مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۳ صفحه‌های ۳۱۹ تا ۳۳۲ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

اثر محلول‌پاشی برگی اسیدآمینه فنیل‌آلانین بر بهبود صفات کیفی و بیوشیمیایی میوه انار (*Punica granatum* L.) رقم 'رباب نی‌ریز'

Effect of Foliar Spray of Phenylalanine on Improvement of Qualitative and Biochemical Fruit Traits of Pomegranate '(*Punica granatum* L.)' Cultivar Rabab-e Neyriz

اسماعیل صادقی، مصباح بابالار*، محمدعلی عسکری سرچشمه، محمدرضا فتاحی مقدم

گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (mbabalar@ut.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۱۸

چکیده

میوه انار یک منبع غنی از ترکیب‌های زیست‌فعال مانند پلی‌فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها و فلاونوئیدها است. در سال‌های اخیر، کاربرد اسیدهای آمینه به عنوان یک روش موثر و ایمن به منظور افزایش کیفیت تغذیه‌ای محصولات کشاورزی مطرح است. بنابراین، این پژوهش با هدف بهبود ارزش تغذیه‌ای میوه انار رقم رباب نی‌ریز از طریق محلول‌پاشی برگی اسیدآمینه فنیل‌آلانین انجام شد. آزمایش روی درخت‌های ۱۵ ساله انار رقم رباب نی‌ریز در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در یک باغ تجاری واقع در شهرستان نی‌ریز، استان فارس طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ صورت گرفت. تیمار اسیدآمینه فنیل‌آلانین به صورت محلول‌پاشی برگی در مرحله قبل از برداشت (۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز قبل از برداشت) و در غلظت‌های (صفر، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) به کار برده شد. نتایج نشان داد که میزان مواد جامد محلول، اسید قابل تیتراسیون و ویتامین ث با کاربرد فنیل‌آلانین نسبت به شاهد افزایش یافت. علاوه بر این، تیمار فنیل‌آلانین فعالیت آنزیم PAL (۴۵/۲۶ درصد نسبت به شاهد) را افزایش داد که با توجه به نقش این آنزیم در مسیر فنیل‌پروپانوئیدها می‌تواند مسئول افزایش فنول کل (۲۴/۹۷ درصد نسبت به شاهد)، فلاونوئید کل (۴۴/۸۹ درصد نسبت به شاهد) و آنتوسیانین کل (۵۸/۵۷ درصد نسبت به شاهد) در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین باشد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که تیمار محلول‌پاشی با اسیدآمینه فنیل‌آلانین در مرحله قبل از برداشت به ویژه در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار می‌تواند با بهبود پارامترهای کیفی و بیوشیمیایی باعث افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه‌های انار شود. بنابراین فنیل‌آلانین به عنوان یک محرک زیستی می‌تواند یک راهبرد مناسب جهت بهبود کیفیت تغذیه‌ای میوه انار در باغات عمل کند.

واژه های کلیدی: آنتوسیانین، اسیدآمینه، فلاونوئید، فنیل‌آلانین.

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. متعلق به تیره Lythraceae است. با توجه به مطالعات انجام شده اعتقاد بر این است که این گیاه از آسیای مرکزی، به ویژه برخی از نقاط ایران منشا گرفته و از آنجا به سایر نقاط دنیا پراکنده شده است (Levin, 2006; Verma *et al*., 2010; Da Silva *et al*., 2013). میوه انار یک منبع غنی از ترکیبات زیست‌فعال مختلف مانند پلی‌فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها و فلاونوئیدها است (Skrt*et al*., 2022). این ترکیب‌ها با پیشگیری از بیماری‌هایی مثل سرطان، دیابت وبیماری‌های قلبی اثرات مفیدی بر سلامت انسان دارند. بنابراین، میوه انار از لحاظ تجاری دارای اهمیت بسیار بالایی است (Kashash *et al*., 2016; Setiadhi & Sufiawati, 2017). در سال‌های اخیر، علاقه قابل توجهی به کاربرد خارجی محرک‌های زیستی برای بهبود کیفیت تغذیه‌ای محصولات باغبانی وجود داشته است (Bali *et al*., 2019; Kohli *et al*. 2019;

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

(Jan *et al*., 2020; Rai *et al*., 2021). بر اساس تعریف اتحادیه اروپا محرک‌های زیستی ترکیب‌هایی هستند که مستقل از محتوای مواد معدنی باعث تحریک فرآیندهای تغذیه گیاه با هدف بهبود ویژگی‌های گیاه یا ریزوسفر گیاهی مثل کارایی مصرف مواد معدنی، تحمل به تنش‌های غیرزیستی، بهبود صفات کیفی محصول و در دسترس بودن مواد معدنی محدود در خاک یا ریزوسفر می‌شوند (García-García *et al*., 2020). در بین محرک‌های زیستی، اسیدهای آمینه از اهمیت به سزایی برخوردار هستند و کاربرد اسیدهای آمینه به عنوان یک ترکیب زیست تجزیه‌پذیر و دوست‌دار محیط زیست می‌تواند به عنوان یک روش ایمن برای افزایش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای محصولات کشاورزی در نظر گرفته شود (Muscolo *et al*., 2013; Calvo *et al*, 2014). اسیدهای آمینه مولکول‌های آلی حاوی نیتروژن، کربن، هیدروژن و اکسیژن هستند که می‌توانند به طور موثر رشد و نمو گیاه را به ویژه در شرایط تنش‌زا بهبود بخشند (Buchanan *et al*., 2000). اسیدهای آمینه نقش مهمی در تنفس و فتوسنتز دارند و به عنوان پیش‌ماده برای سنتز هورمون‌ها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، متابولیت‌های ثانویه و مولکول‌های حاوی نیتروژن عمل می‌کنند (Noroozlo *et al*., 2019; Khan *et al*., 2019; Mohammadipour & Souri, 2019; Rouphael & Colla, 2020).

فنیل‌آلانین، یک اسیدآمینه آروماتیک است که در مسیر شیکیمیک اسید سنتز می‌شود. این ترکیب به عنوان پیش‌ماده برای سنتز تمام ترکیبات فنولی از طریق مسیر فنیل‌پروپانوئیدها عمل می‌کند (Tzin & Galili, 2010; Maeda & Dudareva, 2012; Tohge *et al*., 2013). در این مسیر، فنیل‌آلانین از طریق آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) به فلاونوئیدها، فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها و سالیسیلات تبدیل می‌شود. در سال‌های اخیر کاربرد خارجی اسیدآمینه فنیل‌آلانین به عنوان یک روش مفید و سودمند به منظور افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها با بهبود تجمع فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و ایجاد ظرفیت بالایی از جاروب‌کنندگی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1]) مورد توجه قرار گرفته است که به نوبه خود منجر به بهبود مقاومت در برابر تنش‌ها، تاخیر در پیری و بهبود کیفیت حسی و تغذیه‌ای محصولات باغبانی می‌شود (Garde-Cerdán *et al*., 2014; Portu *et al*., 2015). با توجه به یافته‌های اخیر ثابت شده است که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه می‌تواند بر فعالیت‌های حیاتی و همچنین ساختارهای گیاهی به طور مستقیم اثرگذار باشد (Cao *et al*., 2010). یافته‌های قبلی نشان داده است که کاربرد محلول‌پاشی برگی اسیدآمینه فنیل‌آلانین باعث افزایش ترکیب‌های فنولی و فلاونوئید و افزایش کیفیت میوه انگور شد (Portu *et al*., 2015). علاوه بر این، گزارش شده است که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه می‌تواند باعث بهبود رشد، عملکرد و کیفیت میوه انار شود (Khattab *et al*., 2014; Wassel *et al*., 2015). کاربرد خارجی فنیل‌آلانین منجر به افزایش مقاومت به سرمازدگی میوه آلو طی نگهداری در دمای یک درجه سلسیوس با افزایش فعالیت آنزیم‌های جاروب‌کنندگی ROS (سوپراکسید دیسموتاز[2]، کاتالاز[3] و آسکوربات پراکسیداز[4]) و افزایش تجمع فنول‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ویتامین ث شد (Sogvar *et al*., 2020).

با توجه به اثرات مثبت اسیدهای آمینه بر رشد گیاهان و پتانسیل آنها در بهبود ارزش تغذیه‌ای محصولات کشاورزی، در این پژوهش فرض شد که کاربرد خارجی فنیل‌آلانین به عنوان یک اسیدآمینه در مرحله قبل از برداشت می‌تواند با تاثیر بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و همچنین بهبود پارامترهای کیفی و بیوشیمیایی میوه انار، کیفیت آن را در هنگام برداشت بهبود بخشد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی فنیل‌آلانین روی درختان انار رقم رباب نی‌ریز طی دو سال متوالی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور مطالعه اثر محلول‌پاشی برگی اسیدآمینه فنیل‌آلانین طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ روی درختان انار رقم رباب نی‌ریز در یک باغ تجاری در روستای لای حنا (طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱۴ دقیقه و ۴۷ ثانیه شرقی، عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ۱۲ دقیقه و ۲۳ ثانیه شمالی) واقع در ۵ کیلومتری غرب شهرستان نی‌ریز، استان فارس انجام شد. در این منطقه، میانگین دما در شهریور و مهر ماه (زمان محلول‌پاشی) به ترتیب ۲۸/۷ و ۲۴/۴ درجه سلسیوس در سال ۱۳۹۸ و

۱- Reactive Oxygen Species ۲- Superoxide Dismutase ۳- Catalase ۴- Ascorbate Peroxidase

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

۲۶/۲ و ۲۱/۵ درجه سلسیوس در سال ۱۳۹۹ بود. برای انجام این آزمایش، درختان۱۵ ساله با قطر تنه و تاج‌پوش تقریبا مشابه انتخاب شدند. آبیاری درختان ۱۰-۷ روز یک‌بار انجام شد و عملیات باغبانی شامل شخم یا بیل‌زنی (اواخر زمستان و اوایل بهار)، حذف علف‌های هرز (طی فصل رشد) و کوددهی (کود نیتروژنی، فسفاته و پتاسیمی) همراه با کود دامی، اواخر زمستان (اسفند ماه) در اطراف درختان مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار (هر تکرار یک درخت) انجام شد. محلول‌پاشی با غلظت‌های متفاوت فنیل‌آلانین (صفر یا شاهد، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) در مرحله قبل از برداشت (۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز قبل از برداشت، به ترتیب در تاریخ‌های ۱۶ شهریور، ۵ مهر و ۲۵ مهرماه در سال ۱۳۹۸ و ۱۴ شهریور، ۳ مهر و ۲۳ مهر ماه در سال ۱۳۹۹) صورت گرفت. در پایان آزمایش، میوه‌های هر تکرار و تیمار در مرحله رسیدن تجاری (حداکثر اسید قابل تیتراسیون ۲-۱/۵ درصد و حداقل مواد جامد محلول ۱۷-۱۵ درصد) و در تاریخ‌های ۱۵ آبان ماه (۱۳۹۸) و ۱۳ آبان ماه (۱۳۹۹) برداشت شده و به منظور اندازه‌گیری برخی از شاخص‌های کیفی میوه به آزمایشگاه گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز دانشگاه تهران منتقل شدند.

اندازه گیری میزان مواد جامد محلول کل (TSS)، pH و اسید قابل تیتراسیون (TA) میوه

در این پژوهش میزان TSS به وسیله یک رفراکتومتر دستی اندازه‌گیری شد. مقدار pH آب میوه با استفاده از pH متر دیجیتال اندازه‌گیری شد (AOAC, 2005). به منظور اندازه‌گیری TA مقدار ۵ میلی‌لیتر آب میوه انار صاف شده به وسیله کاغذ صافی توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیتر شد. هنگامی که pH به ۸/۲ رسید عمل تیتراسیون متوقف و میزان سود مصرفی یادداشت شد. اسید قابل تیتراسیون با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر حسب درصد بیان شد (Niazi *et al*., 2021). اسید قابل تیتراسیون بر حسب اسید غالب محصول بیان می‌شود که برای انار اسید سیتریک است.

$$(\%)\mathrm{TA} = \frac{\text{حجم سود مصرفی} \times \text{نرمالیته سود} \times \text{اکی والان اسید غالب}}{\text{حجم نمونه تیتر شده} \times ۱۰۰۰} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری میزان ویتامین ث

برای اندازه‌گیری مقدار ویتامین ث از روش تیتراسیون با ید در یدور پتاسیم و معرف نشاسته استفاده شد. ۵ میلی‌لیتر آب میوه انار با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۲ میلی‌لیتر نشاسته ۱٪ (۱گرم نشاسته در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد. محلول حاصله با محلول ید در یدور پتاسیم (۱۶ گرم یدور پتاسیم ابتدا در آب مقطر حل شد سپس ۱/۲۷ گرم کریستال ید به آن اضافه شده و به حجم یک لیتر رسانده شد) تیتر شد که ظهور رنگ آبی تیره نشانه پایان آزمایش بود. در نهایت مقدار ویتامین ث با استفاده از فرمول زیر به دست آمد که v بیانگر حجم ید در یدور پتاسیم مصرفی بر حسب میلی‌لیتر است (Rahmawati & Bundjali, 2012).

$$\mathrm{Vc} = \frac{۰/۸۸ \times \mathrm{v}}{۵} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه

برای اندازه‌گیری میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه به ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه آریل (بذر پوشینه یا بخش خوراکی انار) پودر شده یک میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه گردید و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. در نهایت، محلول رویی به عنوان عصاره متانولی برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، میزان فنول و فلاونوئید کل مورد استفاده قرار گرفت.

میزان فنول کل مطابق با روش فولین-سیوکالچو تعیین شد. در ابتدا، ۱۴۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه، ۱۴۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد به مخلوط واکنش اضافه شد. و پس از قرار گرفتن در شرایط تاریکی و دمای اتاق به مدت ۶۰ دقیقه، میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

دستگاه پلیت ریدر(EON-BIOTEK, USA) خوانده شد. در نهایت نتایج به صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک در صد گرم وزن تازه بیان شدند (Singleton *et al*., 1999).

میزان فلاونوئید کل با روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش دارای ۲۵ میکرولیتر عصاره متانولی، ۷۵ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۴۰ میکرولیتر آب مقطر، ۱۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۱۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار بود. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و میزان جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری و به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در صد گرم وزن تازه بیان شد (Tristantini & Amalia, 2019).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل با استفاده از DPPH (۲، ۲- دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) و بر اساس روش (Dehghan & Khoshkam, 2012) صورت گرفت. برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی و ۲۵۰ میکرولیتر DPPH (۰/۱ میلی‌مولار) مخلوط شدند. مخلوط واکنش در شرایط تاریکی و دمای اتاق به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد و در نهایت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین کل میوه

استخراج و اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین کل مطابق با روش Mehrtens و همکاران (2005) با اندکی تغییرات تعیین شد. برای این منظور، ۰/۱ گرم از نمونه آریل پودر شده انار در یک میلی‌لیتر متانول اسیدی حل شد و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی قرار گرفت و سپس با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت میزان جذب در طول موج‌های ۶۵۷ و ۵۳۰ نانومتر تعیین شد و با استفاده از فرمول زیر به دست آمد که در آن FW وزن نمونه بر حسب گرم است. A_{530} و A_{657} نیز میزان جذب در طول موج‌های ۶۵۷ و ۵۳۰ نانومتر است.

$$TAC = (A_{530} - [0.25 \times A_{657}]/FW)$$

اندازه‌گیری میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز میوه

استخراج آنزیم با استفاده از بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) از آریل میوه انار انجام شد. بدین منظور، ۰/۱ گرم از نمونه‌های آریل با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط شدند و سپس با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. در نهایت، محلول رویی به منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های کل و فعالیت‌های آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز مطابق با روش El-shora (2002) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۸/۵)، بتا مرکاپتواتانول ۱ میلی‌مولار و فنیل‌آلانین ۵۰ میلی‌مولار بود. مخلوط واکنش در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری و سپس واکنش با اضافه کردن اسید کلریدریک ۶ نرمال خاتمه یافت. میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و بر حسب میکرومول سینامیک اسید تولید شده در میلی‌گرم پروتئین در ساعت با رسم منحنی استاندارد سینامیک اسید (غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرومول) گزارش شد. میزان پروتئین کل نیز با استفاده از روش Bradford (1976) اندازه‌گیری و میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد.

واکاوی آماری

این آزمایش شامل محلول‌پاشی برگی غلظت‌های مختلف اسیدآمینه فنیل‌آلانین (صفر، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ بود. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار SAS9.4 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. همچنین همبستگی بین صفات با استفاده از نرم افزار R 4.3.2 و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel 2013 صورت گرفت.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

نتایج و بحث

شاخص‌های TSS، pH و TA میوه انار

با توجه به نتایج به دست آمده محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین اثر معنی‌داری بر میزان TSS و TA میوه انار در هنگام برداشت داشت ($p \leq 0.01$). بیشترین میزان TSS در هر دو سال در غلظت ۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد در سال اول و دوم به ترتیب ۸/۹۳ و ۱۴/۲۰ درصد افزایش را نشان داد (جدول ۱). با افزایش غلظت فنیل‌آلانین میزان اسید قابل تیتراسیون نیز افزایش پیدا کرد به طوری که غلظت ۱۰ میلی‌مولار بیشترین و شاهد کمترین میزان TA را نشان داد (جدول ۱). بر اساس جدول ۲ میزان TA در سال اول آزمایش (۱/۶۵) بیشتر از سال دوم (۱/۴۳) بود. در مورد pH آب میوه نیز غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین اثر معنی‌داری بر این پارامتر داشتند ($P \leq 0.01$) و باعث کاهش میزان pH آب میوه شدند. نتایج مقایسه میانگین اثر سال نیز نشان داد که میزان pH در سال دوم آزمایش (۱۳۹۹) بیشتر از سال اول (۱۳۹۸) بود (جدول ۲). بر اساس یافته‌های این پژوهش با افزایش غلظت اسیدآمینه فنیل‌آلانین میزان TSS افزایش پیدا کرد و بیشترین میزان در تیمار ۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد. افزایش TSS در مقایسه با شاهد می‌تواند به این دلیل باشد که اسیدهای آمینه می‌توانند از طریق افزایش درصد و میزان کلروفیل در گیاه، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و افزایش نسبت کربن به نیتروژن (C/N) شوند (Molaie *et al*., 2013). وقتی نیتروژن به صورت محدود در دسترس باشد گیاه به سمت ساخت ترکیبات کربنی مثل نشاسته، سلولز، فنول‌ها و ترپنوئیدها می‌رود که می‌تواند دلیل بالا بودن میزان TSS در این محصولات باشد (Rembiałkowska, 2007). علاوه بر این، القای مسیر فنیل پروپانوئیدها توسط فنیل‌آلانین پاسخ دفاعی را افزایش می‌دهد که می‌تواند دیواره سلولی میوه و نشاسته را تخریب کند و در نتیجه سطح قندهای محلول را افزایش دهد (Patel *et al*., 2023). طبق داده‌های به دست آمده از هواشناسی، میانگین دما در شهریور و مهر ماه ۱۳۹۸ (به ترتیب ۲۸/۷ و ۲۴/۴ درجه سلسیوس) بالاتر از سال ۱۳۹۹ (به ترتیب ۲۶/۲ و ۲۱/۵ درجه سلسیوس) بود. در نتیجه بیشتر بودن میزان TSS و TA در سال ۱۳۹۸ می‌تواند به علت افزایش فتوسنتز و فرآیندهای متابولیکی گیاه باشد که در نتیجه تجمع کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آلی را به همراه داشته است. دلیل میزان بالای TA در میوه‌ها تیمار شده با فنیل‌آلانین ممکن است به دلیل نسبت بالای C/N ناشی از کاربرد اسید آمینه باشد. کربن اضافی می‌تواند اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک که اسید غالب در انار است را تولید کند (Daneshvar *et al*., 2023). کاربرد فنیل‌آلانین به صورت محلول‌پاشی میزان TSS را در برگ‌های مورینگا (*Moringa oleifera*) افزایش داد (Atteya *et al*., 2022). محلول‌پاشی برگی تریپتوفان به عنوان اسیدآمینه در غلظت ۲۵ و ۵۰ پی‌پی‌ام روی پرتقال واشنگتن ناول باعث افزایش میزان TSS شد (Ahmed *et al*., 2017). در گزارشی مشخص شد که کاربرد قبل از برداشت تریپتوفان و آرژنین در میوه گلابی سبب افزایش میزان TSS شد (Khedr *et al*., 2018). کاربرد قبل از برداشت آرژنین روی میوه گیلاس منجر به افزایش میزان مواد جامد محلول (TSS) و اسید قابل تیتراسیون (TA) شد که نشان‌دهنده اثر مثبت آرژنین بر حفظ کیفیت میوه است (Pakkish & Mohammadrezakhani, 2022).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین بر برخی صفات کیفی میوه انار رقم 'رباب نی‌ریز'.

Table 1. Effect of foliar spray of phenylalanine on some qualitative traits of pomegranate fruit cultivar 'Rabab-e-Neyriz'.

صفات Traits	pH		اسید قابل تیتراسیون Titratable acidity (%)		مواد جامد محلول کل Total soluble solids (Brix)		ویتامین ث Vitamin C (mg/100g F.W)	
سال Year	1398	1399	1398	1399	1398	1399	1398	1399
0 mM	3.29 c	3.76 a	1.47 cd	1.18 e	17.93 cd	16.40 e	18.77 d	19.94 d
1 mM	3.17 cd	3.56 b	1.56 bc	1.34 d	18 cd	17.70 d	19.36 d	21.12d
5 mM	3.25 c	3.60 b	1.68 b	1.51 c	18.66 b	18.36 bc	24.64 c	26.98 bc
10 mM	3.12 d	3.63b	1.91 a	1.67 b	19.53 a	18.73 b	32.26 a	29.33b

میانگین‌های با حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Means with the same letters indicate non-significant difference at a 5% level of probability using Duncan's test.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سال بر برخی صفات کیفی میوه انار رقم 'رباب نی‌ریز'.

Table 2. Effect of year on some qualitative traits of pomegranate fruit cultivar 'Rabab-e Neyriz'.

سال Year	صفات کیفی Qualititative Traits			
	pH	اسید قابل تیتراسیون Titratable acidity (%)	مواد جامد محلول کل Total soluble solids (Brix)	ویتامین ث Vitamin C (mg/100g F.W)
1398	3.21 b	1.65 a	18.53 a	23.76 a
1399	3.64 a	1.43 b	17.80 b	24.34 a

میانگین‌های با حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Means with the same letters indicate non-significant difference at a 5% level of probability using Duncan's test.

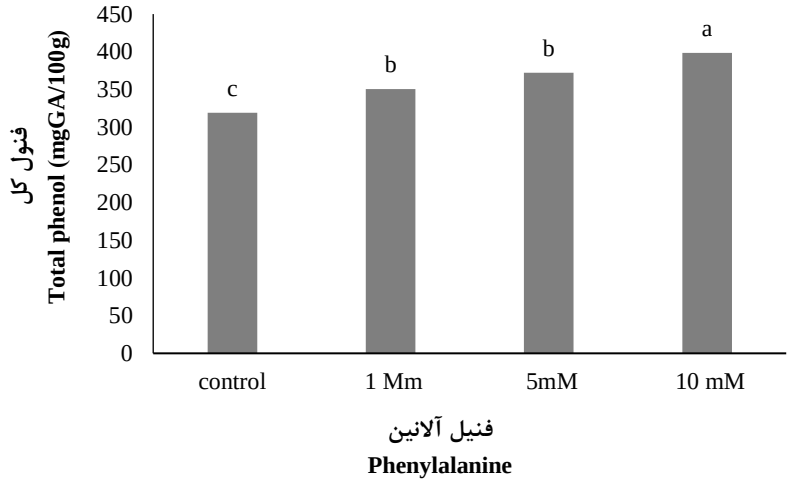
شاخص ویتامین ث میوه انار

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین اثر معنی‌داری بر میزان ویتامین ث میوه انار داشت. با افزایش غلظت فنیل‌آلانین، میزان ویتامین ث نیز در هر دو سال افزایش یافت. به طوری که بیشترین میزان ویتامین ث در تیمار ۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد که در مقایسه با شاهد به ترتیب ۷۱/۸۷ و ۴۷/۰۹ درصد افزایش را در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ نشان داد (جدول ۱). با توجه به اینکه اسیدهای آمینه در چرخه‌های بیولوژی مانند تولید اسید سیتریک و اسید آسکوربیک مؤثر هستند (Heldt & Piechulla, 2010). همین موضوع می‌تواند دلیل افزایش محتوای ویتامین ث در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین در مقایسه با شاهد باشد. علاوه بر این، اسیدهای آمینه برای سنتز پروتئین‌ها، آمین‌ها، پورین‌ها، پیریمیدین‌ها، آلکالوئیدها، ویتامین‌ها، ترپنوئیدها و همچنین آنزیم‌ها و هورمون‌های ضروری برای تکمیل فعالیت‌های متابولیکی مهم، مورد نیاز هستند که می‌تواند دلیل افزایش میزان ویتامین ث در میوه‌های تحت تاثیر اسیدآمینه فنیل‌آلانین باشد (Nahed *et al.*, 2007). کاربرد برگی اسیدهای آمینه منجر به افزایش میزان ویتامین ث در میوه فلفل شد (Salmani & Rezaei, 2023).

شاخص های میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه انار

غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد ($P \leq 0.01$). با توجه به شکل ۱، بیشترین میزان فنول کل (۳۹۸/۶۳) در غلظت ۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد که افزایش ۲۴/۹۷ درصدی را نسبت به تیمار شاهد (۳۱۸/۹۶) نشان داد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۵ میلی‌مولار و یک میلی‌مولار فنیل‌آلانین وجود نداشت و هر دو در یک سطح آماری قرار گرفتند (شکل ۱). همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود میزان فلاونوئید کل با افزایش غلظت فنیل‌آلانین افزایش داشت، به طوری که تیمار ۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین (۱۵/۰۴) بیشترین اثر را در افزایش میزان فلاونوئید کل داشت که ۴۴/۸۹ درصد در مقایسه با تیمار شاهد (۱۰/۳۸) افزایش داشت (شکل ۲). همچنین اثر سال بر میزان فلاونوئید کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. میزان فلاونوئید کل در سال ۱۳۹۹ افزایش ۱۴/۴۹ درصدی را نسبت به سال ۱۳۹۸ نشان داد. بالاتر بودن میزان فلاونوئید کل در سال دوم در مقایسه با سال اول شاید به دلیل بالاتر بودن فعالیت آنزیم PAL در سال دوم در مقایسه با سال اول باشد (جدول ۳). محتوای فنولی بالا در میوه‌های تیمار شده به دلیل تحریک مسیر شیکمیک اسید و فنیل پروپانوئیدها می‌باشد که منجر به تجمع فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌شود (Tohge *et al.*, 2013).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]



شکل ۱- اثر محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین بر فنول کل میوه انار رقم ‘رباب نی‌ریز’. ستون‌های با حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Fig. 1. Effect of foliar spray of phenylalanine on total phenol of pomegranate fruit cultivar ‘Rabab-e-Neyriz’. Columns with the same letters indicate non-significant difference at 5% level using Duncan’s test.

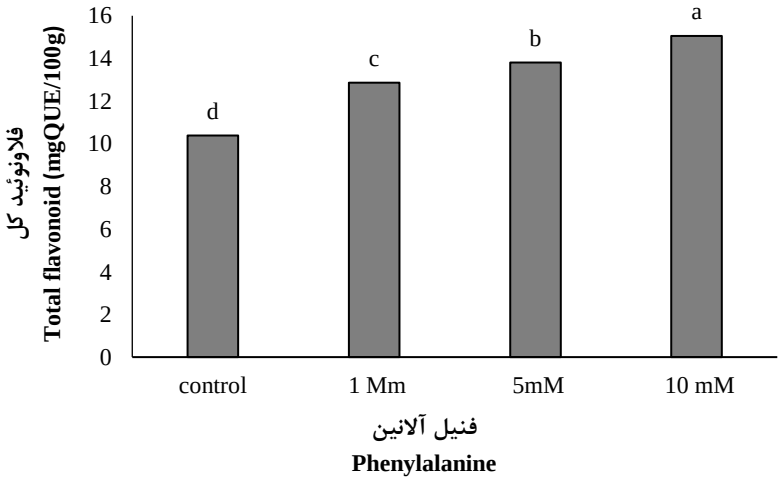
جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سال بر برخی صفات بیوشیمیایی میوه انار رقم ‘رباب نی‌ریز’.

Table 3. Effect of year on some biochemical traits of pomegranate fruit cultivar ‘Rabab-e Neyriz’’.

سال Year	صفات بیوشیمیایی Biochemical Traits				
	فنول کل Total phenol (mg GA/100g F.W)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg QUE/100 g F.W)	آنتوسیانین کل Total anthocyanin (mg C-3-G/100g)	آنتی‌اکسیدان کل Total antioxidant	فعالیت آنزیم PAL PAL enzyme activity (µmol/h.mg protein)
1398	357.05[a]	12.14[b]	132.67[a]	75.63[b]	136.85[b]
1399	362.99[a]	13.90[a]	131.87[a]	76.67[a]	175.87[a]

میانگین‌های با حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Means with the same letters indicate non-significant difference at a 5% level of probability using Duncan’s test.

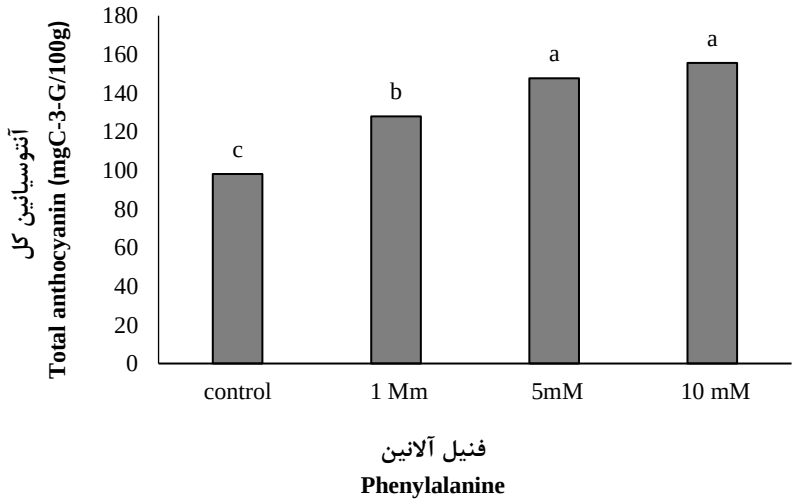


شکل ۲- اثر محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین بر فلاونوئید کل میوه انار رقم ‘رباب نی‌ریز’. ستون‌های با حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Fig. 2. Effect of foliar spray of phenylalanine on total flavonoid of pomegranate fruit cultivar ‘Rabab-e-Neyriz’. Columns with the same letters indicate non-significant difference at 5% level using Duncan’s test.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

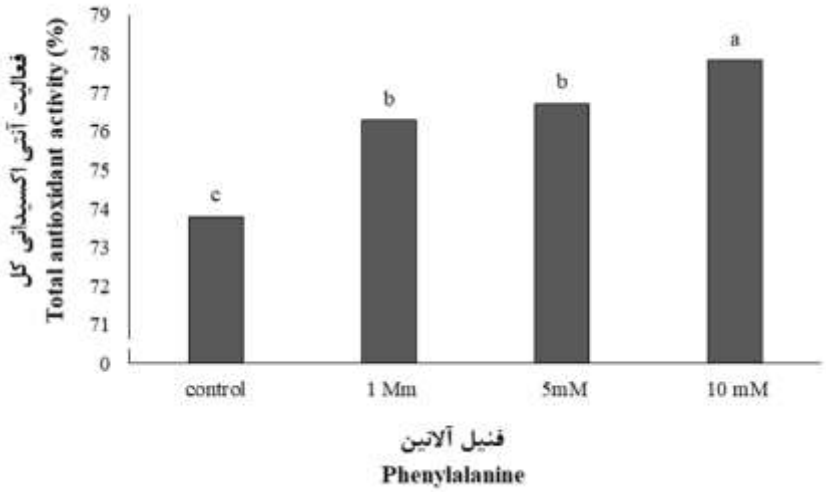
همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود بیشترین میزان آنتوسیانین کل در غلظت ۱۰ و به دنبال آن ۵ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد که در غلظت ۱۰ میلی‌مولار ۵۸/۵۷ درصد و در غلظت ۵ میلی‌مولار ۵۰/۵۰ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داشت (شکل ۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین قرار گرفت. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در غلظت ۱۰ میلی‌مولار (۷۷/۸۳) و کمترین میزان در تیمار شاهد (۷۳/۸۰) مشاهده شد. مطالعات انجام شده بیانگر این است که آنتوسیانین‌ها می‌توانند تقریبا همه گونه‌های فعال اکسیژن شامل O_2^-، $ONOO^-$، $O_2H^\cdot$، $OH^\cdot$، $^1O_2$ و H_2O_2 را سرکوب کنند (Zhu *et al*., 2013). افزایش ترکیب‌های فنولی و آنتوسیانین تحت تاثیر تیمار فنیل‌آلانین در مقایسه با شاهد می‌تواند به دلیل تجمع فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین کل از طریق مسیرهای شیکمیک اسید و فنیل پروپانوئید باشد. گزارش شده است که افزایش در میزان ترکیب‌های فنولی می‌تواند به دلیل فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و همچنین آنزیم‌های متابولیکی مانند فنیل‌آلانین آمونیالیاز باشد (De la Rosa *et al*., 2019). علاوه بر این، افزایش میزان فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها که در اثر کاربرد فنیل‌آلانین اتفاق می‌افتد احتمالا می‌تواند مسئول افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در میوه‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد باشد (Sogvar *et al*., 2020). نتایج تحقیقات پیشین نیز نشان داد که کاربرد خارجی اسیدآمینه فنیل‌آلانین نیز میزان فنول‌ها و فلاونوئیدها را در انگور افزایش داد (Portu *et al*., 2015).



شکل ۳- اثر محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین بر آنتوسیانین کل میوه انار رقم 'رباب نی‌ریز'. ستون‌های با حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Fig.3. Effect of foliar spray of phenylalanine on total anthocyanin of pomegranate fruit cultivar 'Rabab-e-Neyriz'. Columns with the same letters indicate non-significant difference at 5% level using Duncan's test.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]



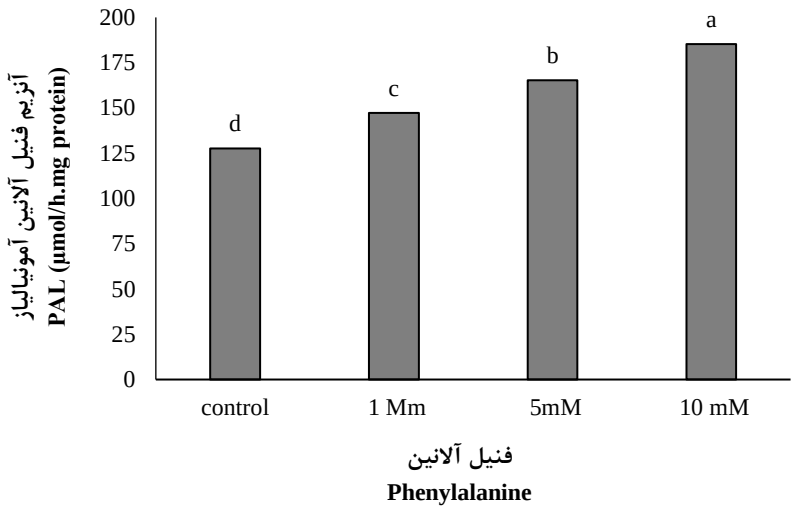
شکل ۴- اثر محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین بر فعالیت آنتی اکسیدانی کل میوه انار رقم 'رباب نی‌ریز'. ستون‌های با حروف یکسان نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Fig. 4. Effect of foliar spray of phenylalanine on total antioxidant activity of pomegranate fruit cultivar 'Rabab-e-Neyriz'. Columns with the same letters indicate non-significant difference at 5% level using Duncan's test.

شاخص فعالیت آنزیم PAL میوه انار

میزان فعالیت آنزیم PAL به طور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین قرار گرفت ($p \leq 0.01$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم PAL در تیمار۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین (۱۸۵/۳۰) و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (۱۲۷/۵۶) مشاهده شد (شکل ۵). با افزایش غلظت فنیل‌آلانین میزان فعالیت آنزیم PAL نیز افزایش پیدا کرد که غلظت ۱۰ میلی‌مولار فنیل‌آلانین در مقایسه با تیمار شاهد ۴۵/۲۶ درصد افزایش را نشان داد. همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم PAL در سال دوم (۱۷۵/۸۷) بیشتر از سال اول (۱۳۶/۸۵) بود. آنزیم PAL، آنزیم اصلی در مسیر فنیل پروپانوئیدها است که تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس- سینامیک اسید به عنوان پیش‌ماده ترکیب‌های فنولی را کاتالیز می‌کند. این آنزیم در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی تحریک می‌شود که منجر به تجمع ترکیب‌های زیستی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنولی و لیگنین‌ها می‌شود (Jiang *et al*., 2013; Sharma *et al*., 2019). اثر مثبت اسیدآمینه فنیل‌آلانین در افزایش فعالیت آنزیم PAL می‌تواند به نقش این اسیدآمینه به عنوان پیش ماده آنزیم PAL به عنوان اولین و مهم‌ترین آنزیم در مسیر فنیل پروپانوئیدها باشد (Vogt *et al*., 2010). علاوه بر این، در این مطالعه، ترکیبات فنولی مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های کل نیز در تیمار فنیل‌آلانین نسبت به شاهد افزایش یافت. در مسیر فنیل پروپانوئیدها، آنزیم PAL سنتز اکثر ترکیب‌های فنولی را تنظیم می‌کند (Vogt *et al*., 2010). بنابراین، افزایش ترکیبات فنولی ممکن است از فعالیت بالاتر آنزیم PAL در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین در مقایسه با شاهد ناشی شود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و فعالیت آنزیم PAL نیز در شکل ۶ نشان داده شده است. افزایش فعالیت آنزیم PAL در اثر کاربرد کاربرد خارجی فنیل‌آلانین در میوه‌های آلو نیز گزارش شده است (Sogvar *et al*., 2020).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]



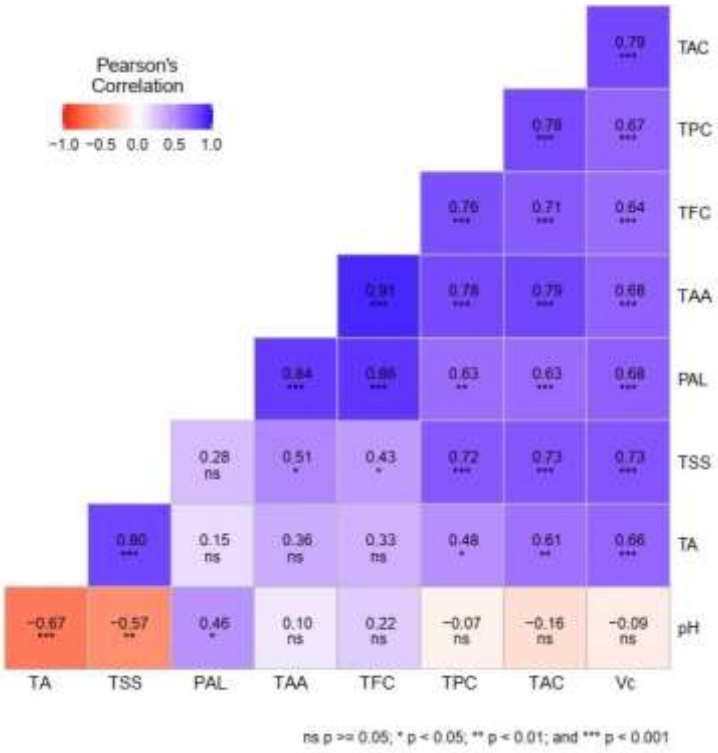
شکل ۵- اثر محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین بر فعالیت آنزیم PAL میوه انار رقم 'رباب نی‌ریز'. ستون‌های با حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن هستند.

Fig. 5. Effect of foliar spray of phenylalanine on PAL enzyme activity of pomegranate fruit cultivar 'Rabab-e-Neyriz'. Columns with the same letters indicate non-significant difference at 5% level using Duncan's test.

همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده

نتایج همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده به روش پیرسون در شکل ۶ ارائه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و فعالیت آنزیم PAL وجود داشت. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین ترکیبات فنولی، ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مشاهده شد. این در حالی است که همبستگی بین pH و صفات اسید قابل تیتراسیون (TA) و مواد جامد محلول (TSS)، منفی بود و از نظر آماری نیز معنی‌دار شد. همچنین بین صفات آنتی اکسیدانی (مواد فنولی کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل) و pH هیچ گونه همبستگی وجود نداشت.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]



شکل ۶ -ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده انار رقم 'رباب نی‌ریز' به روش پیرسون. TAC: میزان آنتوسیانین کل، TPC: میزان فنول‌کل، TFC: فلاونوئید کل، TAA: ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، PAL: فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، TSS: مواد جامد محلول، TA: اسید قابل تیتراسیون، Vc: و یتامین ث.

Fig. 6. Correlation coefficients between the measured traits of cultivar 'Rabab-e-Neyriz' pomegranate by Pearson method. TAC: total anthocyanin content, TPC: total phenol content, TFC: total flavonoid content, TAA: total antioxidant activity, PAL: phenylalanine ammonia-lyase enzyme activity, TSS: total soluble solids, TA: titratable acidity, Vc: vitamin C.

نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف مطالعه تاثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین بر پارامترهای کیفی و بیوشیمیایی میوه انار رقم رباب نی‌ریز انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد خارجی فنیل‌آلانین به عنوان یک محرک زیستی و ترکیب طبیعی و سالم به ویژه در غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار در مرحله قبل از برداشت می‌تواند کیفیت میوه انار را با افزایش میزان TSS، TA و ویتامین ث بهبود بخشد. همچنین محلول‌پاشی برگی فنیل‌آلانین با افزایش فعالیت آنزیم PAL به عنوان آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئیدها باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی (فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها) و بهبود رنگ آریل‌ها شد. بنابراین کاربرد اسیدآمینه فنیل‌آلانین به عنوان محرک زیستی می‌تواند به عنوان یک راهبرد امیدوار کننده در کشت انار به منظور بهبود کیفیت تغذیه‌ای آن عمل کند.

منابع

Noroozlo, Y. A., Souri, M. K., & Delshad, M. (2019). Stimulation effects of foliar applied glycine and glutamine amino acids on lettuce growth. *Open Agriculture*, 4(1), 164-172.

Ahmed, F. K., Hamed, N. A., Magdy, A. I., & ELazazy, A. M. (2017). Effect of tryptophan and some nutrient elements foliar application on yield and fruit quality of Washington Navel orange. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 9, 86-97.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2005). Official Methods of Analysis, (7th Ed). Washington D.C. U.S.A.

Atteya, A. K., El-Serafy, R. S., El-Zabalawy, K. M., Elhakem, A., & Genaidy, E. A. (2022). Exogenously supplemented proline and phenylalanine improve growth, productivity, and oil composition of salted

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

moringa by up-regulating osmoprotectants and stimulating antioxidant machinery. *Plants*, 11(12), 1553.

Bali, S., Jamwal, V. L., Kohli, S. K., Kaur, P., Tejpal, R., Bhalla, V., & Ahmad, P. (2019). Jasmonic acid application triggers detoxification of lead (Pb) toxicity in tomato through the modifications of secondary metabolites and gene expression. *Chemosphere*, *235*, 734-748.

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(1–2), 248–254.

Buchanan, B. B., Gruissem, W., and Jones, R. L. (2000). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists.

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383, 3-41.

Cao, J. X., Peng, Z. P., Huang, J. C., Yu, J. H., Li, W. N., Yang, L. X., & Lin, Z. J. (2010). Effect of foliar application of amino acid on yield and quality of flowering Chinese cabbage. *Chinese Agriculture Science Bulletin*, 26, 162-165.

Daneshvar, H., Babalar, M., Díaz-Pérez, J. C., Nambeesan, S., Delshad, M., & Tabrizi, L. (2023). Evaluation of organic and mineral fertilizers on plant growth, minerals, and postharvest quality of celery (*Apium graveolens* L.). *Journal of Plant Nutrition*, *46*(8), 1712-1729.

Da Silva, J. A. T., Rana, T. S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D. T., & Ranade, S. A. (2013). Pomegranate biology and biotechnology: a review. *Scientia Horticulturae*, 160, 85-107.

Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 131(2), 422-426.

De la Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. *In Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253-271). Woodhead publishing.

El-Shora, H. M. (2002). Properties of phenylalanine ammonia-lyase from marrow cotyledons. *Plant Science*, 162(1), 1-7.

García-García, A. L., García-Machado, F. J., Borges, A. A., Morales-Sierra, S., Boto, A., & Jiménez-Arias, D. (2020). Pure organic active compounds against abiotic stress: A biostimulant overview. *Frontiers in Plant Science*, 11, 575829.

Heldt, H. W. & Piechulla, B. (2010). Plant Biochemistry. Academic Press. 145.

Jan, S., Noman, A., Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2020). 24-Epibrassinolide alleviates the injurious effects of Cr (VI) toxicity in tomato plants: Insights into growth, physio-biochemical attributes, antioxidant activity and regulation of Ascorbate–glutathione and Glyoxalase cycles. *Journal of Plant Growth Regulation*, *39*, 1587-1604.

Jiang, Y., Xia, B., Liang, L., Li, X., Xu, S., Peng, F., & Wang, R. (2013). Molecular and analysis of a phenylalanine ammonia-lyase gene (LrPAL2) from Lycoris radiata. *Molecular Biology Reports*, 40, 2293-2300.

Kashash, Y., Mayuoni-Kirshenbaum, L., Goldenberg, L., Choi, H. J., & Porat, R. (2016). Effects of harvest date and low-temperature conditioning on chilling tolerance of 'Wonderful' pomegranate fruit. *Scientia Horticulturae*, 209, 286-292.

Khan, S., Yu, H., Li, Q., GAO, Y., Sallam, B. N., Wang, H., & Jiang, W. (2019). Exogenous application of amino acids improves the growth and yield of lettuce by enhancing photosynthetic assimilation and nutrient availability. *Agronomy*, *9*(5), 266.

Khattab, M. M., Shaban, A. E., El-Shrief, A. H., & Mohamed, A. E. D. (2012). Effect of humic acid and amino acids on pomegranate trees under deficit irrigation. I: Growth, flowering and fruiting. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 4(3), 253-259.

Khedr, E. (2018). Improving productivity, quality and antioxidant capacity of Le-Conte pear fruits using foliar tryptophan, arginine and salicylic applications. *Egyptian Journal of Horticulture*, *45*(1), 93-103.

Kohli, S. K., Bali, S., Tejpal, R., Bhalla, V., Verma, V., Bhardwaj, R., & Ahmad, P. (2019). In-situ localization and biochemical analysis of bio-molecules reveals Pb-stress amelioration in *Brassica juncea* L. by co-application of 24-Epibrassinolide and Salicylic Acid. *Scientific Reports*, *9*(1), 3524.

Levin, G. M. (2006). *Pomegranate Roads: a Soviet Botanist's Exile from Eden*. Pomegranate Roads.

Maeda, H., & Dudareva, N. (2012). The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Biology*, *63*, 73-105.

Mehrtens, F., Kranz, H., Bednarek, P., & Weisshaar, B. (2005). The Arabidopsis transcription factor MYB12 is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Physiology*, *138*(2), 1083-1096.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

Mohammadipour, N., & Souri, M. K. (2019). Effects of different levels of glycine in the nutrient solution on the growth, nutrient composition, and antioxidant activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Acta Agrobotanica*, *72*(1).

Molaie, H., Panahi, B., & Tajabadipour, A. (2013). The effect of foliar application of some amino acid compounds on photosynthesis and yield of two commercial cultivars in pistachio orchards of Kerman province in Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(23), 2827.

Muscolo, A., Sidari, M., & Nardi, S. (2013). Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration*, *129*, 57-63.

Nahed, G. A., & Balbaa, L. K. (2007). Influence of tyrosine and zinc on growth, flowering and chemical constituents of *Salvia farinacea* plants. *Journal of Applied Sciences Research*, *3*(11), 1479-1489.

Niazi, Z., Razavi, F., Khademi, O., & Aghdam, M. S. (2021). Exogenous application of hydrogen sulfide and γ-aminobutyric acid alleviates chilling injury and preserves quality of persimmon fruit (*Diospyros kaki*, cv. Karaj) during cold storage. *Scientia Horticulturae*, *285*, 110198.

Pakkish, Z., & Mohammadrezakhani, S. (2022). The Effect of Preharvest Application of Arginine on the Postharvest Quality of Sweet Cherry Fruits during Storage. *International Journal of Fruit Science*, *22*(1), 837-851.

Patel, M. K., Fanyuk, M., Feyngenberg, O., Maurer, D., Sela, N., Ovadia, R., & Alkan, N. (2023). Phenylalanine induces mango fruit resistance against chilling injuries during storage at suboptimal temperature. *Food Chemistry*, *405*, 134909.

Portu, J., López-Alfaro, I., Gómez-Alonso, S., López, R., & Garde-Cerdán, T. (2015). Changes on grape phenolic composition induced by grapevine foliar applications of phenylalanine and urea. *Food Chemistry*, *180*, 171-180.

Rahmawati, S., & Bundjali, B. (2012). Kinetics of the oxidation of vitamin C. *Indonesian Journal of Chemistry*, *12*(3), 291-296.

Rai, N., Rai, S. P., & Sarma, B. K. (2021). Prospects for abiotic stress tolerance in crops utilizing phyto- and bio-stimulants. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*, 754853.

Rembiałkowska, E. (2007). Quality of plant products from organic agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *87* (15), 2757–62.

Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Biostimulants in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 40.

Salmani, D., & Rezaei, M. (2023). Amino acids foliar spraying palliate the negative effects of low irrigation on greenhouse sweet Cayenne pepper. *Agrosystems, Geosciences & Environment*, *6*(3), e20398.

Setiadhi, R., & Sufiawati, I. (2017). Fractionation of Red Pomegranate (*Punica granatum* L.) Seed Ethanolic Extracts for Identifying Active Compounds. In *The 7th International Meeting and the 4th Joint Scientific Meeting in Dentistry. Shangri* (pp. 277-280).

Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, *24*(13), 2452.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In Methods in Enzymology*, *299*, 152-178.

Skrt, M., Albreht, A., Vovk, I., Constantin, O. E., Râpeanu, G., Sežun, M., & Poklar Ulrih, N. (2022). Extraction of polyphenols and valorization of fibers from Istrian-grown pomegranate (*Punica granatum* L.). *Foods*, *11*(18), 2740.

Sogvar, O. B., Rabiei, V., Razavi, F., & Gohari, G. (2020). Phenylalanine alleviates postharvest chilling injury of plum fruit by modulating antioxidant system and enhancing the accumulation of phenolic compounds. *Food Technology and Biotechnology*, *58*(4), 433-444.

Tohge, T., Watanabe, M., Hoefgen, R., & Fernie, A. R. (2013). Shikimate and phenylalanine biosynthesis in the green lineage. *Frontiers in Plant Science*, *4*, 62.

Tristantini, D., & Amalia, R. (2019). Quercetin concentration and total flavonoid content of anti-atherosclerotic herbs using aluminum chloride colorimetric assay. *In AIP Conference Proceedings* (Vol. 2193, No. 1). AIP Publishing.

Tzin, V., & Galili, G. (2010). The biosynthetic pathways for shikimate and aromatic amino acids in Arabidopsis thaliana. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*, *8*.

Verma, N., Mohanty, A., & Lal, A. (2010). Pomegranate genetic resources and germplasm conservation: a review. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, *4*(2), 120-125.

Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, *3*(1), 2-20.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

Wassel, A. H. M., Gobara, A. A., Ibrahiem, H. I. M., & Shaaban-Mai, M. (2015). Response of wonderful pomegranate trees to foliar application of amino acids, vitamins B and silicon. *World Rural Observations*, *7*(3), 91-95.

Zhu, J. J., Li, Y. R., & Liao, J. X. (2013). Involvement of anthocyanins in the resistance to chilling-induced oxidative stress in Saccharum officinarum L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, *73*, 427-433.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (2):319-332 (2024)
Research article

Effect of Foliar Spray of Phenylalanine on Improvement of Qualitative and Biochemical Fruit Traits of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivar 'Rabab-e Neyriz'

Esmaeil Sadeghi[1], Mesbah Babalar[*2], Mohammad Ali AskariSarcheshmeh[3], Mohammad Reza Fattahi Moghaddam[4]

Horticulture and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
* Corresponding Author: E-mail: mbabalar@ut.ac.ir

Pomegranate fruit is a rich source of various bioactive compounds such as polyphenols, anthocyanins, tannins, and flavonoids. In recent years, the use of amino acids is considered as an effective and safe method to increase the nutritional quality of agricultural crops. Therefore, this research was conducted with the aim of improving the nutritional value of pomegranate fruits cultivar Rabab-e Neyriz through foliar spray of the phenylalanine amino acid. The study was carried out on 15-year-old Rabab-e Neyriz pomegranate trees in a randomized complete block design with three replications in a commercial orchard at Neyriz city, Fars province, during two years 2019 and 2020. The phenylalanine amino acid treatment was applied as foliar spray at 0, 1, 5, and 10 mM concentrations in the pre-harvest stage (20, 40 and 60 days before harvest). The results showed that the amount of soluble solids, titratable acidity and vitamin C increased with the use of phenylalanine compared to the control. In addition, phenylalanine treatment increased PAL enzyme activity (45.26% compared to the control), which due to the role of this enzyme in the phenylpropanoid pathway, can be responsible for the increase of total phenol (24.97% compared to the control), total flavonoid (44.89% compared to the control) and total anthocyanin (58.57% compared to the control) in the treated fruits with phenylalanine. The findings of this study, showed that foliar spraying with the phenylalanine amino acid in the pre-harvest stage, particularly at concentrations of 5 and 10 mM, can enhance the nutritional quality of pomegranate fruits by improving the qualitative and biochemical parameters. Therefore, phenylalanine as a Biostimulant can act as a suitable strategy to improve the nutritional quality of pomegranate fruit in orchards.

Keywords: Anthocyanin, Amino acid, Flavonoid, Phenylalanine.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]