The University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

Homepage: http:// ijhs.ut.ac.ir/

The Effect of Foliar Spraying of Cinnamic Acid on the Bioactive Compounds of 'Rabab-e Neyriz' Pomegranate Fruit

Esmaeil Sadeghi[1], Mesbah Babalar[2]✉, Mohammad Reza Fattahi Moghaddam[3], Mohammad Ali Askari Sarcheshmeh[4]

1. Department of Horticulture and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: esmaeil_sadeghi@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Horticulture and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: mbabalar@ut.ac.ir
3. Department of Horticulture and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: fattahi@ut.ac.ir
4. Department of Horticulture and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: askari@ut.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 12 November 2023

Received in revised form: 3 February 2024

Accepted: 14 February 2024

Published online: Summer 2024

Keywords:

Cinnamic acid,

Biostimulant,

PAL enzyme,

Bioactive compounds.

ABSTRACT

Pomegranate fruit has an important role in maintaining human health due to its high antioxidant content. Biostimulants are natural and ecological friendly compounds that increase the quality of the product by stimulating plant processes. The aim of this study was to investigate the effect of foliar application of cinnamic acid (0, 1, 5 and 10 mM) at three stages (20, 40 and 60 days before harvest) on improving the nutritional quality of pomegranate. This research was carried out on 15-year-old pomegranate trees of Rabab cultivar in a commercial pomegranate orchard located in Neyriz city of Fars province, in a randomized complete block design with three replications during the years 2019 and 2020. Foliar application of cinnamic acid in the pre-harvest stages had a significant effect on the quality traits and bioactive compounds of pomegranate fruits. The results indicated that cinnamic acid treatment increased the amount of total soluble solids (8.44% compared to the control), titratable acidity (35.33% compared to the control) and vitamin C (48.45% compared to the control). Based on the results obtained from this research, cinnamic acid increased phenylalanine ammonia-lyase enzyme activity, which led to a significant increase in the antioxidant characteristics such as total phenol (22.83% and 26.15% in 2018 and 2019, respectively), total anthocyanin (75.21% and 66.63% in 2018 and 2019, respectively) and total flavonoid (37.66%) compared to the control. Therefore, foliar application of 10 mM cinnamic acid before harvesting is suggested to improve the bioactive compounds and increase the nutritional quality of pomegranate fruit.

Cite this article: Sadeghi, E., Babalar, M., Fattahi Moghaddam, M. R. & Askarim Sarcheshmeh, M. A. (2024). The Effect of Foliar Spraying of Cinnamic Acid on the Bioactive Compounds of 'Rabab-e Neyriz' Pomegranate Fruit. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 55 (2), 257-272. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367762.2130

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367762.2130

Extended Abstract

Introduction

Pomegranate (*Punica granatum* L.), belonging to the Lythraceae family, originated in Iran and likely the surrounding regions. Pomegranate fruit plays an important role in maintaining human health due to its high antioxidant content. Biostimulants are natural and ecological friendly compounds that enhance product quality by stimulating plant physiological processes such as mineral absorption, efficiency of mineral consumption and tolerance to abiotic stresses. The phenylpropanoid pathway is an important pathway in the plant's secondary metabolism and produces a group of phenolic compounds, including lignins, phenolic acids and flavonoids, which have structural and defensive roles. Cinnamic acid is one of the important phenolic acids, extracted from cinnamon bark and is generally used as a food supplement. Cinnamic acid in high concentrations

affects all the main physiological processes of the plant, such as mineral absorption, plant water status, seed germination, membrane peroxidation and oxidative stress, photosynthesis, root growth, carbon flow, respiration, and hormone activity. Therefore, the use of biostimulants as compounds of natural origin and compatible with nature can increase the quality of horticultural products.

Materials and Methods

The aim of this study was to investigate the effect of foliar application of cinnamic acid on improving the nutritional quality of pomegranate fruit. This experiment was carried out in a commercial pomegranate orchard in Lai Hana village, Neyriz city, Fars province, on 15-year-old pomegranate trees of Rabab-e Neyriz cultivar in a randomized complete block design with three replications. Cinnamic acid was applied in four concentrations (0, 1, 5 and 10 mM), and at three stages (20, 40 and 60 days before harvest). This experiment was conducted during the years 2019 and 2020. The fruits were harvested at the time of commercial ripening. Those free from physical damage, pests and diseases were selected and transported to the laboratory to measure the desired traits.

Results and Discussion

Foliar application of cinnamic acid in the pre-harvest stage had a significant effect on the quality traits (total soluble solids, titratable acidity and vitamin C) and bioactive compounds (total phenol, total flavonoid and anthocyanins) of pomegranate fruits in both years of the experiment. The results showed that cinnamic acid treatment increased the amount of total soluble solids (TSS) (8.44% compared to the control), titratable acidity (TA) (35.33% compared to the control), vitamin C (48.45% compared to the control) and antioxidant content. Phenolic compounds such as cinnamic acid affect plant growth by influencing various processes such as photosynthesis, enzyme activity and hormones, which in turn lead to an increase in the accumulation of carbohydrates and organic acids. The increase in the amount of vitamin C in the treated fruits with cinnamic acid can be attributed to salicylic acid by affecting the galactose pathway and the ascorbate-glutathione cycle. Cinnamic acid application in this study increased phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, which led to a significant increase in the amount of total phenol, total flavonoid and total anthocyanin content compared to the control. The PAL enzyme is the key enzyme for regulating and synthesizing phenolic compounds. Therefore, it seems that the application of cinnamic acid as a substance of the phenylpropanoid pathway increased the production of total phenol content, total flavonoid content and anthocyanins. Cinnamic acid can increase the absorption of potassium by affecting the auxin pathway, and potassium can stimulate the production of anthocyanins by affecting the activity of the enzymes involved in the phenylpropanoid pathway. One of the most important biological characteristics of phenolic compounds and anthocyanins is their antioxidant capacity. Cinnamic acid is one of the phenolic acids that, when used externally, improves the antioxidant system and reduces damage caused by environmental stresses.

Conclusion

The application of cinnamic acid improved the quality characteristics and bioactive compounds studied, compared to the control. According to the results, with the increase in cinnamic acid concentration, pomegranate fruits showed higher TSS and TA. Foliar spraying of cinnamic acid had a positive effect on the antioxidant system, such as vitamin C. Additionally, with the increase in PAL enzyme activity, the amount of phenolic compounds, flavonoid content and anthocyanins also increased in the treated fruits. Based on the results of this study, the foliar application of 10 mM cinnamic acid at 20, 40 and 60 days before harvesting resulted in pomegranate fruits with higher quality and more bioactive compounds. Therefore, cinnamic acid as a biostimulant is a promising strategy and can be used in commercial pomegranate orchards.

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۵، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

Homepage: http://ijhs.ut.ac.ir//

اثر محلول‌پاشی سینامیک اسید بر ترکیبات زیست‌فعال میوه انار رقم رباب نی‌ریز

اسماعیل صادقی[۱] | مصباح بابالار[۲] ✉ | محمدرضا فتاحی مقدم[۳] | محمدعلی عسکری سرچشمه[۴]

۱. گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: esmaeil_sadeghi@ut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: mbabalar@ut.ac.ir

۳. گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: fattahi@ut.ac.ir

۳. گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: askari@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵
تاریخ انتشار: تابستان ۱۴۰۳

کلیدواژه‌ها:
سینامیک اسید، محرک زیستی، آنزیم PAL، ترکیبات زیست‌فعال.

چکیده

میوه انار به دلیل دارا بودن مواد آنتی‌اکسیدانی بالا نقش مهمی در حفظ سلامت انسان دارد. محرک‌های زیستی ترکیبات طبیعی و سازگار با طبیعت هستند که با تحریک فرآیندهای گیاهی موجب افزایش کیفیت محصول می‌شوند. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی سینامیک اسید (صفر، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) در سه مرحله (۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز قبل از برداشت) بر بهبود کیفیت تغذیه‌ای انار انجام شد. این تحقیق روی درختان ۱۵ ساله انار رقم رباب در یک باغ تجاری انار واقع در شهرستان نی‌ریز استان فارس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا شد. محلول‌پاشی سینامیک اسید در مرحله قبل از برداشت تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های کیفی و ترکیبات زیست‌فعال میوه‌های انار داشت. نتایج نشان داد که تیمار سینامیک اسید باعث افزایش میزان مواد جامد محلول (۸/۴۴ درصد نسبت به شاهد)، اسیدیته قابل تیتراسیون (۳۵/۳۳ درصد نسبت به شاهد) و ویتامین ث (۴۸/۴۵ درصد نسبت به شاهد) شد. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش سینامیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم PAL شد که منجر به افزایش معنی‌دار ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی مثل فنل کل (۲۲/۸۳ و ۲۶/۱۵ درصد به ترتیب در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹)، آنتوسیانین کل (۷۵/۲۱ و ۶۶/۶۳ درصد به ترتیب در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹) و فلاونوئید کل (۳۷/۶۶ درصد) نسبت به شاهد شد. بنابراین، محلول‌پاشی قبل از برداشت با سینامیک اسید ۱۰ میلی‌مولار جهت بهبود ترکیبات زیست‌فعال و افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه انار پیشنهاد می‌شود.

استناد: صادقی، اسماعیل؛ بابالار، مصباح؛ فتاحی مقدم، محمدرضا و عسکری سرچشمه، محمدعلی (۱۴۰۳). اثر محلول‌پاشی سینامیک اسید بر ترکیبات زیست‌فعال میوه انار رقم رباب نی‌ریز. *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۵ (۲)، ۲۷۲-۲۵۷. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367762.2130

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367762.2130

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* متعلق به تیره Lythraceae می‌باشد (Graham *et al*., 2005). انار بومی ایران و احتمالا مناطق اطراف آن است. اعتقاد بر این است که منشا آن آسیای مرکزی و به ویژه بخش‌هایی از ایران بوده و از آنجا به سایر نقاط جهان انتقال یافته است (Da Silva *et al*., 2013). میوه انار به دلیل غنی بودن از مواد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از بیماری‌های قلبی، سرطان و دیابت جلوگیری کند، به همین علت مصرف و تجارت میوه انار دارای اهمیت زیادی می‌باشد (Kashash *et al*., 2016).

محرک‌های زیستی گیاهی ترکیبات طبیعی هستند که باعث تحریک فرآیندهای فیزیولوژی مانند جذب و کارایی مصرف مواد معدنی، تحمل به تنش‌های غیر زیستی و حفظ کیفیت محصول می‌شوند (Rouphael & Colla, 2018). محرک زیستی به هر ترکیب یا میکروارگانیسمی (صرف نظر از محتوای عناصر معدنی آن) که برای تقویت رشد گیاه، کیفیت محصول و پاسخ به تنش استفاده شود، اطلاق می‌شود (Du Jardin, 2015). با توجه به اینکه سلامت و کیفیت محصولات باغبانی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است و یکی از دغدغه‌های مهم مصرف کنندگان می‌باشد، محرک‌های زیستی به عنوان ترکیبات با منشا طبیعی و سازگار با طبیعت (Drobek *et al*, 2019) می‌توانند سبب افزایش کیفیت محصولات باغی شوند. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سینامیک اسید به عنوان یک محرک زیستی بر بهبود ترکیبات زیست‌فعال و افزایش کیفیت میوه انار رقم رباب نی‌ریز انجام شد.

پیشینه پژوهش

سینامیک اسید (CA) یک اسید آلی است که از پوست دارچین استخراج شده و به طور کلی به عنوان یک مکمل غذایی استفاده می‌شود. این محصول به طور گسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی با داشتن اثرات سودمند بر سلامت انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zhang *et al*., 2015). سینامیک اسید یکی از اسیدهای فنلی مهمی می‌باشد (Gao *et al*., 2018) که در غلظت‌های بالا تمام فرآیندهای مهم فیزیولوژی گیاهی مانند جذب مواد معدنی، وضعیت آب گیاه، جوانه‌زنی بذر، پراکسیداسیون غشا و تنش اکسیداتیو، فتوسنتز، رشد ریشه، تنفس و همچنین فعالیت هورمون‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Araniti *et al*., 2018). ترکیبات فنلی در مقاومت گیاه به سطح وسیعی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی دخالت دارند. مسیر فنیل پروپانوئید یک مسیر مهم در متابولیسم ثانوی گیاه بوده و گروهی از ترکیب‌های فنلی با نقش ساختاری و دفاعی از جمله لیگنین‌ها، اسیدهای فنلیک، استیلبن‌ها و فلاونوئیدها را تولید می‌نمایند (Chen *et al*., 2006). این ترکیبات در شرایط تنش در گیاه تولید می‌شوند، عوامل تنش‌زای محرک تولید فنیل پروپانوئیدها شامل کمبود آهن، نیترات و فسفر خاک، عوامل بیماری‌زا، دمای پایین، زخمی شدن گیاه و اشعه UV می‌باشد (Dixon & Pavia, 1995).

گزارش شده است که استفاده از سینامیک اسید با تأثیر بر سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث کنترل پوسیدگی خاکستری در میوه انگور (Zhang *et al*., 2015) و پوسیدگی آبی در میوه نارنگی (Li *et al*., 2019) شد. گیاهان خیار تیمار شده با سینامیک اسید تحت تنش سرما با افزایش میزان کلروفیل، پرولین، محتوای رطوبت نسبی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر مواد فنلی تحمل بهتری نسبت به سرما نشان دادند (Darabi *et al*., 2022). کاربرد سینامیک اسید در گیاه تنباکو در کشت درون شیشه‌ای تحت شرایط تنش شوری نیز باعث افزایش متابولیت‌های ثانوی مانند مواد فنلی، فلاونوئید و آنتوسیانین شد (Mohagheghian & Ehsan Pour, 2021). استفاده از سینامیک اسید به صورت خارجی در گیاه گندم با افزایش محتوای فنلی باعث کاهش اثر تنش شوری بر گیاه شد (Karadağ & Yücel, 2017).

روش‌شناسی پژوهش

این آزمایش به صورت محلول‌پاشی قبل از برداشت سینامیک اسید طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ و در سه مرحله با فاصله زمانی ۲۰ روز (۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز) قبل از برداشت تجاری میوه‌ها در یکی از باغ‌های تجاری شهرستان نی‌ریز (روستای لای‌حنا، ۵ کیلومتری غرب نی‌ریز) استان فارس و بر روی درختان ۱۵ ساله انار رقم رباب انجام گرفت. غلظت‌های مورد استفاده سینامیک اسید در این آزمایش صفر (شاهد)، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار بود که در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار (هر درخت یک تکرار) اجرا شد. برای افزایش جذب سطحی محلول در زمان محلول‌پاشی از توئین-۲۰ (Tween-20) با نسبت ۰/۱ درصد حجمی استفاده شد. میوه‌ها در زمان رسیدن تجاری (حداکثر اسیدیته قابل تیتراسیون ۲-۱/۵ درصد و حداقل مواد جامد محلول ۱۷-۱۵ درصد) برداشت شده و میوه‌های یکنواخت و عاری از آسیب‌های فیزیکی، آفات و بیماری‌ها جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر انتخاب و به آزمایشگاه گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شدند.

مواد جامد محلول[1]، اسید قابل تیتراسیون[2] و پی‌اچ

اندازه‌گیری مواد جامد محلول توسط رفراکتومتر دستی (آتاگو، ژاپن) و پی‌اچ آب میوه با دستگاه پی‌اچ متر مدل جینوی ۳۳۲۰ انجام شد (AOAC, 2005). اسید قابل تیتراسیون با استفاده از سود (هیدروکسید سدیم) ۰/۱ نرمال و اضافه کردن سود تا رسیدن پی‌اچ محلول به ۸/۳-۸/۱ اندازه‌گیری شد (Niazi *et al*., 2021).

ویتامین ث

محتوای ویتامین ث بذرپوشینه‌های میوه (آریل) انار با استفاده از روش تیتراسیون توسط محلول حاوی ۱۶ گرم یدید پتاسیم و ۱/۲۷ گرم ید در لیتر تعیین شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول نشاسته (یک درصد) به آب میوه اضافه شد و تیتراسیون تا زمانی که رنگ آب میوه به آبی تیره تغییر کند و برای چند ثانیه پایدار شود ادامه پیدا کرد. غلظت ویتامین ث به صورت میلی‌گرم در صد گرم وزن تازه تعیین شد (Rahmawati & Bundjali, 2012).

آنتوسیانین کل

اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین بذرپوشینه‌های میوه انار بر اساس روش Mehrtens *et al*. (2005) انجام شد. ۰/۱ گرم نمونه پودر شده در ۱۰۰۰ میکرولیتر متانول اسیدی حل شد و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس و در تاریکی نگه‌داری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۵۷ و ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و برحسب میلی‌گرم معادل سیانیدین در صد گرم وزن تازه بیان شد.

تهیه عصاره متانولی

۱۰۰ میلی‌گرم از بذرپوشینه‌های میوه انار پودر شده توزین شد و به داخل میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شدند و سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد به میکروتیوب‌ها اضافه شد. در مرحله بعد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و روشناور به میکروتیوب‌های جدید منتقل شد. در نهایت از محلول رویی برای اندازه‌گیری مواد فنلی کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل استفاده شد.

---

1 Total soluble solids
2 Titratable acidity

مواد فنلی کل

برای اندازه‌گیری میزان مواد فنلی کل از روش فولین- سیکالچو (Singleton *et al*., 1999) استفاده شد. ابتدا ۱۴۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی اضافه شد و پس از ۵ دقیقه ۱۴۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به مخلوط واکنش افزوده شد. نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شده و بعد از آن میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه پلیت ریدر مدل اون-بایوتک، آمریکا[1] قرائت گردید. در نهایت مواد فنلی کل بر اساس میزان جذب نمونه و منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در صد گرم وزن تازه بیان شد.

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر اساس روش Wettasinghe & Shahidi (2000) و از طریق خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی و ۲۵۰ میکرولیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود. محلول نهایی به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی قرار داده شد و در نهایت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه پلیت ریدر قرائت گردید و به عنوان درصد بازدارندگی DPPH محاسبه شد.

فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم (Tristantini and Amalia, 2019) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲۵ میکرولیتر عصاره متانولی، ۷۵ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۴۰ میکرولیتر آب مقطر، ۱۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۱۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار بود که پس از تهیه و نگهداری به مدت نیم ساعت در دمای اتاق، میزان جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه پلیت ریدر قرائت شد. در نهایت فلاونوئید کل بر اساس میزان جذب نمونه و منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در صد گرم وزن تازه بیان گردید.

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز

برای استخراج، ۰/۱ گرم از نمونه‌های بذرپوشینه‌های انار با ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷-۷/۵) مخلوط شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. در نهایت، روشناور به منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت PAL مورد استفاده قرار گرفت (Pagariya *et al*. 2012). فعالیت آنزیم PAL مطابق با روش El-shora (2002) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیم، ۲۰۰ میکرولیتر بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۸/۵)، ۱۰ میکرولیتر بتا مرکاپتواتانول ۱ میلی‌مولار و ۴۰ میکرولیتر فنیل‌آلانین ۵۰ میلی‌مولار بود. مخلوط واکنش در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داری شد و سپس با اضافه کردن ۴۰ میکرولیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال واکنش به اتمام رسید. میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه پلیت ریدر قرائت شد و بر حسب میکرومول سینامیک اسید تولید شده در میلی‌گرم پروتئین در ساعت با رسم منحنی استاندارد سینامیک اسید بیان شد. پروتئین کل با استفاده از روش Bradford (1976) انجام شد و میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان پروتئین کل با توجه به منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی (BSA[2]) محاسبه شد.

1EON-BIOTEK, USA
2Bovin Serum Albumin

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و به صورت تجزیه مرکب در زمان و مقایسه میانگین‌ها هم به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. همبستگی بین صفات با استفاده از نرم افزار R 4.3.2 و رسم نمودارها نیز توسط نرم افزار اکسل صورت گرفت.

یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر شاخص‌های اسید قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول و ویتامین ث و صفات بیوشیمیایی در سطح احتمال یک درصد و بر پی‌اچ آب میوه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۱). همچنین اثر سال بر شاخص‌های پی‌اچ، اسید قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم PAL در سطح احتمال یک درصد و صفات ویتامین ث، آنتوسیانین و مواد فنلی کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل سینامیک اسید در سال نیز بر صفات آنتوسیانین و مواد فنلی کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر صفات کیفی بذرپوشینه‌های انار رقم رباب نی‌ریز

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پی‌اچ	اسید قابل تیتراسیون	مواد جامد محلول	ویتامین ث
بلوک	۲	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۴ ns	۰/۸۰ *	۶/۳۲ ns
سال	۱	۱/۰۱ **	۰/۵۵۴ **	۳/۷۶ **	۱۰/۴۵ *
خطا	۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱۲	۰/۰۱۵	۳/۴۸
سینامیک اسید	۳	۰/۰۴۱ *	۰/۲۳۸ **	۲/۱۹ **	۱۰۰/۲۸ **
سینامیک اسید × سال	۳	۰/۰۰۴ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۴۱ ns	۴/۹۴ ns
خطا	۶	۰/۰۰۶	۰/۰۱۲	۰/۰۹۷	۱/۵۹
ضریب تغییرات (درصد)		۲/۴۱	۷/۲۰	۱/۷۴	۵/۴۲

*، ** و ns: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار.

ادامه جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر صفات بیوشیمیایی بذرپوشینه‌های انار رقم رباب نی‌ریز

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		آنتوسیانین	مواد فنلی کل	فلاونوئید کل	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	فعالیت PAL
بلوک	۲	۲۲/۹۰ ns	۳۱۶/۹۶ ns	۰/۵۰۵ ns	۰/۱۳۳ ns	۳۳/۰۱ ns
سال	۱	۴۳۸/۶۱ *	۵۳۸/۲۷ *	۳۹/۶۸ **	۹/۱۷ **	۱۱۴۶۴/۶۹ **
خطا	۲	۵۰/۹۲	۸۰۴/۷۹	۰/۱۲۲	۰/۸۶	۱۶۵/۱۹
سینامیک اسید	۳	۵۴۱۴/۰۲ **	۶۷۷۱/۷۴ **	۱۶/۵۹ **	۱۴/۶۲ **	۲۷۷۰/۴۵ **
سینامیک اسید × سال	۳	۲۵۲/۷۴ *	۳۱۵/۵۶ *	۰/۰۷۲ ns	۰/۸۶ ns	۱۷۴/۳۵ ns
خطا	۶	۳۸/۰۸	۶۲/۸۷	۰/۳۱	۰/۴۴	۹۰/۱۶
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۵۴	۲/۲۴	۴/۵۲	۰/۸۷	۶/۱۸

*، ** و ns: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار.

شاخص‌های کیفی مورد ارزیابی

مواد جامد محلول ، اسید قابل تیتراسیون و پی‌اچ

نتایج مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر شاخص‌های کیفی بذرپوشینه‌های انار در جدول ۲ آورده شده است. تیمار سینامیک اسید باعث کاهش میزان پی‌اچ آب میوه شد. بیشترین و کمترین میزان پی‌اچ آب میوه به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید مشاهده شد. تیمار ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید بیشترین میزان اسیدهای آلی را به خود اختصاص داد. کمترین میزان اسیدهای آلی در تیمار شاهد مشاهده شد که با غلظت ۱ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، بین غلظت ۱ و ۵ میلی‌مولار نیز از نظر میزان اسیدهای آلی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج نشان داد که تیمار سینامیک اسید موجب افزایش مواد جامد محلول شده است، به‌طوری‌که بالاترین میزان مواد جامد محلول در تیمار ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید به دست آمد که نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. کمترین میزان مواد جامد محلول نیز در تیمار شاهد مشاهده شد.

نتایج مقایسه میانگین اثر سال بر شاخص‌های کیفی بذرپوشینه‌های انار نشان داد که میزان اسیدهای آلی و مواد جامد محلول در سال ۱۳۹۹ کاهش داشته است (جدول ۳). بر اساس داده‌های هواشناسی میانگین دمای هوا در ماه‌های شهریور و مهر در سال ۱۳۹۸ (به ترتیب ۲۸/۷ و ۲۴/۴ درجه سلسیوس) بیشتر از سال ۱۳۹۹ (به ترتیب ۲۶/۲ و ۲۱/۵ درجه سلسیوس) بود. افزایش دما می‌تواند با تأثیر بر فرآیند فتوسنتز و سایر فرآیندهای متابولیکی گیاه (تجمع کربوهیدرات‌ها و سنتز اسیدهای آلی) افزایش مواد جامد محلول و اسیدهای آلی را سبب شود.

ویتامین ث

نتایج حاکی از آن بود که تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید باعث افزایش میزان ویتامین ث بذرپوشینه‌های انار شد ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۱ میلی‌مولار و تیمار شاهد مشاهده نشد. بیشترین میزان ویتامین ث در تیمار ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد که ۴۸/۴۵ درصد نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش محتوای ویتامین ث میوه‌ها شد (جدول ۲). همچنین، با توجه به جدول ۳ میزان ویتامین ث در سال ۱۳۹۹ نسبت به ۱۳۹۸ بیشتر بود.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر شاخص‌های کیفی بذرپوشینه‌های انار رقم رباب نی‌ریز

تیمار	صفات کیفی			
	پی‌اچ	اسید قابل تیتراسیون (درصد)	مواد جامد محلول (بریکس)	ویتامین ث (میلی‌گرم در صد گرم وزن تازه)
شاهد	۳/۵۲ ± ۰/۰۹ a	۱/۳۳ ± ۰/۰۶ c	۱۷/۱۶ ± ۰/۳۶ c	۱۹/۳۶ ± ۰/۵۸ c
۱ میلی‌مولار	۳/۴۲ ± ۰/۰۸ ab	۱/۴۷ ± ۰/۰۶ bc	۱۷/۷۵ ± ۰/۱۷ b	۲۱/۱۲ ± ۰/۴۱ c
۵ میلی‌مولار	۳/۳۹ ± ۰/۰۷ b	۱/۵۶ ± ۰/۰۶ b	۱۸/۰۵ ± ۰/۱۷ b	۲۳/۷۶ ± ۰/۹۰ b
۱۰ میلی‌مولار	۳/۳۲ ± ۰/۰۸ b	۱/۸۰ ± ۰/۰۸ a	۱۸/۶۱ ± ۰/۱۱ a	۲۸/۷۴ ± ۱/۰۷ a

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می‌باشد.

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین اثر سال بر شاخص‌های کیفی بذرپوشینه‌های انار رقم رباب نی‌ریز

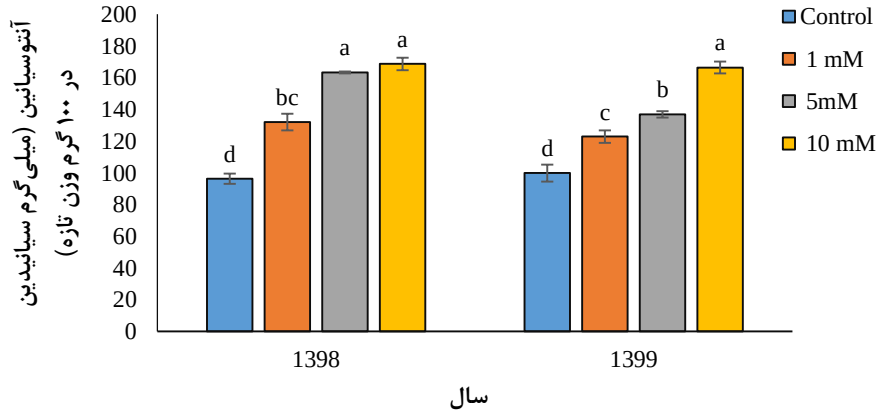
تیمار	صفات کیفی			
	پی‌اچ	اسید قابل تیتراسیون (درصد)	مواد جامد محلول (بریکس)	ویتامین ث (میلی‌گرم در صد گرم وزن تازه)
سال ۱۳۹۸	۳/۲۱ ± ۰/۰۱ b	۱/۶۹ ± ۰/۰۵ a	۱۸/۲۹ ± ۰/۱۱ a	۲۲/۵۸ ± ۱/۰۱ b
سال ۱۳۹۹	۳/۶۲ ± ۰/۰۳ a	۱/۳۹ ± ۰/۰۵ b	۱۷/۵۰ ± ۰/۲۴ b	۲۳/۹۰ ± ۱/۲۷ a

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می‌باشد.

شاخص‌های بیوشیمیایی مورد ارزیابی

آنتوسیانین کل

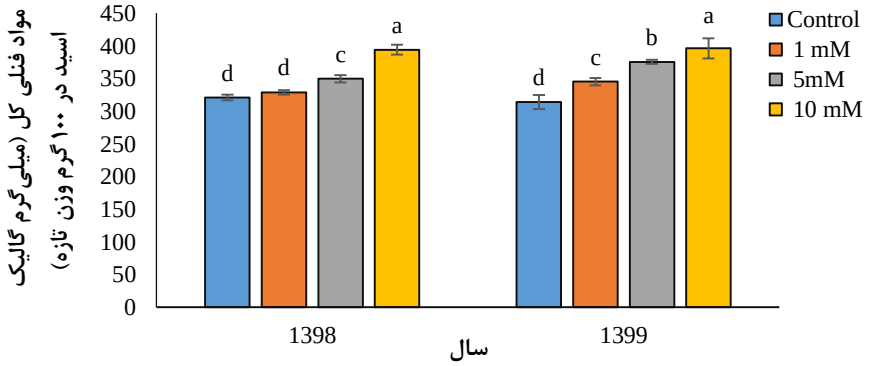
با توجه به شکل ۱ همه غلظت‌های سینامیک اسید باعث افزایش معنی‌دار میزان آنتوسیانین **بذرپوشینه**‌های انار نسبت به تیمار شاهد شد. بالاترین میزان آنتوسیانین در هر دو سال در تیمار ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید مشاهده شد که البته در سال اول نسبت به تیمار ۵ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری نداشت. تیمار ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید نسبت به تیمار شاهد افزایش ۷۵/۲۱ و ۶۶/۶۳ درصدی را به ترتیب در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ نشان داد.



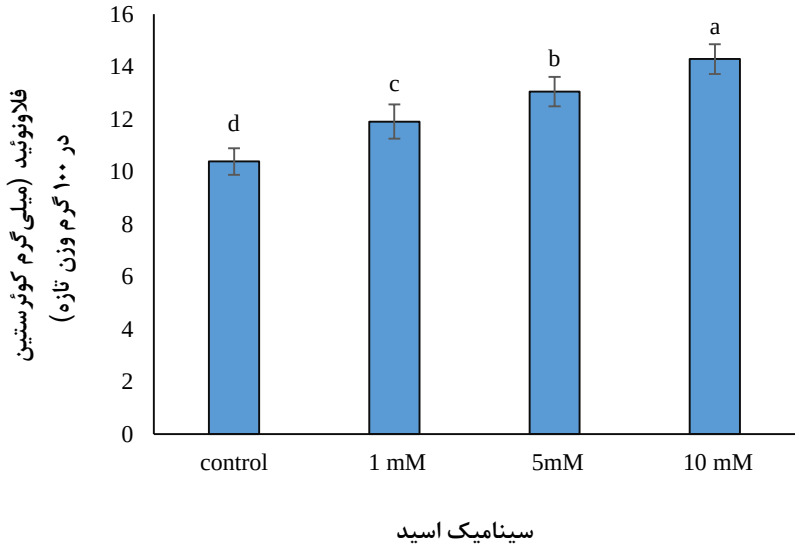
شکل ۱. اثر متقابل غلظت‌های مختلف سینامیک اسید و سال بر میزان آنتوسیانین کل بذرپوشینه‌های میوه انار رقم رباب نی‌ریز. (منبع: یافته‌های تحقیق)

ترکیب‌های فنلی (مواد فنلی کل و فلاونوئید کل)

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش میزان مواد فنلی کل **بذرپوشینه**‌های انار نیز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید قرار گرفت (شکل ۲). در سال اول بالاترین میزان مواد فنلی کل در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید مشاهده شد (افزایش ۲۲/۸۳ درصدی نسبت به شاهد). در سال دوم نیز ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید بیشترین میزان مواد فنلی کل را به خود اختصاص داد (افزایش ۲۶/۱۵ درصدی نسبت به شاهد) ولی تفاوت معنی‌داری با غلظت ۵ میلی‌مولار نداشت. کمترین میزان مواد فنلی کل نیز در هر دو سال مربوط به تیمار شاهد بود که اختلاف معنی‌داری با غلظت ۱ میلی‌مولار سینامیک اسید نداشت. اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر شاخص فلاونوئید کل نیز در شکل ۳ نشان داده شده است. بالاترین میزان فلاونوئید کل در غلظت ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید مشاهده شد که افزایش ۳۷/۶۶ درصدی نسبت به تیمار شاهد داشته است. کمترین میزان فلاونوئید کل نیز مربوط به تیمار شاهد بود.



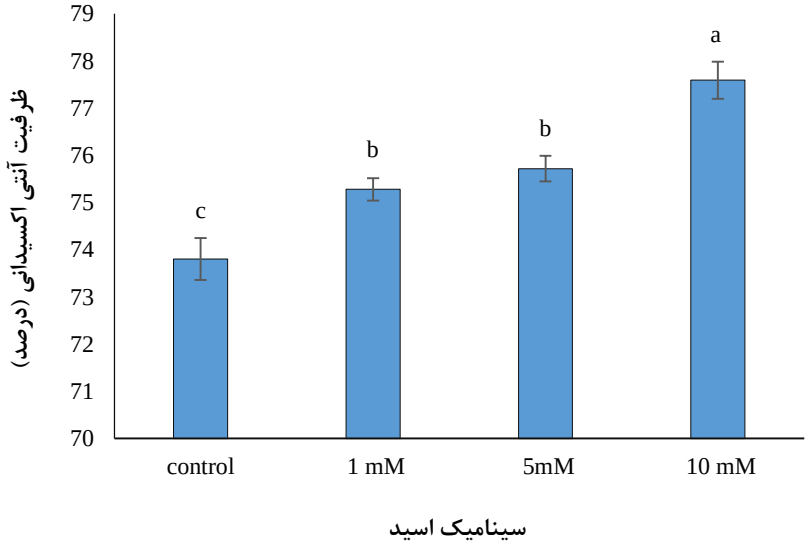
شکل ۲. اثر متقابل غلظت‌های مختلف سینامیک اسید و سال بر میزان مواد فنلی کل بذرپوشینه‌های میوه انار رقم رباب نی‌ریز. (منبع: یافته‌های تحقیق)



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر میزان فلاونوئید کل بذرپوشینه‌های میوه انار رقم رباب نی‌ریز. (منبع: یافته‌های تحقیق)

ظرفیت آنتی اکسیدانی

با توجه به شکل ۴ بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین بین غلظت ۱ و ۵ میلی‌مولار سینامیک اسید تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.



شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بذرپوشینه‌های میوه انار رقم رباب نی‌ریز. (منبع: یافته‌های تحقیق)

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز

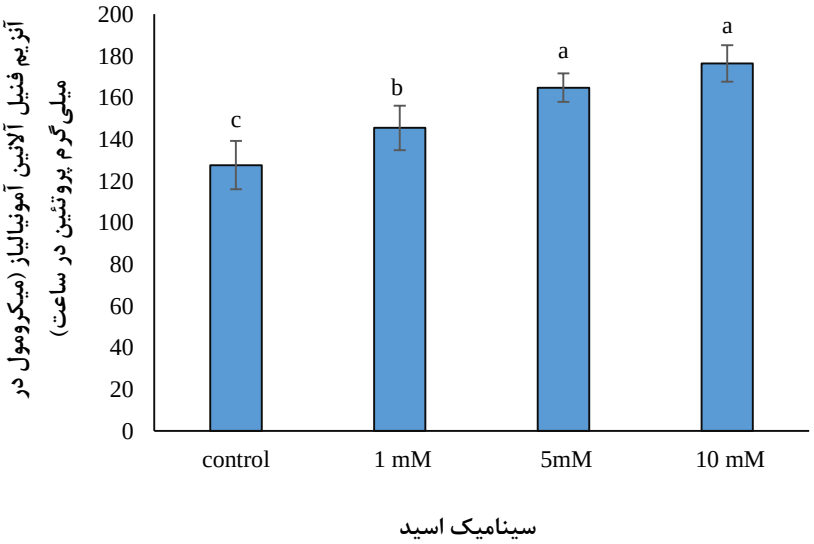
میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) نیز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید قرار گرفت (شکل ۵). غلظت ۱۰ میلی‌مولار سینامیک اسید بالاترین میزان فعالیت آنزیم PAL را نشان داد ولی با غلظت ۵ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم PAL نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. غلظت ۱۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد افزایش ۳۸/۲۴ درصدی داشت (شکل ۵). همچنین بر اساس جدول ۴ میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در سال

۱۳۹۹ نسبت به سال ۱۳۹۸ افزایش معنی‌داری را نشان داد که منجر به سنتز و تجمع ترکیب‌های فنلی (مواد فنلی و فلاونوئید) بیشتری در سال ۱۳۹۹ نسبت به سال ۱۳۹۸ شد.

جدول ۴. نتایج مقایسه میانگین اثر سال بر شاخص‌های بیوشیمیایی بذرپوشینه‌های انار رقم رباب نی‌ریز

تیمار	صفات بیوشیمیایی				
	آنتوسیانین (میلی‌گرم سیانیدین در ۱۰۰ گرم وزن تازه)	مواد فنلی کل (میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم وزن تازه)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تازه)	ظرفیت آنتی-اکسیدانی (درصد)	فعالیت PAL (میکرومول در میلی‌گرم پروتئین در ساعت)
سال ۱۳۹۸	۱۴۰/۰۵ ± ۸/۵۴ a	۳۴۸/۱۶ ± ۸/۶۵ b	۱۱/۱۱ ± ۰/۴۱ b	۷۴/۹۸ ± ۰/۴۳ b	۱۳۱/۶۵ ± ۷/۰۱ b
سال ۱۳۹۹	۱۳۱/۵۰ ± ۷/۲۳ b	۳۵۷/۶۳ ± ۱۰/۲۷ a	۱۳/۶۹ ± ۰/۴۷ a	۷۶/۲۱ ± ۰/۴۲ a	۱۷۵/۳۷ ± ۴/۷۱ a

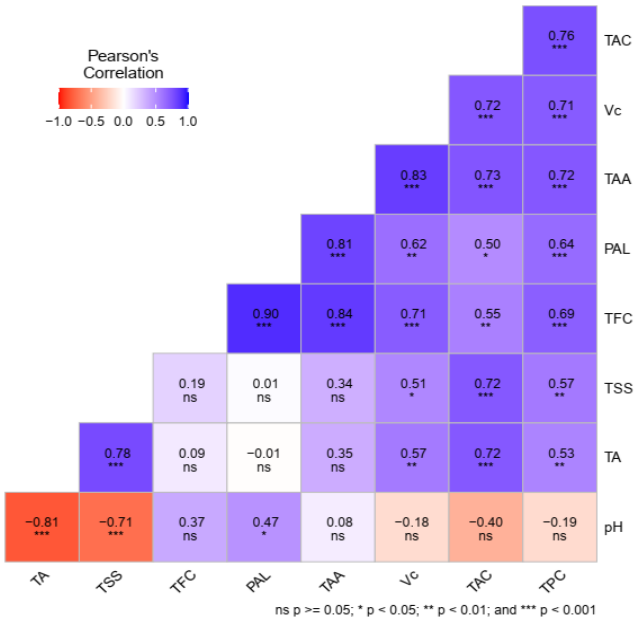
حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می‌باشد.



شکل ۵. اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم PAL بذرپوشینه‌های میوه انار رقم رباب نی‌ریز. (منبع: یافته‌های تحقیق)

همبستگی بین شاخص‌های ارزیابی شده

همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود بر اساس نتایج حاصل از همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده بر اساس روش پیرسون بین صفات آنتی‌اکسیدانی (مواد فنلی کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، ویتامین ث و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل) و فعالیت آنزیم PAL همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد، در صورتی که همبستگی منفی و معنی‌داری بین صفات پی‌اچ و اسید قابل تیتراسیون (TA) و همچنین بین پی‌اچ و مواد جامد محلول (TSS)، مشاهده شد. بین صفات آنتی‌اکسیدانی و پی‌اچ نیز همبستگی وجود نداشت.



شکل۶. ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده انار رقم رباب نی‌ریز به روش پیرسون. TAC: آنتوسیانین کل، Vc: ویتامین ث، TAA: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، PAL: آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، TFC: فلاونوئید کل، TSS: مواد جامد محلول، TA: اسید قابل تیتراسیون، TPC: مواد فنلی کل. (منبع: یافته‌های تحقیق)

بحث

محرک‌های زیستی به عنوان ترکیبات با منشا طبیعی و سازگار با طبیعت (Drobek *et al*, 2019) می‌توانند سبب افزایش کیفیت محصولات باغی شوند. سینامیک اسید به عنوان محرک زیستی یکی از مهم‌ترین اسیدهای فنلی می‌باشد (Gao *et al*., 2018). ترکیب‌های فنلی با تأثیر بر فرآیندهای مختلف مانند فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها میزان رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند که در نتیجه باعث افزایش تجمع کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی و پروتئین‌ها می‌شوند (Hayat & Ahmad, 2007). کاربرد سینامیک اسید به صورت خارجی با اثرگذاری بر تولید هورمون اکسین می‌تواند جذب پتاسیم توسط گیاه را افزایش دهد (Christian *et al*., 2006). از طرف دیگر پتاسیم در فعال کردن آنزیم‌های متابولیسم کربوهیدرات‌ها نقش اساسی دارد و در نتیجه باعث افزایش میزان مواد جامد محلول می‌شود (Caruso *et al*., 2002). بنابراین، به نظر می‌رسد که افزایش میزان مواد جامد محلول و اسیدهای آلی در میوه‌های انار تیمار شده با سینامیک اسید در همین راستا باشد. ویتامین ث نقش کلیدی را در حفاظت از گیاهان در شرایط تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند و گیاهان برای بهبود رشد و همچنین تحمل به تنش‌های مختلف محتوای ویتامین ث را افزایش می‌دهند. افزایش میزان ویتامین ث در میوه‌های تیمار شده می‌تواند به واسطه سالیسیلیک اسید و با اثرگذاری روی مسیر گالاکتوز و چرخه آسکوربات–گلوتاتیون صورت گرفته باشد (Araniti *et al*., 2018). استفاده از ۴– متوکسی سینامیک اسید (از مشتقات سینامیک اسید) به صورت تیمار غوطه‌وری با افزایش ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی (ویتامین ث و گلوتاتیون) باعث حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی قارچ خوراکی شد (Hu *et al*., 2015).

بر اساس مطالعات گزارش شده کاربرد خارجی سینامیک اسید، باعث افزایش بیان آنزیم سینامیک اسید–۴– هیدروکسیلاز (کاتالیز کننده سینامیک اسید به p–کوماریک اسید) می‌شود، با افزایش بیان آنزیم سینامیک اسید–۴– هیدروکسیلاز (C4H) بیان آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) نیز افزایش می‌یابد که بیانگر وجود یک ارتباط خطی و مثبت بین بیان ژن آنزیم‌های C4H و PAL می‌باشد. سطح فعالیت PAL تقریبا متناسب با سطح فعالیت C4H در گیاهان تنظیم می‌شود به این صورت که

کاهش بیان آنزیم C4H باعث کاهش فعالیت آنزیم PAL می‌شود، در حالی که کاهش فعالیت آنزیم PAL منجر به کاهش قابل توجهی در فعالیت آنزیم C4H نمی‌شود (Blount *et al*., 2000). افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم PAL توسط سینامیک اسید به طور کلی با یافته‌های قبلی مطابقت دارد که نشان می‌دهد فعالیت PAL به طور قابل توجهی توسط اسیدهای فرولیک و p–کوماریک افزایش یافته است (Politycka, 1996).

سینامیک اسید با تأثیر بر مسیر سیگنالینگ اکسین می‌تواند باعث افزایش میزان اکسین در گیاه شود (Kurepa *et al*., 2018)، که در نتیجه انتقال H^+/K^+ به داخل سلول بیشتر شده و در نهایت باعث افزایش میزان پتاسیم گیاه می‌شود (Christian *et al*., 2006). با توجه به اینکه پتاسیم به عنوان کوفاکتور در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز نقش داشته و باعث فعال شدن آنزیم‌های UDP–گالاکتوز و فلاونوئید–۳–او–گلیکوزیل ترانسفراز می‌شود (Nava *et al*., 2007) می‌تواند باعث افزایش میزان آنتوسیانین‌ها شود. همچنین، گزارش شده است که افزایش آنتوسیانین‌ها با فعالیت آنزیم PAL به عنوان آنزیم بیوسنتزی آنتوسیانین‌ها در ارتباط است (Miguel *et al*., 2004). از سوی دیگر قندها اصلی‌ترین ترکیبات سازنده آنتوسیانین‌ها هستند و با توجه به نقشی که پتاسیم در تولید کربوهیدرات‌ها و انتقال قندها دارد از این طریق نیز می‌تواند تحریک تولید آنتوسیانین‌ها را سبب شود (Hiratsuka *et al*., 2001). بنابرین سینامیک اسید می‌تواند با تأثیر بر مسیر اکسین باعث افزایش جذب پتاسیم شده و پتاسیم نیز با اثرگذاری بر فعالیت آنزیم‌های مسیر فنیل پروپانوئید (PAL) و همچنین انتقال قندها، تحریک تولید آنتوسیانین‌ها را موجب شود. گزارش شده است که کاربرد خارجی سینامیک اسید سنتز ترکیبات فلاونوئیدی را افزایش می‌دهد. سینامیک اسید اثر تنظیم‌کنندگی روی آنزیم چالکون ایزومراز دارد و از این طریق می‌تواند باعث افزایش ترکیبات فلاونوئیدی شود (Shourie, 2016). مسیر فنیل پروپانوئید مهم‌ترین مسیر تولید متابولیت‌های ثانوی می‌باشد که منجر به تولید مواد فنلی می‌شود (Dixon & Pavia, 1995). آنزیم PAL آنزیم کلیدی تنظیم کننده سنتز ترکیبات فنلی است که فعالیت آن برای سنتز ترکیبات فنلی ضروری بوده و با میزان این ترکیبات مرتبط است (Lemoine *et al*.,2007). بنابراین به نظر می‌رسد که کاربرد سینامیک اسید به صورت خارجی به عنوان ماده اولیه مسیر فنیل پروپانوئید میزان تولید ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها را افزایش داده است. گزارش شده است که سینامیک اسید در گیاهان با ایجاد شوک اکسیداتیو باعث فعال شدن پاسخ‌های دفاعی گیاهان نسبت به شرایط تنش‌زا شده که در نتیجه آن تحمل گیاهان نسبت به شرایط تنش بهبود پیدا می‌کند (Singh *et al*., 2011).

آنتی‌اکسیدان‌ها در همه میوه‌ها یافت می‌شوند و با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد از برخی از آسیب های ناشی از ROS ها جلوگیری می‌کنند (Nasr *et al*., 2021). فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها که در مسیر فنیل پروپانوئید سنتز می‌شوند مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی هستند (Dixon & Pavia, 1995). یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های بیولوژیکی ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد (Wang *et al*., 1996). سینامیک اسید یکی از اسیدهای فنلی است که در صورت استفاده به صورت خارجی باعث بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی شده و آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی را کاهش می‌دهد (Lin *et al*., 2020). افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در میوه‌های انار تیمار شده را می‌توان به افزایش فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت داد (Babalar *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از سینامیک اسید به عنوان یک محرک زیستی در مرحله قبل از برداشت می‌تواند بر صفات کیفی و آنتی‌اکسیدانی انار تأثیر مثبتی داشته باشد و باعث افزایش میزان اسیدهای آلی و مواد جامد محلول به عنوان شاخص‌های طعم شود. همچنین شاخص‌های مربوط به سیستم آنتی‌اکسیدانی نیز مثل آنتوسیانین کل، مواد فنلی کل، فلاونوئید کل و ویتامین ث در اثر کاربرد سینامیک اسید افزایش پیدا کرد. بنابراین استفاده از سینامیک اسید به عنوان یک ترکیب طبیعی و سازگار با طبیعت می‌تواند باعث افزایش کیفیت تغذیه‌ای میوه انار شود. محلول‌پاشی سینامیک اسید با غلظت

۱۰ میلی‌مولار در مرحله قبل از برداشت توانست اثر بهتری بر شاخص‌های ارزیابی شده داشته باشد. بنابراین، می‌تواند در باغات انار مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

دارابی، زهرا؛ قنبری، فردین و عرفانی مقدم، جواد. (۱۴۰۱). اثر سینامیک اسید بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی نشاء خیار تحت تنش سرما. *مجله علوم باغبانی*، ۳۶ (۳)، ۶۱۹-۶۳۰.

محققیان، الهام؛ و احسان‌پور، علی‌اکبر. (۱۴۰۰). اثر سینامیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و تیروزین آمونیالیاز(TAL) و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه تنباکو *Nicotiana rustica* L. تحت شرایط تنش شوری کشت در شیشه. *مجله سلول و بافت*، ۱۲ (۲)، ۸۸-۱۰۲.

REFERENCES

AOAC (2005). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. U.S.A.

Araniti, F., Lupini, A., Mauceri, A., Zumbo, A., Sunseri, F., & Abenavoli, M. R. (2018). The allelochemical trans-cinnamic acid stimulates salicylic acid production and galactose pathway in maize leaves: A potential mechanism of stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 128, 32-40.

Babalar, M., Pirzad, F., Sarcheshmeh, M. A. 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.

Blount, J. W., Korth, K. L., Masoud, S. A., Rasmussen, S., Lamb, C., & Dixon, R. A. (2000). Altering expression of cinnamic acid 4-hydroxylase in transgenic plants provides evidence for a feedback loop at the entry point into the phenylpropanoid pathway. *Plant Physiology*, 122(1), 107-116.

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.

Caruso, G., Villari, G., & Impembo, M. (2002). Effect of nutritive solution K: N and shading on the" fruit" quality of NFT-grown strawberry. In Acta Horticulturae VI International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climate: Product and Process Innovation 614 (pp. 727-734).

Chen, J. Y., Wen, P. F., Kong, W. F., Pan, Q. H., Zhan, J. C., Li, J. M., ... & Huang, W. D. (2006). Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 40(1), 64-72.

Christian, M., Steffens, B., Schenck, D., Burmester, S., Böttger, M., & Lüthen, H. (2006). How does auxin enhance cell elongation? Roles of auxin-binding proteins and potassium channels in growth control. *Plant Biology*, 8(3), 346-352.

Darabi, Z., Ghanbari, F., & Erfani moghadam, J. (2022). Effect of Cinnamic Acid on Morphophysiological Characteristics of Cucumber Seedling under Chilling Stress. *Journal of Horticultural Science*, 36(3), 619-630. (In Persian)

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.

Dixon, R. A., & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7(7), 1085-1097.

Drobek, M., Frąc, M., & Cybulska, J. (2019). Plant biostimulants: Importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress—A review. *Agronomy*, 9(6), 335.

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14.

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

Gao, Y., Liu, W., Wang, X., Yang, L., Han, S., Chen, S., & Qiang, S. (2018). Comparative phytotoxicity of usnic acid, salicylic acid, cinnamic acid and benzoic acid on photosynthetic apparatus of Chlamydomonas reinhardtii. *Plant Physiology and Biochemistry*, 128, 1-12.

Graham, S. A., Hall, J., Sytsma, K., & Shi, S. H. (2005). Phylogenetic analysis of the Lythraceae based on four gene regions and morphology. *International Journal of Plant Sciences*, 166(6), 995-1017.

Hayat, S., Ali, B., & Ahmad, A. (2007). Salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In *Salicylic acid: A plant hormone*, (pp. 1-14). Springer, Dordrecht.

Hiratsuka, S., Onodera, H., Kawai, Y., Kubo, T., Itoh, H., & Wada, R. (2001). ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured in vitro. *Scientia Horticulturae*, 90(1-2), 121-130.

Hu, Y. H., Chen, C. M., Xu, L., Cui, Y., Yu, X. Y., Gao, H. J., ... & Chen, Q. X. (2015). Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (Agaricus bisporus). *Postharvest Biology and Technology*, 104, 33-41.

Karadağ, B., & Yücel, N. C. (2017). Cinnamic acid and fish flour affect wheat phenolic acids and flavonoid compounds, lipid peroxidation, proline levels under salt stress. *Acta Biologica Hungarica*, 68(4), 388-397.

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.

Kurepa, J., Shull, T. E., Karunadasa, S. S., & Smalle, J. A. (2018). Modulation of auxin and cytokinin responses by early steps of the phenylpropanoid pathway. *BMC Plant Biology*, 18, 1-15.

Lemoine, M. L., Civello, P. M., Martínez, G. A., & Chaves, A. R. (2007). Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (Brassica oleracea var. Italica). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6), 1132-1139.

Li, J., Li, H., Ji, S., Chen, T., Tian, S., & Qin, G. (2019). Enhancement of biocontrol efficacy of Cryptococcus laurentii by cinnamic acid against Penicillium italicum in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 149, 42-49.

Lin, C. Y., Chung, H. H., Kuo, C. T., & Yiu, J. C. (2020). Exogenous cinnamic acid alleviates salinity-induced stress in sweet pepper (Capsicum annuum L.) seedlings. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 48(3), 164-182.

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.

Miguel, G., Fontes, C., Antunes, D., Neves, A., & Martins, D. (2004). Anthocyanin concentration of "Assaria" pomegranate fruits during different cold storage conditions. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 338.

Mohagheghian, E., & Ehsan Pour, A. (2021). Effect of Cinnamic acid on the activity of phenylalanine ammonialyase (PAL) and tyrosine ammonialyase (TAL) enzymes and some physiological characteristics of tobacco plant (Nicotiana rustica L.) under salinity stress in vitro calture. *Cell and Tissue Journal*, 12(2), 88-102. (In Persian).

Nasr, F., Pateiro, M., Rabiei, V., Razavi, F., Formaneck, S., Gohari, G., & Lorenzo, J. M. (2021). Chitosan-phenylalanine nanoparticles (Cs-Phe Nps) extend the postharvest life of persimmon (Diospyros kaki) fruits under chilling stress. *Coatings*, 11(7), 819.

Nava, G., Dechen, A. R., & Nachtigall, G. R. (2007). Nitrogen and potassium fertilization affect apple fruit quality in southern Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39(1-2), 96-107.

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.

Pagariya, M. C., Devarumath, R. M., & Kawar, P. G. (2012). Biochemical characterization and

identification of differentially expressed candidate genes in salt stressed sugarcane. *Plant Science*, 184, 1-13.

Politycka, B. (1996). Peroxidase activity and lipid peroxidation in roots of cucumber seedlings influenced by derivatives of cinnamic and benzoic acids. *Acta Physiologiae Plantarum*, 18(4), 365-370.

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

Rouphael, Y., & Colla, G. (2018). Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1655.

Shourie, A. (2016). Cinnamic acid Supplementation Regulates the Production of Licochalcone A Liquirtigenin and Licoisoflavone B in callus cultures of Glycyrrhiza glabra. *International Journal of Phytomedicine*, 8(3), 343-345.

Singh, P. K., Chaturvedi, V. K., & Singh, H. B. (2011). Cross talk signalling: an emerging defense strategy in plants. *Current Science*, 100(3), 288-289.

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. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

Tristantini, D., & Amalia, R. (2019). Quercetin concentration and total flavonoid content of anti-atherosclerotic herbs using aluminum chloride colorimetric assay. *AIP Conference Proceedings*, 2193(1). AIP Publishing.

Wang, H., Cao, G., & Prior, R. L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 701-705.

Wettasinghe, M., & Shahidi, F. (2000). Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chemistry*, 70, 17–26.

Zhang, Z., Qin, G., Li, B., & Tian, S. (2015). Effect of cinnamic acid for controlling gray mold on table grape and its possible mechanisms of action. *Current Microbiology*, 71(3), 396-402.