

اثر تیمار گلایسین بتائین در کاهش آسیب سرما بر میوه انار در طول انبارمانی

پرویز ملک‌زاده*^۱، علی اصغر حاتم‌نیا^۲

^۱ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم

^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۱۸

چکیده

گلایسین بتائین یکی از ترکیبات تنظیم‌کننده می‌باشد که نقش مهمی در سپری کردن تنش سرما در میوه‌ها ایفا می‌نماید. در این مطالعه، میوه‌های انار در مرحله رسیده شدن و پس از برداشت بوسیله غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین (۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مول) تیمار شده و به مدت ۲۸ روز در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد که القاء‌کننده تنش سرما بود ذخیره‌سازی شدند. با تیمار میوه‌ها بوسیله گلایسین بتائین علائم آسیب سرما، محتوای مالون دی‌آلدهید و نشست الکترولیت به‌طور چشمگیری کاهش و مقدار اسیدآمینو پرولین افزایش پیدا کرد. تیمار میوه انار بوسیله گلایسین بتائین فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیاژ را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در کل نتایج بدست‌آمده در این مطالعه نشان داد که گلایسین بتائین پتانسیل کاهش دادن علائم تنش سرما را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پس از برداشت، تنش سرما، گلایسین بتائین، میوه انار

مقدمه

فعال زیستی همچون فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی و ویتامین C و دارای خصوصیات دارویی بسیاری است که برای سلامتی انسان مورد نیاز است. اسیدهای فنلی و ویتامین C عموماً در پوست، مغز و شربت انار وجود دارد. میوه بصورت تازه و یا بصورت شربت استفاده می‌گردد (Zarei et al., 2010).

انار جزو میوه‌های آسیب‌پذیری است که کیفیت پوست و دانه آنها در شرایط انبارداری در دمای سردخانه از بین می‌رود. برای گسترش انبارداری نگهداری کردن در دمای یخچال الزامی می‌باشد. اما این میوه به نگهداری طولانی‌مدت (یک ماه) در دمای انجماد (۳- درجه سانتی‌گراد) حساس هستند (Sayyari et al., 2011). علائم آسیب سرما بصورت قهوه‌ای شدن، سوراخ شدن و از دست دادن تمامیت

نگهداری میوه در دمای پایین یکی از روش‌های سنتی به منظور حفظ کیفیت میوه‌ها در طی زمان ذخیره‌سازی است. هرچند در طی نگهداری میوه در دمای پاستوریزاسیون به کیفیت میوه وارد می‌شود. یکی از میوه‌های خوراکی قدیمی انار (*Punica granatum* L.) از خانواده پونیکاسه می‌باشد که بعلاوه استفاده از آن در مراسم‌های گوناگون در طول سال همواره بحث نگهداری آن مطرح می‌باشد. انار بطور گسترده در ایران، هند، لبنان، سوریه، اسپانیا، فرانسه و آمریکا کشت می‌شود (Al-Said et al., 2009; Fawole and Opara, 2013b). میوه انار منبع مهمی از ترکیبات

*نویسنده مسئول: p.malekzadeh@qom.ac.ir

Malekzadeh, 2015; Rahman et al., 2002;)
(Sakamoto and Murata, 2002).

هدف این مطالعه بررسی اثرات استفاده بیرونی گلیسین بتائین روی طول انبارمانی میوه انار و مطالعه محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنلی در این میوه در طی تنش سرما است. با این دیدگاه اثرات گلیسین بتائین برون زاد بر پراکسیداسیون چربی‌ها، نشت الکترولیت‌ها و میزان فعالیت تعدادی از آنزیم‌های دخالت کننده در مقابله با تنش سرما مورد ارزیابی قرار داده شد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی میوه: میوه انار (*Punica granatum L.*) در مرحله رسیده شدن از شهرستان هوراند خریداری شد. حدود ۴۰۰ عدد میوه بصورت دستی از باغ چیده و سریعاً به آزمایشگاه منتقل گشت. میوه‌هایی که آسیب دیده بودند کنار گذاشته شدند. حدود ۲۴۰ عدد میوه سالم انتخاب و به ۳ گروه با ۸۰ میوه، برای تیمار با گلیسین بتائین (با ۳ تکرار برای هر تیمار) انتخاب شدند که شامل شاهد (۰ میلی‌مول)، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار بود. میوه‌ها به مدت ۵ دقیقه در داخل محلول گلیسین بتائین با غلظت‌های ذکر شده قرار داده شدند. سپس میوه‌ها در شرایط آزمایشگاه قرار گرفته تا با برخورد هوا خشک شوند. سپس در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴ هفته با رطوبت نسبی ۸۰-۹۰ درصد قرار داده شدند. از هر تیمار ۵ میوه انار در هفته‌های ۲ و ۴ برای اندازه‌گیری محتوای پرولین، مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم فنل‌آلانی‌آمینولیاژ انتخاب و در داخل نیتروژن مایع قرار داده و سپس در یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ۵ میوه انار از هر تیمار برای ارزیابی آسیب سرما مورد استفاده قرار گرفت.

پوست و حساسیت بالا به پوسیدگی می‌باشد. برای کاهش میزان آسیب سرما یکی از بهترین نتایج غوطه‌وری در داخل پلی‌آمین‌ها می‌باشد (Sayyari et al., 2011). این روش یکی از واکنش‌های معمول در سلول‌های گیاهی بوده که در نتیجه افزایش تجمع محلول‌های آلی در سیتوپلاسم رخ می‌دهد. این فرایند به منظور موازنه تعدیل اسمزی واکوئل در سیتوپلاسم و اجزای مختلف سلول انجام می‌گیرد و سلول را در روند افزایش سرعت توسعه خود کمک می‌نماید. تنظیم اسمزی در گیاهان از طریق تولید انواع مختلفی از محلول‌های سازگار (اسمولیت‌ها) انجام می‌گیرد. این محلول‌های سازگارکننده همانند پرولین، پلی‌آل‌ها، گاما‌آمینوبوتیریک اسید و گلیسین بتائین در افزایش تحمل به کمبود آب ناشی از تنش سرما موثر هستند (Malekzadeh, 2015).

گلیسین بتائین $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ یکی از معمول‌ترین ترکیب آلی سازگار می‌باشد که در میکروارگانیسم‌های مختلف گیاهان عالی و حیوانات می‌تواند وجود داشته باشد. غلظت گلیسین بتائین در بافت‌ها و گونه‌های مختلف گیاهی که این ماده را به عنوان محلول سازگارکننده استفاده می‌کنند، متفاوت می‌باشد (Malekzadeh, 2015).

مطالعات گذشته نشان می‌دهد که استفاده از گلیسین بتائین خارجی در میوه‌ها و گیاهان می‌تواند اثرات منفی حاصل از تنش‌های محیطی را کاهش دهد. مطالعات نشان داده‌اند که گلیسین بتائین می‌تواند سبب محافظت از غشای پلاسمایی سلول‌ها در مقابل اثرات تخریبی دمای محیط گردد (Malekzadeh, 2015). مطالعات بسیاری در مورد گلیسین بتائین عمده‌تاً در رابطه با اثرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و مسیر بیوستتز و اثر این ماده روی سیستم آنتی‌اکسیدان صورت گرفته است

درصد، ۴: قهوه‌ای شدن بیش از ۵۰ درصد. میانگین آسیب سرمای وارد شده به عنوان ضریب سرمازدگی معرفی می‌شود که بر اساس فرمول زیر محاسبه گشت.

$$\% \text{ ضریب سرمازدگی} = \frac{\sum [(\text{سطح سرمازدگی}) \times (\text{تعداد میوه ها در سطح سرمازدگی})]}{(\text{تعداد کل میوه های تیمار شده})} \times 100$$

اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدهید: محتوای مالون‌دی‌آلدهید (MDA) بر اساس روش اسید تیوباربتوریک اسید که بوسیله روشی که توسط Chen و همکاران (۲۰۰۸) توضیح داده شده محاسبه گردید. ۰/۲ گرم از بافت میوه در ۳ میلی لیتر TCA ۰/۱ درصد سائیده شد و محلول همگن با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به ۱ میلی لیتر از محلول رویی ۴ میلی لیتر از محلول TCA ۲۰٪ که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد گردید و دوباره مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. میزان جذب این محلول در طول موج های قید شده در فرمول اندازه‌گیری شد.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol g}^{-1} \text{ FW}) = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450} \quad (2)$$

در این فرمول A_{532} ، A_{600} و A_{450} به ترتیب جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۳۲، ۶۰۰ و ۴۵۰ نانومتر می‌باشد.

اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها: نشت الکترولیت‌ها بر اساس روش Chen و همکاران (۲۰۰۸) اندازه‌گیری شد. از غشاء میوه انار برای اندازه‌گیری خروج نشت الکترولیت‌ها استفاده شد و هدایت الکتریکی

اندازه‌گیری میزان آسیب سرما: درجه آسیب سرما (CI) به صورت رتبه‌بندی چشمی از علائم ظاهری میوه مورد ارزیابی قرار گرفت (Ding et al., 2002). گسترش وسعت قهوه‌ای شدن گوشت میوه به ۴ دسته تقسیم شد: ۱: بدون قهوه‌ای شدن، ۲: قهوه‌ای شدن کمتر از ۲۵ درصد، ۳: قهوه‌ای شدن بین ۲۵ تا ۵۰

اندازه‌گیری محتوای پرولین: محتوای پرولین بر اساس روش اسیدناین هیدرین که توسط Shan و همکاران (۲۰۰۷) توضیح داده شده، اندازه‌گیری شد. بر اساس این روش ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت‌تر برگ و ریشه توزین شده و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد در هاون ساییده شد. سپس مخلوط حاصله توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت یک ساعت داخل بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا رنگ آجری نمایان شود. پس از تثبیت رنگ آجری، لوله‌ها داخل آب یخ قرار داده شده و به هر کدام از لوله‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید. بعد از بهم زدن محتویات لوله‌ها، دو فاز تشکیل شد و سپس از فاز رویی توسط پیپت پاستور نمونه برداری شده و میزان جذب پرولین با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ nm اندازه‌گیری شد. با قراردادن میزان جذب نمونه‌های گیاهی قرائت شده در معادله خط منحنی استاندارد مقدار پرولین محاسبه گردید.

سانتی‌گراد نگهداری گردید. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک (۶ مولار) پایان یافت. محصول بوجود آمده با ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات استخراج و سپس اتیل استات بخار گردید. ماده جامد باقیمانده در ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۰۵ مولار) حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از فرمول $A = \epsilon bc$ به دست آمد و ضریب خاموشی معادل $9500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ در نظر گرفته شد. یک واحد از فعالیت فنل آلانین آمینولیز معادل ۱ میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه می‌باشد.

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل با حداقل ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری تمام داده‌های حاصل از آزمایش‌های متفاوت با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 انجام پذیرفت. میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون دانکن گروه‌بندی شد

نتایج

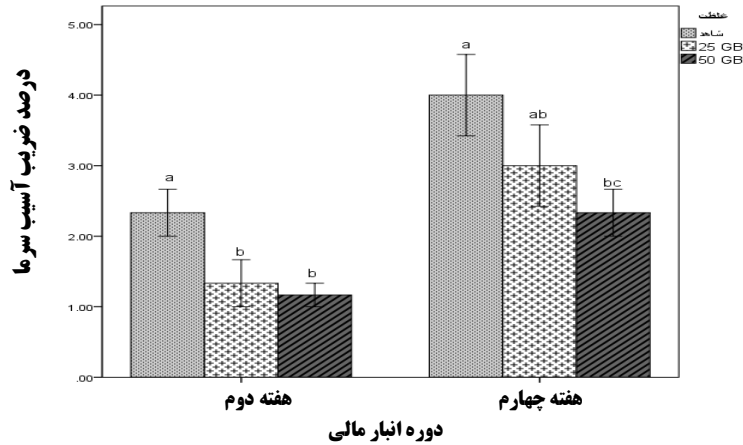
نشت الکترولیت و آسیب سرما: در مقایسه با شاهد استفاده از غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين بیرونی روی ميوه انار به‌طور معنی‌داری درصد آسیب سرما را کاهش داد. در طی هفته چهارم انبارماني ضریب سرمازدگی به‌طور معنی‌داری نسبت به هفته دوم افزایش پیدا کرد. ضریب سرمازدگی در هفته چهارم انبارماني در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين بیرونی کاهش چشم‌گیری نسبت به ميوه شاهد نشان دادند (شکل ۱).

اولیه آنها با دستگاه هدایت سنج مدل Jenway4570 اندازه‌گیری شد. سپس برای به دست آوردن هدایت‌الکتریکی ثانویه از اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد و نشت کامل الکترولیت بعد از ۲۴ ساعت به دست آمد. در نهایت مقادیر نشت الکترولیت‌ها از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد نشت الکترولیت ها} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم

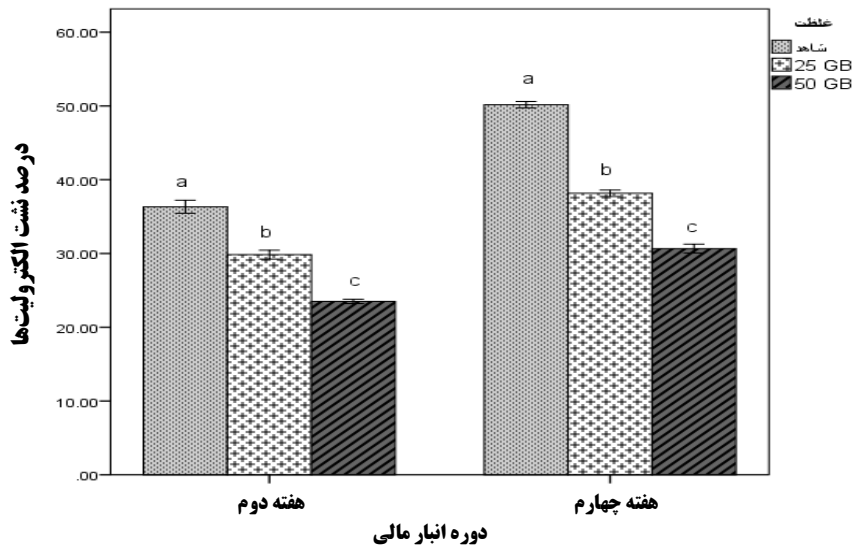
فنل آلانین آمینولیز: فعالیت آنزیم PAL براساس روش Galvez و همکاران (۲۰۱۰) محاسبه شد. بدین منظور ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت تر نمونه‌ها با ۶/۵ میلی‌لیتر بافر تریس - HCl (۸ pH، ۵۰ میلی‌مولار) حاوی بتا مرکاپتواتانول (۱۵ میلی‌مولار) در هاون سرد شده سائیده شد. سپس عصاره به دست آمده با دور 5000 g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (Eppendorf 5804R Germany) گردید. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. در این روش از فنیل آلانین به‌عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده و فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیز براساس سرعت تشکیل اسید سینامیک تعیین گردید. در یک لوله آزمایش ۱ میلی‌لیتر از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر ال-فنیل آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه



شکل ۱: اثر تیمار گلايسين بتائين بيروني روی ضريب آسیب سرما در میوه انار بعد از ۲ و ۴ هفته انبارماني در دمای ۱ درجه سانتی گراد.

بيروني تیمار شده بودند مقدار نشت الكتروليت بطور معنی دار کاهش یافت. (شکل ۲).

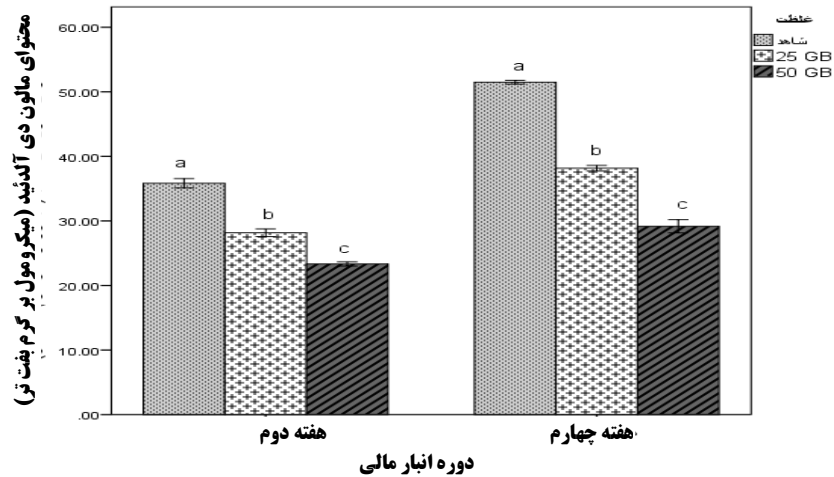
همچنين در اين بررسی مقدار نشت الكتروليتها در میوههای شاهد به طور معنی داری افزایش پیدا کرد. در حالی که در میوههای انار که با گلايسين بتائين



شکل ۲: اثر تیمار گلايسين بتائين بيروني روی نشت الكتروليتها در میوه انار بعد از ۲ و ۴ هفته انبارماني در دمای ۱ درجه سانتی گراد.

از گلايسين بتائين بيروني سبب شد محتوای مالوندي آلدهيد به طور معنی داری در مقایسه با میوههای شاهد کاهش یابد.

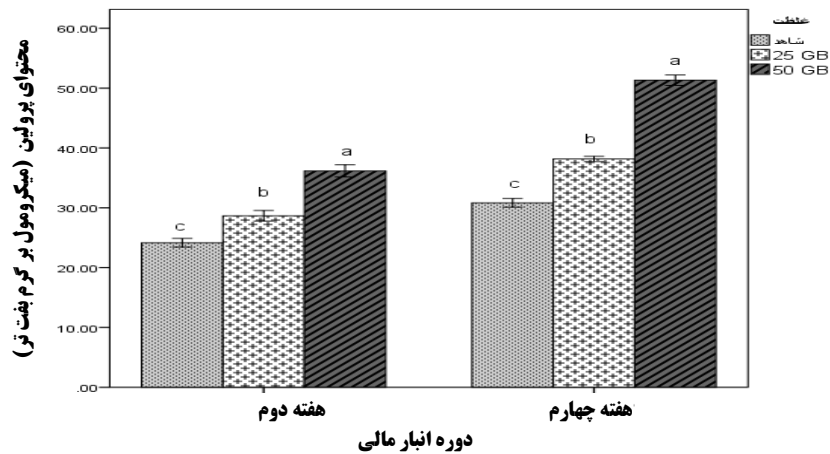
محتوای پرولين و مالون دی آلدهيد: همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، در اثر تنش سرما در میوههای انار، محتوای مالوندي آلدهيد به طور معنی داری افزایش پیدا کرد (میوههای شاهد). استفاده



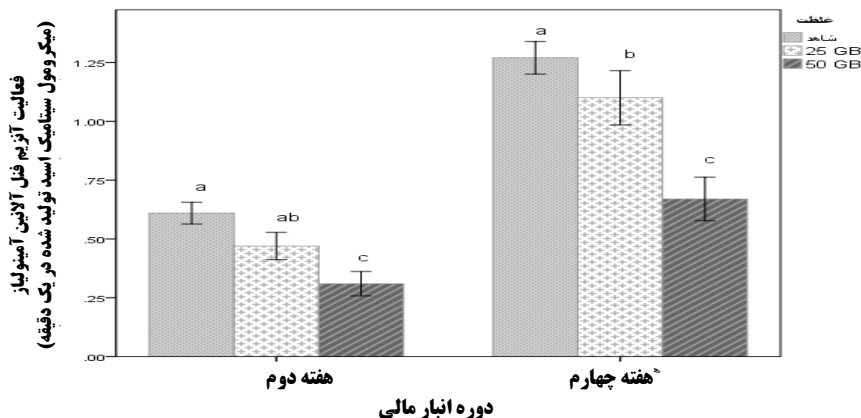
شکل ۳: اثر تیمار گلایسین بتائین بیرونی روی محتوای مالون دی آلدئید در میوه انار بعد از ۲ و ۴ هفته انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد.

گلایسین بتائین بیرونی ۳۳ درصد در مقایسه با میوه شاهد افزایش پیدا کرد و در هفته چهارم انبارمانی محتوای پرولین در تیمار ۵۰ میلی مول گلایسین بتائین بیرونی به ۳۹/۲ درصد رسید. همان طور که در شکل ۴ مشاهده می شود تیمار ۵۰ میلی مول گلایسین بتائین، بیشتر تاثیر در افزایش محتوای پرولین در هر ۲ دوره زمانی انبارمانی داشت.

داده‌های بدست آمده در این مطالعه نشان داد که محتوای پرولین در طی دوره انبارمانی در میوه انار افزایش پیدا کرد. این افزایش در طی زمان (هفته چهارم انبارمانی) به طور معنی داری بیشتر بود (شکل ۴). استفاده از گلایسین بتائین بیرونی توانست محتوای پرولین را به طور معنی داری افزایش دهد. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، در هفته دوم انبارمانی، محتوای پرولین در تیمار ۵۰ میلی مول



شکل ۴: اثر تیمار گلایسین بتائین بیرونی روی محتوای پرولین در میوه انار بعد از ۲ و ۴ هفته انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد.



شکل ۵: اثر تیمار گلاسیسین بتائین بیرونی روی فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیز در میوه انار بعد از ۲ و ۴ هفته انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد.

که به غشاء سلول وارد می نماید باعث کاهش کیفیت میوه می گردد. برای افزایش طول عمر انبارمانی در میوه ها از ترکیبات آلی همچون گاما آمینوبوتیریک اسید، اسید سالسیلیک و گلاسیسین بتائین برای حفظ کیفیت میوه در برابر تنش سرما، استفاده می گردد (Sakamoto and Murata, 2002).

Malekzadeh (۲۰۱۵) در مطالعه بر روی اثر گلاسیسین بتائین بر روی کاهش تنش شوری در گیاه سویا مشاهده کرد که گلاسیسین بتائین با کاهش نشت الکترولیت ها، توانست تمامیت غشاء را حفظ نماید. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز نشان داد که گلاسیسین بتائین بطور موثری توانسته علائم آسیب سرما را کاهش دهد و از طریق بهبود ساختار غشاء پلاسمایی موجب کاهش نشت الکترولیت ها گردد. نتایج مشابهی نشان داد که گلاسیسین بتائین می تواند نشت الکترولیت ها را کاهش دهد (Malekzadeh, 2015; Zarei et al., 2010).

میزان پرولین در میوه انار در طی دوره انبارمانی افزایش یافت. پرولین به عنوان مخزن ذخیره ای نیتروژن و یا ماده محلولی که پتانسیل اسمزی سیتوپلاسم را کاهش می دهد، در شرایط تنش غلظت آن نسبت به سایر اسیدهای آمینه افزایش می یابد و

فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیز: عموماً فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیز در میوه هایی که از تنش سرما آسیب می بینند، تغییر می یابد. همانطور که در شکل ۵ مشاهده شد، در طول دوره انبارمانی، فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیز در میوه های تیمار شده به طور معنی داری کمتر از میوه شاهد می باشد. همان طور که مشاهده شده غلظت ۵۰ میلی مول گلاسیسین بتائین بیرونی کمترین فعالیت آنزیم را دارا بود. در هفته ۴ انبارمانی میزان فعالیت آنزیم در میوه های تیمار شده و شاهد افزایش پیدا کرد و استفاده از گلاسیسین بتائین بیرونی توانست میزان فعالیت این آنزیم را در مقایسه با میوه شاهد، کاهش دهد.

بحث

میوه و سبزیجات برای اینکه مدت طولانی به صورت سالم حفظ شوند، نیاز به انبارمانی در دمای پایین دارند. انار همانند سایر میوه های گرمسیری و نیمه گرمسیری، در طول دوره انبارمانی، به آسیب سرما حساس می باشد (Sayyari et al., 2011). عموماً آسیب سرمازدگی در ابتدا روی غشاء سلولی اثر گذاشته و باعث تغییر ترکیب اسیدهای چرب می گردد (Lee et al., 2005). تنش سرما از طریق آسیب هایی

ممکن است در اثر کاهش اثرات تنش سرما از طريق اثر روي پتانسيل اسمزی سلول بوسيله گلايسين بتائين بيرونی و يا در اثر حفظ تماميت غشاء از طريق اثر روي محتوای نشت الكتروليت‌ها و مالون‌دی‌آلدهيد باشد.

همانطور که شکل ۵ مشاهده شد مقدار فعاليت آنزيم فنل‌آلانين‌آمينولياز در ميوه‌های شاهد در مقايسه با ميوه‌های تیمار شده با گلايسين بتائين خارجي، بيشتر بود. مطالعات انجام شده توسط Nguyen و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که همبستگی نزديکی بين فعاليت آنزيم فنل‌آلانين‌آمينولياز و قهوه‌ای شدن ميوه موز وجود دارد. در کل محققين پذيرفته‌اند که در اثر دمای پايين فعاليت آنزيم افزايش می‌يابد و اين افزايش با فعال شدن مکانيسمی جهت کاهش علائم سرما همراه می‌باشد (Lafuente et al., 2003).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده در اين مطالعه نشان داد که گلايسين بتائين همانند ساير ترکیبات سازگارکننده به تنش، دارای توانایی القاء مقاومت به سلول‌های گیاهی می‌باشد. در اين مطالعه گلايسين بتائين توانست با تأثير روي غشاء پلاسمایی ميزان ضريب سرمازدگی و نشت الكتروليت و محتوای مالون‌دی‌آلدهيد را در جهت حفظ سلامت ميوه تغيير دهد. از طريق اين عملکرد ميزان مواد سازگارکننده همچون مقدار پرولين در سلول‌های تیمار شده با گلايسين بتائين بيرونی نیز افزايش پیدا کرد. در نهايت با تغيير ميزان فعاليت آنزيم فنل‌آلانين‌آمينولياز از قهوه‌ای شدن و تيره شدن ميوه انار جلوگیری نمود. با اين وجود برای اثبات اثرات گلايسين بتائين روي انبارمانی و فیزیولوژی پس از برداشت ميوه نیاز به مطالعات بيشتری در ميوه‌های مختلف می‌باشد.

سبب افزايش تحمل گیاه به تنش می‌شود (Zarei et al., 2010). مقايسه غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين نشان داد که بالاترين ميزان پرولين را در غلظت ۵۰ میلی مول گلايسين بتائين به خود اختصاص داد که تفاوت معنی‌داری با میانگين غلظت در ميوه شاهد داشت (شکل ۴). علت افزايش ميزان پرولين با افزايش تنش سرما، به دليل تغيير متابوليسم نيتروژن در رابطه با ساخت ترکیب‌هایی مانند پرولين می‌باشد، لذا افزايش گلايسين بتائين خارجي، به منظور تعديل اسمزی سلول موجب افزايش پرولين به منظور تخفيف اثر تنش شده است. Mohanty و Alia (۱۹۹۳) عنوان نمودند که تجمع پرولين با کاهش توليد رادیکال‌های آزاد موجب کاهش پراکسیداسيون لیپیدها و مانع از تخریب غشاء در شرایط تنش محیطی در گیاهچه‌های گونه‌های براسیکا شد.

بسیاری از سلول‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی محتوای پرولين و بتائين را افزايش می‌دهند و اين افزايش محتوای پرولين و بتائين در سلول‌ها با افزايش مقاومت سلول به تنش محیطی مرتبط می‌باشد. پراکسیداسيون چربی‌های غشاء ممکن است اولین اتفاق آشکار در بروز آسيب سرما به ميوه باشد، که اين آسيب با افزايش مالون‌دی‌آلدهيد در غشاء پلاسمایی بروز می‌کند (Yang et al., 2011). محققين سطح پراکسیداسيون چربی‌ها را به‌عنوان مکانيسم گیاهی در برابر تنش‌های متنوع در نظر می‌گیرند (Yang et al., 2011). بسیاری از دانشمندان معتقدند، بافت‌های گیاهی که در معرض تنش سرما قرار گرفته‌اند، محتوای مالون‌دی‌آلدهيد ملاک مناسبی برای نشان دادن سلامت غشاء پلاسمایی است (Antunes and Sfakiotakis, 2008). همانطور که در شکل (۴) مشاهده شد، محتوای پرولين در اثر تنش سرما افزايش يافت. استفاده کردن از گلايسين بتائين بيرونی محتوای پرولين را بيشتر افزايش داده است. اين امر

منابع

- Alia, P.S. and Mohanty, P. (1993).** Proline in relation to free radical production in seedlings of *Brassica juncea* raised under sodium chloride stress. *Plant and Soil*. 156: 497-500.
- Al-Said, F.A., Opara, U.L. and Al-Yahyai, R.A. (2009).** Physico-chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in the sultanate of Oman. *Journal of Food Engineering*. 90: 129-134.
- Antunes, M.D.C. and Sfakiotakis, E.M. (2008).** Changes in fatty acid composition and electrolyte leakage of 'Hayward' kiwifruit during storage at different temperatures. *Food Chemistry*. 110:891-896.
- Chen, J.Y., He, L.H., Jiang, Y.M., Wang, Y., Joyce, D.C., Ji, Z.L. and Lu, W.J. (2008).** Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. *Physiologia Plantarum*. 132: 318-328.
- Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C. and Smith, D.L. (2002).** Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*. 214: 895-901.
- Fawole, O.A. and Opara, U.L. (2013).** Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. *Scientia Horticulture*. 150: 37-46.
- Galvez, A.B., Garcia, M.V., Corrales, J.C., Lopez, A.C. and Valenzuela, J.A.L. (2010).** Effect of gradual cooling storage on chilling injury and phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato fruit. *Journal of Food Biochemistry*. 34: 295-307.
- Lafuente, M.T., Zacarias, L., Martinez-Tellez, M.A., Sanchez-Ballesta, M.T. and Granell, A. (2003).** Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. *Postharvest Biology and Technology*. 29: 308-317.
- Lee, S.H., Ahn, S.J., Im, Y.J., Cho, K., Chung, G.C., Cho, B.H. and Han, O. (2005).** Differential impact of low temperature on fatty acid unsaturation and lipoxygenase activity in fig leaf gourd and cucumber roots. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 330:1194-1198.
- Malekzadeh, P. (2015).** Influence of exogenous application of glycinebetaine on antioxidative system and growth of salt-stressed soybean seedlings (*Glycine max* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 20:133-137.
- Nguyen, T.B.T., Ketsa, S. and 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.
- Rahman, M.S., Miyake, H. and Takeoka, Y. (2002).** Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science*. 5:33-44.
- Sakamoto, A. and Murata, N. (2002).** The role of glycinebetaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant Cell Environmental*. 25:163-171
- Sayyari, M., Castillo S., Valerob, D., Huertas M. Diaz-Mulac H. and Serrano M. (2011).** Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*. 60: 136-142.
- Shan, D.P., Huang, J.G., Yang, Y.T., Guo, Y.H., Wu, C.A., Yang, G.D., Gao, Z.G. and Zheng, C.C. (2007).** Cotton GhDREB1 increases plant tolerance to low temperature and is negatively regulated by gibberellic acid. *New Phytologist*. 176: 70-81.
- Yang, A.P., Cao, S.F., Yang, Z.F., Cai, Z.T. and Zheng Z.H. (2011).** γ -aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit. *Food Chemistry*. 129:1619-1622.
- Zarei, M., Azizi, M. and Bashiri-Sadr, Z. (2010).** Studies on physico-chemical properties and bioactive compounds of six pomegranate cultivars grown in Iran. *Journal of Food Technology*. 8: 112-117.