

## Effect of Melatonin Treatment on Post-Harvest Life of Broccoli During Storage

Sheida Shahbazi<sup>1</sup>, Ali Asghar Hatamnia<sup>2\*</sup>, Parviz Malekzadeh<sup>3</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran.

\*Corresponding author: a.hatamnia@ilam.ac.ir

(Received: 05 September 2022

Revised: 15 October 2022

Accepted: 25 October 2022)

### Extended Abstract

**1. Introduction:** Broccoli (*Brassica oleracea*) belong of the Brassicaceae family, contains high levels of bioactive compounds, such as vitamin C, phenolic compounds, and glucosinolates. These nutrients have antimicrobial, antioxidant and anti-cancer properties. However, broccoli can usually be stored for several days during transport or at the time of sale in the store or after purchase by consumers. During this period, their flowers start to turn yellow and their nutritional content decreases rapidly. In order to delay the aging stage in broccoli, various methods such as changing the atmosphere of the storage place, irradiating red light, the effect of plant hormones and treating chemical compounds can be used to maintain the appearance quality of broccoli and delay the aging stage. Various chemical compounds have been used to delay the aging stage in broccoli, but choosing a compound that has the least harmful effect on human health is one of the main priorities of scientists active in this field. One of these chemical compounds that has the least negative effects on health is melatonin. The purpose of this study is to investigate the effect of melatonin treatment on physiology after harvesting broccoli during storage.

**2. Materials and Methods:** In a primary experiment, broccoli was treated with 10, 25, 50, 100, 250, 400 and 600  $\mu\text{mol/L}$  melatonin. Primary test results showed that 100  $\mu\text{mol/L}$  melatonin had a significant effect on post-harvest appearance quality. Therefore, the 100  $\mu\text{mol/L}$  melatonin treatment was used as a reference for more extensive studies in this paper. In this study a factorial experiment was conducted using a randomized completely design with three replication. Broccoli was divided into control and treatment groups, and after 20 minutes immersion in 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  as treatment and distilled water as control. Then it was kept at a temperature of  $4\pm 1$  °C for 4 weeks. In this research, the indicators of weight loss percentage, content of photosynthetic pigments, the activity level of antioxidant enzymes, the content of free radicals, and the amount of phenolic, flavonoid, vitamin C, and glucosinolate in weeks 0, 1, 2, 3 and 4 were evaluated after storage and with three repetitions.

**3. Results and Discussion:** The results of this research showed that broccoli treatment with melatonin was more effective in maintaining fresh weight during storage than the control. In the first to fourth weeks, the percentage of weight loss in the control group was 1.26, 1.57, 2.19 and 2.23 times higher than the melatonin-treated group, respectively. The results indicated that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the content of chlorophyll a and b in different weeks of storage between the control and the melatonin-treated groups. The melatonin treatment can increase the content of chlorophyll a, b and total chlorophyll by suppressing the activity of chlorophyllase enzyme. So that, melatonin treatment led to a decrease in chlorophyllase enzyme activity, and this decrease in the fourth week in the melatonin-treated group was about 47.8% less than the control group. The results indicated that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the content of vitamin C and glucosinolate between control and the melatonin-treated groups in during storage. Compared with control group, significantly higher total phenolic content was observed in the melatonin-treated group in during of storage. Comparison of means showed that the content of flavonoids in broccoli treated with melatonin showed a general increasing trend, so that in the fourth week, the content of flavonoids in the treatment group was 3.67 times that of the control group. Measuring the activity of antioxidant enzymes showed that melatonin treatment was able to reduce the content of superoxide free radicals by increasing the activity of superoxide dismutase enzyme, so that in the group treated with melatonin, SOD activity increased by 35% and 47.6% in the third and fourth weeks, respectively.

**4. Conclusion:** In general, the effect of melatonin on broccoli is associated with increasing the activity of antioxidant enzymes and suppressing the activity of chlorophyll-degrading enzymes, which reduced the content of reactive oxygen species and increased the content of chlorophyll. Based on the data obtained in the present study, as a result of the increase in phenolic and flavonoid compounds, antioxidant enzymes and also antioxidant compounds such as vitamin C and glucosinolate, it improves the quality of broccoli. Generally, it seems that post-harvest treatment with melatonin can be a useful method to maintain the appearance as well as the quality and nutrient levels of stored broccoli and increase its useful life.

**Keywords:** Broccoli, Chlorophyllase, Free radical, Melatonin, Vitamin C.

**Citation:** Shahbazi, S., Hatamnia, A. A. & Malekzadeh, P. (2023). Effect of melatonin treatment on post-harvest Life of broccoli during storage. *Journal of Vegetables Sciences*, 6(2), 57-72.  
doi: 10.22034/iuvs.2022.561508.1233.

### Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).



## تأثیر تیمار ملاتونین بر عمر پس از برداشت کلم بروکلی در طی انبارمانی

شیدا شهبازی<sup>۱</sup>، علی اصغر حاتم‌نیا<sup>۲\*</sup>، پرویز ملک‌زاده<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران.

\*نویسنده مسئول: a.hatamnia@ilam.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۴

## چکیده

کلم بروکلی به دلیل حساس بودن به صدمات حمل و نقل و کاهش رطوبت، عمر انبارمانی کوتاهی دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تیمار ملاتونین بر فیزیولوژی پس از برداشت کلم بروکلی در طی انبارمانی بود. کلم بروکلی در دو گروه شاهد و تیمار در آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. پس از ۲۰ دقیقه غوطه‌وری در ۱۰۰ میکرومول بر لیتر به‌عنوان تیمار و آب مقطر به‌عنوان شاهد؛ به مدت ۴ هفته در دمای  $4 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این پژوهش شاخص‌های درصد کاهش وزن، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای رادیکال‌های آزاد و میزان فنول کل و فلاونوئید و ویتامین ث و گلوکوزینولات در هفته‌های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ پس از انبارمانی و با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار ملاتونین از طریق سرکوب فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌تواند محتوای کلروفیل a و b را افزایش دهد. همچنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان داد که تیمار ملاتونین از طریق افزایش میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، توانست محتوای رادیکال آزاد سوپراکسید را کاهش دهد. به‌طور کلی، در گروه تیمار شده با ملاتونین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در هفته سوم و چهارم به ترتیب ۳۵ و ۴۷/۶ درصد نسبت به روز اول افزایش یافت. نتایج نشان دادند که تیمار ملاتونین می‌تواند از طریق افزایش محتوای ترکیبات حفاظتی سلول و همچنین اثر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان روی ماندگاری پس از برداشت کلم بروکلی مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: بروکلی، کلروفیلاز، رادیکال آزاد، ملاتونین، ویتامین ث.

استناد: شهبازی، ش.، حاتم‌نیا، ع. و ملک‌زاده، پ. (۱۴۰۱). تأثیر تیمار ملاتونین بر عمر پس از برداشت کلم بروکلی در طی انبارمانی. علوم سبزی‌ها، ۶ (۲)، ۷۲-۵۷.

## حق چاپ:



حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به‌صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل‌دسترس است.

## مقدمه

کلم بروکلی (*Brassica oleracea*)، گیاهی از خانواده Brassicaceae، حاوی سطوح بالایی از ترکیبات فعال زیستی برای سلامتی، همچون ویتامین‌ث، ترکیبات فنولی و گلوکوزینولات‌ها است (Han et al., 2019). این مواد مغذی دارای خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی هستند (Zandani et al., 2021). با این حال، کلم بروکلی معمولاً به مدت چند روز در حین حمل و نقل یا در زمان فروش در مغازه و یا پس از خرید توسط مصرف‌کنندگان قابل نگهداری می‌باشد. در این دوره گلچه‌های آنها شروع به زرد شدن می‌کند و محتوای غذایی آنها به سرعت کاهش پیدا می‌کند (Guo et al., 2022).

جهت تأخیر مرحله پیری در کلم بروکلی روش‌های مختلفی استفاده شده است؛ از جمله تغییر اتمسفر محل نگهداری، تاباندن نور قرمز، اثر هورمون‌های گیاهی و تیمار ترکیبات شیمیایی روش‌هایی هستند که برای حفظ کیفیت ظاهری کلم بروکلی و تأخیر در مرحله پیری گزارش شده‌اند (Aghdam et al., 2021; Wu et al., 2022). جهت جلوگیری از پیری زودرس محصولات کشاورزی و سبزیجات نیاز مداوم به شناسایی یک روش زیستی و مؤثر وجود دارد که سطح مواد مغذی موجود در محصولاتی همانند کلم بروکلی برداشت شده را در حد قابل قبول حفظ کند. برای به تأخیر انداختن مرحله پیری در کلم بروکلی از ترکیبات شیمیایی استفاده زیادی شده است؛ اما انتخاب ترکیبی که دارای کمترین اثر مضر روی سلامتی انسان باشد یکی از اصلی‌ترین اولویت‌های پژوهشگران فعال در این زمینه می‌باشد (El-Beltagi et al., 2022; Hu et al., 2021; Xu et al., 2022).

ملاتونین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مؤثر در تنش سرما، یک پاک‌کننده رادیکال آزاد در گیاهان، تنظیم‌کننده رشد و مؤثر در تنش اکسیداتیو شناخته می‌شود (Cao et al., 2018; Liu et al., 2022). به‌علاوه، کاربرد برونزاد ملاتونین از طریق تأثیر در چرخه یانگ و میزان تولید هورمون اتیلن سبب کنترل مرحله

رسیدن میوه موز می‌شود (Hu et al., 2022). در میوه توت‌فرنگی، تیمار ملاتونین با مهار سنتز اتیلن، آسیب ناشی از سرما را کاهش داد (Hayat et al., 2022). به‌علاوه، قرار گرفتن در معرض ملاتونین باعث کاهش آسیب سرما و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های گوجه‌فرنگی (Delgado-Vargas et al., 2022)، هلو (Cao et al., 2018; Wang et al., 2022c) و انگور (Xu et al., 2018) شد. پیش تیمار ملاتونین در میوه هلو با کاهش مقدار پراکسید هیدروژن تحمل به سرما را افزایش داد (Cao et al., 2016; Wang et al., 2022c).

اطلاعات کمی در مورد اثر ملاتونین برونزاد بر فیزیولوژی پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات در طی انبارمانی در دسترس است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تیمار ۱۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین بر محتوای مواد مغذی همچون ویتامین‌ث و گلوکوزینولات، متابولیسم آنتی‌اکسیدانی، محتوای کلروفیل و آنزیم دخیل در تجزیه کلروفیل می‌باشد که این ترکیبات اثر آشکاری روی بازارپسندی و سلامت کلم بروکلی دارند.

## مواد و روش‌ها

## آماده سازی و آنالیز اولیه

در این مطالعه کلم بروکلی در مرحله بلوغ تجاری (۱۰۰ روز پس از کاشت) مورد استفاده قرار گرفت. در این مرحله گلچه‌ها هنوز بسته و به رنگ سبز تیره و گل آذین فشرده بود. کلم بروکلی از یک مزرعه سبزی‌های محلی برداشت شد و در مدت سه ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. هدهای کلم بروکلی با رنگ یکنواخت و فاقد زخم ناشی از آسیب مکانیکی، یا آسیب آفات حشرات برای استفاده به‌عنوان نمونه در آزمایش انتخاب شدند.

در یک آزمایش اولیه، هدهای کلم بروکلی با ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین تیمار شدند. نتایج آزمایش اولیه نشان داد که ۱۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین اثر قابل توجهی بر کیفیت ظاهری پس از برداشت داشت (نتایج آزمایش اولیه آورده نشده). بنابراین، تیمار ملاتونین ۱۰۰

به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس مقادیر جذب با فرمول زیر محاسبه شد:

$$a = (2/59 \times A_{645}) - (12/73 \times A_{663}) = \text{محتوای کلروفیل } a$$

$$b = (4/67 \times A_{663}) - (22/87 \times A_{645}) = \text{محتوای کلروفیل } b$$

$$m = [(v \times (\text{کلروفیل } a + \text{کلروفیل } b)) / (1000)] = \text{محتوای کلروفیل کل}$$

در فرمول بالا،  $A_{645}$ ، جذب در طول موج ۶۴۵؛  $A_{663}$ ، جذب در طول موج ۶۶۳؛  $v$  حجم عصاره و  $m$  وزن نمونه است. محتوای کلروفیل  $a$  و  $b$  براساس میلی‌گرم در هر گرم وزن تر میوه بیان گردید.

فعالیت آنزیم کلروفیلاز بر اساس روش توصیف شده اندازه‌گیری شد (Mihailović et al., 1997). ۳ گرم نمونه پوست منجمد در ۵ میلی‌لیتری بافر استخراج استون که حاوی بافر فسفات پتاسیم (۵ میلی‌مول بر لیتر و  $\text{pH}=7$ )، ۵۰ میلی‌مول بر لیتر  $\text{KCl}$  و ۰/۲۴ درصد تریتون X-100 به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد همگن شد. مخلوط حاصله به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد؛ سپس مخلوطی از ۰/۳ میلی‌لیتر محلول رویی، ۰/۲ میلی‌لیتر سوپسترا (۱ میکرومول بر میلی‌لیتر  $\text{Chl a}$  یا  $\text{Chl b}$ ) و ۲ میلی‌لیتر بافر واکنش حاوی ۱۰۰ میلی‌مول در لیتر فسفات سدیم ( $\text{pH}=7$ ) و ۰/۲۴ درصد تریتون X-100 به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس واکنش با ۰/۵ میلی‌لیتر  $\text{KOH}$  ۱۰ میلی‌مول بر لیتر متوقف شد. پس از واکنش، ۱ میلی‌لیتر از مخلوط با ۵ میلی‌لیتر حلال هگزان/ استون (۳:۲، حجم/حجم) مخلوط شد تا داخل کلروفیل از بین برود. جهت تعیین فعالیت آنزیم کلروفیلاز؛ مقدار جذب در طول موج ۶۶۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

#### محتوای ویتامین ث و گلوکوزینولات

محتوای ویتامین ث با استفاده از روش اسپکتروفتومتری آمونیوم وانادات مولیبدات که توسط Gao و همکاران (۲۰۱۶) توصیف شده است، تعیین شد. محتوای

میکرومول بر لیتر به‌عنوان مرجع برای مطالعات گسترده‌تر در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. در آزمایش اصلی، هدهای کلم بروکلی (۷۲ عدد) به طور تصادفی به دو گروه حاوی ۳۶ هد کلم بروکلی تقسیم شدند. یک گروه در محلول ۱۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین در دمای آزمایشگاه به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شدند، در حالی که گروه دیگر در آب مقطر غوطه‌ور شدند (گروه شاهد). هدهای کلم بروکلی تیمار شده در معرض هوا در آزمایشگاه خشک شدند و سپس در کیسه‌های پلی اتیلن به ضخامت ۰/۰۴ میلی‌متر قرار داده شدند و در دمای  $4 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز نگهداری شدند. ویژگی‌های ظاهری مانند کاهش وزن مورد ارزیابی قرار گرفت. گلچه‌های شش عدد کلم بروکلی هر هفته از هر یک از دو گروه آزمایش جدا می‌شدند و به سرعت در نیتروژن مایع منجمد شده و پیش از تجزیه و تحلیل بعدی در دمای  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آنالیزها شامل اندازه‌گیری سطوح عناصر غذایی، اندازه‌گیری محتوای کلروفیل، فنول و فلاونوئید و ویتامین ث و همچنین اندازه‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی و آنزیم تجزیه‌کننده کلروفیل بود. در این مطالعه از دستگاه اسپکتروفتومتر Optizen 3220 UV؛ ساخت کره جنوبی استفاده گردید. در هر آزمایش از سه تکرار از گروه‌های تیمار شده و تیمار نشده کلم بروکلی استفاده شد.

#### میزان کاهش وزن

شش هد کلم بروکلی تازه از هر تکرار و از هر تیمار برای تعیین میزان کاهش وزن انتخاب شد. درصد کاهش وزن با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Jiao et al., 2022):

$$100 \times \text{وزن اولیه} / (\text{وزن روزانه} - \text{وزن اولیه}) = (\%) \text{ درصد کاهش وزن}$$

#### محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم کلروفیلاز

محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید با استفاده از بافت میوه و استخراج کلروفیل به کمک استون ۸۰ درصد اندازه‌گیری شد (Malekzadeh, 2015). مقدار جذب

۱۵ دقیقه در دور  $10000 \times$  گرم و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از آن، ۱ میلی‌لیتر مایع رویی به ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با  $\text{pH}=7.8$  و ۱ میلی‌لیتر هیدروکسیل‌آمین هیدروکلراید (۱ میلی‌مولار) اضافه شد. پس از نگهداری به مدت ۱ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۱ میلی‌لیتر ۴-آمینو بنزن سولفونیک اسید ۱۷ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر آلفا-نفیتیل آمین ۷ میلی‌مولار به مخلوط واکنش اضافه شد. سپس اثر به مخلوط اضافه شد تا اجازه دهد به دو لایه جدا شود تا از هرگونه تداخل اندازه‌گیری به دلیل وجود رنگدانه‌ها جلوگیری شود. جذب فاز آبی پایین‌تر و صورتی در طوم موج ۵۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای  $\text{H}_2\text{O}_2$ ، ۵ گرم پودر کلم بروکلی منجمد در ۵ میلی‌لیتر استون از قبل خنک شده همگن شد. سپس مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دور  $10000 \times$  گرم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پس از آن، یک میلی‌لیتر از مایع رویی به ۱/۰ میلی‌لیتر اسید تیتانیوم تتراکلراید هیدروکلریک اسید ۱۰ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم اضافه شد، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور  $10000 \times$  گرم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده بارها با استون سرد شسته و در ۳ میلی‌لیتر  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ۲ مولار حل شد. محتوای  $\text{H}_2\text{O}_2$  با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر تعیین شد.

### میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT

فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) با استفاده از روش Cao و همکاران (۲۰۱۸) تعیین شد.

### تحلیل آماری

تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (25) انجام شد. داده‌های هر آنالیز تحت تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) قرار گرفتند و

ویتامین‌ث با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. محتوای گلوکوزینولات‌ها با استفاده از روش Guo و همکاران (۲۰۱۶) اندازه‌گیری شد. مقدار گلوکوزینولات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با جذب مخلوط واکنش در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد.

### محتوای فنول کل و فلاوونوئید

فنول کل و فلاوونوئید با استفاده از روش توصیف شده اندازه‌گیری شدند (Gao et al., 2016). به‌طور خلاصه، ۰/۵ گرم کلم بروکلی به ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (حجم/حجم) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه تحت فراصوت قرار گرفت. سپس مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دور  $10000 \times$  گرم سانتریفیوژ شد و از مایع رویی جهت آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش برای فنول کل شامل یک میلی‌لیتر مایع رویی، یک میلی‌لیتر معرف Folin-Ciocalteu و ۲ میلی‌لیتر  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ۱۵ درصد (وزنی/حجمی) بود. سپس آب مقطر اضافه شد تا به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر برسد. جذب مخلوط واکنش پس از ۱ ساعت نگهداری در دمای اتاق در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Optizen 3220 UV؛ ساخت کره جنوبی) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فلاوونوئید، ۱ میلی‌لیتر مایع رویی به ۱ میلی‌لیتر  $\text{NaNO}_2$  ۵ درصد (وزنی/حجمی) و ۰/۲۵ میلی‌لیتر ۱۰ درصد (وزنی/حجمی)  $\text{AlCl}_3$  اضافه شد. متعاقباً، یک میلی‌لیتر  $\text{NaOH}$  یک مولار به مخلوط واکنش اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد.

### محتوای رادیکال سوپراکسید ( $\text{O}_2^-$ ) و پراکسید

#### هیدروژن $\text{H}_2\text{O}_2$

مقدار تولید آنیون‌های سوپراکسید ( $\text{O}_2^-$ ) و پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) در طی دوره انبارمانی طبق روش توصیف شده، اندازه‌گیری شد (Gao et al., 2016). پنج گرم نمونه کلم بروکلی در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با  $\text{pH}=7.8$  همگن شدند، سپس به مدت

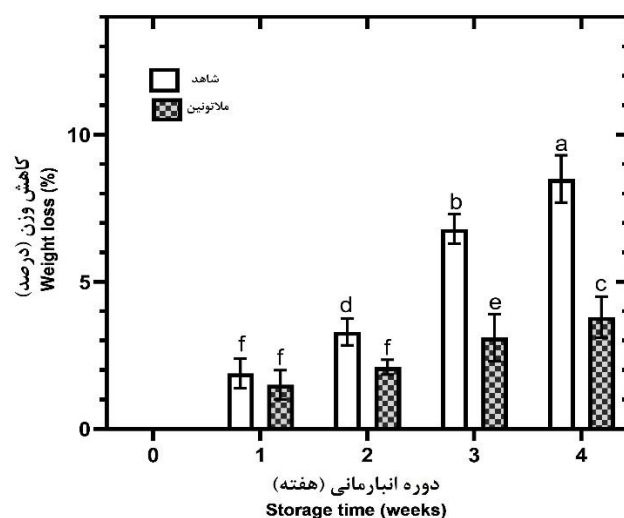
وزن در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین نسبتاً پایین و با یک روند کاهشی ملایم‌تری بود، به طوری که از هفته دوم تا چهارم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در ارتباط با درصد کاهش وزن بین گروه تیمار و شاهد مشاهده شد (شکل ۱). در پایان به ترتیب در هفته‌های اول تا چهارم درصد کاهش وزن در گروه شاهد نسبت به تیمار شده با ملاتونین به ترتیب ۱/۲۶، ۱/۵۷، ۲/۱۹ و ۲/۲۳ برابر بیشتر بود. کلم بروکلی نرخ تنفس پس از برداشت نسبتاً بالایی دارد و این امر موجب سرعت بخشیدن به فرآیندهای مربوط به بلوغ یا پیری، افزایش سرعت از دست دادن آب در کلم بروکلی و افزایش سرعت زرد شدن گلچه‌های کلم بروکلی می‌گردد (Wu et al., 2022). در مطالعه حاضر، تیمار کلم بروکلی در محلول ملاتونین، سرعت کاهش وزن را تعدیل کرد، که این امر در به تأخیر انداختن پیری کلم بروکلی برداشت شده در طی انبارمانی مؤثر بود.

میانگین جداسازی‌ها با آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  مقایسه شد. داده‌های ارائه شده نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است.

## نتایج و بحث

### تأثیر تیمار ملاتونین بر کاهش وزن تازه

در طول ۴ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، کیفیت شکل ظاهری کلم بروکلی با یک روند ثابتی کاهش یافت. با این حال، کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین در مقایسه با گروه شاهد بعد از ۴ هفته دارای کیفیت بهتری بود. تیمار کلم بروکلی با ملاتونین در حفظ وزن تازه در طول ذخیره‌سازی، نسبت به شاهد بسیار مؤثر بود (شکل ۱). از هفته دوم نگهداری، درصد کاهش وزن تر کلم بروکلی در گروه شاهد یک روند کاهشی سریع داشت در حالی که میزان از دست دادن



شکل ۱- اثرات تیمار ملاتونین بر درصد کاهش وزن کلم بروکلی در طی انبارمانی (ستون‌ها با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌داری هستند).

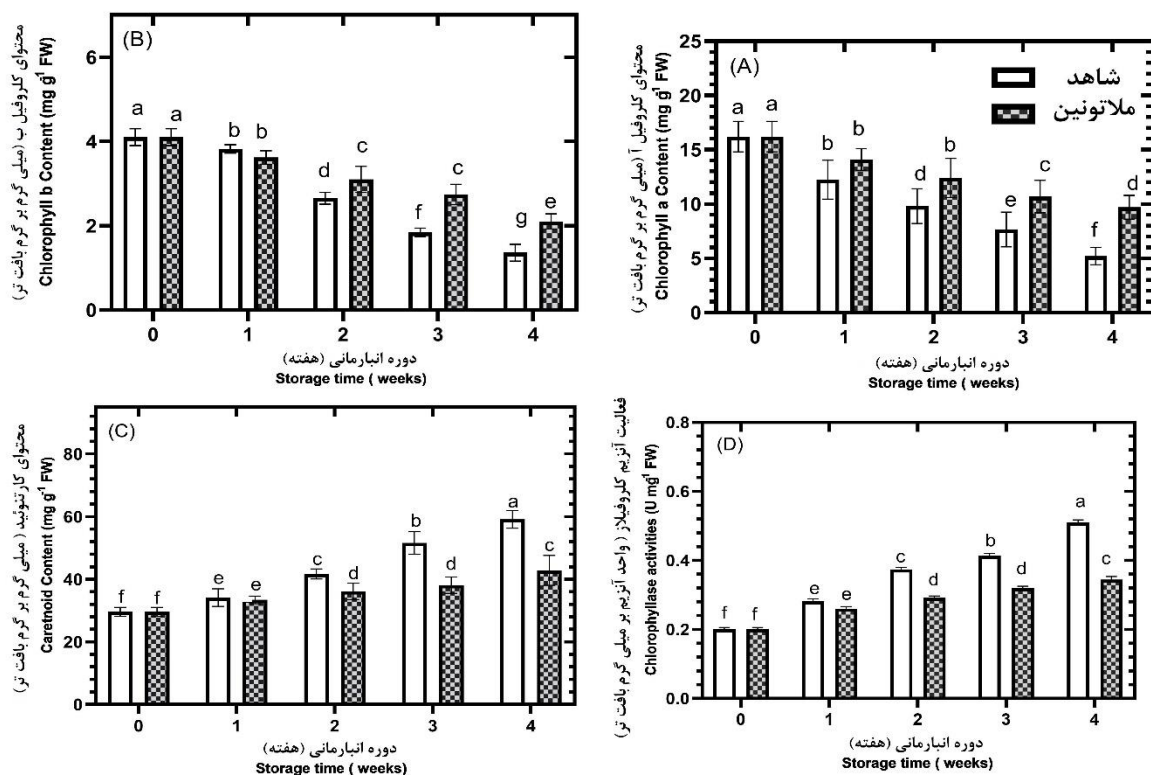
Figure 1- The effect of melatonin treatment on weight loss percentage of broccoli during storage period (Column with the different letters are significant differences at  $p < 0.05$ ).

همانطور که شکل ۲-A نشان می‌دهد محتوای کلروفیل a در گروه تیمار شده با ملاتونین در هفته اول، دوم، سوم و چهارم به ترتیب ۱۲/۹۶، ۲۳/۴۵، ۳۴ و ۴۰/۱ درصد نسبت به روز اول کاهش یافت در حالی که این مقدار کاهش در گروه شاهد به ترتیب ۲۴/۴، ۳۹/۵، ۵۲

تأثیر تیمار ملاتونین بر محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم کلروفیل‌از در کلم بروکلی همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد محتوای کلروفیل کلم بروکلی در هر دو گروه شاهد و تیمار شده با ملاتونین در طول زمان نگهداری کاهش یافت.

حمایتی ملاتونین در حفظ محتوای کلروفیل b را نشان داد و در هفته چهارم در مقایسه با هفته اول؛ در گروه شاهد محتوای کلروفیل b حدود ۶۶/۸ درصد کاهش داشت درصورتیکه در گروه تیمار شده با ملاتونین این کاهش محتوای کلروفیل b حدود ۴۸/۷ درصد بود (شکل ۲-B). روند افزایشی پیوسته در محتوای کاروتنوئید در هر دو گروه شاهد و تیمار شده مشاهده شد. با این وجود در هفته‌های دوم تا چهارم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) در محتوای کاروتنوئید بین گروه تیمار شده و شاهد مشاهده شد (شکل ۲-C).

و ۶۷ درصد بود. نتایج فوق نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) در محتوای کلروفیل a در هفته‌های دوم تا چهارم ۴ بین گروه شاهد و تیمار شده وجود دارد. محتوای کلروفیل b در شکل ۲-B نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) در محتوای کلروفیل b در هفته‌های نگهداری وجود دارد و روند کاهش در محتوای کلروفیل b مشاهده شد. با این وجود در گروه تیمار شده با ملاتونین محتوای کلروفیل b در هفته‌های دوم و سوم و چهارم بیشتر از گروه شاهد بود. نتایج حاکی از نقش



شکل ۲- اثرات تیمار ملاتونین بر محتوای کلروفیل a (A)، محتوای کلروفیل b (B)، محتوای کاروتنوئید (C) و فعالیت کلروفیلاز (D) در کلم بروکلی در طی انبارمانی (ستون‌ها با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌داری هستند).

Figure 2- The effects of melatonin treatment on contents of chlorophyll a (A), chlorophyll b (B), carotenoid (C) and chlorophyllase activity in broccoli during storage period (Column with the different letters are significant differences at  $p < 0.05$ ).

بالاتر بود (شکل ۲-D). تیمار ملاتونین منجر به کاهش معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) فعالیت آنزیم کلروفیلاز گردید و این کاهش در هفته چهارم در گروه تیمار شده با ملاتونین حدود ۴۷/۸ درصد کمتر از گروه شاهد بود.

طبق نتایج بدست آمده میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز در هر دو گروه شاهد و تیمار، روند افزایشی نشان داد. با این حال در گروه شاهد نسبت به گروه تیمار شده با ملاتونین، فعالیت آنزیم کلروفیلاز به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) در طول هفته‌های دوم تا چهارم

بروکلی قبل از باز شدن گل برداشت می‌شود که این باعث تنش ناشی از اختلال ناگهانی انرژی، مواد مغذی و هورمون‌ها که در اثر برداشت اتفاق می‌افتد، می‌گردد و این امر باعث بروز پیری سبزی از طریق تخریب کلروفیل (زرد شدن گل) و کاهش ارزش غذایی بروکلی، ظاهر می‌شود. این تغییرات در مجموع ارزش اقتصادی کلم بروکلی را کاهش می‌دهد (Xu et al., 2021).

سطح رنگیزه‌های فتوسنتزی به دلیل تأمین کربوهیدرات و انرژی مورد نیاز سلول‌ها ارتباط نزدیکی با پیری کلم بروکلی دارد و نقش مهمی در زرد شدن گلچه‌ها در طول نگهداری دارد (Hu et al., 2022; Wang et al., 2022b). آنزیم کلروفیلاز آنزیمی است که با حذف گروه فیتول از ساختمان کلروفیل و تشکیل کلروفیلید سبب تجزیه کلروفیل می‌شود (Lijing et al., 2022). این آنزیم در کلروپلاست وجود دارد و این اندامک قبل و در طول بلوغ دچار تخریب و تغییر رنگ در پوست میوه می‌شود (Kushwaha et al., 2022). علاوه بر این، تیمار ملاتونین فعالیت آنزیم کلروفیلاز در کلم بروکلی را کاهش داد، که نشان می‌دهد ملاتونین احتمالاً از طریق تنظیم بیوسنتز کلروفیل در باز شدن و رشد گلچه‌ها در طول ذخیره‌سازی نقش داشته باشد.

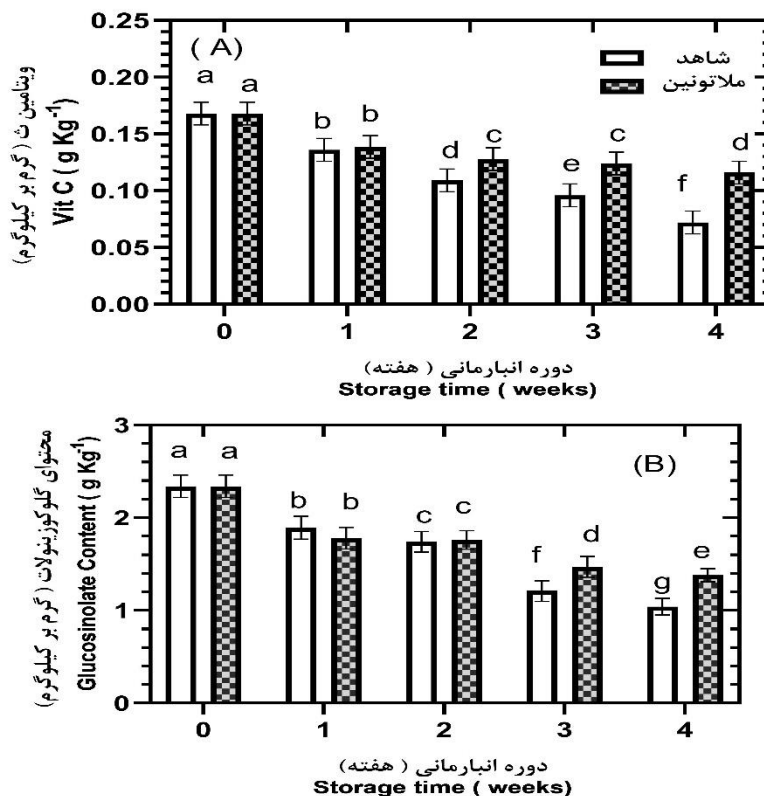
رنگ ظاهری گلچه‌های بروکلی یکی از مهمترین ویژگی‌هایی است که بر درک کیفیت و نگرش مصرف‌کنندگان تأثیر می‌گذارد. متأسفانه رنگ کلم بروکلی با شروع پیری به دلیل تخریب کلروفیل بدتر می‌شود (Xu et al., 2021). تخریب کلروفیل توسط آنزیم‌هایی همچون کلروفیلاز انجام می‌شود. در سال‌های اخیر، ژن‌های کلروفیلاز *BoCLH2* و *BoCLH3* در کلم بروکلی شناسایی شده‌اند (Fan et al., 2018; Lijing et al., 2022). مطالعه حاضر نشان داد که تیمار ملاتونین به‌طور مؤثری از فعالیت آنزیم کلروفیلاز جلوگیری می‌کند که طبیعتاً از طریق جلوگیری از فعالیت ژن‌های فوق این عملکرد را سبب شده است. در مجموع، داده‌های ما نشان داد که تیمار ملاتونین از تخریب کلروفیل در بروکلی جلوگیری می‌کند. این امر

با کاهش بیان ژن‌های آنزیمی تجزیه‌کننده کلروفیل همراه بود که منجر به تأخیر در زرد شدن و حفظ ظاهر سبز در هدهای کلم بروکلی شد. Zhao و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تیمار ملاتونین اثر محرکی بر غلظت کلروفیل و کنترل سنتز کاروتنوئید در خیار دارد، در حالی مطالعات دیگر گزارش کردند که پیش تیمار نهال گوجه‌فرنگی با یک مهارکننده متابولیسم ملاتونین باعث کاهش سرعت بیوسنتز کلروفیل شد (Jahan et al., 2019). هر دوی این گزارش‌ها از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر حمایت می‌کنند.

### اثر تیمار ملاتونین بر محتوای ویتامین ث و گلوکوزینولات در کلم بروکلی

محتوای ویتامین ث در هر دو گروه کلم بروکلی تیمار شده و تیمار نشده در طول دوره چهار هفته نگهداری روند کاهشی نشان داد، با این حال، تیمار ملاتونین شیب کاهش را ملایم‌تر کرد (شکل ۳-A). محتوای ویتامین ث از هفته دوم تا هفته چهارم در گروه تیمار شده با ملاتونین به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از گروه شاهد بود. سطوح ویتامین ث در هفته دوم، سوم و چهارم نگهداری در گروه تیمار شده با ملاتونین و شاهد به ترتیب شامل ۲۳/۸، ۲۶/۲، ۳۰/۹۵ و ۳۵/۱، ۴۲/۸ و ۵۷/۱ درصد کاهش پیدا کرد.

تغییرات در سطوح گلوکوزینولات در شکل ۳-B نشان داده شده است. نتایج نشان داد که محتوای گلوکوزینولات در هر دو گروه تیمار و شاهد در طول چهار هفته نگهداری دارای روند کاهشی بوده، اگرچه در هفته سوم و چهارم سطح گلوکوزینولات در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر بود. نتایج نشان داد در هفته اول و دوم نگهداری محتوای گلوکوزینولات در گروه شاهد بیشتر از گروه تیمار شده با ملاتونین بود، با این حال، در هفته سوم و چهارم محتوای گلوکوزینولات در گروه تحت تیمار با ملاتونین به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از گروه شاهد بود.



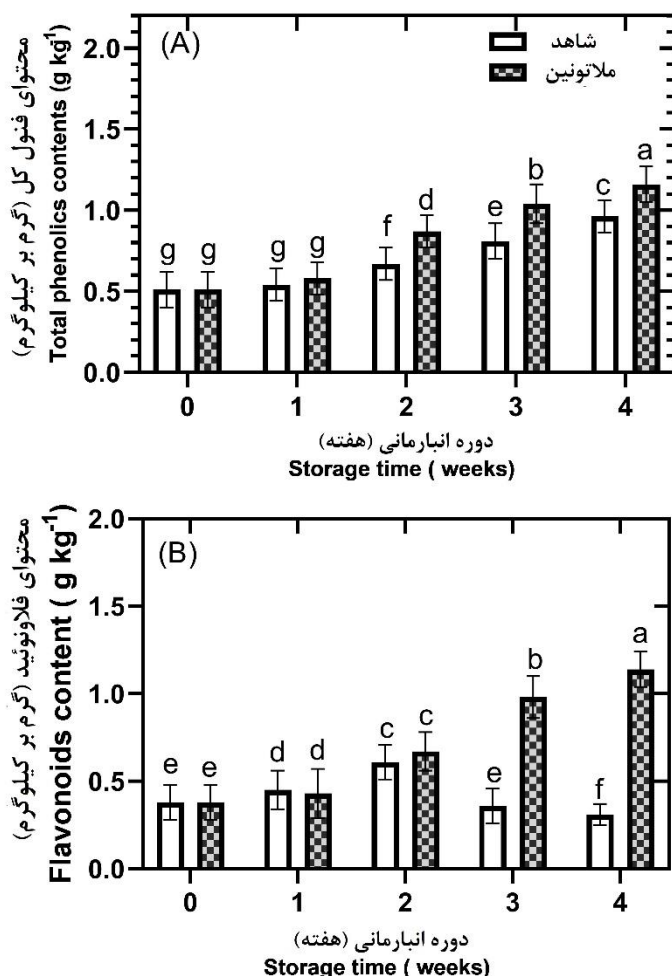
شکل ۳- اثرات تیمار ملاتونین بر محتوای ویتامین ث (A) و گلوکوزینولات (B) در کلم بروکلی در طی انبارمانی (ستون‌هایی با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌داری هستند).

Figure 3- The effects of melatonin treatment on contents of vitamin C (A) and glucosinolate (B) in broccoli during storage period (Column with the different letters are significant differences at  $p < 0.05$ ).

### اثر تیمار ملاتونین بر محتوای فنول کل و فلاونوئیدها در کلم بروکلی

محتوای فنول کل در بافت کلم بروکلی در هر دو گروه تیمار شده با ملاتونین و شاهد روند افزایشی نشان داد (شکل ۴-A). سطح فنول کل در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین بیشتر از شاهد بود و تفاوت بین دو گروه در هفته دوم تا چهارم معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود. تفاوت معنی‌داری بین محتوای فنول کل بین گروه شاهد و تیمار شده با ملاتونین در هفته اول مشاهده نشد.

بروکلی منبعی غنی از انواع ویتامین‌ها و مواد شیمیایی گیاهی است که این مواد در رنگ، خواص ارگانولپتیک (مزه و ظاهر) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن نقش دارد (Han *et al.*, 2019). کاهش قابل توجهی در محتوای ترکیبات و متابولیت‌های مختلف در کلم بروکلی پس از برداشت حتی در شرایط نگهداری در دمای پایین گزارش شده است (El-Beltagi *et al.*, 2022). نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار کلم بروکلی با ملاتونین با مهار از دست دادن ویتامین ث و گلوکوزینولات‌ها، که این ترکیبات به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فعال زیستی مهمی هستند، به حفظ کیفیت غذایی کلم بروکلی کمک می‌کند.



شکل ۴- اثرات تیمار ملاتونین بر محتوای فنول کل (A) و فلاونوئیدها (B) در کلم بروکلی در طی انبارمانی (ستون‌ها با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌داری هستند).

Figure 4- The effects of melatonin treatment on contents of total phenolic (A) and flavonoids (B) in broccoli during storage period (Column with the different letters are significant differences at  $p < 0.05$ ).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد که توانایی حفظ سطح ترکیبات فعال زیستی مهم (از جمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی) پس از برداشت کلم بروکلی ممکن است با تنظیم بالقوه سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی توسط ملاتونین مرتبط باشد، که این امر منجر به تأخیر در مرحله پیری بافت‌های گلچه کلم بروکلی می‌شود.

اثر تیمار ملاتونین بر تولید رادیکال پراکسید

هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و سوپراکسید ( $O_2^-$ ) همانطور که در شکل ۵-A مشاهده می‌شود محتوای  $H_2O_2$  روند کاهشی نسبی را در گروه شاهد و یک روند

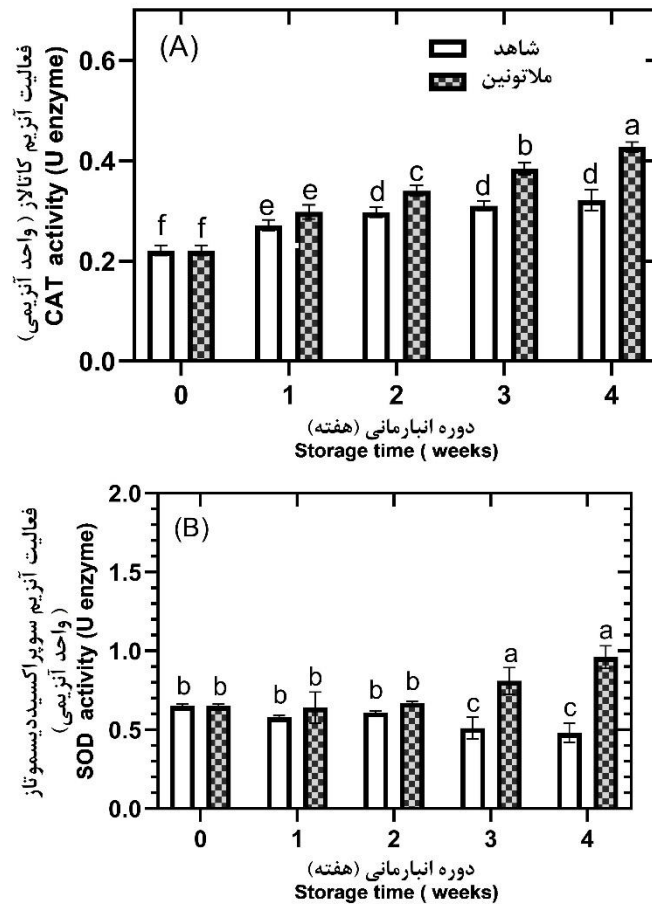
محتوای فلاونوئیدها در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین روند افزایشی را نشان داد، در حالی که در گروه شاهد در طول هفته اول و دوم افزایش و سپس کاهش یافت (شکل ۴-B). محتوای فلاونوئیدها در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین در مقایسه با گروه شاهد به جزء در هفته دوم در تمام مدت نگهداری بالاتر بود و تفاوت معنی‌دای ( $p < 0.05$ ) در محتوای فلاونوئیدها بین گروه تیمار شده و شاهد در هفته سوم و چهارم نگهداری مشاهده شد.

به نظر می‌رسد ملاتونین، به دلیل پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ذاتی که دارند سنتز فنول و فلاونوئید را به‌طور مثبت تنظیم می‌کند (Cao et al., 2018; Cao



ملاتونین به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) بیش از گروه شاهد بود. در پایان چهار هفته نگهداری، فعالیت آنزیم در گروه شاهد از هفته اول تا چهارم به ترتیب ۲۲/۶، ۳۴/۳، ۴۰/۲ و ۴۵/۲ درصد و در گروه تیمار شده با ملاتونین به ترتیب ۳۴/۸، ۵۳/۸، ۷۳/۷ و ۹۳/۲ درصد افزایش یافت (شکل ۶-A).

نگهداری نشان داد (شکل ۶-A). لازم به ذکر است در هفته دوم نگهداری؛ با وجود افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو گروه شاهد و تیمار نسبت به روز اول با این حال تفاوت معنی داری بین گروه شاهد و تیمار شده با ملاتونین مشاهده نشد. در هفته های دوم تا چهارم نگهداری، فعالیت CAT در کلم بروکلی تیمار شده با



شکل ۶- اثرات تیمار ملاتونین بر فعالیت آنزیم کاتالاز (A) و سوپراکسید دیسمو تاز (B) در کلم بروکلی در طی انبارمانی (ستون هایی با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی داری هستند).

Figure 6- The effects of melatonin treatment on activity of catalase (A) and superoxide dismutase (B) in broccoli during storage period (Column with the different letters are significant differences at  $p < 0.05$ ).

کلی، در گروه تیمار شده با ملاتونین فعالیت SOD در هفته سوم و چهارم به ترتیب ۳۵ و ۴۷/۶ درصد نسبت به روز اول افزایش یافت. کلم بروکلی برداشت شده مستعد آسیب های مکانیکی حمل و نقل، نگهداری و فعال شدن فرآیندهای پیری در طول نگهداری پس از برداشت می باشد که

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمو تاز (SOD) در گروه کلم بروکلی در گروه شاهد روند کاهشی و در گروه تیمار شده با ملاتونین روند افزایش را نشان داد (شکل ۶-B). با این حال در هفته سوم و چهارم نگهداری به طور معنی داری ( $p < 0.05$ ) فعالیت SOD در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین بیشتر از گروه شاهد بود. به طور

در کلم بروکلی تیمار شده با ملاتونین بیشتر از کلم بروکلی تیمار نشده بود، این نتایج موازی با یافته‌های گذشته و تایید کننده نتایج مربوط به رادیکال سوپراکسید و  $H_2O_2$  بود. این داده‌ها نشان داد که ملاتونین می‌تواند با گسترش متابولیسم ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تولید گونه‌های فعال اکسیژن را مهار کند و از این طریق آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو به غشاها را کاهش دهد و متعاقب با آن پیری گلچه‌های بروکلی را به تأخیر بیاورد.

در زمان پیری سلول و بافت‌های گیاهی، تنظیم متابولیسم ROS در سلول‌ها به هم می‌ریزد و منجر به تخریب ماکرومولکول‌های کلروفیل می‌گردد. با این حال، سطح کافی از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توانایی بهبود آسیب ناشی از سطوح اضافی ROS، از جمله تخریب کلروفیل را دارد (Chen *et al.*, 2021; Hayat *et al.*, 2019). نتایج ما نشان داد که حفظ کیفیت ظاهر سبزرنگ در کلم بروکلی ذخیره‌شده، از تیمار پس از برداشت کلم بروکلی با ملاتونین حاصل شده است.

#### نتیجه‌گیری

در پایان غوطه‌وری کلم بروکلی در محلول ۱۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین در طول ذخیره‌سازی از طریق تأثیر روی فعالیت آنزیم کلروفیل‌از و به تأخیر انداختن زرد شدن گلچه‌ها، مهار از دست دادن مواد مغذی و تأخیر در پیری؛ منجر به حفظ شکل ظاهر و کیفیت کلم بروکلی شد. اثر ملاتونین بر کلم بروکلی با افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی و همچنین مهار فعالیت آنزیم تجزیه کننده کلروفیل همراه است که این اثرات باعث کاهش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید گردید. بر اساس داده‌های به دست آمده در مطالعه حاضر، در نتیجه افزایش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و همچنین ترکیبات آنتی‌اکسیدان همچون ویتامین ث و گلوکوزینولات رسیدن به این نتیجه تسهیل شده است. در پایان به نظر می‌رسد تیمار پس از برداشت با ملاتونین

باعث افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) همچون رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌شوند که این ترکیبات از عوامل اصلی تخریب غشاهای زیستی است که کیفیت و بازارپسندی محصولات کشاورزی را کاهش می‌دهد (El-Beltagi *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2022). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در گیاهان برای محدود کردن تجمع ROS و مهار آسیب اکسیداتیو تکامل یافته‌اند، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز جزء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اصلی هستند (Chen *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2020). در شرایط تنش‌های غیرزیستی مولکول اکسیژن با دریافت یک الکترون تبدیل به رادیکال منفی سوپراکسید ( $O_2^-$ ) می‌شود که این ترکیب توانایی عبور از غشاهای زیستی را ندارد و تجمع این ترکیب در داخل سلول که میل ترکیبی بالایی دارد، باعث آسیب به اندامک‌ها و ترکیبات درون سلولی همچون غشاهای زیستی، و DNA می‌گردد (Joshi *et al.*, 2001). اگر این رادیکال سوپراکسید یک الکترون دیگر دریافت نماید تبدیل به پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) می‌شوند که این واکنش توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) انجام می‌شود (Malekzadeh *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2022a). محصول حاصل از این واکنش ( $H_2O_2$ ) به راحتی می‌تواند از غشاهای زیستی عبور کند و همچنین  $H_2O_2$  باقیمانده در درون سلول می‌تواند به کمک آنزیم کاتالاز (CAT) به آب و اکسیژن تبدیل شود. بنابراین آنزیم‌های CAT و SOD گونه‌های فعال اکسیژن اضافی را که در نتیجه پاسخ به تنش تجمع پیدا می‌کند، پاکسازی می‌کنند (Masia, 1998; Mukhtar *et al.*, 2022). گزارش‌های مطالعات گذشته نشان می‌دهد که ملاتونین ممکن است به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان عمل کند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد مانند  $H_2O_2$  و  $O_2^-$  را از بین ببرد و از مولکول‌های زیستی در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت کند (Li *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2017). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطح فعالیت آنزیم SOD و CAT

به نتیجه کلی نیاز است اثر این ماده روی میوه‌های دیگر نیز مطالعه گردد.

یک روش مفید برای حفظ شکل ظاهری و همچنین کیفیت و سطوح مواد مغذی کلم بروکلی ذخیره شده باشد و سبب افزایش عمر مفید آن گردد. جهت رسیدن

## References

- Aghdam, M. S., Alikhani-Koupaei, M. & Khademian, R. (2021). Delaying broccoli floret yellowing by phytosulfokine  $\alpha$  application during cold storage. *Frontiers in nutrition*, 8, 609217.
- Cao, S., Shao, J., Shi, L., Xu, L., Shen, Z., Chen, W. & Yang, Z. (2018). Melatonin increases chilling tolerance in postharvest peach fruit by alleviating oxidative damage. *Scientific reports*, 8(1), 1-11.
- Cao, S., Song, C., Shao, J., Bian, K., Chen, W. & Yang, Z. (2016). Exogenous melatonin treatment increases chilling tolerance and induces defense response in harvested peach fruit during cold storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(25), 5215-5222.
- Chen, L.-L., Shan, W., Cai, D.-L., Chen, J.-Y., Lu, W.-J., Su, X.-G. & Kuang, J.-F. (2021). Postharvest application of glycine betaine ameliorates chilling injury in cold-stored banana fruit by enhancing antioxidant system. *Scientia Horticulturae*, 287, 110264.
- Delgado-Vargas, F., Vega-Álvarez, M., Landeros Sánchez, A., López-Angulo, G., Salazar-Salas, N. Y., Quintero-Soto, M. F., Pineda-Hidalgo, K. V. & López-Valenzuela, J. A. (2022). Metabolic changes associated with chilling injury tolerance in tomato fruit with hot water pretreatment. *Journal of Food Biochemistry*, e14056.
- El-Beltagi, H. S., Ali, M. R., Ramadan, K., Anwar, R., Shalaby, T. A., Rezk, A. A., El-Ganainy, S. M., Mahmoud, S. F., Alkafafy, M. & El-Mogy, M. M. (2022). Exogenous Postharvest Application of Calcium Chloride and Salicylic Acid to Maintain the Quality of Broccoli Florets. *Plants*, 11(11), 1513.
- Fan, Z.-q., Tan, X.-L., Chen, J.-w., Liu, Z.-l., Kuang, J.-f., Lu, W.-j., Shan, W. & Chen, J.-y. (2018). BrNAC055, a novel transcriptional activator, regulates leaf senescence in Chinese flowering cabbage by modulating reactive oxygen species production and chlorophyll degradation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(36), 9399-9408.
- Gao, H., Zhang, Z. K., Chai, H. K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D. N., Yang, T. & Cao, W. (2016). Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 118, 103-110.
- Guo, F., Han, A., Gao, H., Liang, J., Zhao, K., Cao, S., Wang, H., Wei, Y., Shao, X. & Xu, F. (2022). Mannose alleviates yellowing process of broccoli florets by regulating chlorophyll catabolism and delaying programmed cell death. *Scientia Horticulturae*, 295, 110888.
- Han, A., Cao, S., Li, Y., Wang, H., Wei, Y., Shao, X. & Xu, F. (2019). Sucrose treatment suppresses programmed cell death in broccoli florets by improving mitochondrial physiological properties. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110932.
- Hayat, F., Sun, Z., Ni, Z., Iqbal, S., Xu, W., Gao, Z., Qiao, Y., Tufail, M. A., Jahan, M. S. & Khan, U. (2022). Exogenous melatonin improves cold tolerance of strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.) through modulation of DREB/CBF-COR pathway and antioxidant defense system. *Horticulturae*, 8(3), 194.
- Hu, H., Luo, S., An, R. & Li, P. (2022). Endogenous melatonin delays sepal senescence and extends the storage life of broccoli florets by decreasing ethylene biosynthesis. *Postharvest Biology and Technology*, 188, 111894.
- Jahan, M. S., Shu, S., Wang, Y., Chen, Z., He, M., Tao, M., Sun, J. & Guo, S. (2019). Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis. *BMC Plant Biology*, 19(1), 1-16.
- Jiao, J., Jin, M., Liu, H., Suo, J., Yin, X., Zhu, Q. & Rao, J. (2022). Application of melatonin in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) alleviated chilling injury during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 296, 110876.
- Joshi, R., Adhikari, S., Patro, B., Chattopadhyay, S. & Mukherjee, T. (2001). Free radical scavenging behavior of folic

- acid: evidence for possible antioxidant activity. *Free radical biology and medicine*, 30(12), 1390-1399.
- Kushwaha, A., Das, A., Dave, R. & Bhattacharya, B. K. (2022). A Non-destructive estimation of Chlorophyll-a and b over different crops using airborne imaging spectroscopy observations. *Advances in Space Research*.
  - Li, J., Liu, Y., Zhang, M., Xu, H., Ning, K., Wang, B. & Chen, M. (2022). Melatonin increases growth and salt tolerance of *Limonium bicolor* by improving photosynthetic and antioxidant capacity. *BMC Plant Biology*, 22(1), 1-14.
  - Lijing, L., Zhiwei, Z., Yun, X., Jiahang, Z., Liebao, H. & Lixin, X. (2022). Effects of low temperature stress on chlorophyll metabolism of *Zoysia japonica*. *北京林业大学学报*, 44(2), 91-99.
  - Liu, J., Wu, H., Wang, B., Zhang, Y., Wang, J., Cheng, C. & Huang, Y. (2022). Exogenous Melatonin Enhances Cold Resistance by Improving Antioxidant Defense and Cold-Responsive Genes' Expression in Banana. *Horticulturae*, 8(3), 260.
  - Ma, S., Bao, J., Lu, Y., Lu, X., Tian, P., Zhang, X., Yang, J., Shi, X., Pu, Z. & Li, S. (2022). Glucoraphanin and sulforaphane biosynthesis by melatonin mediating nitric oxide in hairy roots of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Planch): insights from transcriptome data. *BMC Plant Biology*, 22(1), 1-14.
  - Malekzadeh, P. (2015). Influence of exogenous application of glycinebetaine on antioxidative system and growth of salt-stressed soybean seedlings (*Glycine max* L.). *Physiology and Molecular biology of Plants*, 21(2), 225-232.
  - Malekzadeh, P., Khara, J. & Heydari, R. (2014). Alleviating effects of exogenous Gamma-aminobutyric acid on tomato seedling under chilling stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(1), 133-137.
  - Malekzadeh, P., Khosravi-Nejad, F., Hatamnia, A. A. & Sheikhabari Mehr, R. (2017). Impact of postharvest exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(4), 827-836.
  - Masia, A. (1998). Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and with special reference to ethylene. *Physiologia Plantarum*, 104(4), 668-672.
  - Mihailović, N., Lazarević, M., Dželetović, Z., Vučković, M. & Đurđević, M. (1997). Chlorophyllase activity in wheat, *Triticum aestivum* L. leaves during drought and its dependence on the nitrogen ion form applied. *Plant Science*, 129(2), 141-146.
  - Mukhtar, A., Latif, S., Salvatierra-Rojas, A. & Müller, J. (2022). Catalase Activity in Hot-Air Dried Mango as an Indicator of Heat Exposure for Rapid Detection of Heat Stress. *Applied Sciences*, 12(3), 1305.
  - Normohammadi, Z., Ismailpour, B., Azarmi, R., Shiekhalipour, M., Chamani, E. & Shahbazi Yajlo, R. (2021). Effect of melatonin treatment on growth and physiological and biochemical characteristics of *Stevia rebaudiana* berton under salt stress conditions. *Journal of Vegetables Sciences*, 5(1), 1-15. (In Farsi)
  - Sun, H., Luo, M., Zhou, X., Zhou, Q., Sun, Y., Ge, W., Wei, B., Cheng, S. & Ji, S. (2020). Exogenous glycine betaine treatment alleviates low temperature-induced pericarp browning of 'Nanguo' pears by regulating antioxidant enzymes and proline metabolism. *Food Chemistry*, 306, 125626.
  - Wang, J., Mao, S., Liang, M., Zhang, W., Chen, F., Huang, K. & Wu, Q. (2022). Preharvest Methyl Jasmonate Treatment Increased Glucosinolate Biosynthesis, Sulforaphane Accumulation, and Antioxidant Activity of Broccoli. *Antioxidants*, 11(7), 1298.
  - Wang, T., Zhang, D., Yang, B., Su, N. & Cui, J. (2022). Salicylic Acid Regulates Indole-3-Carbinol Biosynthesis Under Blue Light in Broccoli Sprouts (*Brassica oleracea* L.). *Frontiers in plant science*, 13, 848454-848454.
  - Wang, Y., Wang, G., Xu, W., Zhang, Z., Sun, X. & Zhang, S. (2022). Exogenous melatonin improves pear resistance to *Botryosphaeria dothidea* by increasing autophagic activity and sugar/organic acid levels. *Phytopathology* (ja).
  - Wu, Q., Wang, J., Huang, H., Mao, S., Wu, Q. & Huang, K. (2022). Exogenous Selenium Treatment Promotes Glucosinolate and Glucoraphanin Accumulation in Broccoli by Activating Their Biosynthesis and Transport Pathways. *Applied Sciences*, 12(9), 4101.

- Xu, D., Zuo, J., Fang, Y., Yan, Z., Shi, J., Gao, L., Wang, Q. & Jiang, A. (2021). Effect of folic acid on the postharvest physiology of broccoli during storage. *Food Chemistry*, 339, 127981.
- Xu, L., Yue, Q., Xiang, G., Bian, F. e. & Yao, Y. (2018). Melatonin promotes ripening of grape berry via increasing the levels of ABA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and particularly ethylene. *Horticulture research*, 5.
- Zandani, G., Anavi-Cohen, S., Tsybina-Shimshilashvili, N., Sela, N., Nyska, A. & Madar, Z. (2021). Broccoli Florets Supplementation Improves Insulin Sensitivity and Alters Gut Microbiome Population—A Steatosis Mice Model Induced by High-Fat Diet. *Frontiers in nutrition*, 8.
- Zhao, H., Zhang, K., Zhou, X., Xi, L., Wang, Y., Xu, H., Pan, T. & Zou, Z. (2017). Melatonin alleviates chilling stress in cucumber seedlings by up-regulation of CsZat12 and modulation of polyamine and abscisic acid metabolism. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.