

مطالعه تغییرات خواص آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد در دو رقم انگور

"شاهانی" و "فخری" (*Vitis vinifera* L.) تحت تیمار اسید سالیسیلیکفاطمه نظری^۱، معصومه ملکی^{۱*}، موسی رسولی^۲، سید مصطفی میرشاه ولد^۳ و مجید فرشادی^۳^۱ ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی^۲ ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی فضای سبز^۳ ملایر، دانشگاه ملایر، آزمایشگاه مرکزی

تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۴

چکیده

انگور (*Vitis Vinifera* L.) دارای انواع ترکیبات آنتی‌اکسیدان بسیار مفید برای انسان می‌باشد. از طرفی اسید سالیسیلیک نیز به‌عنوان یک شبه هورمون در برخی گیاهان، افزایش دهنده ترکیبات آنتی‌اکسیدان معرفی شده است. در این تحقیق از دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" در دو مرحله رشدی غوره‌گی و رسیدگی استفاده شد و از سه غلظت (صفر (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی مولار) اسید سالیسیلیک بصورت محلول‌پاشی روی برگها و میوه استفاده گردید. بافتهای مورد مطالعه برگ، گوشت، دانه و پوست میوه بودند. همچنین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی با کمک سیستم بتا کاروتن-اسید لینولئیک، میزان رسوراترول و فنل کل اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تغییرات محتوای فنل کل تحت تیمار اسید سالیسیلیک با توجه به اندام و رقم بسیار متغیر می‌باشد و از روند خاصی تبعیت نمی‌کند. تیمار اسید سالیسیلیک در بیشتر بافتهای در مرحله غوره‌گی در غلظت ۱ میلی مولار و در مرحله رسیدگی غلظت ۰/۱ میلی مولار اثر افزایشی بیشتری روی درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت. تغییرات مقدار رسوراترول نیز نشان داد که رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" دارای رسوراترول بالاتری می‌باشد و اثر افزایش غلظت ۰/۱ میلی مولار بر میزان رسوراترول برگها و پوست میوه بیشتر است. به‌طور کلی نتایج نشان دهنده افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی پوست، گوشت و دانه ارقام انگور مورد بررسی، تحت تیمار اسید سالیسیلیک بود.

واژه‌های کلیدی: انگور، بتاکاروتن-اسید لینولئیک، رسوراترول، آنتی‌اکسیدان.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۸۵۱۰۱۷۷، پست الکترونیکی: Masoumehmaleki@khayam.ut.ac.ir

مقدمه

ترکیب‌هایی مانند فنلها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و استروئیدها اشاره نمود. بخشی از این مواد در مواجهه گیاهان با گونه های فعال اکسیژن و تماس با عوامل بیماری‌زا تولید می‌شوند و بخشی دیگر بطور طبیعی طی دوره تکمیل مراحل رشد و نمو گیاهان تولید می‌گردند و براحتی توسط آنتی‌اکسیدانهای طبیعی حذف می‌شوند (۳). روشهای مختلفی برای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد، از

ترکیبات فنلی آنتی‌اکسیدانهای قوی در گیاهان هستند و دارای فعالیت فیزیولوژیکی متنوع دیگر از جمله فعالیت ضد سرطانی، آنتی‌باکتریالی و ضد التهاب می‌باشند (۵۰) و (۳۷). آنتی‌اکسیدانهای طبیعی در میوه‌ها و سبزیجات به فراوانی حضور دارند، از طرف دیگر تعدادی از این ترکیبها با خواص آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه توسط گیاهان ساخته می‌شوند که از آن جمله می‌توان به

آغاز رسیدگی و کاهش سریع این ماده از مرحله آغاز رسیدگی تا مرحله بلوغ میوه وجود دارد. از طرفی اسید سالیسیلیک (SA) یکی از مولکولهای پیام رسان کلیدی در فعال سازی پاسخ های اختصاصی دفاعی گیاه شناخته می شود. پاسخ های دفاعی گیاه منجر به بیوسنتز و تجمع انواع ترکیبات ثانویه گیاهی می گردد (۳۸). مطالعات نشان داده تیمارهای متفاوت از جمله اضافه کردن اسید سالیسیلیک در غلظتهای مناسب باعث بالا رفتن توان سیستم آنتی اکسیدانی بافتهای گیاهی از طریق فعال کردن برخی آنزیمهای آنتی اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز) و افزایش برخی مواد غیر آنزیمی مانند آنتوسیانینها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها می شود (۱۱ و ۳۶). در پژوهشی برای بهبود تولید متابولیتهای سودمند برای رسیدن به غلظتهای بالاتر در کشت سوسپانسیون انگور از تیمار اسید سالیسیلیک به عنوان تیمار استفاده شد (۲۹). مطالعاتی که رنجبرانی و همکاران (۲۰۱۱) در این زمینه در ایران انجام داده اند نشان می دهد که اثر اسید سالیسیلیک تنها بر روی شاخصهای مورفولوژیکی انگور بیدانه سفید مورد مطالعه قرار گرفته است و سایر ارقام بررسی نشده اند و از طرف دیگر مکانسیمهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اثر این هورمون بر روی ارقام مختلف انگور ناشناخته مانده است.

بنابراین در این تحقیق با توجه به مقرون به صرفه بودن مصرف اسید سالیسیلیک در سطح کلان و خواص آنتی اکسیدان این محصول، سعی بر آن بود تا اثر اسید سالیسیلیک بر خواص آنتی اکسیدانی آنها بررسی گردد، همچنین غلظت بهینه برای مصرف این تنظیم کننده بدست آید. در ضمن در این مطالعه مقایسه ای بین دو رقم انگور "فخری" (سبز رنگ) و "شاهانی" (سیاه رنگ) انجام شود و با توجه به رنگ میوه "شاهانی" فرض بر بالاتر بودن این ترکیبات در این رقم می باشد.

مواد و روشها

در این تحقیق از دو رقم انگور دانه دار "شاهانی" (رنگ

جمله آنها می توان به روش حذف کردن رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و روش تعیین میزان بی رنگ شدن بتا کاروتن-اسید لینولئیک اشاره کرد. میوه انگور (*Vitis vinifera* L.) از لحاظ پلی فنلها غنی می باشد و ۶۰ تا ۷۰ درصد پلی فنلهای انگور در دانه آن وجود دارد (۱۵). ترکیبات پلی فنلی در انگور در غلظتهای مختلف یافت می شود و بستگی به رقم انگور و شرایط محیطی تاکستان دارد (۴۸). فنلهای دانه شامل پروآنتوسیانیدین، آنتوسیانین، فلاونول و رسوراترول و اسیدهای فنلی می باشد. ترکیبات فنلی اصلی پوست میوه انگور شامل پروآنتوسیانین، الایژنیک اسید، مریستین، کوئرستین، کامپروفول و ترانس رسوراتول می باشد (۲۱). آنتوسیانینها و فلاونوئیدها دو گروه اصلی از ترکیبات فنلی در انگور می باشد. در ارقام انگور با حبه قرمز، ترکیبات فنلی بطور عمده در دانه و پوست حبه گزارش شده است. ترکیبات فنلی کل برای ارقام انگور با حبه قرمز ۱۲۲۰۰-۱۸۵۰ میلی گرم در میلی لیتر و در ارقام انگور با حبه سبز ۲۵۰-۲۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد. ارقام انگور با حبه سبز دارای رسوراترول و دیگر ترکیبات فنلی کمتری نسبت به ارقام انگور با حبه قرمز می باشند. رسوراترول یک ترکیب آنتی اکسیدان است که بیشتر در انگورهای قرمز تجمع می یابد و می تواند در حفظ سلامتی انسان نقش مؤثری داشته باشد، به طوری که از رشد سلولهای سرطانی جلوگیری کرده و ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی را کاهش می دهد (۱۷). در انگورهای اروپایی (*Vitis vinifera*) بخش اعظم رسوراترول موجود در گیاه در پوست میوه انباشته شده و بخش بسیار اندکی از آن در گوشت میوه و دانه ها تجمع می یابد. در حالی که در انگورهای آمریکایی (Muscadineae) علاوه بر پوست حبه، دانه ها نیز مقادیر معتابیهی از رسوراترول را در خود انباشته می کنند (۱۴). در مطالعات Jeandet و همکاران (۱۹۹۱)، مشاهده کردند که کاهش تدریجی در تولید رسوراترول از مرحله غوره گی تا مرحله

دقیقا مانند عمل فوق تا سه بار انجام شد. لازم به ذکر است که به لحاظ حساس بودن رسوراترول به نور کلیه عملیات عصاره‌گیری در محیط بسیار کم نور انجام شد. برای ارزیابی کمی رسوراترول نمونه‌ها، ابتدا محلول استاندارد رسوراترول جامد (محصول شرکت Sigma آمریکا) تهیه شد. برای این منظور از دستگاه HPLC مدل Sykam ساخت کشور آلمان که مجهز به آشکارساز UV/Vis از نوع Sykam S3210 بود استفاده شد. مقدار تزریق ۲۰ میکرولیتر و ستون به‌کار گرفته شده C18-ODS3 به ابعاد طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر و قطر ذرات ۵/۵ میکرون بود. فاز متحرک شامل بافر سیترات سدیم ۵/۵ pH= و استونیتریل فوق خالص با نسبت ۹۹:۱ و با سرعت عبور ۰/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. بر اساس زمان بازداری و با استفاده از استاندارد، رسوراترول مقدار آن در نمونه‌های در طول موج ۳۰۶ نانومتر مشخص و بصورت میکرومول در گرم وزن تر بیان شد.

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از سیستم بتاکاروتن-اسید لینولئیک: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دو رقم انگور با استفاده از سیستم بتاکاروتن-اسید لینولئیک ارزیابی شد (۴). بدین منظور محلولی از ۰/۲ میلی گرم بتاکاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم می باشد تهیه شد. سپس به این محلول ۲۰ میلی گرم اسید لینولئیک و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ اضافه شد و به‌خوبی بهم زده شد. ۵ میلی لیتر از محلول تهیه شده در لوله آزمایش ریخته شد و بعد ۱ میلی لیتر از عصاره به لوله آزمایش اضافه گردید. تمام این مراحل در مورد بوتیلیدهیدروکسی تولوئن (BHT) به‌عنوان شاهد مثبت و آب به‌عنوان شاهد منفی انجام شد. عصاره گیاه به غلظت ۲ میلی گرم در ۶ میلی لیتر توئین ۴٪ به‌عنوان بلانک عصاره گیاه استفاده شد. در ابتدا جذب نمونه‌ها فوراً در زمان صفر ($t=0$) در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر JENUS مدل-UV 1200 اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با

حبه سیاه) و "فخری" (رنگ حبه سبز) در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی استفاده گردید. میوه‌ها و برگ‌های این ارقام با سه غلظت صفر (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی مولار محلول اسید سالیسیلیک در دو مرحله رشدی (غوره‌گی و رسیدگی) بصورت محلول پاشی تیمار شدند. نمونه‌ها (برگ و میوه) در دو مرحله رشدی برداشت و به آزمایشگاه برای آنالیز منتقل شدند.

سنجش ترکیبات فنلی کل (پلی فنل): به‌منظور سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل از روش Ranjbarani (۱۹۸۶) استفاده شد. برای استخراج ۰/۱ گرم از گرد نمونه توسط متانول ۸۰ درصد در بن ماری با دمای ۷۰ درجه به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. در این بررسی از روش اسپکتروفتومتری Folin-Denis استفاده شد. برای سنجش ترکیبات فنلی کل در عصاره ابتدا عصاره تهیه شده صاف و تبخیر شده و پس از انحلال دوباره در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر برای اندازه‌گیری مورد استفاده قرار گرفتند. پس از افزودن معرف‌های مورد نیاز به کمک اسپکتروفتومتری (JENUS مدل UV-1200 کشور آمریکا) جذب آنها در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴۰).

سنجش رسوراترول: برای استخراج رسوراترول از نمونه‌های تهیه شده، تلفیقی از روش‌های Soleas و همکاران (۱۹۹۵) و Bavaresco و همکاران (۱۹۹۷) با اندکی تغییرات بشرح زیر استفاده گردید. میزان ۱۰ گرم از حبه‌ها و برگ‌های هر یک از ارقام انگور در داخل هاون کاملاً خرد شد. شیره غلیظی بدست آمد که با ۶۰ میلی لیتر متانول خالص مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. محلول حاصل به مدت ۲ دقیقه با چرخشی برابر ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل Z326K ساخت کشور آلمان) گردید و عصاره موجود در بالای لوله آزمایش تخلیه و در ظروف شیشه‌ای که با ورقه آلومینیمی پوشانده شده بودند نگهداری شد. مواد تجمع یافته در ته لوله توسط اسکالپل خارج و دوباره در هاون خرد گردید و بقیه مراحل

"شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی مولار و در پوست میوه رقم "فخری" غلظت ۱ میلی مولار اثر افزایشی معنی‌داری نسبت به شاهد داشت.

مرحله رسیدگی: همان‌طور که شکل ۱ قسمت (B) نشان می‌دهد در همه بافتهای مورد مطالعه رقم "شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی‌دار میزان فنل کل نسبت به شاهد شد. در بافتهای گوشت و برگ رقم "فخری" نیز تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱ میلی مولار و در پوست میوه آن غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی‌دار میزان فنل کل نسبت به شاهد شد، اما در بافت دانه تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت اثر کاهش معنی‌دار بر میزان فنل کل نسبت به شاهد نشان داد.

اثر اسید سالیسیلیک بر میزان رسوراترول میوه و برگ: همان‌طور که شکل ۲ قسمت (A) نشان می‌دهد، تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی مولار باعث افزایش و در غلظت ۱ میلی مولار باعث کاهش معنی‌دار میزان رسوراترول پوست میوه هر دو رقم در هر دو مرحله رشدی نسبت به شاهد شد. در بافت برگ نیز رقم "شاهانی" مطابق شکل ۲ قسمت (B) تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت باعث افزایش معنی‌دار میزان رسوراترول نسبت به شاهد در هر دو مرحله رشدی شد که در مرحله غوره‌گی غلظت ۰/۱ میلی مولار و در مرحله رسیدگی غلظت ۱ میلی مولار اثر افزایشی مؤثرتر بود.

مقایسه جذب نمونه‌ها در زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتاکاروتن بصورت درصد سنجش شد. سپس درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از تغییرات مستقل جذب نمونه‌ها در زمانهای $t = 60$ و $t = 120$ دقیقه و با استفاده از رابطه پایین صفحه محاسبه شد (۴).

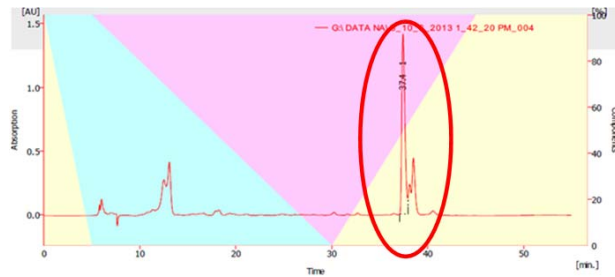
تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از سنجشهای انجام شده در گیاهان مورد مطالعه، براساس روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 20 - مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. پس از تعیین وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، میانگینها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال $p < 0.05$ گروه بندی و مقایسه شدند.

نتایج

اثر اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل بافتهای مختلف میوه و برگ: مرحله غوره‌گی: در این پژوهش مطابق شکل ۱ قسمت (A)، محتوای فنل کل بافتهای مختلف دو رقم انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی و مرحله غوره‌گی تغییرات متفاوتی را نشان دادند، به‌صورتی‌که در برخی موارد افزایش داشت، که این افزایش در سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش بتا کاروتن-اسید لینولئیک به خوبی منعکس شده بود. در مرحله غوره-گی در بافتهای گوشت، دانه و برگ هر دو رقم تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت باعث افزایش معنی‌دار میزان فنل کل نسبت به شاهد شد، که در غلظت ۰/۱ میلی مولار اثر افزایشی بیشتر بود. همچنین در بافت پوست میوه رقم

$$AA\% = 1 - [(AE^{t=0} - AE^{t=60}) / (AW^{t=0} - AW^{t=60}) + (ABHT^{t=0} - ABHT^{t=60})] \times 100$$

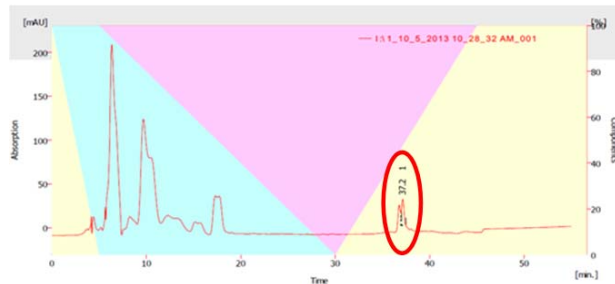
در این رابطه $AE^{t=0}$ جذب عصاره در زمان $t = 0$ دقیقه، $AE^{t=60}$ جذب عصاره در زمان $t = 60$ یا $t = 120$ دقیقه، $AW^{t=0}$ جذب کنترل آب در زمان $t = 0$ دقیقه، $AW^{t=60}$ جذب کنترل آب در زمان $t = 60$ یا $t = 120$ دقیقه، $ABHT^{t=0}$ جذب BHT در زمان $t = 0$ دقیقه، $ABHT^{t=60}$ جذب BHT در زمان $t = 60$ یا $t = 120$ دقیقه می‌باشد.



Result Table (Uncal - G:\DATA NA\8_10_6_2013 1_42_20 PM_004)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
1	37.423	32251.655	1411.800	100.0	100.0	0.36
Total		32251.655	1411.800	100.0	100.0	

شکل ۱- کروماتوگرام HPLC میزان رسوراترول پوست میوه رقم شاهانی (مرحله غورگی) تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک.



Result Table (Uncal - I:\1_10_5_2013 10_28_32 AM_001)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
1	37.157	502.763	29.600	100.0	100.0	0.31
Total		502.763	29.600	100.0	100.0	

شکل ۲- کروماتوگرام HPLC میزان رسوراترول پوست میوه رقم فخری (مرحله غورگی) تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک.

مرحله غوره‌گی: همان‌طور که شکل ۳ قسمت (A) نشان می‌دهد در بافتهای پوست و گوشت هر دو رقم تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی‌دار درصد مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتا کاروتن نسبت به شاهد شد. همچنین در بافت برگ رقم "شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱ میلی مولار و در برگ "فخری" غلظت ۰/۱ میلی مولار افزایش معنی‌دار درصد مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتا کاروتن نسبت به شاهد شد. ولی در بافت دانه هر دو رقم تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت باعث کاهش معنی‌دار درصد مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتا کاروتن نسبت به شاهد شد.

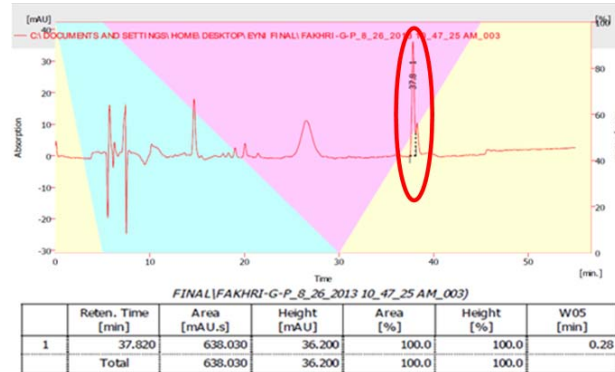
مرحله رسیدگی: همان‌طور که شکل ۳ قسمت (B) نشان می‌دهد در رقم "شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱ میلی مولار در همه بافتهای مورد بررسی باعث افزایش درصد مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتا کاروتن شد. در بافتهای پوست، گوشت و برگ رقم "فخری" نیز تیمار

اما در برگ رقم "فخری" بعکس تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله غوره‌گی در غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی‌دار میزان رسوراترول نسبت به شاهد شد. اما در مرحله رسیدگی تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت اثر معنی‌داری نداشت (لازم به ذکر می‌باشد از آنجا که میزان رسوراترول در گوشت و دانه ارقام مورد مطالعه بسیار ناچیز بود، از این‌رو دستگاه HPLC عدد صفر را نشان داد).

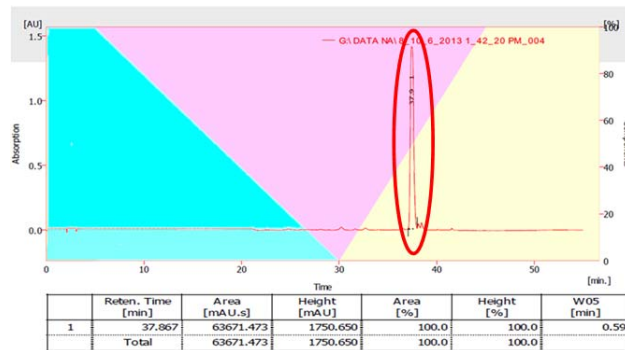
اثر اسید سالیسیلیک بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافتهای مختلف میوه و برگ به کمک سیستم بتا کاروتن-اسید لینولئیک: در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون مهار بی‌رنگ شدن بتا کاروتن، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" با فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT به‌عنوان کنترل مثبت در دو مرحله رشدی مقایسه شدند (مطابق شکل ۳).

کاهش معنی‌دار درصد مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن نسبت به شاهد شد.

اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار باعث افزایش درصد مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن شد. اما تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت در دانه رقم "فخری" باعث



شکل ۳- کروماتوگرام HPLC میزان رسوراترول برگ رقم شاهانی (مرحله غورگی) تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک.



شکل ۴- کروماتوگرام HPLC استاندارد رسوراترول.

تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش تجمع ترکیبات فنلی کل در میوه انگور تیمار شده می‌شود (۴۴). بنابراین در این پژوهش (مطابق شکل ۱) در مرحله رسیدگی استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند کاهش میزان فنل کل ناشی از نزدیک شدن به مرحله بلوغ را در بافتهای پوست، گوشت و دانه ارقام انگور جبران و باعث افزایش آن شود. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد در هر دو مرحله رشدی میزان فنل کل در بافتهای دانه و پوست بیشتر از سایر بافتهاست، همچنین مشاهده شد که میزان فنل کل در بافتهای گوشت و پوست میوه رقم "شاهانی" (رنگ حبه قرمز) نسبت به گوشت و پوست میوه رقم "فخری" (رنگ حبه سبز) بیشتر است، بدلیل اینکه در پوست رقم "شاهانی" میزان آنتوسیانینها که فراوانترین فلاونوئید است (۲۰) بیشتر از پوست میوه رقم "فخری" می‌باشد. همچنین

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان فنل کل در سایر بافتهای هر دو رقم در مرحله غوره‌گی بیشتر از مرحله رسیدگی بود، یعنی در طی روند بلوغ میزان فنل کل این بافتها کاهش یافت. مطابق این نتایج، مطالعات دیگر روی انگور نیز نشان داده محتوای فنل کل پوست میوه با افزایش روند بلوغ کاهش می‌یابد. همچنین مشاهده شده است که این کاهش فقط مختص به ترکیبات فنلی پوست میوه نیست و شامل سایر بافتهای انگور هم می‌باشد (۲۸). این کاهش ممکن است مرتبط با پلی‌ساکاریدها باشد. در پوست میوه فنل کل و در دانه تاننها بالاترین مقدار می‌باشند که با افزایش سرعت بلوغ میزان آنها کاهش می‌یابد. از طرفی مطابق نتایج این پژوهش مطالعات نشان داده که

گوشت میوه انگور کاهش می‌یابد (۲۵ و ۲۸). اما مطالعات دیگر بر روی میوه‌ها از جمله پرتقال گزارش شده که ترکیبات فنلی کل تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد (۲۲). مطابق نتایج این پژوهش مشاهده شده که تیمار اسید سالیسیلیک روی حبه‌های میوه زغال‌اخته باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌گردد (۵۱). مطالعات دیگر همچنین نشان داده که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله غوره-گی انگور می‌تواند رسیدن حبه‌ها را به تأخیر بیندازد و یا مهار کند (۳۱). تحقیقات دیگر نشان داده که انباشتگی ترکیبات فنلی در انگور بوسیله تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند از طریق افزایش در فعالیت فنیل آلانین آمونیاز (PAL) تحریک شود. PAL اولین آنزیم کلیدی دخیل در بیوسنتز فنلها در میوه‌هاست (۱۲).

مقایسه دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" از نظر میزان اثر اسید سالیسیلیک بر تولید محتوای رسوراترول در برگ و پوست میوه دو رقم انگور توسط HPLC (مطابق شکل ۲) نشان می‌دهد که رقم انگور روی تولید رسوراترول مؤثر بود و از این نظر بین دو رقم اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به طوری که رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" توانایی تولید رسوراترول بیشتری در میوه‌ها و برگ‌های خود داشت. اثنی عشری و همکاران در سال ۲۰۰۶ در بررسی‌های خود روی انگور اعلام کردند با اینکه مقدار رسوراترول در ارقام رنگی بطور نسبی بیشتر است اما برخی از ارقام غیررنگی نیز حاوی مقادیری از رسوراترول هستند. نتایج آنان همچنین نشان داد که بافت‌های برگ و پوست ارقام انگور توانایی متفاوتی از لحاظ تولید رسوراترول از خود نشان می‌دهند که میوه بیش از برگ رسوراترول تولید می‌کند (۳۳).

در این پژوهش نیز در بافت پوست میوه هر دو رقم در هر دو مرحله رشدی اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ میلی مولار باعث افزایش رسوراترول شد. نتایج همچنین نشان

در مرحله غوره‌گی غلظت‌های پایین‌تر یعنی غلظت ۰/۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک مؤثرتر بود. ولی در مرحله رسیدگی (مطابق شکل ۱ قسمت B) اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر روی میزان فنل کل دو رقم "شاهانی" و "فخری" متفاوت بود، به طوری که در گوشت و پوست میوه رقم "شاهانی" غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش ولی در گوشت و پوست میوه رقم "فخری" غلظت ۰/۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان فنل کل شد. مطابق نتایج، این تحقیقات نشان داده است در میان عصاره‌های انگور قرمز و انگور سبز، میزان ترکیبات فنلی در انگور قرمز بیشتر از انگور سبز می‌باشد و میزان این ترکیبات در پوست میوه بیشتر از گوشت آن می‌باشد (۳۴). مطالعات روی پوست میوه انگور همچنین نشان داده است که ارتباط نزدیکی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بخش غنی از ترکیبات فنلی به‌ویژه در پوست میوه ارقام رنگی انگور وجود دارد (۱۹) که در قسمت بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر به آن اشاره می‌گردد. ترکیبات فنلی موجود در برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال آزاد عمل می‌کنند (۷)، در ضمن میزان فنل کل پس از دانه در پوست میوه و برگ بیشتر می‌باشد. مطابق نتایج این پژوهش مطالعات نشان داده که اسید سالیسیلیک نمی‌تواند فقط به‌عنوان تحریک‌کننده بلکه به‌عنوان بازدارنده تولید ترکیبات ثانویه هم عمل می‌کند که در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale*) مشاهده شده برخی از این ترکیبات را کاهش و برخی دیگر را افزایش داده است (۱۸). مطابق نتایج این پژوهش در مطالعه‌ای بر روی انگور مشاهده شده که ویژگی پروسیانیدین در طی بلوغ انگور متنوع است، مثلاً اپی‌کاتیچین ۳ گالات از ۳۸ به ۱۸ درصد در طی بلوغ انگور در دانه کاهش می‌یابد و از ۱۳/۸ درصد در پروآنتوسیانیدین پوست حبه سبز تا ۳/۷ درصد در پوست حبه قرمز کاهش نشان داده است (۲۷). نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان داده که ترکیبات فنلی مونومریک و پلی‌مریک در طی بلوغ یا رسیدگی انگور در پوست و

رسوراترول موجود در پوست ارقام (مطابق انگورهای اروپایی) بیشتر از بافتهای دانه و گوشت بود. مطالعات نشان داده در گیاه مریم گلی اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان فنل کل و همچنین فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی از جمله آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) که یک آنزیم کلیدی در مسیر سنتز ترکیبات فنلی و رسوراترول است، می‌گردد. در این گیاه همچنین مشاهده شده اثر تیمار اسید سالیسیلیک روی انباشتگی ترکیبات فنلی با فعالیت آنزیم PAL ارتباط دارد (۲۶). بیان ژن PAL و ژن استیلین سنتاز (STS) با استفاده از رونویسی معکوس PCR نشان داده، اسید سالیسیلیک به‌طور ویژه بیان، VaPAL3، VaSTS5، VaSTS4، VaSTS3، VaSTS2، VaSTS6 و VaSTS8 را تحریک می‌کند (۴۷). در این پژوهش می‌توان گفت تفاوت‌های مشاهده شده در دو رقم مورد بررسی از نظر میزان تولید رسوراترول، ممکن است ناشی از فعالیت بیشتر STS در برگ و میوه های رقم "شاهانی" نسبت به "فخری" باشد. Kiselev و همکاران نیز (۲۰۱۰) اثر اسید سالیسیلیک بر بیان ژن PAL و STS و در واقع تولید رسوراترول را در کشت سلولی انگور (*Vitis amurensis*) بررسی کردند، نتایج آنان نشان داده که با اضافه کردن ۵۰ و ۳۰۰ میکرو مولار از اسید سالیسیلیک در مرحله تغذیه، تغییر قابل توجهی در بیان ژن VaPAL در همه نمونه های تیمار شده با اسید سالیسیلیک مشاهده می‌شود، که در طی رونویسی بیشتر بود. تیمار اسید سالیسیلیک بطور معنی داری بیان ژن VaPAL3 را نیز افزایش می‌دهد. مطالعات آنان همچنین نشان داده در انگور قرمز فعالیت حذف کنندگی رادیکال آزاد بیشتر از ارقام دیگر می‌باشد (۴۳) که با این نتایج در بافت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی مطابقت دارد. طی مطالعات Soleas و همکاران (۲۰۰۲) در بین چهار ماده فنلی نتیجه گرفتند که رسوراترول مؤثرترین ماده ضد سرطان از بین چهار ماده مذکور است. همچنین Chung و همکاران (۲۰۰۳) مشاهده کردند که رسوراترول دارای خاصیت ضد حساسیت است.

داد در برگ رقم "فخری" نیز (مطابق شکل ۲ قسمت B)) در مرحله رسیدگی هر دو غلظت تأثیر معنی داری بر میزان رسوراترول ندارد، ولی در مرحله غوره‌گی تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش و با غلظت ۰/۱ میلی مولار باعث کاهش میزان رسوراترول برگ شد. در واقع می‌توان گفت غلظتهای بالاتر اسید سالیسیلیک روی برگ "فخری" مؤثرتر هستند و باعث افزایش میزان رسوراترول می‌گردد. تحقیقات نشان داده که رنگ ارقام انگور در طی مراحل بلوغ انگور در برخی ارقام تغییر می‌یابد. مثلاً رنگ پوست میوه در مرحله غوره‌گی سبز رنگ است و هنگام بلوغ رنگ پوست میوه بدلیل افزایش آنتوسیانین قرمز می‌شود. مشاهده شده در این ارقام با افزایش آنتوسیانین میزان رسوراترول کاهش می‌یابد (۲۸). مطابق نتایج این پژوهش سایر تحقیقات روی انگور نشان داده که دوره رشد و نمو روی تولید رسوراترول مؤثرتر است و در واقع میوه‌های ارقام انگور در مرحله غوره‌گی دارای بیشترین میزان تولید رسوراترول بوده و این مقادیر در مراحل بعدی تا مرحله رسیدگی کامل میوه بتدریج کاهش می‌یابد. یکی از دلایل عمده کاهش تدریجی رسوراترول از مرحله غوره‌گی و نمو تا مرحله رسیدن میوه، ممکن است مربوط به رقابت مسیرهای متابولیکی تولید رسوراترول و تشکیل آنتوسیانین (در انگورهای قرمز) از جمله تجمع قندها، ویتامینها و ترکیبات دیگر در سلولهای میوه طی مراحل مختلف رشد و نمو باشد و این موضوع نیاز به مطالعات بیشتر دارد (۱۶). این نتایج نشان می‌دهد که اثر تیمار اسید سالیسیلیک در رقم "شاهانی" بسیار مؤثرتر از رقم "فخری" می‌باشد. همان طور که ذکر شد روند بلوغ باعث کاهش میزان رسوراترول می‌گردد که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت مناسب می‌تواند باعث افزایش آن شود. مطالعات نشان داده که اسید سالیسیلیک عامل تحریک کننده متابولیت‌های ثانویه شناخته شده است که در این پژوهش نیز باعث تحریک تولید رسوراترول شده است. طبق نتایج بدست آمده میزان

Lu و Serrero (۱۹۹۹) نیز طی گزارشی اعلام نمودند که رسوراترول از رشد سلولهای سرطانی سینه جلوگیری می‌کند.

هر گیاه دارای طیف وسیعی از ترکیبهای فنلی است و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر یک از این مواد وابسته به ساختار شیمیایی آنها می‌باشد (۳۹). از مقایسه بافتهای مختلف میوه دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" (مطابق شکل ۳) مشاهده می‌شود که میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن در مرحله رسیدگی تقریباً در همه بافتها بیشتر از مرحله غوره‌گی می‌باشد، یعنی روند بلوغ باعث افزایش میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن شد که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در غلظتهای مناسب می‌تواند سبب افزایش هر چه بیشتر این بازدارندگی شود. مکانیسم بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن یک پدیده وابسته به رادیکال آزاد است که در نتیجه هیدروژن پراکسیدازهای تشکیل شده از اسید لینولئیک بوجود می‌آید. حضور عصاره های مختلف می‌تواند از میزان بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن، بوسیله خنثی کردن رادیکال آزاد لینولئات و دیگر رادیکال آزاد تشکیل شده جلوگیری کند (۲۳). تیمار اسید سالیسیلیک در برگ هر دو رقم در مرحله غوره‌گی باعث کاهش میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن شد (مطابق شکل ۳ قسمت (A))، در حالی که در مرحله رسیدگی (مطابق شکل ۳ قسمت (B)) باعث افزایش شد. بنابراین بهتر است برای افزایش میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن برگ از تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی استفاده شود. گزارش شده اسید سالیسیلیک در میوه توت‌فرنگی در یک رفتار وابسته به غلظت از صفر تا ۲ میلی‌مول بر لیتر، فنل کل را افزایش می‌دهد که این خود موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل می‌شود (۵). در چند میوه ریز از جمله تمشک نیز مشاهده شده یک همبستگی مثبتی بین فنل کل و آنتوسیانین با فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد و مشاهده شده که اسید سالیسیلیک یک نقش سیگنالی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی این میوه‌ها دارد (۴۹). نتایج نشان داده که

ترکیبات فنولی انگور اثر مهمی بر روی فعالیت حذف رادیکالهای آزاد این ترکیبات دارند (۱۰). در واقع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن در بافت پوست و گوشت میوه رقم "شاهانی" (رنگ حبه قرمز) اندکی بیشتر از پوست و گوشت میوه رقم "فخری" (رنگ حبه سبز) است، یعنی دقیقاً در رقم و بافتهایی که میزان ترکیبات فنلی از جمله رسوراترول زیاد است این اثر بیشتر است، که تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت باعث افزایش میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن پوست و گوشت میوه رقم "شاهانی" در مرحله غوره‌گی شد، ولی در مرحله رسیدگی تیمار اسید سالیسیلیک در گوشت میوه این رقم باعث کاهش و در پوست باعث افزایش میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن شد. مطالعات نشان داده‌سنجش درصد بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن به قطبیت مواد موجود در عصاره‌ها بستگی دارد (۹). مطابق آنچه گفته شد نتایج آزمون سنجش آنتی‌اکسیدانها (مطابق شکل ۳) تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داد که حکایت از تفاوت ترکیب شیمیایی عصاره‌های بافتهای مختلف حاصل از ارقام مختلف انگور داشت. در واقع از مقایسه نتایج حاصل (شکل‌های ۱ و ۲ با شکل ۳) مشاهده شد در بافتهایی از رقم "شاهانی" و "فخری" که میزان رسوراترول (مطابق شکل ۲) و سایر ترکیبات فنلی (فنل کل مطابق شکل ۱) فراوان است و تحت تیمار اسید سالیسیلیک نیز این میزان افزایش یافته، کاهش میزان رادیکال آزاد (مطابق شکل ۳) نیز در این بافتها بیشتر است که این اثر با مشاهده میزان بی‌رنگ‌شدن بتاکاروتن به اثبات می‌رسد. البته نوع مرحله رشدی نیز در این مقایسه فاکتور مهمی است که با اندکی دقت (در شکل‌های ۱، ۲ و ۳) مشاهده می‌شود، با اینکه در مرحله غوره‌گی میزان رسوراترول و سایر ترکیبات فنلی بیشتر از مرحله رسیدگی است اما (مطابق شکل ۳) میزان بازدارندگی سیستم بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن در مرحله رسیدگی بیشتر از مرحله غوره‌گی می‌باشد و مشاهده می‌شود با روند بلوغ در همه

مقایسه دو مرحله رشدی ارقام انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در این پژوهش این امکان را فراهم می‌کند که مؤثرترین غلظت و مرحله ی رشدی بررسی گردد. همچنین با توجه به فرهنگ تغذیه انگور در ایران، که اغلب در مرحله رسیدگی استفاده می‌شود، اهمیت بالا بودن ترکیبات مفید در این مرحله به چشم می‌خورد. با اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان بافتهای مختلف میوه و برگ انگور تحت این تیمار می‌توان اثرهای متفاوت تیمار اسید سالیسیلیک را مشاهده کرد. همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان می‌دهد میزان فنل کل برخی بافتهای انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی افزایش یافت که این نشان می‌دهد تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند کاهش میزان فنل کل ناشی از مرحله بلوغ انگور را جبران کند. میزان رسوراترول نیز با نزدیک شدن به بلوغ کاهش می‌یابد که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک (غلظت ۰/۱ میلی مولار) در این مرحله می‌تواند باعث افزایش میزان این ترکیب آنتی‌اکسیدان مهم شود. اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر کاهش میزان رادیکالهای آزاد بافتهای مختلف انگور را در واقع می‌توان از طریق اثر این تیمار بر خزانه ترکیبات اکسیدانی و از طریق مشاهده میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن بیان کرد. از نتایج حاصل از سیستم بتاکاروتن-اسید لینولئیک می‌توان چنین استنباط کرد که کاهش میزان رادیکال آزاد تحت تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی بهتر از مرحله غوره‌گی است. همچنین مشاهده شد که میوه رقم "شاهانی" نسبت به میوه رقم "فخری" تقریباً در همه سنجشها از خود برتری نشان می‌دهد.

بافتهای دو رقم میزان مهار بی‌رنگ‌کنندگی بتاکاروتن افزایش می‌یابد، که این نتیجه ما را متوجه دخالت سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همراه با ترکیبات فنلی در حذف کردن رادیکال آزاد می‌کند. بنابراین پیشنهاد شده که سیستمهای خنثی‌کننده اکسیژن فعال مانند آنزیمهای سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در انگور وجود دارند (۳۲). همچنین مطابق نتایج این پژوهش مطالعات روی میوه هلو (۴۲) و گیاه پونه معطر (۱) نیز نشان داد، تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود که می‌تواند ترکیبات ROS را حذف کند. همچنین در این پژوهش مطابق آنچه ذکر شد، اثر اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (با کمک سیستم بتاکاروتن-اسید لینولئیک، میزان رسوراترول و فنل کل) بعضی بافتهای رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" متفاوت بود. مطابق این نتایج مطالعات روی گندم نیز نشان داده است که اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو رقم گندم متفاوت می‌باشد، به طوری که در یک رقم (رقم استار) اثر تیمار سالیسیلیک اسید مؤثرتر از رقم دیگر (رقم شیراز) بوده است (۲). در یک مطالعه بر روی دانه های انگور پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع با غلظتهای بسیار کم (۲ میلی گرم بر لیتر) پروسیانیدینهای دانه انگور مهار شدند (۸). در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد.

نتیجه‌گیری کلی

منابع

- ۱- جواد مرآتی، م.، نیکنام، و.، حسن پور، ح. و میر معصومی، م. (۱۳۹۴). مقایسه تأثیر تنش شوری بر رشد و پاسخ های آنتی‌اکسیدانی در اندام های مختلف گیاه (*Mentha pulegium* L) پونه معطر. مجله پژوهشهای گیاهی - مجله زیست‌شناسی ایران ۲۸(۵): ۱۰۹۷-۱۱۰۷.
- ۲- رحیمی تشی، ط. و نیکنام، و. (۱۳۹۴). بررسی تأثیر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر برخی پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به تنش شوری (*Triticum aestivum* L.) گندم. مجله پژوهشهای گیاهی - مجله زیست‌شناسی ایران ۲۸(۲): ۲۹۷-۳۰۶.
- ۳- کامکار، ا. (۱۳۸۸). مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره شوید ایرانی. افق دانش ۱۵(۲): ۱۱-۱۷.

- 4- Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B.W. and eil, J.A. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 84: 551-562.
- 5- Asghari, M. and Aghdam, M. S. (2010). Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science and Technology*, 21: 502-509.
- 6- Bavaresco, L., Petegolli, D., Cantu, E., fregoni, M., Chiusa, G. and Trevisan, M. (1997). Elcitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea* Vitis. *International Journal of Food Science*, 36(2): 77-83.
- 7- Borsanio, O., Valpuesta, V. and Botella, M. A. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stess in Arabidopsis seedlings. *Journal of plant physiology*, 126: 1024-1030.
- 8- Bouhamidi, R., Prevost, V. and Nouvelot, A. (1998). High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation *Journal Life Sciences*, 321: 31-38.
- 9- Bouhdid, S., Skali, S. N., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Amensour, M. and Abrini, J. (2008). Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. *African Journal of Biotechnology*, 7(10): 1563-1570.
- 10- Caillet, S., Salmieri, S. and Lacroix, M. (2006). Evaluation of free radical-scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. *Food Chemistry*, 95:1-8.
- 11- Cao, S. F., Hu, Z. C., Zheng, Y. H. and Lu, B. H. (2010). Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 58(2): 93-97.
- 12- Chen, J., Wen, P., Kong, W., Pan, Q., Zhan, J, Li, J., Wan, S. and Huang, W. (2006). Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 40: 64-72.
- 13- Chung, I. M., Park, M. R., Chun, J. C. and Yun, S. J. (2003). Resveratrol accumulation and resveratrol synthase gene expression in response to abiotic stresses and hormones in peanut. *Plants. Journal Plant Science*, 164: 103-109.
- 14- Ector, B., Magee, J., Hegwood, C. and Coign, M. (1996). Resveratrol concentration in muscadine berries, juice, pomace, purees, seeds and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47:57-62.
- 15- Escribano-Bailon, T., Gutierrez-Fernandez, Y., Rivas-Gonzalo, J. C. and Santos-Buelga, C. (1992). Characterization of procyanidins of *Vitis vinifera* variety tinal del pais grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1794-1799.
- 16- Esna-Ashari, M., Gholami, M., Zolfigol, M., Shiri, M., Mahmoodi Pour, A. and Hesari, M. (2006). Analysis of trans-resveratrol in 147 Iranian grape cultivars by High-Performance Liquid Chromatography. 27th International Hrticultural Congress and Exhibition (ICH). PP: 101.
- 17- Folts, J. D. (2002). Potential health benefits from flovonoids in grape products on vascular disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 505:95-111.
- 18- Ghasemzadeh, A., Jaafar Hawa, Z. E. and Karimi E. (2012). Involvement of Salicylic Acid on Antioxidant and Anticancer Properties, Anthocyanin Production and Chalcone Synthase Activity in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Varieties. *Molecules Sciences*, 13: 14828-14844.
- 19- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A. and Scaccini, C. (1998). Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:361-367.
- 20- Hendrich, S., Wang, G. J. and Lin, H. K. (1999). Isoflavone metabolism and bioavailability. In: Papas A.M, (Eds.). Antioxidant status, diet, nutrition, and health. Boca Raton, FL: CRC press; p. 211-30.
- 21- Hernandez-Jimenez, A., Gomez-Plaza, E., Martinez-Cutillas, A. and Kennedy, J. A. (2009). Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:10798-10803.
- 22- Huang, R., Xia, R., Lu, Y., Hu, L. and Xu, Y., (2008). Effects of pre-harvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of 'Cara Cara' navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 229-236.
- 23- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P. and Sakariah, k. k. (2000). Antioxidant activity of grape seed

- (*vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73:285-290.
- 24- Jeandet, P., Bessis, R. and Gautheron, B. (1991). The production of resveratrol by grape berries in different developmental stages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42:41-46.
 - 25- Jordao, A., Ricardo-da-Silva, J. and Laureno, O. (2001). Evolution of Proanthocyanidins in Bunch Stems During Berry Development. *Vitis*, 40 (1): 17-22.
 - 26- Juane, D., Guowei, W. and Zongsuo, L. (2010). Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. *Journal of Biotechnology*, 148: 99–104.
 - 27- Kennedy, J., Matthews, M. and Waterhouse, A. (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry*, 55:77-85.
 - 28- Kennedy, J., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E. and Jones, G. (2001). Composition of Grape Skin Proanthocyanidins at Different Stages of Berry Development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5348- 5355.
 - 29- Khodary, S. E. A. (2004). Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed Maize Plants. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6: 5-8.
 - 30- Kiselev, K. V., Dubrovina, A. S., Isaeva, G. A. and Zhuravlev, Y. N. (2010). The effect of salicylic acid on phenylalanine ammonia-lyase and stilbene synthase gene expression in *Vitis amurensis* cell culture. Russian. *Journal of plant physiology*, 57: 415–421.
 - 31- Kraeva, E., Andary, C., Carbonneau, A. and Deloire, A. (1998). Salicylic acid treatment of grape berries retards ripening. *Vitis*, 37(3): 143-144.
 - 32- Kraeva, E., Tesnière, C., Terrier, N., Romieu, C. et al. (1998). *Vitis*, 27: 107–111.
 - 33- LeBlanc, M. (2006). Cultivar, juice extraction, ultra violet irradiation and storage influence the stilbene content of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy; Department of Horticulture.
 - 34- Lo Scalzo, R., Iannocari, T. and Summa, C. (2007). The relationship between the composition of different table grape (*Vitis vinifera* L.) extracts and three methods of measuring their free radical scavenging properties. *International Journal of Food Science*, 19: 329-341.
 - 35- Lu, R. and Serrero, G. (1999). Resveratrol a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *Journal of Cellular Physiology*, 179:297-304.
 - 36- Luo, Z., Wu, X., Xie, Y. and Chen, C. (2012). Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid treatment. *Food Chemistry*, 131 (3): 456-461.
 - 37- Mitic, M. N., Obradovic, M. V., Grahovac, Z. B. and Pavlovic, A. N. (2010). Antioxidant Capacities and Phenolic Levels of Different Varieties of Serbian White Wines. *Molecules*, 15: 2016-2027.
 - 38- Mueller, M. J., Brodschelm, W., Spannagl, E. and Zenk, M. H., (1993). Signaling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid. Proceedings.
 - 39- Rajalakshmi, D. and Narasimhan, S. (1996). Food antioxidants: Sources and methods of evaluation:65-83. In: Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D. K., (Eds.). Food Antioxidants- Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc., New York, 512p.
 - 40- Ranganna, S. (1986). Analysis and quality control for fruit and vegetable products. Fifteen reprint 2008. Publishing company limited. Tata McGraw-Hill. 18-19.
 - 41- Ranjbarani, E., Sarikhani, H., Wakana, A. and Bakhshi, D. (2011). Effect of salicylic acid on storage life and postharvest quality of grape (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid). *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 56 (1): 263-269.
 - 42- Razavi, F., Hajilou, J., Dehgan, G. H., Nagshi, band Hassani, R. and Turchi, M. (2014). Enhancement of postharvest quality of peach fruit by salicylic acid treatment. *International Journal of Biosciences*, 2220-6655: 2222-5234.
 - 43- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. and Saura-Calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32: 407-412.

- 44- Sarikhani, H., Sasani-Homa, R. and Bakhshi, D. (2010). Effect of salicylic acid and SO₂ generator pad on storage life and phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L. 'Bidaneh Sefid' and 'Bidaneh Ghermez'). *Acta Horticulturae*, 877: 1623–1630.
- 45- Soleas, G., Goldberg, D., Diamandis, E., Karumanchiri, A., Yan, J. and Ng, E. (1995). A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *Journal of Enology and Viticulture*, 46:346-353.
- 46- Soleas, G. J., Goldberg, D. M., Grass, L., Josephy, P. D., and Diamandis, E. P. (2002). Acomparision of the anticarcinogenic propertities of four red wine polyphenols. *Journal Clinical Biochemistry*, 35: 119–124.
- 47- Sparvoli, F., Martin, C., Scienza, A., Gavazzi, G. and Tonelli, C. (1994). Cloning and Molecular Analysis of Structural Genes Involved in Flavonoid and Stilbene Biosynthesis in Grape (*Vitis vinifera* L.). *Plant molecular biology*, 24: 743-755.
- 48- Vinci, G., Eramo, S. L. M., Nicoletti, I and Restuccia, D. (2008). Influence of Environmental and Technologica Parameters on Phenolic Composition in Red Wine. *Journal commodity science, technology and quality*, 47: 245-266.
- 49- Wang, S. Y. and Lin, H. S. (2000). Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberrry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 140–146.
- 50- Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J., Li, H. B. (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2): 622–646.
- 51- Yousefpour Dokhanieh, A., Soleimani Aghdam, M., Rezapour Fard, J. and Hassanpour, H. (2013). Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. *Scientia Horticulturae*, 154: 31–36.

Study of Changes The Antioxidant Properties and Free Radical Scavennging in *Vitis Vinifera* L. Cultivars Fakhri and Shahani Under Salicylic Acid Treatment

Nazari F.¹, Maleki M.¹, Rasouli M.², Mirshahvalad S.M.³ and Farhadi M.³

¹ **Biology Dept., Faculty of Sciences, Malayer University, Malayer, I.R. of Iran**

² **Horticulture and Landscape Dept. , Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran**

³ **Central Laboratory, Malayer University, Malayer, I.R. of Iran**

Abstract

Grape (*Vitis vinifera* L.) contains a variety of antioxidant compounds that are very useful for humans. Salicylic acid (SA) as similar-hormone has been increasing of antioxidant compound at some plant. In the present study were used two Shahani and Fakhri cultivars of grape in two unripe and ripe stages of berries, and from three concentrations (0 (control), 0.1 and 1 mM) of salicylic acid as a spray on the leaves and fruits. Tissues studied were leaves, flesh, seed and skin of grape. Also, antioxidant activity by using of β -carotene-linoleic acid system, resveratrol and total phenol content were measured. Results showed that total phenol content changes by treated of salicylic acid depending on the tissues and cultivar was highly variable and did not follow any particular order. Salicylic acid treatment in most tissues in the unripe- stages of 0.1mM concentration and in ripe stages of 1mM concentration had more increase effective on the antioxidant activity. Changes of resveratrol content as showed that to Shahani cultivar rather than Fakhri cultivar has higher resveratrol and the effect of increasing salicylic acids of 0.1 mM concentrations on resveratrol content in leaves and fruit skin is greater. In general, the results show an increase in the antioxidant properties of skin, flesh and seeds grape varieties studied were treated with salicylic acid.

Key words: Grape, β -Carotene-linoleic acid, Resveratrol, Antioxidant.