ولی دارای پتانسیل خطر برای سلامتی با تولید گاز برم در هنگام تماس با آب اضافی است (راحمی، ۱۳۸۴).

۱-۶-۳-۴- تترازین

یکی دیگر از اکسیدکننده‌ها است که به صورت تخصصی با اتیلن واکنش می‌دهد. اختصاص بالای آن‌ها برای اتیلن کارآیی آن‌ها را در از بین بردن اتیلن نسبت به استفاده از اکسیدکننده‌های عادی پرمنگنات پتاسیم بیشتر است، کاربرد تجاری آن‌ها روی دخول آن‌ها به ورقه‌های بسته‌بندی پلاستیکی متمرکز شده است. مسئله‌ای که بایستی برآن چیره شد، ناپایداری تترازین در برابر رطوبت است (راحمی، ۱۳۸۴).

۱-۶-۳-۵ - سدیم تیوسولفات

دامنه گسترده‌ای از مواد شیمیایی که برای انسان سمی هستند، به عنوان ضداتیلن برای گیاهان زینتی به این دلیل که خوراکی نیستند به کار می‌روند. مشخص‌ترین آن‌ها تحریک گیاهان زینتی بریده با یون نقره است که از راه کاربرد سدیم تیوسولفات تامین می‌شود. یون نقره مانع از اتصال اتیلن به محل اتصال خود می‌شود، با این روش از عمل اتیلن جلوگیری می‌شود (راحمی، ۱۳۸۴).

[1] Charcoal activated

۱-۶-۳-۶ - آمینواتوکسی وانیل گلایسین و آمینواکسی استیک اسید

از جمله تیمارهای بازدارنده سنتز اتیلن هستند و جایگزینی برای مواد جلوگیری کننده اتصال اتیلن به محل اثر خود هستند. هر دوی این ترکیبات را برای گیاهان زینتی از جمله میخک در برابر اتیلن به کار می‌برند. از این دو برای حفاظت در برابر اتیلن درون زا بیشتر استفاده می‌شود (راحمی، ۱۳۸۴).

۱-۶-۳-۷- ۱- متیل سیکلوپروپن (1-MCP)

جایگزین سدیم تیوسولفات نقره است که به عنوان ماده ضد اتیلن معرفی شده است که می‌توان آن را به صورت گاز بکار برد. 1-MCP یک ترکیب مطمئن است زیرا برای انسان سمیت کم دارد و یا سمی نیست و اثر بدی بر محیط ندارد. کاربرد آن روی میوه و سبزی در مراحل اولیه بررسی است (راحمی، ۱۳۸۴).

سایر روش‌های کنترل اتیلن در انبار از جمله، تهویه انبار، اتمسفر هیپوبار، اکسنده‌های کاتالیک است که البته هر یک از این راه‌ها مشکلاتی به همراه دارد. مثلا هوادهی قادر به خارج کردن مقادیر کم اتیلن نیست. اکسنده‌های کاتالیک نیازمند گرم و سپس خنک کردن دوباره هوای انبار است. انبارهای هیپوباریک نیز بسیار گران است (آنون[1]، ۱۹۹۴).

۱-۷- بسته‌بندی

بسته‌بندی یا ریشه کلمات Packing یا Packaging و یا Warping و یا To Pack که اکثر لاتین است و به معنای حمایت کردن می‌آید (ضیابری، ۱۳۷۸). به طور کلی بسته‌بندی به منظور حفظ کیفیت و سلامت محصولات در طی ذخیره‌سازی و جابجایی آن‌ها صورت می‌گیرد. بسته‌بندی موادغذایی بایستی مانع ورود و یا خروج رطوبت و همچنین آلودگی‌های میکروبی شود و علاوه بر ویژگی‌های مکانیکی، نوری و گرمایی، همانند سدی در برابر نفوذ بخار آب، اکسیژن، دی‌اکسیدکربن و سایر ترکیبات فرار مانند عطر و تانن عمل

[1] Anon

کند (سوپاکول و همکاران[1]، ۲۰۰۳؛ ماوریلو و همکاران[2]، ۲۰۰۵؛ مارش و بوگسو[3]، ۲۰۰۷؛ ریم و همکاران[4]، ۲۰۱۳). بسته به نوع مواد غذایی، مواد اولیه مختلفی مانند کاغذ، مقوا، پلاستیک و ترکیبی از مواد با ویژگی-های فیزیکی و شیمیایی مختلف، برای تحقق کارکردها و الزامات بسته‌بندی، مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال، همچنان تلاش بر این است که بسته‌بندی‌های جدید برای افزایش کارآیی در حفظ کیفیت مواد غذایی و بهبود مراحل فرآوری و استفاده نهایی مورد ارزیابی قرار گیرد (ریم و همکاران، ۲۰۱۳). اتمسفر تعدیل شده مناسب (Modified Atmosphere Packaging)، در بسته‌های تشکیل شده از پوشش‌های پلیمری به دو صورت غیرفعال و فعال در درون بسته ایجاد می‌گردد. بسته‌بندی با اتمسفر تعدیل یافته غیرفعال، به واسطه تنفس محصول داخل بسته ایجاد می‌شود. در این روش اگر ویژگی‌های نفوذپذیری پوشش و تنفس محصول با هم مطابقت داشته‌باشند یک اتمسفر مناسب به صورت غیرفعال در نتیجه مصرف O_2 و تولید CO_2 در اثر فرآیند طبیعی تنفس در بسته ایجاد می‌شود (اسمیث[5] و همکاران، ۱۹۸۷). در روش فعال ترکیب گازی مطلوب قبل از دربندی، در اتمسفر داخل بسته ایجاد می‌شود. در روش فعال ممکن است در ابتدا با خلا، هوای معمولی داخل بسته تخلیه و ترکیب گازی مد نظر جایگزین شود. در صنعت بسته‌بندی با اتمسفر تعدیل یافته معمولا غلظت O_2 به منظور توقف و کاهش رشد میکروارگانیسم‌های هوازی و فرایند اکسیداسیونی تنفس کاهش می‌یابد و از سوی دیگر CO_2 افزایش می‌یابد تنها تا زمانی که در حد آستانه تحمل محصول حفظ شود مفید خواهد بود (کادر[6] و همکاران، ۱۹۸۹).

[1] Suppakul
[2] Mauriello
[3] Marsh and Bugusu
[4] Rhim
[5] Smith
[6] Kader

۱-۷-۱ - نقش بسته‌بندی در افزایش ماندگاری

براساس آمار سازمان خواروبار کشاورزی (FAO) مصرف سرانه میوه در جهان ۶۲ کیلوگرم به ازای هر نفر در سال است. در این بین، ایران با مصرف سرانه ۱۵۸ کیلوگرم میوه و سبزی در سال در رتبه یازدهم جهانی و بالاتر از کشورهای توسعه یافته غربی و آمریکای شمالی (به ترتیب ۱۱۷ و ۱۱۲ کیلوگرم در سال) و نیز کشورهای دیگر خاورمیانه با سرانه مصرف ۸۹ کیلوگرم در سال است، اما آمار جهادکشاورزی ایران بیان می‌دارد که با وجود تولید و مصرف بالای میوه، ضایعات میوه در کشور بیش از ۲۷ درصد تولید است. از این رو، می‌توان با به‌کارگیری بسته‌بندی مناسب، علاوه بر تامین میوه و سبزی در بازار داخل و کاهش ضایعات آن، در بازارهای بین‌المللی نیز حضور چشمگیری یافت (مهدویان مهر و همکاران، ۱۳۹۱). ضایعات میوه نیز از جمله مقوله‌هایی است که کاهش و افزایش آن ۲۲ درصد به صورت مستقیم بر قیمت‌ها اثر می‌گذارد. همچنین طبق آمار ضایعات میوه در کشور ۲۷ درصد می‌باشد که با دستیابی به مناسب‌ترین روش‌های فرآوری می‌توان ضایعات این محصولات را کاهش داد (کاشانی نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). گونه‌ها، شرایط محیطی، عملیات آبیاری، کودها و برنامه‌های کنترل آفات بر کیفیت تولید اثر می‌گذارند. عملیاتی از قبیل شستشو، سورتینگ، درجه‌بندی، برش، مخلوط کردن و بسته‌بندی کیفیت ذاتی محصول را تغییر نمی‌دهند اما به ارزش محصول برای مصرف کننده که به دنبال آسانی و ماده غذایی خوشمزه و سالم می‌باشد می‌افزاید (کاشانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). در حال حاضر، برای افزایش عمر انبارداری بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها از بسته‌بندی استفاده می‌شود. مهمترین فواید بسته‌بندی شامل کاهش تنفس، کاهش تولید و حساسیت اتیلن، کندشدن روند نرم شدن میوه و تغییر ترکیبات داخلی میوه است (آنتونی[1] و همکاران، ۱۹۹۶). افزایش عمر ماندگاری موادغذایی همراه با نظارت بر ایمنی و کیفیت آن‌ها مطابق استانداردهای

[1] Antoni

بین‌المللی نیازمند بسته‌بندی است (سیلوست [1] و همکاران، ۲۰۱۱). تقاضای روزافزون برای رژیم‌های غذایی سالم و ابداع راهکار مناسب جهت حفظ ارزش تغذیه‌ای و تازگی این محصولات را، از اهمیت خاصی برخوردار ساخته است. شایع‌ترین عوامل افت کیفیت در میوه و سبزیجات تازه، واکنش‌های قهوه‌ای شدن، از دست رفتن آب سطحی، بدطعمی و فساد میکروبی است. به کارگیری روش‌های نوین بسته‌بندی می‌تواند تا حد زیادی سبب حفظ کیفیت محصول گردد. سامانه‌های مختلف بسته‌بندی شامل اتمسفر اصلاح شده، بسته-بندی فعال، بسته‌بندی هوشمند، فیلم و پوشش‌های خوراکی است (مهدویان مهر و همکاران، ۱۳۹۱). هدف اصلی استفاده از مواد پلیمری در بسته‌بندی موادغذایی، افزایش خواص ممانعتی در برابر مهاجرت اکسیژن، دی‌اکسیدکربن، ترکیبات عطر و طعم و نیز بخار آب است (حکیمی‌راد و همکاران، ۱۳۹۳). یکی از موثرترین سامانه‌های بسته‌بندی برای محصولات باغی، بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده (MAP) است. بسته‌بندی در شرایط مناسب اتمسفری می‌تواند رشد میکروارگانیسم‌ها را به طور موثری کنترل نماید (کاشانی نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین با استفاده از سیستم بسته‌بندی با اتمسفر تعدیل‌یافته می‌توان پیری را به تاخیر انداخت و عمر انباری آن را افزایش داد (کانتول [2] و همکاران، ۲۰۰۲). نگهداری با اتمسفر اصلاح شده منجر به نگهداری کیفیت و افزایش عمر انبارمانی و عمرقفسه‌ای محصولات می‌شود که در اثر کاهش سرعت واکنش‌های شیمیایی و بیوشیمیایی و همچنین کاهش رشد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا است (ریچارد [3]، ۲۰۰۳). بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده برای دامنه وسیعی از میوه و سبزی‌ها کاربرد دارد. اتمسفر اصلاح شده با تغییر ترکیبات هوای معمولی ایجاد می‌شود و می‌تواند باعث کاهش میزان فساد و افزایش عمر نگهداری محصول گردد. اتمسفر محصول ممکن است در طی نگهداری در سامانه MAP تغییر کند اما هیچ دستکاری اضافی در محیط داخل بسته‌بندی وجود ندارد (مک میلین [4]، ۲۰۰۸). حدود ۹۰ درصد از مواد

[1] Silvest
[2] Cantwell
[3] Richard
[4] McMillin

مورد استفاده در بسته‌بندی به روش اتمسفر تغییریافته را فیلم‌های انعطاف‌پذیر پلاستیکی تشکیل می‌دهند. این مواد، دامنه وسیعی از نفوذپذیری نسبت به co_2 و o_2 و بخارآب را برای پاسخ به نیازهای موردنظر در MAP فراهم می‌کنند (اورایلول و همکاران[1]، ۱۹۹۰).

۱-۷-۲ - مزایای بسته‌بندی

قابلیت افزایش ماندگاری محصول یا shelf life، ماده بسته‌بندی از طریق فضای مناسب در داخل بسته با توجه به ویژگی‌های نگهداری محصول، زمان ماندگاری آن را افزایش می‌دهد. در این خصوص باید هماهنگی بین ویژگی‌های ماده بسته‌بندی و نیازهای نگهداری محصول، فراهم گردد.

- بهبود حمل و نقل، انبارداری و عرضه محصول، در این خصوص باید به ابعاد بسته از نقطه نظرقابلیت حمل و نقل و عرضه آن توجه شود .
- حفاظت و نگهداری از محصول در برابر آسیب‌های فیزیکی و تغییرات شیمیایی و بیولوژیکی.
- نمایش اطلاعات مربوط به محصول بصورت برچسب، شامل : اطلاعات آماده‌سازی، ارزش تغذیه‌ای، تاریخ مصرف، تاریخ انقضاء کالا.
- شناسایی تاریخ و محل تولید جهت کنترل موجودی و شناسایی خطرات بالقوه.
- افزایش ارزش نام تجاری.
- ارتقاء سطح ایمنی و سلامت.
- ایجاد رقابت و تمایل جهت خرید (کی منش،۱۳۹۰).

[1] Oorailul

۱-۸ - بیان ژن

پیشرفت‌های اخیر در زمینه زیست مولکولی (به‌ویژه ریزآرایه)، ژنومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس باعث افزایش شناخت ما نسبت به سیستم شبکهٔ تنظیمی بیان ژن در گیاه شده است. این شبکه شامل ژن‌های القاپذیر (تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و علائم نموی)، برنامه‌ریزی بیان آن‌ها و عناصر تنظیم‌کنندهٔ آن‌ها (عناصر سیس و عناصر ترانس)، مسیرهای بیوشیمیایی مربوطه و عوامل سیگنال‌رسانی مختلف است. به‌عنوان مثال، تحت شرایط کمبود آب در خاک، عوامل تنش‌زا، همیشه باعث ایجاد پاسخ‌های مشترک می‌شوند. این پاسخ‌ها شامل پاسخ‌های آناتومیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تغییرات زیستی است که در نتیجه، بررسی شبکهٔ تنظیم ژن در گیاه را پیچیده‌تر و مشکل‌تر می‌سازد. اطلاعات زیادی در این زمینه و در ارتباط با آرابیدوپسیس وجود دارد (کاوارا و همکاران[۱]، ۲۰۰۸). اهداف بنیادین تجزیه هم زمان بیان ژن (ترانسکریپتومیکس[۲]) تولید و مقایسه تصاویر لحظه‌ای از جمعیت mRNA است. تجزیه رونویسی یک راه معمول برای کشف اختلاف بیان ژن‌ها است، زیرا تنظیم فعالیت ژن در ابتدا در سطح رونویسی اتفاق می‌افتد و پاسخ‌های بیولوژیک و برنامه‌ریزی نموی موجود به وسیله تنظیم دقیق بیان ژن‌ها کنترل می‌شود. در نتیجه مقایسه محتوای رونویسی در مراحل فیزیولوژیک خاص، الگوهای اختصاصی بیان ژن در آن مرحله را مشخص می‌کند و تعیین اعمال فیزیولوژیک ژن‌ها تسهیل می‌شود (ویلبرگ و کارلوسکی[۳]، ۲۰۰۹). ترانسکریپتومیکس ترانسکریپتومیکس در سطح RNA در یک بافت خاص، عنصری کلیدی در ژنومیکس عملکردی[۴] است و درک ما را از عمل ژن افزایش می‌دهد. شناسایی ژن‌های بیان شده در شناخت عمل ژن و سازوکارهای مولکولی یک سیستم بیولوژیک به ما کمک خواهد کرد. در میان روش‌های رایج مطالعات بیان ژن، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز زمان واقعی یکی از دقیق‌ترین روش‌های برای ارزیابی تغییرات رونوشت ژن‌ها محسوب

[1] Kawaura
[2] Transcriptomics
[3] Weiberg and Karlovsky
[4] Functional genomics

می‌گردد. حساسیت، اختصاصی بودن و سادگی این تکنیک در مقایسه با دیگر روش‌های بررسی بیان از قبیل نوردرن‌بلات و دورگ سازی در محل، ارزیابی حفاظت RNase و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز رونویسی معکوس نیمه کمی (RT-PCR) قابل مقایسه نیست. بخاطر این ویژگی‌ها، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز زمان واقعی به روش عمومی برای تائید اطلاعات ریزآرایه کل ژنوم یا مجموعه کوچکتری از ژن‌ها و تشخیص‌های مولکولی تبدیل شده است (بهادوریا[1]، ۲۰۰۷).

۱-۹ - PCR زمان واقعی[2]

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در سال ۱۹۸۳ توسط کری مولیس[3] اختراع شد، که توانست با استفاده از اجزای همانند سازی طبیعی، در داخل لوله آزمایش DNA را تکثیر کند. از آن پس تاکنون، PCR باعث تسهیل پیشرفت در بسیاری از زمینه‌های علوم زیستی شده است. PCR زمان واقعی در واقع همان PCR استاندارد است، ولی با این تفاوت که PCR زمان واقعی این امکان را فراهم آورده است که با دقت و سرعت بالایی در حین واکنش، مقدار DNA ساخته شده را اندازه‌گیری کرد در نتیجه برای تعیین کمیت احتیاجی به مراحل خسته کننده بعد از PCR نیست. از لحاظ تئوری یک رابطه عددی بین میزان نمونه اولیه و میزان محصولات PCR در هر چرخه وجود دارد، که از این اصل می‌توان در تشخیص کمیت عوامل بیماری‌زا و اختلاف بیان ژن‌های مختلف با یکدیگر تحت شرایط محیطی متفاوت استفاده کرد. PCR زمان واقعی تجمع محصولات را در فاز تصاعدی تعیین می‌کند، قبل از اینکه محدود شدن مواد آزمایشی تجمع بازدارنده‌ها یا غیرفعال شدن پلی‌مراز روی کارایی تکثیر تاثیر بگذارد. حساسیت این روش ۱۰۰۰ برابر بیشتر از روش

[1] Bhadauria
[2] Real Time PCR
[3] Kary mulis

هیبریداسیون دات پلات[1] است. این روش حتی قادر است یک نسخه از ژن مورد نظر را شناسایی کند. مهمترین عیب این روش نیاز به تجهیزات گران قیمت و حساس است (پی‌فاف و همکاران[2]، ۲۰۰۲).

۱-۹ – ۱ - مواد شیمیایی مورد نیاز برای مشخص کردن میزان محصول در Real- time PCR

چهار روش مختلف برای مشخص کردن میزان محصولات تکثیری در دسترس است که هر کدام از آن‌ها مزایا و معایب مربوط به خود را دارند. در نتیجه براساس هدف و نیازهای تحقیق یک روش مناسب باید انتخاب و بکار گرفته شود. یکی از روش‌ها براساس رنگ‌های فلورسنس متصل شونده به DNA دو رشته‌ای است و سه روش دیگر شناساگرهای مولکولی هستند که یک ماده فلورسنس به آن متصل شده است (گینزینگر[3]، ۲۰۰۲).

۱-۹ – ۱- ۱- رنگ های اتصالی به DNA

رنگ‌های متصل شونده به DNA دارای قیمت مناسبی بوده و به راحتی قابل استفاده هستند به ویژه برای محققانی که در استفاده از روش‌های PCR کمی، مبتدی هستند. پرکاربردترین رنگ درج شونده، SYBER Green I است اگر چه سایر رنگ‌های درج شونده مثل اتیدیوم بروماید نیز استفاده می‌شوند. اما میزان حساسیت SYBER Green I ۲۵۰ بار بیشتر از اتیدیوم بروماید است. هنگامی که رنگ‌ها به صورت آزاد در محیط هستند، به‌طور نسبی میزان فلورسنس کمی دارند، اما در هنگام طویل شدن با اتصال رنگ‌ها به DNA دو رشته‌ای مقدار فلورسنس آن‌ها تا ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌یابد. هر چه میزان DNA دو رشته‌ای بیشتر باشد مکان‌های بیشتری برای اتصال رنگ‌ها وجود دارد، بنابراین افزایش نور فلورسنس به‌طور

[1]Dot blot hybridization
[2]Pfaffl
[3]Ginzinger

اختصاصی به غلظت DNA بستگی دارد. یکی از مشکلات این روش غیر اختصاصی بودن آن است. اتصال رنگ SYBER Green I به هر DNA دو رشته‌ای باعث افزایش میزان فلورسنس می‌شود. با طراحی صحیح آغازگرها و بهینه کردن شرایط واکنش می‌توان از این اشتباهات ممانعت کرد. همچنین در پایان واکنش با حرارت دادن محصولات از ۴۰ تا ۹۵ درجه‌سانتی‌گراد پیک‌های فلورسنس مشخصی مربوط به محصولات با طول یا توالی مختلف قابل مشاهده است (تجزیه منحنی ذوب) که از روی این با استفاده از نرم‌افزارهای خاص مقدار محصول اختصاصی را می‌توان محاسبه کرد (گینزینگر و همکاران، ۲۰۰۲).

۱-۱۰ – مقایسه روش‌های معمولی PCR با PCR زمان واقعی برای تعیین میزان قطعات هدف

در PCR معمولی مشخص کردن میزان تکثیر در مرحله پایانی یا بعد از انجام واکنش PCR با استفاده از ژل اگارز انجام می‌شود، اما PCR زمان واقعی به ما اجازه می‌دهد با استفاده از روش‌های مختلف میزان تکثیرتوالی هدف را در طول مراحل اولیه واکنش، که بازده تکثیر بالا است (ممکن است در مراحل پایانی واکنش PCR آنزیم و یا هر ترکیب شیمیایی دیگری که در این واکنش موثر است به لحاظ میزان کاهش و یا شاید کارایی لازم را نداشته باشد)، مشخص کنیم (نقوی و همکاران، ۲۰۱۱).

۱ – ۱۰ – ۱- مشکلات تشخیص بعد از اتمام واکنش[1]

۱) نتایج قابل مشاهده روی ژل آگارز از مواد مرحله پایانی واکنش بدست می‌آید.

۲) این روش زمان بر است.

۳) نتایج براساس اختلاف شدت باندها روی ژل با هم سنجیده می‌شوند است که زیاد دقیق نیست.

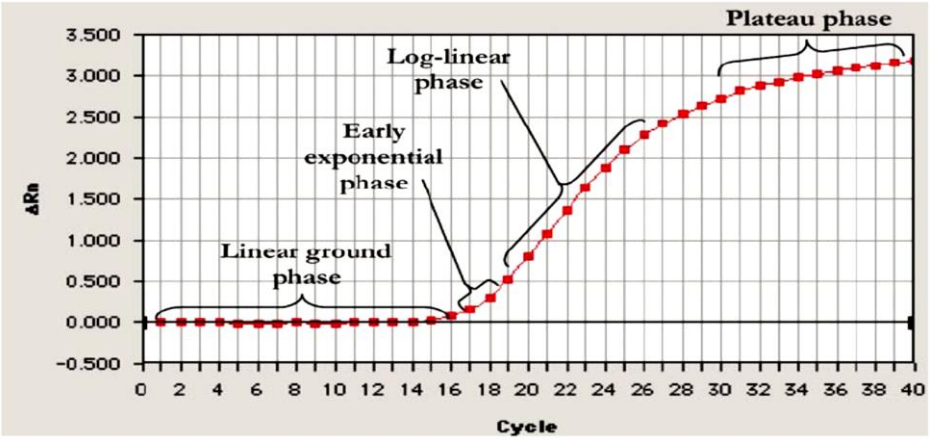
۴) همان‌طور که بعداً اشاره می‌شود پایان واکنش از نمونه‌ای به نمونه دیگر متفاوت است.

[1] End – pint detection

۵) قدرت تفکیکی ژل آگارز خیلی ضعیف است، اما PCR زمان واقعی می تواند اختلافات بسیار کم را نیز مشخص کند.

۶) نتایج قابل بیان با اعداد نیستند (نقوی و همکاران، ۲۰۱۱).

واکنش PCR را می‌تواند به سه فاز تقسیم کرد، فاز تصاعدی[1] که در آن دو برابر شدن دقیق محصولات در هر چرخه انجام می‌شود (کارایی واکنش صد در صد است) واکنش بسیار دقیق و اختصاصی است، فاز خطی[2] در این مرحله در جریان تکثیر، ترکیبات واکنش مصرف می‌شوند که سرعت آن برای هر تکرار متفاوت است و فاز نهایی فاز صاف[3] است که در این مرحله، واکنش شروع به کند شدن می‌کند، محصولات جدید با سرعت کمی اضافه می‌شود و واکنش به حالت سکون در می‌آید. به علت تفاوت پیشرفت واکنش در هر نمونه، هر واکنش یا لوله آزمایش در نقطه خاص به مرحله صاف می‌رسد (تیچوپاد و همکاران[4]، ۲۰۰۳) (شکل ۲-۵).



شکل ۱-۲- فازهای مختلفی که به هنگام انجام واکنش PCR تشکیل می‌شود

[1] Exponential
[2] Linear
[3] Plateau
[4] Tichopad

برای تجزیه نتایج PCR زمان واقعی نیاز به کاربرد یک ژن مرجع (ژن خانه‌دار)[1] است. استفاده از ژن مرجع براساس این واقعیت است که بیان آن در شرایط مختلف تغییری نمی‌کند. پس اختلافاتی که ممکن است در تکرارهای مختلف یک ژن مرجع دیده شود اختلاف واقعی نیست، بلکه صرفا براساس شرایط انجام واکنش به وجود آمده است. می‌توان این خطا را بر مبنای بیان ژن منبع از داده‌های مورد نظر خارج کنیم. ژن‌های خانه‌دار معمولی که در خیلی از آزمایش‌ها استفاده می‌شوند، شامل: ژن اکتین ،GAPDH[2] و RNA ریبوزومیS ۱۸ هستند. برای تجزیه نتایج برنامه‌های مختلفی از جمله REST [3]وجود دارد که برنامه‌ای ساده برای تجزیه نتایج PCR زمان واقعی است. این مدل تجزیه داده‌های PCR زمان واقعی به مدل پی فاف معروف است. در این مدل میزان بیان ژن‌های مورد نظر به همراه ژن منبع ابتدا نرمال می‌شوند، پس از نرمال کردن داده‌ها، اختلافات سنجیده می‌شود. در این مدل اختلاف داده‌ها بین دو نمونه (مثلا شاهد و تیمار) سنجیده می‌شود (نقوی و همکاران، ۲۰۱۱). این برنامه اختلاف بیان ژن‌ها را بر اساس فرمول زیر محاسبه می‌کند.

$$\text{ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta \text{CP}_{\text{target}}(control-sample)}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta \text{CP}_{\text{ref}}(control-sample)}} \qquad (۱-۱)$$

در فرمول بالا R اختلاف بیان ژن‌ها در دو نمونه مورد مقایسه می‌شود، که فاقد واحد است و صرفا میزان چند برابری بیان ژن‌ها را می‌رساند. E کارایی تکثیر است. زمانی که کارایی تکثیر صد در صد باشد، بدین معنی است که تعداد نسخه‌ها در هر چرخه دو برابر می‌شود. برای بدست آوردن کارایی تکثیر بایستی آزمایش مستقلی را انجام داد. بدین‌صورت که سری‌های مختلفی از cDNA با غلظت‌های مشخص و متوالی را تهیه

[1] Housekeeping genes
[2] Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
[3] The relative expression software tool

کرده و واکنش PCR را روی آنها انجام داد. سپس نموداری براساس غلظت‌های cDNA و Ct[1] یا نقطه‌ای که میزان فلورسانس نمونه به میزان زیادی از میزان فلورسانس زمینه بالاتر رفته، طراحی می‌شود. با به دست آورن شیب خط مورد نظر می‌توان کارایی را بر اساس فرمول $E=10^{[-1/slop]}$ بدست آورد.

ΔCP_{target} (control – sample) اختلاف بیان ژن بین نمونه شاهد و تیمار است (۲ – ۱)

ΔCP_{ref} (control - sample) اختلاف بیان ژن مرجع بین نمونه شاهد و تیمار است (۳ – ۱)

۱ – ۱۱ – مزایا و معایب Real Time PCR

نسبت به سایر روش‌های تجزیه و تحلیل بیان ژن موجود، این روش می‌تواند داده‌های کمی با دامنه‌ای متغیر و دقیق، از لگاریتم هفت تا هشت را تولید کند و نیازی به دستورزی پس از تکثیر ندارد. روش Real Time، ۱۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ برابر حساس‌تر از آزمون‌های حفاظت از *RNase* و ۱۰۰۰ برابر حساس‌تر از دورگ سازی Dot blot است و می‌تواند حتی یک تک نسخه از mRNA خاص را تشخیص دهد. علاوه بر این، می‌تواند به‌طور دقیقی تفاوت‌های بیان ژن را تا حد ۲۳ درصد بین نمونه‌ها تعیین کند و نسبت به آزمون‌هایی که میزان بیان ژن را در نقطهٔ پایانی می‌سنجند، مانند شدت‌سنجی باند (۴۴/۹ درصد) و دورگ-سازی کاوشگر (۴۵/۱ درصد)، ضرایب تنوع (CV) کمتری (CV روش SYBR Green برابر با ۱۴/۲ درصد و TaqMan برابر با ۲۴ درصد است) دارد. Real time PCR همچنین می‌تواند بین mRNA های با توالی بسیار مشابه، تفکیک قائل شود و نسبت به روش‌های دیگر، تنها به مقدار کمی از RNA الگو برای ارزیابی نیاز دارد. عیب عمدهٔ Real Time، نیاز به وسایل و مواد گرانقیمت است. همچنین، به‌دلیل حساسیت فوق‌العاده آن، طراحی دقیق آزمایش و شناخت عمیق روش‌های نرمال‌سازی داده‌های حاصل از آن ضروری است (ونگ و مدرانو[2]، ۲۰۰۵).

[1] Threshold Cycle
[2] Wong and Medrano

۱ – ۱۲- انواع روش‌های Real Time PCR

برای تعیین کمی[1] mRNA با استفاده از روش Real Time PCR، این روش می‌تواند به‌صورت تک-مرحله‌ای، که در آن کل واکنش از سنتز cDNA تا تکثیر PCR در یک تیوب واحد انجام می‌شود و یا به‌صورت دو مرحله‌ای، که در آن رونویسی معکوس و تکثیر PCR در تیوب‌های جداگانه انجام می‌شود، صورت گیرد. هر یک از این روش‌ها مزایا و معایب خاص خود را دارد. تصور بر این است که در روش تک مرحله‌ای، تنوع آزمایشی به حداقل می‌رسد چون هر دو واکنش آنزیمی در یک تیوب واحد اتفاق می‌افتد. اما در این روش از الگوی mRNA تک‌رشته‌ای استفاده می‌شود که اگر به‌دقت عمل نشود سریعاً تجزیه می‌شود. بنابراین زمانی که یک نمونه برای چندین بار در یک دورهٔ زمانی مورد آزمون قرار می‌گیرد، این روش ممکن است مناسب نباشد. همچنین بر اساس گزارشات، پروتکل‌های تک‌مرحله‌ای حساسیت کمتری نسبت به روش دو مرحله‌ای دارد. در روش دو مرحله‌ای، واکنش رونویسی معکوس از واکنش Real Time PCR جدا است که در این حالت می‌توان به دفعات، آزمون Real Time PCR را بر رقت‌های مختلف cDNA انجام داد. از آنجا که راندمان رونویسی معکوس واکنش قابل اطمینان نیست، لذا با استفاده از رقت‌های مختلف همان نمونه می‌توان اطمینان حاصل کرد که در واکنش‌های متوالی، مقادیر یکسانی از رشته الگو، مشابه به آنچه که در ابتدا اندازه‌گیری شده، وجود دارند. داده‌های حاصل از Real Time دو مرحله‌ای با ضرایب همبستگی پیرسون در دامنه‌ای از ۰/۹۷۴ تا ۰/۹۸۸ کاملاً تکرارپذیر است. زمانی که از رنگ‌های متصل شونده به DNA (مانند SYBR Green I) استفاده می‌شود، استفاده از روش دو مرحله‌ای ترجیح داده می‌شود، زیرا در این حالت حذف پرایمر- دایمرها از طریق بهینه‌سازی درجه حرارت‌های ذوب (T_m)[2] آسان‌تر

[1] Quantitative

[2] Melting temperature

می‌شود. به‌هر حال، امکان آلودگی DNA در واکنش Real Time PCR در روش دو مرحله‌ای بیشتر است (وندسمپل و همکاران[1]، ۲۰۰۲).

۱ – ۱۳ – انواع روش‌های تعیین کمی Real Time

۱ – ۱۳ – ۱ – ارزیابی دقیق[2]

در این روش از نمونه‌های استاندارد با غلظت‌های مشخص به‌طور متوالی استفاده می‌شود تا بتوان بر اساس آن یک منحنی استاندارد به‌وجود آورد. منحنی استاندارد، رابطه‌ای خطی بین Ct و مقادیر اولیهٔ RNA کل یا cDNA را به‌وجود می‌آورد که امکان تعیین غلظت نمونه‌های مجهول را بر اساس Ct آنها فراهم می‌آورد. در این روش فرض بر این است که تمام استانداردها و نمونه‌ها، راندمان تکثیر تقریباً برابری دارند. علاوه بر این، غلظت نمونه‌های استاندارد بایستی شبیه به غلظت نمونه‌های مورد آزمایش باشد و در دامنه‌ای باقی بماند که از لحاظ آزمون و ماشین Real Time PCR، به‌دقت قابل اندازه‌گیری و تشخیص باشد. استاندارد PCR، قطعه‌ای از DNA دو رشته‌ای (dsDNA)[3]، DNA تک‌رشته‌ای (ssDNA)[4] یا cRNA به‌عنوان توالی هدف است. استانداردهای از جنس DNA، دامنهٔ کمی بزرگتر، حساسیت، تکرارپذیری و پایداری بیشتری نسبت به استانداردهای RNA دارند (پی فاف و همکاران، ۲۰۰۴). اما DNA استاندارد نمی‌تواند درReal Time تک مرحله‌ای به‌دلیل عدم وجود یک کنترل برای راندمان رونویسی معکوس استفاده شود (باستین و همکاران[5]، ۲۰۰۵).

[1] Vandesompele
[2] Absolut quantification
[3] Double-stranded DNA
[4] Single-stranded DNA
[5] Bustin

۱ – ۱۳ – ۲- ارزیابی نسبی[1]

در این روش، تغییرات بیان ژن مورد نظر نسبت به یک استاندارد بیرونی یا یک نمونهٔ مرجع اندازه‌گیری می‌شود که کالیبراتور نامیده می‌شود. در این حالت، نتیجه به‌صورت نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع بیان می‌شود. مدل‌های ریاضی متعددی برای محاسبهٔ میانگین بیان ژن نرمال شده در این آزمون وجود دارد. نتایج حاصل از آنالیز داده‌های Real Time در هنگام استفاده از آنالیز نسبی، به مدل ریاضی مورد استفاده، وابسته است و در این حالت نتایج مختلفی می‌تواند به‌وجود آید و منجر به خطای استاندارد می‌شود (لیواک و اشمیتجن[2]، ۲۰۰۱).

۱ – ۱۴ – راندمان تکثیر

نکته‌ای که در زمان تعیین میزان کمی و نسبی رونوشت بایستی در نظر گرفت، راندمان تکثیر واکنش است. روش‌های ذکر شدهٔ محاسبهٔ بیان ژن بر این فرض استوارند که کارایی تکثیر واکنش، ایده‌ال یا برابر با یک (-۱-) است. بدین معنی که غلظت فرآوردهٔ PCR در حین هر چرخه در فاز نمایی واکنش دو برابر می‌شود. اما بسیاری از واکنش‌های PCR، کارایی تکثیر ایده‌ال را ندارند و ممکن است در هنگام محاسبات، بدون وارد کردن یک فاکتور تصحیح درست، غلظت شروع را بیش از اندازه برآورد کنند (لیو و ساینت[3]، ۲۰۰۲). در مدل‌های جدید، فرضیات کنتیکی واکنش وارد فرمول شده است و بنابراین نیاز است که بطور دقیق اندازه‌گیری شوند (مارینو و همکاران[4]، ۲۰۰۳). به‌طور معمول، راندمان تکثیر یک واکنش با استفاده از داده‌های حاصل از یک منحنی استاندارد با فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{Exponential amplification} = [10^{(-1/\text{slope})}] - 1 \qquad (۴ - ۱)$$

[1] Relative quantifacation
[2] Livak and Schmittgen
[3] Liu and Saint
[4] Marino

راندمان تکثیر واکنش، متفاوت از پایدار بودن نسبی در فاز نمایی اولیه است و به‌تدریج به سمت صفر میل می‌کند (لیو و ساینت، ۲۰۰۲). این نزول به‌دلیل کم شدن اجزای PCR، کاهش فعالیت پلیمراز و رقابت فرآورده‌های PCR است. محاسبهٔ راندمان تکثیر با استفاده از منحنی استاندارد، انعکاسی از این راندمان در حال تغییر نیست و ممکن است راندمان‌ها بیش از اندازه برآورد شوند. از آنجا که نتایج PCR بر اساس C_tای است که در مراحل اولیه فاز نمایی واکنش محاسبه می‌شود، بنابراین تفاوت در راندمان تکثیر، معمولاً تفاوت‌های جزئی در مقدار C_t به‌وجود می‌آورد. با وجود این، بعد از ۲۶ چرخه، یک تفاوت پنج درصدی در کارایی تکثیر می‌تواند باعث دو برابر تفاوت در غلظت فرآوردهٔ PCR شود. چندین روش جایگزین برای محاسبهٔ راندمان تکثیر بر اساس داده‌های خام جمع‌آوری شده از PCR وجود دارد (جنتل و همکاران[1]، ۲۰۰۱). در حین فاز نمایی، میزان مطلق فلورسنس در هر چرخهٔ PCR در هر نمونه افزایش می‌یابد که این صحت کنتیک واکنش آن نمونه را منعکس می‌سازد. در نتیجه، داده‌های حاصل از فاز نمایی را می‌توان با روش لگاریتمی تغییر داده و به‌وسیلهٔ شیب خط رگرسیون حاصل از راندمان تکثیر نمونه، پلات نمود (ونگ و مدرانو، ۲۰۰۵).

۱ – ۱۵ – موارد کنترلی

چند نوع کنترل برای تعیین صحت هر مرحله از فرآیند Real Time PCR وجود دارد. می‌توان آلودگی DNA را در نمونهٔ مورد آزمایش به‌وسیلهٔ کنترل رونویسی معکوس تعیین نمود. روش دیگر برای تشخیص DNA ژنومی در زمانی که تعداد نمونه‌ها زیاد است، طراحی آغازگر PCR برای ژن هدف بر اساس مرز دو اگزون است (در این حالت آغازگر بر اساس توالیcDNA و نقطهٔ اتصال دو اگزون طراحی می‌شود و بنابراین اگر نمونهٔ مورد آزمایش به DNA ژنومی آلوده باشد، با توجه به وجود اینترون در DNA، آغازگر طراحی شده قادر به تکثیر DNA به جای RNA نیست). تفاوت در کارایی رونویسی معکوس و همین‌طور مقدار

[1] Gentle

RNA مصرف شده در واکنش ساخت cDNA را می‌توان با استفاده از یک کنترل داخلی (اسید نوکلئیکی است که در هر تیوب واکنش وجود دارد) فهمید. می‌دانیم که حجم PCR Master Mix یک عامل تأثیرگذار در راندمان تکثیر PCR است، به‌طوری‌که با تفاوت در حجم Master Mix (با مقادیر یکسان از الگو)، راندمان تکثیر تغییر می‌کند (لیو و ساینت، ۲۰۰۲). در اغلب مواقع به‌منظور تعیین تفاوت‌های جزئی در حجم PCR Master Mix و همین‌طور نوسان در سیگنال فلورسنس، یک رنگ مرجع فرضی به‌کار می‌رود. مشکلات مرتبط با PCR Master Mix را می‌توان با استفاده از یک کنترل بیرونی حل نمود که یک سازهٔ[1] ساخته شده از RNA یا DNA خاص موجود در هر واکنش است (باستین و همکاران، ۲۰۰۵).

۱– ۱۵ – ۱- ژن‌های خانه‌دار

معمولاً از ژن‌هایی که بیان ثابتی دارند به‌عنوان ژن‌های کنترل در آزمون‌های بیان ژن استفاده می‌شود. به‌واسطهٔ حساسیت زیاد و دامنهٔ دینامیک Real Time PCR نسبت به سایر تکنیک‌های تعیین کمی معمول، مشخص شده که بسیاری از ژن‌های خانه‌دار مناسب مانند *GAPDH* و *ß-actin*، در تیمارهای مختلف، فرآیندهای زیستی و حتی بافت‌ها یا انواع سلول‌های مختلف، تحت تأثیر واقع می‌شوند. بدین لحاظ، استفاده از تنها یک ژن خانه‌دار می‌تواند به اشتباه نتایج اریب به‌بار آورد. بنابراین در زمان استفاده از یک ژن خانه‌دار برای نرمال کردن، مطلقاً ضروری است که برای تأیید پایداری آن، به‌جای اتکاء بر نتایج منتشر شدهٔ قبلی، از نمونه‌های آزمایشی مربوط به خودش استفاده شود (باستین، ۲۰۰۰).

۱ – ۱۵ – ۲- RNA ریبوزومی (rRNA)

rRNA ژن مرجع دیگری است که می‌توان برای نرمال کردن استفاده نمود. از بین دو rRNA عمده، یعنی ۲۸S و ۱۸S، ۲۸ S یکپارچگی mRNA را بهتر نشان می‌دهد چون ممکن است ۱۸ S به‌طور کامل

[1] Construct

در نمونه و به همراه mRNA تجزیه شده، باقی بماند (بنرجی و همکاران، ۲۰۰۰). چندین مشکل در استفاده از rRNA ۲۸S جهت نرمال کردن بیان ژن mRNA وجود دارد. rRNA ها به‌وسیلهٔ یک آنزیم پلیمراز متفاوت نسبت به mRNA رونویسی می‌شوند. بنابراین تغییر در فعالیت پلیمراز، بیان هر دو نوع RNA را به یک اندازه تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. در واقع این یک مزیت است که بیان rRNA کمتر تحت تأثیر تیمارهایی قرار می‌گیرد که بیان mRNA را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اما اندازه‌گیری دقیق ۲۸S و یک mRNA نادر به‌طور همزمان در یک رقت RNA یا cDNA ممکن است امکان پذیر نباشد. به‌طور مثال، اندازه‌گیری rRNA فاقد دم پلی A، در صورتی‌که در واکنش رونویسی معکوس از آغازگر اولیگو dT یا آغازگر اختصاصی ژن استفاده شود، امکان پذیر نیست (باربو و داتری[1]، ۱۹۸۹).

۱- ۱۶ - نرمال‌سازی

به منظور تصحیح تنوع بین نمونه‌ها، نرمال کردن داده‌ها انجام می‌شود. معمولاً مواد جمع‌آوری شده از افراد مختلف، از لحاظ مقدار بافت یا تعداد سلول، یکپارچگی یا مقدار RNA یا تیمار آزمایشی با هم متفاوت هستند. تحت شرایط ایده‌ال، می‌توان سطوح mRNA را بر اساس تعداد سلول استاندارد کرد، اما در زمان استفاده از نمونه‌های بافتی کامل، این نوع نرمال کردن غیر ممکن است (وندسمپل و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین نتایج Real Time PCR معمولاً با یک ژن کنترل نرمال می‌شوند که ممکن است به‌عنوان یک کنترل مثبت برای واکنش عمل نمایند. ژن کنترل مناسب بایستی در یک شکل بدون تغییر، بدون توجه به شرایط آزمایش، از جمله بافت یا نوع سلول، مرحلهٔ نموی یا تیمار نمونه، بیان شود. از آنجایی‌که هیچ ژنی وجود ندارد که تمام این خصوصیات را در همهٔ شرایط آزمایشی داشته باشد، لذا ضروریست که پایداری بیان یک ژن کنترل براساس نیازمندی‌های یک آزمایش و قبل از استفاده از آن جهت نرمال‌سازی، تأیید شود (ونگ و مدرانو، ۲۰۰۵).

[1] Barbu and Dautry

فصل دوم

بررسی منابع

۲ – بررسی منابع

۲- ۱- تیمار 1-MCP به عنوان ماده‌ای بازدارنده رقابت آمیز بیوسنتز اتیلن

گودرزی و شواخی (۱۳۹۲) گزارش کردند که غلظت‌های مختلف گاز 1-MCP برای افزایش دوره انبارداری گوجه‌فرنگی رقم هلیل که در مرحله آغاز تغییر رنگ برداشت شده بود، استفاده شد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که این گاز قادر به کنترل اثر اتیلن موجود در هوای اطراف گوجه‌فرنگی و ایجاد تاخیر در زمان رسیدگی، نرم و قرمز شدن بافت میوه است. میزان تغییرات این ویژگی‌ها به غلظت و زمان تماس میوه با گاز بستگی دارد. با مصرف مقادیر مساوی یا بیش از ۰/۷ میکرولیتر بر لیتر این گاز و زمان تماس۲۴ ساعت، تاخیری ۱۵ تا ۱۸ روزه در روند رسیدگی گوجه‌فرنگی‌ها ایجاد می‌شود. غلظت ۱/۳۵ میکرولیتر در لیتر این گاز، اگرچه در کنترل و به تعویق انداختن رسیدگی میوه کاملا موفق است اما به دلیل ایجاد غیریکنواختی در قرمزی رنگ سطح گوجه فرنگی، می‌تواند باعث کاهش بازارپسندی محصول شود که از این رو قابل توصیه نیست. در پژوهش دیگری توسط مهرزاد و محمدی ثانی (۱۳۹۳) بر روی گوجه‌فرنگی رقم راپسونا با 1-MCP در غلظت‌های ۰، ۰/۳۵، ۰/۷، ۱ و ۱/۳۵ به مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت، طی مدت چهار هفته در انبار با دمای۱۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۰ درصد و نمونه‌برداری به صورت هفتگی انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از 1-MCP اثر معناداری بر درصد مواد جامد محلول، اسیدیته، رنگ و اتیلن تجمعی داشت. محلول‌های 1-MCP در غلظت ۱ و ۱/۳۵ میکرولیتر بر لیتر بیشتر از سایر تیمارها از افزایش بریکس نمونه‌های گوجه‌فرنگی طی دوره نگهداری جلوگیری کرد. کاهش اتیلن برای تیمارهای حاوی غلظت-های ۰/۳۵، ۰/۷، ۱ و ۱/۳۵ نسبت به تیمار کنترل به ترتیب ۲۸، ۸۰، ۲۰۰ و ۴۲۰ درصد بود. همچنین تیماردهی با 1-MCP سبب کاهش اسیدیته و رنگ گردید بطوریکه در سنجش رنگ، اختلاف میانگین برای

محلول‌های آزمایشی با غلظت ۰/۳۵، ۰/۷، ۱ و ۱/۳۵ نسبت به تغییرات این مولفه در نمونه کنترل، به ترتیب ۵، ۱۵، ۳۰ و ۳۴ درصد افزایش یافت. در پژوهش صورت گرفته توسط اعتمادی نسب (۱۳۹۰) در غلظت های مختلف 1-MCP (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میکرولیتر بر لیتر) بر روی سیب رقم گلاب مشخص شد که تیمار 1-MCP باعث افزایش عمر انبارمانی میوه‌ها شدند. نتایج آن‌ها تاثیر مثبت 1-MCP را بر عمر انبارمانی نشان داد همچنین سرعت تغییرات بیوشیمیایی در میوه سیب را کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد تیمار میوه‌ها با غلظت ۰/۷۵ و ۱میکرولیتر 1-MCP بر عمر قفسه‌ای میوه سیب در دمای ۲۰ درجه سلسیوس توانسته است کیفیت میوه‌ها را به مدت طولانی‌تری حفظ کند. مکوندی و همکاران (۱۳۹۲) نتایج آزمایش خود بر روی زیتون رقم میشن اینگونه اعلام کردند که مقایسه میانگین‌ها نشان داد میوه‌های تیمار نشده (شاهد) در مدت ۱۴ روز نرم شدند این در حالی بود که تیمار 1-MCP از نرم شدن گوشت و توسعه رنگ پوست میوه زیتون جلوگیری کرده است. تحقیقات صورت گرفته توسط مدرس و همکاران (۱۳۹۱) بر روی توت‌فرنگی رقم کاماروسا نشان داد که نتایج تیمار یک میکرولیتر بر لیتر 1-MCP به طور مطلوبی باعث افزایش بازارپسندی، سفتی میوه، اسیدهای آلی، ویتامین ث و شاخص طعم میوه می‌شود. پوسیدگی ظاهری کاهش معنی‌داری نشان داده و تغییرات آنتوسیانین، TSS و pH عصاره نیز به طور معنی‌داری کم شد. این نتایج بیانگر اثر مثبت 1-MCP بر کاهش سرعت تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی بافت میوه توت‌فرنگی است. به منظور بررسی اثر تیمار 1-MCP بر حفظ کیفیت و افزایش عمر گلجایی گل‌های میخک رقم گرنداسلم آزمایشی توسط رنجبر و همکاران (۱۳۹۴) در غلظت‌های متفاوت 1-MCP (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر) انجام شد که نتایج آن آزمایش نشان داد که تیمار یک میکرولیتر بر لیتر 1-MCP به عنوان یک بازدارنده عمل اتیلن سبب افزایش عمر گلجایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گل شاخه بریدنی میخک رقم گرنداسلم گردید. در آزمایش دیگری که توسط شواخی و همکاران (۱۳۹۴) به منظور بررسی اثر 1-MCP در غلظت (۱ میلی‌لیتر) به منظور کاهش ضایعات پس از برداشت سیب (قرمز و زرد

لبنانی) انجام گرفت که نتایج نشان داد کمترین pH، بیشترین اسیدیته، پایین‌ترین مواد جامد محلول، بالاترین مقدار ویتامین ث و کمترین مقدار تولید اتیلن نیز در صورت اعمال 1-MCP مشاهده شد. استفاده از این تیمار، موجب تاخیر در رسیدگی و در نتیجه حفظ بهتر کیفیت در هر دو واریته سیب شد. در پژوهش صورت گرفته توسط گلدینگ و همکاران[1] (۱۹۹۸) بر روی میوه رسیده موز که تیمار1-MCP بر آن اعمال شده بود نتایج زیر گزارش گردید که در طی این آزمایش صفاتی از جمله تولید اتیلن، سرعت تنفس، رنگ پوست مورد بررسی قرارگرفت که مشخص شد 1-MCP به طور قابل توجهی باعث تاخیر در شروع و میزان واکنش‌های فیزیولوژیکی می‌شود و باعث تاخیر در شروع تولید اتیلن، تنفس و تغییر رنگ پوست می‌گردد. در پژوهش دیگری بر روی گلابی بارتلت توسط ترینکرو و همکاران[2] در سال ۲۰۰۴ که با 1-MCP تحت تیمار قرار گرفت نتایج به این صورت گزارش گردید، تیمار 1-MCP در گلابی بارتلت باعث تاخیر تولید اتیلن و سطح تنفس و توسعه رنگ و افزایش حفظ استحکام گردید. آووکادو نیز با 1-MCP به وسیله فنگ و همکاران در سال۲۰۰۰ تحت تیمار قرار گرفت که نتیجه آن مهار رسیدن ناشی از تولید اتیلن بود. در این پژوهش صفاتی از جمله استحکام، تولید سلولاز، فعالیت گالاکتروناز و تغییر رنگ تحت نظر قرار گرفتند. یافته‌ها نشان داد که 1-MCP یک مهار کننده قوی برای محافظت از میوه آووکادو در برابر اتیلن است. 1-MCP یک گاز غیرسمی، بی‌بو و در غلظت‌های پایین موثر است. در پژوهش صورت گرفته توسط خان و همکاران[3] (۲۰۰۸) بر روی "تگان آبی" آلو ژاپنی نشان می‌دهد که اثرات یک میلی لیتر بر لیتر1-MCP و بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده به تنهایی یا ترکیبی بر کیفیت ارقام در طول ذخیره‌سازی مورد بررسی قرار گرفتند و فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز اتیلن ACS، ACO و ACC و آنزیم‌های مرتبط با دیواره‌سلولی PG، PE و EGase نیز اندازه‌گیری شد. میوه‌هایی که با 1-MCP تیمارشدند و در MAP ذخیره شدند محتوای

[1] Golding
[2] Trinchero
[3] Khan

ACC پایین‌تری داشتند که تولید اتیلن نیز کمتر بود و همچنین فعالیت ACS و ACO نیز در مقایسه با میوه‌های تیمارنشده نیز کمتر بود. در نتیجه استفاده از 1-MCP در ترکیب با MAP به طور موثری می‌تواند بیوسنتز اتیلن و نرم شدن میوه را بدون هیچگونه عارضه جانبی بر کیفیت میوه رسیده کاهش دهد. 1-MCP به طور گسترده‌ای در میوه‌های کلیماتریک و غیرکلیماتریک مانند آلو (مارتینز[۱] و همکاران، ۲۰۰۳)، آووکادو، custard، مانگو (هوفمان[۲]و همکاران، ۲۰۰۱)، پرتقال (پورات[۳]و همکاران، ۱۹۹۹)، توت‌فرنگی (کو[۴] و همکاران، ۱۹۹۹) ، زردآلو (فان [۵]، ۲۰۰۰)، آناناس (سل وارجا[۶] و همکاران، ۲۰۰۱)، لیچی (دراک[۷] و همکاران، ۲۰۰۹)، گوجه‌فرنگی (زنگ[۸] و همکاران، ۲۰۰۹) ، پاپایا (فابی و همکاران[۹]، ۲۰۰۷ ؛ مانئویی و همکاران، ۲۰۰۷[۱۰]) ، عناب (زنگ[۱۱]و همکاران، ۲۰۱۲)، قهوه (آمورنپوتی[۱۲]و همکاران، ۲۰۱۴) ، گلابی (لیو و همکاران[۱۳]، ۲۰۱۳) ، سیب (واتگینز و همکاران[۱۴]، ۲۰۰۰؛ واتکینز و ناک[۱۵]،۲۰۱۲؛ یانگ و همکاران[۱۶]، ۲۰۱۳)، موز (باز[۱۷]، (باز[۱۷]، ۲۰۰۹؛ گولدینگتال، ۱۹۹۹؛ جینگ[۱۸] ، ۱۹۹۹). باعث تاخیر رسیدگی و کنترل کیفیت می‌شود.

[1]Martínez-Romero
[2]Hofman
[3] Porat
[4] Ku
[5]Fanetal
[6] Selvarajah
[7] De Reuck
[8] Zhang
[9] Fabi
[10] Fabi ،Manenoi
[11] Zhang
[12]Amornputti
[13]Liu
[14] Watkins
[15] Watkins and Nock
[16] Watkins; Watkins and Nock; Yang
[17]Baez
[18] Baez- Sañudoetal; Goldingetal; Jiang

۲- ۲- کاربرد اتمسفر تعدیل یافته بر دوره پس از برداشت

عشورنژاد و همکاران (۱۳۹۰) به منظور کوتاه بودن عمر انباری میوه ازگیل ژاپنی نتایج بررسی خود را اینگونه بیان کردند که میوه‌های بسته‌بندی با پوشش پلی‌اتیلن شاخص قهوه‌ای شدن کمتر و کیفیت ظاهری بهتری در پایان انبارداری داشتند ولی میوه‌های بدون پوشش بازارپسندی خود را در مدت کوتاهی از دست دادند. کاهش وزن میوه‌های با پوشش پلی‌اتیلن بطور معنی‌داری کمتر از میوه‌های شاهد بوده است. افزایش مواد جامد محلول و کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون میوه‌های بدون پوشش بطور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های با پوشش در ضمن انبارداری بوده است. در مجموع، بسته‌بندی با پوشش پلی‌اتیلن می‌تواند روشی برای افزایش عمر انباری میوه‌های ازگیل ژاپنی و عرضه طولانی‌تر میوه‌ها به بازار، معرفی گردد. سهرابی و همکاران (۱۳۹۵) بر روی تعدادی از خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی گوجه‌زیتونی در طی فرآیند انبارمانی که در فیلم‌های بسته‌بندی جهت بسته‌بندی گوجه‌زیتونی به کار گرفته شدند و سپس در دو دما (دمای ۲۵ و یخچال با دمای چهار) به مدت ۲۰ روز تحت نگهداری قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر آماری برای پارامترهای pH در فیلم‌های بسته‌بندی و بدون بسته‌بندی مشاهده نشد. در مقابل، فیلم‌های بسته‌بندی به طور معنی‌داری مانع افت وزن شد و همچنین فیلم‌های بسته‌بندی، باعث استحکام گوجه‌های زیتونی و بهبود کیفیت و حفظ کیفیت ذخیره‌سازی شدند. پلی وینیل کلراید و پلی‌اتیلن با چگالی بالا تاثیر معنی‌داری بر روی پارامترهای رنگ گذاشتند. رنگ گوجه‌های زیتونی بسته‌بندی شده تیره‌تر و محصولاتی که در دمای چهار درجه سانتی‌گراد بودند قرمزی کمتری در طول ذخیره‌سازی داشتند. در پژوهش صورت گرفته توسط احمدی و همکاران (۱۳۹۵) که بر روی گوجه‌فرنگی زیتونی (رقم سانتلا) انجام شد، تاثیر کاربرد بسته‌بندی با اتمسفر تغییریافته با دو نوع فیلم پلی‌اتیلن و نانوپلیمرسیلیکونی و سه نوع ترکیب مختلف گازی و اتمسفر تغییریافته غیرفعال، در دمای پنج درجه سلسیوس، بر برخی از شاخص-های فیزیکوشیمیایی گوجه‌فرنگی نظیر کاهش وزن، مواد جامد محلول، pH، اسیدیته قابل تیتر، میزان

تنفس، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمر طی ۲۸ روز نگهداری با توجه به نتایج نگهداری گوجه‌فرنگی در بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته سبب حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری این محصول گردید و باعث کند نمودن فرآیندهای متابولیکی از جمله تنفس گردید. در نتیجه در کاهش روند تغییرات وزن، مواد جامد محلول، pH و اسیدیته قابل تیتر نسبت به سایر تیمارها موثرتر بود. ضمن آنکه کمترین میزان آلودگی از نظر بار میکروبی کل و کپک و مخمر در این تیمار مشاهده گردید. نتایج بررسی چیلت[1] و همکاران (۱۹۹۶) نشان داد که بسته‌بندی میوه‌های موز در بسته های پلاستیکی با سردوخته شده، بیماری انتراکنوز را کنترل می‌کند که علت آن اصلاح اتمسفر درون بسته می‌باشد. اکبوداک[2] (۲۰۰۸) گزارش کرد که استفاده از پوشش نازک پلی‌پروپیلن بر روی فلفل‌دلمه‌ای در طول انبار اثر بهتری در مقایسه با پوشش نازک پلی‌وینیل‌کلراید داشت. درتحقیقات تقی‌زاده و همکاران (۲۰۱۰) مشخص شد که پوشش نازک پلی‌اتیلن در مقایسه با پوشش نازک پلی‌وینیل‌کلراید خصوصیات فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری شده قارچ خوراکی تکمه‌ای را در طی مدت انبارمانی بهتر حفظ کرد. در پژوهش حکیمی راد و همکاران (۱۳۹۳) که به منظور بهبود شرایط نگهداری میوه تازه زرشک صورت گرفت از تیمار سه ترکیب گازی در طول ۲۷ روز مورد پایش قرار گرفتند که صفات مورد بررسی شامل درصد کاهش وزن، مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتر، pH، محتوی آنتوسیانین کل و آزمون میکروبی بودند. نتایج بررسی‌ها نشان داد استفاده از بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده خصوصیات کیفی میوه‌ها را حفظ کرد. ناخسی و همکاران[3] (۱۹۹۱) دریافتند که در گوجه‌فرنگی‌های بسته‌بندی شده در اتمسفر تعدیل‌یافته فعال، تغییر در میزان اسیدیته، مواد جامد محلول، سفتی بافت، رنگ و فعالیت‌های پلی‌گالاکتروناز در مقایسه با میوه‌های بسته‌بندی نشده به تاخیر افتاده است. محبی و همکاران (۱۳۹۲) نتایج تحقیقات خود حاصل از بررسی حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی میوه ذغال‌اخته با

[1] Chillet
[2] Akbudak
[3] Nakhasi

استفاده از روش بسته‌بندی در اتمسفر تعدیل یافته را اینگونه بیان داشتند که میوه‌های بسته‌بندی شده با پوشش پلی‌اتیلن در ترکیب گازی ۶۰ درصد اکسیژن و ۲۰ درصد دی اکسید کربن بهترین اثر را در حفظ مقدار ویتامین ث و شاخص آنتوسیانین نشان داد. در مجموع استفاده از تکنولوژی بسته‌بندی در اتمسفر تعدیل یافته صرف نظر از نوع ترکیب گازی تاثیر معنی‌داری در حفظ خصوصیات کمی و کیفی زغال‌اخته نسبت به میوه‌های فاقد بسته‌بندی داشتند. راعی و جعفری در سال ۲۰۱۱ از مواد مختلفی (سلوفان، پاکت-های دو و سه لایه و همچنین قوطی‌های فلزی) برای بسته‌بندی پسته خشک استفاده کردند و اثر آن‌ها را به همراه دماهای مختلف (۲۰ و ۴۰ درجه‌سانتی‌گراد) بر ماندگاری محصول مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مطالعات آن‌ها نشان داد که افزایش دما و مدت ذخیره‌سازی موجب کاهش کیفیت پسته می‌شود. همچنین پاکت‌های پلاستیکی دولایه نقش موثرتری، نسبت به سایر بسته‌بندی‌ها، در جلوگیری از نفوذ اکسیژن و حفظ کیفیت چربی پسته داشت. زنگ و همکاران[1] (۱۹۹۱) تاثیر بسته‌بندی پلی‌اتیلن با ضخامت ۰/۰۲ میلی‌متر و حاوی مواد جاذب را بر خواص زردآلو بررسی کردند و نتیجه گرفتند که فعالیت آنزیم‌های تولیدکننده اتیلن در بسته‌های پلی‌اتیلن بسیار کم است به ویژه اگر در بسته‌ها مواد جاذب اتیلن استفاده شود. اشری[2] (انجمن مهندسی گرمایش و سرمایش آمریکا) پوشاندن بسته‌های محتوی زردآلو را با پوشش-های پلی‌اتیلن توصیه می‌کند. زیرا این پوشش می‌تواند از کاهش رطوبت جلوگیری کند. همچنین توصیه شده است که زردآلو در موقع بسته‌بندی از اول در ظروف مخصوص فروش بسته‌بندی شود. جنس این ظروف از پلی‌اتیلن است و اجازه تبادل گازهای اکسیژن و CO_2 و همچنین بخار آب را نیز فراهم می‌کند. در صورتی که این تبادل گازها به اندازه کافی نباشد، تجمع CO_2 موجب فساد بیشتر میوه می‌شود. در پژوهش دیگری ک توسط بداقی و همکاران (۱۳۹۵) با استفاده از دو نوع فیلم بسته‌بندی پلی‌اتیلن با ضخامت ۲۰ و ۴۰ میکرومتر بر ماندگاری برش‌های تازه خربزه خاتونی انجام شد، نتایج نشان داد که از میان این دو نوع

[1] Zhang
[2] Ashrae

فیلم، پلی‌اتیلن ۲۰ میکرومتر در تمام نمونه‌برداری‌ها میزان جمعیت میکروبی کمتری نسبت به پلی‌اتیلن ۴۰ میکرومتر داشتند. همچنین در مورد اسید قابل تیتراسیون و خواص حسی نیز فیلم پلی‌اتیلن ۲۰ میکرومتر بهتر عمل کرده است. در میزان پروتئین کل تفاوت معناداری میان تیمارها مشاهده نشده است. در مجموع فیلم پلی‌اتیلن ۲۰ میکرومتر به دلیل حفظ بهتر کیفیت برش‌های خربزه، از میان تیمارها برای بسته‌بندی مناسب‌تر است.

۲- ۳- اثر تیمارهای پس از برداشت بر تغییرات بیان ژن مسیر بیوسنتز اتیلن

چنگ و همکاران[1] (۲۰۱۲) در یک پژوهش اثر تیمار 1-MCP را در مهار تولید اتیلن و چگونگی تجزیه کلروفیل در طول مدت انبارداری بررسی کردند. در تحقیق آن‌ها میوه‌ها بعد از برداشت با 1-MCP، برای تعیین تاثیر آن بر ساختار کلروپلاست و بیان ژن‌های مرتبط با تجزیه کلروفیل در بافت‌های پوسته تیمار شدند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که هلوی تیمار شده با 1-MCP دارای اتیلن کمتر و محتوی کلروفیل بالاتر در مقایسه با میوه‌های شاهد بود. همچنین مشخص شد که 1-MCP می‌تواند تجزیه کلروفیل را بواسطه بازدارندگی تولید اتیلن و مهار بیان ژن‌های PAO، NYC، NOL و SGR1 که ارتباط نزدیکی با مسیرهای کاتابولیک کلروفیل دارند، به تاخیر بیاندازد. دانگ و همکاران[2] (۲۰۱۴) میوه‌های گلابی را با 1-MCP به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تیمار و سپس در صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری کردند. نتایج نشان داد که تیمار 1-MCP کاهش در استحکام و محتوی کلروفیل (a، b و کل) پوسته را به تاخیر انداخت و نرخ تنفس و تولید اتیلن را کاهش داد. در ضمن تجمع هیدروژن پراکسید که در میوه‌های تیمار نشده در مدت و بعد از انبارداری سرما مشاهده وجود داشت، مهار شد. تفاوت ناچیزی در محتوی مواد جامد

[1] Cheng
[2] Dong

محلول بین میوه‌های شاهد و تیمار شده با 1-MCP در مدت انبارداری مشاهده شد. تجزیه همبستگی نشان داد که محتوی هیدروژن پراکسید بافت میوه به صورت منفی با استحکام و نیز محتوی هیدروژن پراکسید پوسته با محتوی کلروفیل کل ارتباط دارند. این نتایج ثابت کرد که تیمار 1-MCP می‌تواند نرمی میوه و تجزیه کلروفیل را از طریق تجمع محتوی هیدروژن پراکسید در مدت و بعد از انبارداری سرما به تاخیر بیاندازد. در پژوهشی که به وسیله ژو و همکاران[1] (۲۰۱۵) انجام شد اثر براسینواستروئید بر روی کیفیت و سنتز اتیلن در گوجه‌فرنگی پس از برداشت بررسی شد. در این پژوهش میوه رسیده سبز گوجه‌فرنگی برداشت و با براسینولید (BL، براسینواستروئید فعال) یا برازینازول (BRZ، بازدارنده بیوسنتز براسینواستروئید) تیمار گردیدند. نتایج نشان داد که در مدت رسیدگی میوه، کاربرد براسینولید در القاء رسیدگی میوه گوجه‌فرنگی، افزایش قندهای محلول، آسکوربیک اسید، محتوی لیکوپن، نرخ تنفس و تولید اتیلن موثر بوده است، اما به شدت محتوی کروفیل را در مقایسه با شاهد کاهش می‌دهد. همچنین، بیان ژن‌های LeACS2، LeACS4، LeACO1، LeACO4 و LePSY1 بوسیله تیمار با براسینولید افزایش و بیان ژن LeGLK2 کاهش یافت. با این وجود، میوه تیمار شده با برازینازول تاثیرات متضادی نشان داد، چرا که رسیدگی میوه گوجه‌فرنگی به تاخیر افتاد. این یافته‌ها نشان داد که براسینواستروئیدها در توسعه خصوصیات کیفی میوه و رسیدگی میوه گوجه‌فرنگی به واسط اتیلن نقش دارند. آمورنپوتی و همکاران (۲۰۱۶) چگونگی تاثیر 1-MCP را در مهار تولید اتیلن در پوسته و پالپ در میوه درخت قهوه سودانی بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که پوسته (سبوس) نسبت به پالپ مقدار بیشتری اتیلن تولید می‌کند، از این‌رو، تاثیرات تیمار 1-MCP بر پوسته به احتمال زیاد هرگونه تاثیر بر پالپ را می‌پوشاند. در پوسته، تیمار 1-MCP تاثیری بر فعالیت ۱-آمینوسیکلوپروپن-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) سنتاز نداشت، اما فعالیت ACO را کاهش داد. سطوح ACC در پوسته بوسیله تیمار با 1-MCP در ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت تاثیر قرار نگرفت. در پالپ، فعالیت

[1] Zhu

ACO تحت تاثیر قرار نگرفت. فعالیت ACS در ۲۵ درجه سانتی‌گراد مهار نشد و سطوح ACC بعد از تیمار با 1-MCP کاهش یافت. نتیجه‌گیری شد که تیمار 1-MCP احتمالا تولید اتیلن میوه درخت قهوه را اساساً بواسطه مهار افزایش در فعالیت ACC اکسیداز در پوسته مهار می‌کند. تحقیقی به وسیله تاتسوکی و همکاران[1] (۲۰۰۷) بر روی اثر زمان‌های مختلف پس از برداشت و کاربرد 1-MCP بر روی کیفیت دو رقم سیب و بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز و گیرنده‌های دریافت سیگنال در اتیلن انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که الگوی بیان این ژن‌های دو رقم سیب مورد مطالعه متفاوت بود. تولید اتیلن و بیان ژن‌های MdACS1، MdERS1 و MdERS2 در همه میوه‌های رقم فوجی تیمار شده با 1-MCP سرکوب گردید، اما در میوه رقم ارین، آخرین تیمار 1-MCP که پس از برداشت بکار رفت، اثر بازدارندگی کمی در تولید اتیلن و بیان این ژن‌ها داشت. بیان ژن MdERS1 و تولید اتیلن در رقم ارین و در سیب‌هایی که پس از هفت روز از برداشت تحت تاثیر 1-MCP قرار گرفتند، ابتدا به صورت اندکی کاهش و سپس افزایش یافت. از آنجایی که گیرنده‌های اتیلن به صورت منفی مسیر پیام‌رسانی اتیلن را تنظیم می‌کنند، افزایش سطوح تولید اتیلن و گیرنده‌های اتیلن بعد از تیمار 1-MCP ممکن است کارایی 1-MCP را کاهش دهد. در یک بررسی که به وسیله ژی و همکاران (۲۰۱۴) به منظور بررسی اثرات 1-MCP بر روی سنتز اتیلن و رسیدگی گلابی انجام شد، اثر دماهای مختلف انبارداری نیز بر چگونگی اثرگذاری 1-MCP مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش پوسیدگی قابل توجهی در میوه شاهد ذخیره شده در دمای ۱/۱- درجه سانتی‌گراد ظرف مدت هفت روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بعد از طی سه تا پنج ماه از انبارداری مشاهده شد. درحالیکه میوه‌های تیمار شده با 1-MCP و در دمای ۱/۱- درجه سانتی‌گراد به علت غلظت بسیار پایین اتیلن درونی و نرخ تولید اتیلن به مدت هشت ماه قابلیت نگهداری داشتند. میوه‌های تیمار شده با 1-MCP و ذخیره شده در دمای ۱/۱- درجه سانتی‌گراد مقدار قابل توجهی از اتیلن درونی را در مدت انبارداری تولید کردند و

[1] Tatsuki

ظرفیت نگهداری آن‌ها بعلت سطوح نسبتاً پایین پوسیدگی حدودا شش تا هشت ماه بود. در شرایط تیمار با 1-MCP و دمای ۲/۲ درجه سانتی‌گراد به سرعت کیفیت میوه در مدت انبارداری از دست رفت. در مقایسه با شاهد، بیان ژن‌های دخیل در سنتز اتیلن (PaACS1 و PaACO1) و ژن‌های سیگنالینگ (PcETR1 و PcETR2) در تیمار ۱/۱+ و ۱/۱- درجه سانتی‌گراد، 1-MCP در سطح بسیار پایینی حفظ شد. در مقابل، بیان این ژن‌ها بعد از چهار الی پنج ماه نگهداری در تیمار ۱/۱+ و ۱/۱- درجه سانتی‌گراد 1-MCP افزایش یافت. بیان دیگر ژن‌ها (PcCTR1، PcACS2، PcACS4 و PcACS5) صرف نظر از توانایی میوه برای رسیدگی بسیار پایین بود. دمای نگهداری ۱/۱ درجه سانتی‌گراد می‌تواند القاء ظرفیت رسیدگی را در تیمار 1-MCP با سطوح نسبتاً پایین پوسیدگی بعد از شش تا هشت ماه انبارداری تسهیل کند، که این امر از طریق تغییر بیان ژن‌های معین در سنتز و سیگنالینگ اتیلن رخ می‌دهد. در یک مطالعه که توسط یانگ و همکاران[1] (۲۰۱۳) انجام شد اثرات کاربرد خارجی اتیلن و 1-MCP بر روی بیان ژن‌های درگیر در دریافت سیگنال و بیوسنتز اتیلن در طول دوره رسیدگی سیب بررسی شد. در این بررسی بیان ۲۰ ژن دخیل در این مسیر با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز زمان واقعی پس از تیمار ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بیان ژن‌های ETP2، ETR5، ERSs، EIL4 و ERFs همراه با ژن‌های ACS1 و ACO1 به صورت معنی‌داری در زمان رسیدگی میوه افزایش یافت. کاربرد تیمار خارجی اتیلن بیان ژن‌های ACO2، ETR1، CTR1 و EIN2A را بیشتر افزایش داشت درحالیکه بیان ژن‌های ACS3 و ACO3 و ژن‌های EIN2A تنها مقدار کمی تحت تاثیر قرار گرفتند. تیمار 1-MCP بصورت معنی‌داری از بیان ژن‌های ACS1، ACO1 و ACO2 جلوگیری کرد، که با تولید اتیلن همزمان بود. تیمار 1-MCP تاثیر محدودی بر بیان ژن‌های ACS3، ACO3 و EIN2A داشت. این مطالعه پیچیدگی و تغییرات پویای پروفایل‌های رونویسی دریافت و بیوسنتز اتیلن در پاسخ به رسیدگی میوه، اتیلن و تیمار 1-MCP را ثابت کرد. درک تغییرات معنی‌دار این ژن‌ها و فعالیت

[1] Yang

آن‌ها ممکن است به توضیح مکانیسم‌های کنترل‌کننده رسیدگی میوه سیب و پاسخ آن به کاربرد اتیلن خارجی و فعالیت بازدارندگی در سطح گیرنده در مدت رسیدگی و پیری کمک کند. کتسا و همکاران (۲۰۱۳) اثرات تیمار 1-MCP و بسته بندی (اتمسفر تغییر یافته) را در افزایش طول عمر و ماندگاری در موز بررسی کردند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که میوه تیمار شده با 1-MCP به همراه بسته‌بندی دارای دوره نگهداری ۱۰۰ روزه بود. مدت نگهداری میوه شاهد (بدون 1-MCP و بسته بندی) در حدود ۲۰ روز بود. میوه نگهداری شده در کیسه‌های PE بدون تیمار 1-MCP دارای مدت ماندگاری ۴۰ روزه بودند و همین نتیجه در میوه تیمار شده با 1-MCP بدون بسته‌های PE دیده شد. در این تحقیق محتوی و فعالیت ACO و ACC در شرایط تیماری مختلف اندازه‌گیری گردید. 1-MCP یک بازدارنده فعالیت اتیلن است، بطوریکه تولید اتیلن را مهار می‌کند،که این عمل اساساً از طریق بازدارندگی فعالیت ACC اکسیداز در پوسته می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمار بسته‌بندی تولید اتیلن را از طریق بازدارندگی فعالیت ACC اکسیداز در پوسته و در پالپ مهار می‌کند. ترکیب تیمار 1-MCP و بسته‌بندی منجر به کاهش تولید اتیلن به علت بازدارندگی فعالیت ACC سنتاز و ACC اکسیداز می‌گردد. مانوز و همکاران[1] (۲۰۱۲) در یک تحقیق اثر 1-MCP و AVG را بر روی بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز اتیلن مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که هر دو تیمار بازدارنده اتیلن درکاهش تولید اتیلن، نرخ تنفس و نرم شدن میوه موثر بودند. در این تحقیق آنها سه ژن ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک-اسید سنتاز (ACS) را شناسایی کردند، اما تنها بیان *ACS2* به شدت بوسیله بازدارنده اتیلن کاهش پیدا کرد، که بیان‌کننده نقش کلیدی این ژن در سنتز اتیلن در زمان رسیدگی است. برعکس، *ACS1* و *ACS3* بیان بالایی تحت بازدارندگی اتیلن نشان دادند، بیان شد که ژن‌های مسئول به صورت انفرادی و به صورت اختصاصی تنظیم می‌شوند. در پایان،

[1] Munoz

تغییرات در ژن‌های ۱-آمینوسیکلوپرپان-۱-کربوکسیلیک اکسیداز الگوی پایداری از تغییر در اتیلن را نشان ندادند.

فصل سوم

مواد و روش‌ها

۳ – مواد و روش‌ها

۳-۱- زمان و محل اجرای آزمایش

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود به اجرا درآمد.

۳-۲- موقعیت شهرستان شاهرود از نظر جغرافیایی

شهرستان شاهرود در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی و طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۷ دقیقه شمالی از نصف النهار گرینویچ واقع شده است و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۴۹ متر است. شهر بسطام در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و ۵۵ دقیقه طول شمالی واقع شده است و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۶۶ متر است. منطقه بسطام دارای اقلیم سرد و خشک است و میانگین بارندگی سالانه در این منطقه بین ۱۵۰ تا ۱۶۰ میلی‌متر است و بارندگی‌ها عمدتا در فصل پاییز و بهار رخ می‌دهد. حداقل و حداکثر دمای منطقه به ترتیب ۹/۶- و ۴۰ درجه سانتی‌گراد است.

۳-۳- نوع و قالب طرح

این طرح بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل دو لاین خالص گوجه گیلاسی سیاه و گوجه گیلاسی زرد بود، فاکتور دوم شامل بسته‌بندی با فیلم پلی‌اتیلن، فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP (با غلظت پنج میکرولیتربر لیتر) و شاهد بدون بسته‌بندی و فاکتور سوم شامل چهار زمان بود. گوجه‌فرنگی‌های هر دو لاین در مرحله شکست رنگی بر اساس شاخص استاندارد رسیدگی گوجه‌فرنگی از مزرعه برداشت شدند.

۳-۴ – پرورش دو لاین گوجه‌فرنگی

در پژوهش حاضر بذور گوجه‌فرنگی ابتدا در سینی‌های پلاستیکی (۶۰ × ۳۰) کشت داده شد و پس از تهیه نشاهای چند برگی به زمین اصلی انتقال داده شد. قبل از انتقال نشاءها به زمین اصلی عمل مقاوم کردن نشاءها جهت مقاوم شدنشان نسبت به شرایط مزرعه صورت گرفت. جهت آماده سازی زمین از تراکتور جهت شخم زدن استفاده شد، سپس به وسیله دیسک سنگین کلوخه‌های حاصل از شخم نرم شدند و زمین به صورت جوی و پشته درآمد، فاصله بین جوی‌ها ۴۰ سانتی‌متر و فاصله هر پشته نیز حداکثر تا یک متر در نظر گرفته شد. بلافاصله پس از آماده شدن زمین، آبیاری جهت تعیین داغ‌آب انجام شد سپس نشاءها در زمین اصلی قرار گرفتند. نشاءکاری در اوایل روز صورت گرفت و فاصله هر بوته از هم تقریبا ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد و پس از انتقال نشاءها نیز مجددا آبیاری صورت گرفت. آبیاری‌های بعدی بطور منظم به صورت هر پنج روز یک‌بار انجام گرفت. قبل از میوه‌دهی، بوته‌ها با کود ازت در دو مرحله به فواصل زمانی ۱۵روز یکبار تغذیه شدند. سایر ریزمغذی‌ها از جمله کود میکرو، کلسیم و بور نیز در دوره میوه‌دهی استفاده شد. خاک‌دهی پای بوته‌ها جهت جلوگیری از دسترسی آفات، سبزشدن ساقه، هوادهی خاک، از بین رفتن علف‌های هرز ، افزایش محدوده رشد ریشه‌ها و در نتیجه افزایش محصول با استفاده از خاک داخل جویچه-های آبیاری اطراف بوته‌ها زمانی که خاک هنوز به طور کامل سفت نشده صورت گرفت. قیم‌گذاری به منظور حفظ تعادل طبیعی، قائم نگه‌داشتن، عدم سرایت عوامل بیماری‌زا، افزایش تهویه بین بوته‌ها و سهولت در عملیات داشت و برداشت انجام شد.

۳-۵ - برداشت محصول و اعمال تیمارها

میوه‌ها در مرحله شکست رنگ برداشت شد و به آزمایشگاه انتقال یافتند. جهت گرفتن گرمای مزرعه و ضدعفونی، میوه‌ها در هیپوکلریت سدیم با غلظت یک درصد به مدت یک دقیقه قرارداده و پس از آبکشی،

جهت خشک شدن، میوه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. برای اعمال تیمار 1-MCP از ظروف چهار قفله پلاستیکی شرکت صنعت سازان به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بدین ترتیب که گوجه فرنگی‌های هر دو لاین به تعداد هشت عدد با 1-MCP با غلظت پنج میکرولیتر بر لیترمحلول‌پاشی شدند. برای اعمال تیمارهای بسته‌بندی با پلی‌اتیلن و شاهد نیز ۴۸ ساعت اول، گوجه-فرنگی‌ها در این ظروف پلاستیکی نگهداری شدند تا آزمایشات یکسان‌سازی گردد. در هر تیمار، در هر تکرار هشت میوه در نظر گرفته شد.

۳-۶ - صفات فیزیولوژیکی

در این آزمایش هر چهار روز یک‌بار و در چهار مرحله در طول مدت ۱۶ روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه‌سانتی‌گراد، از گوجه‌فرنگی‌ها نمونه‌برداری شد. صفات شامل: درصد کاهش وزن، مواد جامد محلول (TSS)، pH عصاره، سفتی بافت میوه و میزان کلروفیل اندازه‌گیری و مقایسه شد.

۳-۶-۱- اندازه‌گیری میزان کاهش وزن

نمونه‌ها در ابتدا و انتهای مدت زمان مشخص انبارداری با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم توزین شدند و درصد کاهش وزن با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد کاهش وزن} = \frac{(\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه})}{\text{وزن اولیه}} \times 100 \qquad (۱ - ۳)$$

۳-۶-۲ – اندازه‌گیری مواد جامد محلول[۱]

برای اندازه‌گیری درصد مواد جامد محلول کل، یک یا دو قطره از آب میوه صاف شده روی منشور دستگاه رفراکتومتر قرار داده شد و مقدار آن قرائت و نتیجه به صورت درجه بریکس بیان گردید.

[۱] Total Dissolved Solids

۳-۶-۳- اندازه‌گیری pH محلول

با استفاده از دستگاه pH متر میزان pH عصاره میوه‌ها در طول مدت نگهداری و هر چهار روز یک‌بار اندازه‌گیری شد (ابتدا پنج میلی‌لیتر آب گوجه‌فرنگی را به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم).

۳-۶-۴- اندازه‌گیری سفتی[1] بافت میوه

برای اندازه‌گیری سفتی بافت از یک دستگاه بافت‌سنج دیجیتال قابل حمل ساخت کشور کره مدل dfl، با قطر پروب دو میلی‌متری استفاده شد. برای هر گوجه‌فرنگی (با پوست‌گیری) سه بار اندازه‌گیری و میانگین نتایج به عنوان سفتی بافت بر حسب نیوتون گزارش شد.

۳-۶-۵- اندازه‌گیری کلروفیل

جهت انجام کار نیم گرم از هر نمونه در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموژن گردید و بعد از انجام سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰ در دقیقه و دمای چهار درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه مایع رویی برداشته شد و حجم آن با استن به ده میلی‌لیتر رسانده شد. سپس میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 2150) ساخت کشور آمریکا و در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر تعیین گردید و غلظت کلروفیل a، b و مجموع آن‌ها از طریق روابط زیر به دست آمد (آرنون، ۱۹۴۹):

(۳ – ۲) گرم بافت / میلی گرم کلروفیل گرم a = ۱۲/۷ (A ۶۶۳) – ۲/۶۹ (A ۶۴۵) × V/۱۰۰۰ × W

(۳ – ۳) گرم بافت/ میلی گرم کلروفیل b = ۲۲/۹ (A ۶۴۵) –۴/۶۹ (A ۶۶۳) × V/۱۰۰۰ × W

(۳ - ۴) گرم بافت/ میلی گرم کلروفیل کل = ۲۰/۲ (A ۶۴۵) + ۸/۰۲ (A ۶۶۳) × V/۱۰۰۰ × W

[1] firmness

۳ – ۷ – بررسی بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز اتیلن

هر چهار روز یک‌بار همزمان با سنجش صفات فیزیولوژیکی، از میوه‌های گوجه‌فرنگی نمونه‌برداری به عمل آمد و نمونه‌ها بلافاصله در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

۳ – ۷ – ۱- استخراج RNA

برای استخراج RNA از کیت RNX Plus و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. کمیت و کیفیت RNA، به ترتیب با استفاده از دستگاه نانودراپ و ژل آگارز یک درصد تعیین شد. برای حذف آلودگی‌های DNA، پس از تعیین غلظت با دستگاه نانودراپ، یک میکروگرم از RNA استخراج شده تحت تیمار DNAse طبق جدول ۳-۱ قرار گرفت. تیمار DNAse با استفاده از آنزیم RNase-free DnaseI(fermentase) انجام شد. پس از مرحله‌ی اول ویال محتویات را در دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و پس از اضافه کردن EDTA، ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد.

جدول۳- ۱- ترکیبات مورد استفاده به منظور حذف DNAی ژنومی

مرحله	ماده	حجم(µl)	غلظت
	RNA	-	-
۱	Reaction buffer	۱	۱۰X
	DNAse	۱	$u\mu l^{-1}$
	Water nuclease-free	-	-
	Total	۱۰	-
۲	EDTA	۱	۵۰mM
	Total	۱۱	-

۳ – ۷ – ۲ - ساخت cDNA

پس از اطمینان از کیفیت RNA و اندازه‌گیری کمیت آن مقدار مشخصی از RNA به عنوان الگو برای ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. از آغازگر Oligo (dT) برای هیبریداسیون آن با دم پلی‌آدنین mRNA استفاده شد. برای ساخت cDNA، از کیت HyperScript Reverse transcriptase (GeneALL) استفاده شد. Master یک طبق جدول ۳ - ۲ آماده شده و به مدت ۱۵دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفت. در مرحله بعد Reaction buffer و آنزیم Reverse transcriptase را بر طبق جدول ۳-۲ به Master یک اضافه شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه‌سانتی‌گراد و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفت.

جدول۳- ۲- ترکیبات مورد استفاده برای ساخت cDNA در مرحله اول

ماده	حجم (µl)	غلظت
RNA	۴	۲۵۰ $ng\mu l^{-1}$
Oligo (dT)	۱	۱۰ $pmol\mu l^{-1}$
DEPC Water	۷	-
Master 1 total volume	۱۲	-

جدول ۳- ۳- ترکیبات مورد استفاده برای سنتز cDNA در مرحله دوم

ماده	حجم (µl)	غلظت
Master 1 total volume	۱۲	-
Reaction buffer	۷	۱۰X
Reverse transcriptase	۱	۲۰۰muµl^{-1}
Total volume	۲۰	-

۳– ۷ – ۳ - طراحی آغازگرها

آغازگرها برای تکثیر ژن‌های مورد نظر، با استفاده از برنامه آنلاین Primer 3 Plus طراحی و صحت آن‌ها با Oligo Analyzer v.3.1 (http://eu.idtdna.com/calc/analyzer) بررسی شد. پارامترهای بررسی شده در این برنامه شامل تشکیل ساختارهای سنجاق سری و دایمر آغازگرهای مختلف است. آغازگرهای مستقیم و معکوس به‌گونه‌ای طراحی شدند که اختلاف دمای آن‌ها کمتر از ۳-۲ درجه‌سانتی‌گراد باشد (جدول ۳-۴).

جدول ۳- ۴ - آغازگرها و مشخصات آن‌ها

نام	توالی آغازگر (′ ۳ - ′۵) Forward	توالی آغازگر (′ ۳ - ′۵) Reverce	طول قطعه Bp	دمای اتصال (سانتی‌گراد)
ACO1	GGAGGCATCATACTTCTGT	CATCACTTCCTGGATTGTA	۲۱۰	F: ۶۰ R:۶۱
ACO5	ACGAACAAGTTCCAGGTC	GGTGACAGGGATACAAGAG	۲۳۰	F:۶۰ R:۶۱
ACS4	GGGGTTATTCAGATGGGTC	CCACCAGCCATTACTACAC	۲۲۰	F:۶۲ R:۶۱
SAM1	CGAGGAGATTGGTGCTGGTG	TCGTGTTGGGTGGAGATAAG	۲۳۰	F:۶۱ R:۶۱
Actin	TTATCACCATTGGTGCTGAG	CGATGTTTCCATACAGATCCTT	۱۶۰	F:۵۹ R:۶۰

۳ – ۷ – ۴- بررسی صحت سنتز آغازگرها

به منظور اطمینان از سنتز صحیح cDNA و کارکرد آغازگرهای طراحی شده قبل از بررسی بیان ژن‌های مورد نظر، ابتدا سنتز توسط PCR معمولی و با مشخصات نمایش داده شده در جدول ۳ - ۵ انجام شد. برای انجام واکنش PCR از آنزیم α-Taq DNA Polymerase (GeneALL) و دستگاه ترمال‌سایکلر شرکت Bio RAD استفاده شد (جدول ۳ - ۵).

جدول ۳- ۵- ترکیبات مورد استفاده در واکنش PCR به منظور تایید سنتز cDNA

ماده	حجم (µl)	غلظت
H_2O	۴/۵	-
HQ buffer	۲	۵X
Dntp	۴	۱۰ mM
α-Taq Buffer	۵	۵X
α-Taq DNA Polymerase	۰/۵	۲/۵ $u\mu l^{-1}$
cDNA	۲	۵۰ $ng\mu l^{-1}$
Forward Primer	۱	۱۰ $pmol\mu l^{-1}$
Reverse Primer	۱	۱۰ $pmol\mu l^{-1}$
Total Volume	۲۰	-

جدول ۳ - ۶- برنامه ترمال‌سایکلر برای PCR

مرحله		دما (ºC)	زمان
Denaturation		۹۵	۲ min
	Denaturation	۹۵	۲۰ sec
۳۵ چرخه	Annealing	۶۰	۲۰ sec
	Elongation	۷۲	۵ min
Elongation		۷۲	۵ min

پس از انجام واکنش PCR ، محصولات PCR بر روی ژل آگارز یک درصد بارگذاری گردید .

۳ – ۷ – ۵ - انجام واکنش Real-Time PCR

همه‌ی cDNA ها در حجم ۲۰ میکرولیتر و با غلظت نهایی ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر سنتز شدند. برای واکنش qRT-PCR، SYBR®Green PCR Master Mix 2X (Ampliqon) مورد استفاده قرار گرفت. واکنش‌ها در حجم ۱۰ میکرولیتر و با سه تکرار انجام شدند (جدول ۳ – ۷). برای هر ژن، آزمایش کنترل منفی با واکنش qRT-PCR انجام شد. همچنین برای اطمینان از کارکرد آنزیم DNAse و حذف تمام آلودگی‌های DNA، واکنش qRT-PCR بر RNA و RNA تیمارشده با DNAse انجام شد. واکنش PCR زمان واقعی، با استفاده از دستگاه ABI Step one و مطابق با ترکیبات موجود در جدول (۳ – ۷) انجام شد.

جدول ۳- ۷ – ترکیبلات مورد استفاده در واکنش PCR زمان واقعی

ماده	حجم(µl)	غلظت
Nuclease Free Water	۳	-
cDNA	۱	۵۰ ngµl^{-1}
Forward Primer	۰/۵	۱۰ pmolµl^{-1}
Reverse Primer	۰/۵	۱۰ pmolµl^{-1}
SYBR®Green PCR Master Mix	۵	۲X
Total	۱۰	-

واکنش Real-Time PCR در حجم واکنش ۲۵ میکرولیتر حاوی مواد موجود در جدول (۳ – ۷) و با شرایط واکنش زنجیره ای پلیمراز انجام شد: ۱۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۵ تکرار با چرخه‌های ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (دمای Tm آغازگر) و ۱۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. در این واکنش از Green Supermix خریداری شده از شرکت Amplicon استفاده گردید.

۳ – ۷ – ۶- استاندارد سازی

برای استاندارد کردن از سری رقت استفاده شد. تهیه سری رقت برای تنظیم دستگاه و بدست آوردن کارآیی مناسب انجام می‌گیرد. سری رقت میزان متفاوت از غلظت‌های cDNA شامل 10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4} بود که این عمل برای کلیه ژن‌ها و برای ژن‌های مرجع آزمون شد. در انتها کارآیی[1] PCR و میزان Ct هر نمونه و منحنی استاندارد به‌دست آمد. اگر کارآیی بدست آمده از سریال رقت کمتر یا بیشتر از ۹۵ تا ۱۰۰ باشد می‌بایست برنامه دستگاه تغییر یابد (مثل تغییر زمان و دمای اتصال یا حتی توالی آغازگر) تا جایی که کارآیی مناسب برای نمونه‌های اصلی حاصل شود.

۳- ۷ – ۷- ارزیابی اختصاصی بودن آغازگرها

به منظور تأیید اختصاصی بودن آغازگرها از تجزیه منحنی‌های ذوب[2] استفاده شد. منحنی ذوب با اندازه‌گیری تغییرات فلورسنت در دماهای مختلف به دست می‌آید. یکی از مزایای ویژهٔ Real-Time PCR توانایی ترسیم منحنی ذوب است. در نقطه ذوب، ۵۰ درصد از پیوندهای هیدروژنی در DNAهای دورشته‌ای از هم جدا می‌شوند و میزان فلورسانس به طور ناگهانی تغییر می‌یابد. دمای ذوب مولکول DNA یک عامل ویژه است و به عوامل مختلفی از جمله تعداد نوکلئوتید (هر چه بیشتر باشد دمای ذوب بیشتر است)، درصد GC (هر چه بیشتر باشد دمای ذوب بیشتر است) و میزان نمک بستگی دارد. ترسیم منحنی ذوب پس از اتمام فرآیند PCR توسط نرم‌افزار موجود بر روی دستگاه انجام می‌شود. برای رسم منحنی، دستگاه دمای نمونه‌ها را در فواصل زمانی مشخص (مثلاً هر پنج ثانیه) به مقدار معین (مثلاً ۰/۵ درجه) کاهش می‌دهد و در این دمای جدید، پنج ثانیه ثابت می‌ماند و همزمان منحنی تغییرات فلورسنت بر

[1]Efficiency
[2]Melt curve analysis

حسب دما را که همان منحنی ذوب است ترسیم می‌کند. نرم‌افزار تغییرات فلورسنت را روی محور Y و دمای دستگاه را روی محور X نشان می‌دهد.

۳ – ۷ – ۸- تجزیه داده‌های Real-Time PCR

به منظور تجزیه داده‌های Real-Time PCR، بیان نسبی هر ژن بر اساس روش منحنی استاندارد نسبی[1] بر پایهٔ فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (لیواک و اشمیتگن، ۲۰۰۱) و نرم‌افزار محاسباتی با کمک صفحات Excel 2007 و برنامه REST طراحی شد. که مطابق آن میزان ژن (cDNA حاصل از رونوشت) برابر با دو به توان منفی تفاوت آستانه سیکل ژن هدف تحت تنش و ژن مرجع متناظر آن منهای تفاوت میانگین‌های آستانه سیکل ژن هدف بدون تنش و ژن مرجع متناظر آن است. پایهٔ دو به سبب دو برابر شدن میزان cDNA در هر چرخهٔ PCR است.

[1]Relative standard curve method

فصل چهارم

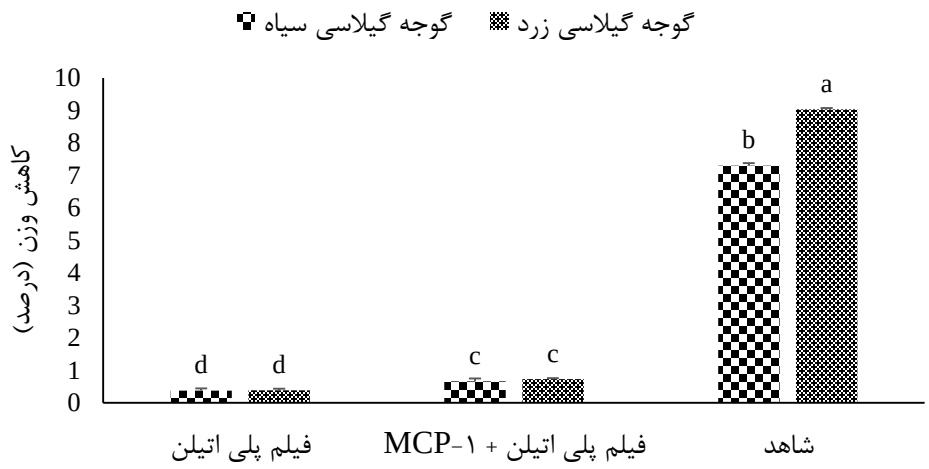
نتایج و بحث

۴ – نتایج و بحث

۴-۱- نتایج فیزیولوژیکی

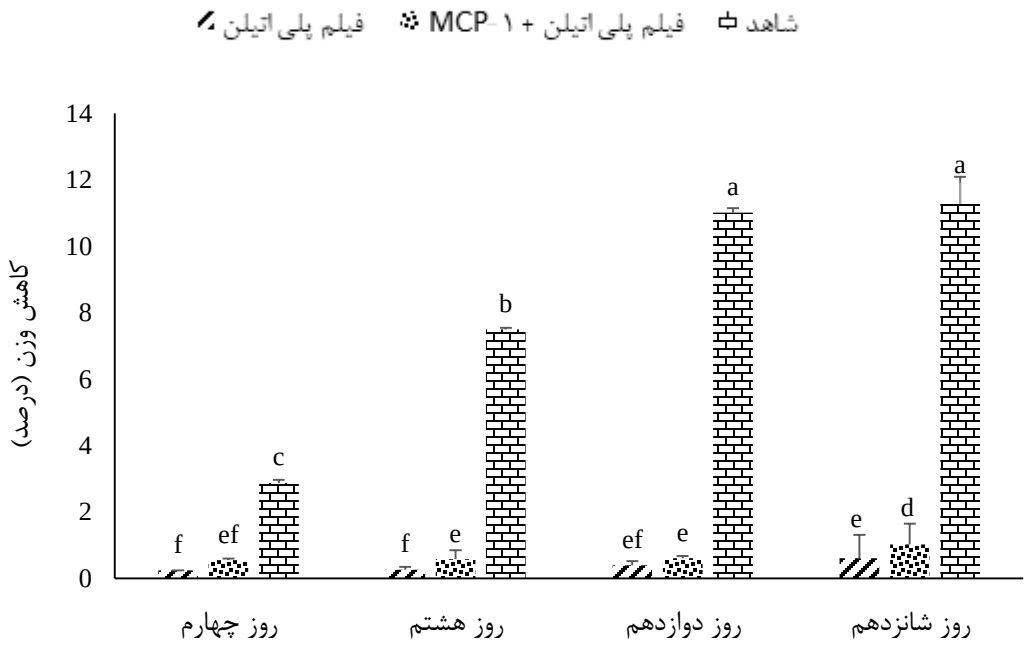
۴-۱-۱- درصد کاهش وزن

بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در اندازه‌گیری درصد کاهش وزن نشان داد که اثر لاین، تیمار، زمان، لاین در تیمار، تیمار در زمان بر درصد کاهش وزن در سطح یک درصد و اثر لاین در تیمار در زمان در سطح پنج درصد معنی‌دار شد و اثر متقابل لاین در زمان معنی‌دار نشد (جدول پیوست۱). مقایسه میانگین اثر لاین در تیمار نشان داد بین تیمارهای مختلف بر درصد کاهش وزن اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همانطور که قابل انتظار بود در تیمار شاهد هر دو نوع گوجه‌گیلاسی بیشترین میزان کاهش وزن دیده شد که بیشترین میزان کاهش وزن در گوجه گیلاسی زرد و تیمار شاهد به میزان ۹/۰۳۵۶ درصد بود. که دلیل این تفاوت احتمالا به دلیل تفاوت در ضخامت پوست، اندازه میوه و بافت میوه آن‌ها است و نیز بین تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1- MCP و فیلم پلی‌اتیلن در هر دو نوع‌گوجه‌گیلاسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴ – ۱).



شکل ۴ – ۱ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر درصد کاهش وزن (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

مقایسه میانگین اثر تیمار در زمان نشان داد وزن همه نمونه‌ها در طول انبارداری کاهش یافت. با گذشت زمان تفاوت تیمارها از یکدیگر مشخص شد به طوری که در پایان نمونه‌برداری اثرگذاری تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1- MCP و فیلم پلی‌اتیلن نسبت به شاهد مشخص گردید. بیشترین کاهش وزن متعلق به تیمار شاهد در روز ۱۶ به میزان ۱۱/۲۷۱۳ درصد بود. لازم به ذکر است تیمار فیلم پلی‌اتیلن و فیلم پلی‌اتیلن با 1- MCP در جلوگیری از افت وزن اختلاف معنی‌دار نشان نداد (شکل۴ – ۲).



شکل ۴ – ۲ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر درصد کاهش وزن (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

چنین به نظر می‌رسد که استفاده از فیلم با نفوذپذیری مناسب به خوبی می‌تواند کاهش وزن را کنترل کرده و مانع از کم شدن وزن شود. از دست دادن رطوبت اصلی‌ترین علت کاهش وزن میوه طی انبارداری است که باعث چروکیدگی و کاهش بازارپسندی میوه شده و خسارت‌های اقتصادی فراوانی ایجاد می‌کند. از دیگر

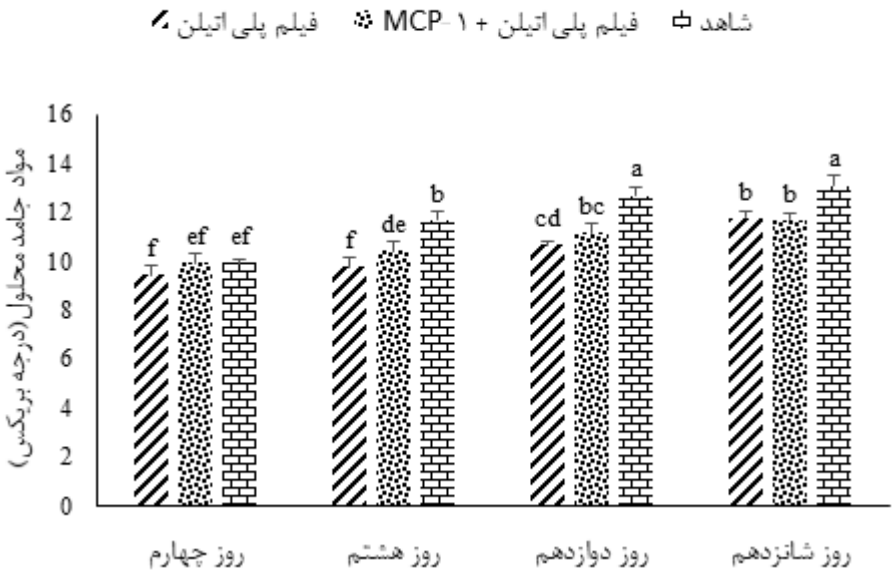
دلایل افت وزن، تنفس میوه و سوختن مواد آلی از جمله قندهاست (ویلس و همکاران[1]، ۱۹۹۸). میزان آب در میوه گوجه‌فرنگی در هنگام برداشت ۹۴ الی ۹۵ درصد است اما بعد از برداشت مقدار آب آن به تدریج کاهش می‌یابد. مکانیسم اولیه اتلاف رطوبت از میوه‌های تازه از طریق انتشار بخار به سبب شیب فشار بخار آب بین داخل و خارج میوه صورت می‌گیرد. دما و رطوبت نسبی محیط نیز ویژگی‌های مهمی هستند زیرا نیروهای لازم را برای اتلاف رطوبت به صورت اختلاف فشار بخار آب بین میوه و اتمسفر ایجاد می‌کنند. تنفس میوه نیز سبب اتلاف وزن می‌شود زیرا قندها را تجزیه می‌کند. از سوی دیگر فیلم‌های بسته‌بندی با افزایش رطوبت نسبی محیط اطراف محصول و همچنین کاهش سرعت جریان هوا در سطح محصول و تشکیل یک لایه ساکن در اطراف آن سبب کاهش اختلاف فشار بخار موجود بین محیط اطراف آن و بافت محصول و به دنبال آن کاهش تبخیر و از دست رفتن آب و کاهش وزن می‌شوند (تامپسون[2] و همکاران، ۱۹۷۲). نتایج تحقیقات طباطبایی کلور[3](۱۳۹۵) روی گوجه‌فرنگی با فیلم پلی‌پروپیلن، سامی و مسعود (۲۰۰۷) در گوجه-فرنگی‌های بسته‌بندی شده با پوشش پلیمری و ویس[4] و همکارن (۲۰۰۲) با استفاده از 1- MCP در سیب قرمز لبنانی در راستا با نتایج این پژوهش است. طبیعت نفوذپذیری مواد بسته‌بندی رطوبت نسبی درون بسته‌ها را تغییر می‌دهد که منجر به کاهش اتلاف رطوبت و میزان تنفس محصول می‌شود. کاهش میزان تنفس سبب پایین آمدن درصد کاهش وزن محصول می‌شود (کادر[5] و همکاران، ۲۰۰۰).

۴-۱-۲- مواد جامد محلول (TSS)

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر تیمار، زمان و تیمار در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر لاین، لاین در تیمار، لاین در زمان و اثر سه گانه لاین در تیمار در زمان معنی‌دار نشد

[1] Wills
[2] Thompson
[3] Tabatabaekolor
[4] Weis
[5] Kader

(جدول پیوست ۱). بررسی نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار در زمان نشان داد با افزایش زمان انبارداری، TSS گوجه‌فرنگی‌های تیمارهای مختلف افزایش داشت ولی مقایسه تیمارهای مختلف نشان داد که در کل افزایش TSS در شاهد بیشتر از هر دو تیمار فیلم پلی‌اتیلن و فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP بوده است. طوری که بیشترین TSS مربوط به شاهد در روز ۱۶ و با مقدار میانگین ۱۳/۸۳۳ بود و نیز بین تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن و فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP، تیمار فیلم پلی‌اتیلن بر حفظ مواد جامد محلول و تاخیر در رسیدن محصول تاثیرگذارتر است اما در روز ۱۶ اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نشد (شکل ۴ – ۳).



شکل ۴ – ۳ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر مواد جامد محلول گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

بسیاری از پژوهشگران به افزایش مواد جامد محلول در طول دوره نگهداری اشاره نموده‌اند. افزایش TSS در طول انبارداری فقط به افزوده شدن قند مربوط نیست، بلکه افزایش و کاهش مواد دیگری مانند

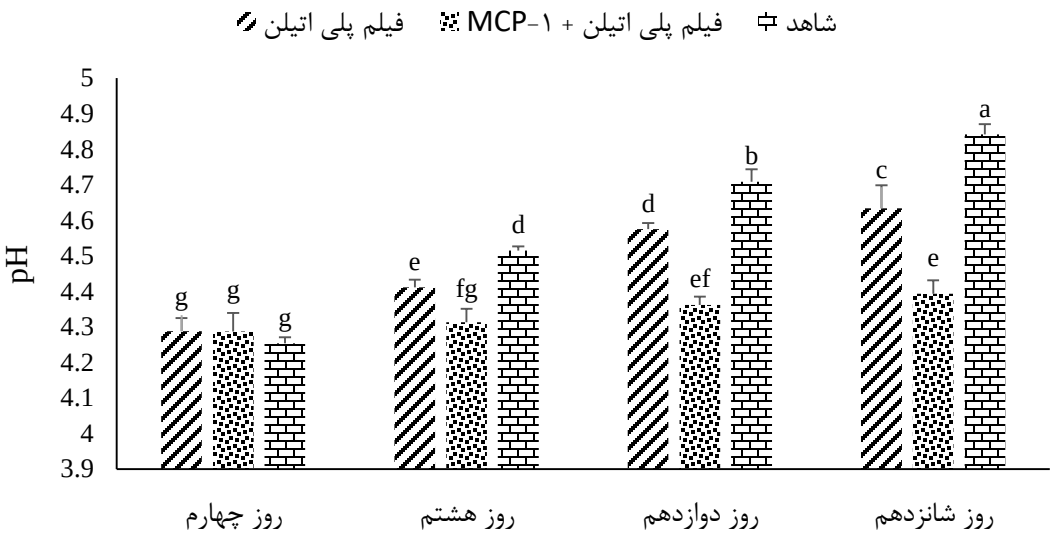
اسیدها، پکتین‌های محلول و ترکیبات فنلی هم در این موضوع نقش دارد (قاسم زاده و همکاران[1]، ۲۰۱۱). کلارک و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که پوشش‌های بسته‌بندی بر حفظ مواد جامد محلول و تاخیر در رسیدن محصول تاثیر گذار است. همچنین تغییرات کمتر TSS و TA میوه‌هایی که در داخل پوشش قرار داشتند، می‌تواند به دلیل از دست دادن آب کمتر میوه‌ها باشد (عشورنژاد، ۱۳۹۱). محققان گزارش کرده‌اند که مقدار TSS در میوه‌های سیب بدون پوشش که در زمان انبارداری آب بیشتری را از دست داده‌اند، افزایش یافته که این موضوع می‌تواند به دلیل فعالیت تنفسی شدیدتر و مصرف بیشتر اسید در میوه‌های بدون پوشش باشد (آنزوتل[2]، ۱۹۸۵). افزایش TSS با توسعه فعالیت آنزیم پلی‌گالاکتروناز و انحلال پکتین موجود در بافت گوجه‌فرنگی همراه است. نتایج حاصل از پژوهش مهرزاد و همکاران (۱۳۹۳) در گوجه‌فرنگی با تیمار 1-MCP نیز نشان داد، بریکس نمونه‌های گوجه‌فرنگی تیمارهای مختلف به شکل معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش ناشی از تاخیر ایجاد شده در پیشرفت روند رسیدگی است که به دنبال بلوکه شدن گیرنده‌های اتیلن در نمونه‌های گوجه‌فرنگی ایجاد شده است (مستوفی[3] و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین مطالعات گوئیلن و همکاران[4] (۲۰۰۷) در گوجه‌فرنگی رقم "راف" که تحت تاثیر تیمار 1-MCP قرار گرفتند نشان داد که افزایش درصد مواد جامد محلول به تاخیر افتاده و سفتی بافت گوجه‌فرنگی‌ها و رنگ سبز آن‌ها به مدت بیشتری حفظ گردید.

pH -۳-۱-۴

تجزیه واریانس داده‌های مورد بررسی نشانگر آن است که اثر لاین، تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، اما اثر متقابل لاین در تیمار، لاین در زمان و اثر سه‌گانه لاین در تیمار در زمان معنی‌دار نشد (جدول پیوست ۱). اثر متقابل تیمار در زمان نشان داد که در تمام تیمارها

[1] Ghasemnezhad
[2] Anzueto
[3] Mostofi
[4] Guillén

از روز چهارم تا روز ۱۶، pH روند رو به افزایش داشته است. طوری که بیشترین pH مربوط به شاهد در روز ۱۶ بود (۴/۸۴۱۶۷) و در کلیه زمان‌های نگهداری بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در نمونه‌های بسته‌بندی شده نیز افزایش pH در مقایسه با تیمار شاهد کندتر صورت گرفت همچنین در پایان نمونه‌برداری اثرگذاری بهتر تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP نسبت به سایر تیمارها در جلوگیری از افزایش pH مشخص شد (شکل ۴ – ۴).



شکل ۴ – ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر pH گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

اثر مدت زمان نگهداری نشان داد که مقدار pH با افزایش دوره نگهداری میوه‌ها افزایش داشته است. این نتایج با نتایج به دست آمده از پژوهش های رنجبر و همکاران (۲۰۱۱) در خصوص افزایش pH درمیوه گیلاس با افزایش مدت نگهداری مطابقت داشت. ویلس معتقد است که تغییرات pH عصاره میوه در زمان

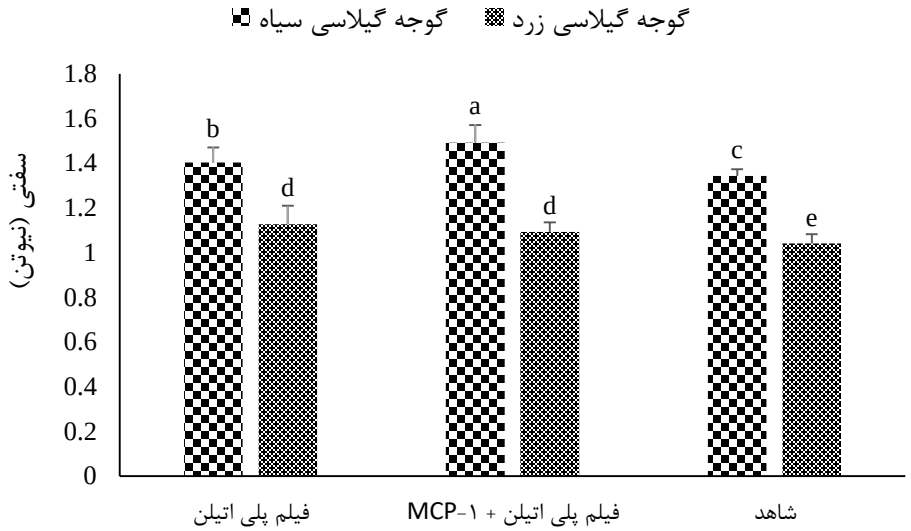
رسیدن بیشتر ناشی از نشت اسیدهای آلی از واکوئل‌ها به سیتوپلاسم سلولی است (ویلس[1] و همکاران، ۱۹۹۸). در هنگام رسیدگی و بلوغ میوه، مقدار اسیدهای آلی در میوه معمولا کاهش می‌یابد. از آنجایی که اسیدهای آلی به عنوان منبع انرژی هستند، کاهش تدریجی آن‌ها در طی رسیدن میوه را می‌توان به علت مصرف آن‌ها در هنگام تنفس توجیه نمود (سردابی، ۱۳۹۲). مهرزاد و همکاران (۱۳۹۲) بیان کردند با افزایش زمان نگهداری، اسیدیته گوجه‌فرنگی‌های تیمارهای مختلف افزایش داشت. اما اثر 1-MCP بر تغییرات اسیدیته گوجه‌فرنگی‌ها معنی‌دار بود. همچنین قادری و همکاران (۱۳۸۹) نتایج خود را در اثرگذاری 1-MCP بر میزان pH اینگونه بیان داشتند که با افزایش غلظت محلول‌های تیمار، اسیدیته نمونه‌های گوجه‌فرنگی کاهش می‌یابد. که این امر را می‌توان ناشی از تاخیر ایجاد شده در روند رسیدگی میوه دانست. زیرا در طی دوره رسیدن گوجه‌فرنگی و خصوصاً تا اواسط این دوره، تولید اسیدآسکوربیک و گلوتامیک با افزایش معنی‌داری مواجه شد اما در زمان تکامل مراحل رسیدگی و قرمز شدن رنگ گوجه‌فرنگی، بخشی از محتوای اسیدسیتریک کاسته شد، به این ترتیب مجموع این تغییرات به کاهش محدودتر اسیدیته گوجه-فرنگی در انتهای هفته چهارم منتهی می‌شود. میزان اسیدیته در طول مدت انبارداری کاهش می‌یابد و این کاهش در نمونه‌های بسته‌بندی شده در اتمسفر اصلاح شده در مقایسه با تیمار شاهد کندتر صورت گرفت (ناخاسی[2] و همکاران، ۱۹۹۱).

۴-۱-۴ سفتی بافت میوه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر لاین، تیمار، زمان و کلیه اثرات متقابل بر میزان سفتی بافت درسطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر لاین در تیمار نشان داد که بین تیمارهای مختلف بر میزان سفتی بافت اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بیشترین میزان کاهش

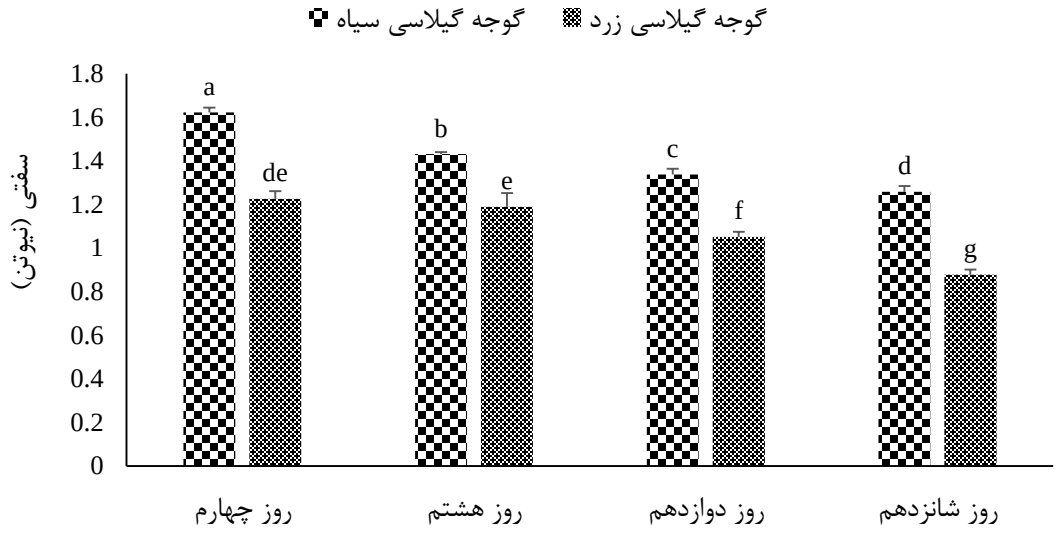
[1] Wills
[2] Nakhasi

سفتی بافت در گوجه گیلاسی زرد و تیمار شاهد مشاهده شد (۱/۰۴۰۸۳ درصد) و نیز تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP بهتر از سایر تیمارها در گوجه گیلاسی سیاه توانست سفتی میوه را حفظ کند، همچنین بین تیمار فیلم پلی‌اتیلن و فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP در حفظ سفتی بافت در گوجه گیلاسی زرد تفاوت معنی-داری مشاهده نشد (شکل ۴ - ۵).



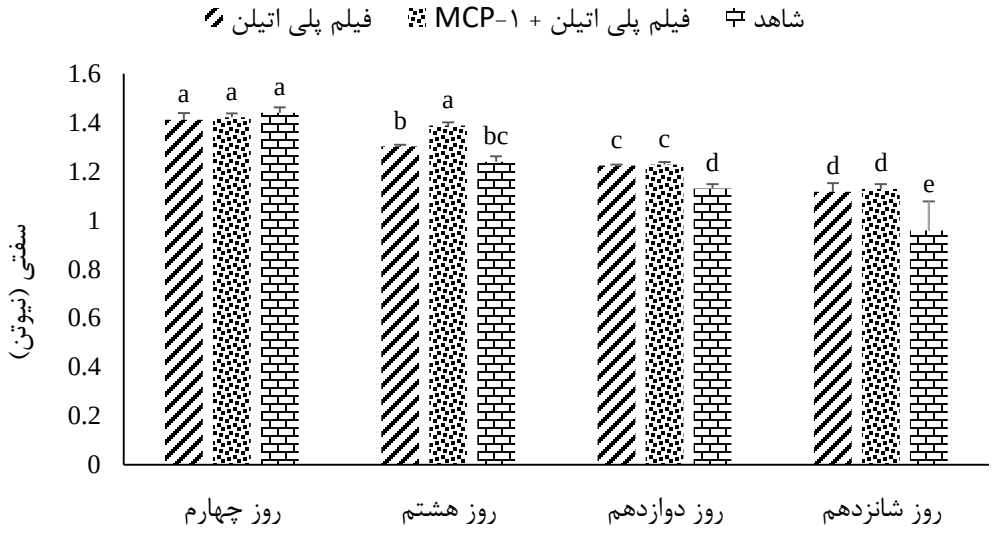
شکل ۴ – ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر سفتی گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

بررسی نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل لاین در زمان بر میزان سفتی بافت بیانگر این است که با افزایش مدت زمان نگهداری از روز چهارم تا روز ۱۶ در هر دو نوع گوجه‌گیلاسی روند رو به کاهش داشته است که این کاهش سفتی در گوجه گیلاسی زرد بیشتر از گوجه گیلاسی سیاه بوده است (۰/۸۷۷۷۸) (شکل ۴ – ۶).



شکل ۴ – ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در زمان بر سفتی گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین اثر تیمار در زمان نشان داد که در همه تیمارها از روز چهارم تا روز ۱۶، سفتی روند رو به کاهش داشت، مقایسه تیمارهای مختلف نیز نشان داد اعمال تیمارها نسبت به شاهد در جلوگیری از کاهش سفتی موثر بوده است طوری که کمترین میزان سفتی مربوط به شاهد در روز ۱۶ و با مقدار میانگین ۰/۹۵۸۳۳ بود و نیز در کلیه زمان‌های نگهداری به جز روز هشتم بین تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن و فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴ – ۷).



شکل ۴ – ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر سفتی گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

کاهش تنفس در از دست دادن رطوبت گوجه‌فرنگی در حفظ سفتی بافت در طول دوره انبارمانی نقش دارند. استفاده از پوشش و دمای مناسب در رسیدن به این هدف موثر است (پارک[1] و همکاران، ۱۹۹۴). پلی‌گالاکتروناز و پکتیناز تارس آنزیم‌های مهمی هستند که در نرم کردن بافت گوجه‌فرنگی به وسیله حل کردن اسید پلی‌گالاکترونیک در بخش پکتین دیواره سلولی در طول مدت رسیدن محصول درگیر می‌شوند (تمن[2] و همکاران، ۱۹۸۲). در مرحله بلوغ گوجه‌فرنگی، فعالیت پلی‌گالاکتروناز به طور تصاعدی افزایش یافته در حالی که سفتی بافت کاهش می‌یابد که این روند تصاعدی تنها در واکنش به اتیلن اتفاق می‌افتد (گریسون[3] و همکاران، ۱۹۸۳). هر عاملی که سبب تاخیر در فعال شدن این آنزیم‌ها شود به حفظ بهتر سفتی بافت منجر می‌شود. در این پژوهش می‌توان گفت با کاربرد 1-MCP می‌توان روند رسیدن را کند نمود و همچنین با استفاده از پوشش بسته‌بندی مناسب تعرق و از دست دهی آب را به حداقل رساند و مانع

[1] Park
[2] Themmen
[3] Grierson

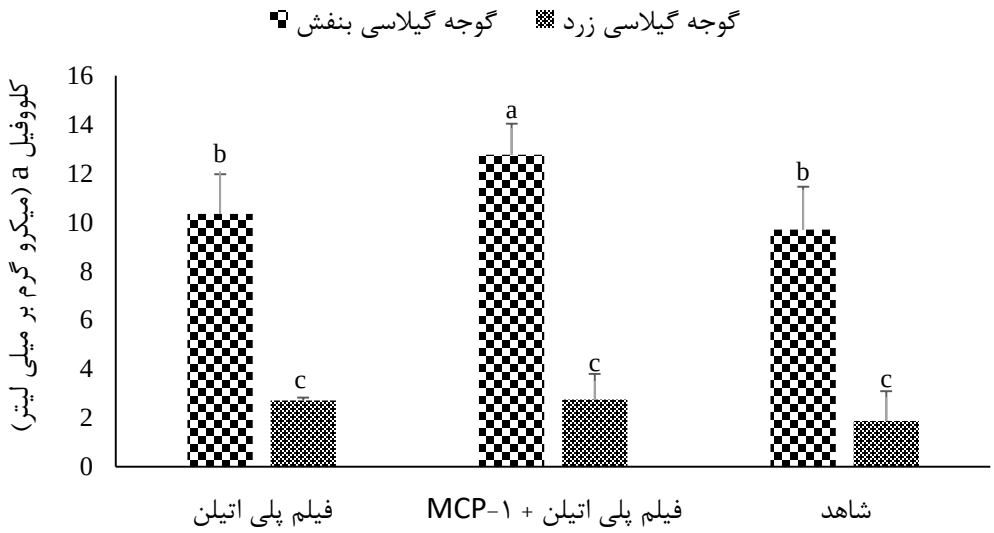
چروکیدگی میوه‌ها شد. در پژوهش شواخی و همکاران (۱۳۹۴) در کاربرد 1-MCP در پس از برداشت سیب (زرد و قرمز لبنانی) به این نتیجه رسیدند که سفتی بافت در هر دو واریته و با افزایش زمان نگهداری، کاهش یافت اما تیمار با 1-MCP اثر قابل توجهی در جلوگیری از کاهش سفتی بافت نسبت به شاهد داشت. پژوهش‌های پیشین نیز تاثیر 1-MCP در جلوگیری از کاهش سفتی بافت را تایید می‌کنند (دل[1]، ۲۰۰۲؛ موران[2]، ۲۰۰۵؛ تاتسوکی[3]، ۲۰۰۷؛ جزورک[4]، ۲۰۱۰؛ ویدری[5]، ۲۰۱۱). تفتی و همکاران (۱۳۸۳) نیز نتایج پژوهش خود بر روی سه رقم پرتقال (والنسیا، مارس ارلی و محلی جیرفت) را اینگونه بیان داشتند که پوشش پلی‌اتیلن، کاهش وزن میوه را به‌خوبی کنترل کرد و سفتی و تازگی میوه را در همه تیمارها و در هر سه لاین حفظ نمود که این نتایج با گزارش شاه بیک مطابقت دارد (شاه بیک، ۱۳۸۱). با این حال، توجه به این نکته ضروری است که در هفته چهارم دوره نگهداری نرم شدن بافت میوه‌ها در کلیه تیمارها قابل توجه است و آسیب‌های فیزیکی ناشی از این نرم شدگی بافت باید مدنظر قرار گیرد.

۴-۱-۵- میزان کلروفیل

در بخش اندازه‌گیری صفات مربوط به کلروفیل (کلروفیل a، b و کل) فقط به منظور مقایسه تغییرات روند این صفات از زمان‌های اول (روز چهارم) و آخر (روز ۱۶) استفاده شد و زمان‌های وسط (روز هشتم و ۱۲) حذف گردید. نتایج آنالیز واریانس داده‌ها در اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a نشان داد که اثر لاین، تیمار و اثر متقابل لاین در تیمار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد همچنین میزان کلروفیل b نشان داد که اثر لاین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. کلروفیل کل نیز نشان داد اثر لاین، تیمار و اثر متقابل لاین در تیمار در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل تیمار در زمان در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار

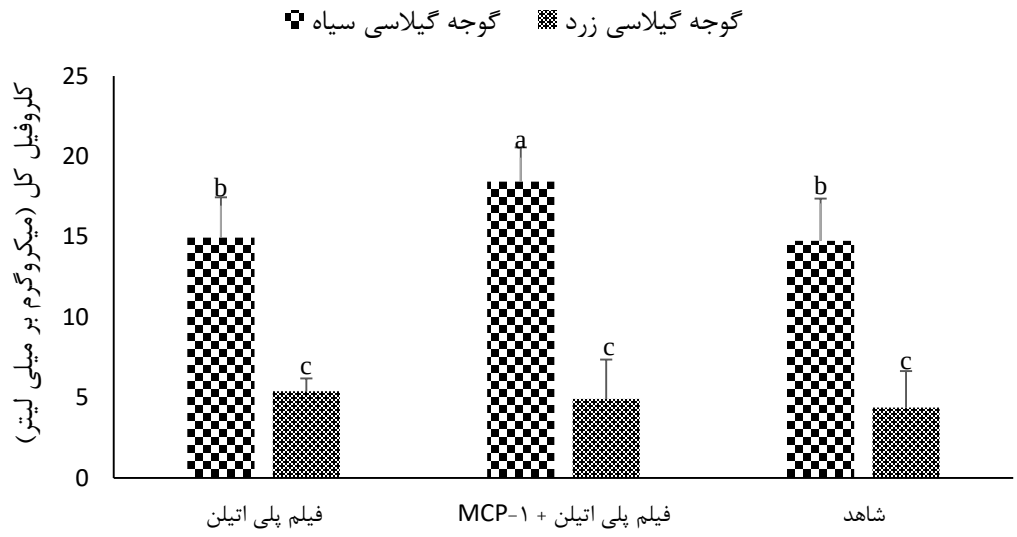
[1] DeEll
[2] Moran
[3] Tatsuki
[4] Jeziorek
[5] Vidrih

شد (جدول پیوست ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل لاین در تیمار بر کلروفیل a نشان داد که تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP در لاین گوجه‌گیلاسی سیاه نسبت به دو تیمار شاهد و فیلم پلی‌اتیلن بهتر توانست کلروفیل را حفظ نماید (شکل ۴ – ۸).



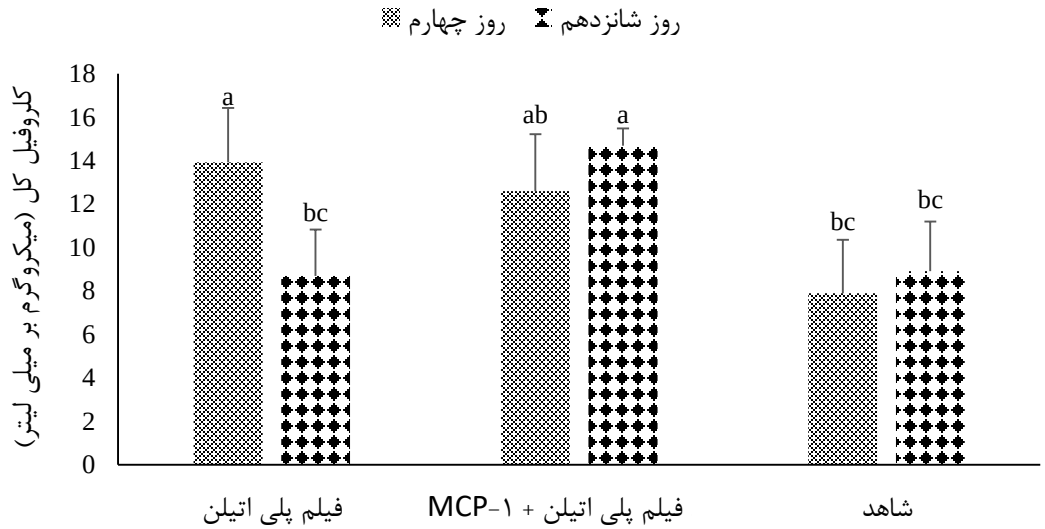
شکل ۴ – ۸ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر میزان کلروفیل a گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

مقایسه میانگین اثر متقابل لاین در تیمار بر کلروفیل کل نشان داد که تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP در لاین گوجه‌گیلاسی سیاه نسبت به دو تیمار شاهد و فیلم پلی‌اتیلن بهتر توانست کلروفیل را حفظ نماید (شکل ۴ – ۹).



شکل ۴ – ۹ - مقایسه میانگین اثرات متقابل لاین در تیمار بر میزان کلروفیل کل گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار در زمان بر کلروفیل کل نشان داد که تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP در زمان شانزدهم نسبت به دو تیمار شاهد و فیلم پلی‌اتیلن بهتر توانست کلروفیل را حفظ نماید (شکل ۴ – ۱۰).



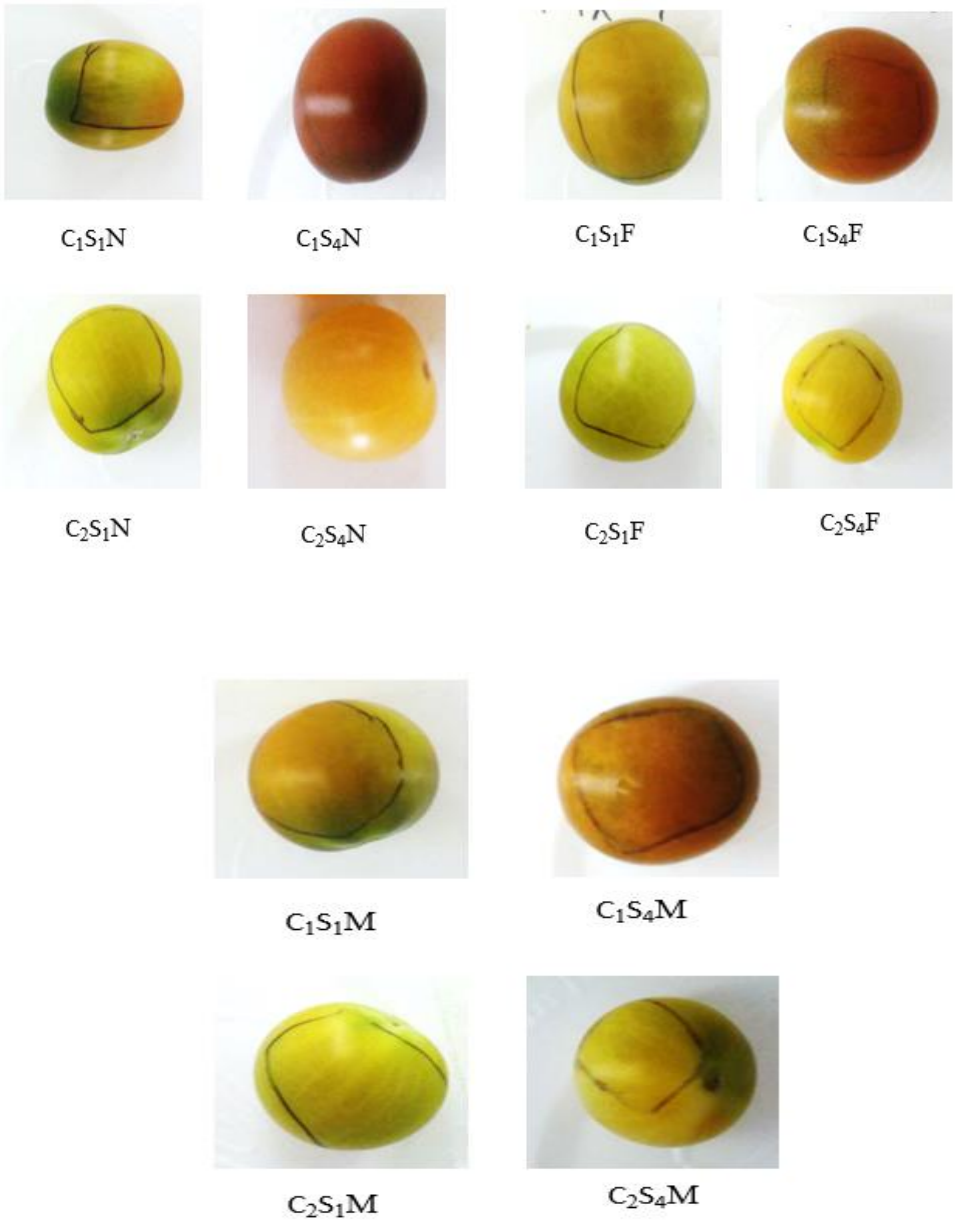
شکل ۴ – ۱۰ - مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار در زمان بر میزان کلروفیل کل گوجه‌گیلاسی (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SD می‌باشد)

همسو با نتایج این آزمایش در مطالعه‌ای که بر روی گل‌های شاخه بریدنی میخک خوشه‌ای، تیمار 1-MCP، تولید اتیلن را کاهش و متعاقب آن تخریب کلروفیل را در مقایسه با گیاهان شاهد به تاخیر انداخت (آسیل[1] و همکاران، ۲۰۱۳). به نظر می‌رسد تیمار 1-MCP و فیلم بسته‌بندی با کاهش فعالیت‌های بیولوژیکی و آنزیمی گیاه از فعالیت کلروفیلاز و تجزیه کلروفیل جلوگیری کرده و باعث حفظ بهینه کلروفیل در نمونه‌ها شدند. مورتی و همکاران[2] (۲۰۰۳) نتیجه‌گیری نمودند در کلم‌هایی که تحت تاثیر اتمسفر تعدیل یافته فعال قرار گرفته‌اند اگرچه میزان کلروفیل کاهش داشته است ولی این میزان ۴۵ درصد کمتر از تیمار شاهد است. همچنین 1-MCP از شروع زرد برگی در داوودی و شمعدانی رقم ایزبل ممانعت نمود (سرک و همکاران[3]، ۱۹۹۸) ماسولو و همکاران[4] (۲۰۱۱) بیان نمودند که کاربرد 1-MCP موجب حفظ محتوای کلروفیل و به

[1] Asil
[2] Moretti
[3] Serek
[4] Massolo

تاخیر افتادن فرآیند تجزیه کلروفیل و در نتجه سبزتر ماندن کاسبرگ میوه نافرازگرای بادمجان به مدت طولانی‌تری نسبت به شاهد می‌شود. در پژوهش دیگری بر روی لیمو مشخص گردید که1-MCP با به تاخیر انداختن فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز و پراکسیدازهای تجزیه کننده کلروفیل پوست موجب حفظ سبزی پوست میوه می‌گردد (وین و همکاران[1]، ۲۰۰۶). تغییرات در محتوی کلروفیل بیانگر کیفیت خارجی میوه در مدت انبارداری است. بطور کلی، ثابت شده است که منبع اصلی هیدروژن پراکسید در گیاهان آلی از زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی بوده و مکان تولید هیدروژن پراکسید، غشاء تیلاکوئید در کلروپلاست‌ها است. اگر سیستم جمع‌آوری هیدروژن پراکسید در کلروپلاست شکسته شود، آن‌ها ممکن است به گونه‌های فعال اکسیژن منتقل شوند که پراکسیداسیون لیپید را القاء نموده و پیری میوه را تسریع می‌بخشد. همچنین، شکستن کلروفیل معمولاً ابتدا در کلروفیل a رخ می‌دهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تولید اتیلن می‌تواند تجزیه کلروفیل را در میوه تسریع کند و تیمار 1-MCP و بسته‌بندی می‌تواند به صورت موثری تجزیه کلروفیل را به تاخیر بیاندازد.

[1] Win



۴- ۱۱- اثر تیمارهای مختلف بر تغییر رنگ دو لاین گوجه‌گیلاسی

C: نوع لاین: (C_1: گوجه گیلاسی سیاه، C_2: گوجه گیلاسی زرد).

تیمار بسته‌بندی: (F: فیلم پلی‌اتیلن، M: فیلم پلی‌اتیلن همراه 1-MCP، N: شاهد (بدون بسته‌بندی)).

زمان نمونه‌برداری: (S_1: روز چهارم ، S_4: روز ۱۶).

۴-۱-۶- همبستگی

یکی از دلایل همبستگی بین دو صفت می‌تواند به علت قرار گرفتن ژن‌های کنترل کننده آن دو صفت روی یک کروموزوم باشد. در خصوص صفات کیفی همبستگی بین صفات منحصراً به مکان ژنی کنترل کننده آن صفات و ارتباط آن‌ها روی کروموزوم بستگی دارد که این ارتباط می‌تواند بصورت لینکاژ ژن‌ها یا اثر متقابل غیر آللی (اپیستازی) و یا ترکیبی از این حالات جلوه کند. درمورد صفات کمی علاوه بر ژن‌های کنترل کننده صفت، پارامترهای مختلف از جمله عوامل اقلیمی می‌تواند موجب همبستگی بین صفات شود. وجود همبستگی بین زوج صفات، در کارهای اصلاحی بخصوص در امر گزینش بر اساس تعدادی از صفات بسیار ضروری می‌باشد. بنابراین از روش‌های انتخاب غیر مستقیم نیز در جهت بهبود صفات می‌توان بهره برد. در حقیقت به کمک روش‌های اصلاح کلاسیک و تلاقی بین برخی از این گونه‌ها که قابل تلاقی می‌باشند می‌توان این صفات را در ارقام زراعی بهبود بخشید. نتایج حاصل از جدول همبستگی صفات نشان داد که بین درصد کاهش وزن، pH و مواد جامد محلول همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد اما بین درصد کاهش وزن و سفتی همبستگی منفی و معنی‌دار وجود دارد همچنین بین درصدکاهش وزن و کلروفیل a، b و کل همبستگی معنی‌داری وجود ندارد. در مورد رابطه بین pH و مواد جامد محلول نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد و با سفتی همبستگی منفی و معنی‌داری وجود دارد ولی بین pH و کلروفیل a، b و کل همبستگی معنی‌داری وجود ندارد. بین سفتی، کلروفیل a و کل نیز همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد. بین کلروفیل a، b و کل نیز با هم همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد. که این نتیجه با نتایج تحقیقات قبلی که عنوان کردند همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری بین کلروفیل a و b و کلروفیل کل وجود دارد همخوانی داشت (انفراد و همکاران، ۲۰۰۴) (جدول پیوست ۹).

۴-۲- نتایج بیان ژن

با توجه به نتایج آزمایشات فیزیولوژی یکی از لاین‌های حساس (گوجه‌گیلاسی زرد) برای بررسی بیان ژن و آنالیز پروفایل ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز اتیلن در شرایط تیماری مختلف انتخاب شد.

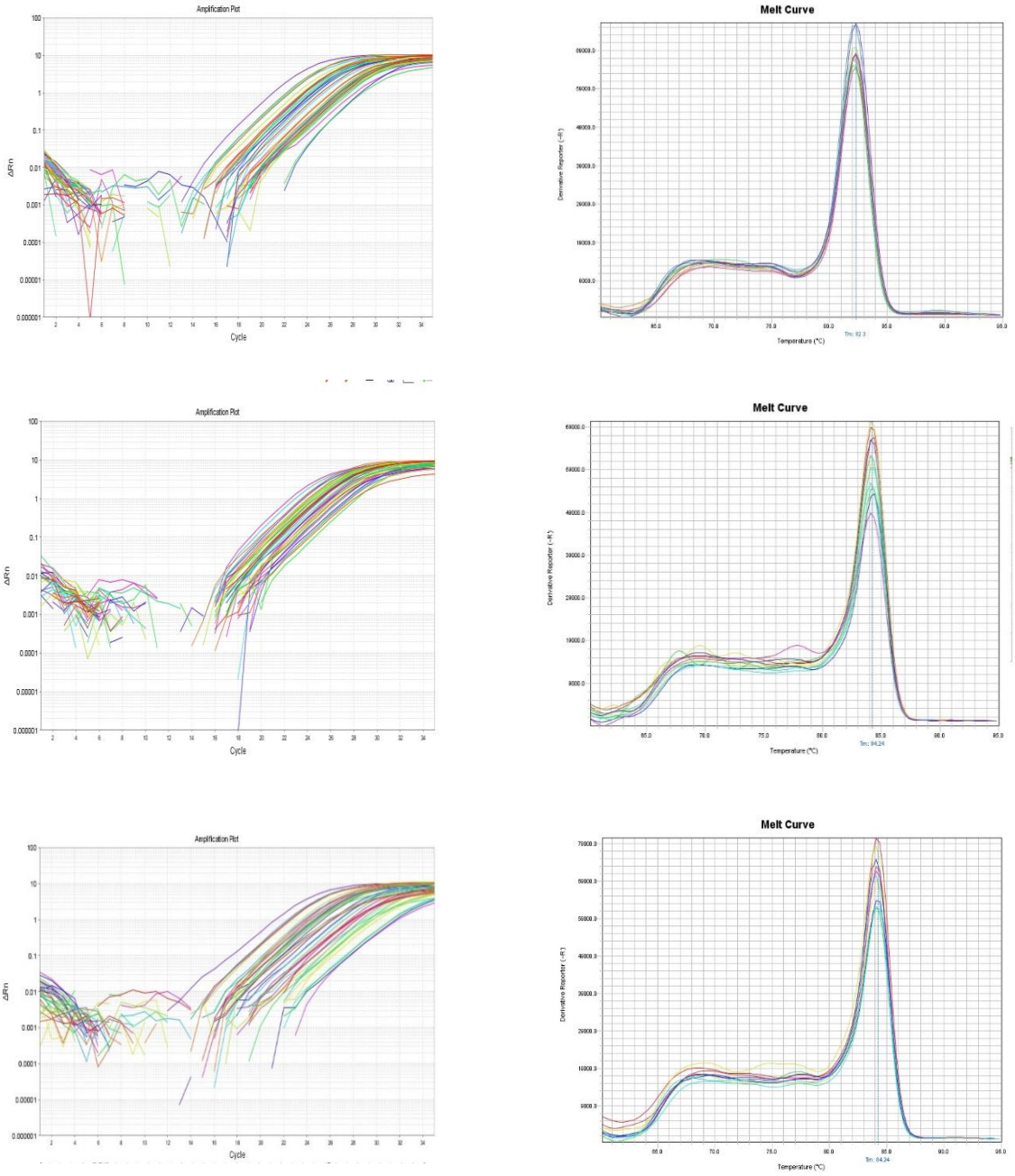
۴ – ۲ –۱- تغییرات سطوح بیان ژن ACO1

به منظور اطمینان از تکثیر اختصاصی آغازگرها از آنالیز منحنی ذوب و تکثیر استفاده شد (شکل ۴-۱۲) (منحنی ذوب سمت چپ و منحنی تکثیر سمت راست). نتایج تحقیق انجام شده نشان داد (شکل ۴ - ۱۳) که بیان ژن مذکور در شاهد و در زمان‌های مختلف بعد از انبارداری کاهش یافت، به‌طوریکه بیشتر میزان بیان ژن مذکور در اولین مرحله بعد از انبارداری مشاهده شد. در تمامی مراحل نمونه برداری تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن بیان این ژن را به مقدار زیادی کاهش دادند. کارایی 1-MCP بواسطه کولتیوار، شرایط نگهداری، دما و مدت تیمار، رسیدگی میوه و زمان برداشت تحت تاثیر قرار می‌گیرد (بلنکنشیپ[1] و دوئل، ۲۰۰۳). اتیلن نقش مهمی در تنظیم رسیدگی میوه و پیری بازی کرده و به صورت مستقیم کیفیت خوراکی شامل ظاهر، رنگ، بافت و مزه سیب‌های تازه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (یانگ و همکاران، ۲۰۱۳). ژن‌های رمزگذار ۱- آمینوسیکلوپروپان-کربوکسیلاز (ACC) سنتاز (ACS) و ACCاکسیداز (ACO)، دو آنزیم کلیدی کاتالیز کننده مراحل آخر مسیر بیوسنتز اتیلن هستند، اهداف اولیه مطالعات رسیدگی میوه و دست ورزی در گوجه‌فرنگی و گونه‌های دیگر هستند (گیوانونی[2]، ۲۰۰۴؛ تولوگیس، ۱۹۹۴). بازدارنده بسیار قوی فعالیت اتیلن، (1-MCP) به گیرنده‌های اتیلن قوی‌تر از اتیلن متصل شده و مانع فعالیت فیزیولوژیکی اتیلن می‌شود. کاربرد 1-MCP نگهداری تازگی میوه‌های مختلف، سبزیجات و گل‌ها را نشان داده است (بلنکنشیپ و دوئل، ۲۰۰۳). موثر بودن 1-MCP تاحدودی با زمان‌های اواخر

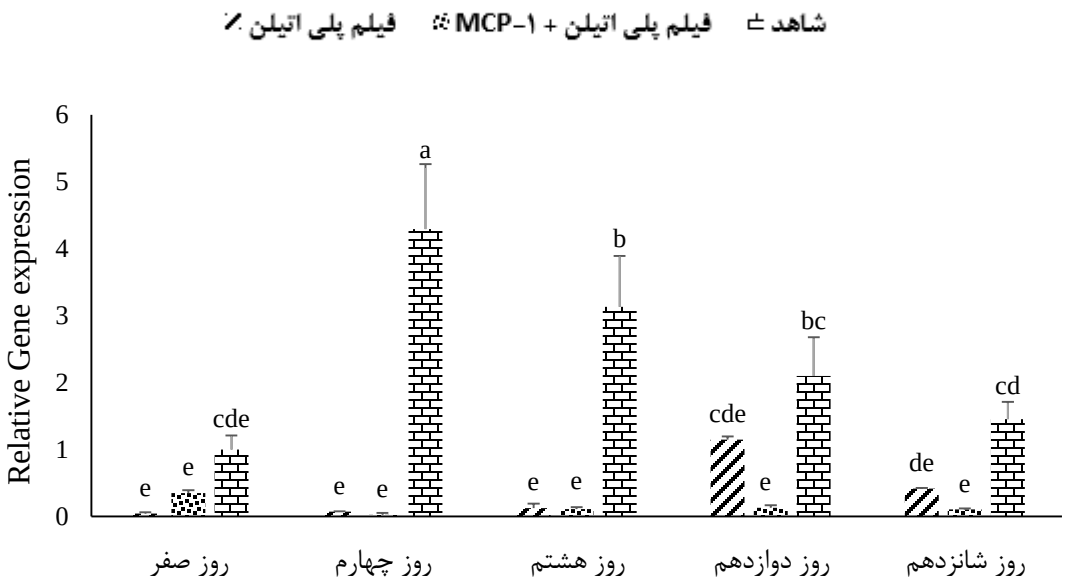
[1]Blankenship
[2] Giovannoni

برداشت کاهش می‌یابد (میر[1] و همکاران، ۲۰۰۱). تولید اتیلن در میوه سیب در زمان تیمار 1-MCP ممکن است کارایی 1-MCP را تحت تاثیر قرار دهد (واتکینز و همکاران، ۲۰۰۱). در تحقیق حاضر، فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن در تمام مراحل نمونه‌برداری تاثیر تقریبا ثابتی بر میزان بیان ژن ACO1 داشتند و با کارایی تقریبا یکسانی بیان ژن را کنترل کردند. در حقیقت تیمار فیلم پلی‌اتیلن تولید اتیلن را از طریق بازدارندگی فعالیت ACC اکسیداز در پوسته و در پالپ مهار می‌کند. ترکیب تیمار 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن منجر به کاهش تولید اتیلن به علت بازدارندگی فعالیت ACC سنتاز و ACC اکسیداز می‌شود. در مطالعه‌ای مشخص شد که تولید اتیلن همبستگی نزدیکی با بیان *ACO1* در گیاه سیب دارد و این موضوع از طریق تولید لاین تراریخت *anti- ACO1* تایید گردید که بازدارندگی بیان *ACO1* منجر به تولید سطوح پایین اتیلن شد (اسچافر[2] و همکاران، ۲۰۰۷). یانگ و همکاران (۲۰۱۳) نیز در مطالعه خود سه ژن ACO را شناسایی نمودند که در میان آنها، بیان ژن ACO1 در مدت رسیدگی میوه افزایش و بیان *ACO3* کاهش یافت، اما بیان ژن ACO2 تغییری نشان نداد. نتایج آن‌ها نشان داد که تیمار 1-MCP تاثیر شدیدی بر تولید و دریافت اتیلن در میوه سیب دارد و بیان ژن ACO1 بوسیله تیمار 1-MCP بطور معنی‌داری مهار شد. واکازا [3] و همکاران (۲۰۰۶) بیان داشتند که بیان *Md ACO1* بوسیله تیمار 1-MCP مهار می‌شود.

[1] Mir
[2] Schaffer
[3] Wakasa



۴- ۱۲- منحنی ذوب و تکثیر در برخی از ژن‌های مطالعه شده در تیمارهای مختلف در این تحقیق



شکل ۴ – ۱۳ – بیان نسبی ژن ACO1 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SE می‌باشد)

۴ – ۲ – ۲- تغییرات سطوح بیان ژن ACO5

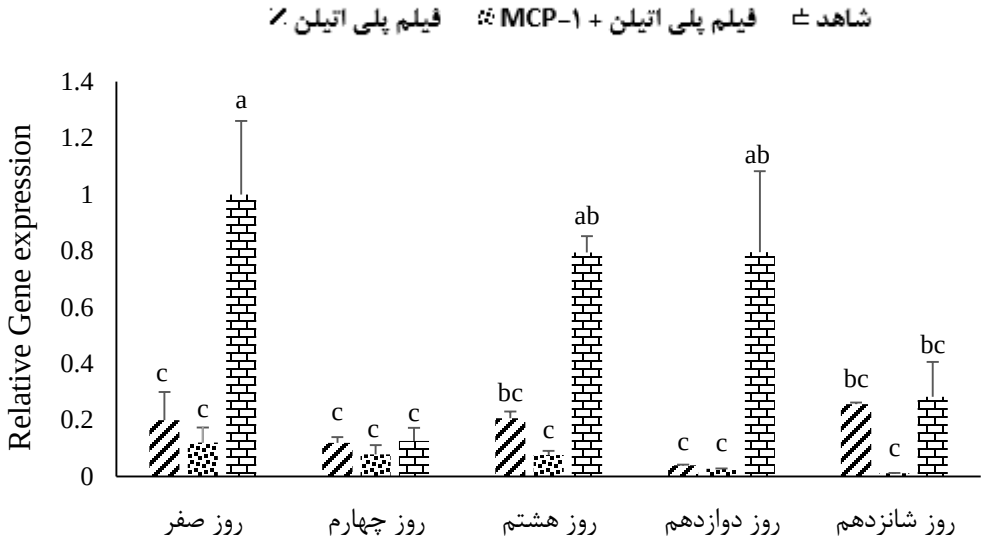
تحقیقات قبلی در میوه گوجه‌فرنگی نشان دادند که حداقل نه زیرخانواده *LeACS* و پنج زیرخانواده *LeACO* در تنظیم سنتز پروتئین ACS و ACO نقش دارند درحالیکه *LeACS2*، *LeASC4*، *LeACO1* و *LeACO4* مسئول ویژه برای تولید زیاد اتیلن هستند (باری و همکاران[1]، ۲۰۰۰؛ کیل و گیوانونی[2]، ۲۰۱۱). نتایج نشان داد که بیان ژن ACO5 بوسیله تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن در مقایسه با شاهد کاهش داشته است (شکل۴ - ۱۴). میزان بیان ژن مذکور در تیمار شاهد و در مراحل مختلف نمونه‌برداری ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت، طوریکه بیشترین میزان بیان ژن مذکور در نمونه‌برداری اول و دوم مشاهده گردید. در مرحله اول نمونه‌برداری میزان بیان این ژن در هر سه تیمار پایین بود. دو

[1] Barry
[2] Klee

سیستم برای تنظیم تولید اتیلن در گیاهان آلی تصور می‌شود. سیستم اول در مدت رشد رویشی طبیعی عمل می‌کند، و مسئول تولید سطوح پایه اتیلن قابل تشخیص در همه بافت‌ها از جمله میوه غیر کلیماتریک است. سیستم دوم مسئول افزایش ناگهانی تولید اتیلن در مدت رسیدگی میوه کلیماتریک است (للیور[1] و همکاران، ۱۹۹۷). می‌توان بیان داشت که ژن ACO5 در سیستم دوم نقش داشته باشد در حالیکه ژن ACO1 در سیستم اول نقش داشته و میزان اتیلن را به صورت مداوم برای گیاه تولید می‌کند. تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن در مرحله اول به تناسب بیان ژن در نمونه شاهد، نتوانسته‌اند میزان بیان ژن ACO5 را مهار کنند. در مراحل دوم تا چهارم نیز تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن تاثیر یکسانی بر روی بیان ژن مذکور داشته‌اند. البته در مرحله دوم نمونه‌برداری که بیان ژن ACO5 در نمونه شاهد افزایش پیدا کرده است، تیمار فیلم پلی‌اتیلن در مقایسه با تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP تاثیر کمتری داشت. در مرحله آخر نمونه‌برداری تیمار فیلم پلی‌اتیلن با توجه به اینکه میزان بیان ژن در نمونه شاهد کمتر از مراحل دوم و سوم شده است، اما این تیمار تاثیر کمتری بر کنترل بیان ژن نشان داد که می‌تواند دلالت بر این موضوع داشته باشد که این تیمار در زمان‌های طولانی پس از برداشت اثر مهارکنندگی خود را از دست می‌دهد. بسته‌بندی (اتمسفر تغییر یافته) غلظت اکسیژن را کاهش و غلظت دی‌اکسیدکربن را افزایش می‌دهد و شروع فعالیت خود کاتالیزوری در تولید اتیلن را مهار می‌کند. در حقیقت در این حالت غلظت‌های پایین اکسیژن ممکن است تشکیل اتیلن را در سطح ACC اکسیداز که نیازمند اکسیژن می‌باشد، کاهش دهد. دی‌اکسیدکربن بالا نیز تولید اتیلن را کاهش می‌دهد. این موضوع احتمالاً بواسطه تاثیرگذاری بر تبدیل ACC به اتیلن از طریق ACC اکسیداز عمل کند. اتمسفر تغییریافته برای میوه موز به صورت قرار دادن میوه در کیسه‌های پلی‌اتیلن حاوی جاذب اتیلن بکار رفت. کتسا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش دادند که موزهای لاین Sucrier که در کیسه‌های پلی‌اتیلن حاوی جاذب اتیلن و تمیز کننده

[1] Lelievre

دی‌اکسیدکربن قرار گرفته بودند، دارای دوره ماندگاری بیش از شش هفته بودند. 1-MCP یک آنتاگونیست قوی از اتیلن در جایگاه‌های اتصال گیرنده، در فاز پس از برداشت استفاده می‌شود (بلیکر و کند[1]، ۲۰۰۰). تحقیقات نشان داده است در کنار جلوگیری از پاسخ‌های وابسته به اتیلن بواسطه اتصال به گیرنده‌های اتیلن، 1-MCP می‌تواند از طریق بازدارندگی بیان ژن برای بیوسنتز اتیلن، تولید آن را متوقف کند (کیبر و همکاران[2]، ۱۹۹۳؛ تاتسوکی و اندو،[3]۲۰۰۶).



شکل ۴ - ۱۴- بیان نسبی ژن ACO5 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SE می‌باشد)

۴ –۲ – ۳ - تغییرات سطوح بیان ژن SAM1

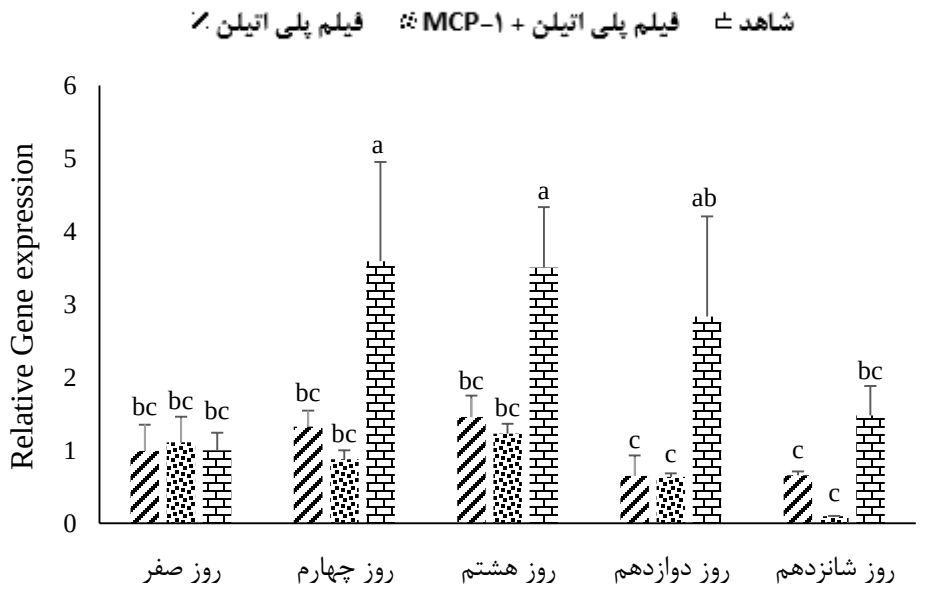
در میوه‌های کلیماتریک، افزایش تولید اتیلن برای رسیدگی نرمال میوه مورد نیاز است، از آنجایی که در گوجه‌فرنگی تراریخت، تولید اتیلن متوقف یا دریافت اتیلن مهار می‌شود، مسیر بیوسنتز اتیلن از اس-

[1] Bleecker and Kende
[2] Kieber
[3] Tatsuki and Endo

آدنوزیل- ال- میتونین (SAM) از طریق ۱- آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) صورت می-گیرد (آدامس و یانگ[1]، ۱۹۷۹). در تحقیق حاضر، بیان ژن SAM1 در تیمار شاهد و در زمان‌های مختلف بعد از برداشت به تدریج کاهش یافت. به‌طوریکه بیشترین میزان بیان آن در زمان اول برداشت مشاهده شد. در اثر تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن بیان ژن مذکور نسبت به شاهد کاهش نشان داد (شکل ۴ - ۱۵). همانطور که در شکل مشخص است، تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن در مراحل مختلف دارای روند یکسانی بر روی میزان بیان ژن SAM1 بودند. البته با توجه به گذشت زمان، تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP در مرحله آخر نمونه‌برداری نسبت به تیمار فیلم پلی‌اتیلن دارای برتری بوده و لذا تاثیر بازدارندگی بیشتری بر روی ژن مذکور داشته است. بنابراین می‌توان عنوان کرد که تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP در مقایسه با تیمار فیلم پلی‌اتیلن دارای کارایی پایداری در مراحل مختلف پس از برداشت مخصوصاً در مراحل پایانی است. کارایی 1-MCP بواسطه کولتیوار، شرایط نگهداری، دما و مدت تیمار، رسیدگی میوه و زمان برداشت تحت تاثیر قرار می‌گیرد (بلنکنشی[2] و دوئل، ۲۰۰۳). موثر بودن 1-MCP تاحدودی با زمان‌های اواخر برداشت کاهش می‌یابد (میر[3] و همکاران، ۲۰۰۱). اطلاعات حاضر نشان می‌دهد که به کارگیری تیمارهای مذکور موجب افزایش کیفیت ماندگاری گوجه‌فرنگی شده است. افزایش دوران ماندگاری و حفظ کیفیت و کمیت محصول، هنگامی که ترکیب درستی (صحیحی) از دما، اتمسفر تغییریافته و تیمار با 1-MCP بکار گرفته شود، بدست می‌آید. کتسا و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تاثیرات بسته‌بندی و 1-MCP افزایشی است، چراکه تاثیرات بسته‌بندی و 1-MCP دارای سینرژی مثبت بوده، بطوریکه تیمار ترکیبی دارای طول دوره ماندگاری بالاتری نسبت به مجموع تیمارهای جداگانه بود. در تحقیق حاضر نیز در بخش بیان ژن تیمار بسته‌بندی به همراه 1-MCP به صورت موثرتری تولید و سنتز

[1] Adams
[2] Blankenship
[3] Mir

اتیلن را مهار کرد. اتیلن از تبدیل اس-آدنوزیل متیونین (SAM) به ۱-آمینوسیکلوپروپن-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC)، پیش‌ساز مستقیم اتیلن، مشتق می‌شود. دو آنزیم ACC سنتاز و ACC اکسیداز در مسیر سنتز اتیلن وجود دارند. هر یک از این آنزیم‌ها می‌تواند نرخ تولید اتیلن را محدود کند. نکته مهم در این تحقیق این است که تیمارهای مورد استفاده به صورت موثری بیان ژن‌های SAM و آنزیم‌های ACC سنتاز (ACS4) و ACC اکسیداز (ACO1) را کاهش دادند. در حالیکه بیان دیگر ACC اکسیداز یعنی *ACO5* تحت تاثیر قرار نگرفت. در حقیقت بیان این ژن در تیمار کنترل و سایر تیمارهای به کار گرفته شده تغییر چندانی نداشت.



شکل ۴ - ۱۵- بیان نسبی ژن SAM1 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SE می‌باشد)

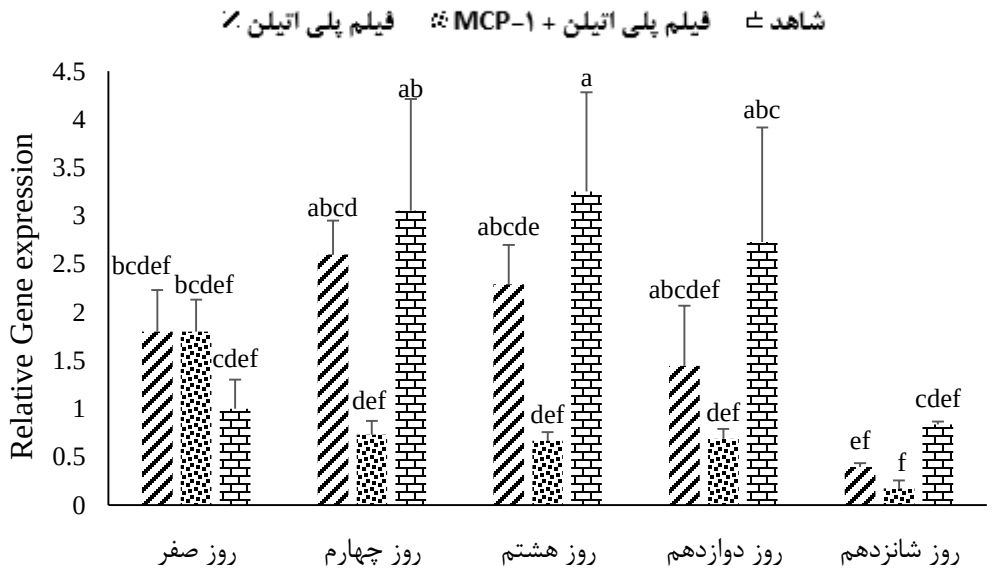
۴ – ۲ – ۴ - تغییرات سطوح بیان ژن ACS4

همانطور که قبلا اشاره شد ژن‌های رمزگذار ۱- آمینوسیکلوپروپان-کربوکسیلاز (ACC) سنتاز (ACS) و ACC اکسیداز (ACO)، دو آنزیم کلیدی کاتالیز کننده مراحل آخر مسیر بیوسنتز اتیلن هستند، اهداف

اولیه مطالعات رسیدگی میوه و دست‌ورزی در گوجه‌فرنگی و گونه‌های دیگر هستند (جیوانونی[1]، ۲۰۰۴؛ تئولوجیس[2]، ۱۹۹۴). مهار تولید اتیلن بوسیله خاموشی بیان *ACO* و *ACS* منجر به بازدارندگی شدید فرآیند رسیدگی می‌شود (گری[3] و همکاران، ۱۹۹۹؛ همیلتون و همکاران[4]، ۱۹۹۰). نتایج نشان داد که بیان ژن *ACS4* در تیمار شاهد و در مرحله مختلف دارای روند صعودی و سپس کاهشی بوده است (شکل ۴ - ۱۶). اگرچه در مورد این ژن نیز تیمارهای فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن دارای اثرات معنی‌داری بر کنترل بیان این ژن بوده‌اند اما اثر و کارایی تیمار فیلم پلی‌اتیلن مخصوصاً در مراحل اولیه اندک بود. مطالعات نشان می‌دهد که بیان زیاد ژن‌های ACS و یا ACO و افزایش فعالیت این دو آنزیم حداقل تا حدودی مسئول افزایش نرخ تولید اتیلن است. بنابراین افزایش خودبخودی در نرخ تولید اتیلن در طی دوره رسیدگی و انبارداری بوسیله تیمار بسته‌بندی و خصوصاً تیمار بسته‌بندی به همراه 1-MCP به ویژه در اواخر دوره انبار داری به خوبی مهار شد. هرچند راهبردهایی مانند تیمار 1-MCP و بسته‌بندی برای به تاخیر انداختن نرمی میوه به‌کار می‌روند و تا حدود زیادی نیز موفق بوده‌اند. با این وجود، مکانیسم‌های درگیر در فرآیند نرم شدن و رسیدگی میوه هنور نامشخص است. مطالعات نشان داده‌اند که ژن‌های LeACS2، LeACS4، LeACO1 و LeACO4 مسئول تولید اتیلن در مدت رسیدگی میوه گوجه‌فرنگی هستند (ناکاتسوکا[5] و همکاران، ۱۹۹۸) و گوجه‌فرنگی‌های تراریخت حامل آنتی‌سنس LeACS2 با بازدارندگی ژن‌های LeACS2 و LeACS4 اتیلن کمتری تولید کرده و رسیدگی آن‌ها با مشکل مواجه می‌شود (همیلتون، ۱۹۹۰). نتایج ما با نتایج ژو و همکاران (۲۰۱۵) که در تحقیق خود نشان دادند بیان ژن ACS4 در اثر تیمار 1-MCP کاهش پیدا کرده است، همخوانی داشت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نرم شدن و رسیدگی میوه معمولاً با تولید اتیلن بیشتر همراه است. تیمار 1-MCP در رقابت با گیرنده اتیلن نقش دارد و تولید اتیلن را

[1]Giovannoni; Theologis
[2] Theologis
[3]Gray; Hamilton
[4] Hamilton
[5]Nakatsuka

کاهش داد. در حقیقت می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که ماندگاری بیشتر گوجه‌فرنگی در تیمارهای به کار رفته احتمالا با کاهش بیان ژن‌های مذکور بررسی شده در این پژوهش دارای همبستگی می‌باشد. اگرچه جهت تایید نتایج زیر نیاز است در تحقیقات آتی میزان و محتوی آنزیم‌های ACO و ACC و میزان اتیلن تولید شده در هر یک از تیمارهای مذکور را اندازه‌گیری کرد تا بتوان با دقت بیشتری درباره چگونگی بیان و کنترل ژن‌های دخیل در مسیر سنتز اتیلن را در طی دوران انبارداری و به کارگیری تیمارهای مختلف اظهار نظر کرد. در ضمن وجود تعداد زیادی از عناصر پاسخ دهنده به اتیلن در گیاهان درک مکانیسم های مولکولی در این مسیر را پیچیده‌تر خواهد کرد.



شکل ۴ - ۱۶- بیان نسبی ژن ACS4 در تیمارها و مراحل مختلف نمونه‌برداری (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است و علامت بار بر روی نمودارها نشان دهنده SE می‌باشد)

فصل پنجم

نتیجه گیری و پیشنهادات

۵- نتیجه‌گیری و پیشنهادات

۵ - ۱ – نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که وزن با افزایش زمان نگهداری کاهش یافت اما گوجه گیلاسی زرد نسبت به گوجه گیلاسی سیاه بیشترین کاهش وزن را در طی زمان نگهداری داشت در مورد این صفت بین دو تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت در رابطه با مواد جامد محلول بیشترین افزایش در تیمار شاهد و هر دو نوع گوجه‌گیلاسی مشاهده شد همچنین بهترین تیمار که از افزایش مواد جامد محلول به طور معنی‌داری جلوگیری کرد تیمار فیلم پلی‌اتیلن بود ولی در گوجه گیلاسی سیاه فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP موثرتر از سایر تیمارها بود. pH عصاره با گذر زمان در طول دوره نگهداری افزایش یافت، هرچند بین دو لاین از لحاظ تغییرات این صفت اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در این مورد بین شاهد و دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌دار بود و تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP به صورت معنی‌داری توانست نسبت به سایر تیمارها تغییرات عصاره را کنترل کند. از نظر کاهش سفتی بافت بین گوجه گیلاسی زرد و گوجه گیلاسی سیاه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد به طوری که بیشترین کاهش سفتی در گوجه گیلاسی زرد تیمار شاهد و در روز ۱۶ مشاهده شد و بین شاهد و دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌دار بود اما بین دو تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن در گوجه گیلاسی سیاه فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP نشان داد که افزایش pH به تاخیر افتاد اما در گوجه گیلاسی زرد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در رابطه با میزان کلروفیل نیز بین ارقام و تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد به طوری که تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP موجب حفظ محتوای کلروفیل به مدت طولانی‌تری شد. در گوجه گیلاسی سیاه با افزایش زمان نگهداری کلروفیل تغییر نکرد اما گوجه گیلاسی زرد در میزان کلروفیل a و کل کاهش یافت اما در کلروفیل کل این اختلاف معنی‌دار نبود.

نتایج حاصل از این تحقیق در قسمت بیان ژن نشان داد که هر دو تیمار به کار رفته در این تحقیق یعنی فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن به خوبی توانستند بیان ژن‌های دخیل در سنتز اتیلن را کاهش دهند. اگرچه در تمامی زمان‌های مختلف پس از برداشت بین شاهد و دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما در اکثر ژن‌ها و زمان‌های مختلف پس از برداشت اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن وجود نداشت. پروفایل بیان ژن‌های مذکور در زمان‌های مختلف انبارداری در تمامی تیمارها تا حدودی متفاوت بود، هر چند در تمای ژن‌های مورد مطالعه و در هر سه تیمار بیان ژن‌ها به تدریج افزایش و سپس در پایان دوره کاهش یافت. این نتایج تا حدودی مورد انتظار بود، چرا که روند تولید و سنتز اتیلن در میوه و سبزیجات به صورت تصاعدی افزایش یافته سپس در یک زمان خاص به پیک خود رسیده و سرانجام کاهش میابد. نتایج پروفایل بیان ژن‌ها در این تحقیق نشان داد که هر دو تیمار به کار گرفته شده تا حدود زیادی و به صورت معنی‌داری توانستند بیان نسبتا بالای ژن‌های ACO1 ، SAM1 و ACS4 را کنترل کنند بیان ژن ACO5 در این تحقیق پایین بود هر چند دو تیمار مذکور در مورد این ژن نیز توانستند به صورت معنی‌داری بیان ژن را کاهش دهند . فقط در مورد ژن ACO5 تیمار فیلم پلی‌اتیلن به صورت موثرتری نسبت به تیمار فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP بیان ژن را کاهش داد.

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داده که استفاده از فیلم پلی‌اتیلن با 1-MCP و فیلم پلی‌اتیلن در طی زمان‌های مختلف انبارداری به علت اثرات بازدارنده در سنتز اتیلن و جلوگیری از تنفس در طول دوره انبارداری، قادر به حفظ کیفیت و کمیت محصولات ذخیره شده در طول دوره انبارداری میگردد.

۵ - ۲ – پیشنهادات

۱ - استفاده از غلظت‌های مختلف 1-MCP به منظور شناسایی بهترین غلظتی که در آن رسیدگی به تعویق افتد و کمترین کاهش در کیفیت محصول حاصل گردد.

۲- اندازه‌گیری سایر صفات مرتبط با رسیدگی از قبیل صفات آنزیمی (پکتیناز و سلولاز).

۳ - افزایش دوره‌ها و زمان‌های مختلف انبارداری (مدت انبارداری در این تحقیق ۱۶ روز بود) و مطالعه روند تغییرات صفات مختلف.

۴- استفاده از بازه‌های دمایی مختلف در انبارداری به منظور تعیین بهترین دما و بررسی اثرات دمایی مختلف به همراه تیمارهای موجود در این آزمایش .

۵- کاربرد فیلم‌های مختلف با جنس و ضخامت متفاوت و با استفاده اثر پوشش‌های طبیعی مانند ژل و موسیلاژهای گیاهی.

۶ - بررسی بیان سایر ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز اتیلن به همراه گیرنده‌های اتیلن و زیر خانواده‌های آن‌ها در طی مراحل مختلف انبارداری.

پیوست‌ها

جدول پیوست ۱- تجزیه واریانس اثر رقم، تیمار و زمان بر صفات پس از برداشت گوجه‌گیلاسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
		MS			
(C) لاین	۱	۰/۲۳**	۰/۴۲^{ns}	۰/۱۶**	۱/۹۱**
(T) تیمار	۲	۲۷/۷۴**	۱۳/۲۳**	۰/۳۵**	۰/۰۶۳**
(S) زمان	۳	۱/۵۶**	۱۹/۹۴**	۰/۴۲**	۰/۴۲**
C×T	۲	۰/۱۵**	۰/۸۳^{ns}	۰/۰۰۶^{ns}	۰/۰۲۵**
C×S	۳	۰/۰۱۲^{ns}	۰/۰۶۸^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۲۵**
T×S	۶	۰/۹۲**	۱/۰۷۹**	۰/۰۶**	۰/۰۱۴**
C×T×S	۶	۰/۰۳۰^{ns}	۰/۱۰۹^{ns}	۰/۰۰۰۶^{ns}	۰/۰۱۳**
خطا	۴۸	۰/۰۱۴	۰/۲۵	۰/۰۰۲	۰/۰۲۳
کل	۷۱				
CV%		۷/۳۲	۴/۵۴	۱/۱۲	۳/۸۹

^{ns} عدم معنی داری * معنی‌داری در سطح پنج درصد ** معنی‌داری در سطح یک درصد

جدول پیوست ۲- تجزیه واریانس اثر رقم، تیمار و زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
		MS		
(C) لاین	۱	۶۰۳/۵**	۳۷/۴۱**	۱۰۴۵**
(T) تیمار	۲	۵۴/۷**	۱۰/۴۵^{ns}	۸۲/۵**
(S) زمان	۱	۴/۵^{ns}	۰/۳۹^{ns}	۴/۵^{ns}
C×T	۲	۳۷/۲**	۱۰/۵^{ns}	۷۴/۴**
C×S	۱	۱۲/۹^{ns}	۹/۸۹^{ns}	۱۹/۷^{ns}
T×S	۲	۱۳^{ns}	۱۰/۴۱^{ns}	۴۶/۸*
C×T×S	۲	۲/۶^{ns}	۰/۶۱^{ns}	۰/۱^{ns}
خطا	۲۴	۳/۷۸۲	۳/۱۶	۱۲/۳
کل	۳۵			
CV%		۲۷	۴/۱۲	۱۱/۱۱

^{ns}عدم معنی داری * معنی‌داری در سطح پنج درصد **معنی‌داری در سطح یک درصد

جدول پیوست ۳- مقایسه میانگین برای دو لاین گوجه‌گیلاسی

نام لاین	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
لاین ۱ (C1)	۲/۷۷^{b}	۱۰/۹۳^{a}	۴/۴۱^{b}	۱/۴۱^{a}
لاین ۲ (C2)	۳/۳۸^{a}	۱۱/۰۸^{a}	۴/۵۱^{a}	۱/۰۸^{b}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۴- مقایسه میانگین برای تیمارهای بسته‌بندی

تیمار (T)	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
شاهد	۸/۱۶^{a}	۱۱/۸۳^{a}	۴/۵۷^{a}	۱/۱۹^{b}
فیلم پلی اتیلن	۰/۳۷^{c}	۱۰/۳۹^{c}	۴/۴۷^{b}	۱/۲۶^{a}
فیلم پلی اتیلن همراه با 1-MCP	۰/۶۹^{b}	۱۰/۷۹^{b}	۴/۳۳^{c}	۱/۲۹^{a}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۵- مقایسه میانگین برای زمان‌های مختلف پس از برداشت

زمان (S)	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
روز ۴	۱/۲۲^{d}	۹/۷^{d}	۴/۲۷^{d}	۱/۴۲^{a}
روز ۸	۲/۷۸^{c}	۱۰/۶۱^{c}	۴/۴۱^{c}	۱/۳۱^{b}
روز ۱۲	۴^{b}	۱۱/۵^{b}	۴/۵۴^{b}	۱/۱۹^{c}
روز ۱۶	۴/۳^{a}	۱۲/۱۶^{a}	۴/۶۲^{a}	۱/۰۶^{d}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۶- مقایسه میانگین برای دو لاین گوجه‌گیلاسی

نام لاین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
لاین ۱ (C1)	۱۱/۰۹^{a}	۵/۱۴^{a}	۱۶/۵^{a}
لاین۲ (C2)	۲/۹۰^{b}	۳/۱۰^{b}	۵/۷۳^{b}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۷- مقایسه میانگین برای تیمارهای بسته‌بندی

تیمار (T)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
شاهد	۴/۸۶^{c}	۳/۱۵^{b}	۸/۴۰^{b}
فیلم پلی اتیلن	۷^{b}	۴/۲۱^{ab}	۱۱/۳^{ab}
فیلم پلی اتیلن همراه با 1-MCP	۹/۱۳^{a}	۵^{a}	۱۳/۶۴^{a}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۸- مقایسه میانگین برای زمان‌های مختلف پس از برداشت

زمان (S)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
روز ۴	۷/۳۵^{a}	۴/۰۲۱^{a}	۱۱/۴۷^{a}
روز ۱۶	۶/۶۴^{a}	۴/۲۳^{a}	۱۰/۷۶^{a}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۹- همبستگی صفات پس از برداشت گوجه‌گیلاسی

صفت	درصد کاهش وزن	pH عصاره	مواد جامد محلول	سفتی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
درصد کاهش وزن	۱						
pH عصاره	۰/۷۰۹**	۱					
مواد جامد محلول	۰/۷۵۰**	۰/۸۱۸**	۱				
سفتی	-۰/۴۳۲*	-۰/۷۲۱**	-۰/۶۴۳**	۱			
کلروفیل a	-۰/۱۲۰^{ns}	-۰/۲۵۳^{ns}	-۰/۰۸۱^{ns}	۰/۶۱۹**	۱		
کلروفیل b	۰/۰۲۳^{ns}	-۰/۰۷۷^{ns}	۰/۱۱۰^{ns}	۰/۲۸۶^{ns}	۰/۸۲۶**	۱	
کلروفیل کل	-۰/۰۶۳^{ns}	-۰/۱۹۲^{ns}	-۰/۰۳۱^{ns}	۰/۵۶۳**	۰/۹۷۷**	۰/۸۷۸**	۱

^{ns} عدم معنی داری * معنی‌داری در سطح پنج درصد ** معنی‌داری در سطح یک درصد

جدول پیوست ۱۰- اثرات متقابل لاین در تیمار در گوجه‌گیلاسی

لاین × تیمار	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
لاین ۱ × تیمار ۱	۰/۳۷^{d}	۱۰/۴۱۶۷^{c}	۴/۴۲۲۵۰^{c}	۱/۴۰۲۵۰^{b}
لاین ۱ × تیمار ۲	۰/۶۵^{c}	۱۰/۵۰۰۰^{c}	۴/۳۱۰۸۳^{e}	۱/۴۹۱۶۷^{a}
لاین ۱ ×تیمار ۳	۷/۲۹^{b}	۱۱/۸۷۵۰^{a}	۴/۵۲۰۰۰^{b}	۱/۳۴۳۳۳^{c}
لاین ۲ × تیمار ۱	۰/۳۸^{d}	۱۰/۳۷۵۰^{c}	۴/۵۳۱۶۷^{b}	۱/۱۲۵۸۳^{d}
لاین ۲ × تیمار ۲	۰/۷۲^{c}	۱۱/۰۸۳۳^{b}	۴/۳۶۶۶۷^{d}	۱/۰۹۱۶۷^{d}
لاین ۲ × تیمار ۳	۹/۰۳^{a}	۱۱/۷۹۱۷^{a}	۴/۶۳۹۱۷^{a}	۱/۰۴۰۸۳^{e}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۱۱- اثرات متقابل لاین در تیمار بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی

لاین × تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
لاین ۱ × تیمار ۱	۱۰/۴۴۶۸^{b}	۵/۱۹^{ab}	۱۵/۶۴^{b}
لاین ۱ × تیمار ۲	۱۵/۲۲^{a}	۶/۹۸^{a}	۲۱/۸۷^{a}
لاین ۱ ×تیمار ۳	۷/۶۱^{c}	۳/۲۵^{b}	۱۲^{b}
لاین ۲ × تیمار ۱	۳/۵۶^{d}	۳/۲۳^{b}	۶/۹۷^{c}
لاین ۲ × تیمار ۲	۳/۰۴^{d}	۳/۰۳^{b}	۵/۴^{c}
لاین ۲ × تیمار ۳	۲/۱^{d}	۳/۰۴^{b}	۴/۸۱^{c}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۱۲- اثرات متقابل لاین در زمان در گوجه‌گیلاسی

لاین × زمان	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
لاین ۱ × زمان ۱	۰/۹۳^{e}	۹/۷۲۲۲^{e}	۴/۲۴۳۳۳^{e}	۱/۶۲۳۳۳^{a}
لاین ۱ × زمان ۲	۲/۶^{c}	۱۰/۵۵۵۶^{d}	۴/۳۵۱۱۱^{d}	۱/۴۳۱۱۱^{b}
لاین ۱ × زمان ۳	۳/۷۴^{b}	۱۱/۳۳۳۳^{c}	۴/۴۹۸۸۹^{c}	۱/۳۳۷۷۸^{c}
لاین ۱ × زمان ۴	۳/۸۰^{ab}	۱۲/۱۱۱۱^{ab}	۴/۵۷۷۷۸^{b}	۱/۲۵۷۷۸^{d}
لاین ۲ × زمان ۱	۱/۵^{d}	۹/۷۷۷۸^{e}	۴/۳۰۸۸۹^{d}	۱/۲۲۵۵۶^{de}
لاین ۲ × زمان ۲	۲/۹۵^{c}	۱۰/۶۶۶۷^{d}	۴/۴۷۵۵۶^{c}	۱/۱۹۰۰۰^{e}
لاین ۲ × زمان ۳	۴/۲۶^{ab}	۱۱/۶۶۶۷^{bc}	۴/۵۹۷۷۸^{b}	۱/۰۵۱۱۱^{f}
لاین ۲ × زمان ۴	۴/۷۹^{a}	۱۲/۲۲۲۲^{a}	۴/۶۶۷۷۸^{a}	۰/۸۷۷۷۸^{g}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۱۳- اثرات متقابل لاین در زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی

لاین × زمان	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
لاین ۱ × زمان ۱	۱۰/۸۵۱۱^{a}	۴/۵۱۶۸^{ab}	۱۵/۳۶^{a}
لاین ۱ × زمان ۴	۱۱/۳۳۹۰^{a}	۵/۷۷۳۸^{a}	۱۶/۸۹۵^{a}
لاین ۲ × زمان ۱	۳/۸۵۹۸^{b}	۳/۵۲۶۵^{b}	۶/۸۲۴^{b}
لاین ۲ × زمان ۴	۱/۹۵۲۲^{c}	۲/۶۸۶۸^{b}	۴/۶۳۹^{b}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۱۴- اثرات متقابل تیمار در زمان در گوجه‌گیلاسی

تیمار × زمان	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
تیمار۱ × زمان۱	۰/۲۴^{f}	۹/۴۱۶۷^{f}	۴/۲۸۸۳۳^{g}	۱/۴۱۱۶۷^{a}
تیمار۱ × زمان۲	۰/۲۶^{f}	۹/۷۵۰۰^{f}	۴/۴۱۱۶۷^{e}	۱/۳۰۳۳۳^{b}
تیمار۱ × زمان۳	۰/۳۹^{ef}	۱۰/۶۶۶۷^{cd}	۴/۵۷۵۰۰^{d}	۱/۲۲۵۰۰^{c}
تیمار۱ × زمان۴	۰/۶^{e}	۱۱/۷۵۰۰^{b}	۴/۶۳۳۳۳^{c}	۱/۱۱۶۶۷^{d}
تیمار۲ × زمان۱	۰/۵۵^{ef}	۹/۹۱۶۷^{ef}	۴/۲۸۶۶۷^{g}	۱/۴۲۱۶۷^{a}
تیمار ۲× زمان۲	۰/۵۷^{e}	۱۰/۴۱۶۷^{de}	۴/۳۱۳۳۳^{fg}	۱/۳۸۸۳۳^{a}
تیمار۲ × زمان۳	۰/۶^{e}	۱۱/۱۶۶۷^{bc}	۴/۳۶۱۶۷^{ef}	۱/۲۲۸۳۳^{c}
تیمار ۲× زمان۴	۱/۰۲^{d}	۱۱/۶۶۶۷^{b}	۴/۳۹۳۳۳^{e}	۱/۱۲۸۳۳^{d}
تیمار۳ × زمان۱	۲/۸^{c}	۹/۹۱۶۷^{ef}	۴/۲۵۳۳۳^{g}	۱/۴۴۰۰۰^{a}
تیمار۳ × زمان۲	۷/۵^{b}	۱۱/۶۶۶۷^{b}	۴/۵۱۵۰۰^{d}	۱/۲۴۰۰^{bc}
تیمار۳ × زمان۳	۱۱/۰۱^{a}	۱۲/۶۶۶۷^{a}	۴/۷۰۸۳۳^{b}	۱/۱۳۰۰۰^{d}
تیمار۳ × زمان۴	۱۱/۲۷^{a}	۱۳/۰۸۳۳^{a}	۴/۸۴۱۶۷^{a}	۰/۹۵۸۳۳^{e}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۱۵- اثرات متقابل تیمار در زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی

تیمار × زمان	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
تیمار۱ × زمان۱	۸/۵۶۴^{a}	۵/۱۸۷۱^{ab}	۱۳/۹۲۱^{a}
تیمار۱ × زمان۴	۵/۴۵۰^{b}	۳/۲۴۴۸^{bc}	۸/۶۹۸^{bc}
تیمار۲ × زمان۱	۸/۸۸۰^{a}	۴/۳۸۸۱^{abc}	۱۲/۵۹۴^{ab}
تیمار ۲× زمان۴	۹/۳۸۶^{a}	۵/۶۳۳۵^{a}	۱۴/۶۹۰^{a}
تیمار۳ × زمان۱	۴/۶۲۳^{b}	۲/۴۸۹۸^{c}	۷/۹۰۰^{c}
تیمار۳ × زمان۴	۵/۱۰۰^{b}	۳/۸۱۲۲^{abc}	۸/۹۱۴^{bc}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

جدول پیوست ۱۶- اثرات متقابل لاین در تیمار در زمان در گوجه‌گیلاسی

لاین × تیمار × زمان	درصد کاهش وزن	مواد جامد محلول	pH عصاره	سفتی
لاین ۱ × تیمار ۱ × زمان۱	۰/۲^{k}	۹/۳۳۳۳^{g}	۴/۲۵۳۳۳^{mn}	۱/۵۹۶۶۷^{ab}
لاین۱ × تیمار۱ × زمان۲	۰/۲۴^{k}	۹/۸۳۳۳^{fg}	۴/۳۳۳۳۳^{jklm}	۱/۴۴۰۰۰^{c}
لاین۱ × تیمار۱ × زمان۳	۰/۳۶^{hijk}	۱۰/۶۶۶۷^{ef}	۴/۵۲۳۳۳^{fgh}	۱/۳۳۳۳۳^{d}
لاین۱ × تیمار۱ × زمان۴	۰/۶۷^{hij}	۱۱/۸۳۳۳^{bc}	۴/۵۸۰۰۰^{efg}	۱/۲۴۰۰۰^{ef}
لاین۱ × تیمار ۲× زمان ۱	۰/۳۱^{ijk}	۹/۶۶۶۷^{g}	۴/۲۶۳۳۳^{mn}	۱/۶۱۶۶۷^{ab}
لاین ۱ × تیمار ۲× زمان ۲	۰/۵۱^{hijk}	۱۰/۱۶۶۷^{efg}	۴/۲۸۳۳۳^{lmn}	۱/۵۶۰۰۰^{b}
لاین ۱ × تیمار ۲× زمان ۳	۰/۵۹^{hijk}	۱۰/۶۶۶۷^{ef}	۴/۳۳۶۶۷^{jklm}	۱/۴۴۰۰۰^{c}
لاین ۱× تیمار ۲ × زمان ۴	۱/۲^{g}	۱۱/۵۰۰۰^{cd}	۴/۳۶۰۰۰^{ijkl}	۱/۳۵۰۰۰^{cd}

لاین ۱× تیمار ۳× زمان ۱	۲/۳^{f}	۱۰/۱۶۶۷^{efg}	۴/۲۱۳۳۳^{n}	۱/۶۵۶۶۷^{a}
لاین ۱× تیمار ۳× زمان ۲	۷/۰۶^{d}	۱۱/۶۶۶۷^{c}	۴/۴۳۶۶۷^{hi}	۱/۲۹۳۳۳^{de}
لاین ۱× تیمار ۳× زمان ۳	۱۰/۲۸^{bc}	۱۲/۶۶۶۷^{ab}	۴/۶۳۶۶۷^{de}	۱/۲۴۰۰۰^{ef}
لاین ۱× تیمار ۳× زمان ۴	۹/۵۳^{c}	۱۳/۰۰۰۰^{a}	۴/۷۹۳۳۳^{ab}	۱/۱۸۳۳۳^{fg}
لاین ۲× تیمار ۱× زمان ۱	۰/۲۸^{jk}	۹/۵۰۰۰^{g}	۴/۳۲۳۳۳^{jklm}	۱/۲۲۶۶۷^{ef}
لاین ۲× تیمار ۱× زمان ۲	۰/۲۸^{jk}	۹/۶۶۶۷^{g}	۴/۴۹۰۰۰^{gh}	۱/۱۶۶۶۷^{fg}
لاین ۲× تیمار ۱× زمان ۳	۰/۴۳^{hijk}	۱۰/۶۶۶۷^{ef}	۴/۶۲۶۶۷^{de}	۱/۱۱۶۶۷^{g}
لاین ۲× تیمار ۱× زمان ۴	۰/۵۳^{hijk}	۱۱/۶۶۶۷^{c}	۴/۶۸۶۶۷^{cd}	۰/۹۹۳۳۳^{hi}
لاین ۲ × تیمار ۲× زمان ۱	۰/۷۹^{ghi}	۱۰/۱۶۶۷^{efg}	۴/۳۱۰۰۰^{klm}	۱/۲۲۶۶۷^{ef}
لاین ۲ × تیمار ۲× زمان ۲	۰/۶۴^{hijk}	۱۰/۶۶۶۷^{ef}	۴/۳۴۳۳۳^{ijklm}	۱/۲۱۶۶۷^{ef}
لاین ۲× تیمار ۲× زمان ۳	۰/۶۱^{hijk}	۱۱/۶۶۶۷^{c}	۴/۳۸۶۶۷^{ijk}	۱/۰۱۶۶۷^{h}
لاین ۲× تیمار ۲× زمان ۴	۰/۸۵^{gh}	۱۱/۸۳۳۳^{bc}	۴/۴۲۶۶۷^{hij}	۰/۹۰۶۶۷^{i}
لاین ۲× تیمار ۳× زمان ۱	۳/۴^{e}	۹/۶۶۶۷^{g}	۴/۲۹۳۳۳^{jklm}	۱/۲۲۳۳۳^{ef}
لاین ۲× تیمار ۳× زمان ۲	۷/۹۴^{d}	۱۱/۶۶۶۷^{c}	۴/۵۹۳۳۳^{def}	۱/۱۸۶۶۷^{fg}
لاین ۲× تیمار ۳× زمان ۳	۱۱/۷۵^{ab}	۱۲/۶۶۶۷^{ab}	۴/۷۸۰۰۰^{bc}	۱/۰۲۰۰۰^{h}
لاین ۲× تیمار ۳× زمان ۴	۱۳^{a}	۱۳/۱۶۶۷^{a}	۴/۹۰۰۰^{a}	۰/۷۳۳۳۳^{j}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است)

جدول پیوست ۱۷- اثرات متقابل لاین در تیمار در زمان بر میزان کلروفیل گوجه‌گیلاسی

لاین × تیمار × زمان	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
لاین ۱ × تیمار ۱ × زمان۱	۱۱/۹۰۴^{bc}	۵/۵۳^{abc}	۱۷/۴۴^{ab}
لاین۱ × تیمار۱ × زمان۴	۸/۹۸۶^{cd}	۴/۵۸^{abcd}	۱۳/۸۵^{bc}
لاین۱ × تیمار ۲× زمان ۱	۱۳/۹۴۴^{ab}	۶/۰۹^{ab}	۲۰^{a}
لاین ۱× تیمار ۲ × زمان ۴	۱۶/۴۹۸^{a}	۷/۸۷^{a}	۲۳/۷^{a}
لاین ۱× تیمار ۳× زمان ۱	۶/۷۰۶^{de}	۱/۹۱^{d}	۱۰/۸۶^{cd}
لاین ۱× تیمار ۳× زمان ۴	۸/۵۳^{cd}	۴/۵۷^{bcd}	۱۳/۱۲^{bc}
لاین ۲× تیمار ۱× زمان ۱	۵/۲۲^{ef}	۴/۸۳^{abcd}	۱۰/۳۹^{cd}
لاین ۲× تیمار ۱× زمان ۴	۱/۹۱^{g}	۱/۶۲^{d}	۳/۵۴^{e}
لاین ۲ × تیمار ۲× زمان ۱	۳/۸۱^{efg}	۲/۶۸^{cd}	۵/۱۴^{de}
لاین ۲× تیمار ۲× زمان ۴	۲/۲۷^{fg}	۳/۳۹^{bcd}	۵/۶۶^{de}
لاین ۲× تیمار ۳× زمان ۱	۲/۵۳^{fg}	۳/۰۶^{bcd}	۵/۵۶^{de}
لاین ۲× تیمار ۳× زمان ۴	۱/۶۶^{g}	۳/۰۳^{bcd}	۴/۷۰^{de}

در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن و در سطح پنج درصد انجام شده است).

منابع

احمدی، ب. تاج‌الدین، ب. و احمدی چناربن، ح. (۱۳۹۶) "بررسی کیفیت گوجه فرنگی زیتونی(رقم سانتلا) بسته بندی شده در فیلم های پلی‌اتیلنی و نانوپلیمر سیلیکونی به روش اتمسفر تغییر یافته" *علوم و صنایع غذایی*. شماره ۷۴، دوره۱۵.

اعتمادی نسب، ه. رامین، ع ا. و پیرمرادیان، م. (۱۳۹۰) "تاثیر متیل سیکلوپروپن بر عمر قفسه‌ای سیب گلاب رقم کهنز" *هفتمین کنگره علوم باغبانی*.

بداقی، ح ا، عباسی وصالیان، م. قربانی قوژدی، ح. و باباخانزاده، ا. (۱۳۹۵) " بررسی اثر دو نوع فیلم بسته‌بندی پلی‌اتیلن بر ماندگاری برشهای تازه خربزه خاتونی" *دهمین کنگره ملی مهندسی ماشین-های کشاورزی(بیوسیستم) و مکانیزاسیون ایران*.

پیوست، غ. (۱۳۸۸) "*سبزیکاری*" ویرایش پنجم، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ص ۳۹۲ – ۳۹۴.

جیحونی، م. (۱۳۸۸) " نشریه فنی گوجه‌فرنگی" شماره ۲، تیراژ ۱۰۰۰.

حکیمی راد، م. معتمدزادگان، ع. (۱۳۹۳) " استفاده از نانوبیوکمپوزیت‌ها در بسته‌بندی موادغذایی" *اولین همایش روش‌های افزایش ماندگاری فرآورده‌های غذایی*، تهران.

راحمی، م. (۱۳۸۷) "*فیزیولوژی پس از برداشت*" چاپ نهم، انتشارات دانشگاه شیراز، صفحات ۵۷ و ۱۶۴ – ۱۶۹.

رحیمی نیا، م. (۱۳۳۶) " *فرهنگ مصور گیاهان دارویی*"چاپ سوم، ۱۳۹۰، ص ۲۳۴.

رنجبر، ا. و احمدی، ن. (۱۳۹۴) "اثر۱-متیل سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گل های شاخه بریدنی میخک گرند اسلم" *به زراعی کشاورزی*، دوره۱۸، شماره۱، بهار ۱۳۹۵، ص ۸۹-۷۹.

ریچارد، ا. (۱۳۹۳) " *مبانی فیزیولوژی کاربرد مواد رشد گیاهی*"چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران، ص ۱۷۶ و ۲۲۵.

سردابی، ف. مهتدی نیا، ج. شواخی، ف. و جعفری، ع ا. (۲۰۱۳) " بررسی اثر ا- متیل سیکلو پروپن و نانو زئولیت‌های حاوی پرمنگنات پتاسیم و تیمار توأم آنها در افزایش ماندگاری و کیفیت سیب قرمز و زرد لبنانی" *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران* ۱۴۴-۱۳۵،(۲)۸.

سهرابی، م م. احمدی، ا. محمدی منور، ح. (۱۳۹۵) " تاثیر فیلم‌های بسته‌بندی پلی وینیل کلراید و پلی اتیلن با چگالی بالا بر روی کیفیت و ماندگاری گوجه زیتونی در طی فرآیند انبارمانی" *اولین کنگره بین‌المللی و بیست و چهارمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران.*

شاه بیک، م. ع.(۱۳۸۱) "اثرات انبار سرد و معمولی، تیمارها قارچ کش، پوشش پلی‌اتیلن و کیورینگ بر عمر انباری نارنگی پیچ" *مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی*، جلد۳ شماره۱۱.

شواخی، ف. بهمدی، ه. (۱۳۹۴) " بررسی اثر استفاده از ۱- متیل سیکلوپروپن در کیفیت پس از برداشت سیب" *ویژه نامه علوم و صنایع غذایی*، دوره ۱۳، شماره ۱.

طباطبایی کلور، ر. ابراهیمیان، آرش. هاشمی، ج. (۱۳۹۵) "بررسی تاثیر دما، نوع بسته‌بندی و اتمسفر اصلاح شده بر خصوصیات کیفی گوجه‌فرنگی" *فصلنامه علوم و صنایع غذایی*، شماره ۵۱، دوره ۱۳.

عشورنژاد، م. قاسم نژاد، م. (۱۳۹۱) " اثر بسته‌بندی با فیلم سلوفان و انبارداری سرد بر کیفیت نگهداری و عمر انبارمانی میوه ازگیل ژاپنی" *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، سال هفتم، شماره ۲، ص ۱۰۲-۹۵.

عشورنژاد، م. قاسم نژاد، م. و بخشی، د. (۱۳۹۰) "اثر بسته‌بندی با پوشش پلی‌اتیلن بر کیفیت نگهداری و عمر انبارمانی میوه ازگیل ژاپنی" *هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران.*

قادری، ر. رضایی، ر.(۱۳۸۹) " راهنمای جامع کشت و پرورش گوجه‌فرنگی" چاپ اول، انتشارات آوزش و ترویج کشاورزی، تهران، ص ۴۵-۳۰.

کاشانی‌نژاد، م. صداقت، ن. (۱۳۹۲) "تکنولوژی بسته‌بندی میوه‌ها و سبزیجات برش‌خورده" *دومین همایش علوم و صنایع غذایی*.

کی منش، ش. (۱۳۹۰) "نقش و اهمیت بسته بندی مواد غذایی در توسعه صادرات" *وزارت بازرگانی سازمان توسعه تجارت ایران* ، معاونت کمک های تجاری دفتر امور بنگاهها.

گلشن تفتی، ا. شاه بیک، م. (۱۳۸۳) " اثر تیمارهای فیزیکی و شیمیایی در عمر انبارداری پرتقال‌های والنسیا، مارس ارلی و محلی جیرفت" *مجله علوم کشاورزی ایران*، جلد ۳۵، شماره ۳، ۷۱۳-۷۲۰.

گودرزی، ف. شواخی، ف. (۱۳۹۳) " تاثیر ۱- متیل سیکلوپروپن بر زمان رسیدن گوجه فرنگی در انبار" *مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی*، جلد۱۵، شماره۲، ص ۹۸-۸۹.

محبی، ش. مستوفی، ی. و زمانی، ذ. (۱۳۹۲) "حفظ کیفیت و افزایش عمرانبارمانی میوه زغال‌اخته با استفاده از روش بسته‌بندی در اتمسفر تعدیل یافته" *نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی*، سال پنجم، شماره پانزدهم.

مدرس ب، رامین، ع ا. و قبادی س. (۱۳۹۱) " اثر ۱- متیل سیکلوپروپان (1-MCP) بر عمر انبارمانی و قفسه ای میوه توت فرنگی رقم کاماروسا" *مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی*، سال چهارم، شماره یازدهم.

مکوندی، م. شاهپوری، س. و رامین، ع ا. (۱۳۹۲) " تاثیر ۱- متیل سیکلوپروپن و کلرید کلسیم بر افزایش طول عمر انباری میوه رسیده سبز زیتون رقم "میشن"" *نشریه علوم باغبانی(علوم و صنایع کشاورزی)* جلد۲۷، شماره۴،ص۴۸۹-۴۸۸.

مهدویان مهر، ح. اثنی عشری، م. و صداقت، ن. (۱۳۹۲) " روش های نوین بسته بندی میوه و سبزیجات برش خورده" *فصلنامه علمی، ترویجی علوم و فنون*، سال چهارم،، شماره سیزدهم.

مهرزاد، س. محمدی ثانی، ع. (۱۳۹۳) " ارزیابی اثر کاربرد ۱- متیل سیکلو پروپن بر خواص فیزیکوشیمیایی گوجه‌فرنگی رقم راپسونا" *مجله علوم و صنایع غذایی*، جلد ۱۲، شماره ۴.

میر نظامی ضیایری، سید حسین. (۱۳۷۸) " اصول بسته بندی مواد غذایی" انتشارات سمت، چ سوم، ص۲۰-۱۸.

نقوی، م.ر . ملبوبی، م.ع. رشیدی، س.م. (۱۳۹۱) " بیوانفورماتیک" انتشارات دانشگاه تهران. ایران.

هناره، م. رضایی، ژ. دولتی، ح. و مطلبی، ع. (۱۳۸۹) " تاثر محلول‌پاشی کلرور و نوع رقم بر کیفیت گوجه-فرنگی طی انبارمانی" *مجله پژوهش‌های صنایع غذایی*، جلد۳، شماره۱.

Akiyama, S., and Togeda, H. (2000)"Hikari shokubai to kanrengijutsu: 21seikikigyo no technology" *Nikkankogyo Shimbunsha, Tokyo, Japan*.

Achakzai, A. K. K., Achakzai, P., Masood, A., Kayani, S. A., and Tareen, R. B. (2009)" Response of plant parts and age on the distribution of secondary metabolites on plants found in Quetta" *Pakistan Journal* Botanica. 41(5)., 2129–2135.

Adams, D.O., Yang, S.F. (1979) "Ethylene biosynthesis: identification of ACC as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene" *Proced Nattonal Academiy Science*., 76, 170–174.

Akbudak, B. (2008)"Effect of polypropylene and polyvinyl chloride plastic film packaging materials on the quality of'Yalova Charleston'pepper (Capsicum annuum L.) during storage" *Food science and technology research*., 14 (1), 5-11.

Alexander, L., and Grierson, D. (2002)"Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening" *Journal of experimental botany*., 53 (377), 2039-2055.

Amornputti, S., Ketsa, S., and van Doorn, W. G. (2014)"Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on storage life of durian fruit" *Postharvest biology and technology*., 97, 111-114.

Amornputti, S., Ketsa,S., Wouter, G., Doorn,V.(2016) " 1-MCP inhibits ethylene production fruit Which is correlated with a decrease in ACC oxidase activity in the pell" *Postharvest Biology and Technology*.,114, 69–75.

Anon. (1994) "Occupational Safety and Helth Administration's Regulations for Ozone" (OSHA). Standard No. Washingtone, D. C.

Antonio P, Salvatore DA, Agabbio SC, Giovanni C. (1996) "Effect of packaging and coating on fruit quality changes of loquat during three cold storage regimes" *Advances Horticulture science*.,10 (3):120-5.

Anzueto, C. R., and Rizvi, S. S. H. (1985)"Individual packaging of apples for shelf life extension"*Journal of food Science*., 50 (4), 897-900.

Asil, M. H., Karimi, M., and Zakizadeh, H. (2013) "1-MCP improves the postharvest quality of cut spray carnation (Dianthus caryophyllus L.) 'Optima'flowers" *Horticulture, Environment, and Biotechnology*., 54 (1), 58-62.

Baez-Sañudo, M., Siller-Cepeda, J., Muy-Rangel, D., and Heredia, J. B. (2009)"Extending the shelf-life of bananas with 1-methylcyclopropene and a chitosan-based edible coating" *Journal of the Science of Food and Agriculture*., 89 (14), 2343-2349.

Banerjee, S., an S., Zhou, A., Silverman, R. H and Makino, S. (2000) "RNase L-independent specific 28S rRNA cleavage in murine coronavirus-infected cells" *Journal of virology*. 74(19): 8793–8802.

Barbu, V and Dautry, F. (1989) "Northern blot normalization with a 28S rRNA olinucleotide probe" *Nucleic Acids Research*., 17(17): 7115–7115.

Barry, C.S., Llop-Tous, M.I., and Grierson, D.(2000) "The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato" *Plant Physiologycal*., 123, 979–986.

Batu, A. and Thompson, A. K. (1996) "Effects of modified atmosphere packaging on postharvest qualities of pink tomatoes" *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*., 22: 365–372.

Bhadauria V., Popescu L., Zhao W. S. and Peng Y. L. (2007) "Fungal transcriptomics" *Microbiological Research*., 162(4), 285-298.

Blankenship, S.M., Dole, J.M. (2003) "1-Methylcyclopropene: a review" *Postharvest Biology and Technology*., 28, 1–25.

Bleecker, A.B., Kende, H .(2000) "Ethylene a gaseous signal molecue in plants"Annals review

Bustin, S. A. (2000) "Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays" *Journal of molecular endocrinology.* 25(2):169–193.

Bustin, S. A., Benes, V., Nolan, T. and Pfaffl, M. W. (2005) "Quantitative real-time RT-PCR–a perspective" *Journal of molecular endocrinology*. 34(3): 597–601.

Caleb, O. J., Opara, U. L., and Witthuhn, C. R. (2012)"Modified atmosphere packaging of pomegranate fruit and arils: a review" *Food and Bioprocess Technology*., 5 (1), 15-30.

Cameron, A. C., and Reid, M. S. (2001)"1-MCP blocks ethylene-induced petal abscission of Pelargonium peltatum but the effect is transient" *Postharvest Biology and Technology*., 22 (2), 169-177.

Cantwell, M., and Suslow, T. (2002)"Lettuce, Romaine or Cos" *Recommendations for maintaining postharvest quality. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis, CA*, 95616-8683.*Cell Devision Biology*., 16, 1–18.

Cheng, Y., Dong,Y., Yan, H.,Wenya,G., Chngguo,Sh.,Junfeng, G. (2012) " Effect of 1-MCP on Cholorophyll degradation pathway –associated genes expression and choloroplast ultratructure during the peel yalloing of Chinese prar fruiya in storage" *Food Chemistry*.,135, 415–422.

Chillet, M., and de Bellaire, L. D. L. (1996) "Polybag packaging to control the anthracnose of banana" *Fruits*., 3 (51), 163-172.

Choi,S.T.and Bae, R. N.(2007) " Extending the postharvest quality of tomato fruit by 1-MCP application" *Korean J. Hoeticulture science Technology*.,25:6–11.

Clarke, R., and DeMoor, C. P. (1997) "The future in film technology: a tunable packaging system for fresh produce. In *Proc. 7th Int. Controlled Atm. Res. Conf., Univ. Calif., Davis* (Vol. 5, p. 68Á).

De Reuck, K., Sivakumar, D., and Korsten, L. (2009)" Integrated application of 1-methylcyclopropene and modified atmosphere packaging to improve quality retention of litchi cultivars during storage" *Postharvest Biology and Technology*, 52 (1), 71-77.

DeEll, J. R., Murr, D. P., Porteous, M. D., and Rupasinghe, H. V. (2002) "Influence of temperature and duration of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on apple quality" *Postharvest Biology and Technology*., 24 (3), 349-353.

Dong, Y., Liqin, L., Yingying, Zhang, and Junfeng, G.(2014) "Effects of 1-MCP on Softening, Yellowing and H۲O۲ Content in Post-harvest 'Jingbaili' Pear Fruit during and after Cold Storage" Horticulture Environment Biotechnology., 55(5):404–40.

Enferad, A., Poustini, K., Majnoun Hosseini, N., Taleei, A. and Khajeh-Ahmad-Attari, A. (2004)" Physiological responses of Rapseed(Brassica napus L.) varieties to salinity stress in Vegetative Growth Phase" *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*., 4 (7), 103-114. (In Farsi).

Esmaili, S . (2011) "Effect of modified atmosphere packaging on quality of pink tomato after harvesting. The 2 nd National of Food Security" *Islamic Azad University of Savadkouh. [In Persian]*.

Fabi, J. P., Cordenunsi, B. R., de Mattos Barreto, G. P., Mercadante, A. Z., Lajolo, F. M., and Oliveira do Nascimento, J. R. (2007) "Papaya fruit ripening: response to ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP)" *Journal of agricultural and food chemistry*, 55 (15), 6118-6123.

Fan, X., Argenta, L., and Mattheis, J.P. (2000) "Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene prolongs storage life of apricots" *Postharvest Biology and Technology*., 20 (2), 135-142.

FAO, 2016. Food and Agriculture organization of United Nations; Available from http:// faostat.fao.org.

Feng, X., Apelbam,A., Sisler,C., and Goren, R.(2000) " Control of ethylene responses in avocado fruit 1 –MCP" *Postharvest Biology and Technology.*, 20, 143–150.

Gentle, A., Anastasopoulos, F. and McBrien, N. A. (2001) "High-resolution semi-quantitative real-time PCR without the use of a standard curve" *Biotechniques*. 31(3): 502–504.

Ghasemnezhad, M., Nezhad, M. A., and Gerailoo, S. (2011)"Changes in postharvest quality of loquat (Eriobotrya japonica) fruits influenced by chitosan" *Horticulture Environment and Biotechnology*., 52 (1), 40-45.

Ginzinger, DG. (2002) "Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hits the mainstream" *Experientia Hematol*., 30: 503-512.

Giovannoni, J.J. (2004) "Genetic regulation of fruit development and ripening" *Plant Cell*., 16, S170 – S180.

Golding, J., Shearer, D., Wyllie ,S., McGalasson, W., S. (1999) " Relationships between respiration, ethylene, and aroma production in ripening banana. J. *Agriculture and food chemisteri*., 47,1646–1651.

Golding, J.B., Shearer, D., Wyllie, S.G., and McGlasson, W.B. (1998) "Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit" *Postharvest Biology and Technology.*, 14 87 – 98.

Gray, J., Picton, S., Shabbeer, J., Schuch, W., and Grierson, D.(1992) "Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes" *Plant Molcular and Biologycal.*, 19, 69–87.

Grierson, D., and Tucker, G. A. (1983) "Timing of ethylene and polygalacturonase synthesis in relation to the control of tomato fruit ripening" *Planta.*, 157 (2), 174-179.

Grnzinger, DG. (2002) "Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hist the mainstream" *Exm. Hematology*.30: 503–512.

Guillén, F., Castillo, S., Zapata, P. J., Martinez-Romero, D., Serrano, M., and Valero, D. (2007)"Efficacy of 1-MCP treatment in tomato fruit: 1. Duration and concentration of 1-MCP treatment to gain an effective delay of postharvest ripening" *Postharvest biology and technology.*, 43 (1), 23-27.

Hamilton, A.J., Lycett, G.W., Grierson, D.(1990) "Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants" *Nature* .,346, 284–287.

Hille, J., Koornneef, M., Ramanna, M. S., and Zabel, P. (1989)"Tomato a crop species amenable to improvement by cellular and molecular methods" *Euphytica.*, 42 (1-2), 1-23.

Hofman, P. J., Jobin-Decor, M., Meiburg, G. F., Macnish, A. J., and Joyce, D. C. (2001)"Ripening and quality responses of avocado, custard apple, mango and papaya fruit to 1-methylcyclopropene" *Australian Journal of Experimental Agriculture.*, 41(4), 567–572.

Jeziorek, K., Wozniak, M., and Tomala, K. (2010)"Response of 'golden delicious' apples to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) in conditions of normal and controlled atmosphere" *Journal of fruit and ornamental plant research.*, 18 (2), 223–237.

Jing , Y., Joyce, D.C., Mancish, A.J.(1999) " Responses of banana fruit to treatment With 1-MCP. *Plant Growth regulature.*, 28, 77–82.

Kader A. A; Zagoty D; and Kerbel E. L.(1989) "Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables" *Critical Review Food Science Nutrition.*, 28:1–30

Kader, A. and Watkins, C.B.(2000) “Modified atmosphere packaging- Towards 2000 and beyond” *Horticulture technology*., 10, 483–486.

Kawaura, K., K Mochida and Ogihara, Y. (2008) “ Genome-wide analysis for identification of salt-responsive gene in common wheat” Functione Integr. Genomics, 8(3): 277-286.

Ketsa, S., Wisutiankul, A., Wouter, G and doorn.(2013) “ Apparent synergim between the positive of 1-MCP and modified atmosphere on storage life on storage life of banana fruit” *Postharvest Biology and Technology*.,85, 173–178.

Ketsa, S., Wongs – aree, C., Klein, j.D. (2000) “ Storage life and quality of Kluai Khai banana fruit affected by modified atmosphere using bulk packaging. *Thai j agricultuee scince*., 33, 37–44.

Khan, A. S., and Singh, Z. (2008)”1-Methylcyclopropene application and modified atmosphere packaging affect ethylene biosynthesis, fruit softening, and quality of ‘Tegan Blue’Japanese plum during cold storage” *Journal of the American Society for Horticultural Science.*, 133 (2), 290–299.

Kieber, J.J., Rothenberg, M., Roman, G., Feldmann, K.A., and Ecker, J.(1993) ”CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Aarabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases”*Cell.*, 72, 427–441.

Klee, H.J., Giovannoni, J.J.(2011) “Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes” *Annual Review Genetics*., 45, 41–59.

Ku, V. V. V., Wills, R. B. H., and Ben-Yehoshua, S. (1999)”1-Methylcyclopropene can differentially affect the postharvest life of strawberries exposed to ethylene” *HortScience.*, 34 (1), 119–120.

Lelievere, J.M., Latche,A., Jones,B., Bouuzayen,M., Pech,J.C. (1997) “ Ethylene and fruit ripening” *Physiology plant*., 101, 727–739.

Liu, R., Lai, T., Xu, Y., and Tian, S. (2013)” Changes in physiology and quality of Laiyang pear in long time storage” *Scientia Horticulturae.*, 150, 31–36.

Liu, W. and. Saint, D. A. (2002) “A new quantitative method of real time reverse transcription polymerase chain reaction assay based on simulation of polymerase chain reaction kinetics” *Analytical biochemistry*., 302(1):52–59.

Livak K, J. and Schmittgen, T. D.(2001) “ Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method” *methods*., 25(4): 402–408.

Manenoi,A., Bayogan, E.R.V., Thumdee, S., Paull, R.E. (2007) “ Utiliti Of 1-methylcyclopropene as a Papaya postharvest treatment” *Postharvest Biology and Technology*. 44, 55–62.

Marino, J. H., Cook, P. and. Miller, K. S. (2003) “Accurate and statistically verified quantification of relative mRNA abundances using SYBR Green I and real-time RT-PCR” *Journal of immunological methods.* 283(1): 291–306.

Marsh, K., and Bugusu, B. (2007)”Food packaging—roles, materials, and environmental issues” *Journal of food science.*, 72 (3).

Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J. M., Serrano, M., and Valero, D. (2003)”1-Methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums” *Journal of agricultural and food chemistry*., 51(16), 4680–4686.

Massolo, J. F., Concellón, A., Chaves, A. R., and Vicente, A. R. (2011)”1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (Solanum melongena L.) fruit” *Postharvest Biology and Technology.*, 59 (1), 10–15.

Mattheis, J. P. (2008)”How 1-methylcyclopropene has altered the Washington State apple industry” *Horticulture Science.*, 43 (1), 99–101.

Mauriello, G. D. L. E., De Luca, E., La Storia, A., Villani, F., and Ercolini, D. (2005)”Antimicrobial activity of a nisin-activated plastic film for food packaging” *Letters in Applied Microbiology.*, 41(6), 464–469.

McMillin, K. W. (2008)” Where is MAP going?" A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat” *Meat science.*, 80(1), 43–65.

Mir, N.A., Curell, E., Khan, N., Whitaker, M., and Beaudry, R.M.(2001) "Harvest maturity, storage temperature, and 1-MCP application Frequency alter firmness retention and chlorophyll fluorescence of 'Redchief Delicious' apples" *Journal American Sociologia Horticulture Science*., 126, 618–624.

Moran, R. E., and McManus, P. (2005)"Firmness Retention, and Prevention of Coreline Browning and Senescence inMacoun'Apples with 1-Methylcyclopropene" *Horticulture Science*., 40(1), 161−163.

Moretti, C. L., Araújo, A. L., and Mattos, L. M. (2003)"Evaluation of different oxygen, carbon dioxide and nitrogen combinations employed to extend the shelf life of fresh-cut collard greens" *Horticultura Brasileira.*, 21(4), 676−680.

Mostofi, Y., Toivonen, P. M., Lessani, H., Babalar, M., and Lu, C. (2003)"Effects of 1-methylcyclopropene on ripening of greenhouse tomatoes at three storage temperatures" *Postharvest Biology and Technology*., 27 (3), 285−292.

Munoz, P., Rubio, P., Infante, R., Campos-Vargas, R., Manriquez,M., Gonzalez-Aguro and Defilippi,B.G.(2012) " Ethylene biosynthesis in apricot: Identification of a ripening – related 1− aminocyclopropane−1− carboxylic acid synthase(ACS) Gene" *Postharvest Biology and Technology*.,63, 85−90.

Nakatsuka, A., Murachi, S., Okunishi, H., Shiomi, S., Nakano, R., Kubo, Y., and Inaba, A.(1998) "Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening" *Plant Physiol*., 118, 1295–1305.

Nakhasi, S., Schlimme, D., and Solomos, T. (1991)" Storage potential of tomatoes harvested at the breaker stage using modified atmosphere packaging" *Journal of Food Science.*, 56(1), 55−59.

Nguyen-the, C., and Carlin, F. (1994)" The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables"*Tritical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 34 (4), 371−401.

Oorailul, B. and Stiles, M. E.(1990) " Modified Atmosphere Packaging of Foods"

Park, H. J., Chinnan, M. S., and Shewfelt, R. L. (1994) "Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes" *Journal of Food Science.*, 59 (3), 568–570.

Pfaffl , MW., Horgan GW., Dempfle, L.(2002) " Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR" *Nucl Acids research*: 30:e36.

Pfaffl, M. W., Tichopad, A., Prgomet, C. and Neuvians, T. P. (2004) "Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper–Excel-based tool using pair-wise correlations" *Biotechnology letters.* 26(6):509–515.

Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goren, R., and Droby, S. (1999) "Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of 'Shamouti'oranges" *Postharvest biology and technology.*, 15 (2), 155–163.

Raei, M., and Jafari, M. (2011)" Influence of different packaging materials and storage conditions on the quality attributes of pistachio (Pistacia vera L.)

Ranjbar, E.(2011) "The Efect of Modified Atmosphere Packaging on Storability and Quality Maintaining of Sweet Cherry "Lambert" and Takdaneie Mashhad" *University of Tehran. Karaj. Iran.*

Rhim, J. W., Park, H. M., and Ha, C. S. (2013) "Bio-nanocomposites for food packaging applications" *Progress in Polymer Science.*, 38 (10), 1629–1652.

Richard, C. (2003). "Food packaging Technology. Blackwell Publishing" CRC Press. N.Y. 363P.

Sami, S. and Masoud T. (2007) "Effect of different packaging systems on storage life and quality of tomato (Lycopersicon esculentum var. Rio Grande) during different ripening stages" *Internet Journal of Food Safety*, Vol.9, 2007, p. 37–44.

Schaffer, R.J., Friel, E.N., Souleyre, E.J.F., Bolitho, K., Thodey, K., Ledger, S., Bowen, J.H., Ma, J.H., Nain, B., Cohen, D., Gleave, A.P., Crowhurst, R.N., Janssen, B.J., Yao, J.L., and Newcomb, R.D.(2007) "A genomics approach reveals that

aroma production in apple is controlled by ethylene predominantly at the final step in each biosynthetic pathway" *Plant Physioogia.,* 144, 1899–1912.

Selvarajah, S., Bauchot, A. D., and John, P. (2001) "Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene"*Postharvest biology and technology.,* 23 (2), 167−170.

Serek, M., Prabucki, A., Sisler, E. C., and Andersen, A. S. (1998) "Inhibitors of ethylene action affect final quality and rooting of cuttings before and after storage" *Horticuulture Science.,* 33(1), 153−155.

Sisler, E. C., and Serek, M. (1997) "Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level": recent developments. *Physiologia plantarum.,* 100 (3), 577−582.

Smith, S., Geeson, J., and Stow, J. (1987)"Production of modified atmospheres in deciduous fruits by the use of films and coatings" *Horticultural Science (USA).*

Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., and Bigger, S. W. (2003)"Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications" *Journal of food science.,* 68(2), 408−420.

Taghizadeh, M., Gowen, A., Ward, P., and O'Donnell, C. P. (2010) " Use of hyperspectral imaging for evaluation of the shelf-life of fresh white button mushrooms (Agaricus bisporus) stored in different packaging films" *Innovative Food Science and Emerging Technologies.,* 11(3), 423−431.

Tatsuki, M., Endo, A.(2006) "Analyses of expression patterns of ethylene receptor genes in apple (Malus domestica Borkh.) fruits treated with or without 1-methylcyclopropene (1-MCP)" *Journal Japan Society Horticulture Science* ., 75(6), 481–487.

Tatsuki, M., Endo, A. and Ohkawa, H. (2007) "Influence of time from harvest to 1-MCP treatment on apple fruit quality and expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors*" Postharvest Biology and Technology.,* 43 (2007) 28–35.

Themmen, A. P., Tucker, G. A., and Grierson, D. (1982) ”Degradation of isolated tomato cell walls by purified polygalacturonase in vitro” *Plant Physiology.*, 69 (1), 122–124.

Theologis, A.(1994) ”Control of ripening" *Current Opinion in Biotechnology*., 5 (2), 152–157.

Thompson, A. K., Been, B. O. and Perkins, C. (1972) “ Handling, storage and marketing of plantains Proceedings” *of the Tropical Region of the American Society of Horticultural science.*, 16, 205–212.

Tichopad , A., Dilger M., Schwarz, G. and PfafflM, W.(2003)“Standardized determination of real time PCR efficiency from a single reaction setup” *Nucleic Acids Research*., 31(20): e122-e122.

Trinchero, G.D. Sozzib, G.O. Covattab, F. Fraschina, A.A. (2004) “Inhibition of ethylene action by 1-methylcyclopropene extends postharvest life of “Bartlett” pears” *Postharvest Biology and Technology.,* 32 (2004) 193 –204

Vandesompele , J., De Paepe, A., and Seleman, D. (2002) “ Elimination of primer -dimer artifacts and genomic amplification using a two-step SYBR green I real-time RT-PCT” *Analytische Biochemical*.,303:95-98.

Vidrih, R., Hribar, J., and Zlatic, E. (2011) ”The aroma profile of apples as influenced by 1-MCP” *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research.*, 19 (1), 101–111.

Wakasa, Y., Kudo, H., Ishikawa, R., Akada, S., Senda, M., Niizeki, M., and Harada, T.(2006)" Low expression of an endopolygalacturonase gene in apple fruit with long-term storage potential” *Postharvest Biology and Technology*., 39(2), 193–198.

Wang, Y., Xie, X., Song, J., and Sugar, D. (2005) “Ethylene synthesis, ripening capacity, and superficial scald inhibition in 1-MCP treated ‘d’Anjou’ pears are affected by storage temperature” *Postharvest Biology and Technology*. 97, 1–10.

Watkins, C. B. (2006)”The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables” Biotechnology *advances.*, 24(4), 389–409.

Watkins, C. B., Nock, J. F., and Whitaker, B. D. (2000) ”Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1–methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions” *Postharvest Biology and Technology.*, 19 (1), 17–32.

Watkins, C.B., Nock, J.F., Whitaker, B.D. (2000) “ Responses of early, mid and late seasone apple cultivars ti postharvest application of 1-MCP under air and controlled atmosphere storage condition” *Postharvest Biology and Technology.*, 19,17–32

Weiberg A., and Karlovsky P. (2009) “Components of variance in transcriptomics based on electrophoretic separation of cDNA fragments (cDNA-AFLP) “*Electrophoresis*., 30(14): 2549–2557.

Weis, SA, Bramlage, WJ. (2002) “ 1-MCP: How useful can it be on New England apples? Fruit “ *Notes*., 67: 59.

Wills, R. B. H., and Ku, V. V. V. (2002) ”Use of 1-MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes” *Postharvest Biology and Technology.*, 26 (1), 85–90.

Wills, R., B. McGlasson, D. Graham and D. Joyce.(1998) “Postharvest: An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit, Vegetables and Ornamentals" 4 th ed., Hyde Park Press, Australia.

Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., Joyce, D., editors.(1998) “ Postharvest: An Introduction to the Physiology and Handling of Fruit, Vegetables and Ornamentals” 4th ed. New *York: CAB International* .

Win, T. O., Srilaong, V., Heyes, J., Kyu, K. L., and Kanlayanarat, S. (2006) ”Effects of different concentrations of 1-MCP on the yellowing of West Indian lime (Citrus aurantifolia, Swingle) fruit” *Postharvest Biology and Technology.*, 42(1), 23–30.

Wong , M.L., and Medrano, J. F(2005) “ Real time PCR for mRNA quantification. Biotechniques” 39(1): 1-11.

Yang, x., Song, J., Campbell-Plamer, L., Fillmore, S. and Zhang, Z.(2013) Effect of ethylene and 1-MCP on expression of genes involved in ethylene biosynthesis and perception during ripening of apple fruit" *Postharvest Biology and Technology*., 78, 55–66.

Yang, x., Song, J., Campble-palmer, L., Filmore,S., Zhang, Z.(2013) " Effect of ethylene and 1-MCP on expression of genes involved in ethylene biosynthesis and prerception during ripening of apple fruit" *Postharvest Biology and Technology*.,78 , 55–66.

Zhang, S., Chachin, K., and Iwata, T. (1991) "Effects of polyethylene packaging and ethylene absorbent on storage of mature-green mume (Prunus mume Sieb. et Zucc.) fruits at ambient temperature" *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.*, 60 (1), 183–190.

Zhang, Z., Huber, D. J., Hurr, B. M., and Rao, J. (2009) "Delay of tomato fruit ripening in response to 1-methylcyclopropene is influenced by internal ethylene levels" *Postharvest Biology and Technology.*, 54 (1), 1–8.

Zhang, Z., Tian, S., Zhu, Z., Xu, Y., and Qin, G. (2012) "Effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on ripening and resistance of jujube (Zizyphus jujuba cv. Huping) fruit against postharvest disease" *LWT-Food science and technology*., 45(1), 13–19.

Zhou, T., Tan, W.R., Deng, X.G., Zheng, T., Zhang, D.W. and Lin, H .H.(2015) "Effects of brassinosteroids on quality attributes and ethylene synthesis in postharvest tomato fruit" *Postharvest Biology and Technology*., 100, 196–204.

Zhu, X., Shen, L., Fu, D., Si, Z., Wu, B., Chen, W and Li, X. (2015) "Effects of the combination treatment of 1-MCP and ethylene on the ripening of harvested banana fruit" *Postharvest Biology and Technology.* 107, 23–32.

Abstract

This study was conducted in order to investigate the effect of 1-MCP and modified atmosphere packaging on some characters of two purified tomato cultivars (Tomato Black cherry (VEG788), Tomato Orange Berry (VEG241) and to evaluate the expression profiling of few genes involved in the ethylene biosynthesis. In the current study, tomatoes were harvested at the braker stage from field. Experiment was done as a factorial design in a completely randomized design. The first factor was two tomato lines and the second factor includes film, film with 1-MCP and control and The third factor consists of four times. The assay was performed in three replications and they were stored at 20^{o}C during 16 days of storage period. The obtained results showed that there were significant differences between control treatment and other mentioned ones in terms of Weight loss, pH, Soluble solids, Firmness and Chlorophyll). In gene expression profiling section, gene expression pattern of four genes involved in ethylene biosynthesis (*ACO1, ACO5, ACS4* and *SAM1)* were investigated. The gained results demonstrated that the film and film with 1-MCP treatments reduced the expression level of mentioned genes compared with that of control. In total, the results showed that the film and film with 1-MCP treatments delayed the he process of the ripening and senescence of tomato fruit.

Key words: Tomato, 1-MCP, Modified atmosphere, Gene expression and Ethylene

Faculty of Agriculture

M.Sc. Thesis in postharvest Physiology and Technology of

Horticultural Products

Study on physiological, biochemical and molecular characteristic of tomato lines with low shelf-life

By: Asma Jafar Daghighi

Supervisores

Dr. Hojatollah Bodaghi

Dr. Amin Ebrahimi

Advisor

Dr. Ziba Ghasimi Hagh

January 2018

.