مطالعه تغییرات خواص آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکالهای آزاد در دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" (*Vitis vinifera* L.) تحت تیمار اسید سالیسیلیک

فاطمه نظری[۱]، معصومه ملکی[۱*] و موسی رسولی[۲]

[۱] ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۲] ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی فضای سبز

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۴

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 بافتها 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، آنتی اکسیدان.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۸۵۱۰۱۷۷ ، پست الکترونیکی: Masoumemaleki@gmail.com

مقدمه

ترکیبات فنلی آنتی اکسیدانهای قوی در گیاهان هستند و دارای فعالیت فیزیولوژیکی متنوع دیگر از جمله فعالیت ضد سرطانی، آنتی باکتریالی و ضد التهاب می باشند (۵۰ و ۳۷). آنتی اکسیدانهای طبیعی در میوه ها و سبزیجات به فراوانی حضور دارند، از طرف دیگر تعدادی از این ترکیبها با خواص آنتی اکسیدانی به‌عنوان متابولیتهای ثانویه توسط گیاهان ساخته می شوند که از آن جمله می توان به 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 بیماری زا تولید می شوند و بخشی دیگر بطور طبیعی طی دوره تکمیل مراحل رشد و نمو گیاهان تولید می گردند و براحتی توسط آنتی اکسیدانهای طبیعی حذف می شوند (۳). روشهای مختلفی برای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد، از جمله آنها می توان به روش حذف کردن رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل -۱-پیکریل هیدرازیل (2,2- Diphenyl-1picryhidrazyl (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 می‌باشد. ترکیبات فنلی اصلی پوست میوه انگور شامل پروآنتوسیانین، الایژنیک اسید، مریستین، کوئرسیتین، کامپروفرول و ترانس رسوراتول می‌باشد (۲۱). آنتوسانینها 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 می‌باشند. 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، به‌طوری‌که 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 (Moscadineae) علاوه بر پوست حبه، دانه ها نیز مقادیر معتنابهی از رسوراترول را در خود انباشته می‌کنند (۱۴). در مطالعات Jeandet و همکاران (۱۹۹۱)، مشاهده کردند که کاهش تدریجی در تولید رسوراترول از مرحله غوره‌گی تا مرحله 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 می‌شود (۱۱ و ۳۶). در پژوهشی برای بهبود تولید متابولیتهای سودمند برای رسیدن به غلظتهای بالاتر در کشت سوسپانسیونی انگور از تیمار اسید سالیسیلیک به‌عنوان 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 می‌باشد.

مواد و روشها

در این تحقیق از دو رقم انگور دانه دار "شاهانی" (رنگ حبه سیاه) و "فخری" (رنگ حبه سبز) در دو مرحله غوره‌گی و رسیدگی استفاده گردید. میوه ها 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. نمونه ها (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 اندازه گیری مورد استفاده قرار گرفتند. پس از افزودن معرفهای مورد نیاز به کمک اسپکتوفتومتری (JENUSمدل UV-1200 کشور امریکا) جذب آنها در ۷۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (۴۰).

سنجش رسوراترول: برای استخراج رسوراترول از نمونه های 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 حبه ها و برگهای هر یک از ارقام انگور در داخل هاون کاملا خرد شد. شیره غلیظی بدست آمد که با ۶۰ میلی لیترمتانول 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 شیشه ای 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 دقیقا مانند عمل فوق تا سه بار انجام شد. لازم به ذکر است که به لحاظ حساس بودن رسوراترول به نور کلیه عملیات عصاره گیری در محیط بسیار کم نور انجام شد. برای ارزیابی کمی رسوراترول نمونه ها، 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 ۰/۵ 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 آنتی اکسیدانی با استفاده از سیستم بتاکاروتن- اسید لینولئیک: فعالیت آنتی اکسیدانی 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 بوتیلیتدهیدروکسی 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 نمونه ها فوراً در زمان صفر (t =۰) در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر JENUS مدل UV-12000اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، با مقایسه جذب نمونه ها در زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتاکاروتن بصورت درصد سنجش شد. سپس درصد فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از تغییرات

مستقل جذب نمونه ها در زمانهای ۶۰ = t و ۱۲۰= t دقیقه و با استفاده از رابطه پایین صفحه محاسبه شد (۴).

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش بر پایه طرح کاملا تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار انجام شد. داده های 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 معنی دار بین داده ها، میانگینها به کمک آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال$p<$۰/۰۵ گروه بندی و مقایسه شدند.

نتایج

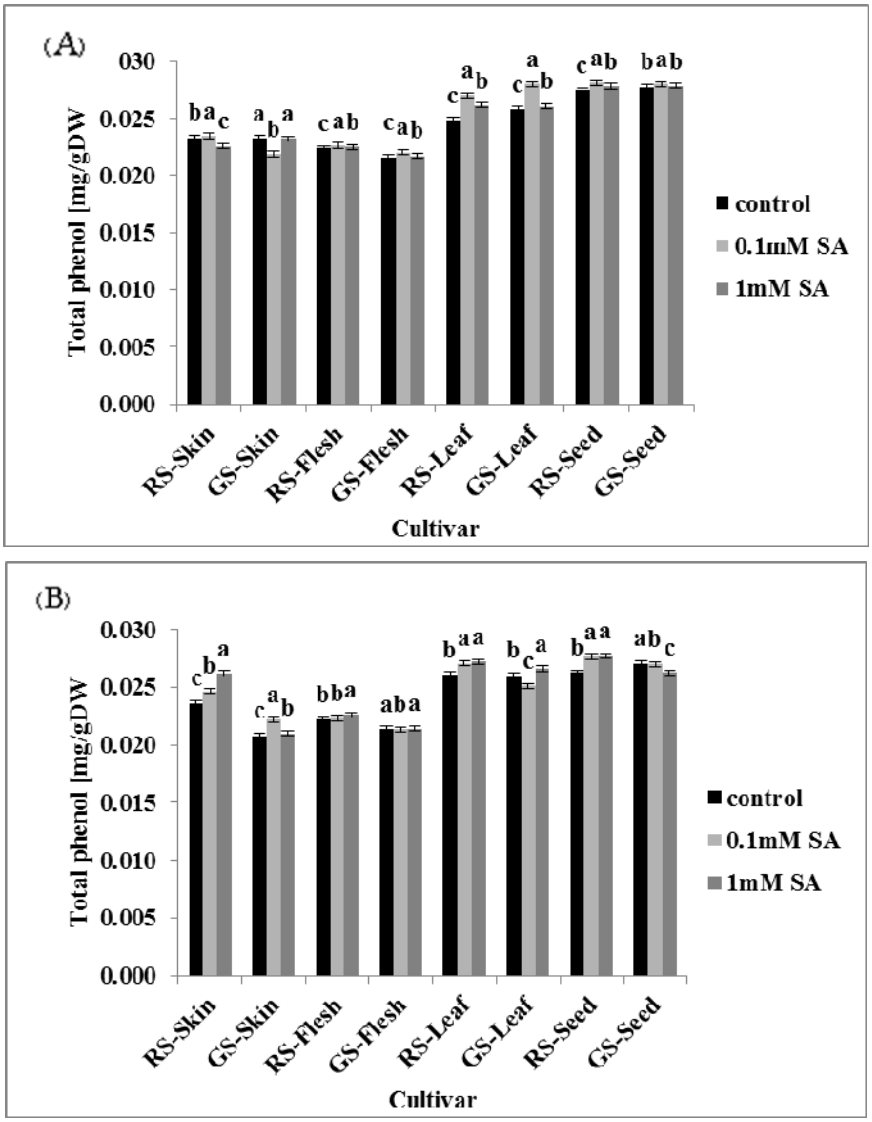
اثر اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل بافتهای مختلف میوه و برگ: مرحله غوره‌گی: در این پژوهش مطابق شکل۱ قسمت (A)، محتوای فنل کل بافتهای مختلف دو رقم انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی و مرحله غوره‌گی تغییرات متفاوتی را نشان دادند، به‌صورتی‌که در برخی موارد افزایش داشت، که این افزایش در سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی 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 معنی دار میزان فنل کل نسبت به شاهد شد، که در غلظت ۱/ ۰میلی مولار اثر افزایشی بیشتر بود. همچنین در بافت پوست میوه رقم "شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی مولار و در پوست میوه رقم"فخری" غلظت ۱ میلی مولار اثر افزایشی معنی داری نسبت به شاهد داشت.

مرحله رسیدگی: همان طور که شکل۱ قسمت (B) نشان می دهد در همه بافتهای مورد مطالعه رقم "شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱میلی مولار باعث افزایش معنی دار میزان فنل کل نسبت به شاهد شد. در بافتهای گوشت و برگ رقم "فخری" نیز تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱میلی مولار و در پوست میوه آن غلظت ۱میلی مولار باعث افزایش معنی دار میزان فنل کل نسبت به شاهد شد، اما در بافت دانه تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت اثر کاهش معنی دار بر میزان فنل کل نسبت به شاهد نشان داد.

اثر اسید سالیسیلیک بر میزان رسوراترول میوه و برگ: همان طور که شکل۲ قسمت (A) نشان می دهد، تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی مولار باعث افزایش و در غلظت ۱میلی مولار باعث کاهش معنی دار 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 معنی دار 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. اما در برگ رقم "فخری" بعکس تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله غوره‌گی در غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی دار میزان رسوراترول نسبت به شاهد شد.

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

در این رابطه $A_E^{t=0}$ جذب عصاره در زمان ۰= t دقیقه، $A_E^{t=t}$ جذب عصاره در زمان ۶۰= t یا ۱۲۰ = t دقیقه، $A_w^{t=0}$ جذب کنترل آب در زمان۰ t =دقیقه، $A_w^{t=t}$ جذب کنترل آب در زمان ۶۰= t یا ۱۲۰= t دقیقه، $A_{BHT}^{t=0}$ جذبBHT در زمان۰ = t دقیقه، $A_{BHT}^{t=t}$ جذب BHT در زمان۶۰ t = یا۱۲۰= t دقیقه می‌باشد.



شکل۱- اثر اسید سالیسیلیک در سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی مولار بر محتوای فنل کل در بافتهای برگ ، گوشت، دانه و پوست میوه ی ارقام "شاهانی" (RS) و "فخری" (GS) در مرحله غوره‌گی (A) و مرحله رسیدگی (B). حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح p≤۰/۰۵ می باشد. خطوط بالای ستونها SE یا خطای استاندارد می باشد.

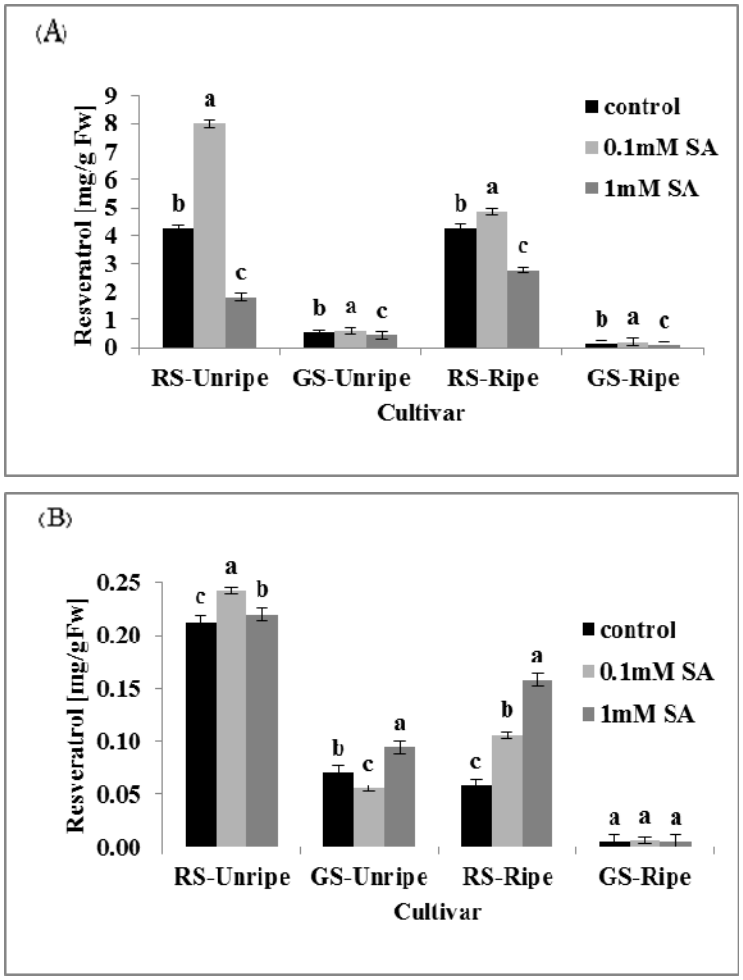
اما در مرحله رسیدگی تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت اثر معنی داری نداشت (لازم به ذکر می باشد از آنجا که میزان رسوراترول در گوشت و دانه ارقام مورد مطالعه بسیار ناچیز بود، از این‌رو دستگاه HPLC عدد صفر را نشان داد).

اثر اسید سالیسیلیک بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافتهای مختلف میوه و برگ به کمک سیستم بتاکاروتن-اسید لینولئیک: در بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون مهار بی رنگ شدن بتاکاروتن، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" با فعالیت آنتی اکسیدانی BHTبه‌عنوان کنترل مثبت در دو مرحله رشدی مقایسه شدند (مطابق شکل۳).

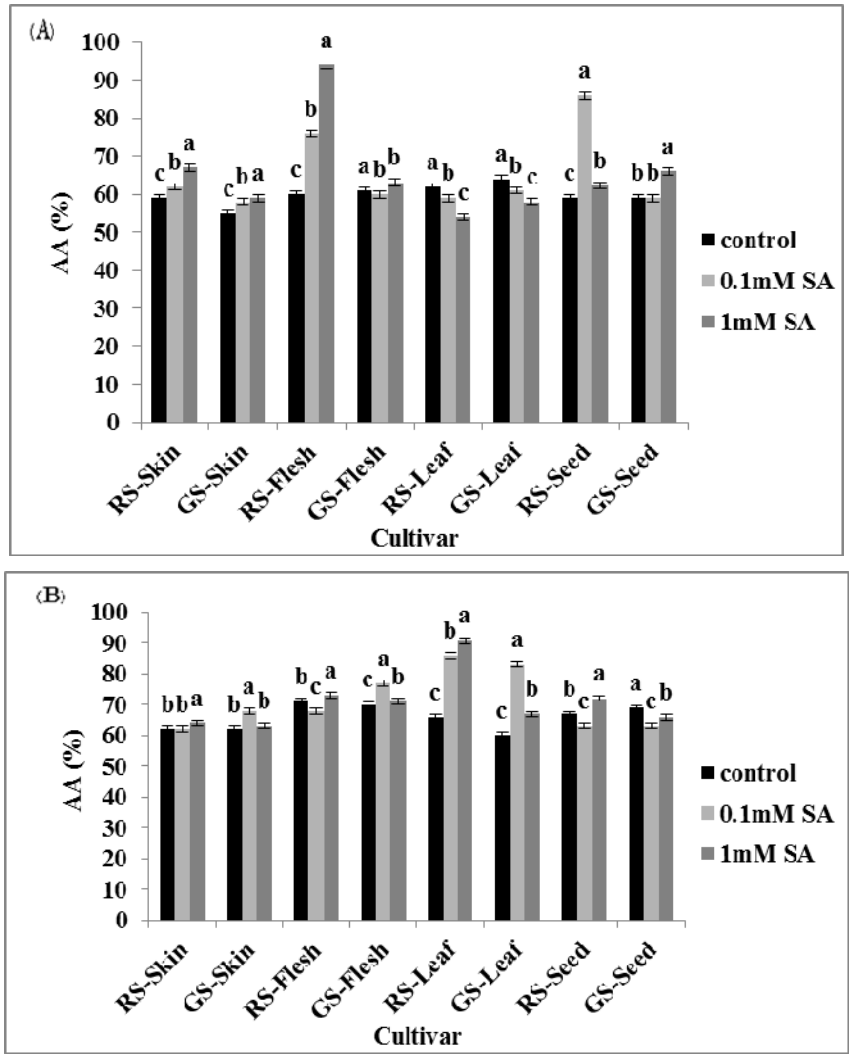
مرحله غوره‌گی: همان طور که شکل۳ قسمت (A) نشان می دهد در بافتهای پوست و گوشت هر دو رقم تیمار اسید

سالیسیلیک در غلظت ۱میلی مولار باعث افزایش معنی دار درصد مهار بی رنگ کنندگی 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 معنی دار درصد مهار بی رنگ کنندگی بتا کاروتن نسبت به شاهد شد. ولی در بافت دانه هر دو رقم تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت باعث کاهش معنی دار درصد مهار بی رنگ کنندگی بتا کاروتن نسبت به شاهد شد.

مرحله رسیدگی: همان طور که شکل۳ قسمت (B) نشان می دهد در رقم "شاهانی" تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۱ میلی مولار در همه بافتهای مورد بررسی باعث افزایش درصد مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن شد. در بافتهای پوست، گوشت و برگ رقم "فخری" نیز تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی مولار باعث افزایش درصد مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن شد. اما تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت در دانه رقم "فخری" باعث کاهش معنی‌دار درصد مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن نسبت به شاهد شد.



شکل۲- اثر اسید سالیسیلیک در سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی مولار بر محتوای رسوراترول موجود در بافتهای پوست میوه (قسمت A) و برگ(قسمت B) ارقام انگور "شاهانی" (RS) و "فخری" (GS) در مرحله غوره‌گی و مرحله رسیدگی. حرف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح $p \leq ۰/۰۵$ می باشد. خطوط بالای ستونها SE یا خطای استاندارد می باشد.



شکل۳- اثر اسید سالیسیلیک در سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی مولار بر فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از مهار بی رنگ کنندگی سیستم بتاکاروتن- اسید لینولئیک در بافتهای پوست، گوشت، برگ و دانه ارقام انگور "شاهانی" (RS) و "فخری" (GS) در مرحله غوره‌گی (A) و مرحله رسیدگی (B). حرف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح p≤۰/۰۵ می باشد. خطوط بالای ستونها SE یا خطای استاندارد می باشد.

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 می باشند که با افزایش سرعت بلوغ میزان آنها کاهش می یابد. از طرفی مطابق نتایج این پژوهش مطالعات نشان داده که تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش تجمع ترکیبات فنلی کل در میوه انگور تیمار شده می شود (۴۴). بنابراین در این پژوهش (مطابق شکل۱) 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 در مرحله غوره‌گی غلظتهای پایین‌تر یعنی غلظت ۰/۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک مؤثرتر بود. ولی در مرحله رسیدگی (مطابق شکل۱ قسمت(B)) اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر روی میزان فنل کل دو رقم "شاهانی" و "فخری" متفاوت بود، به‌طوری‌که 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 عصاره های 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 می باشد (۳۴). مطالعات روی پوست میوه انگور همچنین نشان داده است که ارتباط نزدیکی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و بخش غنی از ترکیبات فنلی به‌ویژه در پوست میوه ارقام رنگی انگور وجود دارد (۱۹) که در قسمت بررسی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر به آن اشاره می گردد. ترکیبات فنلی موجود در برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال آزاد عمل می کنند(۷)، در ضمن میزان فنل کل پس از دانه در پوست میوه و برگ بیشتر می باشد. مطابق نتایج این پژوهش مطالعات نشان داده که اسید سالیسیلیک نمی تواند فقط به‌عنوان تحریک کننده 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 مطالعه ای بر روی انگور مشاهده شده که ویژگی پروسیانیدین در طی بلوغ انگور متنوع است، مثلا 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 گوشت میوه انگور کاهش می یابد (۲۵ و ۲۸). اما مطالعات دیگر بر روی میوه ها ازجمله پرتقال گزارش شده که ترکیبات فنلی کل تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک افزایش می یابد (۲۲). مطابق نتایج این پژوهش مشاهده شده که تیمار اسید سالیسیلیک روی حبه های میوه زغال‌اخته باعث افزایش معنی دار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می گردد (۵۱). مطالعات دیگر همچنین نشان داده که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله غوره-گی انگور می‌تواند رسیدن حبه ها 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 آمونیالیاز (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 شکل۲) نشان می دهد که رقم انگور روی تولید رسوراترول مؤثر بود و از این نظر بین دو رقم اختلاف معنی داری وجود داشت. به‌طوری‌که رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" توانایی تولید رسوراترول بیشتری در میوه ها 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 می دهند 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 داد در برگ رقم "فخری" نیز (مطابق شکل۲ 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 می گردد. تحقیقات نشان داده که رنگ ارقام انگور در طی مراحل بلوغ انگور در برخی ارقام تغییر می‌یابد. مثلا رنگ پوست میوه در مرحله غوره‌گی سبز رنگ است و هنگام بلوغ رنگ پوست میوه بدلیل افزایش آنتوسیانین قرمز می شود. مشاهده شده در این ارقام با افزایش آنتوسیانین میزان رسوراترول کاهش می یابد (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 می یابد. 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) ازجمله 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 می دهد که اثر تیمار اسید سالیسیلیک در رقم "شاهانی" بسیار مؤثرتر از رقم "فخری" می باشد. همان طور که ذکر شد روند بلوغ باعث کاهش میزان رسوراترول می گردد 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 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 ازجمله آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) که یک آنزیم کلیدی در مسیر سنتز ترکیبات فنلی و رسوراترول است، می گردد. 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 استیلبن سنتاز (STS) با استفاده از رونویسی معکوس PCR نشان داده، اسید سالیسیلیک به‌طور ویژه بیان، VaPAL3، VaSTS2، VaSTS3، VaSTS4، VaSTS5، VaSTS6 و VaSTS8 را تحریک می کند (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 می شود، که در طی رونویسی بیشتر بود. تیمار اسید

سالیسیلیک بطور معنی داری بیان ژن VaPAL3 را نیز افزایش می دهد. مطالعات آنان همچنین نشان داده در انگور قرمز فعالیت حذف کنندگی رادیکال آزاد بیشتر از ارقام دیگر می باشد (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. Luو Serrero (۱۹۹۹) نیز طی گزارشی اعلام نمودند که رسوراترول از رشد سلولهای سرطانی سینه جلوگیری می کند.

هر گیاه دارای طیف وسیعی از ترکیبهای فنلی است و خاصیت آنتی اکسیدانی هر یک از این مواد وابسته به ساختار شیمیایی آنها می باشد (۳۹). از مقایسه بافتهای مختلف میوه دو رقم انگور "شاهانی" و"فخری" (مطابق شکل۳) مشاهده می شود که میزان مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن در مرحله رسیدگی تقریبا در همه بافتها بیشتر از مرحله غوره‌گی می باشد، یعنی روند بلوغ باعث افزایش میزان مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن شد که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در غلظتهای مناسب می‌تواند سبب افزایش هر چه بیشتر این بازدارنگی شود. مکانیسم بی رنگ کنندگی بتاکاروتن یک پدیده وابسته به رادیکال آزاد است که در نتیجه هیدروژن پراکسیدازهای تشکیل شده از اسید لینولئیک بوجود می آید. حضور عصاره های مختلف می‌تواند از میزان بی رنگ کنندگی 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 بی رنگ کنندگی بتاکاروتن شد (مطابق شکل۳ قسمت (A))، در حالی که در مرحله رسیدگی (مطابق شکل۳ قسمت (B)) باعث افزایش شد. بنابراین بهتر است برای افزایش میزان مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن برگ از تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی استفاده شود. گزارش شده اسید سالیسیلیک در میوه توت فرنگی در یک رفتار وابسته به غلظت از صفر تا ۲ میلی مول بر لیتر، فنل کل را افزایش می دهد که این خود موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی کل می شود (۵). در چند میوه ریز ازجمله تمشک نیز مشاهده شده یک همبستگی مثبتی بین فنل کل و آنتوسیانین با فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد و مشاهده شده که اسید سالیسیلیک یک نقش سیگنالی در فعالیت آنتی اکسیدانی این میوه ها 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 نتیجه گیری کرد که میزان مهار بی رنگ کنندگی 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 دقیقا در رقم و بافتهایی که میزان ترکیبات فنلی ازجمله رسوراترول زیاد است این اثر بیشتر است، که تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت باعث افزایش میزان مهار بی رنگ کنندگی 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 بی رنگ کنندگی بتاکاروتن شد. مطالعات نشان داده سنجش درصد بی رنگ کنندگی بتاکاروتن به قطبیت مواد موجود در عصاره ها بستگی دارد (۹). مطابق آنچه گفته شد نتایج آزمون سنجش آنتی اکسیدانها (مطابق شکل۳) تفاوتهای معنی داری را نشان داد که حکایت از تفاوت ترکیب شیمیایی عصاره های 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 شکل۲) و سایر ترکیبات فنلی (فنل کل مطابق شکل۱) فراوان است و تحت تیمار اسید سالیسیلیک نیز این میزان افزایش یافته، کاهش میزان

رادیکال آزاد (مطابق شکل۳) نیز در این بافتها بیشتر است که این اثر با مشاهده میزان بی رنگ شدن 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 می شود، با اینکه در مرحله غوره‌گی میزان رسوراترول و سایر ترکیبات فنلی بیشتر از مرحله رسیدگی است اما (مطابق شکل۳) میزان بازدارندگی سیستم بی رنگ کنندگی بتاکاروتن در مرحله رسیدگی بیشتر از مرحله غوره‌گی می باشد و مشاهده می شود با روند بلوغ در همه بافتهای دو رقم میزان مهار بی رنگ کنندگی بتاکاروتن افزایش می یابد، که این نتیجه ما را متوجه دخالت سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی همراه با ترکیبات فنلی در حذف کردن رادیکال آزاد می کند. بنابراین پیشنهاد شده که سیستمهای خنثی کننده 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 آنتی اکسیدانی می شود که می‌تواند ترکیبات ROS را حذف کند. همچنین در این پژوهش مطابق آنچه ذکر شد، اثر اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (با کمک سیستم بتا کاروتن–اسید لینولئیک، میزان رسوراترول و فنل کل) بعضی بافتهای رقم "شاهانی" نسبت رقم "فخری" متفاوت بود. مطابق این نتایج مطالعات روی گندم نیز نشان داده است که اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنتی اکسیدانی دو رقم گندم متفاوت می باشد، به‌طوری‌که 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 آنتی اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد.

نتیجه‌گیری کلی

مقایسه دو مرحله رشدی ارقام انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در این پژوهش این امکان را فراهم می کند که مؤثرترین غلظت و مرحله ی رشدی برررسی گردد. همچنین با توجه به فرهنگ تغذیه انگور در ایران، که اغلب در مرحله رسیدگی استفاده می شود، اهمیت بالا بودن ترکیبات مفید در این مرحله به چشم می‌خورد. با اندازه گیری آنتی اکسیدان بافتهای مختلف میوه و برگ انگور تحت این تیمار می‌توان اثرهای متفاوت تیمار اسید سالیسیلیک را مشاهده کرد. همان طور که نتایج این تحقیق نشان می دهد میزان فنل کل برخی بافتهای انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله رسیدگی افزایش یافت که این نشان می دهد 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 می یابد که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک (غلظت ۰/۱ میلی مولار) در این مرحله می‌تواند باعث افزایش میزان این ترکیب آنتی اکسیدان 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 بی رنگ کنندگی 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" تقریبا در همه سنجشها از خود برتری نشان می‌دهد.

منابع

۱– جواد مرآتی، م.، نیکنام، و.، حسن پور، ح. و میر معصومی، م. (۱۳۹۴). مقایسه تأثیر تنش شوری بر رشد و پاسخ های آنتی

اکسیدانی در اندام های مختلف گیاه (*Mentha pulegium* L.) پونه معطر. مجله پژوهشهای گیاهی- مجله زیست شناسی 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 زیست شناسی ایران ۲۸(۲): ۲۹۷-۳۰۶.

۳- کامکار، ا. (۱۳۸۸). مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی 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 tintal 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 sinenisis* 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 Proanthocianidins 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 acidon 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 re- tards 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., Iannoccari, 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). Acomparison 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, raspberry, 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] and Rasouli M.[2]

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

[2] Horticulture and Landscape Dept. , Faculty of Agriculture, 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.