# اثر کاربرد قبل برداشت اسید جیبرلیک و اسید سالیسیلیک بر عملکرد، فنول کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انگور

**نادیا سعیدی[۱]، موسی رسولی*[۲]، روح اله کریمی[۲]**
[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر
[۲] استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر
*نویسنده مسئول: m.rasouli@malayeru.ac.ir

**چکیده**

**کاربرد برخی الیسیتورها به‌منظور افزایش محصول و متابولیت‌های ثانویه یکی از اهداف مهم در برنامه‌های مدیریتی تاکستان می‌باشد. در این راستا استفاده از برخی تنظیم‌کننده‌های رشد از قبیل اسید سالیسیلیک و اسید جیبرلیک ضمن افزایش عملکرد تأثیر به سزایی در تجمع متابولیت‌های ثانویه دارد. لذا در تحقیق حاضر اثر کاربرد برگی اسید جیبرلیک در سه غلظت (۰، ۳۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام) و اسید سالیسیلیک در سه غلظت (۰، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) در چهار مرحله فنولوژیکی مختلف شامل :۱- قبل شکوفایی گل ۲- بعد شکوفایی گل ۳- غورگی و ۴- تغییر مزه در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. بر اساس نتایج اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف بر اساس میزان عملکرد، محتوای فنول کل، فلاونوئید، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. بیشترین عملکرد با ۳۵/۲ کیلوگرم در بوته در تاک‌های تیمار شده با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک در ترکیب با اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار به دست آمد و کمترین عملکرد با ۱۷/۳ کیلوگرم در بوته در تیمار ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک به‌تنهایی حاصل شد. میزان فنول کل، فلاونوئید و آنتوسیانین در تاک‌های تیمار شده با غلظت اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار به‌تنهایی بیشترین بود. از طرفی بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با ۶۱/۰۲ درصد در میوه تاک‌هایی مشاهده شد که با غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک در ترکیب با اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار محلول‌پاشی شده بودند. بنابراین جهت نیل به عملکرد بالا کاربرد سطح بالای اسید جیبرلیک و سطح متوسط اسید سالیسیلیک و به‌منظور افزایش متابولیت‌های ثانویه ترکیب سطوح متوسط این تنظیم‌کننده‌ها توصیه می‌شود.**

***کلمات کلیدی:*** **انگور، عملکرد، تنظیم‌کننده‌های رشد، متابولیت‌های ثانویه**

## مقدمه

ترکیبات فنولی در تعیین کیفیت میوه انگور نقش مهمی دارند و چون این ترکیبات روی ویژگی‌هایی مانند عطر، طعم، تلخی و گسی میوه نقش دارند مقدار و فعالیت آن‌ها علاوه بر انگور در سایر ریز میوه‌های نیز بسیار مورد توجه است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی انواع ریزمیوه‌ها مربوط به ترکیبات فنولی و کاروتنوئیدها است ترکیبات فنولی عمدتاً شامل پروآنتوسیانیدین، آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک می‌باشند پروآنتوسیانیدین‌ها ترکیبات فنولیکی غالب در بذر و پوست حبه هستند (Benvenuti *et al.*, 2004). صفات کیفی انگور به‌وسیله ژنوتیپ، آب و هوا، نحوه کشت و کار و تاک‌داری به‌ویژه کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. اعمالی که به بهبود کیفیت انگورها کمک می‌کنند درواقع ویژگی‌های فیزیکی خوشه‌ها، حبه‌ها و ترکیب شیمیایی آن‌ها را بهبود می‌بخشند. از زمانی که تیمار جیبرلین در مورد انگورهای بی‌دانه معرفی شد، پژوهش‌های زیادی در این زمینه انجام گرفت. جیبرلین‌ها رشد را در گیاهان دست‌نخورده و سالم، بیشتر از بخش‌های قطع شده تحریک می‌کنند که در مورد اکسین‌ها این موضوع برعکس است. جیبرلین‌ها به‌وسیله افزایش انعطاف‌پذیری دیواره سلولی و هیدرولیز نشاسته به قند که باعث کاهش پتانسیل آبی سلول و در نتیجه ورود آب و طویل شدن سلول می‌گردد موجبات رشد و افزایش و کیفیت بهتر انگور را فراهم می‌کند. اسید سالیسیلیک به دلیل تأثیر بر روی تعدادی

از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی مورد توجه محققان قرار گرفته است. کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر روی درختان سیب سبب سفتی میوه و تأخیر در زمان رسیدن شده است (Youn *et al.*, 2004). با توجه به اینکه اسید جیبرلیک و اسید سالیسیلیک به‌عنوان نوعی الیسیتور، تأثیر زیادی در افزایش اندازه و کیفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها دارند، در پژوهش حاضر، اثر این دو تنظیم‌کننده رشد در غلظت‌های مختلف بر عملکرد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انگور رقم 'بی‌دانه سفید' بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک باغ تجاری ده‌ساله واقع در روستای افسریه شهرستان ملایر استان همدان انجام شد. تاک‌ها تحت سیستم تربیت داربستی کشت شده و تمام عملیات باغی مهم از قبیل مبارزه با علف‌های هرز، هرس، کود دهی، مبارزه با آفات و بیماری‌ها و آبیاری مطابق با عرف منطقه انجام شد. پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تیمار انجام شد. فاکتور اول شامل اسید جیبرلیک در سه غلظت (۰، ۳۰ و ۶۰ پی پی ام) و فاکتور دوم شامل اسید سالیسیلیک در سه غلظت(۰، ۰/۵ و یک میلی مولار) بود که در چهار مرحله فنولوژیکی مختلف شامل :۱- قبل از بازشدن گل‌ها ۲- ریزش گلبرگ‌ها ۳- غورگی و ۴- ورایسن (مرحله ترش و شیرین) و در دو نوبت صبح و عصر تا مرحله آبچک روی تاک‌ها محلول‌پاشی شد. برداشت میوه در نیمه دوم شهریورماه با استفاده از شاخص مجموع مواد جامد محلول برداشت و پس از توزین و برآورد عملکرد برای اندازه‌گیری آنتوسیانین، فنول کل، فلاونوئید، اسیدهای فنولی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به آزمایشگاه تولیدات گیاهان باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر انتقال داده شد.

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین ابتدا عصاره میوه‌ها توسط اتانول استخراج و توسط دو بافر کلرید پتاسیم ۰/۰۳ مولار (pH=۱) و استات سدیم ۰/۴ مولار(pH=۴/۵ ) رقیق شد و میزان آنتوسیانین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Giusti *et al.*, 2001). میزان فنل کل به روش فولین- سیوکالتیو (Velioglu *et al.*, 1998) انجام شد. بدین منظور ۳۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی با یک میلی‌لیتر فولین ۱۰درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷درصد مخلوط و بعد از ۳۰ دقیقه در طول موج ۷۶۵ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، استرالیا) اندازه‌گیری شد. میزان فنل کل از روی منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد. میزان فلاونوئید با روش کالری متری آلومینیوم کلراید انجام گرفت (Chang *et al.*, 2002). برای این منظور ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی برگ با ۱۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰درصد، ۱۰ میکرولیتر پتاسیم استات یک مولار و ۲۸۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس نمونه‌ها ورتکس شده و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت گردید. میزان فلاونوئید کل بر اساس منحنی استاندارد کوئرستین تعیین و برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش دی پی پی اچ ( (DPPH اندازه‌گیری شد (Sanz *et al.*, 2001). در این روش ۰/۵ گرم از بافت میوه با ۴ سی‌سی متانول ۸۰ درصد همگن شده و مخلوط حاصل در ۶۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول رویی با ۳۴۰۰ میکرولیتر محلول دی‌پی‌پی‌اچ مخلوط و محلول حاصل را به مدت ۲ ساعت در شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس میزان جذب نوری آن در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و ظرفیت مهارکنندگی رادیکال آن محاسبه شد. در نهایت تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

اثر متقابل اسید سالیسیلیک و اسید جیبرلیک بر عملکرد، آنتوسیانین، فنول کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انگور بی‌دانه سفید در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. با توجه به جدول ذیل، بیشترین عملکرد در تاک‌های تیمار شده با غلظت ۳۰ پی پی ام اسید جیبرلیک در ترکیب با اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار به دست آمد و کمترین عملکرد در تیمار ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک به‌تنهایی حاصل شد که البته با عملکرد تاک‌های شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

جدول۱- اثر کاربرد برگی اسید جیبرلیک و اسید سالیسیلیک بر عملکرد، آنتوسیانین، فنول کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی انگور

| تیمارها | عملکرد (kg) | آنتوسیانین (mg g$^{-1}$FW) | فنول کل (mg g$^{-1}$FW) | فلاونوئید (mg g$^{-1}$FW) | ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (٪) |
|---|---|---|---|---|---|
| G۱S۱ | ۱۷/۵ f | ۰/۰۴۳ bc | ۱/۴۵ c | ۰/۷۲ bc | ۲۴/۱۴ ed |
| G۱S۲ | ۱۷/۳ f | ۰/۰۶ b | ۱/۶۵ b | ۰/۹۷ abc | ۲۰/۳۴ e |
| G۱S۳ | ۲۱/۴ e | ۰/۱۰ a | ۱/۹۴ a | ۱/۱۷ a | ۲۸/۶۰ d |
| G۲S۱ | ۲۳/۹ d | ۰/۰۴ bc | ۱/۳۳ c | ۱/۰۲ ab | ۲۶/۵۴ d |
| G۲S۲ | ۲۳/۷ d | ۰/۰۵ bc | ۰/۷۰ d | ۰/۸۷ abc | ۴۵/۵۷ b |
| G۲S۳ | ۳۵/۲ a | ۰/۰۲۷ bc | ۰/۸۷ d | ۰/۶۹ c | ۶۱/۰۲ a |
| G۳S۱ | ۲۵/۷ c | ۰/۰۵ bc | ۱/۴۱ c | ۱/۱۶ a | ۳۵/۵۹ c |
| G۳S۲ | ۳۲/۷ ab | ۰/۰۲۳ c | ۰/۴۶ e | ۱/۱۱ a | ۴۳/۲۲ b |
| G۳S۳ | ۲۹/۳ b | ۰/۰۵۵ bc | ۰/۷۸ d | ۰/۷۸ bc | ۲۶/۶۹ d |

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) اختلاف معنی‌داری ندارند.
($S_۳$= 1mM ، $S_۲$= 0.5mM ، $S_۱$=۰، $G_۳$= 60 ppm ،$G_۲$=30 ppm ، $G_۱$=۰)

میزان فنول کل و آنتوسیانین در تاک‌های تیمار شده با غلظت اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار به‌تنهایی بیشترین بود. کمترین میزان فنول کل و آنتوسیانین در تاک‌های تیمار شده با سطح ۲ اسید سالیسیلیک در ترکیب با سطح سوم اسید جیبرلیک مشاهده شد. کمترین فنول کل در تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار در ترکیب با اسید جیبرلیک ۳۰ پی پی ام حاصل شد (جدول ۱). از طرفی بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه تاک‌هایی مشاهده شد که با غلظت ۳۰ پی پی ام اسید جیبرلیک در ترکیب با اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار محلول‌پاشی شده بودند. کمترین خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن مربوز به عصاره میوه تاک‌های تیمار شده با اسید جیبرلیک ۳۰ پی پی ام در ترکیب با اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار به دست آمد (جدول ۱). بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تجمع فنول و فلاونوئید همبستگی وجود داشت ولی الزاماً تیمارها با بیشترین این ترکیبات طرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نداشتند ولی در کل تیمارها با محتوای فنول و فلاونوئید و نیز آنتوسیانین بیشتر از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردارند. این نکته بیانگر آن است که احتمالاً هریک از این الیسیتورها بر بیوسنتز اسیدهای فنولی و ترکیبات فلاونول خاصی تأثیر دارند که سنجش جداگانه این ترکیبات می‌تواند در تفسیر بهتر نتایج کمک کند. در توت‌فرنگی اسید سالیسیلیک در غلظت ۲میلی مولار به‌طور مؤثری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار اسید اسکوربیک را افزایش داده و از آلودگی قارچی را کاهش داد (Asghari, 2006). در محلول‌پاشی قبل از برداشت پرتقال ناول با اسید سالیسیلیک ۱ و ۲ میلی مول بر لیتر مقدار کارتنوئید، اسید آسکوربیک،گلوتاتیون، فلاونوئید و فنول کل پوست و گوشت میوه افزایش یافت(Huang et al., 2008). فعالیت آنزیم پلی فنول آمونیالاز (آنزیم کلیدی در بیوسنتز ترکیبات فنولی) بستگی به میزان C/N، میزان فتوسنتز کل و کربوهیدرات‌های کل غیر ساختاری دارد که با کاربرد اسید سالیسیلیک در ترکیب با جیبرلیک اسید فتوسنتز کل و تولید کربوهیدرات‌ها افزایش می‌یابد. مطالعات دیگر نشان داده انباشتگی ترکیبات فنلی در انگور به‌وسیله تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند از طریق افزایش در فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) تحریک شود، PAL اولین آنزیم کلیدی دخیل در بیوسنتز فنل‌ها در میوه‌ها است (Chen et al., 2006). افزایش غلظت فنول کل مشاهده شده در این آزمایش حاکی از نقش کلیدی این آنزیم به‌صورت غیرمستقیم در بیوسنتز ترکیبات فنولی است. از مهم‌ترین دلایل اهمیت فلاونوئیدها در عملکرد آن‌ها در سیستم‌های دفاعی می‌باشد ( Velioglu et al., 1998). فاکتورهای محیطی تأثیر به سزایی در فعالیت فلاونوئیدها دارند. و هنگامی‌که گیاه احساس وجود تنش را پیدا کرد، در نتیجه برای مقابله با تنش سیستم دفاعی گیاه از جمله فلاونوئیدها فعال شده و افزایش می‌یابد. در کل با توجه به نتایج به دست آمده جهت نیل به عملکرد بالا کاربرد سطح بالای اسید جیبرلیک و سطح متوسط اسید سالیسیلیک و به‌منظور افزایش متابولیت‌های ثانویه ترکیب سطوح متوسط این تنظیم‌کننده‌ها توصیه می‌شود.

## منابع

**Asghari M. 2006.** Effects of salicylic acid on Selva strawberry fruit, antioxidant activity,ethylene production and senescence, fungal contamination and some other quality attributes.Ph.D. thesis, University of Tehran.

**Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M. and Bertelli, D. 2004.** Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. J. Food Sci. 69: 164-169.

**Chang, C. M. Yang, H. Wen, and J. Chern. 2002.** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10: 178- 182.

**Chen, J., Wen, P., Kong, W., Pan, Q., Zhan, J, Li, J., Wan, S. & Huang, W. 2006.** Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. Postharvest Biology and Technology, 40, 64–72.

**Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001.** Anthocyanins: characterization and measurement with Uv-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, RE, Current protocols in food analytical chemistry, cap. 1:.1-13.

**Huang R., Xia R., Lu Y., Hu L., and Xu Y. 2008.** Effect of preharvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of 'Cara cara' navel orange (Citrus sinenisis L. Osbeck). J. Sci. Food Agric., 88: 229-236.

**Sanz M., M.D., Castillo, N. Corio and A. Olana. 2001.** Formation of Amadori compounds in dehydrated fruits. Journal of Agriculture and Food Chemistry 49: 5228-5231.

**Velioglu, Y.S., G. Mazza, L. Gao and B.D. Oomah .1998.** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. Journal of Agriculture and Food Chemistry 46:4113-4117.

**Youn C.K., Kim S.K., Lim S.C., Kim Y.H., Yoon T., and Kim T.S. 2004.** Effect promalin and salicylic acid application on tree growth and fruit quality of 'Tsugaru' apples. Proc.9th is on plant Bioregulators. Actattort, 653.

# The Effect of Pre-Harvest Application of Gibberellic and Salicylic Acid on Yield, Total Phenol, Flavonoid and Antioxidant Capacity of Grape

**Nadia Saeidi[1], Mousa Rasouli*[2], Rouhollah Karimi[3]**
[1] MSc. Student of Plant Product Engneering, Faculty of Agriculture, Malauer University, Malayer, Iran
[2,3] Horticulture and Landscape Department, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
*Corresponding Author: m.rasouli@malayeru.ac.ir

## Abstarct

**The application of some elicitors in order to increasing of production and secondary metabolites is on of the main management programs in vineyards. In this field, using of some growth regulators such as gibberellic acid ($GA_3$) and salicylic acid (SA) meanwhile of increasing of yield had a huge effect on secondary metabolite accumulation. Therefore, in the present research the effect of foliar application of $GA_3$ (0,30, 60 ppm) and SA (0, 0.5 and 1 mM) was applied at four phonological stages of 1- pre- anthesis, 2- post- anthesis 3- pea size berry and 4- verison under a factorial experiment based a randomized complete block design with three repeats. Based on results, significant difference was found among all treatment regarding to yield, total phenol, anthocyanin, flavonoid and antioxidant capacity. The highest yield was achieved in 30 ppm $GA_3$ in combination with 1 mM SA with 35.2 (kg), and the lowest yield observed in 1 Mm treatment with 17.3 (kg) in solely. The highest total phenol, flavonoid and anthocyanin content were achieved with SA at 1mM treatment solely. On the other hand, Antioxidant capacity was higher in $GA_3$ at 30 ppm in combination with SA at 1mM with 61.02 percent in compared to other treatments. Therefore, for higher yield it is required to be applied $GA_3$ at high dose in combination to SA at moderate concentration and for higher metabolite is required to be applied these growth regulators at moderate concentration.**

***Keywords;*** **Grape, yield, growth regulators, secondary metabolites**