

تأثیر تیمار متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارداری

محمدعلی عسکری سرچشمه^{۱*}، مصباح بابالار^۲، فرهاد پیرزاد^۳، علیرضا طلایی^۲ و حسین لسانی^۲
 ۱، ۲ و ۳. دانشیار، استاد و دانش‌آموخته دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۹)

چکیده

در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات به صورت ترکیب قبل و پس از برداشت بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های پوست و آریل میوه انار رقم ملس ساوه در طی شرایط انبارداری 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۹۵ درصد به مدت ۱۲۰ روز و در دو سال متوالی مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمار ۰/۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز (۳۴ درصد)، کاتالاز (۴۱ درصد) و سوپراکسید دیسموتاز (۲۶ درصد) سبب کاهش در میزان هیدروژن پراکسید (۳۶ درصد) قسمت آریل و پوست میوه‌های انار شد که در نهایت منجر به افزایش سیالیت غشای سیتوپلاسمی گردید. همچنین قسمت‌های آریل و پوست میوه‌های انار تیمار شده با متیل جاسمونات ۰/۲ میلی‌مولار به طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز کمتری (۴۷ درصد) نسبت به میوه‌های شاهد نشان دادند. به طور کلی کاربرد متیل جاسمونات را می‌توان به عنوان یک روش سودمند جهت حفظ کیفیت تغذیه‌ای میوه‌های انار از طریق افزایش میزان فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی، تلقی کرد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پروکسیداز، انار، انبارداری، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز.

Impact of methyl jasmonate treatment on antioxidant system of pomegranate fruit cv "Malase" Saveh during storage

Mohammad Ali Askari Sarcheshmeh^{1*}, Mesbah Babalar², Farhad Pirzad³, Alireza Talaei²
and Hossein Lessani²

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

(Received: Mar. 05, 2018- Accepted: Jun. 30, 2018)

ABSTRACT

In this study, the impacts of methyl jasmonate treatment applied by preharvest spray in combination with postharvest immersion on husk and aril antioxidant system of pomegranate fruit during storage at 4 ± 0.5 °C and relative humidity of 90-95 percent, for 120 days during two years was investigated. Methyl jasmonate treatment at 0.2 mM displayed lower husk and aril H₂O₂ accumulation (36%) due to higher antioxidant enzymes ascorbate peroxidase (34%), catalase (41%) and superoxide dismutase activity (26%), that eventually caused to higher membrane integrity in pomegranate fruit husk. Also, pomegranate fruit treated with methyl jasmonate at 0.2 mM displayed significantly lower husk and aril polyphenol oxidase enzymes activity (47%) than control fruits. Overall, methyl jasmonate treatment can be used as promising technology for maintaining nutraceutical properties of pomegranate fruit partially by promoting antioxidant system activity.

Keywords: Ascorbate peroxidase, catalase, pomegranate, storage, superoxide dismutase.

مقدمه

انار یکی از قدیمی‌ترین و پرطرفدارترین میوه‌های خوراکی در جهان محسوب می‌شود و کشت و کار آن مربوط به تمدن کهن خاورمیانه است. منشأ این میوه کشورهای ایران و افغانستان بوده که بعدها به کشورهای هند، چین و کشورهای مدیترانه (ترکیه، مصر، مراکش و اسپانیا) گسترش یافته است. انار از جمله میوه‌های نیمه گرمسیری است که از لحاظ کیفیت تغذیه‌ای و سلامت، از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است (Pareek et al., 2015). انبارداری میوه‌های انار در دماهای بالا منجر به کاهش وزن میوه و کاهش آب پوست و آریل، افزایش پوسیدگی قارچی شده و در نهایت کیفیت تغذیه‌ای و بازاریابی میوه از بین خواهد رفت. به همین دلیل برای غلبه بر این مشکلات استفاده از سردخانه با دماهای پایین و رطوبت بالا ضروری به نظر می‌رسد. از طرف دیگر نگهداری میوه‌های انار در دماهای پایین سبب ظهور علائم خسارت سرمازدگی خواهد شد. علائم معمول سرمازدگی شامل قهوه‌ای شدن پوست میوه، فرورفتگی سطحی و افزایش حساسیت به پوسیدگی می‌باشد که پس از انتقال میوه از سردخانه به دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد پس از ۳ روز، علائم ظاهر می‌شوند. علائم داخلی به صورت رنگ‌پریدگی آریل‌ها و قهوه‌ای شدن غشای جداکننده قاچ‌ها می‌باشد (Pirzad, 2017; Sayyari, 2009). تاکنون جهت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش خسارت‌های سرمازدگی و قهوه‌ای شدن میوه انار در زمان انبارداری از تیمارهای مختلفی از جمله انبارهای با اتمسفر کنترل‌شده (Kader, 2006) تیمارهای قبل از انبار مانند اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات، اسید اگزالیک (Sayyari, 2009)، پلی‌آمین‌ها (Mirdehghan et al., 2007a) و تیمارهای دمایی (Mirdehghan et al., 2007b) استفاده شده است که هرکدام تا حدودی توانسته‌اند سرمازدگی میوه انار را در انبار کاهش دهند. اسید جاسمونیک یا متیل استر آن (متیل جاسمونات) در مجموع به‌عنوان جاسمونات‌ها شناخته می‌شوند، که به‌طور طبیعی در گیاهان به‌صورت هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد وجود دارند که در برابر پاسخ‌های مختلف شامل تقسیم سلولی، رشد و نمو و فرآیند رسیدن

میوه تولید می‌شوند (Sembdner & Parthier, 1993). گزارش شده است که تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه انار رقم مویار دی الچه (Mollar de Elche) (Sayyari et al., 2011)، گوجه فرنگی (Zhang et al., 2012) و توت‌فرنگی (Chanjirakul et al., 2007) شده است. کاربرد قبل از برداشت متیل‌جاسمونات همچنین سبب افزایش آنتوسیانین‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تمشک (Wang & Zheng, 2005)، آلو (Martinez-Moreno et al., 2014) و توت‌فرنگی (Espla et al., 2014) شد. همچنین اخیراً (Babalar et al., 2018) گزارش کردند که تیمار آرژنین توانست به‌طور معنی‌داری میزان خسارت سرمازدگی و نشت یونی را در میوه‌های انار کاهش دهد و از این طریق موجب افزایش سیالیت غشای سیتوپلاسمی و انسجام غشاء گردید. در این پژوهش میوه‌های انار تیمار شده با آرژنین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (آسکوربات پروکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز) بیشتر و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز کمتری در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند. هدف از انجام این تحقیق مطالعه مکانیسم تیمارهای قبل و پس از برداشت متیل‌جاسمونات بر کاهش خسارت سرمازدگی که با قهوه‌ای شدن پوست و آریل ظاهر می‌شود و افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی میوه انار رقم ملس (ترش) ساوه در طی ۴ ماه انبارداری در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد می‌باشد. در پژوهش قبل (Pirzad et al., 2018) مشخص شد که بر اساس شاخص سرمازدگی و میزان نشت یونی غلظت بهینه در بین سطوح صفر (شاهد)، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌مولار تیمار متیل جاسمونات مربوط به غلظت ۰/۲ میلی‌مولار بوده است. تیمار ۰/۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات به خوبی توانست میزان خسارت سرمازدگی و نشت یونی را در میوه‌های انار طی ۱۲۰ روز انبارداری نسبت به میوه‌های شاهد کاهش دهد (Pirzad et al., 2018). بنابراین در این پژوهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بین غلظت ۰/۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات و شاهد مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در دو سال متوالی روی درختان ۹ ساله انار رقم ملس (ترش و شیرین) ساوه در ایستگاه تحقیقات انار واقع در شهرستان ساوه انجام شد. محلول‌پاشی تیمار متیل‌جاسمونات در سه زمان مختلف در مرحله داشت شامل ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز قبل از برداشت تجاری (حداکثر اسید قابل تیتراسیون ۲-۱/۵ درصد و حداقل مواد جامد قابل حل ۱۷-۱۵ درصد) میوه‌ها انجام شد. فاصله درختان روی ردیف ۲ متر و بین ردیف ۳ متر بود و آبیاری به صورت جوی پشته‌ای در هر هفته به مدت ۱۵ ساعت انجام می‌شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار روی ۱۲ اصله درخت میوه انار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل: تیمار متیل‌جاسمونات در ۴ غلظت (صفر به عنوان شاهد، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌مولار) و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری صفات در سردخانه (زمان شروع انبارداری، بعد از ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ روز انبارداری) 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 (حداقل مواد جامد محلول کل ۱۷-۱۵ درصد و حداکثر اسید کل ۲-۱/۵ درصد) برداشت شدند و میوه‌های تقریباً یک شکل، یک اندازه و عاری از آسیب‌های فیزیکی و بیماری انتخاب شدند و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافتند. میوه‌ها با همان غلظتی که در مرحله داشت محلول‌پاشی شده بودند در مرحله پس از برداشت و قبل از انبارداری نیز در همان غلظت غوطه‌ور شدند. قبل از اعمال تیمار در مرحله پس از برداشت روی میوه‌های انار، تعداد هشت میوه از هر تیمار و تکرار جدا گردیده و به منظور ارزیابی تیمار محلول‌پاشی قبل از برداشت متیل‌جاسمونات در زمان برداشت مورد مطالعه قرار گرفتند. تیمار پس از برداشت متیل‌جاسمونات در ۴ غلظت (صفر یا شاهد، 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 بود. 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 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد به منظور ارزیابی صفات در زمان‌های مختلف انبارداری انتقال یافتند. بر اساس شاخص سرمازدگی (شامل قهوه‌ای شدن ظاهری پوست و فرورفتگی روی پوست) و نشت یونی، غلظت بهینه متیل‌جاسمونات تعیین شد و بقیه صفات اندازه‌گیری بین شاهد و غلظت بهینه مقایسه گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، آرل‌ها و پوست‌های جدا شده از هر تیمار در داخل ازت مایع منجمد و در فریزر با دمای -80 درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شدند.

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول به روش Bradford (1976) با پلیت‌ریدر (مدل MPR4) انجام گرفت.

اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Ranieri *et al.* (2003) انجام شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم CAT به روش Luck (1965) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

(SOD)

مقدار فعالیت آنزیم SOD به روش Beauchamp & Fridovich (1971) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO)

سنجش میزان فعالیت PPO از روش Kar & Mishra (1976) استفاده شد.

مقدار هیدروژن پراکسید

میزان هیدروژن پراکسید با استفاده از روش Patterson *et al.* (1984) اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

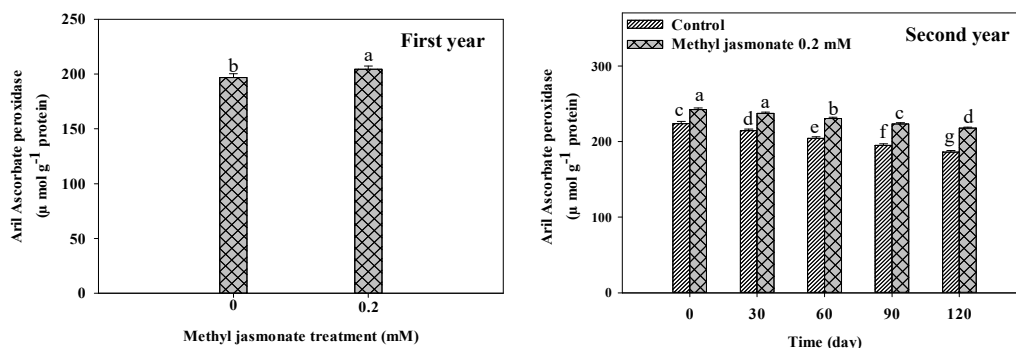
تأثیر متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

تأثیر تیمار قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات در هر دو سال اجرای آزمایش به‌طور معنی‌داری موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در قسمت‌های آریل و پوست میوه انار رقم ملس ساوه شد. با گذشت مدت‌زمان انبارداری میزان فعالیت آنزیم APX آریل‌ها و پوست در سال دوم در همه تیمارها کاهش یافت، ولی در همه زمان‌های انبارداری تیمار ۰/۲ میلی‌مولار متیل جاسمونات به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم APX بیشتری در مقایسه با شاهد داشت (شکل‌های ۱ و ۲). تیمار متیل جاسمونات قسمت‌های آریل و پوست در سال اول به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم APX بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند (شکل‌های ۱ و ۲). این امر را می‌توان به توانایی متیل جاسمونات در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های انار تیمار شده نسبت داد.

همان‌طورکه در شکل ۳ نشان داده شده است کاربرد قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات در سال‌های اول و دوم اجرای آزمایش به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت

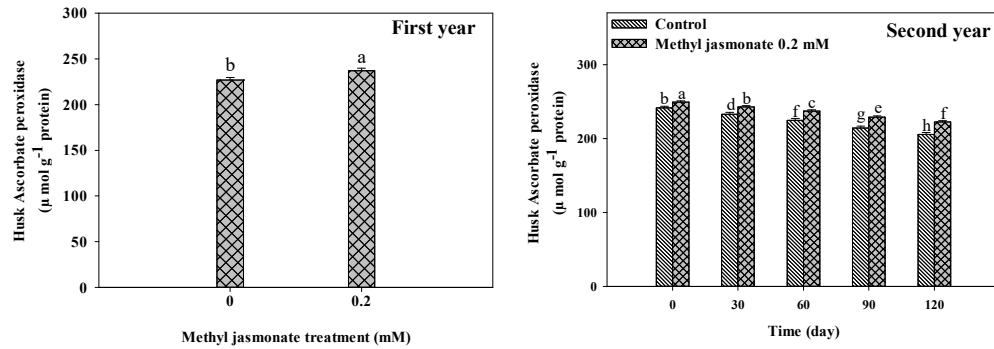
آنزیم CAT قسمت آریل در مقایسه با تیمار شاهد بیشتر بود. میزان فعالیت آنزیم CAT قسمت پوست در همه تیمارها در هر دو سال اجرای آزمایش با گذشت مدت‌زمان انبارداری کاهش یافت ولی این کاهش در میوه‌های تیمار شده با متیل جاسمونات به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود (شکل ۴). متیل جاسمونات از طریق افزایش فنل‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش فعالیت آنزیم CAT در میوه‌های انار شد که در نهایت منجر به افزایش انسجام غشایی میوه‌ها در برابر تنش‌ها از جمله خسارت سرمازدگی شد (Zapata *et al.*, 2014; Sayyari, 2009).

همان‌طورکه در شکل‌های ۵ و ۶ دیده می‌شود تیمار متیل جاسمونات به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم SOD بیشتری در قسمت‌های آریل و پوست میوه انار در سال اول نسبت به تیمار شاهد داشت. میزان فعالیت آنزیم SOD آریل‌ها و پوست در سال دوم با گذشت ۱۲۰ روز از انبارداری در همه تیمارها کاهش یافت ولی در زمان برداشت و در هر ۵ زمان اندازه‌گیری، میوه‌های تیمار شده با متیل جاسمونات به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD را در مقایسه با تیمار شاهد داشتند (شکل‌های ۵ و ۶). افزایش فعالیت آنزیم SOD در میوه‌های انار تیمار شده با متیل جاسمونات را می‌توان به افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی در آن‌ها نسبت داد (Zapata *et al.*, 2014; Wang & Zheng, 2005).



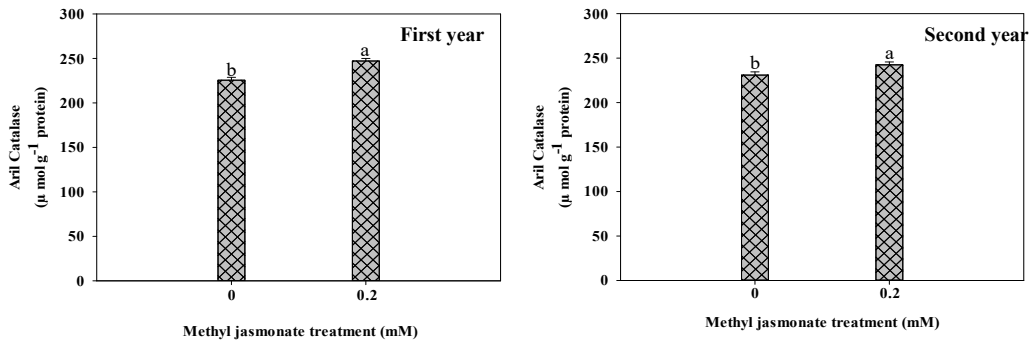
شکل ۱. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) قسمت آریل‌های میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای ۴±۰/۵ درجه سانتی‌گراد سردخانه به‌مدت ۱۲۰ روز.

Figure 1. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on arils APX enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4±0.5 °C for 120 days.



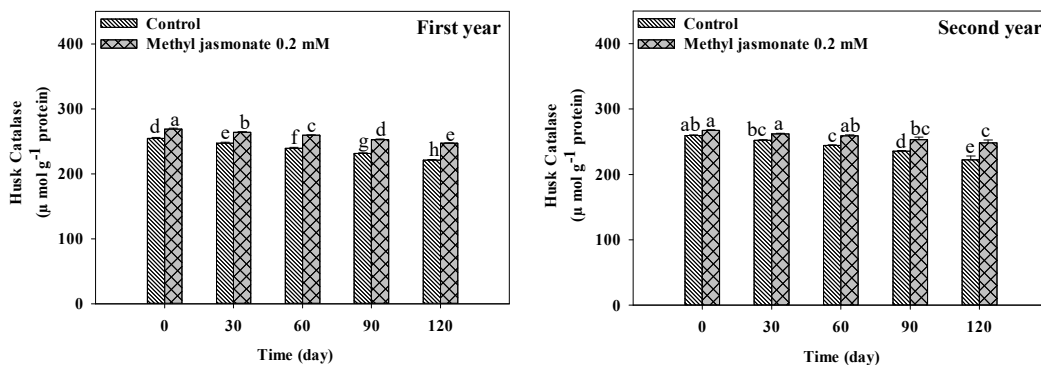
شکل ۲. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) قسمت پوست میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 2. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on husk APX enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.



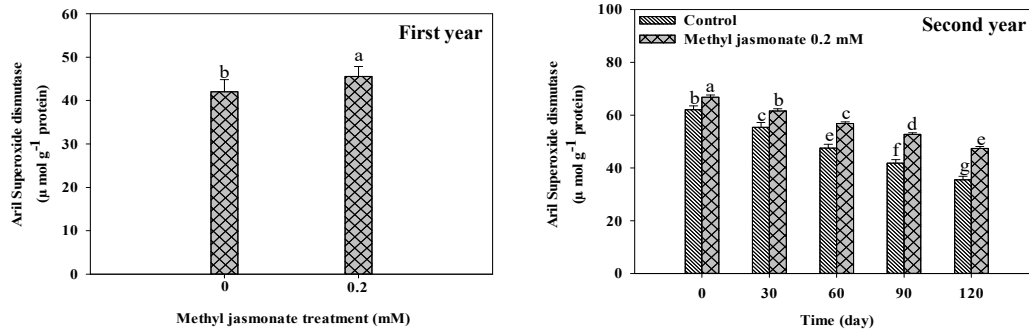
شکل ۳. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) قسمت آریل‌های میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 3. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on arils CAT enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.



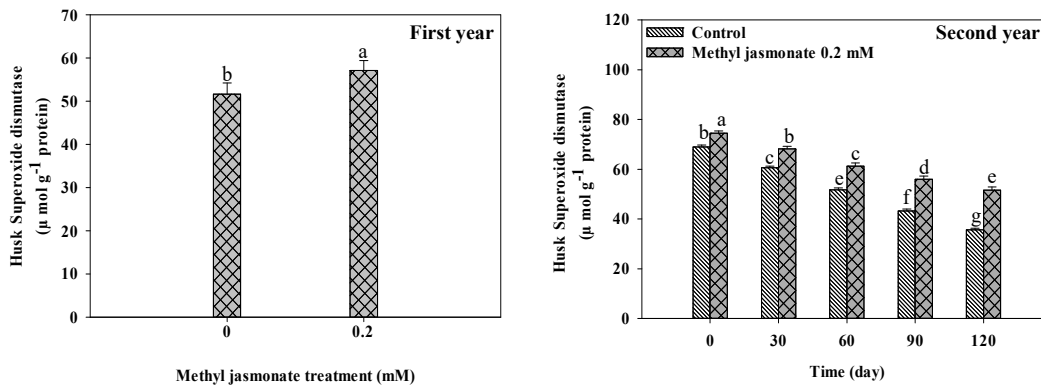
شکل ۴. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) قسمت پوست میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 4. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on husk CAT enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) قسمت آریل‌های میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 5. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on arils SOD enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) قسمت پوست میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 6. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on husk SOD enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی APX، CAT و SOD بیشتری در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند. در اثر تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد می‌شوند. گیاهان به‌منظور غلبه بر تنش اکسید شونده‌گی از سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) 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). در این پژوهش کاهش میزان H_2O_2 در قسمت‌های آریل و

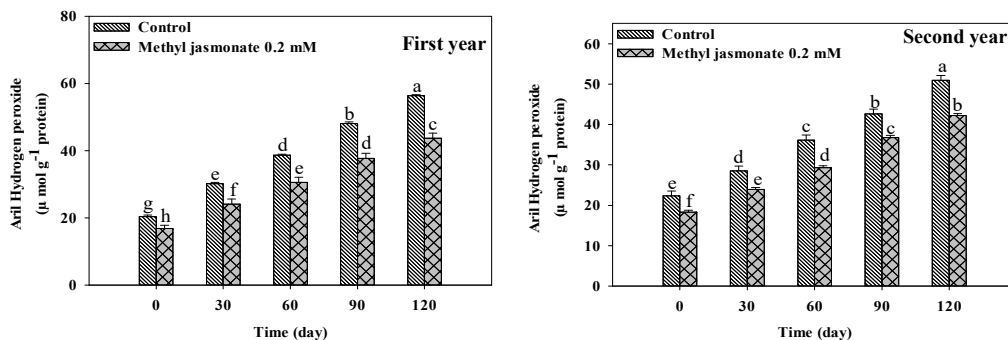
تأثیر متیل جاسمونات بر میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2)

میزان H_2O_2 آریل‌های میوه انار در هر دو سال اجرای آزمایش در همه تیمارها با گذشت زمان انبارداری افزایش یافت اما این افزایش در همه زمان‌های اندازه‌گیری در میوه‌های شاهد بیشتر از میوه‌های تیمار شده بود (شکل ۷). تیمار متیل جاسمونات توانست در هر دو سال به‌طور معنی‌داری میزان H_2O_2 را در قسمت پوست میوه‌های انار نسبت به میوه‌های شاهد کاهش دهد (شکل ۸).

در این پژوهش میوه‌های انار تیمار شده با متیل جاسمونات میزان H_2O_2 کمتر و میزان فعالیت

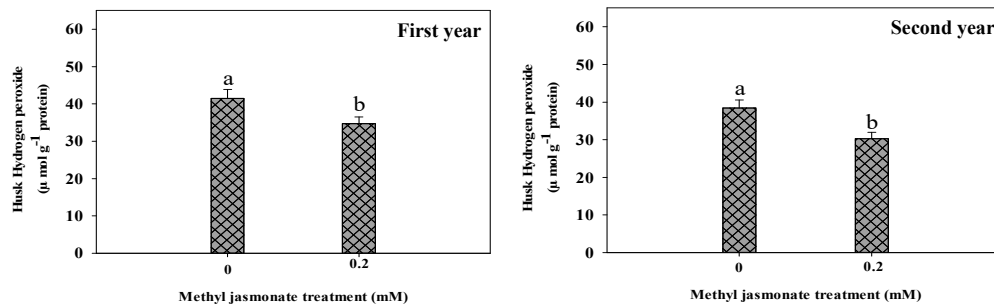
شده با متیل جاسمونات در این پژوهش میزان خسارت سرمازدگی کمتری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند که کاهش میزان خسارت سرمازدگی با کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی همراه بود و از طریق افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های APX و گلوکاتایون ردوکتاز (GR) مانع از تجمع هیدروژن پراکسید و سوپر اکسید در میوه موز شد. Babalar *et al.* (2018) گزارش کردند که میوه‌های انار رقم ملس ساوه تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار آرژنین میزان H_2O_2 و فعالیت آنزیم PPO کمتر و میزان فعالیت بیشتر آنزیم‌های APX، CAT و SOD در هر دو قسمت آریل و پوست در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند. همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج این پژوهش با نتایج آنها مطابقت دارد.

پوست میوه‌های انار تیمار شده با متیل جاسمونات را می‌توان به فعالیت بالای آنزیم‌های APX، CAT و SOD در این میوه‌ها نسبت داد. تجمع بالای H_2O_2 می‌تواند سبب افزایش خسارت اکسیداتیو و پراکسیده شدن اسیدهای چرب غیراشباع غشای سیتوپلاسمی از طریق تولید رادیکال OH^* شود (Foyer *et al.*, 2005). می‌توان این‌گونه بیان کرد که تیمار متیل جاسمونات با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (APX، CAT و SOD) سبب کاهش تجمع H_2O_2 و در نهایت سبب کاهش پراکسیده شدن اسیدهای چرب غیراشباع غشای سیتوپلاسمی میوه‌های انار شده است. Wang *et al.* (2013) اعلام کردند میوه‌های موز تیمار شده با نیتریک اکسید همانند میوه‌های انار تیمار



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) قسمت آریل‌های میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 7. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on arils H_2O_2 accumulation of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) قسمت پوست میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 8. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on husk H_2O_2 accumulation of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.

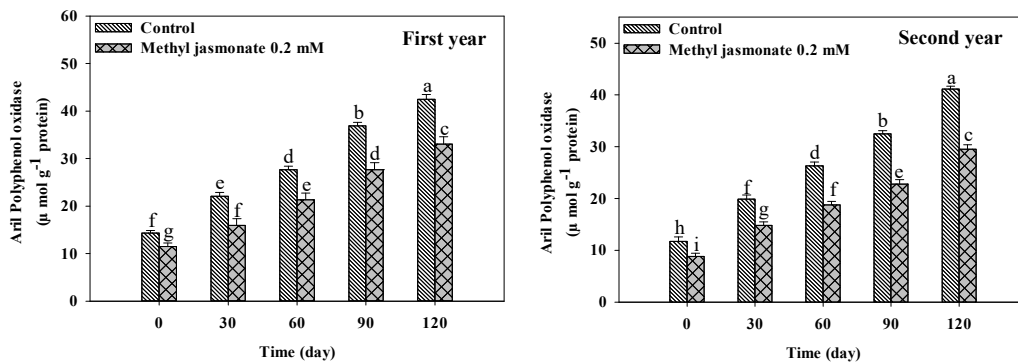
با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش توانایی بافت‌ها در از بین بردن ROS شده و در نهایت منجر به تأخیر در فرایند پیری در میوه‌های آلو شده است. تیمار پس از برداشت متیل جاسمونات در میوه‌های حساس به سرمازدگی نظیر هلو و لاکوآت از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی APX، CAT و SOD همانند میوه‌های انار تیمار شده در این پژوهش میزان خسارت سرمازدگی را در این میوه‌ها کاهش دادند (Cao *et al.*, 2009; Jin *et al.*, 2009). در میوه‌های غیر حساس به سرمازدگی نظیر تمشک تیمار متیل جاسمونات از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مقاومت میوه به عارضه پوسیدگی را افزایش داد (Chanjirakul *et al.*, 2006).

تأثیر متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)

همان‌طور که در شکل‌های ۹ و ۱۰ نشان داده شده است در هر دو سال آزمایش، با گذشت ۱۲۰ روز از انبارداری میزان فعالیت آنزیم PPO در هر دو قسمت پوست و آریل انار در همه تیمارها افزایش یافت ولی در همه زمان‌های اندازه‌گیری کمترین میزان آن مربوط به میوه‌های تیمار شده با متیل جاسمونات و بیشترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد بوده است.

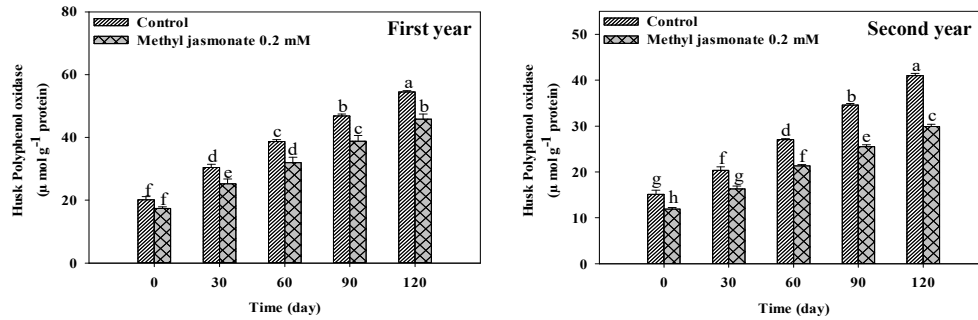
آریل‌های انار تیمار شده با اسید سالیسیلیک همانند میوه‌های انار تیمار شده در این پژوهش میزان فعالیت آنزیمی APX، CAT و SOD بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد داشتند. افزایش سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی از بین برنده ROS در آریل‌های انار تیمار شده با اسید سالیسیلیک با کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی همراه بوده است (Dokhanieh *et al.*, 2016). بنابراین در این پژوهش فعالیت بالای سیستم آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های انار تیمار شده با متیل جاسمونات نه تنها در میزان سیالیت غشای سیتوپلاسمی مؤثر است بلکه در حفظ کیفیت تغذیه‌ای آریل‌های انار (میزان ترکیبات فنلی، آنتوسیانین‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آریل‌های انار) هم نقش حیاتی دارد.

در پژوهشی محلول‌پاشی قبل از برداشت غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) روی ارقام بلک اسپلندر (Splender Black) و رویال روزا (Royal Rosa) میوه آلو نشان داد که تیمار ۰/۵ میلی‌مولار به‌صورت معنی‌داری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، CAT و پراکسیداز (POD) در زمان برداشت و طی ۵۰ روز انبارداری شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (Zapata *et al.*, 2014). آن‌ها اعلام کردند تیمار متیل جاسمونات



شکل ۹. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) قسمت آریل‌های میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای ۴±۰/۵ درجه سانتی‌گراد سردخانه به‌مدت ۱۲۰ روز.

Figure 9. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on arils PPO enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4±0.5 °C for 120 days.



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر قبل و پس از برداشت متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) قسمت پوست میوه انار رقم ملس ساوه در سال‌های اول (شکل سمت چپ) و دوم (شکل سمت راست) آزمایش در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد سردخانه به مدت ۱۲۰ روز.

Figure 10. Mean comparison effect of pre and postharvest methyl jasmonate treatment on husk PPO enzymes activity of pomegranate fruit in the first (the figure on the left) and second (the figure on the right) years at 4 ± 0.5 °C for 120 days.

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 اسید سالیسیلیک 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 جاروب کنندگی $DPPH^+$ شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین در این پژوهش تیمار متیل جاسمونات از طریق افزایش نسبت فعالیت آنزیم PAL به PPO قسمت‌های آریل و پوست میوه‌های انار سبب افزایش مقاومت میوه‌ها به خسارت سرمازدگی و کاهش قهوه‌ای شدن پوست و آریل‌ها شدند. اکسید شدن فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها توسط آنزیم PPO با افزایش در میزان تولید H_2O_2 همراه بوده که منجر به خسارت اکسیدکنندگی در محصولات مختلف باغبانی می‌شود (Gao *et al.*, 2016).

بنابراین در این پژوهش کاهش در تجمع H_2O_2 در پوست و آریل‌های میوه انار نه تنها از طریق فعالیت آنزیمی (SOD، CAT و APX) 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

تیمار ترکیبی قبل و پس از برداشت غلظت 0.2

تحت شرایط دمای پایین انبار تجمع فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها از طریق مسیر فنیل پروپانویدها افزایش می‌یابد. همچنین در این دما، در نتیجه پراکسیده شدن اسیدهای چرب غیراشباع توسط ROS و فعالیت آنزیم لیبوکسیژناز که با شاخص‌های نشت یونی و مالون‌دی‌آلدئید ارزیابی می‌شوند، سیالیت غشای سیتوپلاسمی کاهش می‌یابد. کاهش سیالیت غشای سیتوپلاسمی سبب از بین رفتن اجزای سلول شده و در نتیجه آن فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها در دسترس مستقیم آنزیم PPO قرار می‌گیرند که آنزیم اصلی در قهوه‌ای شدن محصولات مختلف تحت شرایط دماهای پایین انبار است. زمانی که سیالیت غشای سیتوپلاسمی کاهش می‌یابد، فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها توسط آنزیم PPO اکسیده می‌شوند که سبب ظهور رنگ قهوه‌ای روی بافت شده که از علائم خسارت سرمازدگی در محصولات مختلف باغبانی است (Sevillano *et al.*, 2009; Meng *et al.*, 2009).

اما در صورت سیالیت بالای غشای سیتوپلاسمی، فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها با توانایی از بین برنده رادیکال‌های آزاد نه تنها نقش حیاتی در کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها و سلامت انسان‌ها دارند، بلکه توانایی شرکت در پاسخ‌های دفاعی را نیز دارند که این فعالیت را از طریق جلوگیری از زیاد شدن زنجیره اکسیداسیون انجام داده و باعث به تأخیر انداختن اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع می‌شوند (Kay *et al.*, 2017).

تیمار قبل از برداشت آرژنین با غلظت ۱ میلی‌مولار

آنتی‌اکسیدانی میوه انار رقم ملس ساوه شد و از این طریق میزان هیدروژن پراکسید کاهش پیدا کرد. به نظر می‌رسد با کاربرد متیل جاسمونات، که ترکیب طبیعی بوده و آثار سویی از خود در میوه بر جای نمی‌گذارد، می‌توان ضایعات میوه انار را در مرحله پس از برداشت کاهش و عمر انبارداری آن‌ها را افزایش داد که این موضوع نیاز به آزمایش‌های تکمیلی بیشتر دارد.

میلی‌مولار متیل جاسمونات از طریق کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قسمت‌های آریل و پوست میوه‌های انار سبب کاهش قهوه‌ای شدن و تأخیر در خسارت سرمازدگی شده است. همچنین این تیمار از طریق افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز قسمت‌های پوست و آریل سبب افزایش فعالیت سیستم

REFERENCES

- 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.
- Babalar, M., Pirzad, F., Askari Sarcheshmeh, M. A., Talaei, A. & Lessani, H. (2018). Amelioration of chilling injury and improvement of antioxidants in pomegranate by pre and postharvest methyljasmonate. *Iranian Journal of Horticulture Science* 49 (2), 335-349. (in Farsi).
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971) Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- 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.
- 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.
- 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
- 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 & Environment*, 28, 1056-1071.
- Gao, H., Zhang, Z., Lv, 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.
- Jin, P., Zheng, Y., Tang, S., Rui, H. & Wang, C. Y. (2009). A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 52, 24-29.
- Kader, A. A. (2006). Postharvest biology and technology of pomegranates, in *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*, ed. by Seeram, N.P., Schulman, R.N. and Heber, D. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 211-220.
- Kar, M. & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
- Kay, C. D., Pereira-Caro, G., Ludwig, I. A., Clifford, M. N. & Crozier, A. (2017). Anthocyanins and flavanones are more bioavailable than previously perceived: a review of recent evidence. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 155-180.
- Luck, H. (1965). *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press.
- Martinez-Espla, A., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillen, F., Martinez-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.
- 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.
- Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Castillo, S., Martinez-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.

18. Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., & Valero, D. (2007b). Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 19-25.
19. Moreno, F.D., Monagas, M., Blanch, G.P., Bartolome, B. & Castillo, M.L.R. (2010). Enhancement of anthocyanins and selected aroma compounds in strawberry fruits through methyl jasmonate vapor treatment. *European Food Research and Technology*, 230,989-999.
20. Pareek, S., Valero, D. & Serrano, M. (2015). Postharvest biology and technology of pomegranate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2360-2379.
21. Patterson, B. D., Macrae, E. A. & Ferguson, I. B. (1984). Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium(IV). *Analytical Biochemistry*, 139, 487-492.
22. 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 Horticulturae. University of Tehran, Iran. (in Farsi).
23. Ranieri, A., Castagna, J., Pacini, B., Baldan, A. & Mensuali Sodi, G.F. (2003). Soldatini Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflowers plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2529-2540.
24. 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).
25. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martinez-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.
26. Sembdner, G. A. P. B. & Parthier, B. (1993). The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. *Annual Review of Plant Biology*, 44, 569-589.
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. Wang, S. Y. & Zheng, W. (2005). Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 187-195.
29. 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.
30. Zapata, P. J., Martinez-Espla, A., Guillen, F., Diaz-Mula, H. M., Martinez-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.
31. 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.