

## اثر تیمار گلايسين بتائين در کاهش آسیب سرما بر میوه انار در طول انبارماني

پرویز ملک‌زاده<sup>۱\*</sup>، علی اصغر حاتم‌نیا<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم

<sup>۲</sup> استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام

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

### چکیده

گلايسين بتائين یکی از ترکیبات تنظیم کننده 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 گلايسين بتائين (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 گلايسين بتائين علائم آسیب سرما، محتوای مالون دی‌آلدهید و نشست الکترولیت به‌طور چشمگیری کاهش و مقدار اسیدآمینو پرولین افزایش پیدا کرد. تیمار میوه انار بوسیله گلايسين بتائين فعالیت آنزیم فنل‌آلانی‌آمینولیاز را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در کل نتایج بدست‌آمده در این مطالعه نشان داد که گلايسين بتائين پتانسیل کاهش دادن علائم تنش سرما را دارا می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پس از برداشت، تنش سرما، گلايسين بتائين، 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 طولانی مدت (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).

\*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 دخالت‌کننده 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 بیوسنتز 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 تیوباربیتریک 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 تیوباربیتریک 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 سانتیفیوژ 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 نمونه‌برداری 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.

سانتی گراد نگهداری گردید. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر اسیدکلریدریک (۶ مولار) پایان یافت. محصول بوجود آمده با ۱۵ میلی لیتر اتیل استات استخراج و سپس اتیل استات بخار گردید. ماده جامد باقیمانده در ۳ میلی لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۵۰/۰۵ مولار) حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه گیری 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 می باشد.

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل با حداقل ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری تمام داده های حاصل از آزمایش های متفاوت با استفاده از نرم افزار SPSS-16 انجام پذیرفت. میانگین شاخص های اندازه گیری شده با استفاده از آزمون دانکن گروه بندی شد

### نتایج

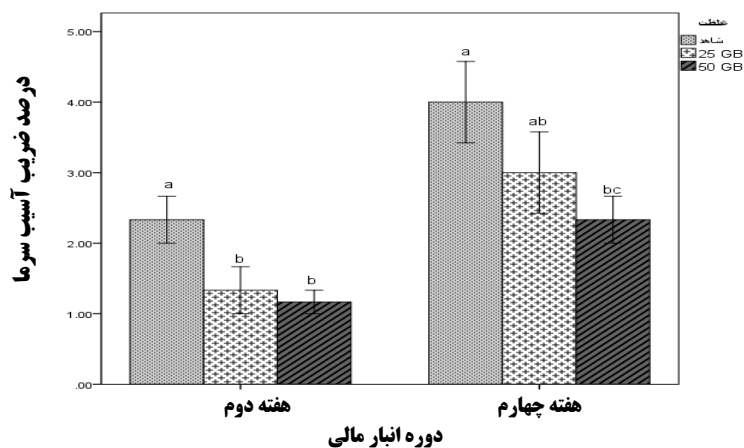
**نشت الکترولیت و آسیب سرما:** در مقایسه با شاهد استفاده از غلظت های مختلف گلیسین بتائین بیرونی روی میوه انار به طور معنی داری درصد آسیب سرما را کاهش داد. در طی هفته چهارم انبارمانی ضریب سرمازدگی به طور معنی داری نسبت به هفته دوم افزایش پیدا کرد. ضریب سرمازدگی در هفته چهارم انبارمانی در غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی مولار گلیسین بتائین بیرونی کاهش چشم گیری نسبت به میوه شاهد نشان دادند (شکل ۱).

اولیه آنها با دستگاه هدایت سنج مدل Jenway4570 اندازه گیری شد. سپس برای به دست آوردن هدایت الکتریکی 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 الکترولیت ها از رابطه زیر محاسبه شد.

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

### اندازه گیری فعالیت آنزیم

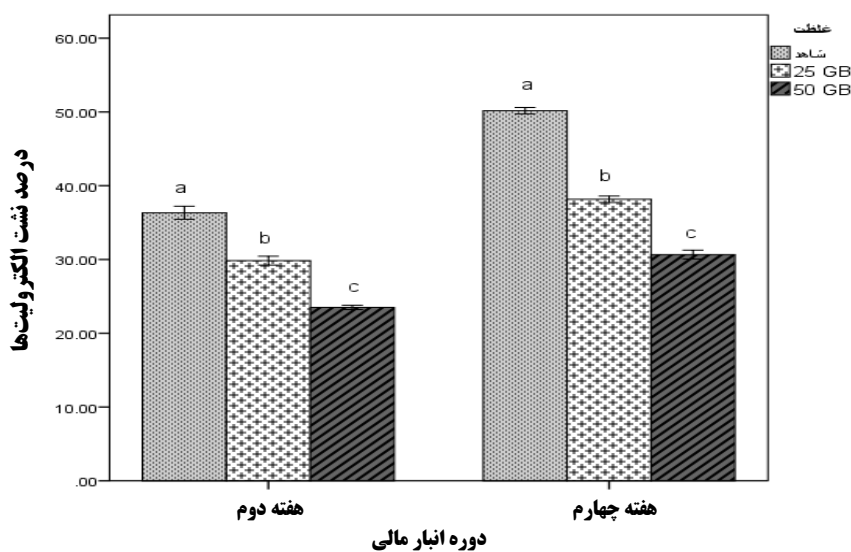
**فنل آلانین آمینولیز:** فعالیت آنزیم PAL براساس روش Galvez و همکاران (۲۰۱۰) محاسبه شد. بدین منظور ۳۰۰ میلی گرم از بافت تر نمونه ها با ۶/۵ میلی لیتر بافر تریس - HCl (pH ۸/۸، ۵۰ میلی مولار) حاوی بتا مرکاپتواتانول (۱۵ میلی مولار) در هاون سرد شده سائیده شد. سپس عصاره به دست آمده با دور ۵۰۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ (Eppendorf 5804R Germany) گردید. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. در این روش از فنیل آلانین به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده و فعالیت آنزیم فنل آلانین آمینولیز براساس سرعت تشکیل اسید سینامیک تعیین گردید. در یک لوله آزمایش ۱ میلی لیتر از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی لیتر ال- فنیل آلانین (۱۰ میلی مولار)، ۰/۴ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و ۱ میلی لیتر 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).

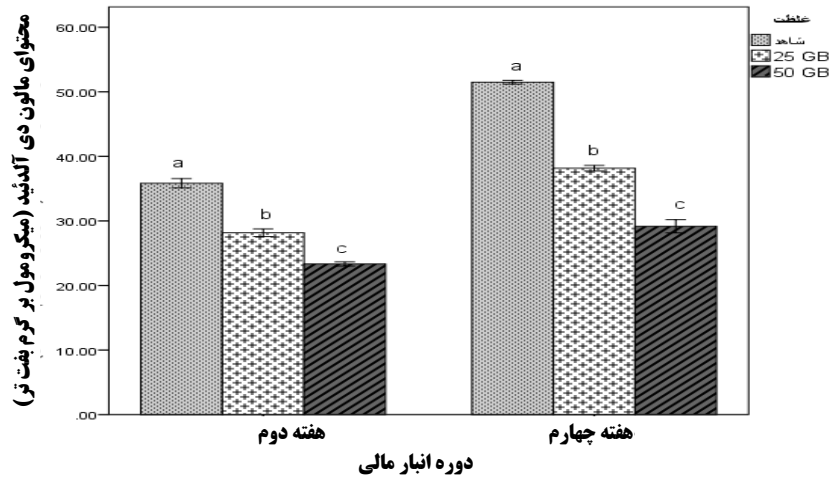
همچنين در اين بررسی مقدار نشت الكتروليت‌ها در میوه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. در حالی که در میوه‌های انار که با گلايسين بتائين



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 مالون‌دی‌آلدهید به‌طور معنی‌داری در مقایسه با میوه‌های شاهد کاهش یابد.

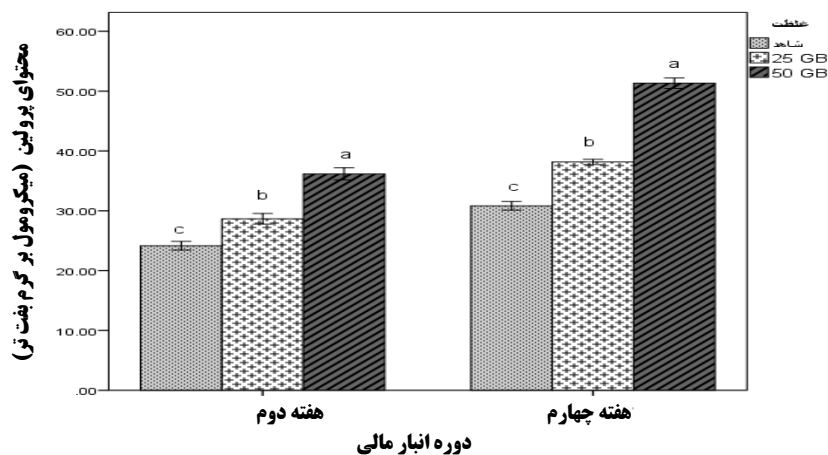
محتوای پرولين و مالون دی‌آلدهید: همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، در اثر تنش سرما در میوه‌های انار، محتوای مالون‌دی‌آلدهید به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (میوه‌های شاهد). استفاده



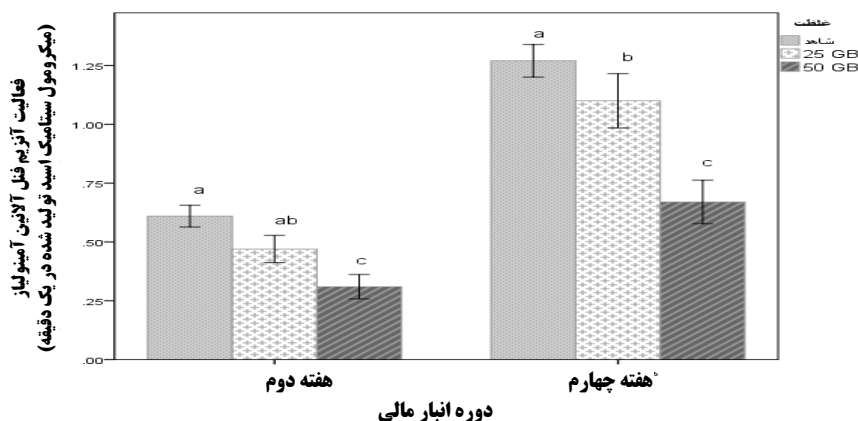
شکل ۳: اثر تیمار گلایسین بتائین بیرونی روی محتوای مالون دی آلدئید در میوه انار بعد از ۲ و ۴ هفته انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد.

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 گلیسین 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 گلیسین بتائین برای حفظ کیفیت میوه در برابر تنش سرما، استفاده می گردد (Sakamoto and Murata, 2002).

Malekzadeh (۲۰۱۵) در مطالعه بر روی اثر گلیسین بتائین بر روی کاهش تنش شوری در گیاه سویا مشاهده کرد که گلیسین بتائین با کاهش نشت الکترولیت ها، توانست تمامیت غشاء را حفظ نماید. نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز نشان داد که گلیسین 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 گلیسین 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 گلیسین 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 گلیسین 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 الكتروليت ها و مالون دی آلدهید باشد.

همانطور که شکل ۵ مشاهده شد مقدار فعاليت آنزيم فنل آلانين آمینولياز در ميوه های شاهد در مقايسه با ميوه های تیمار شده با گلايسين بتائين خارجی، بيستر بود. مطالعات انجام شده توسط Nguyen و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که همبستگی نزديکی بين فعاليت آنزيم فنل آلانين آمینولياز و قهوه ای شدن ميوه موز وجود دارد. در کل محققين پذيرفته اند که در اثر دمای پايين فعاليت آنزيم افزایش می يابد و اين افزایش با فعال شدن مکانيسمی جهت کاهش علائم سرما همراه می باشد (Lafuente et al., 2003).

#### نتیجه گیری نهایی

نتایج بدست آمده در اين مطالعه نشان داد که گلايسين بتائين همانند ساير ترکیبات سازگارکننده به تنش، دارای توانایی القاء مقاومت به سلول های گیاهی می باشد. در اين مطالعه گلايسين بتائين توانست با تاثیر روي غشاء پلاسمایی میزان ضريب سرمازدگی و نشت الكتروليت و محتوای مالون دی آلدهید را در جهت حفظ سلامت ميوه تغيير دهد. از طريق اين عملکرد میزان مواد سازگارکننده همچون مقدار پرولين در سلول های تیمار شده با گلايسين بتائين بیرونی نیز افزایش پیدا کرد. در نهایت با تغيير میزان فعاليت آنزيم فنل آلانين آمینولياز از قهوه ای 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 بيستری در ميوه های مختلف می باشد.

سبب افزایش تحمل گیاه به تنش می شود ( Zarei et al., 2010). مقايسه غلظت های مختلف گلايسين بتائين نشان داد که بالاترين میزان پرولين را در غلظت ۵۰ میلی مول گلايسين بتائين به خود اختصاص داد که تفاوت معنی داری با میانگين غلظت در ميوه شاهد داشت (شکل ۴). علت افزایش میزان پرولين با افزایش تنش سرما، به دليل تغيير متابوليسم نيتروژن در رابطه با ساخت ترکیب هایی مانند پرولين می باشد، لذا افزایش گلايسين بتائين خارجی، به منظور تعديل اسمزی سلول موجب افزایش پرولين به منظور تخفيف اثر تنش شده است. Alia و Mohanty (۱۹۹۳) عنوان نمودند که تجمع پرولين با کاهش توليد راديکال های آزاد موجب کاهش پراکسیداسيون لیپیدها و ممانع از تخریب غشاء در شرایط تنش محیطی در گیاهچه های گونه های براسیکا شد.

بسیاری از سلول های گیاهی در پاسخ به تنش های محیطی محتوای پرولين و بتائين را افزایش می دهند و اين افزایش محتوای پرولين و بتائين در سلول ها با افزایش مقاومت سلول به تنش محیطی مرتبط می باشد. پراکسیداسيون چربی های غشاء ممکن است اولین اتفاق آشکار در بروز آسيب سرما به ميوه باشد، که اين آسيب با افزایش مالون دی آلدهید در غشاء پلاسمایی بروز می کند (Yang et al., 2011). محققين سطح پراکسیداسيون چربی ها را به عنوان مکانيسم گیاهی در برابر تنش های متنوع در نظر می گیرند (Yang et al., 2011). بسیاری از دانشمندان معتقدند، بافت های گیاهی که در معرض تنش سرما قرار گرفته اند، محتوای مالون دی آلدهید 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 افزایش یافت. استفاده کردن از گلايسين بتائين بیرونی محتوای پرولين را بيستر افزایش داده است. اين امر



- 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. Díaz-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).**  $\gamma$ -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.
- 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 different 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