Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 48, No 3, Autumn 2017 (701-714)
DOI: 10.22059/ijhs.2017.229264.1202

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۸، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۶ (ص ۷۱۴-۷۰۱)

تأثیر محلول‌پاشی کودهای پتاسیمی و اسید هیومیک بر رنگیزه‌ها و فعالیت پاداکسندگی انگور رقم 'بیدانۀ سفید'

نیره زنگنه[1] و موسی رسولی[2*]
۱. دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد تولیدات گیاهی، تولید محصولات باغی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه ملایر
۲. استادیار، گروه فضای سبز، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه ملایر
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۰)

چکیده

تولید انگور با کیفیت و دارای بافت محکم و ویژگی ماندگاری بالای میوه اهمیت زیادی دارد. هدف از انجام این پژوهش، تأثیر کاربرد برگی غلظت‌های مختلف (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک بر رنگیزه‌ها و فعالیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) انگور 'بیدانۀ سفید' در راستای بهبود کیفیت در قالب طرح کامل تصادفی در یک باغ تجاری انگور طی سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۳ بود. بدین منظور تیمارهای محلول‌پاشی در سه نوبت شامل یک مرحله پیش از گلدهی، دو هفته پس از تشکیل میوه و یک ماه پس از مرحلۀ دوم انجام شد. بنا بر نتایج به‌دست‌آمده تیمار سولفات پتاسیم با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش پتاسیم برگ، تیمار نانو کلات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش سبزینۀ (کلروفیل) کل و آنتوسیانین‌های برگ و اسید هیومیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش غلظت فنول‌های برگ و فلاونوئیدهای برگ نسبت به شاهد شد. تیمار نانوکلات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش آنتوسیانین‌های میوه و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میوه، همچنین تیمار نانوکلات پتاسیم با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش غلظت پتاسیم میوه و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میوه، سولفات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش غلظت فنول‌های میوه، پروتئین میوه و فعالیت آنزیم کاتالاز میوه و اسید هیومیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فلاونوئیدهای میوه و فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه نسبت به شاهد شد. نتایج این بررسی تأییدکنندۀ تأثیر چشمگیر تیمارها، به‌ویژه نانوکلات پتاسیم و سولفات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر افزایش فعالیت آنزیم‌ها بوده که در نتیجه آن موجب استحکام غشا و بافت میوه و در نتیجه افزایش کیفیت و ماندگاری بهتر می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، ترکیب‌های فنولی،سبزینه، نانوکلات پتاسیم.

Effect of potassium fertilizers and Humic acid on the Pigments and activity of antioxidants in grape 'Bidaneh Sefid'

Nayereh Zangeneh[1] and Mousa Rasouli[2*]
1, 2. Former M. Sc. Student and Assistnat Professor, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran
(Received: Mar. 6, 2016 - Accepted: May 20, 2017)

ABSTRACT

Grape production with high quality, firm texture and suitable shelf life of the fruit is very important. The purpose of this study, the effect of foliar application of different concentrations (0, 1000 and 2000 mg/liter) of potassium sulfate, potassium nano chelated fertilizer and humic acid on the pigments and antioxidant activity in grape variety 'Bidaneh Sefid' were studied in order to improve the quality of grapes in a completely randomized design in a commercial orchard during 2013-2015. Foliar applications were employed three times, including one before flowering, at fruit set, two weeks after fruit set and one month after the second stage was carried out. Based on the results, potassium sulfate at a concentration of 2000 mg /liter increased the potassium concentrations of leaves, potassium nano chelated fertilizer at a concentration of 1000 mg/liter increased chlorophyll in leaves, anthocyanins in leaf and humic acid with a concentration of 1000 mg /liter increased the phenol concentration, and flavonoid in leaf compared to control. potassium nano chelated fertilizer at a concentration of 1000 mg/liter increased anthocyanins in fruit and superoxide dismutase and also, treatment of potassium nano chelated fertilizer at a concentration of 2000 mg/liter increased the potassium and activity of the enzyme ascorbate, potassium sulfate. Concentration of 1000 mg /liter potassium nano increased the phenol concentrations in fruit, protein and catalase activity. Humic acid at concentration of 1000 mg /liter increased the phenol concentration in leaf, flavonoids in fruit and peroxidase activity compared to control. Results of this study, confirmed a significant effect of treatments, especially potassium nano chelated fertilizer and potassium sulfate at a concentration of 1000 mg/liter on increased enzyme activity. As a result, it strengthens membranes and tissues and thus increased the quality of the fruit.

Keywords: Chlorophyll, enzaym, phenolic compounds, potassium nano chelated.

* Corresponding author E-mail: mousarasouli@gmail.com

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) متعلق به خانوادهٔ انگور و راستهٔ انگورسانان است. این خانواده ۱۷ جنس و در حدود۱۰۰۰ گونه دارد که اغلب به‌صورت بوته‌ای یا پیچ‌های بالارونده رشد می‌کنند. اگرچه بیشتر گونه‌های این خانواده در نقاط گرمسیر و نیمه گرمسیر جهان مستقر هستند ولی گونهٔ خوراکی آن بومی اقلیم‌های معتدل بوده و به‌عنوان یک محصول میوه‌ای مهم با کاربردهای مختلف در بیش از ۹۰ کشور پرورش می‌یابد (Keller, 2010).

برای افزایش تولید در واحد سطح این محصول توجه به تغذیهٔ مناسب و تأمین عنصرهای مورد نیاز آن از جمله موارد مهم و ضروری است. کاربرد برگی مواد غذایی و کودها یکی از راه‌های بهبود عملکرد و کیفیت محصول‌های مختلف انگور و راهی برای کاربرد بهینهٔ کودهای شیمیایی است (Crespan *et al*., 2000). نقش عنصرها و مواد کانی برای انجام فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف در انگور متفاوت است. بیشترین تأثیر آن‌ها از راه تأثیر بر تقسیم‌بندی متابولیت‌های اولیه و ثانویه به‌دست‌آمده از نورساخت (فتوسنتز) مانند کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، پروتئین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و ترکیب‌های معطر صورت می‌گیرد (Bravdo *et al*., 2000).

نانوکودها با داشتن خاصیت رهایش تدریجی عنصرها با نیاز غذایی گیاه منطبق و هماهنگ می‌شوند، لذا گیاه قادر به جذب بیشترین میزان مواد غذایی بوده و در نتیجه ضمن کاهش آبشویی عنصرها، کاهش مصرف انرژی، صرفه‌جویی در هزینه‌های تولید و جلوگیری از چالش‌های زیست‌محیطی، عملکرد محصول نیز افزایش می‌یابد. (Naderi & Danesh-Shahraki, 2013). کودهای نانوکپسوله با استفاده از نانوذرات می‌تواند ضمن جذب راحت‌تر، اثرپذیری بیشتری بر میزان تولید گذاشته و حتی در مواقع خاص در مقابل بروز رویدادهای غیرمترقبه مانند خشکسالی اثرگذار باشند. پایداری نانوکمپلکس در اسیدی‌ترین تا قلیایی‌ترین محیط‌ها و خاک‌ها بوده و همچنین باعث تحرک بیشتر آن در خاک و گیاه شده و در نتیجه بهترین بهره‌وری را خواهد داشت (Rasouli *et al*., 2013). امروزه با استفاده از فناوری نانو و نانوکودهای کلات عنصرهای پرمصرف و کم‌مصرف مورد نیاز گیاهان فرصت‌های جدیدی را به‌منظور افزایش بازدهٔ کاربرد عنصرهای غذایی و افزایش رشد گیاه و در نتیجه افزایش متابولیت‌های ثانویهٔ موجود در گیاهان می‌توان گشود (Chinnamuthu & Boopathi, 2009).

یکی از مهم‌ترین عنصرها و مواد کانی پرمصرف انگور، پتاسیم است. پتاسیم به نام عنصر کیفیت در بین متخصصان تغذیه مشهور است و در گیاه نقش کاتالیزوری بازی می‌کند. درواقع پتاسیم با فعال کردن آنزیم‌هایی که کاتالیزورهای ساخت نشاسته و پروتئین‌ها هستند، سبب بهبود کیفیت می‌شود (Khold-e-barin & Islamzadeh, 2005). پتاسیم در نورساخت، تنظیم اسمزی، رشد یاخته‌ای، تنظیم روزنه‌های گیاه، بارگیری هیدروکربن‌های ساخته‌شده در برگ‌ها به آوندهای آبکش و انتقال آن‌ها در گیاه، تعادل آنیون‌ها و کاتیون‌ها و همچنین به‌عنوان کاتیون همراه در انتقال نیتروژن نقش دارد (Amiri *et al*., 2014). این موضوع احتمال دارد مربوط به فرآیند فسفرزایی نوری (فتو فسفریلاسیون) و انتقال الکترون نورساختی در گیاهانی باشد که به‌خوبی یون پتاسیم دارند (Graham, 2003).

اسید هیومیک نقش مهمی در تغذیهٔ درختان میوه به‌ویژه در خاک‌های ایران دارد و با داشتن میزان زیادی از گروه‌های اسید ضعیف در ساختمان مولکولی خود می‌توانند pHهای قلیایی را اصلاح کند (Karakut *et al*., 2009) و با کلات کردن عنصرهای ضروری سبب افزایش جذب عنصرها شده، در نتیجه باروری و تولید در گیاهان را افزایش داده (Thaipong *et al*., 2006) و موجب افزایش سبزینه (کلروفیل)های برگ (Bahrami *et al*., 2015) و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز (Raad *et al*., 2014) شود.

ترکیب‌های فنولیک در تعیین کیفیت میوهٔ انگور نقش مهمی دارند و چون این ترکیب‌ها بر ویژگی‌هایی مانند عطر، طعم، تلخی و گسی میوه نقش دارند، میزان و فعالیت آن‌ها در میوه‌های انگور بسیار مورد توجه است (Benvenuti *et al*., 2004). با افزایش pH

و رشد حبهٔ انگور به‌طور عمده به دلیل گسترش یاخته‌ها و تجمع قندها، آنتوسیانین‌ها و ترکیب‌های افزایش‌دهندهٔ عطروطعم مشخص می‌شود (Agudelo *et al*., 2014). فلاونوئیدها موجب اعمال فرآیندهای فیزیولوژیکی و بوم‌شناختی (اکولوژیکی) مختلف در گیاهان می‌شوند و به‌عنوان بزرگ‌ترین گروه ترکیب‌های حلقوی اکسیژن‌دار شناخته شده‌اند (Kafi *et al*., 2002). میزان فنول کل بذر و حبهٔ انگور با توجه به رقم، ترکیب خاک، آب‌وهوا، منطقهٔ جغرافیایی عملیات کشاورزی و وجود بیماری‌هایی مانند آلودگی قارچی متفاوت است (Hernandez *et al*., 2009). افزایش نور، میزان تولید فنول را در گیاه به‌وسیلهٔ افزایش فعالیت آنزیم‌ها به‌ویژه فنیل آلانین آمونیا لیاز که نقش مهمی را در تبدیل فنیل آلانین به اسید کوماریک که پیش نیاز مولکول‌های درگیر در تولید ترکیب‌های فنولیکی در گیاه است افزایش می‌دهد (Valamoti *et al*., 2008).

گیاهان برای رویارویی با گونه‌های فعال اکسیژن بسته به ظرفیت ژنتیکی‌شان سامانهٔ دفاع پاداکسندگی (آنتی‌اکسیداتیو) را در خود گسترش می‌دهند. در این میان آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) نقش مهمی در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن از طریق یک چند واکنش‌های پیچیده ایفا می‌کنند (Mittler *et al*., 2004). تولید ROS [1] وابسته به‌شدت تنش و شرایط فیزیکو شیمیایی درون‌یاخته است. اکسیژن فعال عامل زیان‌بخشی است که باعث پراکسیداسیون تدریجی ساختارهای چربی یا لیپیدی (Baryla *et al*., 2000)، غیرفعال‌سازی آنزیم‌های پاداکسنده (Teisseire & Guy, 2000) و آسیب اکسایشی (اکسیداتیو) DNA (Skorzynska-Polit *et al*., 2004) می‌شود. باوجود این طی سال‌های اخیر شواهد زیادی از دخالت ROS و محصولات اکسیژنهٔ آن در واکنش‌های آبشاری سیگنال انتقالی[2] به‌دست‌آمده است (Naill, 2002). بافت‌های گیاهان از آنزیم‌های جاروکنندهٔ SOD ROS (سوپراکسید دیسموتاز)، CAT (کاتالاز)، POX (پراکسیداز)، APX (آسکوربات پراکسیداز) و GPX (گلوتاتیون پراکسیداز)) و شبکه‌ای از پاداکسنده‌ها با وزن مولکولی کم (آسکوربات، گلوتاتیون، ترکیب‌های فنولی، توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها) تشکیل شده‌اند که به ترتیب سامانه‌های آنزیمی و پاداکسندگی را تشکیل می‌دهند (Bar-Akiva, 1975).

کاربرد سولفات پتاسیم موجب افزایش غلظت پروتئین‌ها در انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' شد (Karimi *et al*., 2014). در بررسی کاربرد پتاسیم روی انگور رقم 'پرلت'، موجب افزایش سبزینه‌ها نسبت به تاک‌های شاهد شد (Singh, 2002). نتایج بررسی تأثیر سولفات پتاسیم با غلظت ۳ گرم در لیتر موجب افزایش ظرفیت پاداکسندگی انگور به میزان ۲/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰گرم رقم 'رشه' شد (Zareii *et al*., 2013). با افزایش پتاسیم در حبه‌های انگور میزان آنتوسیانین‌ها افزایش می‌یابد (Delgado *et al*., 2004). همچنین در هلو کاربرد برگی پتاسیم باعث افزایش سبزینه‌ها شد (Yamdagni *et al*., 1979). کاربرد پتاسیم در پرتقال، موجب افزایش اسیدهای آمینه و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (Bar-Akiva, 1975). کاربرد اسید هیومیک به‌صورت محلول‌پاشی روی سیب رقم 'گرانی اسمیت'(Bahrami *et al*., 2014) و میوهٔ توت‌فرنگی (Ameri & Tehranifar, 2012) افزایش میزان سبزینه‌ها را نشان داد. در میوهٔ توت‌فرنگی کاربرد هیومیک اسید میزان آنتوسیانین‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Shehata *et al*., 2011). کاربرد برگی اسید هیومیک موجب افزایش ترکیب‌های فنولی و ظرفیت پاداکسندگی در انار ملس ساوه (Anaraki *et al*., 2016) شد. همچنین اسید هیومیک ۲ و ۴ درصد بر فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی خرما اثر گذاشته و موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز شد (Raad *et al*., 2014).

با توجه به اهمیت خواص کیفی انگور، هدف از انجام این تحقیق بررسی محلول‌پاشی سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک بر میزان رنگیزه‌ها، فعالیت پاداکسندگی و برخی عامل‌های فیزیولوژیکی برگ و میوهٔ انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' در شرایط تاکستان بود.

1. Reactive oxygen species
2. Transduction

مواد و روش‌ها

در پایان زمستان سال ۱۳۹۳ شمار ۲۱ تاک انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' با شرایط رشد و هرس یکنواخت در یک قطعه تاکستان مادری شش‌ساله واقع در روستای رضوانکده از توابع شهرستان ملایر (عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و۳۰ دقیقهٔ شمالی، ارتفاع ۱۵۵۰ متر از سطح دریا) در جنوب استان همدان، انتخاب و نشانه‌گذاری شد. برای اندازه‌گیری بافت خاک، میزان اسیدیته، هدایت الکتریکی، میزان مادهٔ آلی و اندازه‌گیری عنصرهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم نمونه‌های خاک از عمق ۳۰- ۰و ۶۰-۳۰ سانتی‌متری تهیه و به آزمایشگاه تجزیهٔ خاک منتقل شد. در آغاز تجزیه داده‌ها با استفاده از طرح بلوک انجام شد. اما به دلیل اختلاف کم بین بلوک‌های ناشی از یکدستی و یکنواختی خاک باغ پیش از احداث آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار (سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک) و هر تیمار در سه سطح (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سه تکرار تجزیه شد.

محلول‌های تهیه‌شده از کودهای سولفات پتاسیم با نام تجاری سولوپتاس، ترکیبی پودری و به‌کلی قابل‌حل در آب، تشکیل‌شده از ۴۵ درصد SO_3 و ۵۲ درصد K_2O (ساخت شرکت پومد ایران) بود. همچنین نانوکلات پتاسیم دارای ۲۷ درصد پتاسیم کلات‌شده و به‌صورت پودری و به‌کلی محلول در آب و قابل استفاده (ساخت شرکت خضراء ایران) برای محلول‌پاشی استفاده شد. اسید هیومیک با نام تجاری هومی فولیک، ترکیبی مایع همراه با مقادیر بالای اسید هیومیک و مواد آلی ارگانیک (ساخت شرکت پارس یزد ایران) که حاوی ۳۲ درصد اسید هیومیک و اسیدفولیک، ۴۲ درصد مواد آلی، ۱۲ درصد پتاسیم و ۱۴ درصد از دیگر عنصرها بود در این پژوهش به‌صورت محلول‌پاشی استفاده شد. محلول‌پاشی تیمارهای یادشده شامل یک مرحله پیش از گلدهی (۸ خرداد)، دو هفته پس از تشکیل میوه (۲۷ خرداد) و یک ماه پس از مرحلهٔ دوم (۲۷ تیرماه) با استفاده از یک سم‌پاش ۱۰ لیتری تا مرحلهٔ آب چک هنگام غروب روی تاک‌ها صورت گرفت. برای افزایش بازدهٔ جذب، ۰/۲درصد مویان (توویین ۲۰) به محلول تیمارهای مورد استفاده اضافه و محلول‌پاشی انجام شد. تاک‌های شاهد با محلول آب و مویان محلول‌پاشی شد. در طول آزمایش تاک‌ها به روش سنتی (غرقابی جوی و پشته) هر دو هفته یک‌بار آبیاری شدند. پس از گردآوری برگ‌ها در تاریخ ۱۵ مردادماه و میوه‌ها در تاریخ ۱۵ شهریور (سال‌های ۱۳۹۴و ۱۳۹۵) از تاک‌های تیمارشده برداشت و برای انجام تجزیه‌های مختلف که به ترتیب در زیر به آن‌ها اشاره شده، استفاده شد.

سنجش میزان سبزینه‌های برگ

در آغاز میزان ۰/۵ گرم از برش (دیسک)های تهیه‌شده از برگ تازه را در هاون حاوی استون ۸۰ درصد کامل سائیده سپس در دستگاه سانتریفیوژ (مدل Hettich –UNIVERSAL 320/320 R کشور آلمان) با سرعت۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه قرار داده شد. عصارهٔ شناور ناشی از سانتریفیوژ را جدا کرده و جذب عصارهٔ به‌دست‌آمده با دستگاه طیف‌سنج نوری یا اسپکتروفتومتر (2000 SPEKOL - Analytik Jena AG -کشور آلمان) در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای سبزینه‌های a ، ۶۴۵ نانومتر برای سبزینه‌های b و ۴۷۰ برای کارتنوئیدها خوانده شد. درنهایت با استفاده از رابطه‌های زیر میزان سبزینه‌های a، b، سبزینهٔ کل و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد. در رابطه‌های زیر (۱، ۲، ۳و ۴) V حجم نمونهٔ استخراج‌شده و W وزن تر نمونه است (Arnon, 1967).

$$\text{سبزینهٔ } a = [(19.3\times A663)-(0.86\times A645)]\times V/1000W \quad (۱)$$

$$\text{سبزینهٔ } b = [(19.3\times A645)-(3.6\times A663)]\times V/1000W \quad (۲)$$

$$\text{سبزینهٔ } ab = [(20.2\times A645) + (8.02\times A663)]\times V/1000W \quad (۳)$$

$$\text{کاروتنوئید} = [(1000\times A470)-(1.8\times mgchl.a) - (85/02\times mg\ chl.b)/198] \quad (۴)$$

سنجش میزان آنتوسیانین‌های برگ‌ها و میوه‌ها

میزان ۰/۱ گرم از برگ‌ها و میوه‌های تازهٔ گیاه برداشته و در ۱۰میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول و کلریدریک اسید به نسبت ۹۹ به ۱) عصاره گیری شد. عصارهٔ گیاهی تولیدی به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت و سپس جذب طیف‌سنج نوری نمونه‌ها در ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از ضریب خاموشی معادل $mol^{-1}\ cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ محاسبه شد (Wagner, 1979).

سنجش غلظت پتاسیم برگ و میوه

برای اندازه‌گیری عنصر پتاسیم برگ‌ها و میوه‌ها در آغاز نمونه‌های تهیه‌شده از برگ‌ها و میوه‌ها در دمای ۷۵ درجهٔ سلسیوس برای مدت ۷۲ ساعت خشک و آسیاب شدند. آنگاه غلظت عنصر پتاسیم به‌طور جداگانه به روش هضم تر با اسید نیتریک غلیظ ۶۵ درصد (Abdel-Shafey *et al*., 1998) و سپس به روش نشر شعله‌ای با استفاده از دستگاه نورسنج شعله‌ای (فلیم فتومتر 405 G, Iran) اندازه‌گیری شد. درنهایت با استفاده از منحنی استاندارد به‌دست‌آمده از غلظت‌های مختلف برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

سنجش میزان فلاونوئیدهای برگ‌ها و میوه‌ها

میزان ۰/۲ گرم نمونه گیاهی را با ترازوی با دقت هزارم گرم وزن کرده و در ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱) در هاون چینی خوب سائیده و به مدت پانزده دقیقه با دورrpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از صاف کردن، محلول رویی به مدت ده دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن، توسط دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۳۳۰ نانومتر خوانده شد (Krizek, 1970).

اندازه‌گیری میزان ترکیب‌های فنولی برگ‌ها و میوه‌ها

۰/۱ گرم از بافت تازهٔ برگ و میوه را در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد سابیده و به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. پس از آن به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب مقطر دو بار تقطیر شده، حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتیو ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد و مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگهداری و بعد درصد جذب هر نمونه در طول‌موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و درنهایت با استفاده از منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف اسید گالیک برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر تعیین شد (Seevers & Dal, 1970).

اندازه‌گیری ظرفیت پاداکسندگی میوه

به‌منظور اندازه‌گیری ظرفیت پاداکسندگی ۰/۵ گرم از بافت میوه را با ۴ سی‌سی متانول ۸۰ درصد همگن و مخلوط حاصل در ۶۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی را با ۳۴۰۰ میکرولیتر محلول DPPH[1] مخلوط کرده و محلول حاصل را به مدت ۲ ساعت در شرایط تاریکی نگهداری کرده و سپس میزان جذب نوری آن در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد (Faniadis *et al*., 2010).

استخراج عصارهٔ پروتئینی میوه

میزان ۰/۵ گرم از بافت میوه با ۵ میلی‌لیتر بافر مخلوط شد. محلول همگن حاصل در دمای ۴ °C به مدت ۲۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور با سانتریفیوژ یخچال دار (مدل Z326K شرکت ویتاطب کوشا نمایندهٔ کمپانی Hettich کشور آلمان) سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ها را با ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد مخلوط و لوله‌ها تکان (ورتکس) داده شدند. درنهایت پس از بیست دقیقه توسط طیف‌سنج نوری جذب هر یک در ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1978). از عصارهٔ پروتئینی حاصل نیز برای بررسی میزان فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

1. Di phenyl picryl hydrazyl

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه

در آغاز در هر دو کوئت نمونه میزان ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ریخته و به آن‌ها ۴/۵۱ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد و میزان ۳/۳۵ میکرولیتر مادهٔ گایاکول اضافه شد. سپس به کوئت نمونه میزان ۵۰ میکرولیتر از عصارهٔ گیاهی اضافه و بی‌درنگ تغییرپذیری جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه خوانده شد (Herzog & Fahimi, 1973).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز میوه

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (Bergmeyer, 1974) و آسکوربات پراکسیداز (Nakano & Asada, 1981)، در آغاز در هر دو کوئت شاهد و نمونه میزان ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ریخته و به آن‌ها میزان ۴/۵۱ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد اضافه و به کوئت نمونه میزان ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی اضافه شد. سپس تغییرات جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نمونه‌ها در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میوه

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر پایهٔ تبدیل تترازولیوم کلراید به فورمازان در حضور نور و تشکیل رنگ، در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از طیف‌سنج نوری خوانده شد (Giannopolitis & Ries, 1977).

تجزیهٔ آماری داده‌ها

اگرچه آزمایش طی دو سال انجام شد اما به دلیل سرمازدگی و تشکیل نشدن مناسب میوه تنها داده‌های یک سال ملاک تجزیهٔ آماری شد. داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (9.1) تجزیه و مقایسهٔ میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیهٔ خاک محل اجرای تحقیق در عمق ۳۰-۰ و ۶۰-۳۰ سانتی‌متر با نمونه‌برداری صحیح و اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و به‌ویژه غلظت عنصرهای غذایی قابل جذب در خاک نشان داد، خاک منطقه بافتی سیلتی با اسیدیته و هدایت الکتریکی مناسب داشته است. با توجه به اینکه باغ انگور باید در شرایطی کشت شود که نیازهای معمول آن برای رشد و افزایش عملکرد تأمین شود، خاک این منطقه نیز با داشتن میزان مناسب عنصرهای غذایی به‌ویژه پتاسیم هیچ‌گونه کمبودی نداشته است. بنابراین استفاده از کودهای پتاسیمی با توجه به نتایج موجود (جدول ۱) برای بررسی عامل‌های مختلف در انگور بیدانهٔ سفید می‌تواند مؤثر واقع شود.

تجزیهٔ آماری داده‌ها نشان داد، به ترتیب تیمار اسید هیومیک بر میزان سبزینه‌های (a) در سطح احتمال ۵ درصد، تأثیر سولفات پتاسیم بر سبزینهٔ کل در سطح احتمال ۱درصد و تأثیر نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک بر این شاخص در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار شد. به‌طوری‌که در تیمار اسید هیومیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین میزان سبزینه‌های (a) با میزان ۱/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کمترین در شاهد با میزان ۰/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول ۲). همچنین بیشترین میزان سبزینهٔ کل مربوط به تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلات پتاسیم (۱/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین در تیمار شاهد (۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد (جدول ۲). کاربرد اسید هیومیک در سیب رقم 'گرانی اسمیت' موجب افزایش سبزینه‌های (a) (Bahrami *et al.*, 2015) شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. در بررسی روی انگور کاربرد پتاسیم موجب افزایش سبزینه نسبت به تاک‌های شاهد شد (Singh, 2002). همچنین در هلو، کاربرد برگی پتاسیم باعث افزایش سبزینهٔ کل شد که با نتایج این تحقیق همسو است (Yamdagni *et al.*, 1979). افزایش قابل توجه غلظت سبزینه‌ها با کاربرد اسید هیومیک می‌تواند به دلیل افزایش جذب عنصرهای غذایی توسط گیاه مانند نیتروژن و در نتیجه افزایش رشد رویشی و درنهایت موجب افزایش سبزینگی گیاه نسبت به شاهد شود (Sabzevari & Khazaei, 2008). پتاسیم نیز از راه اثر مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر سوخت‌وساز (متابولیسم)

یاخته‌های گیاهی و افزایش سطح برگ و تنظیم باز شدن روزنه‌ها موجب افزایش غلظت سبزینه‌های برگ شده و ظرفیت نورساخت را بالا می‌برد (Yamdagni *et al.*, 1979). افزایش ظرفیت نورساختی می‌تواند در صورت مساعد بودن دیگر عامل‌ها و شرایط محیطی موجب افزایش عملکرد گیاه شود.

تیمارهای سولفات پتاسیم، نانو کلات پتاسیم و اسید هیومیک بر میزان کاروتنوئیدهای برگ تأثیر معنی‌داری نداشتند. تأثیر تیمارهای سولفات پتاسیم و نانوکلات پتاسیم بر میزان آنتوسیانین‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. تیمار اسید هیومیک تأثیری بر میزان آنتوسیانین‌های برگ نداشت. با این وجود بیشترین میزان آنتوسیانین‌های برگ (۲/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در تیمار سولفات پتاسیم و نانوکلات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین در تیمار اسید هیومیک با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و میزان آنتوسیانین برگ در تیمار شاهد۱/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه به دست آمد (جدول ۲). تیمارهای سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین غلظت آنتوسیانین‌های میوه (۲/۴میلی‌گرم برگرم وزن تازه) و کمترین میزان در تاک‌های تیمارشده با اسید هیومیک با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و شاهد (۱/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) را نشان دادند (جدول ۲). آنتوسیانین‌ها بسیار ناپایدار بوده و تحت تأثیر برخی عامل‌ها از جمله قندها و عنصرهای غذایی، پایداری آن افزایش می‌یابد. ازآنجاکه پتاسیم از راه تأثیر و تنظیم فشار اسمزی موجب افزایش قندها و انتقال بهتر عنصرها به نقاط مختلف گیاه می‌شود، هنگامی‌که میزان پتاسیم افزایش یابد میزان قند بالا رفته و در نتیجه میزان آنتوسیانین افزایش می‌یابد (Francis, 1989) که نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نیز تأییدکنندهٔ این موضوع بود (جدول ۲).

با توجه به نتایج تجزیهٔ آماری تأثیر تیمارهای سولفات پتاسیم و نانو کلات پتاسیم بر میزان غلظت پتاسیم برگ‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد و تیمار اسید هیومیک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵درصد نشان داد. نتایج جدول مقایسهٔ میانگین (جدول۳) گویای افزایش خطی غلظت پتاسیم برگ با افزایش غلظت تیمارها از ۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر است. به‌طوری‌که بیشترین غلظت پتاسیم در بوته‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات پتاسیم (۵/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین در تیمار شاهد (۲/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) به دست آمد.

جدول ۱. نتایج تجزیهٔ نمونهٔ خاک محل اجرای تحقیق

Table 1. Analysis of soil samples of experiment location

Row	Depth of sampling	pH	E.C (des/m)	Calcic (%)	Organic (%)	Nitrogen (%)	Phosphorus (mg/kg)	potassium (mg/kg)	Soil pattern		
									Silt (%)	Sand (%)	Clay (%)
1	0-30	7.5	0.68	22.4	1.02	0.08	7.2	250	50	17	33
2	30-60	7.5	0.43	20.8	0.98	0.06	5.7	194	50	17	33

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین اثر سطوح مختلف سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و اسید هیومیک بر رنگیزه‌های نورساختی برگ و آنتوسیانین برگ و میوهٔ انگور رقم 'بیدانهٔ سفید'

Table 2. comparisons Mean of different levels (0, 1000 and 2000 mg/lit) potassium sulfate, potassium nano chelate and humic acid of on photosynthetic pigments and Anthocyanin in leaves and fruit grape cultivar 'Bidane Sefid'

Treatment	Leaf					Fruit
	Chlorophyll (a) (mg/g FW)	Chlorophyll (b) (mg/g FW)	Chlorophyll (ab) (mg/gFW)	Carotenoid (mg/g FW)	Anthocyanin (mg/g FW)	Anthocyanin (mg/g FW)
Control (0 mg/lit)	$0.9^{c}\pm0.01$	$0.27^{b}\pm0.03$	$0.66^{c}\pm0.02$	$6.55^{a}\pm1.01$	$1.73^{b}\pm0.01$	$1.83^{b}\pm0.05$
Potassium sulfate (mg/lit 1000)	$1.3^{b}\pm0.02$	$0.41^{a}\pm0.09$	$1.4^{ab}\pm0.02$	$7.45^{a}\pm1.01$	$2.1^{a}\pm0.3$	$2.4^{a}\pm0.04$
Potassium sulfate (mg/lit 2000)	$0.1^{c}\pm0.01$	$0.32^{ab}\pm0.07$	$1.4^{ab}\pm0.025$	$5.41^{b}\pm0.79$	$1.76^{b}\pm0.05$	$1.86^{b}\pm0.02$
Nano chelate Potassium (mg/lit 1000)	$1.2^{ab}\pm0.03$	$0.33^{ab}\pm0.06$	$1.6^{a}\pm0.035$	$6.21^{ab}\pm1.11$	$2.1^{a}\pm0.01$	$2.4^{a}\pm0.03$
Nano chelate Potassium (mg/lit 2000)	$1.3^{b}\pm0.026$	$0.36^{a}\pm0.05$	$1.5^{ab}\pm0.032$	$7.27^{a}\pm1.1$	$1.98^{a}\pm0.03$	$1.8^{b}\pm0.01$
Humic acid (mg/lit 1000)	$1.5^{a}\pm0.02$	$0.31^{a}\pm0.01$	$1.1^{b}\pm0.02$	$7.38^{a}\pm1.04$	$1.66^{bc}\pm0.02$	$2.4^{a}\pm0.04$
Humic acid (mg/lit 2000)	$1.6^{a}\pm0.17$	$0.27^{b}\pm0.03$	$1.3^{ab}\pm0.02$	$7.59^{a}\pm0.66$	$1.56^{c}\pm0.01$	$1.63^{c}\pm0.02$

مقایسهٔ میانگین‌ها (میانگین سه تکرار± انحراف معیار) بر پایهٔ آزمون دانکن P≤۰/۰۵.

Mean (average of three replicates ± SD) by Duncan P≤0.05

حرف‌های غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح۵ درصد است.

Different letters in each column significantly different at the level of 5%.

همچنین تیمارهای سولفات پتاسیم و نانوکلات پتاسیم موجب افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم میوه در سطح احتمال ۵درصد شد و تأثیر اسید هیومیک بر غلظت پتاسیم میوه‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. همان‌طور که جدول مقایسهٔ میانگین‌ها (جدول۳) نشان می‌دهد که بالاترین غلظت پتاسیم میوه در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلات پتاسیم (۳/۱۳ میلی‌گرم برگرم وزن خشک) و پایین‌ترین در تیمار شاهد (۱/۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) به دست آمد. محلول‌پاشی اسید هیومیک با غلظت ۳درصد در انگور 'پیکانی' هم‌راستا با این تحقیق باعث افزایش پتاسیم برگ نسبت به شاهد شد (Pozeshi *et al*., 2012). در انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' کاربرد برگی سولفات پتاسیم موجب افزایش غلظت پتاسیم شد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Sarikhani &pouya, 2014). پتاسیم به دلیل نقش در تنظیم اسمزی و آسانگری انتقال فرآورده‌های حاصل از نورساخت باعث بهبود انتقال و جاگیری عنصرها می‌شود. بنابراین غلظت پتاسیم در برگ افزایش می‌یابد (Keller, 2010). اسید هیومیک می‌تواند خاصیت اسیدی ایجاد کرده و در نتیجه میزان دسترسی عنصرها را افزایش دهد. افزایش پتاسیم برگ را می‌توان به دلیل وجود K_2O در ترکیب اسید هیومیک به‌کاررفته و افزایش اسیدیتهٔ این محلول دانست، زیرا پتاسیم در محیط با اسیدیتهٔ بالا به دلیل ناقل‌های غشای یاخته‌ای که در pH بالا بهتر فعالیت می‌کنند، بهتر جذب می‌شود (Sanchez Sanchez *et al*., 2006).

تجزیهٔ آماری داده‌ها نشان داد، تیمارهای سولفات پتاسیم، نانو کلات پتاسیم و اسید هیومیک بر میزان فلاونوئیدهای برگ‌ها تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشتند. میزان فلاونوئیدهای برگ‌ها تحت تأثیر تیمارهای سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک افزایش یافت. به‌طوری‌که همزمان با افزایش غلظت تیمارها از ۰ به ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان فلاونوئیدهای برگ‌ها افزایش پیدا کرد. با افزایش غلظت به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان فلاونوئید برگ کاهش یافت. بیشترین غلظت فلاونوئید های برگ‌ها در تاک‌های تیمار شده با اسید هیومیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و کمترین در تیمار شاهد (۰/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) به دست آمد (جدول۳). همچنین نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ آماری فلاونوئیدهای میوه‌ها نشان داد، تأثیر اسید هیومیک بر این شاخص در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار شد. تأثیر سولفات پتاسیم و نانوکلات پتاسیم نیز در سطح احتمال ۵درصد تأثیر معنی‌داری داشتند. بالاترین غلظت فلاونوئیدهای میوه‌ها در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (۱/۹ میلی‌مولار بر گرم وزن تازه) و کمترین در تاک‌های شاهد (۰/۶میلی‌مولار بر گرم وزن تازه) به دست آمد (جدول۳). در بررسی کاربرد برگی پتاسیم موجب افزایش فلاونوئیدهای برگ‌ها در زیتون شد (Restrepo *et al*., 1959). در عناب نیز پتاسیم به‌عنوان یک مادهٔ مغذی موجب افزایش غلظت فلاونوئید برگ عناب شده است (Chen *et al*., 2013). از مهم‌ترین دلایل اهمیت فلاونوئیدها در عملکرد آن‌ها در سامانه‌های دفاعی است. عامل‌های محیطی تأثیر به‌سزایی در فعالیت فلاونوئیدها دارند. به نظر می‌رسد که تیمار پتاسیم به‌عنوان یک عامل محیطی در برگ است که به دلیل داشتن فعالیت فیزیولوژیکی بالا در ساختمان گیاه و کاهش مصرف آب موجب افزایش فلاونوئید می‌شود (Restrepo *et al*., 1959). اسید هیومیک می‌تواند درجهٔ باز بودن روزنه‌های برگ را برای کم کردن تبخیر آب کاهش دهد، به‌طوری‌که گیاهان و خاک با نگه داشتن میزان آب، نسبت به خشکی و سرما مقاوم می‌شوند. بنابراین گیاه احساس وجود تنش را پیدا کرده و در نتیجه برای رویارویی با تنش سامانهٔ دفاعی گیاه از جمله فلاونوئیدها فعال شده و افزایش می‌یابد (Ameri & Tehranifar, 2012).

تأثیر سولفات پتاسیم بر غلظت فنول‌های برگ در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار شد. تأثیر تیمارهای اسید هیومیک و نانوکلات پتاسیم بر غلظت فنول‌های برگ تأثیر معنی‌داری نداشت. بیشترین غلظت فنول‌های برگ مربوط به تاک‌های تیمارشده با غلظت

۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (۴۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تازه) و کمترین فنول‌های برگ در تیمار سولفات پتاسیم با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۳/۴ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تازه) به دست آمد. درحالی‌که فنول‌های برگ در تیمار شاهد با میزان ۳۴/۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تازه بود (جدول۳). نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ آماری داده‌های فنول‌های میوه نشان داد، تأثیر سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که بیشترین غلظت فنول‌های میوه در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (۶۷/۴ میلی‌گرم اسید گالیک برگرم وزن تازهٔ میوه) و کمترین غلظت فنول‌های میوه در تیمار شاهد (۲۵/۱ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تازهٔ میوه) به دست آمد (جدول۳). نتایج به‌دست‌آمده از افزایش فنول‌های برگ با تیمار سولفات پتاسیم با نتایج بررسی‌های انجام‌شده در انگور (Karimi *et al.*, 2014) و کاربرد اسید هیومیک بر انار ملس ساوه (Anaraki *et al.*, 2016) همسو است. برخی گیاهان سامانهٔ دفاعی با کارایی بالا دارند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند، این سامانهٔ دفاعی شامل مواد پاداکسندگی از جمله ترکیب‌های فنولی است که در نتیجهٔ کاربرد پتاسیم به دلیل کاهش مصرف آب و در دسترس قرار دادن عنصرها ایجاد می‌شود و کیفیت میوهٔ انگور را بالا برده، در نتیجه غلظت فنول افزایش می‌یابد (Karimi, 2014). ترکیب‌های هیومیکی نیز به دلیل باز نگه داشتن روزنه‌ها و مقاوم کردن گیاه نسبت به کم‌آبی ایجاد تنش در گیاه کرده و در نتیجه غلظت فنول به دلیل افزایش فعالیت دفاعی گیاه افزایش می‌یابد (Ameri & Tehranifar, 2012). بنا بر نتایج این تحقیق افزایش فنول‌های انگور در نتیجهٔ تیمارهای اعمال‌شده می‌تواند موجب بالا رفتن خواص ضد سرطانی انگور نیز شود.

بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ آماری تأثیر نانوکلات پتاسیم بر ظرفیت پاداکسندگی میوه در سطح احتمال ۱درصد و تأثیر سولفات پتاسیم و اسید هیومیک در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار شد. به‌طوری‌که ظرفیت پاداکسندگی میوه با افزایش غلظت تیمارهای سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک از ۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت. بیشترین ظرفیت پاداکسندگی میوه در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (۱۲۶/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)، غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات پتاسیم (۱۰۴/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلات پتاسیم (۱۰۸/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و کمترین ظرفیت پاداکسندگی میوه در تاک‌های شاهد (۶۷/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) بود (جدول۴).

جدول ۳. جدول مقایسهٔ میانگین تأثیر سطوح مختلف (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک بر غلظت فلاونوئید و فنول برگ و میوهٔ انگور رقم 'بیدانهٔ سفید'

Table 3. comparisons Mean of different levels (0, 1000 and 2000 mg/lit) potassium sulfate, potassium nano chelate and humic acid on the concentration of flavonoids and phenolic leaf and fruit grape cultivar 'Bidane Sefid'

Treatment	Fruit			Leaf		
	Potassium (mg/g DW)	Phenols (mg acid G/g FW)	Flavonoids (mg/g FW)	Potassium (mg/g DW)	Phenols (mg acid G/g FW)	Flavonoids (mg/g FW)
Control (0 mg/lit)	1.6^{b}±0.7	25.1^{b}±0.54	0.6^{b}±0.03	2.8^{c}±0.034	34.7^{b}±0.4	0.7^{c}±0.02
Potassium sulfate (mg/lit 1000)	2.76^{a}±0.4	48^{a}±1.8	1.7^{a}±0.05	3.98^{b}±0.87	29.7^{c}±0.28	1.1^{a} ±0.09
Potassium sulfate (mg/lit 2000)	2.62^{a}±0.33	41^{a}±0.7	1.6^{a}±0.03	5.56^{a}±0.23	13.4^{d}±0.29	0.93^{b}±0.01
Nano chelate Potassiu (mg/lit 1000)	3.03^{a}±0.79	30.2^{ab}±0.46	1.3^{a}±0.07	4.04^{b}±0.21	41^{ab}±0.9	1.1^{a}±0.01
Nano chelate Potassiu (mg/lit 2000)	3.16^{a}±0.84	47^{a}±1.1	1^{a}±0.02	5.13^{a}±0.3	29.3^{c}±0.4	0.9^{b}±0.01
Humic acid (mg/lit 1000)	2.49^{ab}±0.66	67^{a}±2.39	1.9^{a}±0.02	3.7^{b}±0.45	49^{a}±1.8	1.2^{a}±0.02
Humic acid (mg/lit 2000)	2.08^{ab}±0.2	39^{ab}±0.6	1.2^{a}±0.03	3.46^{b}±0.27	34.2^{b}±0.89	0.9^{b}±0.05

مقایسهٔ میانگین‌ها (میانگین سه تکرار± انحراف معیار) بر پایهٔ آزمون دانکن P≤۰/۰۵.

Mean (average of three replicates ± SD) by Duncan P≤0.05

حرف‌های غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح۵ درصد است.

Different letters in each column significantly different at the level of 5%.

جدول ۴. جدول مقایسهٔ میانگین تأثیر سطوح مختلف (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک بر غلظت پاداکسنده، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی میوهٔ انگور رقم 'بیدانهٔ سفید'

Table 4. Comparisons Mean of different levels (0, 1000 and 2000 mg/lit) of potassium sulfate, potassium Nano chelate and humic acid on the concentration of antioxidants, protein and antioxidant activity of grape cultivar 'Bidane Sefid'

Treatment	Antioxidants Fruit (mg/g FW)	Protein Fruit (mg/g FW)	Peroxidase Fruit (µm/min.mg protein)	Catalase Fruit (µm/min.mg protein)	Ascorbate Fruit (µm/min.mg protein)	Superoxide dismutase Fruit (µm/min.mg protein)
Control (0 mg/lit)	$67.66^{b}\pm10.78$	$107.5^{b}\pm12.52$	$0.028^{c}\pm0.01$	$18.37^{b}\pm1.58$	$8.04^{c}\pm2.4$	$24.80^{c}\pm9.86$
Potassium sulfate (mg/lit 1000)	$104^{a}\pm20.66$	$157.33^{a}\pm15.97$	$0.035^{bc}\pm0.03$	$48^{a}\pm12.48$	$26^{a}\pm6.2$	$74.33^{ab}\pm12.63$
Potassium sulfate (mg/lit 2000)	$101^{a}\pm6.50$	$152.16^{a}\pm29.29$	$0.14^{a}\pm0.04$	$9.92^{c}\pm5.06$	$14.6^{b}\pm3.88$	$56.12^{b}\pm15.77$
Nano chelate Potassium (mg/lit 1000)	$108^{a}\pm30.85$	$94.36^{b}\pm4.92$	$0.073^{b}\pm0.03$	$21.99^{b}\pm6.26$	$29.56^{a}\pm5.94$	$88.63^{a}\pm10.67$
Nano chelate Potassium (mg/lit 2000)	$103^{a}\pm26.27$	$99.15^{b}\pm3.35$	$0.019^{c}\pm0.03$	$14.63^{bc}\pm4.81$	$22.43^{ab}\pm6.04$	$69.64^{ab}\pm18.7$
Humic acid (mg/lit 1000)	$126^{a}\pm23.71$	$148.83^{a}\pm25.16$	$0.14^{a}\pm0.03$	$40.4^{a}\pm12.75$	$16.17^{b}\pm4.9$	$42.46^{bc}\pm14.51$
Humic acid (mg/lit 2000)	$120^{a}\pm16.86$	$127.16^{ab}\pm17.55$	$0.05^{bc}\pm0.02$	$8.25^{bc}\pm3.96$	$19.39^{ab}\pm6.02$	$80.48^{ab}\pm16.95$

Mean (average of three replicates ± SD) by Duncan P≤0.05

مقایسهٔ میانگین‌ها (میانگین سه تکرار± انحراف معیار) بر پایهٔ آزمون دانکن P≤۰/۰۵.

Different letters in each column significantly different at the level of 5%.

حرف‌های غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح۵ درصد است.

با افزایش کربوهیدرات‌ها، ترکیب‌های فنولی با تعادل بین محل مصرف کربوهیدرات‌ها افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که هر جا کربوهیدرات باشد ترکیب‌های فنولی هم بیشتر و ظرفیت پاداکسندگی هم بالاتر می‌رود (Mullera *et al*., 2013). اسید هیومیک نیز از راه ایجاد شرایط مناسب رشد و بالا بردن میزان کربوهیدرات‌ها سبب افزایش تولید برخی از آلکالوئیدها در گیاه و درنهایت منجر به بالا بردن ظرفیت پاداکسندگی می‌شود (Santiago *et al*., 2008). نتایج به‌دست‌آمده برابر با نتایج بررسی تأثیر سولفات پتاسیم روی انگور رقم 'رشه' (Zareii *et al*., 2013) و کاربرد اسید هیومیک بر انار ملس ساوه (Anaraki *et al*., 2016) است.

نتایج تجزیهٔ آماری داده‌ها نشان داد، تأثیر سولفات پتاسیم بر غلظت پروتئین‌های میوه در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار بود. اثر نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری بر غلظت پروتئین‌های میوه نداشت. همان‌طور که از جدول ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت سولفات پتاسیم از ۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت پروتئین‌ها افزایش یافت. بیشترین غلظت پروتئین‌ها در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات پتاسیم (۱۵۷/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و کمترین در تاک‌های تیمارشده با نانوکلات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۹۴/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و تیمار شاهد با غلظت پروتئین‌های (۱۰۷/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) به دست آمد. نتایج به‌دست‌آمده از افزایش پروتئین‌ها با کاربرد سولفات پتاسیم هم سو با نتایج به‌دست‌آمده از کاربرد پتاسیم بر انگور رقم 'سلطانی' (Arshad *et al*., 2006) بود. پتاسیم در آخرین مرحلهٔ فرآیند ساخت پروتئین‌ها شرکت کرده و آن را هدایت می‌کند. لذا درون گیاه هنگامی میزان پتاسیم زیاد می‌شود میزان پروتئین‌ها هم افزایش می‌یابد.

با توجه به نتایج تجزیهٔ آماری تأثیر سولفات پتاسیم و اسید هیومیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۱درصد و نانوکلات پتاسیم در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم پراکسیداز در آغاز با افزایش غلظت سولفات پتاسیم از ۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فعالیت تفاوت معنی‌داری نداشت. اما با افزایش غلظت به ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ناگهان فعالیت آنزیم پراکسیداز به دو برابر رسید. در تیمار اسید هیومیک و نانوکلات پتاسیم نیز بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات پتاسیم (۰/۱۴۲ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (۰/۱۴۹ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) به دست آمد. کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تاک‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (۰/۰۱۴ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) به دست آمد. درحالی‌که فعالیت آنزیم در تاک‌های شاهد ۰/۰۲۸ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول۴). نتایج

برخی پژوهش‌های انجام‌شدهٔ ناشی از کاربرد سولفات پتاسیم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' تحت تیمار سولفات پتاسیم برابر با این نتایج بود (Karimi, 2014; Hadad & Kamangar, 2015). همچنین در تحقیق دیگر کاربرد اسید هیومیک در خرما موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (Raad *et al*., 2014).

با توجه به نتایج تجزیهٔ آماری داده‌ها سولفات پتاسیم و اسید هیومیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱درصد تأثیر معنی‌دار داشتند. تأثیر نانوکلات پتاسیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیر معنی‌داری نداشت. به‌طوری‌که فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش غلظت سولفات پتاسیم و اسید هیومیک از ۰ به ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌سرعت افزایش یافته، اما در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار سولفات پتاسیم با غلظت ۱ گرم در لیتر با میزان ۴۸ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار اسید هیومیک با غلظت ۲ گرم در لیتر با میزان ۸/۲۵ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بود. درحالی‌که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد با میزان ۱۸/۳۷ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین به دست آمد (جدول۴). بر پایهٔ نتایج بررسی‌های کاربرد پتاسیم بر انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' پتاسیم موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد که هم‌راستا با این نتایج است (Hadad & Kamangar, 2015).

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ آماری داده‌ها نشان داد، تأثیر سولفات پتاسیم و نانوکلات پتاسیم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. تأثیر اسید هیومیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که بالاترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به تیمار نانوکلات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میزان ۲۹/۵۶ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان فعالیت مربوط به تیمار شاهد با میزان ۸/۰۴ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول۳). بر پایهٔ نتایج بررسی‌های حداد و کمانگر در انگور، کاربرد پتاسیم همسو با نتایج این تحقیق موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به تاک‌های شاهد شد (Hadad & Kamangar, 2015). پتاسم با فعال کردن آنزیم‌های درگیر در زیست‌ساخت (بیوسنتز) موجب حذف و غیرفعال کردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. در نتیجه با القای سطح پاداکسنده‌های غیر آنزیمی و آنزیم‌های مولکولی، H_2O_2 را به‌طور بالقوه از یاخته‌های گیاهی با استفاده از آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان یک بستر بسیار مهم سم‌زدایی H_2O_2 در موجودهای نورساختی کاهش می‌دهد (Michalak, 2006).

بر پایهٔ نتایج تجزیهٔ داده‌ها تأثیر سولفات پتاسیم، نانو کلات پتاسیم و اسید هیومیک بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک افزایش یافت. به‌طوری‌که با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمارهای به‌کاررفته باعث افزایش دو برابری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات پتاسیم و نانوکلات پتاسیم نیز نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار نانوکلات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میزان ۸۸/۶۳ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار شاهد با میزان ۲۴/۸۰ میکرومول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین به دست آمد (جدول۴). برخی محققان در نتایج بررسی‌های خود با بیان اینکه پتاسیم موجب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاهش آسیب غشا یاخته‌ای می‌شود، یافته‌های همسانی در این زمینه داشتند (Esfandiari *et al*., 2007). اسید هیومیک نیز با بهبود جذب عنصرها سبب افزایش نورساخت و رشد و عملکرد شده و موجب بالا بردن میزان تولید ترکیب‌های نیتروژن‌دار مانند پروتئین‌ها می‌شود و در نتیجه فعالیت آنزیم‌ها در گیاهان افزایش

می‌یابد (Santiago *et al*., 2008). به نظر می‌رسد ترکیب‌های پتاسیم و اسید هیومیک به دلیل فعال کردن آنزیم‌های زیست‌ساخت منجر به افزایش پروتئین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی به‌ویژه سوپراکسید دیسموتاز می‌شوند.

نتیجه‌گیری

افزایش میزان فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، ترکیب‌های فنولی و آنزیم‌های پاداکسنده نسبت به کاربرد تیمارهای اعمال‌شده گواهی بر ارتباط بین تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش تجمع این مواد است. به‌طورکلی کاربرد تیمارهای سولفات پتاسیم، نانوکلات پتاسیم و اسید هیومیک با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش پتاسیم شده و در نتیجهٔ آن میزان و فعالیت پاداکسندگی به‌ویژه آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز افزایش و موجب حذف و غیرفعال کردن گونه‌های فعال اکسیژن شده و با کاهش آسیب به غشاء یاخته‌ای استحکام بافت میوه و کیفیت در انگور رقم 'بیدانهٔ سفید' افزایش می‌یابد. بنابراین به نظر می‌رسد به کاربرد این مواد به‌صورت تجاری به دلیل افزایش کیفیت و صرفهٔ اقتصادی در انگور و دیگر درختان میوه بیشتر توجه شود.

REFERENCES

1. Abdel-Shafey, H. I., Hegemann, W. & Teiner, A. (1994). Digestion with concentrated HNO_3 and H_2O_2. *Environ ManageHealth*, 5, 21-24.
2. Agudelo-Romero, p., Ali, k., Choi, Y., Sousa, L., Verpoorte, R., Tiburcio, A. & Fortes, A. (2014). Perturbation of polyamine catabolism affects grape ripening of *Vitis vinifera* cv. Trincadeira. *Plant Physiology and Biochemistry*, 74, 141-155.
3. Ameri, A. & Tehranifar, A. (2012). Effect of humic acid on nutrient uptake and physiological characteristic. *Fragaria ananassa* var Camarosa. *Biology Environmental Science*, 6, 77-79.
4. Amiri, R., Golvi, M., Ghanbari, A. & Ramroudi, D. (2014). The effect of humic acid on the concentration of some nutrients in the garden cress root (*Lepidium sativum*) under the lead. *First National Congress of Biology and Natural Sciences Iran*. http://www.civilica.com/Paper-BSCONF01- BSCONF01_180.html. (in Farsi)
5. Anaraki, B., Ghasem nejhad, M. & Mighani, H. (2016). The effect of soil and foliar feeding of humic acid on quantitative and qualitative characteristics of pomegranate fruits Malas Saveh. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 62(3).
6. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23,112-121.
7. Arshad, M., Gregorian, V., Mostofi, Y. & Khaliq, A. (2006). The effect of foliar application of nitrogen and potassium on quantitative and qualitative characteristics and physiological factors affecting the fruiting cultivar 'Sultan'. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(3), 135-146. (in Farsi)
8. Bahrami, S., Soleimani, A. & Habibi, F. (2015). The effect of humic acid on the mineral composition leaves, yield and fruit quality apple variety 'Granny Smith' (*Malus domestica L. cv.* Granny Smith). *Journal of Crops*, 17(2), 529-517. (in Farsi)
9. Bar-Akiva, A. (1975). Effect of potassium nutrition on fruit spilitting in Valencia orang. *Journal of Science Horticultural*, 50, 85-89.
10. Baryla, A., Laborde, C., Montillet, J. L., Triantaphylides, C. & Chagvardieff, P. (2000). Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plant exposed to copper. *Environmental Pollution*, 109, 131-135.
11. Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M. & Bertelli, D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*, 69, 164-169.
12. Bergmeyer, H. U., Gawehn, K. & Grassl, M. (1974). In Methods of Enzymatic Analysis (*Bergmeyer, H.U. ED*), 1(2), 473-474.
13. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
14. Bravdo, B. A., Possinghaam, J. V. & Neilen, G. H. (2000). Effect of mineral and salinity on grape production and wine quality. *Acta Horticulturae*, 512, 23-30.
15. Chen, J., Li, Z., Maiwulanjiang, M., Zhang, W. L., Zhan, J. Y. X. & Lam, C. T. W. (2013). Chemical and biological assessment of Ziziphus jujuba fruits from China: Different geographical sources and developmental stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(30), 7315-7324.
16. Chinnamuthu, C. R. & Boopathi, M. (2009). Nanotechnology and Agroecosystem. *Madras Agricultural Journal*, 96, 17-31.

17. de Santiago, A., Lose, M., Carmona, E. & Delgado, A. (2008). Humic substances increase the effectiveness of iron sulfate and vivianite preventing iron chlorosis in white lupin. *Biology and Fertility of Soils*, 44, 875-883.
18. Delgado, R., Matín, P., Alamo, M. & González, M. R. (2004). Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilization rates. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 84, 623-630
19. Esfandiari, E., Shakiba, M. R., Mahboob, S., Alyari, H. & Toorchi, M. (2007). Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5, 149- 153.
20. Faniadis, D., Drogoudi, P. D. & Vasilakakis, M. (2010). Effects of cultivar, orchard elevation, and storage on fruit quality characters of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*.125, 301 -304.
21. Ferancis, Fj. (1989). Food colorants: anthocyanin crit rev. *Food Science and Nutrition*, 28(4), 273-314.
22. Giannopolitis, C. N. & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant Physiology*, 59, 315-318.
23. Graham, S. (2003).Nanotech: It's not easy being green. *Scientific American. Coms nanotechnology chnne*l, http://www.Sciam .com/nanotech.
24. Hadad, R. & Kamangar, A. (2015). The ameliorative effect of silicon and potassium on drought stressed grape (*Vitis vinifera* L.). Leaves. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 4(2).
25. Hernandez-Jimenez, A., Gomez-Plaza, E., Martinez-Cutillas, A. & Kennedy, J. A. (2009). Grape skin and seedproanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 10798-10803.
26. Herzog, V. & Fahimi, H. D. (1973). Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry*, 55, 554-562.
27. Kafi, M., Zand, A., Kamkar, B., Sharifi, H. & Gholdani, M. (2002). *Plant physiology*, University of Mashhad. 379 pages. (in Farsi)
28. Karakut, Y., Unlu, H. & Pedem, H. (2009). The influence of foliar and soil fertilization of humic acid on yield and quality of pepper. *Plant Soil Science*, 59(3), 233-237.
29. Karimi, R. (2014). *Effects of nutrition and abscisic acid on the tolerance to cold in the grapes*. Ph.D. Thesis. Bu Ali Sina University. (in Farsi)
30. Karimi, R., Ershadi, A. & Esna ashari, M. (2014). The Effect of foliar application late season with nitrogen and potassium on cold tolerance dormant buds of grapes "Bidane Sefid". *Journal of Horticultural Science and Technology*, 15(3), 434-419. (in Farsi)
31. Keller, M. (2010). *The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology*. Burlington, MA: Academic Press.400 p.
32. Khold-e-barin, B. & Islamzadeh, T. (2005). *Mineral nutrition of higher plants.* Shiraz University Press, PP: 495.
33. Krizek, D. T., Kramer, G. F., Upadyaya, A. & Mirecki, R. M. (1993). UV-B response of cucumber seedling grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps, *Journal of Physiologia Plantarum*, 88, 350-358.
34. Michalak A. (2006). Phenol compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 523-530.
35. Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. & Breusegem, F. V. (2004). Reactive oxygen gene network of plants, *Trends in Plant Science*, 9(10), 490-498.
36. Mullera, V., Lankesa, C., Zimmermannb, B. F., Nogaa. G. & Hunschea, M. (2013). Centelloside accumulation in leaves of Centella asiaticais determined by resource partitioning between primary and secondary metabolism while influenced by supply levels of either nitrogen, phosphorus or potassium, *Journal of Plant Physiology*, 170, 1165-1175.
37. Naderi, M. R. & Danesh-Shahraki, A. (2013). Nanofertilizer and their roles in sustainable agriculture. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(19), 2229-2232.
38. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880.
39. Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D. & Hancock, J. T. (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*. 53(372), 1237-1247.
40. Pozeshi, R., Zabihi, H., Ramezanimoghadam, M., Rajabzadeh, M. & Mokhtari, A. (2012). The effect of foliar application of zinc, humic acid and acetic acid on yield, yield components and concentrations of the cultivar 'Peykani'. *Agricultural Science and Technology*, 25(3), 360-351. (in Farsi)
41. Raad, M. T., Balaket, A. & Mohson Salman, A. (2014). Effect of humic acid and water quality on peroxidase and catalase enzymes activity in leaves of data palms c.v barhee. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 3(4), 402-405.

42. Rasouli, M., Khodabakhsh zadeh, S., Ahmadi Ghre Gilli, Y. & Afrozi, K. H. (2013). Application of nanofertilizer effects on optimal production of agricultural products (Case Study: The effect of Iron nano chelat on grape production and horticultural crops). *The first national nanotechnology conference on the charter and applications of. Hegmataneh environmental assessment*. 15 March. Hamedan. Iran. civilica.com/Paper-NANOO01-NANOO01_033.html. (in Farsi)
43. Restrepo-Diaz, H., Benlloch, M. & Fernández-Escobar, R. (2008). Plant water stress and K starvation reduce absorption of foliar applied K by olive leaves. *Scientia Horticulturae*, 116, 409-413.
44. Sabzevari, S. & Khazaii, H. R. (2008). Effect of foliar application of humic acid levels on growth characteristics and yield of (*Tritcum asetivum* L.) wheat Pishtaz. *Journal of Agricultural Ecology*, 1(2), 63-5. (in Farsi)
45. Sanchez Sanchez, A., Sanchez Andreu, J., Juarez, M., Jorda, J. & Bermudez, D. (2006). Imporvement of iron uptake in table grape by addition of humic substancecs. *Journal of Plant Nutrition*, 29(2), 259-272.
46. Sarikhani, H. & Pouya, M. (2014). Foliar application of potassium sulpHate enhances the cold-hardiness of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 89(2), 141-146.
47. Seevers, P. M. & Daly, J. M. (1970). Studies on wheat stem rust resistance control at sr6 locus. 1- The role of phenolic of stem rust and wheat containing resistance genes Sr5, Sr6, Sr8, Sr22. *Canadian Journal of Botany*, 57, 324-331.
48. Shehata, S. A., Gharib, A. A., El-Mogy, M. M. & Abdel-Gawad KFand Shalaby, E. A. (2011). Influence of compost, amino and humic acids on the growth, yield and chemical parameters of strawberries. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 2304-2308.
49. Singh, B. (2002). Effect of macro and micro nutrient spray on fruit yield and quality of grape (*Vitis vinifera* L. cv. Perlette). *Acta Horticulture*, 594, 197-202.
50. Skorzynska-Polit, E., Drazkiewicz, M., Wianowska, D., Maksymiec, W., Dawidowicz, A.L. & Tukiendorf, A. (2004). The influence of heavy metal stress on the level of some flavonols in the primary leaves of *Phaseolus coccineus. Acta Physiologiae Plantarum*, 26(3), 247- 253.
51. Teisseire, H. & Guy, V. (2000). Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Science*, 153, 65-72.
52. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Zevallosc, L. C. & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
53. Valamoti, SM., Samuel, D., Bayram, M. & Marinova, E. (2008). Prehistoric cereal grain treatment in Greece and Bulgaria: experimental cereal processing and charring to interpret archaeobotanical remains. *Vegetation History and Archaeobotany*, 17(1), 265-276.
54. Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology*, 64, 88-93.
55. Yamdagni, R. & Jindal, P. C. (1979). Effect of different levels of nitrogen. Phosphorus and potash on yield and qulity of sharbati cultivar of peach (*Prunus persica* Batch). *Progressive Horticulture*, 10(4), 41-44.
56. Zareii, A., Gavadi, T., Ghaderi, N. & Davari, M. (2013). The effect of foliar potassium sulfate on the total acidity, total soluble solids, carbohydrates antioxidant activity of grape varieties 'Rashe' (*Vitis vinifera* cv.rashe) *Congress of Kurdistan University of Agricultural research findings.* (in Farsi)
57. Zhao, X., Carey, E., Young, J. E., Wang, W. & Iwamoto, T. (2007). Influences of organic fertilization, high tunnel environment, and postharvest storage on phenol compounds in lettuce. *Journal of Science Horticulture*, 42, 71-76.