

## اثر آرژنین و متیل جاسمونات بر کاهش خسارت سرمازدگی و حفظ کیفیت تغذیه‌ای میوه انار رقم ملس ساوه

فرهاد پیرزاد<sup>۱</sup>، محمدعلی عسگری سرچشمه<sup>۲\*</sup>، مصباح بابالار<sup>۳</sup>، علیرضا طلائی<sup>۳</sup> و حسین لسانی<sup>۳</sup>

۱، ۲ و ۳. دانش‌آموخته دکتری، دانشیار و استاد، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۳)

## چکیده

از مشکلات اصلی میوه انار طی انبارمانی، خسارت سرمازدگی در دمای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس بوده که با قهوه‌ای شدن پوست، بذر پوشینه‌ها و کاهش کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها همراه است. در این پژوهش اثر تیمارهای ترکیبی آرژنین (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی روی درخت، طی سه مرحله ۶۰، ۴۰ و ۲۰ روز قبل از برداشت به منظور کاهش خسارت سرمازدگی و حفظ کیفیت تغذیه‌ای آریل‌های میوه انار در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز انبارمانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد تیمار ترکیبی آرژنین ۲ میلی‌مولار و متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار سبب کاهش میزان خسارت سرمازدگی (۳۷/۷۴ درصد)، نشت یونی (۳۱/۴۲ درصد) و مالون‌دی‌آلدئید (۲۹/۴۶ درصد) در میوه‌های انار شد. همچنین میوه‌های انار تیمار شده میزان آسکوربیک اسید، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمینوآزید، میزان فنل کل و آنتوسیانین بالاتر و میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز کمتری داشتند که در نهایت منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها شد. این تیمار سبب افزایش فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب به میزان ۹/۰۴، ۸/۱۸ و ۴۴/۲۱ درصد در مقایسه با شاهد شد که در نتیجه آن تجمع هیدروژن پراکسید در این میوه‌ها کاهش یافت. بنابراین تیمار ترکیبی آرژنین و متیل جاسمونات از طریق بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان خسارت سرمازدگی منجر به افزایش کیفیت تغذیه‌ای، حفظ سیالیت غشا سیتوپلاسمی و بازار پستندی میوه‌های انار شده است.

واژه‌های کلیدی: انبارمانی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، قهوه‌ای شدن، محلول‌پاشی.

## Effect of arginine and methyl jasmonate on chilling injury and nutritional quality of pomegranate fruit cv "Malase Saveh"

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

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

(Received: May 25, 2019 - Accepted: Jul. 25, 2019)

## ABSTRACTS

Chilling injury is the main problem of pomegranate fruit during storage at below 5 °C, which is associated with browning husk, arils pomegranate and loss of its nutritional quality. In this experiment, the effect of interaction between arginine (0, 1 and 2 mM) and methyl jasmonate (0, 0.1 and 0.2 mM) in form of foliar spraying on the tree in three stages of 60, 40 and 20 days before harvest for reducing chilling injury and keeping nutritional quality of pomegranate were evaluated on 0, 30, 60, 90 and 120 days at  $4 \pm 0.5$  °C during storage. The results showed that combined treatment between arginine (2 mM) and methyl jasmonate (0.1 mM) led to reducing chilling injury (37.74 %), electrolyte leakage (31.42 %) and malondialdehyde accumulation (29.46 %). Also, pomegranate treated with interaction treatment between arginine (2 mM) and methyl jasmonate (0.1 mM) exhibited higher ascorbic acid content, phenylalanine ammonia-lyase, phenols and anthocyanins and lower polyphenol oxidase enzymes activity which ultimately increased the antioxidant capacity of fruits. This treatment increased the enzyme activity of ascorbate peroxidase, catalase and superoxide dismutase by 9.04, 8.18 and 44.21%, respectively, in comparison with the control, leading to reduction the accumulation of hydrogen peroxide in these fruits. Thus, combined treatment between arginine and methyl jasmonate via enhancing antioxidant system, and reducing chilling injury led to enhanced nutritional quality, maintained safe membrane integrity and marketable.

Keywords: Browning, DPPH scavenging capacity, foliar, storage.

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

## مقدمه

انار از میوه‌های بسیار قدیمی شناخته شده می‌باشد. شواهد تاریخی نشان می‌دهد که ایران محل اولیه کشت و کار انار بوده و از این منطقه به مناطق دیگر گسترش یافته است (Levin, 2006). با وجود آنکه کشور ایران با تولید حدود ۱/۱ میلیون تن در سال بزرگترین تولید کننده میوه انار در جهان می‌باشد ولی میزان صادرات این میوه به نقاط مختلف دنیا بسیار ناچیز است. انار تولیدی در ایران در کشورهای خاورمیانه و اروپایی بسیار طرفدار دارد و بنابراین می‌توان به عنوان یک محصول غیر نفتی بسیار سود آور در نظر گرفت (Anonymous, 2016).

نگهداری میوه‌های انار در دماهای بالا منجر به کاهش وزن میوه، خشک شدن پوست و آریل، افزایش پوسیدگی قارچی، کاهش کیفیت تغذیه‌ای و بازارپسندی میوه‌ها می‌شود. به همین دلیل برای غلبه بر این مشکلات نگهداری آن‌ها در دماهای پایین و رطوبت بالا ضروری به نظر می‌رسد. با این حال نگهداری میوه‌های انار در دمای پایین سبب ظهور علائم خسارت سرمازدگی خواهد شد. علائم معمول سرمازدگی شامل قهوه‌ای شدن رنگ پوست، فرورفتگی سطحی و افزایش حساسیت به پوسیدگی ناشی از قارچ‌ها می‌باشد که پس از انتقال میوه از سردخانه به دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ روز، علائم ظاهر می‌شوند. علائم داخلی به صورت رنگ پریدگی آریل‌ها و قهوه‌ای شدن غشای جدا کننده قارچ‌ها می‌باشد (Pirzad, 2017; Babalar et al., 2018). خسارت سرمازدگی، پوسیدگی و کاهش وزن از جمله مشکلات اصلی و محدودیت‌های انبارمانی میوه انار است (Opara et al., 2015; Babalar et al., 2018). تاکنون جهت کاهش خسارت‌های سرمازدگی و قهوه‌ای شدن و افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی میوه انار در زمان انبارمانی از تیمارهای مختلفی از جمله انبارهای با اتمسفر کنترل شده (Kader, 2006) تیمارهای قبل از انبار مانند سالیسیلیک اسید، متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات، اسید اگزالیک (Sayyari, 2009)، پلی‌آمین‌ها (Mirdehghan et al., 2007a)، آرژنین (Babalar et al., 2018) استفاده

شده است که هرکدام توانسته‌اند میزان سرمازدگی میوه انار را در انبار کاهش دهند.

آرژنین به عنوان یک اسیدآمین و ترکیب طبیعی علاوه بر بیوسنتز پروتئین‌ها، در بیوسنتز مولکول‌های سیگنالی نظیر پلی‌آمین‌ها، نیتریک اکسید و پرولین که در مقاومت به تنش‌های پس از برداشت مانند خسارت سرمازدگی نقش مهمی دارند نیز مشارکت می‌نماید. کاربرد آرژنین از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آرژیناز، آرژنین دکربوکسیلاز، اورنیتین دکربوکسیلاز و اورنیتین آمینوترانسفراز سبب افزایش مقاومت به سرمازدگی در گوجه‌فرنگی گردید (Zhang et al., 2010; Zhang et al., 2013).

متیل‌جاسمونات یک ترکیب طبیعی است که با کاربرد قبل یا پس از برداشت آن هیچ اثر سوئی در محصولات باغبانی گزارش نشده و استفاده از این تیمار در محصولات باغبانی مختلف سبب افزایش عمر قفسه‌ای و بهبود کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها شده و تأثیر شیمیایی و سمی از خود در این محصولات بر جای نگذاشته است (Reyes et al., 2016; Martinez-Espla et al., 2014). متیل‌جاسمونات به‌عنوان یک هورمون گیاهی در اندام‌های مختلف گیاه وجود دارد ولی بیشترین میزان آن در قسمت‌های گل و میوه می‌باشد (Reyes et al., 2016). گزارش شده است که تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات موجب کاهش میزان سرمازدگی و نشت یونی در میوه انار رقم مولار دی‌الچه (Mollar de Elche) (Sayyari, 2009) و گوجه‌فرنگی (Zhang et al., 2012) شده است. همچنین سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در محصولات نظیر انار (Sayyari, 2009)، توت‌فرنگی و توت‌سیاه (Chanjirakul et al., 2006; Chanjirakul et al., 2007) گردیده است.

در این پژوهش برای نخستین بار اثر محلول‌پاشی قبل از برداشت ترکیب تیماری آرژنین و متیل جاسمونات و ترکیب آن‌ها با غوطه‌وری پس از برداشت بر میزان خسارت سرمازدگی میوه انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت و ارتباط این تیمارها با نشت یونی و میزان مالون‌دی‌آلدهید به عنوان نشانگرهای میزان

سیالیت غشای سیتوپلاسمی، فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO به همراه فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها، آسکوربیک اسید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر APX، CAT و SOD به همراه میزان هیدروژن پراکسید به عنوان نشانگر تنش مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌مولار) روی میوه‌هایی که با همین غلظت‌ها در مرحله داشت محلول‌پاشی شده بودند به صورت غوطه‌وری به مدت ۱۰ دقیقه اعمال گردید. تعداد کل میوه‌های هر تیمار ۱۲۰ عدد، تعداد میوه‌ها در هر تکرار و تعداد میوه برداشت شده در هر نوبت برای ارزیابی ۸ عدد بوده است. سپس میوه‌ها جهت خشک شدن، به مدت ۲۰ ساعت در هوای آزاد نگهداری شده و متعاقباً میوه‌ها به تعداد ۸ عدد برای هر واحد آزمایشی در جعبه‌های پلاستیکی گذاشته شدند و به سردخانه با دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد انتقال یافتند. بر اساس پیش‌آزمایش‌های انجام شده با اندازه‌گیری شاخص سرمازدگی (شامل قهوه‌ای شدن ظاهری پوست و فرورفتگی روی پوست)، غلظت بهینه ترکیب تیماری آرژنین و متیل‌جاسمونات تعیین شد و این غلظت به عنوان بهترین تیمار انتخاب شد و بقیه صفات اندازه‌گیری شده بین شاهد و غلظت بهینه مقایسه گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، آریل‌ها و پوست‌های جدا شده از هر تیمار در داخل ازت مایع منجمد و در فریزر با دمای  $-80$  درجه سلسیوس تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شدند.

### شاخص سرمازدگی

شاخص سرمازدگی (Chilling Index: CI) هر واحد آزمایشی با درجه‌بندی میزان خسارت با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید و بر حسب نمره‌دهی بیان شد.

(تعداد میوه‌هایی که علائم سرمازدگی را نشان

$$CI = \frac{\text{می‌دهند} \times (\text{درجه سرمازدگی})}{(4 \times \text{تعداد میوه‌های کل هر تیمار})}$$

درجه سرمازدگی (بر اساس میزان قهوه‌ای شدن و فرورفتگی پوست) از ۰ تا ۳ است که عبارتند از ۰ بدون علائم سرمازدگی، ۱ بین ۱ تا ۲۵ درصد، ۲ ۲۶ تا ۵۰ درصد و ۳ بیش از ۵۰ درصد (Wang et al., 2006).

بر اساس شاخص سرمازدگی، غلظت بهینه ترکیب تیماری آرژنین و متیل‌جاسمونات به ترتیب ۲ و ۰/۱ میلی‌مولار تعیین شد و بقیه صفات اندازه‌گیری شده بین شاهد و غلظت بهینه مقایسه گردید.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در درختان ۹ ساله انار رقم ملس ساوه در ایستگاه تحقیقات انار شهرستان ساوه انجام شد. محلول‌پاشی ترکیب تیماری آرژنین و متیل‌جاسمونات در سه زمان مختلف در مرحله داشت شامل ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز قبل از برداشت تجاری (حداکثر اسیدیته قابل عیار ۲-۱/۵ درصد و حداقل مواد جامد قابل حل ۱۷-۱۵ درصد) میوه‌ها انجام شد. فاصله درختان انار روی ردیف‌ها ۲ متر و بین ردیف‌ها ۳ متر بود و آبیاری به صورت جوی-پشته در هر هفته انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار روی ۲۷ اصله درخت میوه انار انجام شد. فاکتورها شامل آرژنین در ۳ غلظت (صفر یا شاهد، ۱ و ۲ میلی‌مولار)، متیل‌جاسمونات در ۳ غلظت (صفر به عنوان شاهد، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری صفات در سردخانه (صفر یا زمان شروع انبارمانی، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز انبارمانی) بود. به منظور افزایش حلالیت متیل‌جاسمونات در آب، چند قطره الکل به محلول در حال ساخت اضافه شد. برای هر تیمار در هر تکرار یک درخت به عنوان واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و محلول‌پاشی روی میوه‌ها و برگ‌ها تا مرحله آب‌چک صورت گرفت. در زمان محلول‌پاشی جهت افزایش جذب سطحی محلول از توئین-۲۰ (Tween-20) استفاده شد. میوه‌ها در زمان رسیدن تجاری برداشت شدند و میوه‌های تقریباً یک شکل، یک اندازه و عاری از آسیب‌های فیزیکی و بیماری انتخاب شدند و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافتند. قبل از اعمال تیمار در مرحله پس از برداشت، تعداد هشت میوه از هر تیمار و تکرار به منظور ارزیابی میوه‌ها در زمان برداشت مورد مطالعه قرار گرفتند. تیمار پس از برداشت آرژنین (صفر یا شاهد، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و متیل‌جاسمونات (صفر یا شاهد،

### نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید

برای اندازه‌گیری نشت یونی ۶ تکه پوست مدور با چوب پنبه سوراخ کن از قسمت استوایی ۳ 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 شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه هدایت الکتریکی اولیه (EC اولیه) محلول توسط دستگاه هدایت‌سنج (مدل Metrohm644) اندازه‌گیری شدند. سپس محلول حاوی نمونه‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد و پس از قرارگیری در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت، دوباره هدایت الکتریکی کل محلول اندازه‌گیری گردید. درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (McCollum & McDonald, 1991):

= نشت یونی (درصد)  
 $100 \times (\text{هدایت الکتریکی کل} / \text{هدایت الکتریکی اولیه})$   
 اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از تیوباربی‌توریک اسید (TBA) با استفاده از روش Hodges *et al.* (1999) انجام شد. میزان مالون‌دی‌آلدهید بر حسب نانومول بر گرم وزن تازه میوه ( $\text{nmol g}^{-1} \text{FW}$ ) بیان شد.

### فعالیت آنزیم‌ها و سیستم آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ۵ گرم از بافت آریل را در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7/8) حاوی EDTA ۰/۲ میلی‌مولار و ۲ درصد PVP، آسیاب شد. سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و از عصاره رویی برای اندازه‌گیری پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های APX، CAT و SOD استفاده شد (Nicker *et al.*, 1998). فعالیت آنزیم‌های APX، CAT و SOD بر اساس روش Nicker *et al.* (1998) اندازه‌گیری شدند. این آنزیم‌ها بر حسب میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ( $\text{U mg}^{-1} \text{protein min}^{-1}$ ) بیان شد. مقدار پروتئین بر اساس روش Bradford (1976) اندازه‌گیری و از سرم آلبومین (BSA) به عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار  $\text{H}_2\text{O}_2$  بر اساس روش Patterson *et al.* (1984) اندازه‌گیری شد و مقدار آن بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه میوه

( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$ ) بیان گردید. اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی طبق روش Nakajma *et al.* (2004) انجام شد.

### فعالیت آنزیم‌های PAL، PPO و کیفیت تغذیه‌ای آریل‌ها

عصاره‌گیری نمونه‌ها به منظور ارزیابی فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO بر اساس روش Nguyen *et al.* (2003) انجام شد. فعالیت آنزیم PAL بر حسب میکرومول سینامات بر میلی‌گرم پروتئین در یک ساعت ( $\mu\text{mol cinnamic acid mg}^{-1} \text{protein h}^{-1}$ ) بیان شد و فعالیت آنزیم PPO بر حسب میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین ( $\mu\text{mol mg}^{-1} \text{protein}$ ) بیان گردید. مقدار فنل کل با استفاده معرف فولین سیو کالچو طبق ارزیابی شد. مقدار فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم وزن تازه میوه بیان شد (Chen *et al.*, 2008). آنتوسیانین‌ها از روش تفاوت pH ارزیابی شد که توسط Chen *et al.* (2008) شرح داده شده است. مقدار آنتوسیانین‌ها بر حسب میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلوکوزید بر ۱۰۰ گرم وزن تازه میوه بیان گردید. مقدار آسکوربیک اسید کل با روش عیارسنجی و با کمک یدور پتاسیم و معرف نشاسته صورت گرفت و بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تازه میوه بیان شد (Sayyari, 2009).

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون Tukey در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار SigmaPlot استفاده شد.

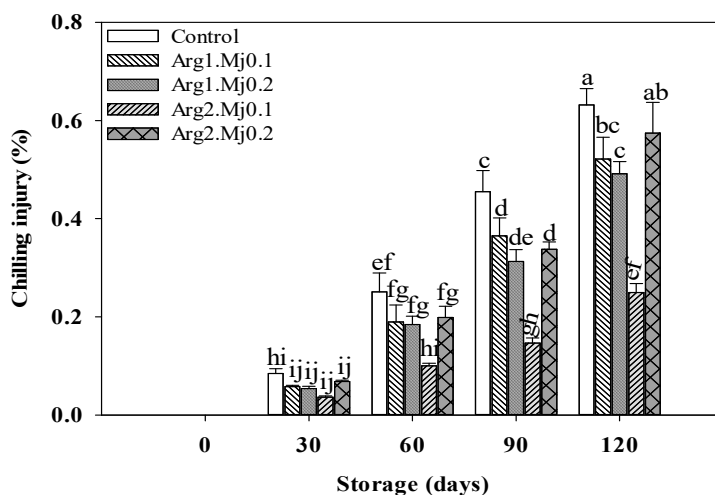
### نتایج و بحث

#### سرمازدگی

ترکیب تیماری آرژنین و متیل‌جاسمونات به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد سبب کاهش خسارت سرمازدگی به میزان ۳۷/۴۲ درصد در میوه‌های انار شد. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است

به دست آمد. غلظت بهینه بر اساس شاخص سرمازدگی ترکیب تیماری آرژنین ۲ میلی مولار با متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار بوده که به طور معنی داری میزان خسارت سرمازدگی کمتری در مقایسه با شاهد و دیگر تیمارها داشته است (شکل ۲). بنابراین بقیه صفات اندازه گیری بین شاهد و غلظت بهینه (ترکیب تیماری آرژنین ۲ میلی مولار با متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار) مقایسه گردید.

با گذشت مدت زمان انبارمانی، میزان خسارت های سرمازدگی در همه تیمارها افزایش یافت ولی میوه های تیمار شده با آرژنین و متیل جاسمونات در کلیه زمان های اندازه گیری میزان خسارت سرمازدگی کمتری نسبت به میوه های شاهد داشتند، به طوری که در هر دوره بیشترین میزان شاخص سرمازدگی مربوط به میوه های شاهد و کمترین میزان آن ها از تیمار آرژنین ۲ میلی مولار با متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر آرژنین (۱ و ۲ میلی مولار) و متیل جاسمونات (۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار) بر میزان خسارت سرمازدگی میوه های انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس.

Figure 1. Mean comparison effect of interaction between arginine (2 mM) and methyl jasmonate (0.1 mM) on Chilling injury of pomegranate during storage at  $4 \pm 0.5$  °C for 120 days.



شکل ۲. تأثیر ترکیب تیماری آرژنین و متیل جاسمونات بر میزان حفظ شادابی و بازارپسندی میوه انار رقم ملس ساوه در میوه های شاهد و تیمار شده در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سانتی گراد سردخانه در آخرین دوره انبارمانی. (تصویر بالا مربوط به میوه های شاهد و تصاویر پایین مربوط به میوه های تیمار شده می باشد).

Figure 2. Effect of arginine and methyl jasmonate on the preservation and marketability of pomegranate cv Malase Saveh in control and treated fruit during storage at  $4 \pm 0.5$  °C in the last period of storage. (The above image refers to the control fruits and the bottom images refers to the treated fruits).

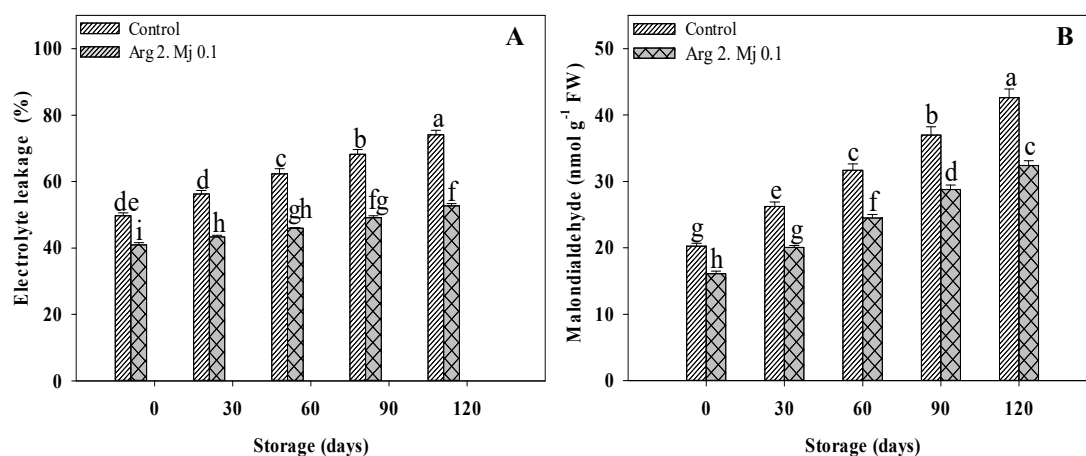
سبب حفظ سیالیت غشای سیتوپلاسمی و کاهش پراکسید شدن لیپیدها می‌شوند و در نتیجه منجر به حفظ کیفیت میوه و کاهش خسارت‌های سرمازدگی می‌شوند (Valero *et al.*, 2015). نتایج پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده در میوه‌های انار ( Babalar *et al.*, 2018) و گوجه‌فرنگی (Zhang *et al.*, 2014) با آرژنین و همچنین میوه‌های ازگیل ژاپنی (Cao *et al.*, 2009)، هلو (Meng *et al.*, 2009) و خیار (Liu *et al.*, 2016) تیمار شده با متیل جاسمونات، همخوانی دارد.

### نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید

همان‌طور که در شکل A-۳ نشان داده شده است با گذشت ۱۲۰ روز از انبارمانی میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید در همه تیمارها افزایش یافت ولی در همه زمان‌های انبارداری میزان آن در میوه‌های تیمار شده به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد کمتر از میوه‌های شاهد بود. به‌طوری که میانگین میزان نشت یونی در میوه‌های انار تیمار شده ۴۶/۴۴ و شاهد ۶۲/۱۱ بود و میانگین میزان مالون‌دی‌آلدهید در میوه‌های تیمار شده ۲۴/۳۷ و در میوه‌های شاهد ۳۱/۵۵ بود.

دمای پایین انبار به‌طور مستقیم از طریق تغییر حالت غشای سیتوپلاسمی از مایع کریستالی به حالت جامد ژل مانند، نفوذپذیری غشا را کاهش داده که با شاخص نشت یونی ارزیابی می‌شود.

یکی از مهم‌ترین عوارض میوه انار طی نگهداری در سردخانه، خسارت سرمازدگی است که در اثر نگهداری میوه در دمای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس اتفاق می‌افتد. مهم‌ترین علائم خسارت سرمازدگی در میوه انار شامل قهوه‌ای شدن پوست، فرورفتگی روی پوست و افزایش میزان نشت یونی می‌باشد. خسارت سرمازدگی سبب صدمه به دیواره سلولی و کاهش سیالیت غشای سیتوپلاسمی می‌شود. همچنین میزان نفوذپذیری سلولی که با اندازه‌گیری نشت یونی مشخص می‌شود را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Liu *et al.*, 2015; Pareek *et al.*, 2016). خسارت سرمازدگی منجر به تخریب غشای سیتوپلاسمی، جلوگیری از فعالیت میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها شده و سبب آغاز واکنش‌های ثانوی نظیر تولید اتیلن، کاهش فتوسنتز و اختلال در تولید انرژی می‌شود و از این طریق سبب تولید ترکیبات سمی نظیر اتانول و استالدهید شده، که این مواد سبب تخریب غشای سیتوپلاسمی می‌شوند (Valero *et al.*, 2015). تیمارهای آرژنین و متیل جاسمونات از طریق حفظ ساختار غشای سیتوپلاسمی و نفوذپذیری انتخابی آن، منجر به کاهش نشت یونی می‌شوند. علاوه بر این تیمارها سبب افزایش پلی‌آمین‌های درون‌زا (پوترسین و اسپرمیدین) میوه شده و پلی‌آمین‌ها از طریق اتصال به غشای سیتوپلاسمی و همچنین به‌دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی فراوانی که دارند



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری آرژنین (۲ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات (۰/۱ میلی‌مولار) بر میزان نشت یونی (A) و مالون‌دی‌آلدهید (B) میوه‌های انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای ۴±۰/۵ درجه سلسیوس.

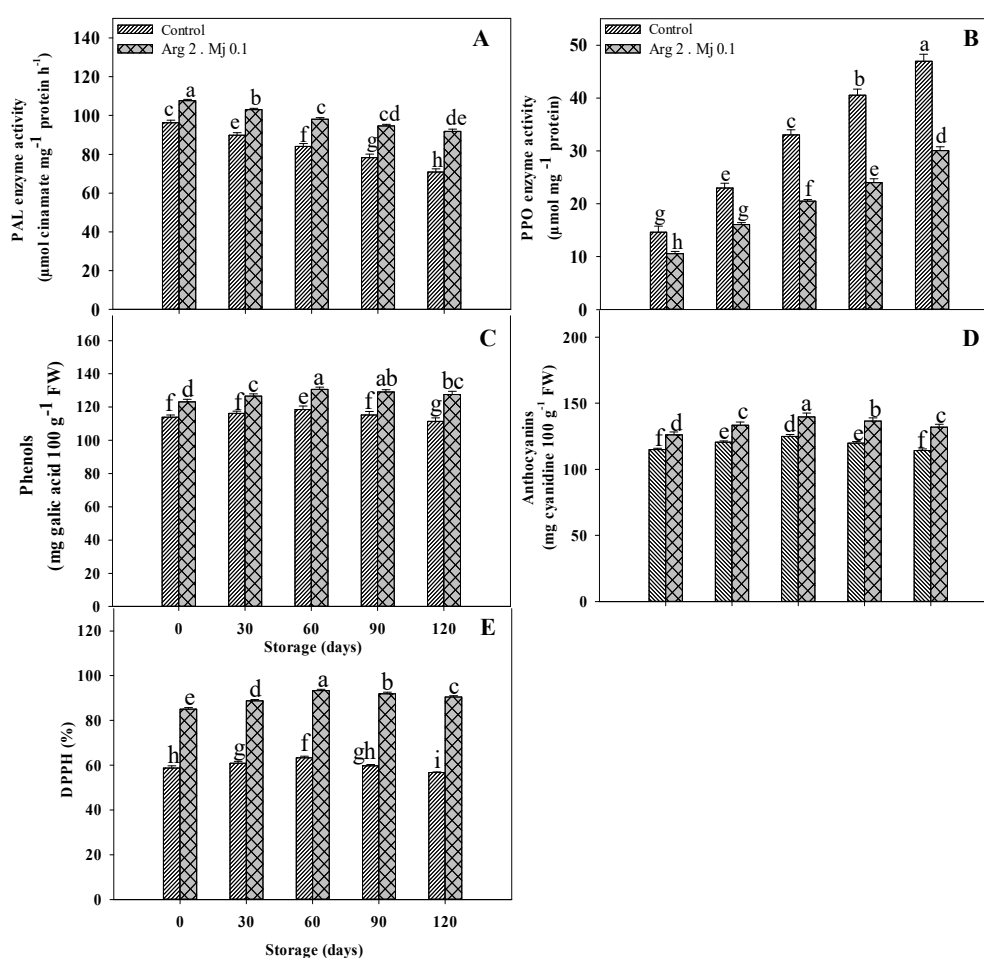
Figure 3. Mean comparison effect of interaction between arginine (2 mM) and methyl jasmonate (0.1 mM) on Electrolyte leakage (A) and malondialdehyde content (B) of pomegranate during storage at 4±0.5 °C for 120 days.

داده شده است به ترتیب مقادیر فنل کل، آنتوسیانین‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در آریل‌های میوه انار تیمار شده طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس سردخانه بیشتر (فنل کل در سطح احتمال یک درصد، آنتوسیانین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد) از میوه‌های متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار میزان فنل کل، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را به ترتیب به میزان ۳۲/۴۲، ۳۰/۵۷ و ۳۸/۱۴ درصد نسبت به میوه‌های شاهد افزایش داد.

افزایش فعالیت آنزیم PAL و کاهش فعالیت آنزیم PPO منجر به تجمع فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها می‌شود که نقش مهمی در کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها داشته و با خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد نقش کمکی در سلامت انسان‌ها دارند (Babalar et al., 2018). مشابه این نتایج، در هویج گزارش کردند تیمار متیل جاسمونات با افزایش بیان ژن AOX منجر به افزایش بیان ژن آنزیم PAL شد (Sircar et al., 2012). افزایش بیان ژن و فعالیت آنزیم PAL منجر به افزایش مسیر فنیل پروپانویید که تولیدکننده فنل‌ها، فلاونوئیدها و لیگنین‌ها می‌باشد، شده است. فنل‌ها و آنتوسیانین‌های میوه انار ممکن است تحت شرایط دمای پایین انبار توسط آنزیم PPO و پراکسیدازها اکسید و منجر به ظهور رنگ قهوه‌ای در انار شود که بازاری‌پسندی و ارزش اقتصادی آن را کاهش می‌دهد (Babalar et al., 2018). در پژوهش حاضر همبستگی منفی و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم PAL و PPO ( $r = -0.96^{**}$ ) و بین فعالیت آنزیم PAL با سرمازدگی ( $r = -0.91^{**}$ ) و همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم PPO با سرمازدگی ( $r = 0.97^{**}$ ) مشاهده شد. بنابراین به نظر می‌رسد میزان بالای نسبت فعالیت آنزیم PAL به PPO در میوه‌های انار سبب افزایش مقاومت میوه‌ها در برابر خسارت سرمازدگی که با قهوه‌ای شدن پوست همراه است، می‌شود. بنابراین در این پژوهش تیمارهای آرژنین و متیل جاسمونات از طریق افزایش نسبت فعالیت آنزیم PAL به PPO سبب افزایش مقاومت میوه‌های انار به خسارت سرمازدگی و کاهش قهوه‌ای شدن پوست و آریل‌ها شدند.

همچنین به‌طور غیرمستقیم سبب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده که منجر به پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشا می‌شود و از طریق اندازه‌گیری میزان تجمع مالون‌دی‌آلدهید ارزیابی می‌شود (Sevillano et al., 2009). تیمارهای آرژنین و متیل جاسمونات از طریق کاهش نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید میزان قهوه‌ای شدن پوست میوه‌های انار را کاهش دادند. تیمارهای آرژنین و متیل جاسمونات نه تنها منجر به کاهش تغییر غشایی پوست میوه از حالت مایع به جامد شدند، بلکه این تیمارها میزان تنش اکسیداتیو را کاهش داده و از پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشای پوست میوه‌های انار توسط ROS و آنزیم لیپوکسیژناز جلوگیری کردند (Sheng et al., 2016). Zhang et al. (2010) گزارش کردند میوه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با آرژنین مقاومت بالاتری به خسارت سرمازدگی نسبت به میوه‌های شاهد از خود نشان دادند و میزان مالون‌دی‌آلدهید و نشت یونی کمتری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

**فعالیت آنزیم‌های PAL، PPO و کیفیت تغذیه‌ای آریل‌ها**  
فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های انار تیمار شده با ترکیب تیماری آرژنین ۲ میلی‌مولار و متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار طی زمان انبارمانی به طور معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بیشتر (۹۹/۰۳ میکرومول سینامات بر میلی‌گرم پروتئین در یک ساعت) از میوه‌های شاهد (۸۳/۸۵ میکرومول سینامات بر میلی‌گرم پروتئین در یک ساعت) بود (شکل ۳-A). میزان فعالیت آنزیم PAL با گذشت زمان انبارمانی در همه تیمارها کاهش یافت. ولی این کاهش در میوه‌های به‌طور معنی‌داری کمتر از میوه‌های شاهد بود (شکل ۴-A). همان‌طور که در شکل ۴-B نشان داده شده است، با گذشت ۱۲۰ روز از انبارمانی میزان فعالیت آنزیم PPO در میوه‌های انار تیمار شده و شاهد افزایش یافت ولی در همه زمان‌های اندازه‌گیری شده، کمترین میزان آن در سطح احتمال یک درصد مربوط به میوه‌های تیمار شده (۲۰/۲۴ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین) و بیشترین میزان (۳۱/۶۰ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین) آن مربوط به تیمار شاهد بود. همان‌طور که در شکل ۴-C, D, E نشان



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری آرژنین (۲ میلی مولار) و متیل جاسمونات (۰/۱ میلی مولار) بر میزان فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) (A) پلی فنل اکسیداز (PPO) (B)، مقدار فنل کل (C)، آنتوسیانین‌ها (D)، ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال‌های DPPH (E) میوه‌های انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلیسیوس.

Figure 4. Mean comparison effect of intraction between arginine (2 mM) and methyl jasmonate (0.1 mM) on PAL and PPO enzymes activity (A and B), total phenols (C), anthocyanins (D) and DPPH scavenging capacity (E) of pomegranate during storage at  $4 \pm 0.5^\circ\text{C}$  for 120 days.

پوست و آریل‌های آن را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم PAL و کاهش فعالیت آنزیم PPO توسط ترکیب تیماری آرژنین و متیل جاسمونات نسبت داد.

#### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT، APX)،

میزان هیدروژن پراکسید و آسکوربیک اسید با گذشت زمان انبارمانی میزان فعالیت آنزیم‌های APX، SOD و CAT در همه تیمارها کاهش یافت ولی در همه زمان‌های انبارمانی ترکیب تیماری آرژنین ۲ میلی مولار با متیل جاسمونات ۰/۱ میلی مولار به طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم‌های APX، SOD و CAT بیشتری (در سطح احتمال یک درصد برای هر سه آنزیم) در

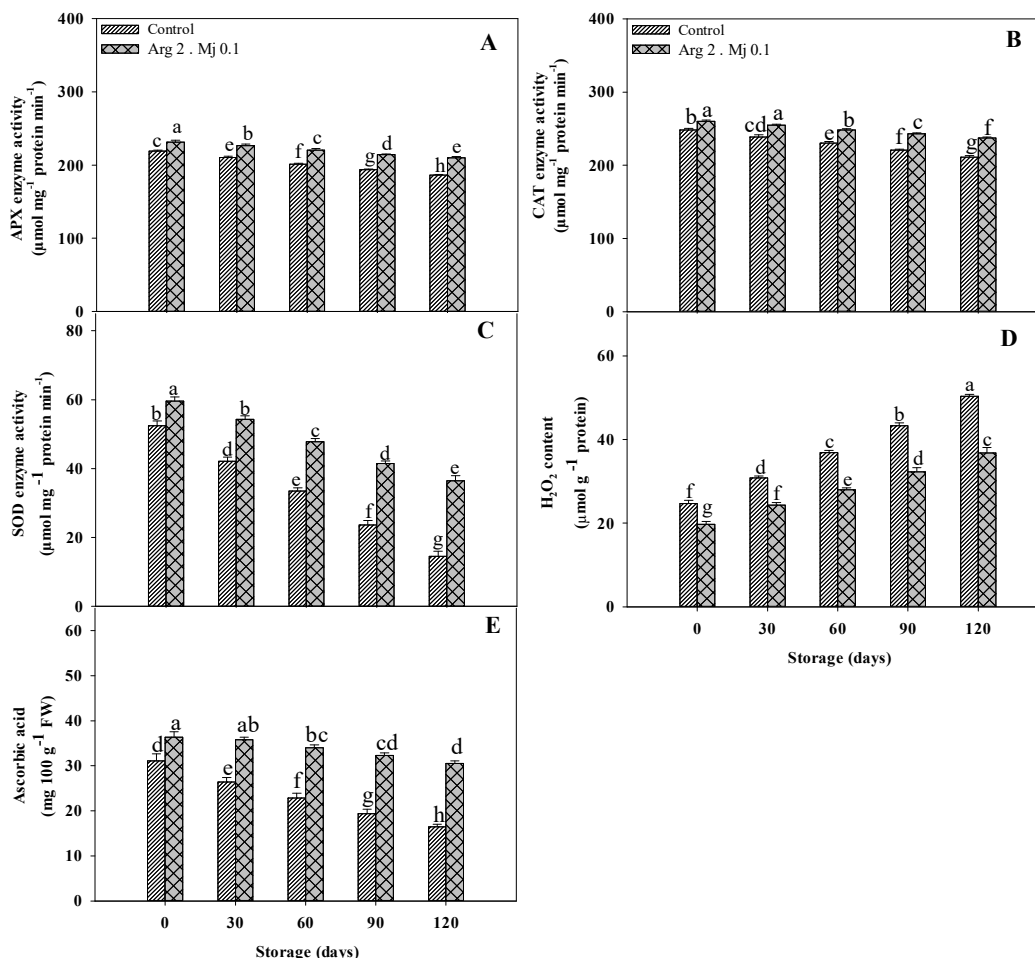
تیمار قبل از برداشت آرژنین با غلظت ۱ میلی مولار سبب کاهش فعالیت آنزیم PPO قسمت آریل و پوست در میوه انار رقم ملس ترش ساوه شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Babalar *et al.*, 2018). (Dokhanieh *et al.*, 2016) گزارش کردند که آریل‌های میوه انار تیمار شده با سالیسیلیک اسید میزان فعالیت آنزیم PPO کمتر و PAL بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند که سبب کاهش در میزان قهوه‌ای شدن و افزایش در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین در پژوهش حاضر یکی از دلایل افزایش مقاومت میوه‌های انار در برابر خسارت سرمازدگی و کاهش قهوه‌ای شدن



بین بردن ROSها استفاده می‌کنند. اولین مرحله سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در از بین بردن ROS تبدیل  $O_2^-$  به  $H_2O_2$  توسط آنزیم SOD می‌باشد. سپس  $H_2O_2$  توسط آنزیم‌های APX و CAT تجزیه می‌شود. (Foyer & Noctor, 2005). آسکوربیک اسید هم نه تنها مسئول از بین بردن ROS می‌باشد، بلکه به عنوان دهنده الکترون به آنزیم APX برای تجزیه  $H_2O_2$  از طریق چرخه AA/GSH است (Wang *et al.*, 2013). گزارش شده است نسبت بالای آنزیم SOD به آنزیم LOX سبب کاهش تجمع  $O_2^-$  شده و فعالیت بالای آنزیم‌های CAT و APX و SOD منجر به کاهش تجمع هیدروژن پراکسید شد (Foyer & Noctor, 2005).

مقایسه با شاهد داشتند (شکل A-C). میانگین میزان فعالیت آنزیم APX در میوه‌های تیمار شده ۲۲۰/۶۶ و در میوه‌های شاهد ۲۰۲/۳۷ (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)، میزان فعالیت آنزیم CAT در میوه‌های تیمار شده ۲۴۸/۶۹ و در میوه‌های شاهد ۲۲۹/۸۷ (میکرو مول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)، میزان فعالیت آنزیم SOD در میوه‌های تیمار شده ۴۷/۹۲ و در میوه‌های شاهد ۳۳/۲۳ (میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بود.

در اثر تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد می‌شود. گیاهان به منظور غلبه بر تنش‌های اکسیداتیو از سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی برای از



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری آرژنین (۲ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات (۰/۱ میلی‌مولار) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) (A)، کاتالاز (CAT) (B)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) (C)، مقدار هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) (D) و آسکوربیک اسید (E) میوه‌های انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس..

Figure 5. Mean comparison effect of intraction between arginine (2 mM) and methyl jasmonate (0.1 mM) on APX (A), CAT (B), SOD (C),  $H_2O_2$  (D) and ascorbic acid content (E) of pomegranate during storage at  $4 \pm 0.5$  °C for 120 days.

در این پژوهش کاهش میزان هیدروژن پراکسید در میوه‌های انار تیمار شده با آرژنین و متیل جاسمونات را می‌توان به فعالیت بالای آنزیم‌های APX، CAT، SOD و غیر آنزیمی (تجمع فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و ویتامین ث) کنترل می‌شود بلکه ممکن است در نتیجه کاهش در میزان فعالیت آنزیم PPO نیز اتفاق بیفتد.

#### نتیجه‌گیری کلی

ترکیب تیماری قبل و پس از برداشت آرژنین ۲ میلی‌مولار و متیل جاسمونات ۰/۱ میلی‌مولار منجر به کاهش میزان خسارت سرمازدگی و همچنین قهوه‌ای شدن میوه انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سلسیوس شده است. به نظر می‌رسد این عمل در نتیجه پایین‌بودن فعالیت آنزیم PPO، میزان نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید و بالا بودن فعالیت آنزیم PAL از طریق تیمار ترکیبی آرژنین و متیل جاسمونات بوده است که در نهایت منجر به افزایش فنل کل، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های انار شده است. همچنین پایین بودن میزان تجمع هیدروژن پراکسید و بالا بودن میزان آسکوربیک اسید در میوه‌های انار تیمار شده ممکن است در اثر بالا بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر APX، CAT و SOD باشد. در این پژوهش تیمار آرژنین و متیل جاسمونات به خوبی توانسته موجب حفظ کیفیت ظاهری و کاهش پوسیدگی میوه‌های انار شود که در بازارپسندی و صادرات آن‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند.

در این پژوهش کاهش میزان هیدروژن پراکسید در میوه‌های انار تیمار شده با آرژنین و متیل جاسمونات را می‌توان به فعالیت بالای آنزیم‌های APX، CAT و SOD در این میوه‌ها نسبت داد. تیمار آرژنین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، CAT و SOD و آسکوربیک اسید و کاهش میزان هیدروژن پراکسید در میوه‌های انار طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای ۴ درجه سلسیوس شد ( Babalar et al., 2018). محلول‌پاشی قبل از برداشت متیل جاسمونات (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) در ارقام بلک اسپلندر (Splender Black) و رویال روزا (Royal Rosa) میوه آلو نشان دادند که تیمار ۰/۵ میلی‌مولار به صورت معنی‌داری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، CAT و پراکسیداز (POD) در زمان برداشت و طی ۵۰ روز انبارمانی شد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد (Zapata et al., 2014). Dokhanieh et al. (2016) نشان دادند آریل‌های میوه انار تیمار شده با سالیسیلیک اسید میزان تجمع هیدروژن پراکسید کمتری نسبت به شاهد داشتند. این عمل به دلیل فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی APX، CAT و SOD در طی ۱۲۰ روز انبارمانی در دمای ۴ درجه سلسیوس بود که با افزایش سیالیت غشای سیتوپلاسمی همراه بود. اکسید شدن فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها توسط آنزیم PPO با افزایش میزان تولید هیدروژن پراکسید همراه است که منجر به خسارت اکسیداتیو در محصولات مختلف باغبانی می‌شود ( Gao

#### REFERENCES

1. Anonymous. (2016). Statistics on agriculture. Office of Statistics and Information Technology of Agriculture Ministry. Ministry of Agriculture Press, Tehran.
2. Babalar, M., Pirzad, F., Askari Sarcheshmeh, M. A., Talaei, A. & Lessani, H. (2018). Arginine treatment attenuates chilling injury of pomegranate fruit during cold storage by enhancing antioxidant system activity. *Postharvest Biology and Technology*, 137, 31-37.
3. 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.
4. Cao, S., Zheng, Y., Wang, K., Jin, P. & Rui, H. (2009). Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. *Food Chemistry*, 115, 1458-1463.
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. Chanjirakul, K., Wang, S. Y., Wang, C. Y. & Siriphanich, J. (2006). Effect of natural volatile compounds on antioxidant capacity and antioxidant enzymes in raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 106-115.

7. Chen, J. Y., He, L. H., Jiang, Y. M., Wang, Y., Joyce, D. C., Ji, ZL. & Lu, W. J. (2008). Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. *Physiology Plant*, 132, 318-328.
8. Dokhanieh, A. Y., Aghdam, M. S. & Sarcheshmeh, M. A. A. (2016). Impact of postharvest hot salicylic acid treatment on aril browning and nutritional quality in fresh-cut pomegranate. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 57, 378-384.
9. Foyer, C. H. & Noctor, G. (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment*, 28, 1056-1071.
10. Gao, H., Zhang, Z., L, X., Cheng, N., Peng, B. & Cao, W. (2016). Effect of 24-epibrassinolide on chilling injury of peach fruit in relation to phenolic and proline metabolisms. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 390-397.
11. Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F. & Prange, R. K. (1999) Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611.
12. Kader, A. A. (2006). Postharvest biology and technology of pomegranates, in *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*, ed. by Seeram NP, Schulman RN and Heber D. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 211-220.
13. Levin, G. M. (2006). *Pomegranate* (p. 130). R. Ashton (Ed.). CA: Third Millennium Publications.
14. Liu, Y., Yang, X., Zhu, S. & Wang, Y. (2016). Postharvest application of MeJA and NO reduced chilling injury in cucumber (*Cucumis sativus*) through inhibition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation. *Postharvest Biology and Technology*, 119, 77-83.
15. 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.
16. McCollum, T.G. & McDonald, R.E. (1991). Electrolyte leakage, respiration, and ethylene production as indices of chilling injury in grapefruit. *HortScience*, 26, 1191-1192.
17. 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.
18. Mirdehghan, SH., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M. & Valero, D. (2007). 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.
19. Nakajima, J. I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. & Saito, K. (2004). LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *BioMed Research International*, 5, 241-247.
20. 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.
21. Nicker, W., Brügger, B. & Wieland, F. T. (1998). Protein and lipid sorting between the endoplasmic reticulum and the Golgi complex. *Seminars in cell and developmental biology*, 9, 493-501.
22. 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.
23. Pareek, S., Valero, D. & Serrano, M. (2015). Postharvest biology and technology of pomegranate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2360-2379.
24. Pirzad, F. (2017). *Effect of pre and postharvest treatments of arginine and methyl jasmonate on postharvest chilling injury and nutritional quality of pomegranate cv Malas Saveh*. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture Tehran University, Iran. (in Farsi)
25. 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.
26. 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. Faculty of Agriculture Tehran University, Iran. (in Farsi)
27. Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M. T., Romojaro, F. & Flores, F. B. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 555-573.
28. Sheng, L., Zhou, X., Liu, Z. Y., Wang, J. W., Zhou, Q., Wang, L. & Ji, S. J. (2016). Changed activities of enzymes crucial to membrane lipid metabolism accompany pericarp browning in 'Nanguo' pears during refrigeration and subsequent shelf life at room temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 117, 1-8.

29. Sircar, D., Cardoso, H. G., Mukherjee, C., Mitra, A. & Arnholdt-Schmitt, B. (2012). Alternative oxidase (AOX) and phenolic metabolism in methyl jasmonate-treated hairy root cultures of *Daucus carota* L. *plant physiology*, 169, 657-663.
30. Valero, D., Mirdehghan, S. H., Sayyari, M. & Serrano, M. (2015). In: Processing and Impact on Active Components in Food (Ed), *Vapor treatments, chilling, storage, and antioxidants in pomegranates*. (189-196) Academic Press.
31. Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S. & Archbold, D. D. (2006). Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 244-251.
32. Wang, Y., Luo, Z., Du, R., Liu, Y., Ying, T. & Mao, L. (2013). Effect of nitric oxide on antioxidative response and proline metabolism in banana during cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8880-8887.
33. Zapata, P. J., Martínez-Esplá, A., Guillén, F., Díaz-Mula, H. M., Martínez-Romero, D., Serrano, M. & Valero, D. (2014). Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 2. Improvement of fruit quality and antioxidant systems during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 98, 115-122.
34. Zhang, X., Ji, N., Zhen, F., Ren, P. & Li, F. (2014). Metabolism of endogenous arginine in tomato fruit harvested at different ripening stages. *Scientia Horticulturae*, 179, 349-355.
35. Zhang, X., Shen, L., Li, F., Meng, D. & Sheng, J. (2013). Amelioration of chilling stress by arginine in tomato fruit: Changes in endogenous arginine catabolism. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 106-111.
36. Zhang, X., Shen, L., Li, F., Zhang, Y., Meng, D. & Sheng, J. (2010). Up-regulating arginase contributes to amelioration of chilling stress and the antioxidant system in cherry tomato fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 2195-2202.
37. 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.