The Effect of Amino Acid L-phenylalanine, Selenium and Nitroxin Biological Fertilizer on the Physicochemical Properties of Goji berries

Saeid Fatahi siahkamary [1], Vali Rabiei[2], Mahmoud Shoor[3], Silvana Nicola[4]

1. Phd student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. Email: saeed.fatahi@znu.ac.ir
2. Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. ORCID: 0000-0003-4795-8083, Email: rabiei@znu.ac.ir
3. Associated professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, ORCID: 0000-0002-7817-9464, Email: shoor@um.ac.ir

4- Professor, Department of Agricultural, Faculty of Forest and Food Sciences, University of Torino, Italy ORCID: 0000-0001-7959-7118 ‹: Email: silvana.nicola@unito.it

Introduction

The *Lycium* genus of the Solanaceae family has excellent nutritional and medicinal value. Two species of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. It is often called wolfberry or goji berry. The use of amino acids for horticultural crops is common worldwide, and many chemicals used as biostimulants are mixtures of amino acids. The effect of amino acids on plants seems to depend on the type of amino acid supplied and the type of plant. Selenium (Se) is an important component of selenoproteins and seleno-amino acids. Therefore, it has played many roles in the growth and function of living cells and important biological functions in animals and humans. Also Se is very similar in properties to sulfur and can act as S in biochemical systems. Biological fertilizers are fertile materials that contain one or more beneficial soil organisms within a suitable carrier. Overall, these fertilizers contain different types of microorganisms that can convert nutrients from unavailable form to available form through a biological process. The application of supernitroxin fertilizer by stimulating the synthesis of plant hormones increased the growth indicators of sesame varieties.

Materials and Methods

This experiment was conducted in the Research farm University of Mashhad, during 2021 and 2022 years. In early May, goji berry seedlings were planted in the field to check the effect of the L-phenylalanine (Phe), sodium selenate (Se), and Nitroxine were applied before harvesting and foliar spraying on the Goji berry plant during the growth stages. To conduct experiment, two-year-old seedlings of Goji berry cultivar GB1 were obtained from Mashhad Seedling Company located in Razavi Khorasan province, and after the seedlings were transferred to ground and established, initial foliar spraying was done. In order to evaluate the effect of L-phenylalanine, selenium, and nitroxine treatments, experiment were conducted as a randomized complete block design in 5 replications which factors include the amino acid L-phenylalanine (Phe: 0.5, 1, and 1.5 mM), sodium selenate (Se: 0.25, 0.5, and 1 $mg.L^{-1}$) and nitroxin biological fertilizer (170, 330, and 500 µl/L) at three levels and distilled water was applied as a control. One pot was considered for each repetition and a total of 10 pots were considered along with the control. Plants were sprayed every 15 days after establishment. After the three stages of foliar spraying, the content of phenol and flavonoid content and antioxidant activity, PAL and anthocyanin were measured.

Results and Discussion

The results showed that the treatments used in this experiment had a significant effect on the physiological and chemical characteristics of the goji berry plant. The results showed that the highest amount of titratable acidity (0.896%) was obtained in samples treated with nitroxine at a concentration of 333 microliters. The highest amount (18.56 mg/g) of this index was obtained in fruits treated with phenylalanine at a concentration of 1.5 mM. The highest amount of this index was obtained in the fruits treated with phenylalanine at a concentration of 1 mM, which was 61.98% higher than the amount of flavonoid recorded in goji berries under control conditions. Also, the results showed that despite the decrease in the activity of PAL enzyme during the increase of selenium concentration, the activity of this enzyme was 13.66% higher than the activity of PAL enzyme under the condition of using selenium at a concentration of 1 mg/liter. The increase in the functioning of the antioxidant system is determined by the total antioxidant, which is controlled by the content of low-molecular components and the activity of antioxidant enzymes. Compounds such as ascorbic acid, glutathione, tocopherol, carotenoids, anthocyanins, endogenous metal chelators, TPC, TFC and alkaloids are low molecular weight antioxidants. Also nitroxin, supernitroplus, phosphate and mycorrhizal fertilizers. Nitroxin binds N in the atmosphere and balances the absorption of nutrient element in the plant. Nitroxin is responsible for the secretion of amino acids, antibiotics, hydrogen cyanide and siderophores, which promote the growth and development of plant roots and shoots, protect the roots from pathogens, thereby increasing yield. A sufficient supply of phenylalanine through the use of exogenous Phe or endogenous Phe provided by the shikimic acid pathway may be required to stimulate the activity of the phenylpropanoid pathway, as shown by the high PAL activity responsible for the accumulation of phenols, flavocyanins and anthocyanins. This leads to the need for ROS accumulation. Anthocyanins are groups of flavonoids found in vacuoles epidermal and mesophyll cells of plants. Anthocyanins can protect chlorophyll from light oxidation and, compared to other components, is a better indicator of plant oxidative stress caused by external factors that accumulate in plants.

Conclusions

The present study was conducted with the aim of studying the effect of L-phenylalanine, selenium and nitroxin biofertilizer on improving the vegetative growth, yield and secondary metabolites of gojiberry during two crop years. To conduct the experiment, two-year-old seedlings of Goji berry variety GB1 were obtained from Mashhad Seedling Company located in Razavi Khorasan province. The results showed that the use of L-phenylalanine amino acid, selenium and nitroxin biofertilizer had significant effects on the investigated traits during the experiment. So that the use of nitroxin at a concentration of 166 microliters increased the amount of soluble solids and at a concentration of 333 the titratable acidity compared to the control samples. PAL enzyme was obtained in the conditions of using phenylalanine at a concentration of 1.5 mM, which was 52.17% more than the level of PAL enzyme activity recorded in control conditions.

Keywords: Goji berry, Selenium, Total soluble solids, Tiratable acidity,

تاثیر تیمار اسید آمینه L- فنیل آلانین، سلنیوم و کود بیولوژیک نیتروکسین بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی میوه‌های گوجی بری (*Lycium barbarum cv.* GB1)

سعید فتاحی سیاه کمری [۱]، ولی ربیعی[۲]، محمود شور[۳]، سیلوانا نیکولا[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
Email: saeid.fatahi1@gmail.com ORCID:
۲- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
ORCID: 0000-0003-4795-8083, Email: rabiei@znu.ac.ir
۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
ORCID: 0000-0002-7817-9464, Email: shoor@um.ac.ir
۴- استاد، گروه کشاورزی، دانشکده جنگل و صنایع غذایی، دانشگاه تورینو، تورینو، ایتالیا
ORCID: 0000-0001-7959-7118, Email: silvana.nicola@unito.it

چکیده

گوجی‌بری میتواند منبع آنتی اکسیدان‌های طبیعی برای تولید غذای انسان باشد. به منظور بررسی اثر تیمارهای ال- فنیل آلانین، سلنیوم و نیتروکسین، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد که فاکتورهای آن شامل اسید آمینه L- فنیل آلانین (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. سدیم سلنات (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی-گرم در لیتر) و کود بیولوژیک نیتروکسین (۱۶۶، ۳۳۳ و ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر) در سه سطح و آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد.. در پایان آزمایش صفاتی مانند مواد جامد محلول، اسید قابل تیتراسیون، محتوای فنول کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه گوجی بری داشتند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اسید قابل تیتراسیون (۰/۸۹۶ درصد)، در نمونه‌های تیمار شده با نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر به دست آمد. بیشترین میزان (۱۸/۵۶ میلی‌گرم در گرم) این شاخص در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به دست آمد. بیشترین میزان این شاخص در میوه‌های تحت تیمار فنیل‌آلانین در غلظت ۱میلی‌مولار به دست آمد که این شاخص ۶۱/۹۸ درصد بیشتر از میزان فلاونوئید ثبت شده در میوه‌های گوجی‌بری در شرایط کنترل به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که با وجود کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز طی افزایش غلظت سلنیوم، فعالیت این آنزیم طی شرایط استفاده از سلنیوم در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر ۱۳/۶۶ درصد بیشتر از فعالیت آنزیم پلی فنل‌اکسیداز در شرایط کنترل بود. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر استفاده از نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر و فنیل آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار برای افزایش عملکرد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی، در جهت ارتقای کشاورزی ارگانیک و پایدار می‌تواند قابل توصیه باشد.

کلمات کلیدی: اسید قابل تیراسیون، سلنیوم، مواد جامد محلول، گوجی‌بری.

مقدمه

گوجی‌بری با نام علمی *Lycium barbarum* از خانواده Solanaceae می‌باشد. این گیاه بومی جنوب شرقی اروپا و آسیا است و در طب سنتی چینی به خوبی شناخته شده است (Shah *et al*., 2019) و در مناطق معتدل تا نیمه گرمسیری استرالیا، اوراسیا، آفریقای جنوبی، آمریکای شمالی و آمریکای جنوبی، حدود ۷۰ نوع مختلف لیسیوم قابل پرورش است (Fukuda *et al*., 2001). دارای برگ‌های بیضی شکل با نوک نیزه‌ای شکل خمیده است. برگ‌ها و شاخساره‌های آن به صورت دسته‌هایی مخالف یکدیگر (متقابل) روی شاخه‌ها قرار گرفته‌اند. طول برگ‌های آن ۷ سانتی‌متر و عرض آن ۳/۵ سانتی‌متر است (Oğuz *et al*., 2022). دارای میوه‌ای دوکی یا مستطیلی شکل با طول ۶–۲۰ میلی‌متر و قطر ۳–۱۰ میلی‌متر است. با رنگ نارنجی یا قرمز تیره که پوست آن دارای ظاهری منقبض است. پالپ گوشتی و نرم با طعمی گس و شیرین است (Gao *et al*., 2017). گوجی‌بری‌ها را می‌توان با توجه به مرحله رسیدن، ابعاد، وزن، رنگ، سفتی، محتوای محلول جامد، pH و اسیدیته قابل تیتر شدن به دسته‌های مختلفی تقسیم کرد. میوه بالغ بیضی شکل وشبیه به یک گوجه‌فرنگی کوچک بالغ و حاوی ۲۰ تا ۴۰ دانه ریز در هر میوه است (Fatchurrahman *et al*., 2022; Llorent-Martínez *et al*., 2013). گوجی‌بری گیاهی بسیار مقاوم در برابر شرایط آب و هوایی محیطی مانند دمای پایین و خشکی است. همچنین برای کشت در شرایط نسبتاً مرطوب مناسب است. پس از سازگاری سیستم ریشه با خاک، در شرایط خشک نیز به راحتی می‌تواند رشد کند. این گیاهان عاشق نور خورشید هستند و می‌توانند دمای ۳۹+ درجه سانتی‌گراد را در تابستان و ۲۶– درجه سانتی‌گراد را در زمستان تحمل کنند. همچنین می‌توان آن را بین ۸۰۰ تا ۲۰۰۰ متر از سطح دریا کرد و از آنجایی که گیاهانی برگ ریز هستند و در زمستان برگ‌های خود را می‌ریزند، نیاز سرمایی ۱۶۴۰ ساعت است (Oğuz *et al*., 2022). علاوه بر این، گوجی بری دارای ارزش زیادی در زنبورداری به عنوان یک گونه گرده‌ساز است که با یک دوره گلدهی طولانی از اواسط اردیبهشت تا مهر ماه می‌باشد (Wang *et al*. 2011). گیاهان دوپایه‌ای هستند که گیاهان نر عقیم (یعنی ماده) و هرمافرودیت تولید می‌کنند. میوه‌ها منحصراً توسط نمونه‌های ماده تولید می‌شود در حالی که گیاهان هرمافرودیت اساساً به عنوان گیاهان نر عمل می‌کنند (Konarska, 2018). اطلاعات محدودی در مورد روش‌های تولید گوجی‌بری وجود دارد. با این حال، نیازی به هرس شدید ندارد. این گیاه میوه‌ها را روی شاخه‌های نامشخص تولید می‌کند. در تولیدات تجاری، گیاه به یک شاخه اصلی محدود و اجازه می‌دهند تا ارتفاع تقریباً ۱۸۰ سانتی‌متر رشد کند. اگر گیاه گوجی‌بری از بذر رشد کند، معمولاً تا سال دوم رشد میوه نمی‌دهد و هر سال میوه روی شاخه جدید تولید می‌شود (Lee Carroll, 2018).

این گیاه دارای ترکیباتی همچون روغن‌های ضروری، ویتامین‌ها (ویتامین C، A، B1، B2، B6، E) و اسیدهای آمینه (۱۸ اسید آمینه مختلف از جمله ضروری‌ها)، پلی‌ساکاریدها، مواد معدنی (آهن، مس، روی، کلسیم، پتاسیم، فسفر و سلنیوم)، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها می‌باشد (Benlloch *et al*., 2015). مواد مغذی موجود در گوجی‌بری شامل ۴۶ درصد کربوهیدرات، ۱۶ درصد فیبر، ۱۳ درصد پروتئین و ۱/۵ درصد چربی است. بنابراین، گوجی‌بری منبع عالی از درشت مغذی‌ها و ریزمغذی‌هایی است که شامل مواد معدنی و ویتامین‌ها هستند. مطالعاتی وجود دارد که وجود ریبوفلاوین، تیامین، اسید نیکوتینیک و مواد معدنی مانند مس، منگنز، منیزیم و سلنیوم را در گوجی‌بری گزارش کرده است (Luo *et al*., 2004). از دیگر اجزا فعال بیولوژیکی گوجی‌بری پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها و فنولیک‌ها هستند (Wang *et al*., 2011). مهمترین گروه از ترکیبات موجود در گوجی‌بری پلی‌ساکاریدها هستند که با سلامتی مرتبط

می‌باشند. پلی‌ساکاریدها ۵ تا ۸ درصد از میوه‌های خشک را تشکیل می‌دهند و بیشتر به شکل محلول در آب می‌باشند (Kulczyński and Gramza-Michałowska, 2016).

اسیدآمینه فنیل‌آلانین ماده مسیر فنیل پروپانوئید است که منجر به تشکیل اسید فنولیک، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی می‌شود. فنیل‌آلانین سوبسترا آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) است که باعث تبدیل فنیل‌آلانین به اسید سینامیک به عنوان اولین مرحله از بیوسنتز ترکیبات فنولی می‌شود (Kubota *et al*., 2001). فنیل‌آلانین با نام علمی Amino- 3-phenylpropanoic acid-2 یکی از ۲۰ اسید آمینه اصلی و یک آلفا آمینو اسید با فرمول شیمیایی $C_9N_{11}NO_2$ می‌باشد (Portu *et al*., 2015). این اسید آمینه می‌تواند به عنوان یک گروه بنزیل جایگزین گروه متیل‌آلانین یا یک گروه فنیل در جای هیدروژن آلانین باشد. اسید آمینه آروماتیک فنیل‌آلانین در گیاهان، پیش‌ماده‌ای برای سنتز طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه مهم گیاهان از جمله ترکیبات فنولی می‌باشد، همچنین به عنوان یک مولکول نیتروژن‌دار برای سنتز پروتئین‌ها نیز به کار می‌رود و پیش‌ماده سنتز ترکیبات فنولی از طریق مسیر بیوسنتز فنیل‌پروپانوئید می‌باشد (Santamaria *et al*., 2015).

سلنیوم از عناصر کمیاب و شبه‌فلزی است که به‌دلیل نزدیکی با گوگرد خواصی مشابهی با این عنصر دارد (white *et al*., 2004). همچنین یکی از عناصر ضروری کم‌مصرف می‌باشد که در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی نقشی حیاتی دارد، سلنیوم نقش حیاتی در متابولیسم انسان‌ها، حیوانات و بسیاری از پروکاریوت‌ها و همچنین برخی جلبک‌ها دارد (Yadav *et al*., 2005; Pilon-Smits, 2019) و با شرکت در ساختار سلنوآنزیم‌های مختلف منجر به کاهش صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شود. سلنیوم مثل گوگرد در حالت اکسیداسیون به شکل سلنید (Se^{2-})، سلنیوم (Se)، سلنیت (Se^{+4}) و سلنات (Se^{+6}) در طبیعت وجود دارد (Yadav *et al*., 2005). سلنات (SeO_4) و سلنیت (SeO_3) دو فرم قابل جذب سلنیوم برای گیاهان می‌باشند (Navarro and Cabrea, 2008).

امروزه کاربرد کودهای زیستی و باکتری‌های خاک‌زیست در تغذیه خاک و گیاهان زراعی در نظام‌های کشاورزی پایدار در سراسر جهان در حال افزایش است. این باکتری‌ها بر روی ریشه‌های گیاه مستقر و سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌گردند (Zarea *et al*., 2009).

نیتروکسین از انواع کودهای زیستی می‌باشد که شامل باکتری‌هایی از جنس ازتوباکتر (*Azotobacter* sp.) و آزوسپیریلوم (*Azospirillum* sp.) است. این دو باکتری جزو میکروارگانسیم‌های تثبیت کننده نیتروژن مولکولی هستند که در ارتباط با ریزوسفر گیاه و همچنین همیاری با ریشه گیاه اثرهای مفیدی بر رشد گیاهان دارند. این باکتری‌های افزاینده رشد، گیاه را از طریق تأمین عناصر غذایی، مهار زیستی، تولید مواد شبه هورمونی و کاهش سطح اتیلن، در شرایط تنش‌زا یاری می‌کنند (Zarea *et al*., 2009). ازتوباکتر و آزوسپیریلوم مواد مختلفی مانند ویتامین B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتریک، بیوتین، اکسین، جیبرلین و غیره را در محیط ریشه ایجاد و انتشار می‌دهند، بنابراین نقش مهمی در افزایش جذب ریشه دارند (Kader *et al*., 2002; Allahdadi *et al*., 2020). کود زیستی نیتروکسین با داشتن باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماری‌زا و با تولید مواد و هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Feiziasl *et al*., 2009).

امروزه استفاده از کودهای بیولوژیک به ویژه در خاک‌های فقیر از نظر عناصر غذایی، یک ضرورت اجتناب ناپذیر برای حفظ کیفیت خاک می‌باشد (Vessey, 2003). نیتروکسین یکی از کودهای بیولوژیکی است که دارای میکروارگانیسم

های زیادی بوده و با توجه به اینکه، توانایی تثبیت نیتروژن اتمسفر را در قسمت ریشه، تولید و ترشح برخی از مواد فعال بیولوژیکی مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتینیک، اسید پانتوتنیک، اکسین‌ها و جیبرلین‌ها را دارد پس باعث بهبود رشد ریشه و در نتیجه افزایش رشد ریشه می‌شود، که منجر به افزایش جذب آب، عناصر غذایی و در نهایت عملکرد گیاه می‌گردد (Dahham, 2021). اثر مصرف کود نیتروکسین بر عملکرد و اجزای عملکردی گلرنگ با استفاده از پوشش بالا و روش تیمار بذر نشان داد که بسیاری از اجزای عملکردی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است (Moghimi and Yousefi Rad, 2013) همچنین افزایش رشد و عملکرد در خار مریم (Mohammadpour Vashvaei *et al*., 2017) با کاربرد کود زیستی نیتروکسین تایید شده است. داهام (Dahham, 2021) نیز در نتایج خود بیان کرد که درجمعیت کرفس عراق با استفاده از نیتروکسین در غلظت ۱۵ میلی‌مولار و در جمعیت کرفس ایرانی استفاده از غلظت ۳۰ میلی‌مولار نیتروکسین بیشترین تأثیر را بر روی صفات رشدی مانند: سطح برگ، ارتفاع، وزن خشک گیاه، محتوای کلروفیل برگ گیاهان داشت.

کاربرد راهکارهای جدید و مواد موثر برای افزایش متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات ارزشمند گیاهان به صورت محلول‌پاشی، کوددهی و سایر روش‌های مناسب امروزه انجام می‌شود. از این راهکارها استفاده از اسیدهای آمینه، سلنیوم و کودهای زیستی همچون نیتروکسین است که نقش مستقیمی در افزایش فعالیت‌های آنزیمی دارند و می‌توانند بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی در رشد و نمو گیاه و کیفیت تأثیر گذارند و باعث افزایش عملکرد شوند.

با توجه به اینکه گوجی‌بری یکی از رایج‌ترین گونه‌های خانواده سولاناسه است (Fatchurrahman *et al*., 2022; Donno *et al*., 2015)، که به طور سنتی در چین، تبت و سایر بخش‌های آسیا رشد می‌کنند (Bora *et al*., 2019). چین با تولید سالانه ۲۵۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ تن میوه خشک در دنیا، تامین کننده اصلی در سراسر جهان است (Shah *et al*., 2019). آسیا بیشترین تولید را دارد و پس از آن آفریقا، آمریک، اقیانوسیه و اروپا قرار دارند (FAO, 2023). با توجه به گزارش‌ها با توجه به تاثیر مثبت آن بر بهبود سلامت، تولید میوه‌های جدید در ۲۰ سال گذشته در سراسر جهان رو به افزایش بوده است. یکی این مورد گوجی‌بری است که تولید آن در دهه‌های گذشته افزایش یافته است (Kafkaletou *et al*., 20187)، به ویژه در اروپا (ایتالیا، رومانی، بلغارستان، پرتغال، یونان، صربستان)، آمریکای شمالی و استرالیا. در حال حاضر، رومانی دارای بزرگترین سطح زیر کشت گوجی بری در اتحادیه اروپا است (Mocan *et al*., 2018; Vidović *et al*., 2022).گوجی بری در چند سال اخیر در ایران کشت شده است، در استان‌های، کرمانشاه، آذربایجان غربی و خراسان جنوبی، هم اکنون به صورت تجاری کشت می‌شود. همچنین رقم GB1 وارداتی بوده و در چند سال اخیر این گیاه وارد کشور شده است و نسبت به اقلیم اکثر مناطق سازگار است و در حال حاضر روی کشت و توسعه آن تمرکز شده است. با توجه به ارزش اقتصادی بالای گوجی‌بری نسبت به گیاهان مشابه مانند زغال اخته و تمشک می‌باشد که به صورت بومی در ایران وجود دارد. پژوهش حاضر به منظور بررسی امکان کشت این گیاه در استان خراسان و بهینه‌سازی شرایط کشت گیاه انجام شده است.

مواد وروش‌ها

زمان و محل اجرا پژوهش

این پژوهش در دوسال متوالی ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (با آب و هوای معتدل و متمایل به سرد و خشک و تابستان‌های گرم و خشک و زمستان‌های سرد و مرطوب. بیشینه درجه حرارت در تابستان‌ها ۴۳ و کمینه آن در زمستان‌ها ۲۲- درجه سانتی‌گراد) واقع در ۱۰ کیلومتری جنوب شرقی شهر مشهد با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۶ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی، با ارتفاع ۹۸۵ متر از سطح دریا انجام شد.

طرح آزمایشی و روش اجرا پژوهش

این پژوهش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید آمینه L- فنیل آلانین (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار) بود. سدیم سلنات (Sigma Aldrich, China) (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و کود بیولوژیک نیتروکسین (شرکت مهر آسیا، ایران) (۱۷۰، ۳۳۰ و ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر) در سه سطح و آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد. برای هر تکرار یک ردیف (بلوک) در نظر گرفته شد و در مجموع با تیمار شاهد جمعا ۱۰ تیمار در نظر گرفته شد. گیاهان پس از استقرار هر ۱۵ روز یکبار و در سه مرحله محلول‌پاشی شد.

عملیات زراعی و نحوه اعمال تیمارها

برای انجام آزمایش در طی دوسال متوالی ۱۴۰۱- ۱۴۰۰، در سال ۱۴۰۰ نهال‌های دو ساله گوجی‌بری رقم GB1 از شرکت نهال مشهد واقع در استان خراسان رضوی تهیه گردید و با فاصله بین ردیف ۱۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین نهال‌ها ۱۵۰ سانتی‌متر در اوایل اردیبهشت ماه در مزرعه کاشته شدند. آبیاری گیاهان در طی دو سال بررسی، با روش آبیاری قطره‌ای نواری و با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه با دور آبیاری دو روز یکبار انجام شد. در طول فصل رشد عمل وجین علف‌های هرز صورت گرفت. در سال دوم، گلدهی گوجی‌بری از اردیبهشت شروع و برداشت میوه‌ها از تیرماه شروع و تا پایان مهرماه ادامه داشت برداشت میوه‌ها زمانی شروع شد که میوه‌ها در مرحله قرمز کامل و به صورت نرم و شیرین بودند.

در مرحله آماده‌سازی خاک کاربرد تیمارها نیز بر اساس میزان نیتروژن خاک و با توجه به نیاز کودی گوجی‌بری توصیه کودی بعد از آزمایش خاک بود (جدول ۱) از کودهای آلی ورمی کمپوست در غلظت ۷/۸ تن در هکتار برای تقویت خاک استفاده شد. پس از اطمینان از استقرار اولیه گیاهان، اولین محلول‌پاشی برگی با اسید آمینه فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین صورت گرفت و محلول پاشی‌های بعدی در دو مرحله با فاصله ۱۵ روز یکبار در طول دوره رشد گیاه انجام گرفت. زمان محلول پاشی برای تمام تیمارها یکسان بود و برای محلول پاشی تیمار شاهد نیز از آب مقطر استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1: The Physical and chemical properties on the site of experimental field

عمق Depth	ساختار خاک Soil Texture	شن Sand	رس Clay	لومی Loam	pH	EC (dS m^{-1})	N (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	K (mg kg^{-1})
0-30	لومی-شنی Sandy	40	33	27	7.5	1.3	610	60.6	625.1

loam

صفات ارزیابی شده

مـواد جامـد محلـول کل

بـــرای اندازه‌گیری مـواد جامـد محلـول کل از دسـتگاه رفراکتـومتر دسـتی (Refractometer) (مدل K-0032 ساخت ژاپن) استفاده شد و مقدار مواد جامـد محلـول برحسب درجـه بـریکس ثبت شد (Heydarnazhad *et al.*, 2019).

اسید قابل تیتراسیون

برای اندازه‌گیری اسید قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال استفاده شد و اسید قابل تیتراسیون برحسب گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر اسید سیتریک بیان شد. برای این منظور ۱۰ میلی‌لیتر آب‌میوه با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و سپس تیتر شد و با استفاده از رابطهٔ زیر، میزان اسید قابل تیتراسیون به دست آمد (Ayala-Zavala *et al.*, 2004).

$$A=(S\times N\times E/C)\times 100$$

A: مقدار اسیدهای آلی موجود در عصاره میوه (g/100 ml)، S: مقدار NaOH مصرف‌شده (ml)، N: نرمالیته NaOH، F: فاکتور یا ضریب نرمال که برای NaOH برابر با ۱ است، C: مقدار عصاره میوه (mL)، E: اکی والان اسید موردنظر (اسید سیتریک).

ویتامین ث

برای اندازه‌گیری میزان ویتامین ث از روش تیتراسـیون بـا یـد در یـدور پتاسیم انجام شد. پایان تیتراسیون زمانی بـود کـه رنـگ عصـاره میوه‌ها آبی تیره شده و این رنگ چند ثانیه پایـدار مانـد (Arya, 2000).

عصاره‌گیری جهت تعیین میزان فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای عصاره‌گیری ابتدا ۱ گرم از بافت گوشتی میوه با ۸ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد همگن شد. سپس محلول بدست آمده با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفیوژ، عصاره رویی جدا شده و از آن برای سنجش فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل استفاده شد.

فنول کل

محتوای فنول کل(TPC) با استفاده از معرف فولین سیوکالتو(Folin Ciocalteau) استفاده شد. برای این منظور ۰/۱ میلی‌لیتر ازنمونه‌های رقیق شده همراه ۲ میلی‌لیتر Na_2CO_3 دو درصد در لوله آزمایش ریخته شد و به‌مدت دو دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از واکنش‌گر فولین سیکالتو ۵۰٪ به آن اضافه شد. مخلوط واکنش به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری و سپس میزان جذب آن در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد. برای

بدست آوردن منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد (Singleton and Rossi, 1965). نتایج بر اساس میلی‌گرم در گرم وزن خشک بر حسب گالیک‌اسید محاسبه شد.

فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل (TFC) عصاره‌ها با روش (Kaijv et al., 2006) اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره ۱ گرم از بافت میوه با استفاده از متانول ۸۰٪ سابیده شده و به حجم ۸ میلی‌لیتر رسانده شد. بر روی ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه با رقت مناسب ۷۵ میکرولیتر $NaNo_2$ (۵٪) و ۱۵۰ میکرولیتر $AlCl_3$ (۱۰٪) و ۵۰۰ میکرولیتر NaOH یک مولار اضافه شد و با افزودن آب مقطر به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول پس از ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر خوانده شد. نتایج بر اساس میلی‌گرم در گرم وزن خشک بر حسب کوئرستین محاسبه شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رادیکال آزاد DPPH (2,2-Dphenyl- Picryl-Hydrazyl) طبق روش نشان داده شده توسط سانچز–مورنو و همکاران[1] (۱۹۹۹) به همراه تغییراتی توضیح داده شد. ابتدا از عصاره‌های گیاهی ۱۰۰ میکرولیتر و شاهد (متانول در محل عصاره) به ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH آماده شده (۰/۲ میلی مولار) در متانول اضافه شد. فعالیت مهار بر روی رادیکال DPPH با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر پس از ۱۵ دقیقه تعیین شد. نتایج به دست آمده به صورت درصد بیان شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی= جذب DPPH – جذب نمونه /جذب DPPH ×100

آنتوسیانین

برای تعیین غلظت آنتوسیانین، ۰/۲۵ گرم برگ تازه جمع آوری شد و در لوله‌های سانتریفیوژ شیشه‌ای ۱۵ میلی‌لیتری حاوی ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی شده (methanol: HCl, 99: 1, v:v) استخراج و به مدت یک شب در تاریکی نگهداری شدند. نمونه‌ها به حجم رسیده و جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر تعیین شد. غلظت آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی ($33000\ mol^{-1}\ cm^{-1}$) محاسبه شد (Krizek *et al*., 1998). نتایج براساس میلی‌گرم در گرم وزن‌تر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)

برای استخراج آنزیم PAL در ابتدا یک گرم از بافت برگ با ۵ میلی‌لیتر بافر سدیم بورات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۸/۸) شامل بتا– مرکاپتواتانول پنج میلی‌مولار، یک میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ PVP درصد با استفاده از هاون چینی و نیتروژن مایع هموژن و سپس در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جهت انجام واکنش نیم میلی‌لیتر از روشناور به همراه دو میلی‌لیتر بافر بورات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۶ و نیم میلی‌لیتر فنیل‌آلانین ۲۰ میلی‌مولار در یک لوله آزمایش ریخته شده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس واکنش با ۰/۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک شش نرمال متوقف شد. فعالیت آنزیم

[1] Sánchez-Moreno et al.

فنیل‌آلانین آمونیالیاز با تولید سینامیک اسید تعیین گردید. در نهایت میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر SAFAS MONACO (RS232) ثبت شد و داده‌ها بر اساس U mg^{-1} protein بیان گردید (Kovacs et al., 2014).

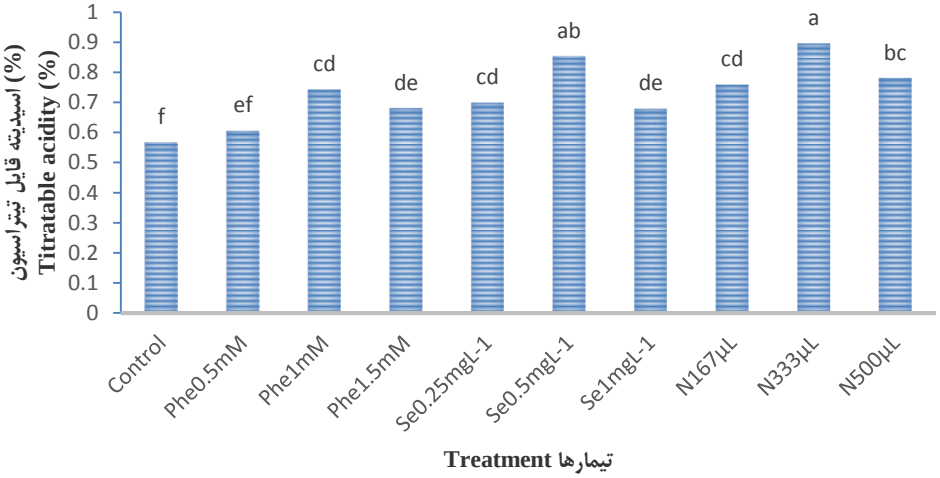
طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها

این آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. نمونه‌های تیمار شده با اسید آمینه فنیل‌آلانین، سلنیوم و کود زیستی نیتروکسین در این آزمایش شامل ۱۰ تیمار در ۳ تکرار و مجموعاً ۳۰ واحد آزمایشی (در هر واحد آزمایشی یک نهال) و شیوه نمونه‌گیری به صورت تصادفی در قالب سه تکرار اختصاص یافته به هر یک از تیمارها می‌باشد. تجزیه داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن درسطح ۱ و ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

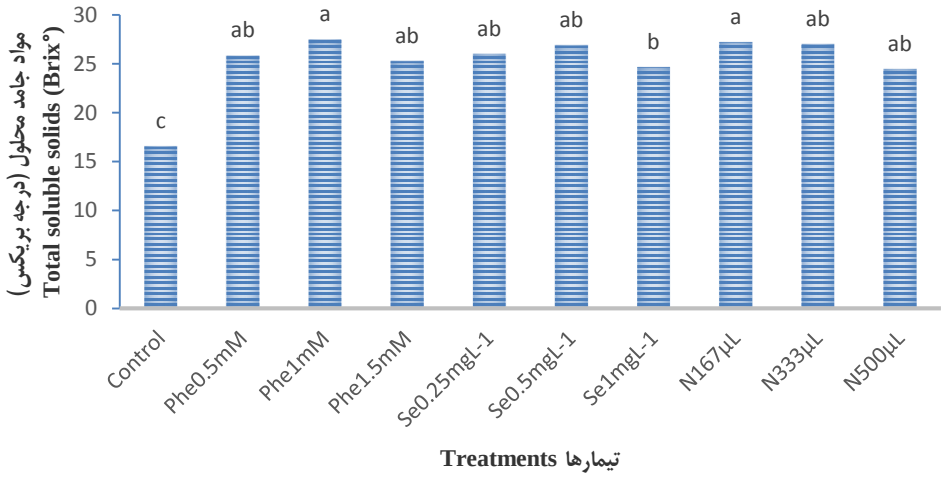
اسید قابل تیتراسیون (TA) و مواد جامد محلول (TSS)

در بررسی نتایج مشاهده شد که افزایش در غلظت‌های فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین تاثیر چشمگیری در مقایسه با شرایط کنترل در میزان اسید قابل تیتراسیون و مواد جامد محلول میوه‌های گوجی‌بری داشت. بیشترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون (۰/۸۹۶ درصد) در نمونه‌های تیمار شده با نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر به دست آمد که این میزان ۳۶/۷۱ درصد بیشتر از میزان آن در شرایط کنترل بود (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان مواد جامد محلول (۲۷/۵ درجه بریکس) در نمونه‌های تیمار شده با نیتروکسین در غلظت ۱۶۶ مایکرولیتر به دست آمد که ۳۹/۰۱ درصد بیشتر از میزان مواد جامد محلول در شرایط کنترل بود (شکل ۲).



شکل ۱- تغییرات اسید قابل تیتراسیون طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 1- Titratable acidity changes under the conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berrie (DMRT, $p \leq 0.05$)

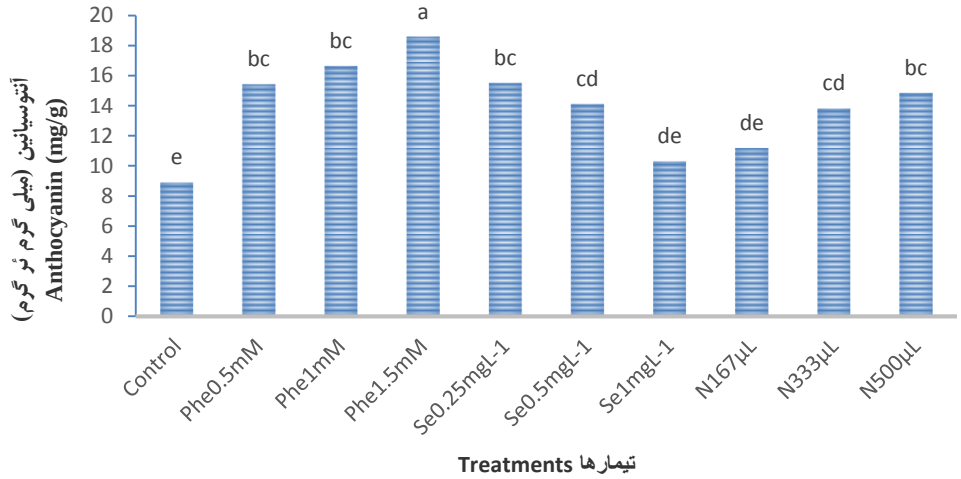


شکل ۲- تغییرات مواد جامد محلول کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 2- Changes in Total soluble solids under the conditions of using different concentrations of (phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berries. (DMRT, $p \leq 0.05$

آنتوسیانین

میزان آنتوسیانین با افزایش میزان غلظت سلنیوم روندی کاهشی داشت این درحالی بود که میزان آنتوسیانین میوه با افزایش غلظت‌های نیتروکسین و فنیل‌آلانین میزان آنتوسیانین روندی افزایشی داشت به‌طوری که بیشترین میزان (۱۸/۵۶ میلی‌گرم در گرم) این شاخص در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین (در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به دست آمد که این میزان ۵۰/۱۵۵ درصد بیشتر از میزان این شاخص در میوه‌های شاهد به‌دست آمد (شکل ۳).

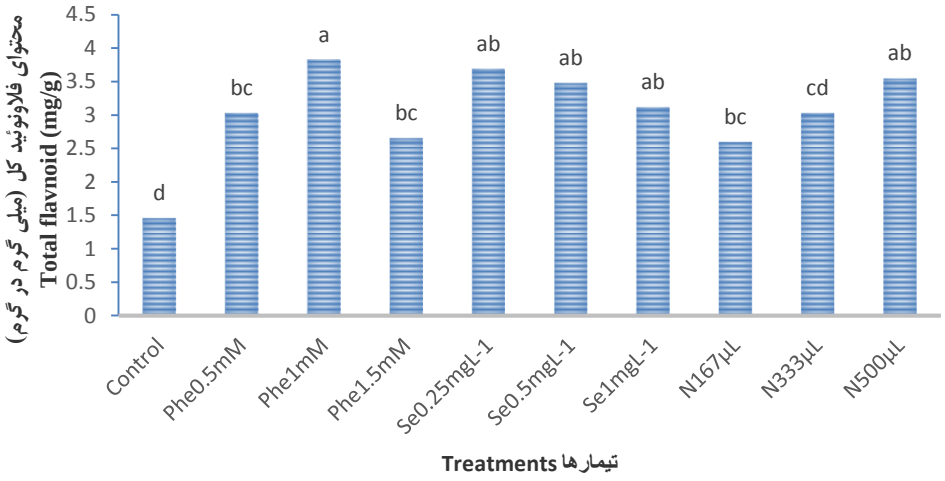


شکل ۳- تغییرات آنتوسانین طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 3- Anthocyanin changes under the conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxin in goji berries. (DMRT, $p \leq 0.05$)

فنول و فلاونوئید میوه

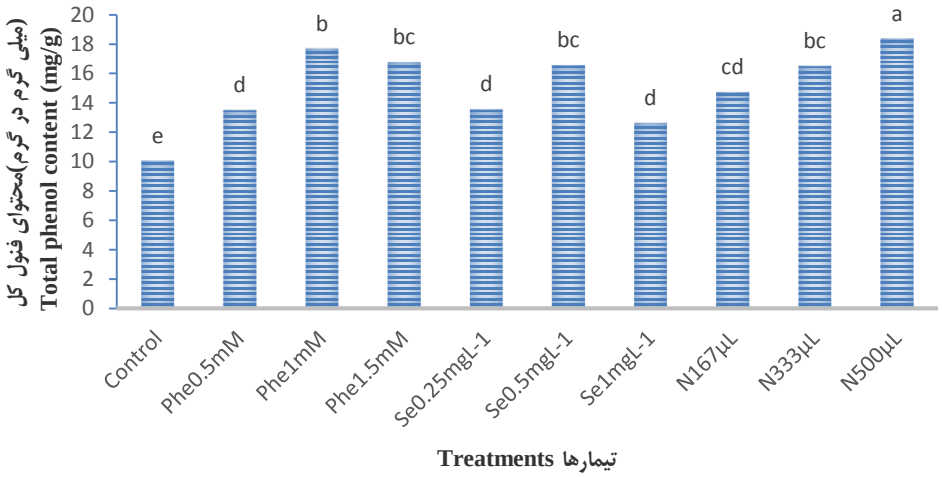
در بررسی اثرات محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین بر میزان فنول و فلاونوئید کل مشاهده‌شد که همچون آنتوسیانین افزایش غلظت سلنیوم سبب کاهش میزان فلاونوئید کل در میوه‌های گوجی بری شده است. این در حالی بود که افزایش در میزان نیتروکسین (در تمامی غلظت‌ها) تاثیر افزایشی بر میزان فلاونوئید میوه‌های گوجی بری داشته است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار فنیل‌الانین بیشترین تاثیر را بر میزان فلاونوئید کل در میوه‌های گوجی بری داشته است. از این رو بیشترین میزان این شاخص در میوه‌های تحت تیمار فنیل‌آلانین در غلظت ۱میلی‌مولار به دست آمد که این شاخص ۶۱/۹۸ درصد بیشتر از میزان فلاونوئید ثبت شده در میوه‌های گوجی‌بری در شرایط کنترل به‌دست آمد (شکل ۴).



شکل ۴- تغییرات فلاونوئید کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 4- Total flavonoid changes under conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berries. (DMRT, $p \leq 0.05$)

میزان فنول کل تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نیتروکسین روندی افزایشی داشت به‌طوری که بیشترین میزان این شاخص (۱۸/۳۴ میلی‌گرم در گرم) در میوه‌های تیمار شده با نیتروکسین در غلظت ۵۰۰ مایکرولیتر به‌دست آمد. که این میزان ۴۵/۲۵۶ درصد بیشتر از میزان فنول کل به دست آمده از میوه تحت شرایط کنترل بود (شکل ۵).

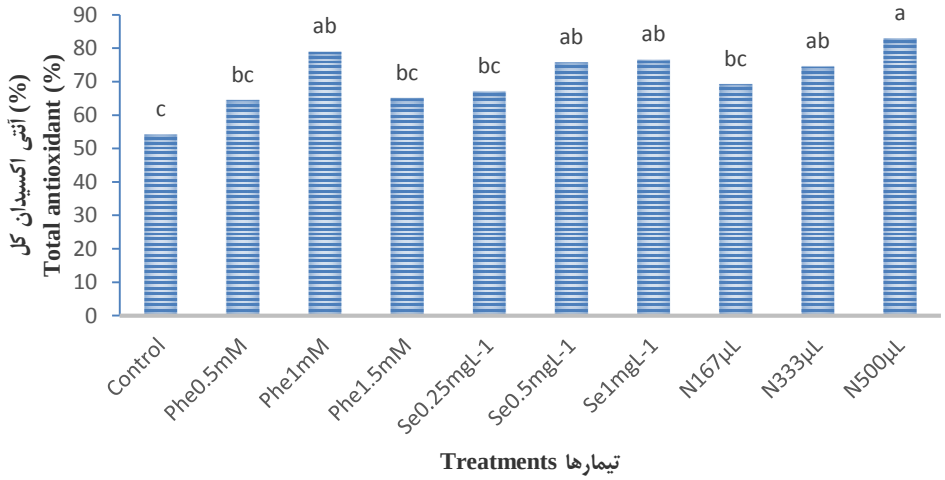


شکل ۵- میزان تغییرات محتوای فنول کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 5- Changes in total phenol content under conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berries. (DMRT, $p \leq 0.05$)

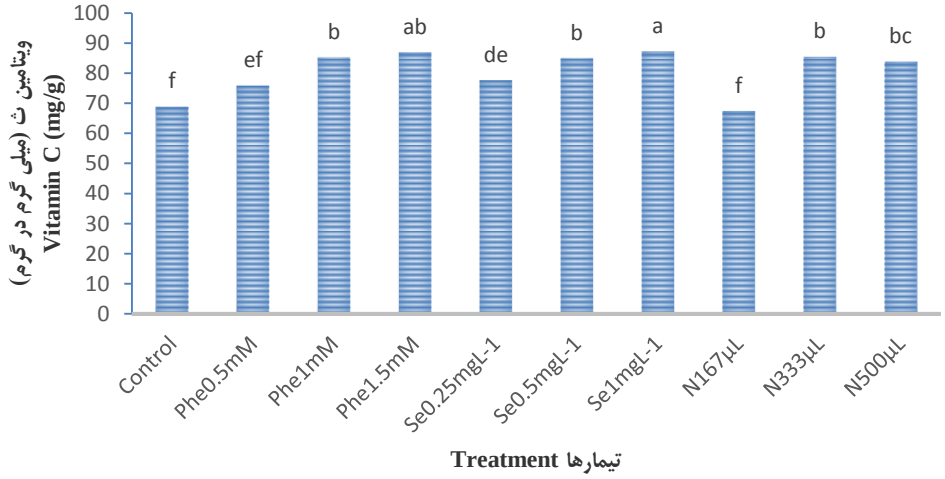
ویتامین‌ث و آنتی‌اکسیدان کل

طی بررسی نتایج مقایسه میانگین صفات مشاهده شد که میزان ویتامین ث و آنتی‌اکسیدان کل در تمامی سطوح نیتروکسین و سلنیوم و غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار فنیل‌آلانین سبب افزایش میزان این دو شاخص نسبت به شرایط کنترل شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان کل در میوه‌های تیمار شده با نیتروکسین در غلظت ۵۰۰ مایکرولیتر به دست آمد که ۳۴/۶۶ درصد بیشتر ای کیزان آنتی‌اکسیدان ثبت شده در شرایط کنترل بود (شکل ۶). همچنین نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین میزان ویتامین ث (۸۷/۱۷ میلی‌گرم در گرم) در میوه‌های تحت تیمار نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر به دست آمد که ۲۰/۹۸ درصد بیشتر از میزان ویتامین‌ث به دست آمده از میوه‌های رشد یافته در شرایط کنترل بود (شکل ۷).



شکل ۶- تغییرات آنتی‌اکسیدان کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 6- Total antioxidant changes under conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berries. (DMRT, p≤0.05)



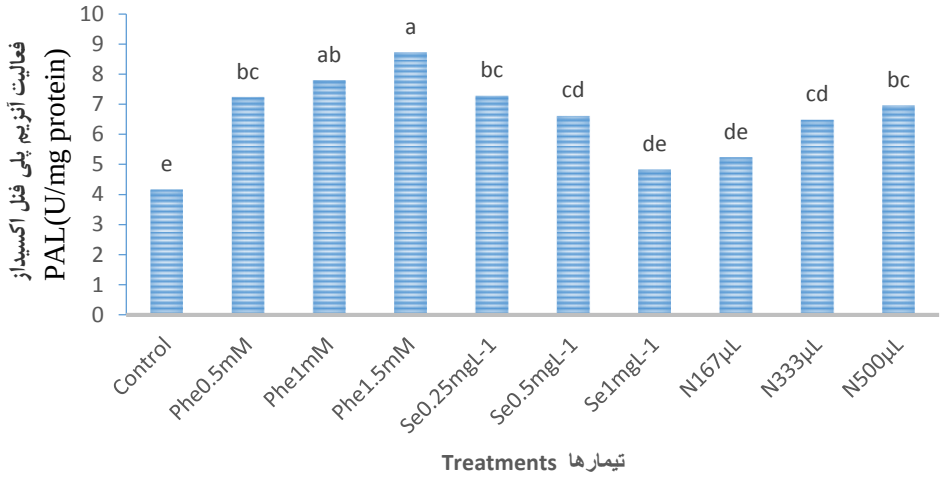
شکل ۷- تغییرات ویتامین‌ث طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 7- Vitamin C changes under the conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berries. (DMRT, p≤0.05)

فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PAL)

در بررسی نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای مورد استفاده بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز مشاهده شد که میزان فعالیت این آنزیم تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نیتروکسین، فنیل‌آلانین و سلنیوم نسبت به شرایط کنترل روندی افزایشی داشت (شکل ۸). همچنین نتایج نشان داد که با وجود کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز طی افزایش غلظت سلنیوم، فعالیت این آنزیم طی شرایط استفاده از سلنیوم در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر ۱۳/۶۶ درصد بیشتر از فعالیت آنزیم پلی فتل اکسیدار در شرایط کنترل بود. از طرفی دیگر بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در

شرایط استفاده از فنیل‌آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به دست آمد که ۵۲/۱۷ درصد بیشتر از میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیدار ثبت شده در شرایط کنترل بود (شکل ۸).



شکل ۸- فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری.

Figure 8- PAL enzyme activity under conditions of using different concentrations of phenylalanine, selenium and nitroxine in goji berries. (DMRT, $p \leq 0.05$)

بحث

بهبود کارایی عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی توسط پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل مشخص می‌شود که توسط سطح اجزای مولکولی پایین و فعالیت‌های آن کنترل می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیباتی مانند اسید اسکوربیک، گلوتاتیون، توکوفرول، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های مولکولی هستند (Radyuk *et al.*, 2009). کودهای زیستی شامل نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، کود فسفاته و میکوریزا هستند که حاوی بسیاری از ریزمغذی‌ها می‌باشند. نیتروکسین نیتروژن هوا را تثبیت و جذب عناصر ماکرو و میکرو را در گیاه متعادل می‌کند. در مطالعات قبلی بیان شده است که نیتروکسین مسئول ترشح اسیدهای آمینه و آنتی‌بیوتیک‌ها، هیدروژن سیانید و سیدروفور است و همچنین باعث رشد و نمو ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاه می‌گردد و از ریشه‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کند، در نتیجه عملکرد را افزایش می‌دهد (Fahramand *et al.*, 2013). نتایج تحقیق زاهدیان و همکاران (Zahedyan et al., 2022) نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل کل (۱/۸۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) با نیتروکسین مشاهده شد. استفاده از غلظت‌های نیتروکسین در کرفس عراقی و کرفس ایرانی به‌طور معنی‌داری محتوای کلروفیل گیاه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (Dahham, 2021).

در گیاهان اسپری شده با سلنیوم، افزایش کربوهیدرات‌های غیرساختاری ممکن است به تثبیت CO_2 بیشتر در نتیجه افزایش رسانایی روزنه‌ای نسبت داده شود. مکانیسم احتمالی دیگر فعال شدن آنزیم‌های کلیدی درگیر در جذب CO_2 است (Hajiboland *et al.*, 2015). توراکاینان و همکاران (Turakainen et al., 2004) اثر مثبت سلنیوم را در افزایش

میزان کربوهیدرات‌ها در سیب‌زمینی نشان دادند و مصرف بیشتر سلنیوم (۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) تجمع کربوهیدرات ها را در ریشه‌ها و استولون‌ها افزایش داد که نشان می‌دهد سلنیوم ممکن است تجمع کربوهیدرات‌ها یا فرآیندهای مرتبط با پیری در ریشه و استولون سیب زمینی را به تاخیر بیاندازد. افزایش غلظت کربوهیدرات در استولون‌ها ممکن است نشان دهنده این باشد که استولون‌ها هنوز فعال هستند یا اینکه برای ذخیره کربوهیدرات استفاده می‌شوند. افزایش در کل قندهای محلول پس از استفاده از سلنیوم مربوط به افزایش فعالیت فروکتوز ۱،۶–بیس فسفاتاز، آنزیم کلیدی در متابولیسم کربوهیدرات است، همانطور که برای یونجه مشاهده شد (Owusu-Sckyere *et al*., 2013).

اسید آمینه فنیل‌آلانین به عنوان پیش‌سازی برای مجموعه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه متعدد، از جمله فنیل پروپانوئیدها، فلاونوئیدها، لیگنین دیواره سلولی، آنتوسیانین‌ها و متابولیت‌های متعدد دیگر عمل می‌کند (Tzin and Galili, 2010). در تحقیقات گذشته، گزارش شده است که افزودن فنیل‌آلانین به صورت محلول‌پاشی بر انگور بر متابولیسم فنولی آن تأثیر می‌گذارد (Chassy *et al*., 2012). با توجه به نتایج تحقیقات پورتو و همکاران (Portu et al., 2015)، محلول‌پاشی اسیدهای آمینه مانند L– فنیل‌آلانین در طول رشد گیاه باعث افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنولی در گریپ فروت شد. علاوه بر این، نتایج ما با نتایج پاککیش و محمدرضاخانی (Pakkish and Mohammadrezakhani, 2021) مطابقت دارد که دریافتند محلول‌پاشی درختان انبه با اسید آمینه آرژنین باعث افزایش آنتوسیانین، کاروتنوئیدها و فنول‌ها می‌شود. با استفاده از کودهای بیولوژیک نیتروکسین، محتوای فنول کل میوه طالبی افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد (Zahedyan *et al*., 2022). همچنین نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه جلیل ششبهره و همکاران (Jalil Sheshbahreh et al., 2022) نشان داد که بیشترین عملکرد ترکیبات فنولی از کاربرد نیتروکسین در گل سرخارگل به دست آمد.

به طور کلی، کاربرد نیتروکسین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌های سازگار بر روی گیاه زیره سیاه شد و در نتیجه عملکرد بیولوژیکی آن افزایش یافت (Merajipoor *et al*., 2020). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها توسط وانگ و همکاران (Wang et al., 2019) نیز توسط کودهای بیولوژیکی برای سورگوم شیرین گزارش شد. بدیهی است که محلول‌پاشی نیتروکسین و فنیل‌آلانین به طور قابل توجهی محتوای فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در گیاهان گوجی‌بری افزایش داد و محتوای بالای فلاونوئید و فنول با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرتبط بود. در مطالعه قبلی، رابطه مثبت قوی بین محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیان شده است که به نظر می‌رسد این فرآیند در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود داشته باشد (Ghasemzadeh *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر با هدف مطالعه تاثیر ال– فنیل‌آلانین، سلنیوم و کود زیستی نیتروکسین بر بهبود عملکرد و متابولیت‌های ثانویه گوجی‌بری طی دو سال زراعی انجام شده است. نتایج نشان داد که استفاده از اسید آمینه ال– فنیل‌آلانین، سلنیوم و کود زیستی نیتروکسین اثرات چشمگیری بر روی صفات مورد بررسی طی آزمایش داشت. به طوری که استفاده ازنیتروکسین در غلظت ۱۶۶ مایکرولیتر میزان مواد جامد محلول و در غلظت ۳۳۳ اسیدیته قابل تیتراسیون را نسبت نمونه‌های شاهد افزایش داد. در بررسی تاثیر تیمارهای آزمایش بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط استفاده از فنیل‌آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به دست آمد که ۵۲/۱۷ درصد بیشتر از میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ثبت شده در شرایط کنترل بود. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر استفاده از غلظت‌های متوسط نیتروکسین و غلظت ۱/۵ میلی‌مولار فنیل آلانین سبب افزایش خصوصیات فیزیکوشیمیایی در میوه‌های گوجی بری نسبت به میوه‌های فاقد تیمار شده است. از این رو استفاده از

نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر و فنیل آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار برای افزایش عملکرد در امر کشاورزی ارگانیک و پایدار می‌تواند قابل توصیه باشد.

منابع

Allahdadi, M., Raei, Y., Bahreininejad, B., Taghizadeh, A., & Narimani, S. (2020). Effects of biological fertilizers on some of the morphological and nutritional properties of globe artichoke. *Iran Agricultural Research*. 39(2), 47-56.

Arya, S.P.N. (2000). Spectrophotometric methods for the determination of vitamin C. *Analytica Chimical Acta*. 417, 1-14.

Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & González-Aguilar, G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 37(7), 687-695.

Benlloch, M., Muriach, M., Castellano, G., Sancho-Pelluz, F.J., González-García, E., Flores-Bellver, M., & Romero, F.J. (2015). Role of *Lycium barbarum* extracts in retinal diseases. In Lycium Barbarum and Human Health (pp. 153-178). Springer, Dordrecht.

Bora, P., Ragaee, S., & Abdel-Aal, E.S.M. (2019). Effect of incorporation of goji berry by-product on biochemical, physical and sensory properties of selected bakery products. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*. 112, 108225.

Chassy, A. W., Douglas, O. A., Laurie, F., & Waterhouse, A. L. (2012). Tracing phenolic biosynthesis in *Vitis vinifera* via in situ C-13 labeling and liquid chromatography-diode-array detector-mass spectrometer/mass spectrometer detection. *Analytica Chimica Acta*, 747, 51-57.

Dahham, A. A. (2021). The Effect of Nitroxin Application and Drought Stress on Growth and Yield of Two Persian and Iraqi Celery Populations. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, *735*, *012046*.

Donno, D., Beccaro, G.L., Mellano, M.G., Cerutti, A.K., & Bounous, G. (2015). Goji berry fruit (*Lycium* spp.): Antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation. *Journal of Functional Foods*. 18, 1070-1085.

Fahramand, M., & Mobasser, H. (2013). Effect of biological fertilizer on maize. International *Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6(12), 784.

Fatchurrahman, D., Amodio, M.L., De Chiara, M.L.V., Mastrandrea, L., & Colelli, G. 2022. Characterization and postharvest behavior of goji berry (*Lycium barbarum* L.) during ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 191, 111975.

FAO. FAO STAT: Crops and Livestock Products. Available online: https://www.fao.org/faostat/en/ (accessed on 3 January 2023).

Feiziasl, V., Jafarzadeh, J., Pala, M., & Mosavi, S.B. (2009). Determination of critical levels of micronutrients by plant response column order procedure for dryland wheat (*T. aestivum* L.) in Northwest of Iran. *International Journal of Soil Science*, 4(1), 14-26.

Fukuda, T., Yokoyama, J., & Ohashi, H. 2001. Phylogeny and biogeography of the genus Lycium (Solanaceae): inferences from chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19(2), 246-258.

Gao, Y., Wei, Y., Wang, Y., Gao, F., & Chen, Z. 2017. Lycium barbarum: a traditional Chinese herb and a promising anti-aging agent. *Aging and disease*. 8(6), 778.

Ghasemzadeh-Mohammadi, V., Mohammadi, A., Hashemi, M., Khaksar, R., & Haratian, P. (2012). Microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish. *Journal of Chromatography*, 1237, 30-36.

Hajiboland, R., Rahmat, S., Aliasgharzad, N., & Hartikainen, H. (2015). Selenium-induced enhancement in carbohydrate metabolism in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) as related to the glutathione redox state. *Soil science and plant nutrition*, 61(4), 676-687.

Heydarnazhad, R., Ghahremani, Z., Barzegar, T., & Rabiei, V. (2019). The effects of harvesting stage and chitosan coating on quality and shelf-life of Physalis angulata L. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(1), 173-186. doi: 10.22059/ijhs.2018.250863.1389.

Jalil Sheshbahreh, M., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., & Bahreininejad, B., 2022. Nitroxin improves yield and phenol compound of purple coneflower (*Echinaceae purpurea* L.) root under different irrigation regimes. *Journal of Organic Farming of Medicinal Plants*. 1(1), 18.

Kafkaletou, M., Christopoulos, M.V., Tsaniklidis, G., Papadakis, I., Ioannou, D., Tzoutzoukou, C., & Tsantili, E. (2018). Nutritional value and consumer-perceived quality of fresh goji berries (*Lycium barbarum* L. and L. chinense L.) from plants cultivated in Southern *Europe. Fruits*. 73(1): 5-12.

Kader, M.A., Mian, M.H., & Hoque, M.S. (2002). Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences*, 2(4), 259-261.

Kaijv, M., Sheng, L., & Chao, C. (2006). Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. *Food Science*, 27, 110-115.

Konarska, A. 2018. Microstructural and histochemical characteristics of *Lycium barbarum* L. fruits used in folk herbal medicine and as functional food. *Protoplasma*. 255(6): 1839-1854.

Kovacs, K., Banoczi, G., Varga, A., Szabo, I., Holczinger, A., Hornyanszky, G., Zagyva, I., Paizs, C., Vertessy, B.G., & Poppe, L. (2014). Expression and properties of the highly alkalophilic phenylalanine ammonia-lyase of thermophilic Rubrobacter xylanophilus. *PLoS One*, 9(1), p.e85943.

Krizek, D.T., Britz, S.J., & Mirecki, R.M., 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth cv. New Leaf Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103, 17.

Kubota, N., Yakushiji, H., Nishiyama, N., Mimura, H., & Shimamura, K. 2001. Phenolic Contents and L-Phenylalanine Ammonia-Lyase Activity in Peach Fruit. *Horticultural Science*, 70, 151-156.

Kulczyński, B., & Gramza-Michałowska, A. (2016). Goji berry (Lycium barbarum): composition and health effects–a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 66(2): 67-75.

Luo, Q., Cai, Y., Yan, J., Sun, M., & Corke, H. (2004). Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life sciences*. 76(2): 137-149.

Merajipoor, M., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., & Yadavi, A. (2020). Physiological Responses of Black Cumin to Chemical and Biological Nitrogen Fertilizers under Different Irrigation Regimes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22(4), 1023-1037.

Mocan, A., Moldovan, C., Zengin, G., Bender, O., Locatelli, M., Simirgiotis, M., Atalay, A., Vodnar, D.C., Rohn, S., & Crișan, G. (2018). UHPLC-QTOF-MS analysis of bioactive constituents from two Romanian Goji (*Lycium barbarum* L.) berries cultivars and their antioxidant, enzyme inhibitory, and real-time cytotoxicological evaluation. *Food and Chemical Toxicology*. 115: 414-424.

Moghimi, F., & Yousefi Rad, M. (2013). The effects of nitroxin (Azotobacter) usage on yield and yield components of safflower (cv.Goldasht) in the presence of EDTA. *Journal of Plant Ecophysiology*, 5(13): 39-47.

Mohammadpour Vashvaei, R., Ramroudi, M., & Fakheri, B.A. (2017). Effects of drought stress and bio-fertilizer inoculation on quantitative and qualitative characteristics of Marian thistle (*Silybum marianum* L.). *Journal of Agroecology*, 9(1), 31-49.

Navarro-Alarcon, M., & Cabrera-V. C. (2008). Selenium in food and the human body. *A Review Science of the Total Environment*, 400, 115–141.

Oğuz, I., Oğuz, H.I., Vural, A.A., & Kafkas, N.E. (2022). Goji Berry (spp.) Cultivation in Turkey. In Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. *Natural, Exact, and Applied Sciences*. 76(4):409-416

Owusu-Sckyere, A., Konttuyi, J., Hajiboland, R., Rahmat, S., Aliasgharzad, M., Hartikaninen, H., & Seppanen, M.M. (2013). Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant and Soil*, 373, 541–552.

Pakkish, Z., & Mohammadrezakhani, S. (2021). Quality characteristics and antioxidant activity of the mango (*Mangifera indica*) fruit under arginine treatment. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 11(1), 63-74.

Pilon-Smits, E.A. (2019). On the ecology of selenium accumulation in plants. *Plants*, 8(7), 197.

Portu, J., Gonzalez-Arenzana, L., Hermosín-Gutiérrez, I., Santamaría, P., & GardeCerdan, T. (2015). Phenylalanine and urea foliar applications to grapevine: Effect on wine phenolic content. *Food Chemistry*, 180, 55-63.

Radyuk, M.S., Domanskaya, I.N., Shcherbakov, R.A., & Shalygo, N.V. (2009). Effect of low above-zero temperature on the content of low-molecular antioxidants and activities of antioxidant enzymes in green barley leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56, 175-180.

Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., & Saura-Calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity of selected red, rose and white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.79, 1301-1304.

Santamaría, P., López, R., Portu, J., González-Arenzana, L., López-Alfaro, I., & Garde-Cerdán, T. (2015). Role of phenylalanine in viticulture and enology. Phenylalanine. Dietary, sources, functions and health effects. Nova Publisher, New York. 49-70.

Shah, T., Bule, M., & Niaz, K. (2019). Goji Berry (*Lycium barbarum*)-A Superfood. In Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements. Academic Press. 257-264.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3),144-158.

Turakainen, M., Hartikainen, H., & Seppänen, M. M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5378-5382.

Tzin, V., & Galili, G. (2010). New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular plant*, 3(6), 956-972.

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting Rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571–586.

Vidović, B.B., Milinčić, D.D., Marčetić, M.D., Djuriš, J.D., Ilić, T.D., Kostić, A.Ž., & Pešić, M.B. (2022). Health benefits and applications of goji berries in functional food products development: A review. Antioxidants. 11(2): p.248.

Wang, F., Sun, Y., & Shi, Z. (2019). Arbuscular mycorrhiza enhances biomass production and salt tolerance of sweet sorghum. *Microorganisms*, 7(9), 289.

Wang, Y., Wang, J., Chang, H., Ni, X., Tian, Y., & Qin, B. (2011). Flowering biology of Lycium barbarum L. NQ-2. *Bulletin of Botanical Research*. 31(3), 330-335.

White, P.J., Bowen, H.C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W.P., Spiby, R.E., Meacham, M.C., Mead, A., Harriman, M., Trueman, L.J., & Smith, B.M. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in Arabidopsis thaliana. *Journal of Experimental Botany*, 55(404), 1927-1937.

Yadav, S. K., Singh, L., Singh, D., & Han S. D. (2005). Selenium status in soil of northern districts of India. *Journal Environ Manage*, 75(2), 129-32.

Zahedyan, A., Jahromi, A.A., Zakerin, A., Abdossi, V., & Torkashvand, A.M. (2022). Nitroxin bio-fertilizer improves growth parameters, physiological and biochemical attributes of cantaloupe (*Cucumis melo* L.) under water stress conditions. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 21(1), 8-20.

Zarea, M.J., Ghalavand, A., Goltapeh, E.M., Rejali, F., & Zamaniyan, M. (2009). Effects of mixed cropping, earthworms (*Pheretima* sp.), and arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) on plant yield, mycorrhizal colonization rate, soil microbial biomass, and nitrogenase activity of free-living rhizosphere bacteria. *Pedobiologia*, 52(4), 223-235.