بررسی اثر تیمار بتا-آمینوبوتیریک اسید از طریق افزایش تجمع نیتریک اکسید درونی و فعال‌سازی مسیر فنیل‌پروپانوئید بر کاهش پوسیدگی قارچی پس از برداشت میوه توت فرنگی و حفظ کیفیت تغذیه‌ای آن

بیوک‌آقا فرمانی[1]، مرتضی سلیمانی اقدم[*2]، عباسعلی جنتی‌زاده[2] و صمد بدبدک[1]

1- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز

2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی قزوین

چکیده

میوه‌های توت فرنگی تازه حساسیت زیادی به پوسیدگی قارچی پس از برداشت دارند که باعث کاهش عمر پس از برداشت، افت‌های اقتصادی، کیفی و کمی می‌شود. مطالعه موجود، تاثیر 0، 1، 5، 10، 25 و 50 میلی مولار بتا-آمینوبوتیریک اسید (BABA) بر کاهش پوسیدگی قارچی و ماندگاری کیفیت تغذیه‌ای میوه‌های توت فرنگی در طی 12 روز نگهداری در 4 °C بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمار BABA در 25 میلی مولار به طور موثر پوسیدگی قارچی میوه‌های توت فرنگی را طی نگهداری کاهش داد. میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در میلی مولار 25، تجمع نیتریک اکسید (NO) درونی بیشتری نشان داد که از فعالیت آنزیم نیتریک اکسیدسنتتاز (NOS) زیادی حاصل شده بود. تجمع NO درونی بیشتر همزمان با تجمع H_2O_2 درونی زیادتری بود که منجر به فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) بیشتری شد. میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در 25 میلی مولار ، تجمع ترکیبات فنل، آنتوسیانین کل و ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH بیشتری نشان دادند. همچنین، نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم PAL بیشتر در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA، مسیر سیگنالی NO/H_2O_2 فعال شده نه تنها به عنوان پاسخ دفاعی برای آلودگی پاتوژن عمل می‌کند بلکه در افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها هم شرکت می‌نماید.

واژه های کلیدی: بتا آمینوبوتیریک اسید، پوسیدگی قارچی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میوه‌های توت فرنگی

[*] مسوول مکاتبات: aghdamm@ut.ac.ir

1- مقدمه

میوه‌های توت فرنگی تازه حساست بیشتری نسبت به پوسیدگی قارچی پس از برداشت دارند که باعث افت اقتصادی زیادی در مقیاس کیفی و کمی می‌شوند (4). استفاده از قارچ‌کش-های سنتتیک برای کاهش پوسیدگی قارچی پس از برداشت در میوه‌های توت فرنگی مخاطرات بالقوه‌ای بر مصرف کنندگان و محیط زیست دارد. بنابراین، تاکید ویژه‌ای بر استراتژی جایگزین از سایر ترکیبات برای کاهش پوسیدگی و گسترش طول عمر پس از برداشت میوه‌های توت فرنگی می-شود (9). بتا-آمینوبوتیریک اسید (BABA) یک ترکیب چهار کربنه آمینو اسید غیر پروتئین‌زا است که به عنوان ملکول اولیه برای افزایش مقاومت میوه‌ها و سبزی‌ها در مقابل پاتوژن-های پس از برداشت عمل می‌کند (8). پورات و همکاران (2003) گزارش دادند که تیمار گریپ‌فروت با BABA در میلی مولار 25، مقاومت به کپک سبز (Penicillium digitatum) را افزایش داده بود که در اثر فعالیت آنزیم‌های دفاعی کیتیناز و فنیل‌آلانین آمونیا لیاز (PAL) بودند (8). زانگ و همکاران (2013) گزارش دادند که تیمار انبه با BABA در میلی مولار 100، مقاومت به آنتراکنوز (Colletotrichum gloeosporioides) را افزایش داده بود که در اثر تجمع H_2O_2 بیشتر به خاطر افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD)، همزمان با کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، که منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی کیتیناز، بتا-1،3-گلوکاناز و PAL در میوه‌های انبه شده بود (16). یان و همکاران (2015) گزارش دادند که تیمار عناب با BABA، مقاومت به کپک سیاه (Alternaria alternate) افزایش یافته بود که از طریق تجمع H_2O_2 در اثر افزایش یافتن فعالیت SOD همزمان با کاهش فعالیت CAT بود که در نتیجه منجر به فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، PAL و کتیناز شده بود (13). برای حفظ کیفیت حسی و تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها می‌توان از BABA استفاده کرد (12). وانگ و همکاران (2016) گزارش دادند که میوه‌های گیلاس شیرین تیمار شده با BABA در میلی مولار 30، ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH بیشتری را در نتیجه تجمع ترکیبات فنلی و آسکوربیک اسید نشان داده بود. نتایج نشان داده است که تیمار پس از برداشت BABA، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی برای روبش گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر را افزایش داده است که در نهایت موجب افزایش کیفت تغذیه‌ای شده بود (12). نیتریک اکسید (NO) به عنوان ملکلول سینگال دهنده چند منظوره نقش مهمی در مقاومت گیاه در برابر پاتوژن ایفا می‌کرد که در پاسخ به آلودگی پاتوژن، بیوسنتز و تجمع NO درونی گسترش می‌یافت (زئیر و همکاران 2004). تجمع NO درونی منجر به تجمع H_2O_2 و فعالیت آنزیم PAL بیشتر به عنوان آنزیم کلیدی از مسیر فنیل‌پروپانوئید می‌شود (14). هدف مطالعه حاضر، ارزیابی تاثیر تیمار پس از برداشت BABA بر پوسیدگی قارچی پس از برداشت و کیفیت تغذیه-ای میوه‌های توت فرنگی طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C بود (1).

2- مواد و روش‌ها

2-1- تیمار میوه‌های توت فرنگی به وسیله BABA

میوه‌های توت فرنگی (Fragaria ananassa cv. Selva)، در حالت رسیدگی تجاری از گلخانه تولید تجاری ارومیه برداشت شدند و به آزمایشگاه پس از برداشت انتقال یافتند. میوه‌های با رنگ قرمز، اندازه یکنواخت، بدون آسیب‌دیدگی و پاتوژن یا آلودگی انتخاب شدند. میوه‌های انتخاب شده در شش گروه با محلول BABA در غلظت‌های 0، 1، 5، 10، 25 و 50 میلی مولار به مدت 5 min در دمای 20 °C تیمار شدند. سپس برای خشک شدن سطوح میوه‌های تیمار شده، به مدت 2 h در دمای اتاق در هوای باز قرار گرفتند. توت فرنگی‌های تیمار شده در داخل ظرف مخصوص پلاستیکی گذاشته شده و تحت دمای 4 °C با رطوبت نسبی 95-90 درصد برای 12 روز نگهداری شدند و در زمان‌های مشخص آزمایشات لازم روی آنها انجام گرفت.

2-2- ارزیابی پوسیدگی میوه‌های توت فرنگی

قبل از انجام آزمایشات، میوه‌های نگهداری شده در دمای 4 °C از نظر پوسیدگی بررسی شده (گسترش مقدار میسل‌های قارچی در سطح) و به صورت درصد بیان شدند (9).

2-3- محتوای NO و فعالیت آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) میوه‌های توت فرنگی

در آنالیز محتوای NO از آزمون هموگلوبین مطابق روش مورفی و نوآک (1994) و اوروز-کاردناز و ریان (2002) استفاده شد (5 و 6). مقدار NO به صورت $nMol\ g^{-1}\ FW$ بیان گردید. برای آنالیز فعالیت آنزیم NOS، آزمون هموگلوبین مطابق با روش مورفی و نوآک (1994) و اوروز-کاردناز و ریان (2002) انجام شد (5 و 6). یک واحد فعالیت آنزیم NOS به صورت تشکیل $1\ nM\ NO\ min^{-1}$ کاتالیز شده از آرژنین در دمای 37 °C تعریف می‌شود. فعالیت NOS به صورت $U\ mg^{-1}\ Protein$ بیان شد.

2-4- فعالیت آنزیم PAL و کیفیت تغذیه‌ای میوه‌های توت فرنگی

فعالیت آنزیم PAL مطابق روش کوکول و کنن (1961) عمل شده و به صورت $U\ mg^{-1}\ Protein$ بیان گردید. فنل کل با روش فولین-سیوکالتو تعیین شد و مقدار آن به صورت GAE $100g^{-1}\ FW$ بیان گردید (11). آنتوسیانین کل با استفاده از pH افتراقی تعیین گردید و مقدار آن به صورت P3GE $100g^{-1}\ FW$ بیان شد (3). تعیین فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH مطابق روش ناکاجیما و همکاران (2004) انجام شد و با استفاده از رابطه زیر درصد مهار رادیکال DPPH محاسبه شد.

$$\%\ \text{inhibition of DPPH}^{\bullet} = [(\text{Abs control} - \text{Abs sample}) / \text{Abs control}] \times 100$$

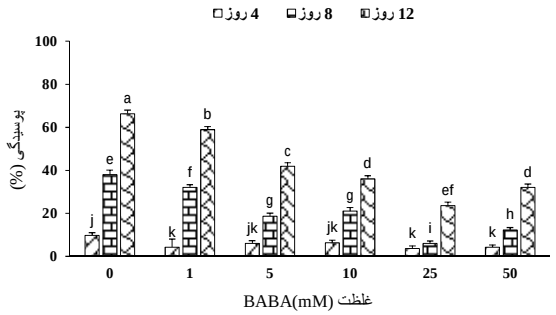
2-5- آنالیز آماری

آزمایشات بر اساس طرح اسپلیت در طی زمان به صورت طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS و مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال 5 درصد (P=0/05) انجام شد.

3- نتایج و بحث

3-1- پوسیدگی قارچی میوه‌های توت فرنگی

در مطالعه حاضر، با توجه به شکل 1 تیمار میوه‌های توت فرنگی با BABA اثر معنی‌دار بر کاهش پوسیدگی قارچی پس از برداشت در طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C داشت (P=0/05). در میوه‌های توت فرنگی، تیمار با BABA از غلظت 1 تا 50 میلی مولار که باعث کاهش پوسیدگی قارچی شده بود در شکل 1 نشان داده می‌شود.

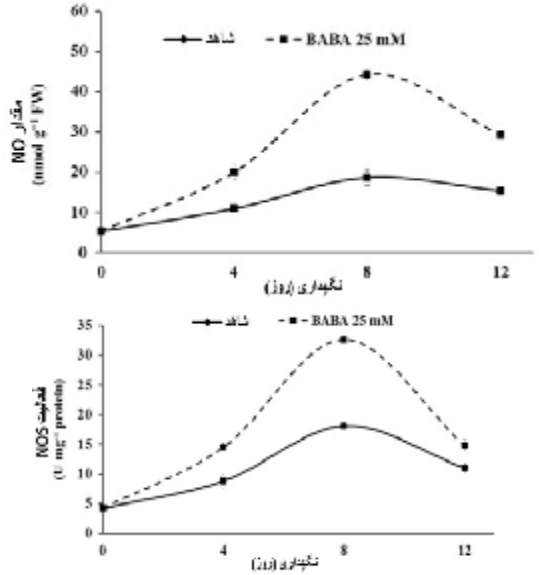


شکل 1- درصد پوسیدگی قارچی پس از برداشت میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در غلظت‌های 0، 1، 5، 10، 25 و 50 میلی مولار در طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C (Mean ± SE , n = 3)

درصد پوسیدگی قارچی میوه‌های توت فرنگی در طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C مطابق شکل 1 تیمار شده با 0، 1، 5، 10، 25 و 50 میلی مولار BABA، به ترتیب 80، 45، 40، 35، 25 و 35 درصد بودند. تیمار با محلول BABA در غلظت 25 میلی مولار پوسیدگی کمتری نشان داد. بر پایه نتایج بدست آمده تیمار BABA با 25 میلی مولار برای آزمایشات بیوشیمیایی انتخاب گردید.

3-2- فعالیت آنزیم NOS و تجمع NO در میوه‌های توت فرنگی

در بررسی حاضر، با توجه به شکل 2 مقدار NO در میوه‌های شاهد و تیمار شده با BABA برای هشت روز اول افزایش و بعد از آن در طی نگهداری کاهش یافته بود. در مقایسه با میوه‌های شاهد، تیمار BABA اثر معنی‌دار بر محتوای NO میوه‌های تیمار شده در طی نگهداری داشت. همچنین، فعالیت آنزیم NOS در میوه‌های شاهد و تیمار شده با BABA برای هشت روز اول افزایش و بعد از آن در طی نگهداری کاهش یافته بود. در مقایسه با میوه‌های شاهد، تیمار BABA اثر معنی‌دار بر محتوای NOS میوه‌های تیمار شده در طی نگهداری داشت.

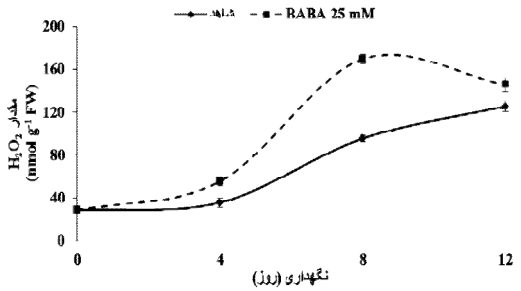


شکل 2- تجمع NO درونی و فعالیت آنزیم NOS در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در غلظت‌های 0 و 25 میلی مولار در طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C (Mean ± SE , n = 3)

زئیر و همکاران (2004) پیشنهاد کردند که NO در اکسیداتیو و تجمع بیشتر H_2O_2 ارتباط دارد. نه تنها H_2O_2 تاثیر مستقیم قارچ‌کشی دارد، بلکه در گسترش فعالیت مسیر فنیل‌پروپانوئید هم نقش دارد (15). بنابراین فعالیت بیشتر آنزیم PAL، استحکام دیواره سلول را از طریق افزایش ترکیبات فنلی و لیگنینی بالا برده و از نفوذ پاتوژن به سلول‌ها جلوگیری می‌کند. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که پوسیدگی قارچی کمتر میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA، ممکن است در نتیجه تجمع بیشتر NO درونی به خاطر فعالیت بیشتر آنزیم NOS باشد.

3-3- سیستم تجمع H_2O_2 در میوه‌های توت فرنگی

مقدار H_2O_2 در میوه‌های شاهد در طی 12 روز نگهداری افزایش یافته بود، اما در میوه‌های تیمار شده با BABA، محتوای H_2O_2 در هشت روز اول افزایش و پس از آن کاهش یافته بود. در مقایسه با میوه‌های شاهد، در میوه‌های تیمار شده با BABA، مقدار H_2O_2 به طور معنی‌دار در طی نگهداری زیادتر بود (P=0/05). مطابق مدل پیشنهاد شده توسط زئیر و همکاران (2004)، تجمع بیشتر H_2O_2 در میوه‌های توت فرنگی در پاسخ به تیمار BABA، ممکن است در نتیجه تجمع NO درونی بیشتر در اثر افزایش فعالیت آنزیم NOS باشد (15). بنابراین تجمع H_2O_2 زیادتر ممکن است به عنوان ملکلول سیگنالی برای استحکام سیستم دفاعی در میوه‌های توت فرنگی باشد. همچنین، پوسیدگی کمتر پس از برداشت در میوه‌های توت فرنگی در پاسخ به تیمار BABA ممکن است در نتیجه عمل هم‌افزایی NO با H_2O_2 باشد. پیترکوا و همکاران (2009) گزارش دادند که در برگ‌های گوجه فرنگی در پاسخ به آلودگی زنگ قارچی (Oidium neolycopersici)، تجمع NO درونی در نتیجه فعالیت بیشتر آنزیم NOS افزایش یافته بود که عمل NO به طور هم‌افزایی همراه با H_2O_2 در برگ‌ها بود (7). در همراستا با کارهای پژوهشی حاضر، یان و همکاران (2015) و زانق و همکاران (2013) پیشنهاد کردند که مقاومت به پاتوژن‌های قارچی در میوه‌های جوجوب و انبه بعد از تیمار با BABA از طریق مسیر سیگنالی H_2O_2 و استحکام سیستم دفاعی به وسیله فعالیت آنزیم PAL افزایش یافت (شکل 3) (13 و 16).



شکل 3- تجمع H_2O_2 درونی در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در غلظت‌های 0 و 25 میلی مولار در طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C (Mean ± SE , n = 3)

3-4- فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های توت فرنگی

در بررسی حاضر، فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های شاهد و تیمار شده با BABA، در طی هشت روز نگهداری افزایش سپس کاهش یافت. در میوه‌های تیمار شده با BABA، اثر BABA بر فعالیت آنزیم PAL در طی نگهداری در دمای ℃ 4 تاثیر معنی‌دار (P=0/05) داشت (جدول 1) که ممکن است در نتیجه افزایش تجمعی NO و H_2O_2 باشند. گئو و همکاران (2004) گزارش دادند که تجمع بیشتر NO درونی منجر به فعالیت بیشتر آنزیم PAL در گندم شده بود که در نهایت مقاومت گندم به قارچ Pucinia striformis افزایش یافته بود.

جدول 1- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم PAL، فنل کل، آنتوسیانین کل و روبش رادیکال آزاد DPPH در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در غلظت‌های 0 و 25 میلی مولار در طی 12 روز نگهداری در دمای 4 °C (Mean ± SE , n = 3)

زمان (روز)	تیمار	پارامترهای اندازه‌گیری شده			
	BABA (میلی مولار)	آنزیم PAL (U mg-1 protein)	فنل کل (mg GAE 100g-1 FW)	آنتوسیانین کل (mg p3GE 100g-1 FW)	روبش رادیکال آزاد DPPH (%)
0	-	42/52±1/32	62/52±0/85	14/32±0/58	78/05±0/08
4	0	62/94±0/90^{e}	87/03±1/68^{cd}	20/87±1/16^{c}	80/02±0/18^{ab}
	25	77/33±1/62^{d}	91/22±1/02^{c}	18/36±2/94^{c}	80/96±0/38^{a}
8	0	/61±2/60^{b} 105	101/91±1/82^{b}	41/26±0/61^{b}	83/57±0/60^{a}
	25	/29±1/39^{a} 151	123/26±1/52^{a}	51/46±0/51^{a}	84/58±1/20^{a}
12	0	59/24±0/82^{e}	75/52±1/32^{d}	19/73±1/29^{c}	68/71±0/40^{c}
	25	90/92±1/23^{c}	87/96±3/65^{c}	38/24±1/25^{b}	76/29±1/52^{b}

حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 0/05 (P=0/05) را نشان می‌دهد

یو و همکاران (2012) گزارش دادند که مقاومت بیشتر میوه-های هلو به کپک آبی (Penicillium expansum) پس از برداشت در پاسخ به تیمار ساکارید مخمری در نتیجه تجمع NO درونی همراه با افزایش آنزیم‌های دفاعی مانند PAL بود (14). نتایج بدست آمده نشان داد که فعالیت بیشتر آنزیم PAL در میوه‌های توت فرنگی در پاسخ به تیمار BABA، ممکن است در اثر تجمع بیشتر H_2O_2 باشد که ناشی از تجمع بیشتر NO درونی در نتیجه فعالیت آنزیم NOS است. پوسیدگی قارچی پایین‌تر در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA، ممکن است در نتیجه فعالیت بیشتر آنزیم PAL

ناشی از عمل هم‌افزایی یا سیگنالی NO/H_2O_2 باشد. تجمع H_2O_2 بیشتر در میوه‌ها در پاسخ به تیمار BABA، در نتیجه فعالیت بیشتر آنزیم NOS و تجمع NO همزمان با پایین آمدن فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز است. اقدم و راد (2017) گزارش دادند که فعالیت بیشتر آنزیم PAL در میوه‌های توت فرنگی در طی 12 روز نگهداری در دمای 4°C، تجمع فنل کل و آنتوسیانین کل را افزایش داده بود (1 و 2).

3-5- کیفیت تغذیه‌ای میوه‌های توت فرنگی

در مطالعه حاضر، مقدار فنل کل و آنتوسیانین کل همچنین ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال DPPH در میوه‌های توت فرنگی شاهد و تیمار شده با BABA، در طی هشت روز اول نگهداری افزایش و سپس کاهش یافته بودند. در میوه‌های تیمار شده با BABA، اثر BABA بر مقدار فنل کل و آنتوسیانین کل همچنین ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH در میوه‌های توت فرنگی در طی نگهداری در دمای 4 °C تاثیر معنی‌دار (P=0/05) داشت (جدول 1). علاوه بر استحکام دیواره سلول از طریق اتصال ترکیبات فنلی و لیگنین از طرف دیگر مانع از نفوذ عوامل پاتوژن به سلول‌ها می‌شوند (10). همچنین در اثر فعالیت بیشتر آنزیم PAL، تجمع ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی افزایش می‌یابد که در نهایت باعث افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها می‌شود (1). تجمع H_2O_2 بیشتر به عنوان ملکول‌های سیگنالی منجر به فعال-سازی فعالیت آنزیم PAL می‌شود که در نهایت تجمع ملکول‌های فنلی و آنتوسیانینی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی را باعث می‌گردد. وانق و همکاران (2016) گزارش دادند که گیلاس تیمار شده با BABA، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را از طریق اندازه‌گیری فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال‌های DPPH، سوپراکسید و هیدروکسیل نشان دادند (12). تجمع بیشتر ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA که با افزایش ظرفیت جاروب‌کنندگی بیشتر رادیکال آزاد DPPH همراه بود که می‌توان به فعالیت بیشتر آنزیم PAL نسبت داد که در نتیجه فعال شدن مسیر فنیل‌پروپانوئید از طریق عمل سیگنالی یا هم‌افزایی NO/H_2O_2 می‌باشد.

4- نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر، تاثیرات سودمند تیمار BABA بر کاهش پوسیدگی قارچی در میوه‌های توت فرنگی را به طور واضح نشان داده است. نتایج بدست آمده نشان داد که کاهش پوسیدگی قارچی میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA، ممکن است به خاطر تجمع NO ناشی از فعالیت آنزیم NOS، تجمع H_2O_2 و افزایش مسیر فعالیت فنیل‌پروپانوئید از طریق فعالیت بیشتر آنزیم PAL باشد. همچنین، میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA، تجمع ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی بیشتری را از طریق فعالیت زیادتر آنزیم PAL نشان دادند که منجر به افزایش ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH شده بود. نتایج نشان داد که فعالیت بیشتر آنزیم PAL، به عنوان آنزیم کلیدی از مسیر فنیل-پروپانوئید، در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با BABA در نتیجه عمل سیگنالی یا هم‌افزایی NO/H_2O_2 بودند. در میوه-های توت فرنگی NO همرا با H_2O_2 نه تنها به عنوان پاسخ دفاعی در مقابل آلودگی پاتوژن عمل می‌کرد بلکه در افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه‌های توت فرنگی هم نقش داشت.

5- منابع

1. Aghdam, M. S. & Fard, J. R. 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (Fragaria anannasa cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. Food Chemistry, 221:1650-1657.

2. Aghdam, M.S., Dokhanieh, A.Y., Hassanpour, H., Rezapour Fard, J. 2013. Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry (Cornus mas) fruit by postharvest calcium treatment. Scientia Horticultura, 161: 160-164.

3. Cheng, G. W. & Breen, P. J. 1991. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. Journal of the

American Society for Horticultural Science, 116: 865-869.
4. Hashmi, M. S., East, A. R., Palmer, J. S. & Heyes, J. A. 2013. Hypobaric treatment stimulates defence-related enzymes in strawberry. Postharvest Biology and Technology, 85: 77-82.
5. Murphy, M. E. & Noack, E. 1994. Nitric oxide assay using hemoglobin method. Methods in enzymology, 233: 240-250.
6. Orozco-Cárdenas, M. L. & Ryan, C. A. 2002. Nitric oxide negatively modulates wound signaling in tomato plants. Plant Physiology, 130: 487-493.
7. Piterkova, J., PETŘIVALSKÝ, M., LuhovA, L., MieslerovA, B., SEDLÁŘOVÁ, M. & LEBEDA, A. 2009. Local and systemic production of nitric oxide in tomato responses to powdery mildew infection. Molecular plant pathology, 10: 501-513.
8. Porat, R., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goldschmidt, E. E. & Droby, S. 2003. Induction of resistance to Penicillium digitatum in grapefruit by β-aminobutyric acid. European Journal of Plant Pathology, 109: 901-907.
9. Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., DiVenere, D. & Salerno, M. 2002. Effects of Pre- and Postharvest Chitosan Treatments to Control Storage Grey Mold of Table Grapes. Journal of Food Science, 67: 1862-1867.
10. Seifi, H. S., Curvers, K., De Vleesschauwer, D., Delaere, I., Aziz, A. & Hofte, M. 2013. Concurrent overactivation of the cytosolic glutamine synthetase and the GABA shunt in the ABA-deficient sitiens mutant of tomato leads to resistance against Botrytis cinerea. New Phytologist, 199: 490-504.
11. Singleton, V. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.
12. Wang, L., Zhang, H., Jin, P., Guo, X., Li, Y., Fan, C., Wang, J. & Zheng, Y. 2016. Enhancement of storage quality and antioxidant capacity of harvested sweet cherry fruit by immersion with β-aminobutyric acid. Postharvest Biology and Technology, 118: 71-78.
13. Yan, J., Yuan, S., Wang, C., Ding, X., Cao, J. & Jiang, W. 2015. Enhanced resistance of jujube (Zizyphus jujuba Mill. cv. Dongzao) fruit against postharvest Alternaria rot by β-aminobutyric acid dipping. Scientia Horticulturae, 186: 108-114.
14. Yu, Q., Chen, Q., Chen, Z., Xu, H., Fu, M., Li, S., Wang, H. & Xu, M. 2012. Activating defense responses and reducing postharvest blue mold decay caused by Penicillium expansum in peach fruit by yeast saccharide. Postharvest Biology and Technology, 74: 100-107.
15. Zeier, J., Delledonne, M., Mishina, T., Severi, E., Sonoda, M. & Lamb, C. 2004. Genetic elucidation of nitric oxide signaling in incompatible plant-pathogen interactions. Plant Physiol, 136: 2875-2886.
16. Zhang, Z., Yang, D., Yang, B., Gao, Z., Li, M., Jiang, Y. & Hu, M. 2013. β-Aminobutyric acid induces resistance of mango fruit to postharvest anthracnose caused by Colletotrichum gloeosporioides and enhances activity of fruit defense mechanisms. Scientia Horticulturae, 160: 78-84.