

## کاهش آسیب سرمازدگی و بهبود ویژگی‌های پاداکسندگی میوه انار با تیمارهای پیش و پس از برداشت با کاربرد متیل جاسمونات

مصباح بابالار<sup>۱\*</sup>، فرهاد پیرزاد<sup>۲</sup>، محمدعلی عسکری سرچشمه<sup>۳</sup>، علیرضا طلایی<sup>۱</sup> و حسین لسانی<sup>۱</sup>  
۱، ۲ و ۳. استاد، دانشجوی سابق دکتری و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۹)

### چکیده

انار از جمله میوه‌های حساس به سرمازدگی است و نگهداری آن در دمای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس منجر به ظهور نشانه‌های سرمازدگی می‌شود. این پژوهش به صورت یک آزمایش ترکیبی از تیمار پیش و پس از برداشت غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ میلی‌مولار) بر کاهش سرمازدگی و ترکیب‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) و ارزش تغذیه‌ای میوه انار رقم ملس ساوه انجام شد. میوه‌ها در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰-۹۵ درصد به مدت ۴ ماه نگهداری شدند. تیمار ۰/۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات به طور معنی‌داری سبب کاهش شاخص سرمازدگی، میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب به میزان ۵۴، ۲۰ و ۲۷ درصد شد. میوه‌های تیمار شده با سطح ۰/۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات دارای ترکیب‌های فنلی، آنتوسیانین‌های کل، ظرفیت پاداکسندگی و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند. همچنین میوه‌های انار تیمار شده با متیل جاسمونات درصد کاهش وزن، مواد جامد محلول کل و pH کمتر، ویتامین ث و اسید کل بیشتری در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند. به طور کلی متیل جاسمونات را می‌توان به عنوان یک روش سودمند و کاربردی برای افزایش مقاومت میوه‌های انار به آسیب سرمازدگی و بازدارنده کاهش ارزش تغذیه‌ای میوه‌ها در مدت انبارمانی و انتقال آن‌ها به بازار، به کار برد.

واژه‌های کلیدی: انبارمانی، آنتوسیانین، سیالیت غشای پلاسمیک، فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز، نشت یونی.

## Amelioration of chilling injury and improvement of antioxidants in pomegranate by pre and postharvest methyljasmonate application

Mesbah Babalar<sup>1\*</sup>, Farhad Pirzad<sup>2</sup>, Mohammad Ali Askari Sarcheshmeh<sup>3</sup>, Alireza Talaei<sup>1</sup> and Hossein Lessani<sup>1</sup>

1, 2, 3. Professor, Former Ph.D. Student and Associate Professor, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Oct. 22, 2016 - Accepted: Jan. 28, 2017)

### ABSTRACT

Pomegranate fruit is one of the sensitive fruit to chilling injury (CI), when they are exposed to temperatures below 5 °C. This study applied a combination of pre and postharvest methyl jasmonate (MeJA) at 0 (control), 0.1, 0.2 and 0.3 mM on chilling injury (CI), antioxidant capacity and fruit quality in pomegranate fruit. Fruits were stored at  $4 \pm 1$  °C and 90-95% relative humidity for 4 months. MeJA treatment at 0.2 mM significantly delayed the postharvest CI and increased electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) accumulation about 54, 20 and 27 percent, respectively. In these fruits, total phenolics, DPPH scavenging activity, Phenylalanine ammonia-lyase and total anthocyanine were found at higher levels in treated than control pomegranates during postharvest storage. Also, treated fruits had lower weight loss, total soluble solids (TSS), pH and higher TA and Vit C. Overall, these findings demonstrated that pre and postharvest treatments with MeJA had potential effect on enhancing tolerance of pomegranates to postharvest chilling injury, maintaining the quality and extending storability and marketing of pomegranate fruits.

**Keywords:** Anthocyanins, electrolyte leakage, phenylalanine ammonia-lyase, storage.

\* Corresponding author E-mail: mbabalar@ut.ac.ir

### مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. متعلق به خانواده Punicaceae یکی از قدیمی‌ترین درختان میوه شناخته شده در ایران و جهان به‌شمار می‌آید. منشأ آن کشور ایران است که از حدود ۲۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح در این منطقه کشت شده است. این درخت میوه‌دار به دلیل توانایی بالا در سازش به انواع خاک‌ها و شرایط آب‌وهوایی مختلف، در بیشتر مناطق جهان به‌ویژه مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری کشت و کار می‌شود (Opara *et al.*, 2015; Valero *et al.*, 2015). میوه انار سرشار از مواد پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) بوده که مصرف آن سبب جلوگیری از انواع بیماری‌های مزمن از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی و دیابت می‌شود، به همین دلیل مصرف و تجارت میوه انار اهمیت بالایی دارد (Kashash *et al.*, 2016). میوه انار به دلیل میزان تنفس کم و تولید پایین اتیلن جزء میوه‌های نافرارگرا است، با این حال از جمله مشکلات اصلی آن در مدت نگهداری در انبار آسیب سرمازدگی، کاهش وزن زیاد، لکه سوخته (اسکالد) سطحی و پوسیدگی است (Opara *et al.*, 2015). هنگامی که میوه انار در دمای اتاق نگهداری شود در نتیجه کاهش وزن زیاد و همچنین افزایش میزان پوسیدگی، عمر قفسه‌ای آن بسیار کاهش می‌یابد، بنابراین لازم است این میوه‌ها در سردخانه نگهداری شوند تا بتوانند مدت‌زمان بیشتری حتی بیشتر از سه ماه در سردخانه بمانند، هرچند که نگهداری انار در دماهای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس سبب ظهور نشانه‌های آسیب سرمازدگی روی میوه خواهد شد (Opara *et al.*, 2015; Sayyari *et al.*, 2010). این نشانه‌ها شامل قهوه‌ای شدن پوست و پره‌های اطراف آریل‌ها، فرورفتگی روی پوست و حساسیت به پوسیدگی است. در بیشتر موارد این نشانه‌ها به قسمت دانه‌های خوراکی (آریل‌ها) رسیده و سبب کاهش کیفیت بیرونی و درونی انار می‌شود (Opara *et al.*, 2015). تیمارهای مختلفی به منظور کاهش آسیب سرمازدگی میوه انار در طول انبارمانی استفاده شده است از جمله می‌توان به سالیسیلیک اسید (Sayyari *et al.*, 2009)، پلی‌آمین‌ها (Mirdehghan *et al.*,

2007a)، متیل‌جاسمونات (Sayyari *et al.*, 2011)، تیمار آب گرم (Mirdehghan *et al.*, 2007b)، اگزالیک اسید (Sayyari *et al.*, 2010)، اتمسفر کنترل شده و تغییر یافته (Nanda *et al.*, 2001) اشاره کرد. متیل‌جاسمونات به‌عنوان یک ترکیب طبیعی است که استفاده از آن به‌صورت پیش یا پس از برداشت هیچ اثرگذاری سوپی در محصولات باغبانی ندارد و استفاده از این تیمار در محصول‌های باغبانی مختلف سبب افزایش عمر قفسه‌ای و بهبود کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها می‌شود و اثر شیمیایی و سمی از خود در این محصول‌ها بر جای نگذاشته است (Reyes-Diez *et al.*, 2014; Martinez-Espla *et al.*, 2016). متیل‌جاسمونات به‌عنوان یک هورمون گیاهی در اندام‌های مختلف گیاه وجود دارند ولی بیشترین میزان آن در قسمت‌های گل و میوه است (Reyes-Diez *et al.*, 2016). گزارش شده است که تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات موجب کاهش میزان سرمازدگی و نشت یونی در میوه انار رقم مویار دی‌الچه<sup>۱</sup> (Sayyari *et al.*, 2011) و گوجه‌فرنگی (Zhang *et al.*, 2012)، همچنین موجب افزایش ظرفیت پاداکسندگی در محصول‌هایی مانند انار (Sayyari *et al.*, 2011)، توت‌فرنگی و توت سیاه (Chanjirakul *et al.*, 2006, 2007) شد. کاربرد پیش از برداشت متیل‌جاسمونات هم سبب افزایش آنتوسیانین‌ها و ظرفیت پاداکسندگی در تمشک (Wang & Zheng, 2005) و آلو (Martinez-Espla *et al.*, 2014) و توت‌فرنگی (Moreno *et al.*, 2010) شد. در این پژوهش برای نخستین بار از تیمار متیل‌جاسمونات به‌صورت محلول‌پاشی روی درخت و میوه‌های انار استفاده شد. امروزه استفاده از محلول‌پاشی پیش از برداشت روی درختان میوه مختلف افزایش پیدا کرده است. در محلول‌پاشی پیش از برداشت هزینه و آسیب‌های وارد شده به میوه در مقایسه با تیمار پس از برداشت کمتر است. همچنین از آنجاکه هدف بیشتر باغداران تولید میوه مناسب و باکیفیت بالا در مرحله داشت است و به‌طور معمول توجه زیادی به بهبود

فیزیکی و بیماری انتخاب شده و بی‌درنگ به آزمایشگاه انتقال یافتند. میوه‌ها با همان غلظتی که در مرحله داشت محلول‌پاشی شده بودند در مرحله پس از برداشت نیز با همان غلظت غوطه‌ور شدند. پیش از اعمال تیمار پس از برداشت روی میوه‌های انار، چند میوه از هر تیمار و تکرار جدا شده و به‌منظور ارزیابی تیمار محلول‌پاشی پیش از برداشت متیل‌جاسمونات در زمان برداشت بررسی شدند. تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات در ۴ غلظت (۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌مولار) روی میوه‌هایی که با همین غلظت‌ها در مرحله داشت محلول‌پاشی شده بودند به‌صورت غوطه‌وری به مدت ۱۰ دقیقه اعمال شد. سپس میوه‌ها برای خشک شدن، به مدت ۲۰ ساعت در هوای آزاد نگهداری شده، سپس میوه‌ها به شمار ۸ عدد برای هر واحد آزمایشی در جعبه‌های پلاستیکی گذاشته شدند و به سردخانه با دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد به‌منظور ارزیابی صفات در زمان‌های مختلف انبارمانی انتقال یافتند. پس از ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز انبارمانی، میوه‌ها از انبار خارج و به مدت ۳ روز در دمای اتاق نگهداری شدند و صفات موردنظر ارزیابی شدند. بر پایه شاخص سرمازدگی و نشت یونی، غلظت بهینه متیل‌جاسمونات تعیین شد و دیگر صفات اندازه‌گیری بین شاهد و غلظت بهینه مقایسه شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، فنل‌ها، ظرفیت پاداکسندگی و آنتوسیانین‌ها، آریل‌های جدا شده از هر تیمار درون نیتروژن مایع منجمد و در فریزر با دمای  $-80$  درجه سلسیوس تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شدند.

#### میزان سرمازدگی و نشت یونی

میزان سرمازدگی (CI) هر واحد آزمایشی با درجه‌بندی میزان آسیب وارده با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

CI =

[شمار میوه‌هایی که نشانه‌های سرمازدگی را نشان

می‌دهند) × (درجه سرمازدگی)]

(۴ × شمار میوه‌های کل هر تیمار)

درجه سرمازدگی (بر پایه میزان قهوه‌ای شدن و فرورفتگی پوست) از ۰ تا ۳ است که عبارت‌اند از: ۰:

کیفیت میوه پس از برداشت ندارند بنابراین می‌توان محلول‌پاشی پیش از برداشت درختان میوه را به‌عنوان مرحله‌ای از کود یا سم‌پاشی روی درختان میوه و به‌منظور افزایش کیفیت میوه در مرحله داشت، به باغدار معرفی کرد (Knee, 2002). هدف از انجام این بررسی ارزیابی سازوکار تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات بر کاهش آسیب سرمازدگی و ویژگی‌های پاداکسندگی و فراسنجه (پارامترهای کیفی میوه انار رقم ملس (ترش) ساوه در مدت ۴ ماه انبارمانی در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد است.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش روی درختان ۹ ساله انار رقم ملس (ترش) ساوه در ایستگاه تحقیقات انار ساوه انجام شد. محلول‌پاشی تیمار متیل‌جاسمونات در سه زمان مختلف در مرحله داشت شامل ۶۰، ۴۰ و ۲۰ روز پیش از برداشت تجاری میوه‌ها انجام شد. فاصله درختان روی ردیف ۲ متر و بین ردیف ۳ متر بود و آبیاری به‌صورت جوی پشته‌ای هر هفته به مدت ۱۵ ساعت انجام می‌شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود که عامل‌ها شامل: تیمار متیل‌جاسمونات در چهار غلظت (۰ یا شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌مولار) و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری صفات در سردخانه (زمان ۰، پس از ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز انبارمانی) بود. به‌منظور افزایش حلالیت متیل‌جاسمونات در آب، چند قطره الکل به محلول در حال ساخت اضافه شد. برای هر تیمار در هر تکرار یک درخت به‌عنوان واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و محلول‌پاشی روی میوه‌ها و برگ‌ها تا مرحله آب‌چک<sup>۱</sup> صورت گرفت. در زمان محلول‌پاشی هم برای افزایش جذب سطحی محلول از تونین-۲۰<sup>۲</sup> استفاده شد. میوه‌ها در زمان رسیدن تجاری (کمترین مواد جامد محلول کل ۱۷-۱۵ درصد و بیشترین اسید کل ۲-۱/۵ درصد) برداشت شدند و میوه‌های تا حدودی یک‌شکل، یک اندازه و بدون آسیب‌های

1. Run off  
2. Tween-20

افزوده شد. محلول به‌دست‌آمده به‌سرعت به هم زده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظهٔ تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. نمونهٔ شاهد (بلانک) و استاندارد به ترتیب شامل ۱ میلی‌لیتر حلال استخراج و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار (DPPH) بود. سپس میزان جذب استاندارد و نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. ظرفیت پاداکسندگی عصاره‌ها به‌صورت درصد بازدارندگی (/DPPH) با رابطهٔ زیر محاسبه شد (Eberhardt *et al.*, 2000).

= درصد بازدارندگی (/DPPH)

$$\frac{\text{شدت جذب نمونه} - \text{شدت جذب شاهد}}{\text{شدت جذب شاهد}} \times 100$$

سنجش فعالیت آنزیم PAL با روش Nguyen *et al.* (2003) با اندکی تغییر صورت گرفت. بدین منظور ۳۰۰ میلی‌گرم از آرپل انار با ۶/۵ میلی‌لیتر بافر تریس- HCl ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸) حاوی بتا مرکاپتواتانول (۱۵ میلی‌مولار) در هاون سرد با نیتروژن مایع سائیده شد. مخلوط به‌دست‌آمده بی‌درنگ در ۹۵۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس سانتیفریوژ شد و روشنای آن گردآوری شد. از روشنای برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. بدین منظور، در یک لولهٔ آزمایش ۱ میلی‌لیتر از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر ال- فنیل‌آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و ۱ میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید (۶ مولار) متوقف شد. محصول به‌دست‌آمده با ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات استخراج و پس از آن اتیل استات بخار شد. ماد جامد باقیمانده در ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۰۵ مولار) حل شد و میزان جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر پایهٔ نانومول سینامیک اسید تولید شده در ساعت با رسم منحنی استاندارد سینامیک اسید با غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میکرومولار بیان شد. میزان پروتئین هر نمونه از روش Bradford (1976)

بدون نشانه‌های سرمازدگی، ۱: بین ۱ تا ۲۵ درصد، ۲: ۲۶ تا ۵۰ درصد و ۳: بیش از ۵۰ درصد (Sayyari *et al.*, 2009).

برای اندازه‌گیری نشت یونی شش تکه پوست مدور با چوب‌پنبه سوراخ‌کن از قسمت استوایی سه عدد میوه از هر تکرار برداشته شد. تکه‌های پوست در ۲۵ میلی‌لیتر مانیتول ۰/۴ نرمال قرار گرفتند. پس از ۴ ساعت به هم زدن با دستگاه لرزا (شیکر) با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه هدایت الکتریکی اولیه (EC اولیه) محلول توسط دستگاه هدایت‌سنج (مدل Metrohm 644) اندازه‌گیری شدند. در پایان محلول حاوی نمونه‌ها در دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد و پس از قرارگیری در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت، دوباره هدایت الکتریکی کل محلول اندازه‌گیری شد. درصد نشت یونی با استفاده از رابطهٔ زیر محاسبه شد (Sayyari *et al.*, 2009):

$$\frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{هدایت الکتریکی کل}} \times 100 = \text{درصد نشت یونی}$$

**ترکیب‌های فنلی، فعالیت پاداکسندگی و آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لایاز (PAL)<sup>۱</sup>**  
به‌منظور اندازه‌گیری ترکیب‌های فنلی از بافر فسفات، فولین به نسبت ۱:۱۰ و کربنات سدیم (۷/۵ درصد) استفاده شد و با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر مدل Perkin, Elmer, Lambda EZ 201) میزان جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان ترکیب‌های فنلی با استفاده از استاندارد گالیک اسید برحسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تازه بیان شد (Serrano *et al.*, 2005).

ظرفیت پاداکسندگی عصاره‌ها با خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) (۲ و ۱- پیکریل هیدرازین) تعیین شد. برای این منظور میزان ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های رقیق‌شدهٔ نمونه درون ریزلوله (میکروتیوب)های ۲ میلی‌لیتری ریخته شد و ۹۵۰ میکرولیتر از محلول (DPPH) ۰/۱ مولار به آن‌ها

1. Phenylalanine ammonia lyase (EC 4.3.1.24)

میزان مواد جامد محلول، اسید کل و ویتامین ث اندازه‌گیری شد. مواد جامد محلول با قرار دادن چند قطره عصاره میوه روی صفحه دستگاه شکست‌سنج (رفراکتومتر) دیجیتالی (مدل CETI, belgium) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری اسید کل، عمل عیارسنجی محلول با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH=۸/۱ ادامه یافته و میزان سود مصرفی یادداشت شد. اندازه‌گیری ویتامین ث با روش عیارسنجی و با کمک یدور پتاسیم و معرف نشاسته صورت گرفت (Sayyari, 2009).

#### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

#### نتایج

##### آسیب‌های سرمازدگی و نشت یونی

تیمار پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات به‌طور معنی‌داری سبب کاهش آسیب‌های سرمازدگی و نشت یونی در میوه‌های انار شد. همان‌طور که در شکل ۱ (a, b) نشان داده شده است با گذشت مدت‌زمان انبارمانی، میزان آسیب‌های سرمازدگی و نشت یونی در همه تیمارها افزایش یافت ولی میوه‌های تیمار شده با متیل‌جاسمونات در همه زمان‌های اندازه‌گیری میزان آسیب‌های سرمازدگی و نشت یونی کمتری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند، به‌طوری‌که در هر دوره بیشترین میزان شاخص سرمازدگی و نشت یونی مربوط به میوه‌های شاهد و کمترین میزان آن‌ها مربوط به سطح ۰/۲ میلی‌مولار تیمار پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات بود. همان‌طور که گفته شد بر پایه شاخص سرمازدگی و نشت یونی، غلظت بهینه متیل‌جاسمونات تعیین شد که در این آزمایش سطح ۰/۲ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به‌طور معنی‌داری میزان آسیب‌های سرمازدگی و نشت یونی کمتری در مقایسه با شاهد و دیگر تیمارها داشته است. بنابراین دیگر صفات اندازه‌گیری بین شاهد و غلظت بهینه (سطح ۰/۲ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات) مقایسه شد.

اندازه‌گیری شد و از آلبومین سرم گاوی (BSA)<sup>۱</sup> برای ساخت استاندارد استفاده شد.

##### میزان آنتوسیانین‌ها

برای سنجش میزان آنتوسیانین‌ها روش اختلاف pH به‌کاربرده شد. از هر واحد آزمایشی میزان ۶ گرم میوه توزین و پس از همگن‌سازی در هاون چینی به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از روشناور با ۵ میلی‌لیتر محلول kcl-Hcl (۵۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ مولار کلرید پتاسیم با ۹۷ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ میلی‌مولار کلریدریک اسید به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) با pH=۱ رقیق شد. ۱ میلی‌لیتر دیگر از محلول رویی با ۵ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۲ مولار (۳۰/۵ میلی‌لیتر از استیک اسید ۰/۲ مولار با ۱۹/۵ میلی‌لیتر از استات سدیم ۰/۲ مولار به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، pH=۴/۵ رقیق شد. سپس جذب هر دو محلول در طول موج ۵۲۰ نانومتر و ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. غلظت آنتوسیانین‌ها بر حسب میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلوکوزید درصد گرم وزن تازه میوه بیان شد (Giusti & Wrolstad, 2001).

##### محتوی مالون‌دی‌آلدئید

میزان مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از روش پیشنهادی Zhao et al. (1994) اندازه‌گیری شد. میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. در این روش میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا بر حسب نانو مول در گرم وزن تازه بیان شد.

##### فراسنجه‌های کیفی

برای ارزیابی درصد کاهش وزن، میوه‌ها پیش از ورود به سردخانه و پس از آن در فاصله‌های زمانی مشخص توزین شدند. دانه‌های خوراکی (آریل‌های) حدود ۵ میوه انار با دست جدا و پس از مخلوط کردن، با آب‌میوه‌گیر دستی آگیری شدند. سپس بی‌درنگ

1. Bovine Serum Albumin

پاداکسندگی و آنتوسیانین‌های بیشتری در مقایسه با شاهد داشت (جدول ۱). افزایش میزان آنتوسیانین‌ها در طول انبارمانی را می‌توان به کاهش آب آریل‌ها و تغلیظ آنتوسیانین‌ها نسبت داد که سبب افزایش رنگ قرمز آریل‌ها و بازپسندی میوه‌ها می‌شود (Sayyari, 2009).

#### میزان مالون‌دی‌آلدئید

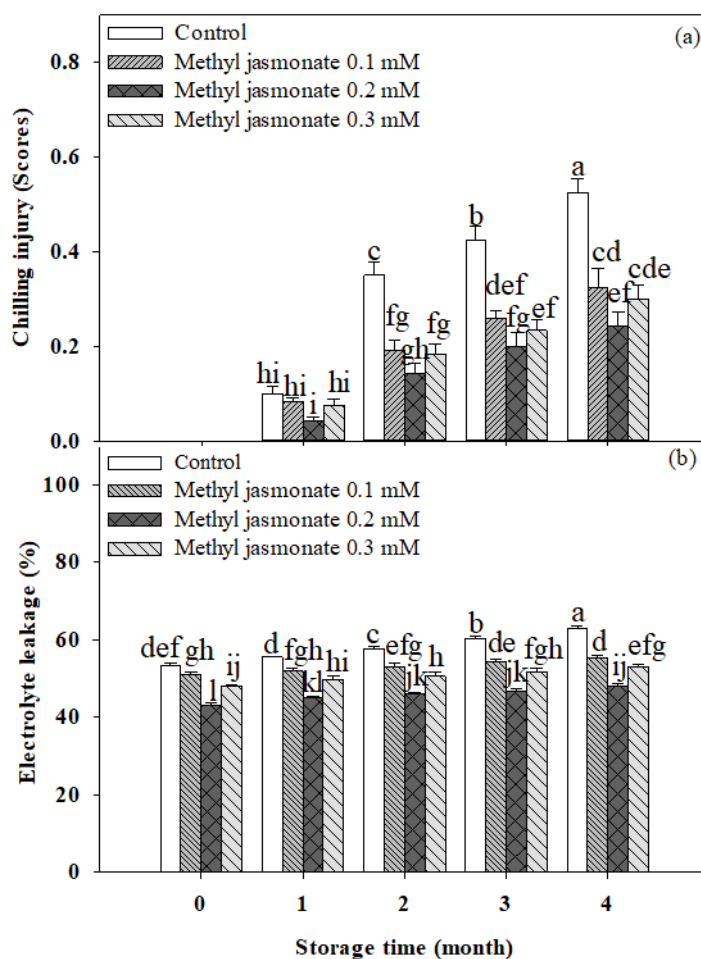
کاربرد پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات روی میوه‌های انار سبب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید شد. با گذشت ۴ ماه انبارمانی میزان مالون‌دی‌آلدئید در همه میوه‌ها افزایش یافت، اما این میزان افزایش در میوه‌های انار تیمار شده با متیل‌جاسمونات ۰/۲ میلی‌مولار به‌طور معنی‌داری در مقایسه با میوه‌های شاهد کمتر بود (شکل ۳).

#### میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل آمونیلایز

همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل آمونیلایز با گذشت مدت‌زمان انبارمانی در همه تیمارها افزایش یافته است. ولی این افزایش در میوه‌های تیمار شده با سطح ۰/۲ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به‌طور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های شاهد بود.

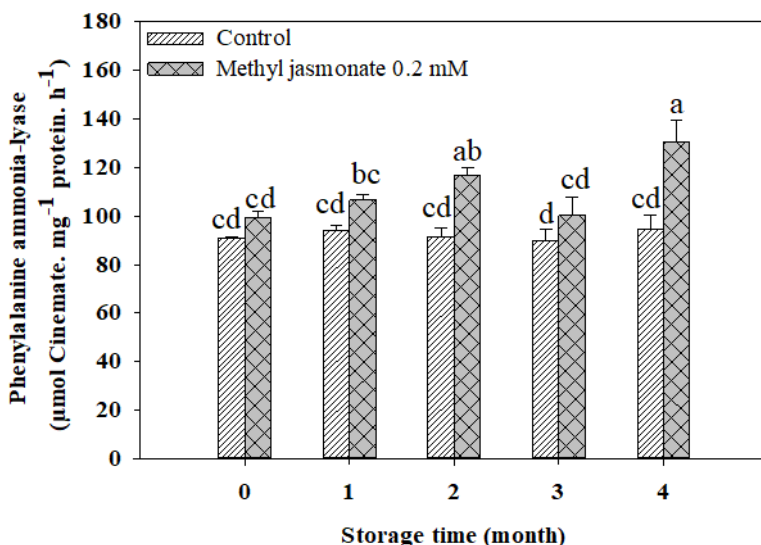
#### میزان فنل‌ها، ظرفیت پاداکسندگی و آنتوسیانین‌ها

میزان فنل‌ها، ظرفیت پاداکسندگی و آنتوسیانین‌ها در همه تیمارها با گذشت مدت‌زمان انبارمانی افزایش یافت ولی تأثیر برهمکنش تیمار متیل‌جاسمونات با زمان معنی‌دار نشد. با این حال تیمار ۰/۲ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به‌طور معنی‌داری میزان فنل‌ها، ظرفیت



شکل ۱. تأثیر تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات بر میزان آسیب سرمازدگی (a) و درصد نشت یونی (b) میوه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارمانی در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس سردخانه.

Figure 1. Impact of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on chilling injury (a) and electrolyte leakage (b) of pomegranate fruit during storage at 4±1 °C.



شکل ۲. تأثیر تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز میوه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارمانی در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس سردخانه.

Figure 2. Impact of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on phenylalanine ammonia-lyase of pomegranate fruit during storage at 4±1 °C.

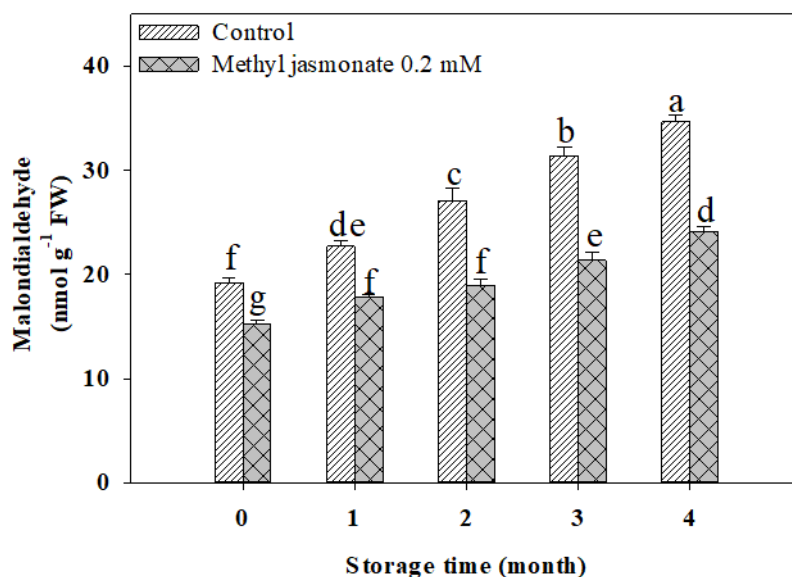
جدول ۱. تأثیر تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فنلها، آنتوسیانینها و ظرفیت پاداکسندگی میوه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارمانی در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس سردخانه.

Table 1. Impact of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on phenols, anthocyanin and antioxidant capacity of pomegranate fruit during storage at 4±1 °C.

Methyl jasmonate (mM)	Phenols	Anthocyanin	Antioxidant capacity
	(mg gallic acid/100 gr FW)	(mg Cyanidin-3-glucoside/100 gr FW)	(%)
Control (0)	117.16 ± 2.41 <sup>b</sup>	125.88 ± 2.63 <sup>b</sup>	72.98 ± 2.60 <sup>b</sup>
0.2	134.19 ± 1.87 <sup>a</sup>	133.72 ± 2.75 <sup>a</sup>	82.18 ± 1.63 <sup>a</sup>

Values with similar letters are not significantly different (p<0.05).

مقادیر با حروف مشابه اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ نشان نمی دهند.



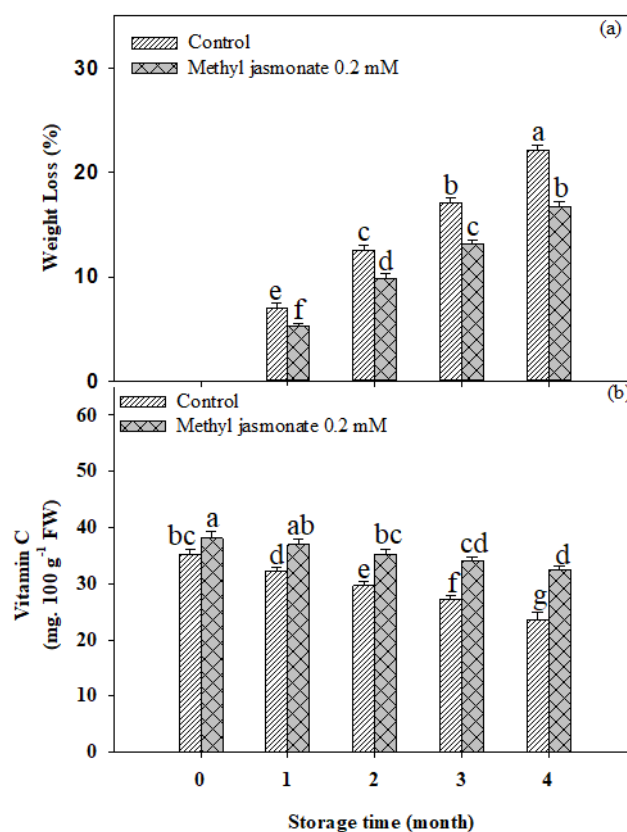
شکل ۳. تأثیر تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان مالون دی آلدئید میوه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارمانی در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس سردخانه.

Figure 3. Impact of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on malondialdehyde of pomegranate fruit during storage at 4±1 °C.

## فراسنجه‌های کیفی میوه

در این پژوهش میزان درصد وزن در میوه‌های شاهد و تیمار شده با گذشت مدت زمان انبارمانی کاهش یافت، ولی در همه مراحل اندازه‌گیری، درصد این کاهش در میوه‌های تیمار شده کمتر از میوه‌های شاهد بود (شکل ۴-ا). میزان ویتامین ث میوه‌های انار به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار متیل‌جاسمونات قرار گرفت، به‌طوری‌که برهمکنش تیمار با زمان در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. همان‌طور که در شکل ۴-ب نشان داده شده است با گذشت زمان میزان ویتامین ث در همه میوه‌های انار

کاهش یافت، ولی این کاهش در میوه‌های تیمار شده کمتر از میوه‌های شاهد بوده است. اثرگذاری‌های برهمکنش تیمار متیل‌جاسمونات و زمان در مورد صفات میزان مواد جامد محلول، اسید کل و pH معنی‌دار نشد. با این حال اثر تیمار متیل‌جاسمونات در سطح ۵ درصد برای مواد جامد محلول و در سطح ۱ درصد برای اسید کل و pH معنی‌دار شد. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است بیشترین میزان اسید کل و کمترین میزان مواد جامد محلول و pH مربوط به تیمار ۰/۲ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات بود.



شکل ۴. تأثیر تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات بر میزان درصد کاهش وزن (a) و ویتامین ث (b) میوه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارمانی در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس سردخانه.

Figure 4. Impact of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on weight loss (a) and vitamin C (b) of pomegranate fruit during storage at 4±1 °C.

جدول ۲. تأثیر تیمارهای پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات بر میزان مواد جامد محلول کل، اسید کل و pH میوه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارمانی در دمای ۱±۴ درجه سلسیوس سردخانه.

Table 2. Impact of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on phenols, anthocyanin and antioxidant capacity of pomegranate fruit during storage at 4 ± 1 °C.

Methyl jasmonate (mM)	Total soluble solids (Brix)	Total acidity (%)	pH
Control (0)	17.26 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.14 ± 0.09 <sup>a</sup>
0.2	15.95 ± 0.17 <sup>b</sup>	1.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.69 ± 0.08 <sup>b</sup>

Values with similar letters are not significantly different (p<0.05).

مقادیر با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ نشان نمی‌دهند.



## بحث

یکی از مهم‌ترین عارضه‌های میوه انار در مدت نگهداری در سردخانه، آسیب سرمازدگی است که در نتیجه نگهداری میوه در دمای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس رخ می‌دهد. همان‌طور که گفته شد نشانه‌های آسیب سرمازدگی در میوه انار شامل قهوه‌ای شدن پوست، فرورفتگی روی پوست و افزایش میزان نشت یونی است. متیل‌جاسمونات جزء تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که سبب تحریک سامانه دفاعی گیاهان در رویارویی با تنش‌های محیطی از جمله دماهای پایین می‌شود. تیمار متیل‌جاسمونات تأثیر معنی‌داری در کاهش میزان آسیب سرمازدگی در برخی محصولات باغبانی مانند ازگیل ژاپنی (لاکوآت) و هلو داشته است (Meng et al., 2010; Cao, et al., 2009). Sayyari et al. (2011) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات به‌روش بخاردهی با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۱ میلی‌مولار به‌طور معنی‌داری سبب کاهش آسیب سرمازدگی و نشت یونی در میوه انار رقم میواری دی‌الچه شد. بنابراین می‌توان گفت که تیمار متیل‌جاسمونات به‌صورت پیش و پس از برداشت توانایی کاهش آسیب سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه را دارد. سازوکار عمل متیل‌جاسمونات در ارتباط با کاهش آسیب سرمازدگی و کاهش نشت یونی در میوه‌های مختلف مشخص نیست، با این حال در نتایج پژوهشی نشان داده شده است، متیل‌جاسمونات با افزایش میزان پوتریسین و پرولین در میوه‌های گوجه‌فرنگی، میزان آسیب سرمازدگی و نشت یونی را کاهش می‌دهد (Zhang et al., 2012). تصور می‌شود که آسیب سرمازدگی منجر به تخریب غشای یاخته‌ای، جلوگیری از فعالیت میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها شده است، و سبب آغاز واکنش‌های ثانوی مانند تولید اتیلن، کاهش نورساخت (فتوسنتز) و تداخل در تولید انرژی می‌شود و از این طریق سبب تولید ترکیب‌های سمی مانند اتانول و استالندید شده است، که این مواد سبب تخریب غشای یاخته‌ای می‌شوند (Valero et al., 2015). بنابراین متیل‌جاسمونات با

حفظ ساختار غشایی و نفوذپذیری انتخابی آن، منجر به کاهش نشت یونی می‌شود. افزون بر این متیل‌جاسمونات سبب افزایش پلی‌آمین‌های درون‌زا (پوتریسین و اسپرمیدین) میوه شده و پلی‌آمین‌ها با اتصال به غشای یاخته‌ای و همچنین به دلیل خاصیت پاداکسندگی فراوانی که دارند سبب حفظ سیالیت غشای یاخته‌ای و کاهش پراکسیداسیدن لیپیدی می‌شوند و در نتیجه منجر به حفظ کیفیت میوه و کاهش آسیب‌های سرمازدگی و نشت یونی می‌شوند (Valero et al., 2015). انار جزء میوه‌هایی است که خاصیت پاداکسندگی بالایی داشته و ترکیب‌های فنلی در آن‌ها به وفور یافت می‌شوند. در واقع خاصیت پاداکسندگی انار به میزان بالای ترکیب‌های فنلی مانند الازیک اسید، یونیکالائین<sup>۲</sup> بر می‌گردد (Valero et al., 2015). به نظر می‌رسد بیشتر بودن میزان فنل‌ها و ظرفیت پاداکسندگی در میوه‌های انار تیمار شده با متیل‌جاسمونات به دلیل سازوکار رویارویی با تنش سرمازدگی است. فنل‌ها با کاهش لیپوپروتئین‌ها (نوعی چربی در بدن انسان) منجر به کاهش بیماری‌های قلبی در انسان می‌شوند. افزون بر این فنل‌ها ترکیب‌های بسیار مهمی هستند که در کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها مانند رنگ، گسی، تلخی و طعم نقش دارند. این ترکیب‌ها خواص پاداکسندگی فراوانی داشته و سبب از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Hassanpour et al., 2011). فنل‌ها با جلوگیری از آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایشی (اکسیداسیونی)، بازدارنده از اکسید شدن لیپیدها می‌شوند (Soleimani Aghdam et al., 2016). همبستگی مثبتی بین فنل‌ها و ظرفیت پاداکسندگی در میوه انار وجود دارد به‌طوری‌که حفظ میزان فنل‌ها در دوره انبارمانی با حفظ ظرفیت پاداکسندگی در میوه انار همراه است (Sayyari, 2009). Sayyari et al. (2009) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات در میوه‌های انار منجر به افزایش میزان فنل‌ها و ظرفیت پاداکسندگی در

1. Ellagic acid  
2. Punicalagins

مدت انبارمانی در همه میوه‌ها شد، ولی در همه زمان‌های اندازه‌گیری، میوه‌های انار تیمار شده با متیل‌جاسمونات میزان پاداکسندگی محلول در آب بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند. کمتر بودن میزان پاداکسندگی محلول در آب در میوه‌های شاهد در مدت انبارمانی را می‌توان به از دست‌دهی میزان آسکوربیک اسید در این میوه‌ها نسبت داد. در آزمایشی دیگر تیمار میوه توت با متیل‌جاسمونات سبب افزایش میزان فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت پاداکسندگی شد (Wang *et al.*, 2005). فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز یکی از آنزیم‌های اصلی در مسیر زیست‌ساخت (بیوسنتز) فنل‌ها است. ترکیب‌های فنلی و آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز نقش مهمی در کاهش آسیب سرمازدگی محصولات باغبانی مختلف دارند (Soleimani Aghdam *et al.*, 2016). در این پژوهش تیمار پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز در میوه انار شده و در نتیجه آن میزان فنل‌ها افزایش پیدا کرده است. بالا بودن میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز در میوه‌های موز تیمار شده با گرما، با کاهش میزان آسیب سرمازدگی همراه بود (Chen *et al.*, 2008). تیمار پیش از برداشت متیل‌جاسمونات سبب افزایش فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت پاداکسندگی در تمشک و آلو شد (Wang & Zheng, 2005; Martinez-Espla *et al.*, 2014). همچنین تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات سبب افزایش این ترکیب‌ها در میوه‌های انار، توت‌فرنگی و توت سیاه شد (Chanjirakul *et al.*, 2006 & 2007; Sayyari *et al.*, 2011). زیست‌ساخت ترکیب‌های فنلی با مسیره‌های شیکمیک - فنیل‌پروپانوئیدها - فلاونوئیدها انجام می‌شود. آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز یکی از آنزیم‌های کلیدی در مسیر فنیل‌پروپانوئیدها است که سبب تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس-سینامیک اسید می‌شود. فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز رابط بین متابولیت‌های اولیه (مسیر شیکمیک اسید) و متابولیت‌های ثانوی (مسیر فنیل‌پروپانوئیدها) است. بنابراین تیمار پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمونات با افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز سبب افزایش

میزان فنل کل و در نتیجه منجر به افزایش ظرفیت پاداکسندگی میوه انار می‌شود. همچنین در این پژوهش مشخص شد، با گذشت مدت‌زمان انبارمانی میزان آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز و ترکیب‌های فنلی و پاداکسندگی کل افزایش می‌یابند تا از این طریق توانایی یاخته‌ها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش داده و سبب تأخیر فرآیند رسیدن و پیری میوه انار شود. گونه‌های فعال اکسیژن سبب بروز بیماری‌های مزمن و خطرناک در انسان می‌شوند و این پاداکسندگی‌ها هستند که قابلیت از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن را داشته و از این طریق نقش مهمی در سلامت انسان دارند. آنتوسیانین‌ها ترکیب‌هایی با خاصیت پاداکسندگی بالا هستند که توانایی از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن را دارند (Hassanpour *et al.*, 2011).

در نتایج پژوهشی گزارش شده است، تیمار پیش از برداشت متیل‌جاسمونات در کاهو و توت‌فرنگی چینی (Bayberry) سبب افزایش میزان پاداکسندگی در این محصولات شد. در هر دو محصول میزان ترکیب‌های فنلی با افزایش میزان فعالیت فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز توسط متیل‌جاسمونات، افزایش یافت (Kim *et al.*, 2007; Reyes-Diaz *et al.*, 2016). نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، تیمار سبزی ریحان با سطح ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات سبب افزایش رزمارونیک اسید و کافنیک اسید که ساختارهای اصلی تشکیل‌دهنده پاداکسندگی در ریحان‌اند، شد. محلول‌پاشی برگی متیل‌جاسمونات در مراحل اولیه نمو میوه گیلاس با افزایش آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز و بتا-۳،۱-گلوکاناز سبب جلوگیری از رشد میسیلیوم و جوانه قارچ *Monilinia fructicola* شد (Li *et al.*, 2010). کاربرد پیش از برداشت متیل‌جاسمونات روی میوه‌های تمشک سبب افزایش ترکیب‌های پاداکسندگی مانند الازیک اسید، کوئرستین و مایرپیتین شد که این ترکیب‌ها در افزایش سلامت انسان نقش مهمی دارند. این افزایش در اثر تحریک افزایش آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌یاز توسط متیل‌جاسمونات رخ داده است (Flores *et al.*, 2014). نتایج آزمایش دیگری در آلو هم نتایج همسان آزمایش پیشین داشت، به طوری که میوه‌های آلوی

آنزیم‌های پاداکسندگی مانند کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیلایز، فلاوونون ۳-بتا-هیدروکسیلاز و ACC- سینتاز همراه بود (Reyes- Diaz *et al.*, 2016). Asghari & Hasanlooe (2015) در نتایج پژوهشی اعلام کردند، کاربرد متیل‌جاسمونات روی توت‌فرنگی پتانسیل بالایی در جهت افزایش سیستم دفاعی میوه مانند آنزیم‌های پاداکسندگی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز داشته و سبب افزایش عمر قفسه‌ای میوه توت‌فرنگی شد. Yu *et al.* (2016) در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، میزان قند میوه‌های هلو تیمار شده با متیل‌جاسمونات طی انبارمانی افزایش یافت. این پدیده با افزایش فعالیت ساکارز فسفات سنتاز و کاهش اینورتاز همراه بود که سبب افزایش مقاومت به آسیب سرمازدگی در این میوه شد.

پراکسیداسیون لیپیدها یک فرآیند معمول و طبیعی است که در اثر حمله گونه‌های فعال اکسیژن به زنجیره اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشای یاخته‌ای رخ می‌دهد. تخریب لیپیدهای غشای یاخته‌ای و پراکسیداسیون لیپیدها سبب از بین رفتن یاخته‌ها و حتی بافت‌ها می‌شود. آسیب سرمازدگی که در نتیجه قرار گرفتن میوه‌های انار در معرض دماهای پایین رخ می‌دهد هم سبب از بین رفتن ساختار غشای یاخته‌ای و هم سبب تحریک گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نتیجه آن پراکسیداسیون لیپیدی غشا افزایش می‌یابد (Siboza *et al.*, 2016; Fan *et al.*, 2016b). در این پژوهش تیمار متیل‌جاسمونات با افزایش سامانه پاداکسندگی، موجب جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها شده و از این طریق منجر به حفظ دیواره یاخته‌ای میوه انار و جلوگیری از حمله بیمارگر (پاتوژن)‌های قارچی به میوه شد. Fan *et al.* (2016b) در نتایج بررسی‌های خود اعلام کردند، نخودفرنگی (cowpea) تیمار شده با متیل‌جاسمونات ۰/۱ میکرومولار میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی کمتری در مدت انبارمانی در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند. آنان نیز کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در نخودفرنگی‌های تیمار شده را به توانایی متیل‌جاسمونات در افزایش سامانه پاداکسندگی و کاهش گونه‌های

تیمار شده با سطح ۰/۵ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات به‌صورت پیش از برداشت، میزان پاداکسندگی کل بیشتری نسبت به دیگر غلظت‌ها (۱ و ۲ میلی‌مولار) و شاهد داشتند (Martinez-Espla *et al.*, 2014).

در این پژوهش به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز در میوه انار با تیمار متیل‌جاسمونات، سبب افزایش میزان آنتوسیانین‌ها می‌شود. میوه‌های توت‌فرنگی تیمار شده با متیل‌جاسمونات به‌صورت پس از برداشت میزان فنل‌ها، ظرفیت پاداکسندگی و آنتوسیانین‌های بیشتری نسبت به شاهد از خود نشان دادند (Moreno *et al.*, 2010). در آزمایشی دیگر تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات سبب افزایش میزان آنتوسیانین‌ها، فنل‌ها و آنزیم‌های پاداکسندگی شامل کاتالاز، پراکسیداز در میوه‌های بادنجان نگهداری شده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در مدت ده روز انبارمانی شد. آنان اعلام کردند، افزایش آنزیم‌های پاداکسندگی کاتالاز و پراکسیداز سبب افزایش پاداکسندگی کل بادمجان و حفظ تازگی آن‌ها در مدت انبارمانی خواهد شد. همچنین افزایش آنتوسیانین‌های قسمت پوست بادنجان می‌تواند نقش مهمی در سلامت انسان‌ها داشته باشد (Fan *et al.*, 2016a).

آنتوسیانین‌ها، ویتامین ث و فنل‌ها از جمله ترکیب‌های اصلی در سامانه پاداکسندگی میوه انار به‌شمار می‌آیند. آنتوسیانین‌ها گروه بزرگی از ترکیب‌های فنلی در برنامه رژیم غذایی انسان هستند که برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های دیابتی، بیماری‌های چربی و اختلال در بینایی کاربرد دارند (Reyes-Diaz *et al.*, 2016). نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهد، تیمارهای متیل‌جاسمونات ویژگی‌های پاداکسندگی را با افزایش ترکیب‌های فعال زیستی (بیواکتیو) در انار (Sayyari *et al.*, 2011) و بلک بری (Wang *et al.*, 2008) بهبود می‌بخشد. کاربرد متیل‌جاسمونات در میوه‌ها به‌صورت بخاردهی، غوطه‌وری و یا محلول‌پاشی برگی موجب افزایش ترکیب‌های پاداکسندگی مانند آنتوسیانین‌ها و دیگر متابولیت‌های فنلی- ثانویه شد. در این میوه‌ها افزایش فعالیت پاداکسندگی در نتیجه افزایش

محلول در میوه‌های تیمارشده و شاهد با گذشت زمان افزایش و میزان اسید کل کاهش یافت، ولی باین‌حال اثر تیمارها معنی‌دار نبود (Sayyari, 2009). بنابراین تأثیر متیل‌جاسمون‌ات بسته به نوع میوه، غلظت، زمان محلول‌پاشی و نحوه کاربرد می‌تواند متفاوت باشد (Martinez-Espla *et al.*, 2014).

به‌طورمعمول اسیدهای آلی هنگام رسیدن میوه به‌دلیل مصرف شدن در تنفس و تبدیل به قندها کاهش می‌یابند و کاهش آن‌ها رابطه مستقیمی با فعالیت‌های سوخت‌وسازی میوه دارد (Rahemi, 2008). در واقع اسیدهای آلی به‌عنوان یک اندوخته انرژی میوه هستند که در هنگام رسیدن با افزایش سوخت‌وساز مصرف می‌شوند. کاهش اسید میوه‌ها در مدت نگهداری در انبار منجر به افزایش پ‌هاس آن‌ها می‌شود. می‌توان گفت متیل‌جاسمون‌ات با کاهش تنفس و کاهش سرعت فرآیندهای سوخت‌وسازی یاخته از کاهش اسیدهای آلی تا حدودی جلوگیری می‌کند که در بلندمدت باعث حفظ اسیدهای آلی و پایین بودن پ‌هاس آب‌میوه انار می‌شود (Rahemi, 2008). از جمله مشکلات اصلی میوه‌های انار در مدت انبار کاهش وزن زیاد آن‌ها است. میوه‌های انار به‌دلیل وجود پرزها و شکاف‌های پرشمار روی سطح پوست آن‌ها، درصد کاهش وزن زیادی در مدت انبارمانی از خود نشان می‌دهند. یاخته‌های سطح پوست به‌سرعت آب خود را از دست می‌دهند و آماس (تورژانس) یاخته‌ای هم کم شده و به دنبال آن سفتی بافت میوه انار کاهش می‌یابد (Sayyari, 2009). به نظر می‌رسد که در این پژوهش متیل‌جاسمون‌ات تا حدودی توانسته این مشکل را برطرف کند.

#### نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش بهترین غلظت تیمار ترکیبی پیش و پس از برداشت متیل‌جاسمون‌ات مربوط به سطح ۰/۲ میلی‌مولار بود. افزایش درصد نشت یونی و میزان مالون‌دی‌آلدئید با محلول‌پاشی برگ‌گی و تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمون‌ات به تأخیر افتاد. بیشترین میزان فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها مربوط به میوه‌های تیمارشده با متیل‌جاسمون‌ات بود که با افزایش فعالیت

فعال اکسیژن نسبت دادند. میوه‌های لیموترش تیمارشده با متیل‌جاسمون‌ات ۱۰ میکرومولار به‌صورت جدا و همچنین در ترکیب با سالیسیلیک اسید ۲ میلی‌مولار همانند میوه‌های انار تیمارشده در این پژوهش میزان مالون‌دی‌آلدئید کمتری در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند (Siboza *et al.*, 2016).

همان‌طورکه پیشتر گفته شد، ویتامین ث موجود در دانه‌های خوراکی انار یکی از ترکیب‌های اصلی تشکیل‌دهنده سیستم پاداکسندگی آن به شمار می‌آید. ویتامین ث موجود در میوه‌ها می‌تواند به‌طور مستقیم سبب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد شده و مقادیر آن توسط آنزیم‌های پاداکسندگی کنترل شود. میوه‌های انار که به روش غوطه‌وری با متیل‌جاسمون‌ات تیمار شده بودند به‌طور معنی‌داری میزان ویتامین ث بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند (Sayyari, 2009). افزایش مواد جامد محلول را می‌توان به افزایش فرآیند تنفس و فعالیت‌های سوخت‌وسازی (متابولیکی) میوه انار در مدت انبارمانی نسبت داد. پایین بودن این میزان در میوه‌های تیمارشده را می‌توان به توانایی تیمار متیل‌جاسمون‌ات در به تأخیر انداختن فرآیند پیری میوه‌های انار دانست (Fan *et al.*, 2016b).

تیمار متیل‌جاسمون‌ات در میوه‌های مختلف اثرگذاری‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهد. به‌طور مثال تیمار متیل‌جاسمون‌ات سبب افزایش نسب مواد جامد محلول به اسید کل در میوه‌های توت‌فرنگی (Wang *et al.*, 2016) و بلک بری (Saavedra *et al.*, 2016) شده و تسریع فرآیند رسیدن در میوه‌های تیمارشده شد. همچنین تیمار پیش از برداشت متیل‌جاسمون‌ات روی دو رقم آلو سبب افزایش میزان مواد جامد محلول و کاهش میزان اسید کل در زمان برداشت و طی انبارمانی شد (Martinez-Espla *et al.*, 2014). بر خلاف نتایج پژوهش پیشین میوه‌های هلوی تیمارشده با متیل‌جاسمون‌ات به‌صورت محلول‌پاشی میزان مواد جامد محلول کمتری نسبت به شاهد داشتند و فرآیند رسیدن و نرم‌شدگی در آن‌ها به تأخیر افتاد (Ziosi *et al.*, 2008). همچنین میوه‌های انار رقم مویار دی‌الچه که به روش بخاردهی با متیل‌جاسمون‌ات تیمار شده بودند، میزان مواد جامد

کاهش وزن میوه و حفظ میزان ویتامین ث، اسید کل و pH سبب بهبود ویژگی‌های کیفی و افزایش عمر قفسه‌ای میوه‌های انار شد.

### سپاسگزاری

از مسئولان محترم ایستگاه تحقیقات انار شهرستان ساوه به‌منظور هماهنگی‌های لازم در جهت انجام محلول‌پاشی و تهیه میوه انار، تشکر و قدردانی می‌گردد.

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز در این میوه‌ها همراه بود. ظرفیت پاداکسندگی هم در میوه‌های تیمار شده بیشتر از شاهد بود. متیل‌جاسمونات با افزایش ظرفیت پاداکسندگی و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز سبب افزایش فنل‌ها شد و در نتیجه آن درصد نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدها کاهش یافت و از این طریق منجر به کاهش آسیب سرمازدگی در میوه‌های انار در مدت انبارمانی شد. همچنین متیل‌جاسمونات با جلوگیری از کاهش میزان مواد جامد محلول و درصد

### REFERENCES

1. Asghari, M. & Hasanlooe, A. R. (2015). Methyl jasmonate effectively enhanced some defense enzymes activity and Total antioxidant content in harvested "Sabrosa" strawberry fruit. *Food Science and Nutrition*, 26, 377-383.
2. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
3. Cao, S., Zheng, Y., Wang, K., Rui, H. & Tang, S. (2010). Effect of methyl jasmonate on cell wall modification of loquat fruit in relation to chilling injury after harvest. *Food Chemistry*, 118, 641-647.
4. Chanjirakul, K., Wang, S. Y., Wang, C. H. & Siriphanich, J. (2006). Effect of natural volatile compounds on antioxidant capacity and antioxidant enzymes in raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 106-115.
5. Chanjirakul, K., Wang, S. Y., Wang, C. H. & Siriphanich, J. (2007). Natural volatile treatments increase free-radical scavenging capacity of strawberries and black-berries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1463-1472.
6. Chen, J. Y., He, L. H., Jiang, Y. M., Wang, Y., Joyce, D. C., Ji, Z. L. & Lu, W. J. (2008). Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. *Physiologia Plantarum*, 132, 318-328.
7. Eberhardt, M. V., Lee, C. Y. & Liu, R. H. (2000). Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405, 903-904.
8. Fan, L., Shi, J., Zuo, J., Gao, L., Lv, J. & Wang, Q. (2016a). Methyl jasmonate delays postharvest ripening and senescence in the non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 120, 76-83.
9. Fan, L., Wang, Q., Lv, J., Gao, L., Zuo, J. & Shi, J. (2016b). Amelioration of postharvest chilling injury in cowpea (*Vigna sinensis*) by methyl jasmonate (MeJA) treatments. *Scientia Horticulturae*, 203, 95-101.
10. Flores, G. & Del Castillo, M. L. R. (2014). Influence of preharvest and postharvest methyl jasmonate treatments on flavonoid content and metabolomic enzymes in red raspberry. *Postharvest Biology and Technology*, 97, 77-82.
11. Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1-13.
12. Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J. & Adlipour, M. (2011). Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*, 129, 459-463.
13. Kashash, Y., Mayuoni-Kirshenbaum, L., Goldenberg, L., Choi, H. J. & Porat, R. (2016). Effects of harvest date and low-temperature conditioning on chilling tolerance of 'Wonderful' pomegranate fruit. *Scientia Horticulturae*, 209, 286-292.
14. Kim, H. J., Fonseca, J. M., Choi, J. H. & Kubota, C. (2007). Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10366-10372.
15. Knee, M. (2002). *Fruit quality and its biological basis*. Published by Sheffield Academic Press.
16. Kucuker, E., Ozturk, B., Celik, S. M. & Aksit, H. (2014). Pre-harvest spray application of methyl jasmonate plays an important role in fruit ripening, fruit quality and bioactive compounds of Japanese plums. *Scientia Horticulturae*, 176, 162-169.

17. Li, Z., Hao, Y., Yang, Y. & Deng, W. (2010). Molecular cloning and expression analysis of a cytochrome P450 gene in tomato. *Plant growth regulation*, 61, 297-304.
18. Martinez-Espla, A., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valero, D. & Serrano, M. (2014). Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 1. Improvement of fruit growth and quality attributes at harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 98, 98-105.
19. Meng, X., Han, J., Wang, Q. & Tian, S. (2009). Changes in physiology and quality of peach fruits treated by methyl jasmonate under low temperature stress. *Food Chemistry*, 114, 1028-1035.
20. Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., et al. (2007b). Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 19-25.
21. Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M. & Valero, D. (2007a). Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 26-33.
22. Moreno, F. D., Monagas, M., Blanch, G. P., Bartolome, B. & Castillo, M. L. R. (2010). Enhancement of anthocyanins and selected aroma compounds in strawberryfruits through methyl jasmonate vapor treatment. *European Food Research and Technology*, 230, 989-999.
23. Nanda, S., Rao, D. V. S. & Krishnamurthy, S. (2001). Effects of shrink film wrapping and storage temperature on the shelf life and quality of pomegranate fruits cv. Ganesh. *Postharvest Biology and Technology*, 22, 61-69.
24. Nguyen, T. B. T., Ketsa, S. & van Doorn, W. G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 30, 187-193.
25. Opara, U. L., Atukuri, J. & Fawole, O. A. (2015). Application of physical and chemical postharvest treatments to enhance storage and shelf life of pomegranate fruit-A review. *Scientia Horticulturae*, 197, 41-49.
26. Rahemi, M. (2008). *Postharvest (An Introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals)*. Translation. (in Farsi)
27. Reyes-Diaz, M., Lobos, T., Cardemil, L., Nunes-Nesi, A., Retamales, J., Jaakola, L. & Ribera-Fonseca, A. (2016). Methyl jasmonate: an alternative for improving the quality and health properties of fresh fruits. *Molecules*, 21, 567.
28. Saavedra, G. M., Figueroa, N. E., Poblete, L. A., Cherian, S. & Figueroa, C. R. (2016). Effects of preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan on postharvest decay, quality and chemical attributes of *Fragaria chiloensis* fruit. *Food chemistry*, 190, 448-453.
29. Sayyari, M. (2009). *Effects of Chemical and non-chemical on resistance to chilling injury and husk scald of pomegranate in storage*. Ph.D. Thesis. Faculty of Horticulturae. University of Tehran. Iran. (in Farsi)
30. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillen, F., Serrano, M. & Valero, D. (2011). Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food Chemistry*, 124, 964-970.
31. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M. & Valero, D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 152-154.
32. Sayyari, M., Valero, D., Babalar, M., Kalantari, S., Zapata, P. J. & Serrano, M. (2010). Prestorage oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2°C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 6804-6808.
33. Serrano, M., Guillen, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S. & Valero, D. (2005). Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2741-2745.
34. Siboz, X. I., Bertling, I. & Odindo, A. O. (2014). Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *Journal of Plant Physiology*, 171, 1722-1731.
35. Soleimani Aghdam, M., Naderi, R., Askari Sarcheshmeh, N. A. & Babalar, M. (2016). Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by g-aminobutyric acid (GABA) treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 70-76.
36. Valero, D., Mirdehghan, S. H., Sayyari, M. & Serrano, M. (2015). Vapor treatments, chilling, storage, and antioxidants in pomegranates. *Processing and Impact on Active Components in Food*, ed. by Preedy V. Academic Press, San Diego, CA, 189-196.
37. Wang, L. J. & Li, S. H. (2006). Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca<sup>2+</sup> homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. *Plant Science*, 170, 685-694.

38. Wang, S. Y., Bowman, L. & Ding, M. (2008). Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus* sp.) and promotes antiproliferation of human cancer cells. *Food Chemistry*, 107, 1261-1269.
39. Yu, L., Liu, H., Shao, X., Yu, F., Wei, Y., Ni, Z., Xu, F. & Wang, H. (2016). Effects of hot air and methyl jasmonate treatment on the metabolism of soluble sugars in peach fruit during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 8-16.
40. Zhang, X., Sheng, J., Li, F., Meng, D. & Shen, L. (2012). Methyl jasmonate alters arginine catabolism and improves postharvest chilling tolerance in cherry tomato fruit. *Postharvest biology and technology*, 64, 160-167.
41. Zhao, S. J., Xu, C. C. & Zou, Q. (1994). Improvements of the method for measurement of malondialdehyde in plant tissue. *Plant Physiology Communications*, 30, 207-210.
42. Ziosi, V., Bregoli, A. M., Fregola, F., Costa, G. & Torrigiani, P. (2009). Jasmonate-induced ripening delay is associated with up-regulation of polyamine levels in peach fruit. *Journal of Plant Physiology*, 166, 938-946.