

Study of the Effects of Iron and Zinc Nano-Fertilizers on Phenolic and Antioxidant Compounds of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Bidaneh Sefid' at Two Stages: Veraison and Ripening

S. Khodabakhsh Zadeh¹, M. Rasouli² , F. Borna³ and M. Maleki¹ 

¹ Department of Biology, Malayer University, Malayer, Iran

² Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.

³ Department of Horticultural Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

Received: 22 May 2026

Accepted: 01 Sep 2026

Published: 01 Sep 2026

Corresponding

Author:

Mousa Rasouli

Masoume Maleki

Email:

m.rasouli@eng.ikiu.ac.ir

ir

masoumemaleki@gmail.com

il.com

Keywords:

Anthocyanin, Foliar nutrition, Flavonoid, Resveratrol.

Citation:

Khodabakhsh Zadeh, S., Rasouli, M., Borna, F., & Maleki, M. (2026). Study of the Effects of Iron and Zinc Nano-Fertilizers on Phenolic and Antioxidant Compounds of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Bidaneh Sefid' at Two Stages: Veraison and Ripening. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(2), 41-56.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.593311.1126

Extended Abstract

Background and Objective: Grape (*Vitis vinifera* L.) is one of the most important horticultural crops worldwide, possessing high nutritional and medicinal values due to its diverse phenolic and antioxidant compounds, including flavonoids, anthocyanins, and resveratrol. Foliar nutrition with micronutrient nano-fertilizers has been introduced as an efficient and environmentally friendly approach to improve the quality of horticultural products. Iron and zinc elements play a crucial role as cofactors of key enzymes in the biosynthetic pathways of phenolic compounds. Considering the lack of information regarding the effects of iron and zinc nano-fertilizers on the quality of 'Bidaneh Sefid' grape cultivar, this study was conducted to investigate different concentrations of nano-chelated iron (0, 2000, and 3000 mg L⁻¹) and nano-chelated zinc (0, 1000, and 2000 mg L⁻¹) on the biochemical and antioxidant compounds of grape at two phenological stages, namely veraison and ripening.

Materials and Methods: This research was conducted during 2014–2018 at the research collection of Malayer University (Hamadan province, Iran). Fifteen-year-old grapevines of Bidaneh Sefid cultivar were trained using the pergola system. Treatments consisted of three levels of nano-chelated iron (0, 2000, and 3000 mg L⁻¹) and three levels of nano-chelated zinc (0, 1000, and 2000 mg L⁻¹), which were applied as foliar sprays at two stages: Veraison and full ripening. Foliar application was performed during early morning hours using a hand sprayer until runoff, and 0.2% Tween 20 was added to all solutions. Leaf sampling was conducted at both stages, and measured traits included chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total flavonoids, total anthocyanins, total phenols, and resveratrol. Photosynthetic pigments were assayed using spectrophotometry based on Lichtenthaler's equations. Total anthocyanin content was measured using spectrophotometry in acidic methanol with chlorophyll interference correction. Total flavonoids and total phenols were determined using aluminum chloride and Folin-Denis methods, respectively. Resveratrol was quantified using reversed-phase HPLC at 306 nm. The experiment was arranged as a completely randomized design with three replications, and data were analyzed using SAS software with Duncan's multiple range test at a significance level of 1%. Principal component analysis (PCA) and weighted composite index (WCI) were calculated.

Results: The results showed that different treatments had significant effects on all measured traits at both phenological stages. At both veraison and ripening stages, the Fe 2000 mg L⁻¹ treatment exhibited the greatest effect on increasing chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid contents, followed by Zn 1000 and 2000 mg L⁻¹ treatments. In contrast, Fe 3000 mg L⁻¹ caused a reduction in photosynthetic pigments in most cases. Total leaf flavonoid content reached its maximum in the Fe 2000 mg L⁻¹ treatment at both veraison (225.91 mg g⁻¹ DW) and ripening (288.57 mg g⁻¹ DW) stages. Total anthocyanin content at the ripening stage reached its highest value (1.89 mg g⁻¹ DW) under the Zn 1000 mg L⁻¹ treatment, while both iron concentrations exhibited decreasing effects. Total phenol content of berry skin at the ripening stage showed the greatest increases in Fe 2000 (132.88) and Zn 2000 (139.55 mg g⁻¹ DW) treatments. Resveratrol content of berry skin reached its maximum at the veraison stage in the Fe 2000 mg L⁻¹ treatment (110.44 µg g⁻¹ DW, more than 2.5 times the control), and at the ripening stage in the Zn 2000 mg L⁻¹ treatment (100.13 µg g⁻¹ DW). Elemental concentrations in leaves were also affected by treatments, and antagonistic effects between iron and zinc were observed at the ripening stage. The PCA results, integrated with the WCI, identified Fe 2000 as the most effective treatment for concurrently improving the physiological, biochemical, and nutritional traits of grapevine.

Conclusion: The results demonstrated that nano-chelated iron at 2000 mg L⁻¹ at both veraison and ripening stages had the best effect on increasing antioxidant compounds of 'Bidaneh Sefid' grape cultivar. Nano-chelated zinc at 1000 mg L⁻¹ is recommended for increasing anthocyanin content, and at 2000 mg L⁻¹ for increasing resveratrol at the ripening stage. The concentration of 3000 mg L⁻¹ iron is not recommended due to its inhibitory effects. Simultaneous application of iron and zinc requires precise management of concentration and application timing due to their antagonistic interactions.



مطالعه اثر نانو کودهای آهن و روی بر ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید *Vitis vinifera* L.) در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی

ساره خدابخش‌زاده^۱، موسی رسولی^۲، فاطمه برنا^۳ و معصومه ملکی^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

^۲ گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) قزوین، ایران.

^۳ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

چکیده

سابقه و هدف: انگور (*Vitis vinifera* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات باغی جهان است که به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی متنوعی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و رسوراترول، ارزش تغذیه‌ای و دارویی بالایی دارد. تغذیه برگ‌ها با نانوکودهای ریزمغذی به‌عنوان روشی کارآمد و سازگار با محیط‌زیست برای بهبود کیفیت محصولات باغی مطرح شده است. عناصر آهن و روی به‌عنوان کوفاکتورهای آنزیم‌های کلیدی در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات فنلی نقش تعیین‌کننده‌ای ایفا می‌کنند. با توجه به کمبود اطلاعات درباره تأثیر نانوکودهای آهن و روی بر کیفیت انگور رقم بیدانه سفید، این پژوهش با هدف بررسی غلظت‌های مختلف نانوکودهای کلات آهن (صفر، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و کلات روی (صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ترکیبات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی انگور در دو مرحله فنولوژیکی غوره‌گی و رسیدگی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش طی سالهای ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۷ در کلکسیون تحقیقاتی دانشگاه ملایر (استان همدان) انجام شد. تاکهای رقم بیدانه سفید با سن ۱۵ سال به روش داربستی-آلاچیقی پرورش یافتند. تیمارها شامل سه سطح نانوکود کلات آهن (صفر، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سه سطح نانوکود کلات روی (صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند که در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی کامل به‌صورت محلول‌پاشی برگ‌ها اعمال شدند. محلول‌پاشی در ساعات اولیه صبح با سمپاش دستی تا حد رواناب انجام گرفت و ۰/۲ درصد توین ۲۰ به کلیه محلولها افزوده شد. نمونه‌برداری از برگ‌ها در هر دو مرحله انجام شد و صفات مورد اندازه‌گیری شامل کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کاروتنوئید، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، فنل کل و رسوراترول بودند. سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی با روش اسپکتروفتومتری و بر اساس معادلات لیشتنالتل انجام گرفت. اندازه‌گیری آنتوسیانین کل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در متانول اسیدی و با تصحیح تداخل کلروفیل صورت پذیرفت. فلاونوئید کل با روش آلومینیوم کلرید و فنل کل با روش فولین-دنیس اندازه‌گیری شدند. رسوراترول با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در فاز معکوس و در طول موج ۳۰۶ نانومتر سنجش گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) و شاخص ترکیب وزنی (WCI) محاسبه گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف تأثیر معنی‌داری بر تمامی صفات مورد بررسی در هر دو مرحله فنولوژیکی داشتند. در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی، تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر افزایش کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئید داشت و پس از آن تیمار روی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. در مقابل، آهن ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در اکثر موارد باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. فلاونوئید کل برگ در تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله غوره‌گی (۲۲۵/۹۱) و رسیدگی (۲۸۸/۵۷) میلی‌گرم برگ‌گرم) به حداکثر رسید. آنتوسیانین کل در مرحله رسیدگی تحت تأثیر روی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به بیشترین مقدار (۱/۸۹ میلی‌گرم برگ‌گرم) رسید، در حالی که هر دو غلظت آهن اثر کاهشی داشتند. فنل کل پوست میوه در مرحله رسیدگی در تیمارهای آهن ۲۰۰۰ (۱۳۲/۸۸) و روی ۲۰۰۰ (۱۳۹/۵۵) میلی‌گرم برگ‌گرم) بیشترین افزایش را نشان داد. رسوراترول پوست میوه در مرحله غوره‌گی در تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۱۱۰/۴۴ میکروگرم برگ‌گرم (بیش از ۲/۵ برابر شاهد) و در مرحله رسیدگی در تیمار روی ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۱۰۰/۱۳ میکروگرم برگ‌گرم به حداکثر رسید. غلظت عناصر در برگ نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و اثرات آنتاگونیستی بین آهن و روی در مرحله رسیدگی مشاهده شد. نتایج PCA همراه با WCI، آهن ۲۰۰۰ را به‌عنوان مؤثرترین تیمار در بهبود هم‌زمان صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و تغذیه‌ای انگور معرفی کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که نانوکود آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی، بهترین تأثیر را بر افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید دارد. نانوکود روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای افزایش آنتوسیانین و غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای افزایش رسوراترول در مرحله رسیدگی توصیه می‌شود. غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آهن به دلیل اثرات مهاری، قابل توصیه نمی‌باشد. کاربرد آهن و روی نیازمند مدیریت دقیق غلظت و زمان مصرف به دلیل اثرات آنتاگونیستی آنهاست.

نویسنده مسئول:

موسی رسولی
معصومه ملکی

ایمیل:

m.rasouli@eng.ikiu.ac.ir
masoumemaleki@gmail.com

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، تغذیه برگ‌ها، فلاونوئید، رسوراترول

نحوه استناد:

خدابخش‌زاده، س.، رسولی، م.، برنا، ف.، ملکی، م. (۱۴۰۵). مطالعه اثر نانو کودهای آهن و روی بر ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید (*Vitis vinifera* L.) در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی. مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات: ۴۱-۵۶.

Doi:10.22034/jrpsm.202
6.593311.1126

مقدمه

بیش از ۹۰ درصد از انگورهای تجاری جهان از گونه *Vitis vinifera* هستند (Williams et al., 2018). تغذیه معدنی یکی از عوامل کلیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت انگور به‌شمار می‌رود (Arshad et al., 2006). کوددهی برگ، به‌ویژه با استفاده از نانوکودها، به‌عنوان روشی کارآمد برای تأمین عناصر غذایی، نقش قابل توجهی در افزایش کیفیت محصولات باغی داشته است. به‌عنوان مثال، تحقیقات نشان داده است که محلول‌پاشی برگ عناصر ریزمغذی می‌تواند کیفیت انگور را به طور معنی‌داری بهبود بخشد (Ali et al., 2021). تغذیه مناسب معدنی برای رشد و نمو اندام‌های مختلف گیاهی از جمله میوه‌ها ضروری است و کمبود هر عنصر می‌تواند منجر به اختلالات فیزیولوژیکی متعددی شود که در میوه‌ها به‌صورت ناهنجاری در فرایند رسیدگی ظاهر می‌شوند (Bondada, 2016).

نقش عناصر معدنی در تاکستان بسیار متنوع است و عمدتاً از طریق تأثیر بر متابولیت‌های اولیه و ثانویه حاصل از فتوسنتز، مانند کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، پروتئین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و ترکیبات معطر، اعمال می‌شود (Bravdo et al., 2000). بین وضعیت تغذیه‌ای تاک، باردهی جوانه‌ها و کیفیت حبه رابطه‌ای قوی وجود دارد (Monteiro et al., 2021). استفاده از نانوکودها به‌عنوان جایگزینی برای کودهای مرسوم، امکان آزادسازی تدریجی و کنترل‌شده عناصر غذایی در خاک را فراهم می‌کند (Naderi & Danesh Shahraki, 2011). افزون بر این، کاربرد کودها به روش محلول‌پاشی برگ نسبت به کاربرد خاکی، علاوه بر کاهش آلودگی زیست‌محیطی، به مقدار کمتری از کود نیاز دارد (Lanauskas et al., 2006). عنصر روی با شرکت در ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از آسیب‌های اکسیداتیو در شرایط تنش جلوگیری می‌کند (Tisdale et al., 2003). تأثیر مثبت کاربرد روی و ترکیبات آن، بر بهبود رشد و کیفیت انگور به اثبات رسیده است؛ به‌گونه‌ای که محلول‌پاشی روی باعث افزایش عملکرد و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی انگورهای رومیزی شده است (Ali et al., 2021). همچنین، آهن نقش مهمی در تعیین سطح مطلوب فلاونوئیدها در گیاهان دارد؛ به‌گونه‌ای که کاربرد برگ آهن می‌تواند تجمع فلاونوئیدها را در حبه‌های انگور افزایش دهد (Shi et al., 2018). مطالعات نشان داده است که کاربرد برگی آهن بر محتوای آنتوسیانین و بیان ژن‌های مرتبط در انگور رقم زراعی Cabernet Sauvignon تأثیر متفاوتی داشت (Shi et al., 2017).

دانه و پوست انگور حاوی ترکیبات فعال بیولوژیکی متعددی از جمله فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها و ترانس-رسوراترول هستند

(Iriti & Faoro, 2006). ترکیبات فنلی موجود در انگور به دو گروه فلاونوئیدها (شامل کاتچین، اپی‌کاتچین، کورستین، میرسیتین و آنتوسیانین‌ها) و غیرفلاونوئیدها (شامل اسیدهای فنلی، هیدروکسی‌بنزوات و هیدروکسی‌سینامیک) طبقه‌بندی می‌شوند (Middleton et al., 2000). آنتوسیانین‌ها رنگ‌ده‌های فلاونوئیدی هستند که عامل ایجاد رنگ‌های قرمز تا بنفش و آبی در میوه‌ها و گل‌ها می‌باشند و در انگور به‌صورت گلوکوزیدها و استیل‌گلوکوزیدها گزارش شده‌اند (Nejatian, 2006). میوه انگور از نظر پلی‌فنول‌ها بسیار غنی است، به‌گونه‌ای که ۶۰ تا ۷۰ درصد پلی‌فنول‌های آن در دانه متمرکز شده است (Lanauskas et al., 2006). ترکیبات فنلی اصلی پوست میوه نیز شامل پروآنتوسیانین، الایژنیک اسید، کامپروفرول و ترانس-رسوراترول می‌باشند (Shi et al., 2003).

رسوراترول به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی، بیشتر در انگورهای قرمز تجمع می‌یابد و توانایی جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی و کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی را دارد (Meggico et al., 2010). در انگورهای اروپایی (*Vitis vinifera*)، بخش عمده رسوراترول در پوست میوه انباشته شده و مقدار بسیار کمی در گوشت و دانه وجود دارد، در حالی که در انگورهای آمریکایی، دانه‌ها نیز مقادیر قابل‌توجهی از این ترکیب را ذخیره می‌کنند (Jayaprakasha, 2003). رابطه مستقیمی بین محتوای عناصر خاک و محتوای ترکیبات فنلی و رسوراترول در انگور وجود دارد و غلظت فلزاتی مانند روی و آهن می‌تواند بر سنتز این ترکیبات مؤثر باشد (Acuña-Avila et al., 2016). رقم بیدانه سفید در میان ارقام انگور، کمترین محتوای فنل کل را دارد و ترکیبات فنلی موجود در آن نقش مهمی در کیفیت میوه از جمله رنگ، عطر و طعم، سفتی بافت و فرایند پیری ایفا می‌کنند. افزایش فنل کل در میوه انگور می‌تواند ناشی از کاهش کلروفیل و آغاز سنتز ترکیبات فنلی هم‌زمان با دوره تغییر رنگ حبه‌ها باشد (Pileh & Ghasemzadeh, 2017).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که محلول‌پاشی روی و آهن، بر خصوصیات کمی و کیفی انگور مؤثر است (Ahmed et al., 1997; Ali et al., 2021) و کاربرد این عناصر می‌تواند محتوای قندها، اسید آسکوربیک و مواد جامد محلول را در حبه‌های انگور افزایش دهد (Ali et al., 2021). همچنین، کاربرد برگ ماس و آهن کلاته بر عملکرد، کیفیت، فتوسنتز و غلظت عناصر ریز مغذی انگور رومیزی تأثیر مثبت داشته است (Ma et al., 2019). مصرف ریز مغذی‌ها به‌ویژه آهن، روی و منگنز تأثیرات مطلوبی بر شاخص‌های عملکرد، تشکیل میوه بهتر و تولید میوه در واحد سطح دارد و با تأثیر بر فعالیت‌های فتوسنتزی و مسیرهای متابولیکی مهم، منجر به تولید مقادیر بالاتری از متابولیت‌های اولیه می‌شود (Mohebi et al., 2022).

۱۳۹۳ تا ۱۳۹۷ در کلکسیون تحقیقاتی شماره یک دانشگاه ملایر، واقع در استان همدان، انجام شد. این کلکسیون در کیلومتر ۴ جاده اراک، با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۴۹ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۱۷ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۷۸۰ متر از سطح دریا قرار دارد. میانگین بارندگی سالانه منطقه ۲۴۲ میلی‌متر است (جدول ۱). تاک‌های مورد آزمایش از رقم بیدانه سفید (*Vitis vinifera* L.) با سن تقریبی ۱۵ سال بودند که از نظر شرایط رشد و هرس یکسان بوده و به روش داربستی-آلاچیقی پرورش داده می‌شدند. سیستم آبیاری به صورت قطره‌ای بود.

هدف از این تحقیق، مطالعه تأثیر محلول‌پاشی برگی نانوکودهای آهن و روی بر تغییرات ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انگور رقم بیدانه سفید (*Vitis vinifera* L.) در دو مرحله فنولوژیکی غوره‌گی و رسیدگی، و همچنین تعیین غلظت بهینه این نانوکودها برای دستیابی به بالاترین سطح کیفی در شرایط باغی منطقه ملایر بود.

مواد و روش‌ها

مشخصات منطقه و مواد گیاهی: این پژوهش طی سال‌های

جدول ۱- تجزیه شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Chemical analysis of the experimental site soil

ویژگی Parameter	CaCO ₃ % کربنات سدیم	هدایت الکتریکی EC (ds/m)	اسیدیته pH	روی Zn (mg/L)	آهن Fe (mg/L)
مقدار Value	22.37	0.142	7.69	0.0363	1.837

شد. جذب نوری عصاره‌ی رقیق‌شده در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل JENUS UV-1200 و در برابر حلال شاهد (استون ۸۰ درصد) اندازه‌گیری شد. غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{رابطه ۱: } C_a = 12.25(A_{663.2}) - 2.79(A_{646.8}) \quad \text{کلروفیل a}$$

$$\text{رابطه ۲: } C_b = 21.51(A_{646.8}) - 5.1(A_{663.2}) \quad \text{کلروفیل b}$$

رابطه ۳:

$$C_{x+c} = \frac{1000A_{470} - 1.8C_a - 85.02C_b}{198} : (C_{x+c}) \quad \text{کاروتنوئیدهای کل}$$

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: برای استخراج و سنجش آنتوسیانین کل، از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (Rabino & Mancinelli, 1986). مقدار یک گرم از بافت خشک شده گیاهی در هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول اسیدی (شامل یک درصد اسید کلریدریک حجمی/حجمی) به طور کامل ساییده و هموژن شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند تا استخراج کامل شود. پس از این دوره، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ در سانتریفیوژ قرار گرفت و فاز رویی که حاوی آنتوسیانین‌ها بود، برای سنجش جدا گردید. جذب نوری فاز رویی در دو طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر و در برابر حلال شاهد (متانول اسیدی ۱ درصد) اندازه‌گیری شد. برای تصحیح اثرات تداخلی ناشی از حضور کلروفیل و محصولات تخریبی آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر، از فرمول ارائه شده استفاده گردید. بدین ترتیب، مقدار جذب تصحیح‌شده (A) برای هر عصاره مطابق رابطه زیر محاسبه شد:

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

تیمارها و نحوه محلول‌پاشی: نانوکودهای مورد استفاده (کلات آهن و کلات روی) از شرکت ایرانی خضراء تهیه و پیش از استفاده، عناصر آن‌ها سنجش شدند. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح نانوکود کلات آهن (صفر به عنوان شاهد، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سه سطح نانوکود کلات روی (صفر به عنوان شاهد، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند که در دو مرحله فنولوژیکی رشد میوه، شامل مرحله غوره‌گی (تغییر رنگ حبه) و مرحله رسیدگی کامل، به صورت محلول‌پاشی برگی اعمال شدند. محلول‌پاشی با استفاده از سمپاش دستی ۱۰ لیتری در ساعات اولیه صبح و پیش از افزایش دمای هوا، تا حد رولناب (آب‌چکان) روی تمامی بخش‌های هوایی تاک‌ها انجام گرفت. به منظور افزایش جذب و پخش‌شدگی محلول‌ها، ۰/۲ درصد حجمی ماده فعال‌سطحی توین ۲۰ به کلیه محلول‌های تیماری اضافه گردید. تاک‌های گروه شاهد نیز تنها با محلول آب مقطر و توین ۲۰ (بدون نانوکود) محلول‌پاشی شدند.

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از دو بخش مختلف گیاه شامل پوست حبه و برگ‌های انگور، در هر یک از دو مرحله فنولوژیکی (غوره‌گی و رسیدگی) انجام گرفت. نمونه‌های برداشت‌شده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و برای انجام آنالیزهای مربوطه آماده‌سازی و نگهداری شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بر اساس روش Lichtenthaler (1987) انجام گرفت. بدین منظور، ۰/۲ گرم از بافت تازه‌ی گیاهی در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به طور کامل هموژنه (سائیده) شد. عصاره‌ی حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید و سپس حجم آن با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر تنظیم

محلول به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و عصاره رویی در ظروف پوشانده شده با ورقه آلومینیومی جمع‌آوری گردید. رسوب مجدداً دو بار دیگر با ۶۰ میلی‌لیتر متانول خالص عصاره‌گیری شد. عصاره‌های ترکیبی با متانول خالص به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند. اندازه‌گیری کمی رسوراترول با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در فاز معکوس انجام شد (Lopez *et al.*, 2001) ستون ODS-C18 (۲۵۰×۴/۶ میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرومتر) و فاز متحرک ایزوکراتیک شامل متانول ۱۰۰ و اسید استیک ۵ درصد آبی با جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. پس از عبور عصاره‌ها از فیلتر سرسوزنی ۰/۴۵ میکرومتر، ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه تزریق گردید. شناسایی در طول موج ۳۰۶ نانومتر انجام شد و زمان بازداری رسوراترول حدود ۳۷ دقیقه در نظر گرفته شد. از آشکارساز Syknm S3210 UV/Vis استفاده شد و غلظت نمونه‌ها از روی سطح زیر پیک و با استفاده از منحنی استاندارد رسوراترول (شرکت سیگما، آمریکا) محاسبه گردید.

سنجش عناصر روی و آهن: برای اندازه‌گیری غلظت عناصر روی و آهن، ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک‌شده در کروزه‌های چینی قرار داده شد و به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در کوره‌ی الکتریکی به خاکستر تبدیل گردید. سپس به هر کروزه ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال افزوده شد و کروزه‌ها به مدت کوتاهی بر روی حمام بن‌ماری (آب گرم) با حرارت ملایم قرار گرفتند تا خاکستر کاملاً در اسید حل شود. محلول حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد و عصاره‌ی صاف‌شده در بالن ژوژه جمع‌آوری گردید. در نهایت، حجم نهایی عصاره با افزودن آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر تنظیم شد. سپس غلظت روی و آهن در عصاره‌های حاصل با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل AS 52 S AOAC International, 2006) بر اساس روش (ConterAA 700 -) اندازه‌گیری شد. تمامی سنجش‌ها با سه تکرار انجام گرفت و غلظت نهایی عناصر بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک نمونه گزارش شد.

آنالیز آماری: آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. داده‌های حاصله با آزمون ANOVA و با نرم افزار SAS تجزیه آماری شدند. آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تعیین معنی دار بودن تفاوت آماری میان تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۱ و بکار رفت. رسم نمودارها نیز با نرم افزار EXCEL نسخه ۲۰۱۶ انجام شد. تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) و شاخص ترکیب وزنی (WCI) با نرم افزار R انجام شد.

که در آن A_{657} و A_{530} به ترتیب مقادیر جذب اندازه‌گیری‌شده در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر هستند. از سیانیدین-۳-گلوکوزید به عنوان استاندارد استفاده شد.

سنجش مقدار فلاونوئید کل: برای استخراج ترکیبات فلاونوئیدی کل، یک گرم از پودر نمونه‌های برگ با استفاده از متانول خالص (۱۰۰ درصد) عصاره‌گیری شد. عصاره‌های متانولی حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شده و سپس تحت تبخیر حلال قرار گرفتند. باقیمانده‌ی خشک در متانول مجدداً حل و پس از عبور از فیلتر، برای سنجش کمی فلاونوئیدها آماده گردید. اندازه‌گیری بر اساس روش اسپکتروفتومتری با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید انجام شد (Seymohammadi *et al.*, 2026). حجم مناسب عصاره برای نمونه‌های برگ ۰/۱ میلی‌لیتر تعیین شد. به غلظت معینی از نمونه‌ها ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات یک مولار افزوده شده و در نهایت با ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم نهایی رسیدند. پس از ورتکس کردن و ۳۰ دقیقه ملندگاری، جذب محلول‌ها با دستگاه UV-Vis اسپکتروفتومتر در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نهایی فلاونوئیدهای کل در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین و بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم ماده خشک محاسبه شد.

سنجش ترکیبات فنلی کل: برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل، از روش اسپکتروفتومتری با معرف Folin-Denis بر اساس روش (Ranganna 1986) استفاده شد. میزان ۰/۱ گرم از نمونه‌های پوست حبه و برگ توسط متانول ۸۰ درصد در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. عصاره‌های حاصل پس از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱، تغلیظ و مجدداً در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شدند. سپس حجم یک میلی‌لیتر از عصاره با یک میلی‌لیتر معرف Folin-Denis و دو میلی‌لیتر محلول اشباع سدیم کربنات مخلوط گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis قرائت شد. برای تهیه منحنی استاندارد از اسید تانیک استفاده گردید و غلظت فنل کل نمونه‌ها بر اساس منحنی حاصل محاسبه و به صورت میلی‌گرم اسید تانیک در هر گرم وزن خشک گزارش شد.

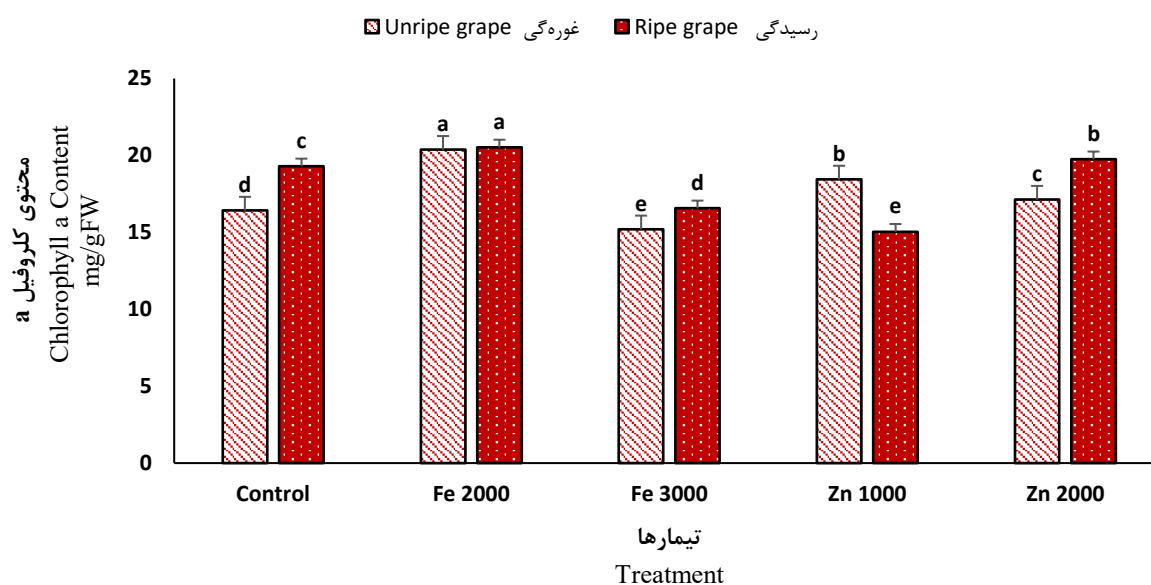
سنجش رسوراترول: استخراج رسوراترول بر اساس روش‌های (Soleas *et al.*, 1995) و (Bavaresco *et al.*, 1997) با تغییرات جزئی انجام شد. ده گرم از حبه‌ها و برگ‌ها به‌طور جداگانه در هاون خرد شده، با ۶۰ میلی‌لیتر متانول خالص در ارلن‌مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد.

نتایج و بحث

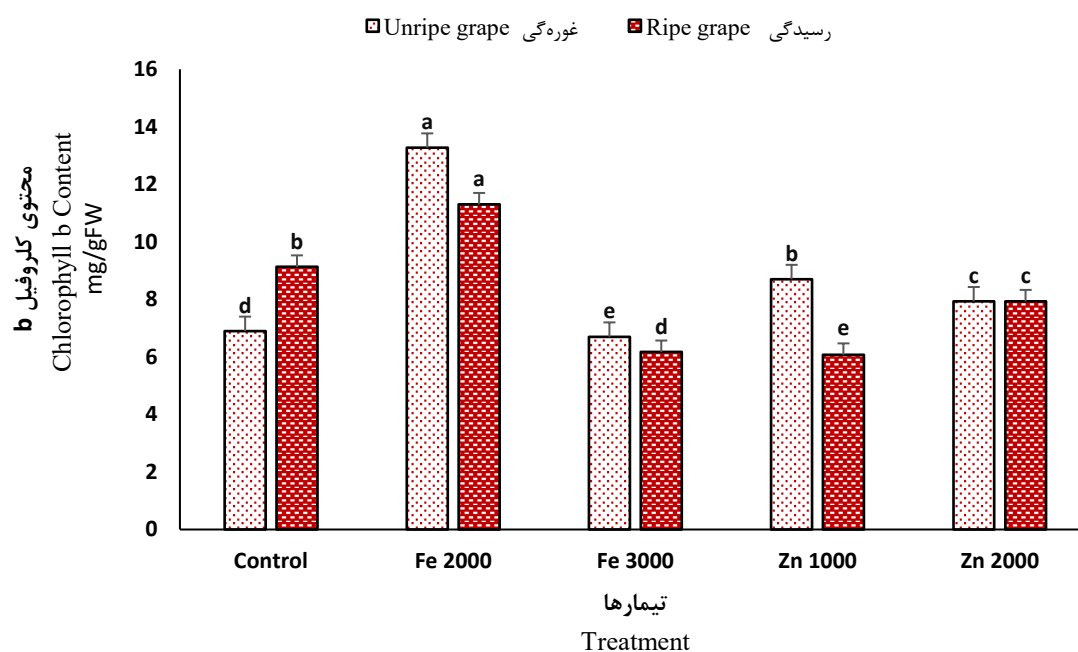
اثر نلنو کود کلات آهن و روی بر محتوای رنگیزه‌های

فتوسنتزی برگ: نتایج نشان داد که هر دو نانوکود تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی داشتند ($p < 0/01$). در مرحله غوره‌گی، تیمار آهن ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین افزایش کلروفیل a (۲۰/۳۷)، کلروفیل b (۱۳/۲۷) و کاروتنوئید (۵/۲۳) را داشت و پس از آن روی ۱۰۰۰

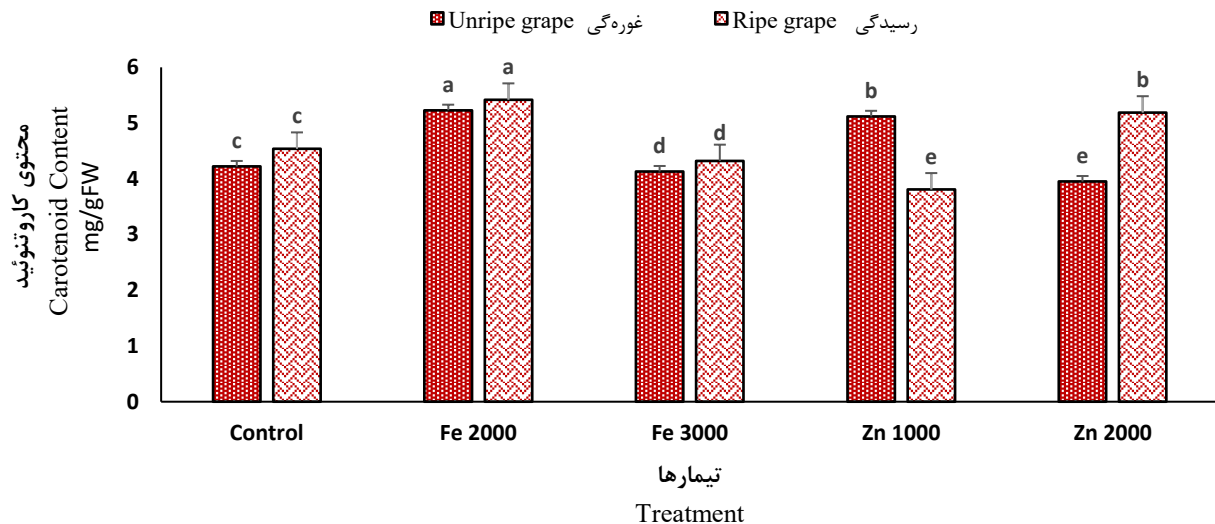
میلی گرم در لیتر قرار گرفت. آهن ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر در اکثر موارد کاهش معنی‌دار رنگیزه‌ها را نسبت به شاهد نشان داد (شکل‌های ۱). در مرحله رسیدگی، الگوی مشابهی مشاهده شد و آهن ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر افزایش کلروفیل a (۲۰/۵۲)، کلروفیل b (۱۱/۳) و کاروتنوئید (۵/۴۲) داشت. این یافته با نتایج (Peyvandi *et al.* 2012) همسو است و نشان می‌دهد پاسخ رنگیزه‌های فتوسنتزی به آهن وابسته به غلظت است و افزایش بیش از حد آن اثر تنش‌زا دارد.



الف



ب.



ث

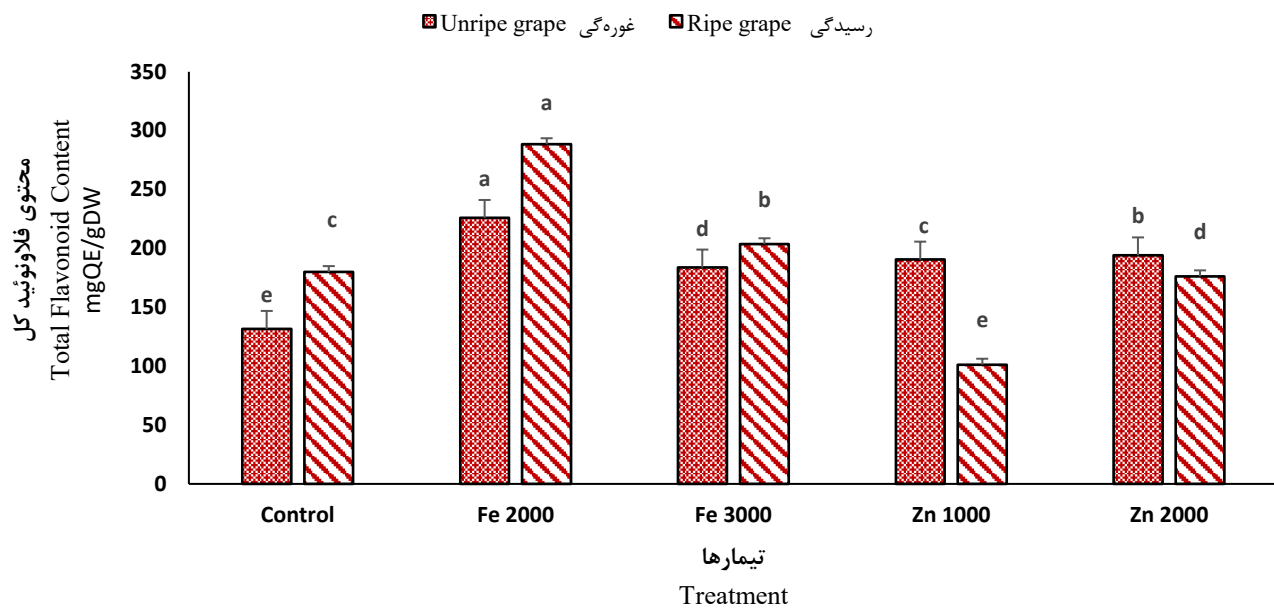
شکل ۱- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر محتوی کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب) و کارتنوئید (ث) برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 1- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and carotenoid (C) content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

خشک، تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که به‌طور کلی تأثیر نانو کود کلات آهن در هر دو مرحله رشد انگور بیشتر از نانو کود کلات روی بود. همچنین، کاربرد نانو کود کلات آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله رشد، بیشترین تأثیر را بر افزایش محتوای فلاونوئید برگ داشت. این یافته‌ها با نتایج Kamali et al. (2013) همسو می‌باشد، آن‌ها گزارش کردند که کاربرد عناصر ریزمغذی آهن، روی باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و ساقه، فلاونوئید و آنتوسیانین در گیاه اسفناج گردید.

اثر نانو کود کلات آهن و روی بر آنتوسیانین‌های کل برگ: نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنتوسیانین کل برگ در مرحله غوره‌گی نشان داد که تیمارهای نانو کود کلات آهن و روی در هیچ‌یک از غلظت‌های مورد بررسی، تأثیر افزایش معنی‌داری بر محتوای آنتوسیانین نسبت به شاهد نداشتند. به‌طوری که مقادیر آنتوسیانین در تیمارهای آهن ۲۰۰۰ (۱/۰۷)، آهن ۳۰۰۰ (۱/۱۵)، روی ۱۰۰۰ (۱/۰۵) و روی ۲۰۰۰ (۱/۰۹) نسبت به شاهد (۱/۲۷) تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. با این حال، تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، اثر کاهشی بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت و مقدار آنتوسیانین را به ۱/۰۵ رساند. در مقابل، اثر کاهشی تیمار نانو کود کلات آهن با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۱/۱۵) از بقیه تیمارها کمتر بود (شکل ۳).

اثر نانو کود کلات آهن و روی بر فلاونوئیدهای برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر تأثیر بر محتوای فلاونوئید برگ در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، تمامی تیمارهای نانو کود کلات آهن و روی نسبت به شاهد اثر مثبت و معنی‌داری بر محتوای فلاونوئید در مرحله غوره‌گی داشتند. در این مرحله، تیمار نانو کود کلات آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۲۲۵/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، بیشترین تأثیر را نسبت به شاهد (۱۳۱/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) نشان داد، در حالی که غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۱۸۳/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، کمترین تأثیر را در بین تیمارها بر محتوای فلاونوئید برگ داشت (شکل ۲). در مرحله رسیدگی، هر دو غلظت نانو کود کلات آهن (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش معنی‌دار محتوای فلاونوئید گردیدند، به‌گونه‌ای که اثر افزایشی غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۲۸۸/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، بیشتر از غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۲۰۳/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. در مقابل، تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۱۰۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، نسبت به شاهد (۱۷۹/۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) اثر کاهشی بر محتوای فلاونوئید در مرحله رسیدگی نشان داد. تیمار روی با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز با میانگین ۱۷۶/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن



شکل ۲- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر فلاونوئید کل برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 2- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total flavonoid content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

رنگدانه‌هاست، در حالی که کاهش شدید آن در تیمار روی ۲۰۰۰ (۰/۹۸) و نیز اثر کاهشی هر دو غلظت آهن (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) در مرحله رسیدگی، نشان‌دهنده اثر مهاری و احتمالاً سمی غلظت‌های بالای این فلزات بر متابولیسم ثانویه برگ است. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج Meggio *et al.* (2010) که در شرایط کمبود آهن، افزایش آنتوسیانین را گزارش کردند، تا حدی همسو است. با این حال، پژوهش Meggio و همکاران صرفاً در شرایط کمبود آهن انجام شده و تأثیر غلظت‌های مختلف آهن (به‌ویژه غلظت‌های بالا) را بررسی نکرده است. در پژوهش حاضر، نشان داده شد که غلظت متوسط آهن (۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) اثر کاهشی بر آنتوسیانین دارد که احتمالاً به دلیل غلظت بالای آهن و ایجاد سمیت سلولی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن است.

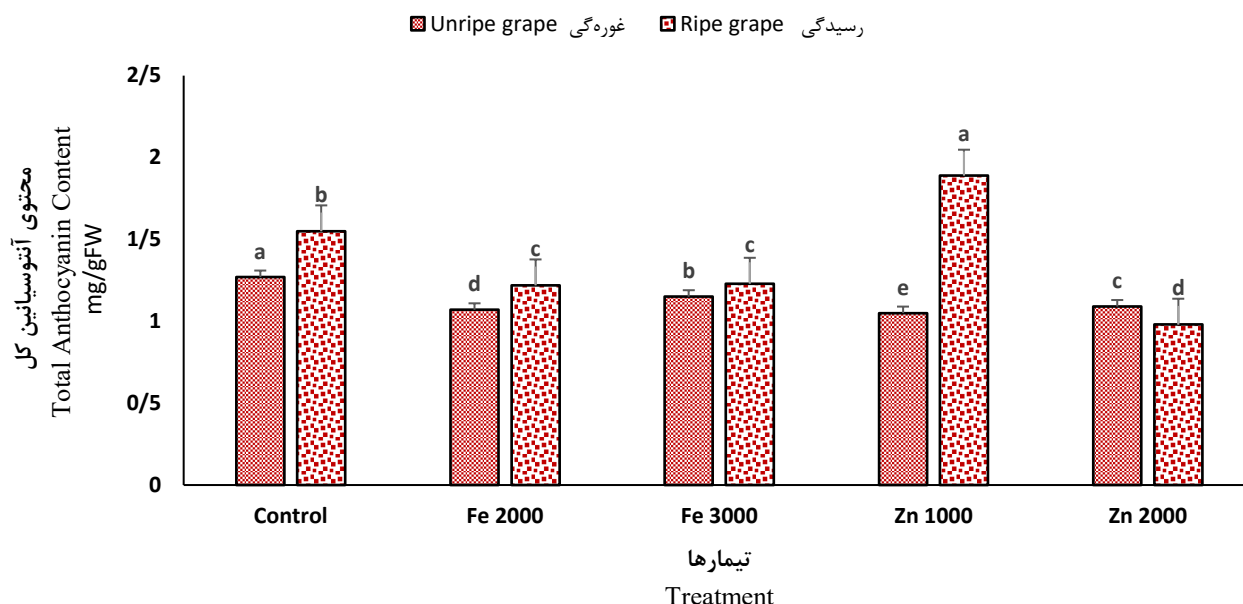
اثر نانو کود کلات آهن و روی بر فنل کل موجود در برگ و پوست میوه: در مرحله غوره‌گی، تیمارها تأثیر معنی‌داری بر فنل کل پوست نداشتند و مقادیر در تیمارهای روی ۱۰۰۰ (۱۱۰/۴۵) و روی ۲۰۰۰ (۱۱۷/۱۰) نسبت به شاهد (۱۴۶/۰۳) تفاوت معنی‌داری نشان ندادند، اما آهن ۳۰۰۰ باعث کاهش معنی‌دار به ۷۷/۲۰ (پایین‌ترین مقدار) و آهن ۲۰۰۰ به ۸۴/۸۶ گردید (شکل ۴). در برگ غوره‌گی، آهن ۳۰۰۰ بیشترین افزایش را از ۱۳۷/۷۵ به ۱۶۱/۳۵ داشت، در حالی که روی ۲۰۰۰ کاهش شدیدی به ۷۷/۶۶ نشان داد. در مرحله رسیدگی، کلیه تیمارها باعث افزایش معنی‌دار

در مرحله رسیدگی، الگوی پاسخ به تیمارها تغییر چشمگیری یافت. تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با افزایش از ۱/۵۵ در شاهد به ۱/۸۹، بیشترین تأثیر را بر افزایش محتوای آنتوسیانین برگ در مرحله رسیدگی داشت. در مقابل، تیمارهای نانو کود کلات آهن در هر دو غلظت ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم بر لیتر، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما هر دو نسبت به شاهد (۱/۵۵) اثر کاهشی بر محتوای آنتوسیانین برگ در این مرحله از رشد داشتند. تیمار نانو کود کلات روی با غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با مقدار ۰/۹۸، نسبت به همه تیمارها، اثر کاهشی بیشتری بر محتوای آنتوسیانین برگ در مرحله رسیدگی داشت.

پایداری آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله pH، دما، نور، اکسیژن، یون‌های فلزی و سایر ترکیبات همراه قرار دارد (Khanafari *et al.*, 2009). تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که کمبود یا بیش‌بود آهن در انگور، با تأثیر بر بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز محتوای آنتوسیانین را تعدیل می‌کند و تنها غلظت‌های متوسط آهن منجر به افزایش معنی‌دار این ترکیبات می‌شود (Shi *et al.*, 2017). همچنین مصرف روی در شرایط کمبود این عنصر، با تأثیر بر بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانویید، تجمع آنتوسیانین‌ها را در پوست میوه افزایش می‌دهد. در تحقیق حاضر، افزایش معنی‌دار آنتوسیانین برگ در تیمار روی ۱۰۰۰ (۱/۸۹ نسبت به شاهد ۱/۵۵) نشان‌دهنده اثر تحریکی غلظت متوسط روی بر بیوسنتز این

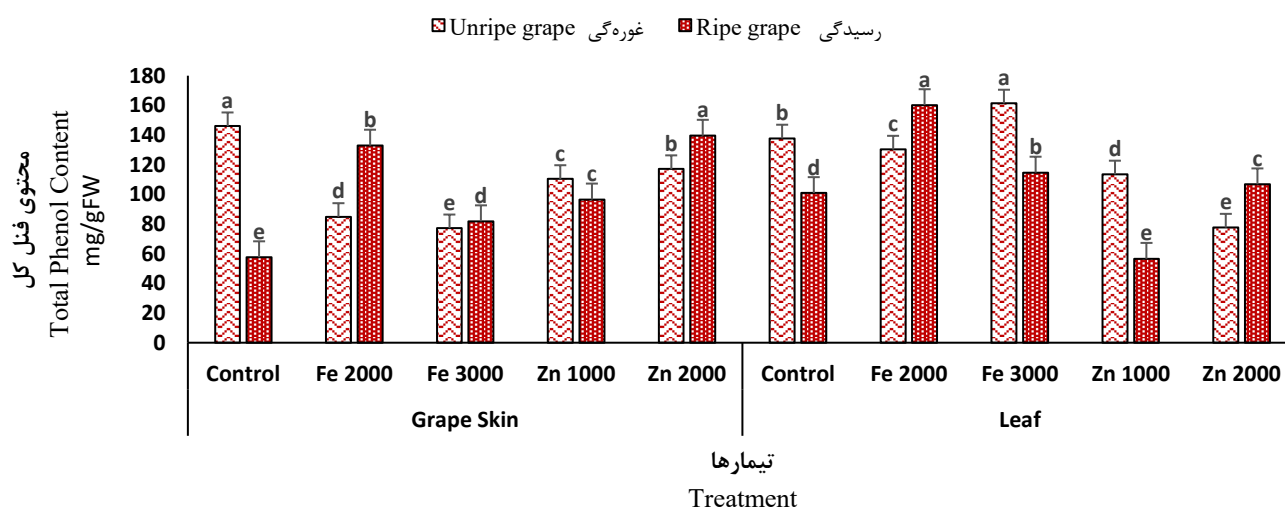
افزایش از ۱۰۰/۹ به ۱۶۰/۱۸ بیشترین تأثیر را نشان داد، در حالی که روی ۱۰۰۰ کاهش به ۵۶/۵۸ و روی ۲۰۰۰ افزایش خفیفی به ۱۰۶/۷۸ داشت.

فصل پوست شدند و آهن ۲۰۰۰ با ۱۳۲/۸۸ (بیش از دو برابر شاهد ۵۷/۶۶)، روی ۲۰۰۰ با ۱۳۹/۵۵ و روی ۱۰۰۰ با ۹۶/۵۷ بیشترین افزایش را داشتند (شکل ۶). در برگ رسیدگی، آهن در هر دو غلظت (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) افزایش معنی‌دار داشت و آهن ۲۰۰۰ با



شکل ۳- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر آنتوسیانین کل برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 3- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total Anthocyanin content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).



شکل ۴- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر محتوای فنل کل موجود در پوست میوه و برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 4- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on the total Phenol content in grape skin, flesh, and leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

آهن با غلظت متوسط (۴۶ میکرومولار) با تأثیر بر بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز، محتوای آنتوسیانین میوه را افزایش می‌دهد، در

پاسخ متفاوت بافت‌ها نشان‌دهنده اولویت‌بندی متابولیکی گیاه در تخصیص منابع به بافت‌های تولیدمثلی در مرحله رسیدگی است.

اثر مهاری آهن در بافت‌های غیرپوست غوره (صفر شدن رسوراترول در برگ با Fe ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) یک یافته بسیار مهم است که نشان می‌دهد آهن اضافی در مراحل اولیه رشد، ممکن است مسیر بیوسنتز رسوراترول را در بافت‌های رویشی مهار کند و تمام منابع را به سمت پوست (که نقش محافظتی از دانه دارد) هدایت نماید (Shi et al., 2017; Yan et al., 2026). مطالعه Jeandet (1991) نشان داد که تولید رسوراترول از مرحله غوره‌گی تا رسیدگی کاهش می‌یابد. اگرچه یافته‌های پژوهش حاضر در مورد کاهش رسوراترول در مرحله رسیدگی (در تیمار شاهد) با این مطالعه همسو است، اما مطالعه Jeandet (1991) به تأثیر تغذیه معدنی بر این روند نپرداخته و صرفاً تغییرات طبیعی رسوراترول را گزارش کرده است. یافته جدید پژوهش حاضر این است که کاربرد نانوکودها می‌تواند این روند طبیعی را معکوس کند، به نحوی که آهن ۲۰۰۰ در مرحله غوره‌گی باعث افزایش ۲/۵ برابری رسوراترول پوست شد (۱۱۰/۴۴) در مقابل ۴۲/۳۸ (شاهد). همچنین، برخلاف پژوهش Jeandet (1991) که فقط مرحله رسیدگی را بررسی کرده است، پژوهش حاضر نشان داد که مرحله غوره‌گی پاسخ‌دهی بیشتری به آهن دارد، که این خود قابل توجه است.

اثر نانو کود کلات آهن و روی بر غلظت آهن و روی برگ: نتایج مربوط به اثر تیمارها بر غلظت آهن برگ در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی در شکل ۶ ارائه شده است ($p \leq 0/01$). در مرحله غوره‌گی، تمامی تیمارها نسبت به شاهد (۳۱/۲) میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک) افزایش معنی‌داری داشتند و بیشترین غلظت آهن در تیمار آهن ۳۰۰۰ با ۳/۸۱ میکروگرم بر گرم مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها برتری معنی‌داری نشان داد، در حالی که روی ۲۰۰۰ کمترین تأثیر را داشت، هرچند نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. در مرحله رسیدگی، کلیه تیمارها نسبت به شاهد (۲/۴۳) میکروگرم بر گرم) افزایش معنی‌داری داشتند و آهن ۲۰۰۰ با ۵/۱۸ بیشترین تأثیر را نشان داد و به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها برتر بود، در حالی که روی ۲۰۰۰ با ۲/۹۱ کمترین افزایش را نسبت به شاهد داشت.

نتایج مربوط به اثر تیمارها بر غلظت روی برگ در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی در شکل ۷ ارائه شده است ($p \leq 0/01$). در مرحله غوره‌گی، بیشترین غلظت روی در تیمار روی ۱۰۰۰ با میانگین ۶/۵۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک (نسبت به شاهد ۳/۲۳) مشاهده شد و آهن ۲۰۰۰ با ۴/۵۵ افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت، اما روی ۲۰۰۰ با ۲/۴۰ کاهش معنی‌داری نشان داد. در مرحله رسیدگی، الگوی پاسخ تغییر یافت و روی ۲۰۰۰ با ۶/۱۰ بیشترین افزایش را داشت و پس از آن روی ۱۰۰۰ با ۲/۲۰ قرار گرفت، در حالی که آهن ۲۰۰۰ با ۱/۵۶ کاهش معنی‌دار و آهن ۳۰۰۰ با ۱/۸۷

حالی که کمبود یا بیش‌بود آن باعث کاهش این ترکیبات می‌شود (Shi et al., 2017). مصرف روی در شرایط کمبود، با افزایش بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانویید، تجمع ترکیبات فنولی در پوست میوه را افزایش می‌دهد (Song et al., 2015). یافته‌های حاضر با این مکانیسم‌ها همخوانی دارد و نقش تعیین‌کننده غلظت و زمان مصرف کودهای ریزمغذی را در بهبود کیفیت فنولی انگور تأیید می‌کند. در بررسی‌های Shi et al. (2003) روی انگور، کاربرد روی باعث افزایش معنی‌دار فنل کل شد که با نتایج حاضر (افزایش فنل پوست با روی ۲۰۰۰ در مرحله رسیدگی) همسو است.

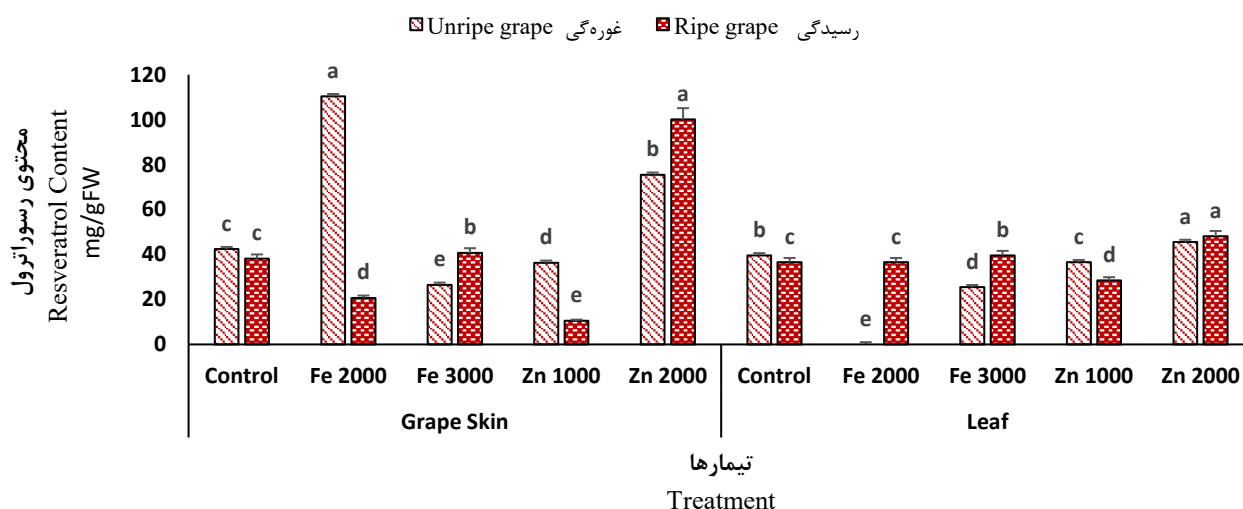
اثر نانو کود کلات آهن و روی بر رسوراترول: نتایج مربوط به اثر تیمارها بر محتوای رسوراترول در پوست و برگ انگور در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی در شکل ۵ ارائه شده است ($p \geq 0/01$). در مرحله غوره‌گی، بیشترین میزان رسوراترول پوست در تیمار آهن ۲۰۰۰ با میانگین ۱۱۰/۴۴ میکروگرم بر گرم وزن خشک (نسبت به شاهد ۴۲/۳۸) و پس از آن روی ۲۰۰۰ با ۷۵/۵۰ مشاهده شد، در حالی که آهن ۳۰۰۰ با ۲۶/۵۱ کمترین تأثیر را داشت و حتی از روی ۱۰۰۰ (۳۶/۳۰) نیز پایین‌تر بود. در برگ غوره‌گی، روی ۲۰۰۰ با ۴۵/۵۸ بیشترین افزایش را نشان داد و شاهد (۳۹/۶۳) و روی ۱۰۰۰ (۳۶/۵۹) تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما آهن ۳۰۰۰ باعث کاهش به ۲۵/۴۶ گردید و قبل‌توجه اینکه آهن ۲۰۰۰ هیچ رسوراترولی در برگ نشان نداد. در مرحله رسیدگی، الگوی پاسخ تغییر یافت و روی ۲۰۰۰ با ۱۰۰/۱۳ بیشترین تأثیر را بر رسوراترول پوست داشت (نسبت به شاهد ۳۸/۱۴)، در حالی که روی ۱۰۰۰ (۱۰/۵۲) و آهن ۲۰۰۰ (۲۰/۷۲) کاهش معنی‌دار و آهن ۳۰۰۰ (۴۰/۷۷) تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. در برگ رسیدگی، روی ۲۰۰۰ با ۴۸/۰۸ بیشترین افزایش را داشت و آهن ۳۰۰۰ (۳۹/۶۴) با شاهد (۳۶/۶۵) تفاوتی نداشت، اما روی ۱۰۰۰ (۲۸/۴۸) کاهش معنی‌دار و آهن ۲۰۰۰ (۳۶/۶۳) تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت.

پوست انگور، هدف اصلی تولید رسوراترول است و واکنش آن به کودها بسیار شدیدتر از برگ است. نانوکلات آهن با دوز ۲۰۰۰ در مرحله غوره‌گی، یک محرک فوق‌العاده قوی برای افزایش رسوراترول پوست است (۱۱۰/۴۴) اما همین تیمار در برگ، رسوراترول را به صفر می‌رساند. این یعنی آهن به صورت اختصاصی سنتز رسوراترول را به بافت پوست هدایت می‌کند و احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیر فنیل‌آلانین آمونیاک لیزاز در پوست عمل می‌نماید (Hasan & Bae, 2017; Wang et al., 2016).

نانوکلات روی با دوز ۲۰۰۰ در مرحله رسیدگی، بهترین تیمار برای افزایش رسوراترول در هر دو بافت است و در پوست به ۱۰۰/۱۳ می‌رسد. این نشان می‌دهد که روی نقش کلیدی در مرحله پایانی رسیدن و تبدیل ترکیبات فنولی به رسوراترول دارد.

میلی گرم در لیتر در مرحله غوره گی نه تنها افزایشی در غلظت روی برگ ایجاد نکرد، بلکه باعث کاهش معنی دار آن نسبت به شاهد گردید (از ۶/۵۷ به ۲/۴۰ میکروگرم بر گرم) که احتمالاً ناشی از اثرات تداخلی یا سمیت روی در غلظت‌های بالا بوده و می‌تواند جذب سایر عناصر را مختل کرده و سبب کاهش جذب روی از طریق مکانیسم‌های تنظیمی در گیاه گردد (Tisdale *et al.*, 2003)؛ این موضوع اهمیت تعیین غلظت بهینه کود را در مراحل مختلف رشد نشان می‌دهد.

تفاوت معنی داری با شاهد (۲/۶۶) نداشت. به طور کلی، کاربرد برگی نانوکود کلات روی به طور مؤثری غلظت روی برگ را در هر دو مرحله افزایش داد، هرچند پاسخ به غلظت و مرحله رشدی وابسته بود؛ بیشترین افزایش در مرحله غوره گی در روی ۱۰۰۰ (۶/۵۷) و در مرحله رسیدگی در روی ۲۰۰۰ (۶/۱۰) مشاهده شد که نشان‌دهنده افزایش جذب روی با افزایش غلظت در مراحل پیشرفته تر رشد است. این یافته با نتایج Ali *et al.* (2021) مبنی بر افزایش جذب روی در انگورهای رومیزی در پاسخ به کاربرد برگی این عنصر همسو است. افزایش غلظت روی از ۱۰۰۰ به ۲۰۰۰

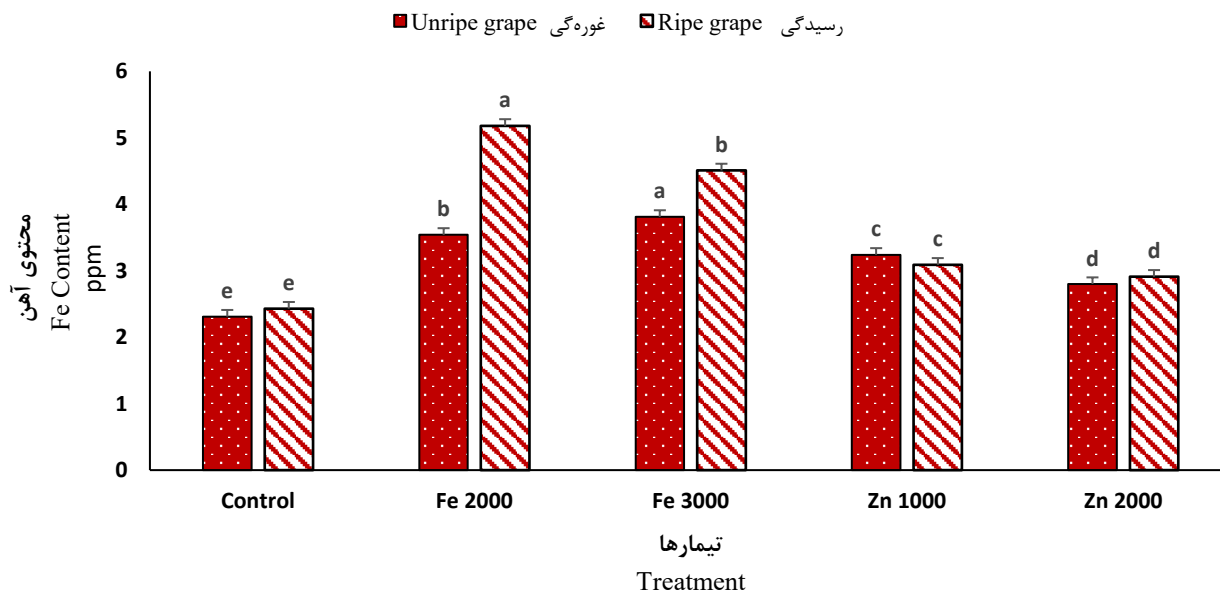


شکل ۵- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر محتوی رسوراترول موجود در پوست و برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 5- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on resveratrol content in grape skin, and leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

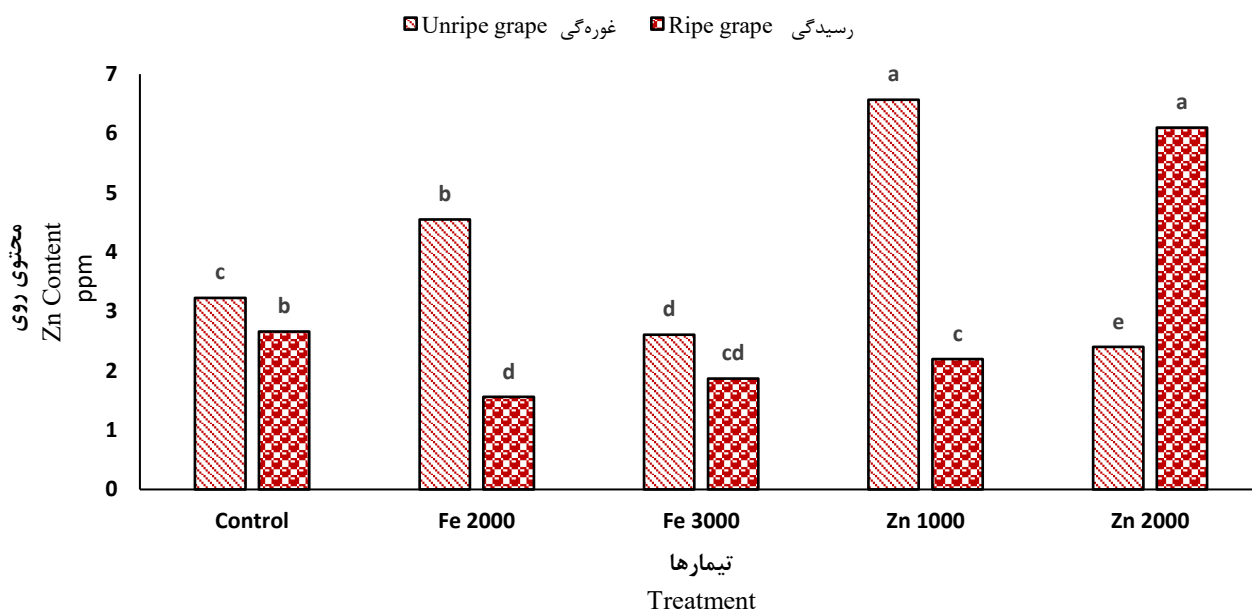
(2020) مطابقت داشت. نانوکودها با فراهم کردن بیشترین سطح تماس برای واکنش‌های متابولیکی، سبب افزایش سرعت فتوسنتز شده و آهن نیز با هدف‌گیری دیواره سلولی، کارایی فرآیندهای بیوشیمیایی را افزایش می‌دهد (Obaid Al-Shahbani *et al.*, 2022). کاهش غلظت روی در اثر کاربرد آهن را می‌توان به دلایل زیر نسبت داد: آهن و روی از سیستم‌های انتقال مشابهی در ریشه و برگ استفاده می‌کنند و حضور بیش از حد آهن می‌تواند جذب روی را مهار کند (Shanmugan *et al.*, 2011). همچنین افزایش غلظت آهن ممکن است بیان ژن‌های مسئول انتقال روی را کاهش دهد (Dubeaux *et al.*, 2015).

تأثیر تیمارهای آهن بر غلظت روی برگ نیز قابل توجه بود. در مرحله غوره گی، آهن ۲۰۰۰ باعث افزایش معنی دار روی برگ (۴/۵۵) میکروگرم بر گرم) شد که احتمالاً به دلیل بهبود وضعیت تغذیه‌ای کلی گیاه و افزایش جذب سایر عناصر است (Shi *et al.*, 2018). در مقابل، در مرحله رسیدگی، هر دو غلظت آهن (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) باعث کاهش غلظت روی برگ (به ترتیب ۱/۵۶ و ۱/۸۷ میکروگرم بر گرم) شدند که نشان‌دهنده رقابت آنتاگونیستی بین آهن و روی در مراحل پیشرفته تر رشد است. این رقابت با نتایج Mohebi *et al.* (2022) در مورد برهمکنش آهن و روی در لنگور همخوانی دارد. افزایش غلظت روی با کاربرد آهن با نتایج Fakharzadeh *et al.*



شکل ۶- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر عنصر آهن برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 6- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on Fe content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).



شکل ۷- اثر نانو کود کلات آهن و روی بر عنصر روی برگ انگور رقم بیدانه سفید، در مرحله غوره‌گی و رسیدگی. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.01$ است.

Figure 7- The effect of nano-chelated iron and zinc fertilizers on Zn content of grape leaves (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid) at the veraison and ripening stages. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.01$).

نانوکودهای کلات آهن و روی در مراحل غوره‌گی و رسیدگی را نشان می‌دهد (شکل ۸). دو مؤلفه اصلی اول (PC1 و PC2) به ترتیب ۴۱/۶ درصد و ۲۰/۵ درصد از واریانس کل داده‌ها را تبیین کردند که مجموعاً ۶۲/۱ درصد از تغییرات کل را پوشش می‌دهند. این میزان

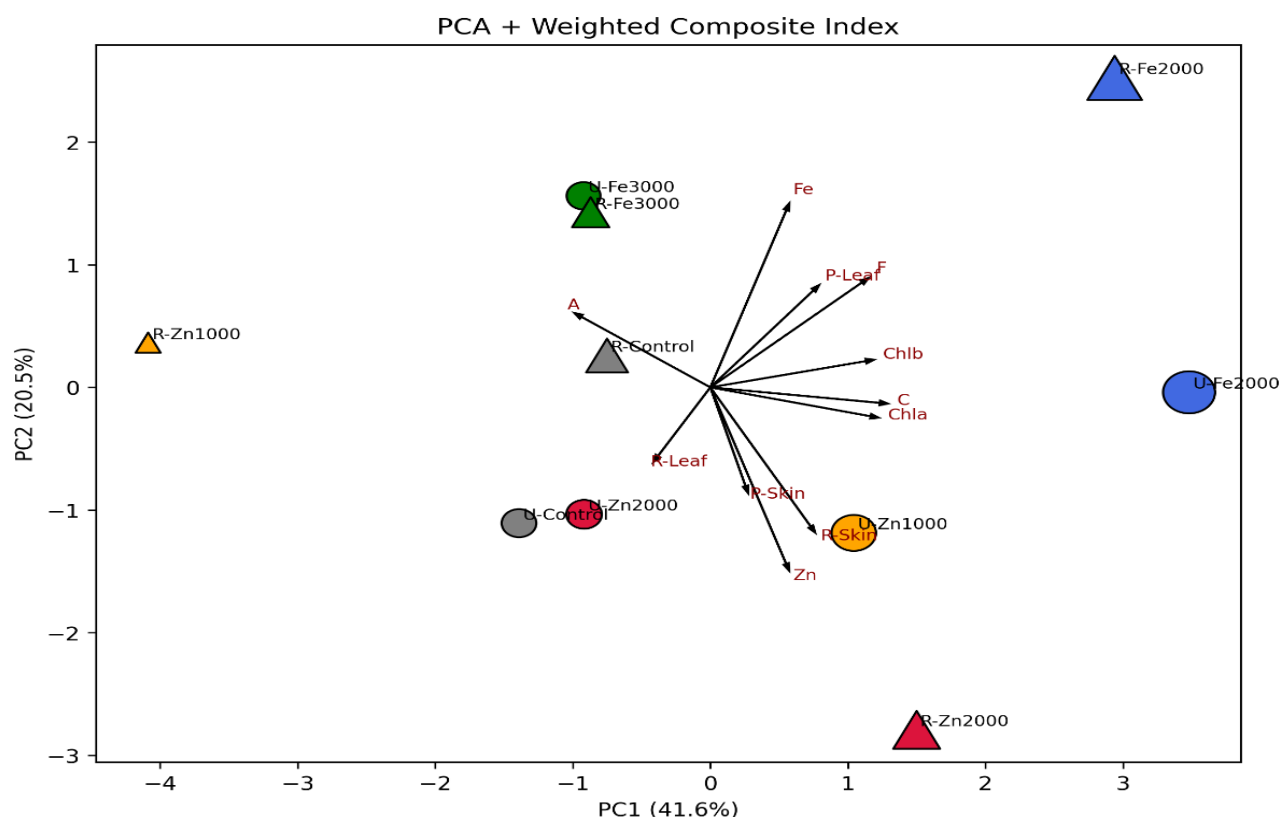
ارزیابی پاسخ انگور به نانو کودهای آهن و روی با تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و شاخص ترکیبی وزنی (WCI): نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) همراه با شاخص ترکیبی وزنی (WCI)، ارزیابی پاسخ چندمتغیره انگور به تیمارهای مختلف

بر اساس شاخص ترکیبی وزنی که عملکرد کلی هر تیمار را بر اساس ترکیب وزنی همه متغیرها نشان می‌دهد (Hasanshahi et al., 2015). تیمارهایی که حباب‌های بزرگ‌تری دارند، از عملکرد کلی بهتری در ترکیب همزمان همه صفات برخوردار بوده‌اند. بر این اساس، تیمارهای آهن ۲۰۰۰ در مرحله غوره‌گی و رسیدگی دارای بزرگ‌ترین حباب‌ها هستند که نشان‌دهنده برتری کلی این دو تیمار در بیشتر صفات اندازه‌گیری شده است. در مقابل، تیمارهای آهن ۳۰۰۰ در مرحله غوره‌گی و روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی دارای حباب‌های کوچک‌تری هستند که تأییدکننده اثرات منفی غلظت‌های نامناسب کود بر عملکرد کلی است. نتایج نشان داد که با وجود بیشترین مقدار آنتوسیانین در تیمار روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی، اندازه حباب این تیمار نسبتاً کوچک است که نشان می‌دهد عملکرد عالی در یک صفت خاص نمی‌تواند جایگزین عملکرد ضعیف در سایر صفات شود و اهمیت توجه به مجموعه‌ای از ترکیبات کیفی را نشان می‌دهد. موقعیت متمایز تیمار روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی در جهت آنتوسیانین نشان می‌دهد که روی با غلظت متوسط در مرحله رسیدگی، محرک اختصاصی بیوسنتز آنتوسیانین است، در حالی که غلظت بالای روی باعث افزایش رسوراترول می‌شود که نشان‌دهنده نقش وابسته به غلظت روی در هدایت مسیرهای متابولیکی ثانویه است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی برگی نانوکودهای کلات آهن و روی، تأثیر معنی‌دار و وابسته به غلظت و مرحله رشدی بر ترکیبات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی انگور رقم 'بیدانه سفید' دارد. در بین تیمارها، نانوکود آهن با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی، بیشترین تأثیر مثبت را بر افزایش کلروفیل، کاروتنوئید، فلاونوئید، فنل کل و رسوراترول نشان داد. همچنین نانوکود روی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله رسیدگی، بیشترین افزایش آنتوسیانین را به همراه داشت. در مقابل، غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکود آهن در اکثر صفات اثر کاهشی و مهارکننده داشت و برای بهبود کیفیت انگور توصیه نمی‌شود. همچنین اثرات آنتاگونیستی بین آهن و روی در مرحله رسیدگی مشاهده شد که نشان‌دهنده نیاز به مدیریت دقیق غلظت و زمان مصرف این عناصر است. به‌طور کلی، بهترین راهکار برای افزایش کیفیت آنتی‌اکسیدانی انگور رقم 'بیدانه سفید'، کاربرد نانوکود آهن ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله غوره‌گی و نانوکود روی ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله رسیدگی (بسته به ترکیب هدف) می‌باشد.

برای تفسیر الگوهای غالب در داده‌های پیچیده بیوشیمیایی قابل قبول است. بررسی جهت و طول بردارهای متغیرها نشان می‌دهد که کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید همبستگی مثبت قوی با یکدیگر داشته و در یک جهت قرار گرفته‌اند که از نظر فیزیولوژیکی قابل انتظار است، زیرا این رنگیزه‌ها همگی در فرآیند فتوسنتز نقش دارند. فلاونوئید و فنل برگ نیز با یکدیگر همبستگی مثبت متوسط نشان دادند و در نزدیکی رسوراترول پوست قرار گرفتند که بیانگر همبستگی مثبت بین این ترکیبات فنلی است. در مقابل، آنتوسیانین در جهتی جدا از سایر متغیرها قرار گرفته که نشان‌دهنده الگوی مستقل با پاسخ متفاوت این ترکیب نسبت به سایر صفات است. قرار گرفتن آنتوسیانین در جهتی متفاوت از کلروفیل‌ها و آهن نشان می‌دهد که تغییرات این ترکیب الزاماً همسو با بهبود وضعیت تغذیه‌ای یا افزایش فتوسنتز نیست. آنتوسیانین‌ها بخشی از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه محسوب می‌شوند و سنتز آن‌ها علاوه بر وضعیت تغذیه‌ای، تحت تأثیر مرحله رشد، شدت نور، تنش‌های محیطی و تنظیم ژنتیکی مسیر فنیل‌پروپانوئید قرار دارد (He et al., 2010). بنابراین انتظار نمی‌رود که این ترکیب همواره با افزایش کلروفیل یا آهن همبستگی مثبت داشته باشد. همچنین، بردارهای مربوط به غلظت آهن و روی در جهت‌های مخالف یکدیگر قرار گرفتند که بیانگر رابطه آنتاگونیستی بین این دو عنصر در جذب و متابولیسم است و با یافته‌های قبلی این مطالعه مبنی بر کاهش غلظت روی در اثر کاربرد آهن در مرحله رسیدگی همسو می‌باشد. بر اساس موقعیت تیمارها در نمودار، تیمار شاهد در مرکز نمودار و نزدیک به مبدأ قرار دارد که نشان‌دهنده شرایط پایه است. تیمار آهن (۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، به‌ویژه در مرحله رسیدگی، در جهت بردارهای کلروفیل‌ها، فلاونوئید و آهن قرار گرفته‌اند و هم‌زمان دارای بزرگ‌ترین شاخص ترکیب وزنی (اندازه حباب بزرگ‌تر) هستند. این موضوع نشان می‌دهد که این تیمار از نظر مجموع صفات مورد بررسی، عملکرد مطلوب‌تری نسبت به سایر تیمارها داشته است. در مقابل، تیمار روی ۱۰۰۰ در مرحله رسیدگی در ناحیه‌ای مخالف بسیاری از صفات فتوسنتزی و تغذیه‌ای قرار گرفته و دارای کوچک‌ترین شاخص ترکیبی است که بیانگر عملکرد ضعیف‌تر این تیمار در مقایسه با سایر تیمارها است. از سوی دیگر، در مرحله غوره‌گی تیمار روی ۱۰۰۰ در جهت روی قرار گرفته است که با بیشترین غلظت روی در این تیمار (۶۵۷ میکروگرم بر گرم) هماهنگی دارد. همچنین تیمارهای روی ۲۰۰۰ و آهن ۳۰۰۰ در موقعیت‌های میانی قرار گرفته‌اند که نشان می‌دهد اثر آن‌ها بر صفات مورد بررسی حد واسطه بوده و پاسخ یکنواختی در تمامی شاخص‌ها ایجاد نکرده‌اند.



شکل ۸- نمودار دوبعدی تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) همراه با شاخص ترکیبی وزن‌دار (WCI) برای ارزیابی پاسخ انگور به نانوکودهای کلات آهن و روی. اندازه حباب‌ها نشان‌دهنده شاخص ترکیبی وزن‌دار است. F، فلاونوئید؛ A، آنتوسیانین؛ Chl a، کلروفیل a؛ Chl b، کلروفیل b؛ C، کاروتنوئید؛ P-Skin، فنول کل پوست انگور؛ P-Leaf، فنول کل برگ؛ R-Skin، رسوراترول پوست انگور؛ R-Leaf، رسوراترول برگ؛ Fe، غلظت آهن؛ Zn، غلظت روی؛ U، مرحله غوره‌گی؛ R، مرحله رسیدگی.

Figure 8- Two-dimensional Principal Component Analysis (PCA) biplot integrated with the Weighted Composite Index (WCI) for evaluating grapevine responses to nano-chelated iron (Fe) and zinc (Zn) fertilizers. Bubble size represents the Weighted Composite Index (WCI). Abbreviations: F: Flavonoid; A, Anthocyanin; Chl a, Chlorophyll a; Chl b, Chlorophyll b; C, Carotenoid; P-Skin, Total Phenol in Grape Skin; P-Leaf, Total Phenol in Leaf; R-Skin, Resveratrol in Grape Skin; R-Leaf, Resveratrol in Leaf; Fe, Iron concentration; Zn, Zinc concentration; U, Unripe stage; R, Ripe stage.

منابع

- Acuña-Avila, P. E., Vásquez-Murrieta, M. S., Hernández, M. O. F., & del Socorro López-Cortéz, M. (2016). Relationship between the elemental composition of grapeyards and bioactive compounds in the Cabernet Sauvignon grapes *Vitis vinifera* harvested in Mexico. *Food Chemistry*, 203, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.031>
- Ahmed, F. F., Akl, A. M., & El-Morsy, F. M. (1997). Yield and quality of Banaty' grapes in response to spraying iron and zinc. *HortScience*, 32(3), 516D-516. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.32.3.516D>
- Ali, I., Wang, X., Abbas, W. M., Hassan, M. U., Shafique, M., Tareen, M. J., Fiaz, S., Ahmed, W., & Qayyum, A. (2021). Quality responses of table grapes 'Flame Seedless' as effected by foliarly applied micronutrients. *Horticulturae*, 7(11), 462. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7110462>
- AOAC International. (2006). *Official Method 975.03, Metals in Plants and Pet Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*. Association of Official Analytical Chemists.
- Arshad, M., Gerigourian, V., Nazemieh, A., Mostoufi, Y., & Khalighi, A. (2006). Investigation on effects of nitrogen and potassium spray on qualitative characteristics and some of effective physiological factors in bearing of *Vitis vinifera* L. 'Soltani'. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 7(3), 135-146. <https://sid.ir/paper/80863/en> (In Persian)
- Bavaresco, L., Cantu, E., Fregoni, M., & Trevisan, M. (1997). Constitutive stilbene contents of grapevine cluster stems as potential source of resveratrol in wine. *Vitis*, 36(3), 115-118. <https://doi.org/10.5073/vitis.1997.36.115-118>
- Bondada, B. (2016). Nutritional aspects of grape (*Vitis vinifera* L.) clusters afflicted with sour shrivel is related to functionality of its vascular tissues. *American Journal of Plant Sciences*, 7(9), 1367-1387. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.79131>
- Bravdo, B. A. (2000). Effect of mineral and salinity on grape production and wine quality. *Acta Horticulturae*, 512, 23-30. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.512.2>
- Dubeaux, G., Zelazny, E., & Vert, G. (2015). Getting to the root of plant iron uptake and cell-cell transport: Polarity

- matters!. *Communicative & Integrative Biology*, 8(3), e1038441. <https://doi.org/10.1080/19420889.2015.1038441>
- Fakharzadeh, S., Hafizi, M., Baghaei, M.A. et al. (2020).** Using Nanochelating Technology for Biofortification and Yield Increase in Rice. *Scientific Reports*, 10, 4351. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60189-x>
- Hasan, M. M., & Bae, H. (2017).** An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: Perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules*, 22(2), 294. <https://doi.org/10.3390/molecules22020294>
- Hasanshahi, H., Irvani, H., Daneshvar Ameri, Zh., & Kalantari, Kh. (2015).** Measure and comparison of economic, social and ecological sustainability of farming systems in the Marvdasht plain. *Desert*, 20(2), 231-239. <https://doi.org/10.22059/jdesert.2015.56485>
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., ... & Duan, C. Q. (2010).** Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15(12), 9057-9091. <https://doi.org/10.3390/molecules15129057>
- Iriti, M., & Faoro, F. (2006).** Grape phytochemicals: A bouquet of old and new nutraceuticals for human health. *Medical Hypotheses*, 67(4), 833-838. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.03.049>
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003).** Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117-122. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3)
- Jeandet, P., Bessis, R., & Gautheron, B. (1991).** The production of resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(1), 41-46. <https://doi.org/10.5344/ajev.1991.42.1.41>
- Kamali, M., Eftekhari, A., & Heidari, M. (2013).** Investigating the effect of iron chelate and iron chelate nano-fertilizers on the quantitative and qualitative traits of some native spinach populations in Iran [in Persian]. Paper presented at the First National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, Tehran, Iran. <https://civilica.com/doc/258070>
- Khanafari, A., Mansoubi, M., & Arbabian, S. (2009).** Evaluation of anthocyanin production ability in Rhizobium in symbiotic and free-living states [in Persian]. *Journal of Microbiology Knowledge*, 1(10), 53-62.
- Lanauskas, J., Uselis, N., Valiūškaite, A., & Viškelis, P. (2006).** Effect of foliar and soil applied fertilizers on strawberry healthiness, yield and berry quality. *Agronomy Research*, 4(Special issue), 247-250.
- Lichtenthaler, H. K. (1987).** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lopez, M., Martinez, F., Del Valle, C., Orte, C., & Miro, M. (2001).** Analysis of phenolic constituents of biological interest in red wines by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 922(1-2), 359-363. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00913-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00913-X)
- Ma, J., Zhang, M., Liu, Z., Chen, H., Li, Y. C., Sun, Y., ... & Zhao, C. (2019).** Effects of foliar application of the mixture of copper and chelated iron on the yield, quality, photosynthesis, and microelement concentration of table grape (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*, 254, 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.075>
- Meggio, F., Zarco-Tejada, P. J., Núñez, L. C., Sepulcre-Cantó, G., González, M. R., & Martín, P. (2010).** Grape quality assessment in vineyards affected by iron deficiency chlorosis using narrow-band physiological remote sensing indices. *Remote Sensing of Environment*, 114(9), 1968-1986. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2010.04.004>
- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- Mohebi, H., Ebady, A., Taheri, M., Zarabi, M., & Bihamta, M. (2022).** The effect of different levels of foliar application of zinc, iron, and manganese micronutrients on reproductive characteristics and yield of *Vitis vinifera* grapes in some vineyards of Zanjan province. *Journal of Horticultural Science*, 36(2), 443-457. <https://doi.org/10.22067/JHS.2021.71776.1078> (In Persian)
- Monteiro, A. I., Malheiro, A. C., & Bacelar, E. A. (2021).** Morphology, physiology and analysis techniques of grapevine bud fruitfulness: A review. *Agriculture*, 11(2), 127. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020127>
- Naderi, M., & Danesh Shahraki, A. (2011).** Application of nanotechnology in optimizing the formulation of chemical fertilizers [in Persian]. *Nanotechnology*, 4(165), 20-22. <https://sid.ir/paper/457104/fa>
- Nejatian, M. A. (2006).** Collection and preliminary evaluation of grapevine cultivars of Qazvin province [in Persian]. *Seed and Plant*, 22(4), 319-338.
- Obaid Al-Shahbani, I. R., & Abu Al-Mikh Al-Mamouri, M. T. (2022).** Effect of Adding Bio-Fertilizer and Spraying Nano-and Chelated Iron Fertilizer on the Nutrient Content of Orange Seedling Leaves. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1060, No. 1, p. 012012). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1060/1/012012>
- Peyvandi, M., Mirza, M., & Kamali Jamakani, Z. (2012).** The Effect of Nano Fe Chelate and Fe Chelate on the Growth and Activity of some Antioxidant. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 2(5), 25-32. <http://ncmbjpiau.ir/article-1-121-en.html>
- Pileh, F., & Ghasemzadeh, R. (2017).** Diversity evaluation of biochemical parameters and antioxidant activity in some commercial grape cultivars. *Research in Pomology*, 2(1), 45-60.
- Rabino, I., & Mancinelli, A. L. (1986).** Light, temperature, and anthocyanin production. *Plant Physiology*, 81(3), 922-924. <https://doi.org/10.1104/pp.81.3.922>
- Ranganna, S. (1986).** *Handbook of Analysis and Quality Control of Fruit and Vegetable Products* (2nd ed.). Tata McGraw-Hill Education.
- Seydmohammadi, L., Borna, F., Negaresh, K., & Zare Bavani, M. R. (2026). Comprehensive analysis of antioxidant activity and bioactive phytochemicals in the endemic *Klasea khuzistanica* (Mozaff.) Mozaff. ex Hidalgo.: phenolics, flavonoids, and phytoecdysteroids. *Natural Product Research*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14786419.2026.2690080>
- Shanmugam, V., Lo, J. C., Wu, C. L., Wang, S. L., Lai, C. C., Connolly, E. L., ... & Yeh, K. C. (2011).** Differential

expression and regulation of iron regulated metal transporters in *Arabidopsis halleri* and *Arabidopsis thaliana*—the role in zinc tolerance. *New Phytologist*, 190(1), 125-137.

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds—Biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291-299. <https://doi.org/10.1089/109662003772519831>

Shi, P., Li, B., Chen, H., Song, C., Meng, J., Xi, Z., & Zhang, Z. (2017). Iron supply affects anthocyanin content and related gene expression in berries of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon. *Molecules*, 22(2), 283. <https://doi.org/10.3390/molecules22020283>

Shi, P., Song, C., Chen, H., Duan, B., Zhang, Z., & Meng, J. (2018). Foliar applications of iron promote flavonoids accumulation in grape berry of *Vitis vinifera* cv. Merlot grown in the iron deficiency soil. *Food Chemistry*, 253, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.109>

Soleas, G., Goldberg, D., Diamandis, E., Karumanchiri, A., Yan, J., & Ng, E. (1995). A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(3), 346-353. <https://doi.org/10.5344/ajev.1995.46.3.346>

Song, C. Z., Liu, M. Y., Meng, J. F., Chi, M., Xi, Z. M., & Zhang, Z. W. (2015). Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. *Molecules*, 20(2), 2536-2554. <https://doi.org/10.3390/molecules20022536>

Tisdale, S. L., Nelson, W. L., Beaton, J. D., & Havlin, J. L. (2003). *Soil Fertility and Fertilizers* (5th ed.). Prentice-Hall of India.

Wang, J., Sun, Y., Wang, H., Guan, X., & Wang, L. (2016). Resveratrol synthesis under natural conditions and after ultraviolet-C irradiation in grape leaves at different leaf developmental stages. *HortScience*, 51(6), 727-731. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.6.727>

Williams, L. E., Dokoozlian, N. K., & Wample, R. (2018). Grape. In *The Physiology of Fruit Growth* (pp. 85-133). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203719299-4>

Yan, Y., Tian, B., Li, X., Wang, Y., Shi, Y., Jiang, K., ... & Li, P. (2026). The polyphenol trade off: leaf protection vs fruit attraction in apples driven by the phlorizin glycosyltransferase PGGT1. *New Phytologist*, 250(1), 591-601. <https://doi.org/10.1111/nph.70923>