

تأثیر اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های پاداکسندگی انگور رقم‌های "شاهانی" و "فخری"

فاطمه نظری^۱، موسی رسولی^{۲*} و معصومه ملکی^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم دانشگاه ملایر، ایران
 ۲. دانشیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ایران
 ۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه ملایر، ایران
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲۰)

چکیده

انگور (*Vitis vinifera* L.) ترکیب‌های پاداکسند (آنتی‌اکسیدان) بسیار سودمندی برای انسان دارد. متأسفانه اغلب ترکیب‌های پاداکسند مانند فلاونوئیدها در هنگام رسیدگی انگور کاهش می‌یابد. در این زمینه بررسی تیمار محرک (الیستور)هایی برای افزایش این ترکیب‌ها در هنگام مصرف لازم است. در این تحقیق تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک در سه غلظت (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار به‌صورت محلول‌پاشی روی برگ و میوه دو رقم انگور "شاهانی" (رنگ حبه سیاه) و "فخری" (رنگ حبه سبز) در دو مرحله غورگی و رسیدگی رشد میوه بررسی شد. شاخص تشخیص مرحله غورگی میزان اسیدیت و اندازه حبه و مرحله رسیدگی، آبدار و شیرین بودن حبه‌ها بود. این بررسی در سال ۱۳۹۲ روی تاک‌های واقع در باغ "مرکز تحقیقات انگور ملایر" انجام شد. تاک‌های مورد آزمایش ده ساله و نظام پرورشی آن‌ها به‌صورت کشت ردیفی و روش آبیاری قطره‌ای بود. این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی (CRD) با هفت تیمار و سه تکرار بود. نتایج نشان داد، بیشترین میزان کاروتنوئیدها در مرحله غورگی در پوست میوه رقم "شاهانی" و "فخری" تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب با مقادیر ۷۳/۶۵ و ۶۹/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. نتایج مقایسه دو مرحله رشدی همچنین نشان داد، بالاترین میزان آنتوسیانین‌ها در مرحله رسیدگی در پوست میوه و برگ رقم "شاهانی" تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب با مقادیر ۳/۲۱ و ۲/۳۴۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. در سنجش میزان فلاونوئید کل نیز مشاهده شد، اثر افزایشی غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید کل برگ و همه قسمت‌های میوه (به‌جز بذر) هر دو رقم "شاهانی" و "فخری" در مرحله رسیدگی مؤثرتر بود. تیمار اسید سالیسیلیک همچنین میزان فعالیت پاداکسندگی بیشتر قسمت‌های هر دو رقم را در مرحله غورگی با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار و در مرحله رسیدگی با غلظت ۱ میلی‌مولار به‌طور مؤثری افزایش داد. این نتایج نشان داد، استفاده از مواد رایجی مانند اسید سالیسیلیک می‌تواند ویژگی پاداکسندگی انگور را به هنگام رسیدگی به‌شدت افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: انگور، رسیدگی، فعالیت پاداکسندگی، فلاونوئید.

The effect of salicylic acid on antioxidant properties of "Shahani" and "Fakhri" grapes cultivars

Fatemeh Nazari¹, Mousa Rasouli^{2*} and Masoumeh Maleki³

1. M.Sc. Student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Malayer University, Iran
 2. Associate Professor, Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
 3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Malayer University, Iran
- (Received: Apr. 19, 2016 - Accepted: Aug. 10, 2016)

ABSTRACT

Grape (*Vitis vinifera* L.) contains antioxidant compounds which are very useful for human. Unfortunately, most of the antioxidant compounds, such as flavonoides, are reduced during grape ripening stages. Therefore, the study of elicitors for increasing these compounds at the time of ripening, is necessary. In this study, the effect of salicylic acid (SA) spraying in three concentrations of 0 (control), 0.1 and 1mM on the leaves and fruits of two grape cultivars "Shahani" (with black berries) and "Fakhri" (with green berries) at two growth stages (unripe and ripe) were investigated. Detection indicators at unripe stage were acidity and berry size, and at ripe stage were juiciness and total soluble solid of berries. This study was conducted in 2013-2014 on the vineyards of the "Malayer Grape Research Center". The experimental vines were ten years old and their growing system was a row planting and drip irrigation method. This experiment was carried out based on completely randomized design (CRD) with seven treatments and three replications. The results showed that the maximum amount of carotenoids were at the unripe stage in the fruit skin of "Shahani" and "Fakhri" cultivars treated by SA at 0.1mM concentration to amount 73.65 and 69.94 mg/gFW, respectively. Results of comparing two growth stages showed that the maximum amount of anthocyanins were at ripe stages in the fruit skin and leaves of "Shahani" cultivar treated by SA at 0.1mM concentration to amount 3.21 and 2.343 mg/g FW respectively. In addition, Measurement of total flavonoids content as showed the increasing effect of SA at 0.1mM concentration on total flavonoids of leaves and all parts of fruits (exception of seeds) both "Shahani" and "Fakhri" cultivars at ripe stages were more effective. Also, SA treatment as significantly increased the antioxidant activity content of most parts both cultivars at unripe stages at 0.1mM concentration and ripe stages at 1mM concentration. These results showed that the use of common materials, such as SA, can greatly increase antioxidant properties of grapes during ripe stage.

Keywords: Antioxidant activity, Flavonoids, Grape, Ripe.

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

مقدمه

گونه‌های اکسیژن واکنشگر^۱ در آن‌ها افزایش می‌یابد. این مولکول‌ها می‌توانند باعث تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک یاخته‌ها و درنهایت غشاهای زیستی شوند. یاخته‌های گیاهی برای کاهش تأثیر تخریبی این مولکول‌ها، فعالیت سامانه پاداکسندگی خود از جمله ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل‌هیدرازیل^۲ را افزایش می‌دهند (Popova et al., 1998). تیمارهای متفاوت از جمله اضافه کردن اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مناسب باعث بالارفتن توان سامانه پاداکسندگی بافت‌های گیاهی با فعال کردن برخی از این پاداکسندگی می‌شود (Cao et al., 2010; Luo et al., 2012). در برخی میوه‌ها از جمله گیلان گزارش شده کاربرد تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، ترکیب‌های فنلی و فعالیت پاداکسندگی می‌شود. همچنین در این میوه مشاهده شده بین ترکیب‌های پاداکسندگی یادشده و فعالیت پاداکسندگی ارتباط مستقیمی وجود دارد (Gimenez et al., 2014). در پژوهشی دیگر برای بهبود تولید متابولیت‌های سودمند برای رسیدن به غلظت‌های بالاتر در کشت دروایه‌ای (سوسپانسیون) انگور از تیمار اسید سالیسیلیک به‌عنوان تیمار تحریک‌کننده^۳ استفاده شد، نتایج نشان داد، هنگامی یاخته‌ها با ۲۵ و ۵۰ میلی‌لیتر دروایه اسید سالیسیلیک پاشش (اسپری) می‌شوند غلظت آنتوسیانین‌ها افزایش می‌یابد (Saw et al., 2010). در نتایج بررسی‌های دیگر روی پوست میوه انگور گزارش شده است که ارتباط نزدیکی بین فعالیت پاداکسندگی و بخش غنی از آنتوسیانین به‌ویژه در پوست میوه رقم‌های رنگی انگور وجود دارد (Ghiselli et al., 1998). فلاونوئیدها قوی‌ترین توان پاداکسندگی در بین ترکیب‌های فنلی را دارند که این ویژگی نیز تحت تأثیر نوع هیدروکسیلاسیون است. همچنین قرار گرفتن ترکیب‌های قندی روی ساختار فلاونوئیدها می‌تواند باعث افزایش توان پاداکسندگی آن‌ها شود. این ترکیب‌ها می‌توانند به‌خوبی رادیکال‌های

انگور (*Vitis vinifera* L.) منبع سرشاری از ترکیب‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) به‌ویژه در پوست و بذر است (Zoecklein et al., 1990). ترکیب‌های فنلی انگور به‌طور معمول به دو دسته فلاونوئیدی و غیر فلاونوئیدی تقسیم می‌شوند. ترکیب‌های فنلی کل برای رقم‌های انگور با حبه قرمز ۱۲۲۰۰-۱۸۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در رقم‌های انگور با حبه سبز ۲۵۰-۲۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. رقم‌های انگور با حبه سبز رسوراترول و دیگر ترکیب‌های فنلی کمتری نسبت به رقم‌های انگور با حبه سیاه دارند. ترکیب‌های فنلی اصلی پوست میوه انگور شامل پروآنتوسیانین، اسید الایژنیک، مرستین، کوئرستین، کامپروفول و ترانس رسوراتول است (Pastrana-Bonilla et al., 2003; Hernandez-Jimenez et al., 2009). نتایج بررسی‌ها نشان داد، ترکیب‌های پلی فنلی در انگور در غلظت‌های مختلف یافت می‌شود و بستگی به رقم انگور و شرایط محیطی تاکستان دارد (Vinci et al., 2008). در نتایج پژوهشی روی انگور مشاهده شده ویژگی پروسیانیدین (از خانواده فلاونوئیدها) در مرحله رسیدن یا بلوغ انگور متنوع است، به‌طور مثال اپی کاتیچین ۳ گالات از ۳۸ به ۱۸ درصد در فرآیند بلوغ انگور در بذر کاهش می‌یابد و همچنین پروآنتوسیانیدین پوست حبه سبز و پوست حبه قرمز انگور به ترتیب به میزان ۱۳/۸ و ۳/۷ درصد در مرحله بلوغ کاهش نشان داده است (Kennedy, 2000). امروزه ترکیب‌های فنلی علاقه‌مندان زیادی را به خود جذب کرده، زیرا آن‌ها ویژگی‌های زیستی (بیولوژیکی) سودمند متنوعی دارند، پاداکسندگی قوی هستند (Mitic et al., 2010) و فعالیت فیزیولوژیکی متنوع دیگر از جمله فعالیت ضد سرطانی (Agarwal et al., 2000)، آنتی‌باکتریایی (Baydar et al., 2004) و ضدالتهاب (Xia et al., 2010) دارند. کاربرد بالای ترکیب‌های فنلی با کاهش خطر بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبی و عروقی مرتبط است (Leifert & Abeywardena, 2008). هنگامی که بافت‌های گیاهی در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند تولید

1. Reactive oxygen species (ROS)

2. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3. Elicitor

تعیین مرحله غورگی میوه رقم‌های انگور اندازه حبه و میزان اسیدیته و برای مرحله رسیدگی، آبدار و شیرین بودن حبه‌ها بود.

سنجش محتوای کاروتنوئید

سنجش محتوای کاروتنوئید با روش Lichtenthaler (1987) انجام شد. بدین ترتیب که ۰/۲ گرم بافت تر در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده و روی کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. سپس حجم عصاره به دست آمده با استون به ۱۰ میلی‌لیتر رسید. شدت جذب نوری عصاره در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۴۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر به روش طیف‌سنج نوری (اسپکتوفتومتری، JENUS مدل UV-12000 کشور امریکا) خوانده شد. غلظت کاروتنوئید (Cx) با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$Cx.c(\mu\text{g/ml}) = \frac{(1000A470 - 1.8Ca - 85.02Cb)/198}{1} \quad (1)$$

در این رابطه CX غلظت کاروتنوئید، A470 جذب کاروتنوئیدها در ۴۷۰ نانومتر، Ca غلظت سبزینه (کلروفیل) a و Cb غلظت سبزینه b است.

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها

برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین‌ها ۱ گرم بافت تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی همگن و سانتریفوژ (مدل Z326K ساخت کشور آلمان) شد. جذب عصاره رویی در ۵۳۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری تعیین و نتایج به صورت میلی‌گرم بر گرم وزن تر مقایسه شد (Nogues & Baker, 2000).

سنجش میزان فلاونوئید کل

به منظور تعیین میزان فلاونوئید کل ۰/۱ گرم از نمونه توسط متانول ۱۰۰ درصد استخراج شد. در آغاز عصاره‌های متانولی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و تبخیر شد و با انحلال دوباره در متانول و به دنبال عبور از صافی (فیلتر) به منظور سنجش فلاونوئیدها استفاده شدند و پس از یافتن حجم مناسب برای سنجش و افزودن معرف و محلول‌های لازم اندازه‌گیری جذب پس از ۳۰ دقیقه

هیدرواکسی و پراکسی را سم‌زدایی و خنثی کنند و با فلزها تولید کمپلکس کرده و مانع از اکسایش (اکسیداسیون) لیپیدها شوند (Hendrich et al., 1999). نتایج بررسی‌ها نشان داد، به کار بردن اسید سالیسیلیک به طور مؤثری محتوای فلاونوئید و فنل کل و همچنین فعالیت پاداکسندگی را در میوه هلو افزایش می‌دهد (Razavi & Aghdam, 2010). در نتایج بررسی‌های میوه توت‌فرنگی نیز گزارش شده، اسید سالیسیلیک در یک رفتار وابسته به غلظت از ۰ تا ۲ میلی مول بر لیتر، فلاونوئید کل را افزایش می‌دهد که این خود موجب افزایش فعالیت پاداکسندگی کل می‌شود (Asghari & Aghdam, 2010). در نتایج بررسی‌های چند میوه ریز از جمله تمشک نیز گزارش شده، یک همبستگی مثبتی بین فنل کل و آنتوسیانین‌ها با فعالیت پاداکسندگی وجود دارد و مشاهده شده که تیمار اسید سالیسیلیک یک نقش سیگنالی در فعالیت پاداکسندگی این میوه‌ها دارد (Wang & Lin, 2000).

برخی ترکیب‌های پاداکسندگی رقم‌های انگور در روند مرحله بلوغ (رسیدگی) کاهش می‌یابد، با توجه به اهمیتی که این ترکیب‌ها برای انسان دارد. در این تحقیق از تأثیر اسید سالیسیلیک یک محرک (الیسیتور) مقرون به صرفه، با کارایی بالا و دارای ویژگی پاداکسندگی برای افزایش برخی ترکیب‌های پاداکسندگی از جمله کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئید کل و همچنین فعالیت پاداکسندگی در قسمت‌های مختلف برگ و میوه دو رقم انگور "شاهانی" و "فخری" در دو مرحله رشدی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از دو رقم انگور دانه‌دار "شاهانی" (رنگ حبه سیاه) و "فخری" (رنگ حبه سبز) موجود در باغ "مرکز تحقیقات انگور ملایر" وابسته به وزارت جهاد کشاورزی، واقع در ۱۰ کیلومتری شهرستان ملایر از توابع استان همدان استفاده شد. تاک‌های مورد آزمایش ده ساله و نظام پرورشی آن‌ها به صورت کشت ردیفی و روش آبیاری قطره‌ای بود. همچنین شاخص

مشخص شدن وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، میانگین‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال $p \leq 0.05$ گروه‌بندی و مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر اسید سالیسیلیک بر کاروتنوئیدهای قسمت‌های مختلف برگ و میوه انگور

نتایج تحقیقات نشان داد، کاروتنوئیدها می‌توانند انرژی زیاد طول‌موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن تنها (O) را به صورت سه تایی (O_3) تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده، نقش پاداکسندگی خود را ایفا کنند (Sairam *et al.*, 1998). در این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف تیمار اسید سالیسیلیک روی ترکیب‌های پاداکسندگی قسمت‌های مختلف رقم‌های "شاهانی" و "فخری" در دو مرحله رشدی بسیار متفاوت و قابل توجه بود. با مقایسه قسمت‌های مختلف دو رقم انگور در دو مرحله رشدی (جدول ۱) مشاهده شد، میزان کاروتنوئیدها در برگ رقم "شاهانی" و پوست میوه هر دو رقم در مرحله غورگی بیشتر از مرحله رسیدگی بود، در واقع روند مرحله بلوغ باعث کاهش میزان کاروتنوئیدها در این قسمت‌ها شد. همچنین در مرحله غورگی میزان کاروتنوئیدها در پوست میوه هر دو رقم بیشتر از برگ بود ولی در مرحله رسیدگی برعکس، میزان کاروتنوئیدها در برگ هر دو رقم بیشتر از پوست میوه بود. در این مقایسه مشاهده شد در مرحله غورگی میزان کاروتنوئیدها در برگ و پوست میوه رقم "شاهانی" بیشتر از برگ و پوست میوه رقم "فخری" بود. اما در مرحله رسیدگی میزان کاروتنوئیدهای برگ رقم "فخری" بیشتر از برگ رقم "شاهانی" بود، ولی میزان کاروتنوئیدهای پوست میوه رقم "شاهانی" بیشتر از پوست میوه رقم "فخری" بود. نتایج نشان داد، استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله غورگی مؤثرتر از مرحله رسیدگی بود به طوری که در مرحله غورگی تیمار اسید سالیسیلیک به ویژه غلظت ۰/۱ میلی‌مولار باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها در برگ و پوست میوه هر دو رقم شد. اما در مرحله رسیدگی تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۱

در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری انجام شد. حجم مناسب برای این سنجش برای نمونه‌ها ۰/۱ میلی‌لیتر است. سنجش‌ها با سه بار تکرار انجام شدند (Pourmorad *et al.*, 2006).

سنجش فعالیت پاداکسندگی (به کمک سنجش DPPH) توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیب‌ها و عصاره‌های مختلف در این آزمایش با میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش ۲ و ۲- دی‌فنیل -۱- پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) در متانول آزمایش شد. در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده DPPH (شرکت سیگما-آلد ریچ امریکا) به‌عنوان معرف استفاده شد.

بدین ترتیب ۲/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره در متانول با ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH با غلظت 3×10^{-4} مولار مخلوط شد و پس از اینکه به‌سرعت به هم زده شد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار داده شد. جذب مخلوط واکنش در ۵۱۷ نانومتر با طیف‌سنج نوری خوانده شد. درصد فعالیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی، DPPH) با استفاده از رابطه زیر (۲) محاسبه شد:

$$\% = 100[1 - (As - Ab/Ac)] \quad (2)$$

در این رابطه Ab جذب نوری کنترل منفی که بدون عصاره است را نشان می‌دهد و As میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره و Ac جذب محلول DPPH با غلظت یادشده را نشان می‌دهد (Stojicevic *et al.*, 2008).

تجزیه‌های آماری

آزمایش بر پایه طرح کامل تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار انجام گرفت. رقم‌های مورد بررسی شامل رقم "شاهانی" و "فخری" بود (هر دو رقم دانه‌دار)، که در دو مرحله رشدی (غورگی و رسیدگی) با سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار محلول اسید سالیسیلیک تیمار شدند. داده‌های به‌دست‌آمده از سنجش‌های انجام‌شده در دو رقم انگور مورد بررسی، با روش تجزیه واریانس یک سوئی (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 20 تجزیه و تحلیل شدند. پس از

رسیدگی همسو است. بنابر نتایج به دست آمده (جدول ۱) در این تحقیق بالاترین غلظت کاروتنوئیدها در مرحله غورگی در پوست میوه هر دو رقم "شاهانی" و "فخری" تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب با مقادیر ۷۳/۶۵ و ۶۹/۹۴ میلی گرم بر گرم وزن تر بود، که میزان آن‌ها در رقم "شاهانی" بیشتر از رقم "فخری" بود. بنابر نتایج به دست آمده، استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در قسمت پوست میوه رقم "شاهانی" با غلظت ۰/۱ میلی مولار در غلظت و در رقم "فخری" با غلظت ۱ میلی مولار (یا در غلظت‌های بالاتر) میزان کاروتنوئیدها را افزایش داد که این می‌تواند کاهش میزان کاروتنوئیدها را در فرایند روند بلوغ در این قسمت جبران کند. در واقع میزان کاروتنوئیدهای پوست میوه رقم‌ها نسبت به برگ به نحو بهتری در هر دو مرحله رشدی تحت تأثیر این تیمار قرار گرفته بود. در این پژوهش سنجش DPPH نشان داد، رابطه مستقیمی بین بخش‌های حاوی ترکیب‌های پاداکسندگی مانند کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها با فعالیت پاداکسندگی وجود دارد.

و ۱ میلی مولار باعث کاهش میزان کاروتنوئیدهای برگ رقم "فخری" شد، و در پوست میوه این رقم اثر افزایشی معنی‌داری نداشت. البته برگ و پوست میوه رقم "شاهانی" در این مرحله رفتار متفاوتی نسبت به رقم "فخری" داشت و تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی مولار باعث افزایش میزان کاروتنوئیدهای این قسمت‌ها شد. در مقایسه با نتایج این پژوهش، نتایج بررسی‌ها روی گیلان نیز نشان داد، میزان کاروتنوئیدها با تیمار اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد و مشخص شد، ارتباط مستقیمی بین میزان کاروتنوئیدها و فعالیت پاداکسندگی وجود دارد (Valero et al., 2011). بنابر نتایج به دست آمده، تیمار اسید سالیسیلیک در برگ رقم "فخری" باعث کاهش میزان کاروتنوئیدها در مرحله رسیدگی شد. در نتایج بررسی‌های همانندی در برگ انار نیز گزارش شده است که میزان کاروتنوئید تحت تأثیر غلظت‌های مختلف ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی مولار اسید سالیسیلیک کاهش داشت (Vatanparast et al., 2012) که با نتایج این تحقیق در برگ رقم‌های مورد آزمایش در مرحله

جدول ۱. تأثیر اسید سالیسیلیک در سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی مولار بر محتوای کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئید کل برگ، پوست، گوشت و بذر میوه رقم‌های "شاهانی" و "فخری" در مرحله غورگی و مرحله رسیدگی.

Table 1. The effect of SA treatment in three concentrations of 0 (Control), 0.1 and 1mM on carotenoid, anthocyanin and total flavonoid content of leaves, skin, flesh and seeds of "Shahani" and "Fakhri" grapes in unripen stage and ripen stages. Different letters indicate significant differences at the level of $p \leq 0.05$.

Characteristics	Cultivars	Growth stage	Organ	Control	SA Treatment 0.1mM	1mM SA Treatment	
Crotenoids (mg/gFW)	"Shahani" cultivar	Unripe	Leaf	39.19 ^a	45.98 ^a	40.21 ^a	
			Skin	60.21 ^b	73.65 ^a	57.15 ^b	
		Ripe	Leaf	14.61 ^a	13.93 ^{ab}	13.08 ^b	
			Skin	13.03 ^b	14.38 ^a	14.56 ^a	
		"Fakhri" cultivar	Unripe	Leaf	45.98 ^b	54.57 ^a	51.41 ^a
				Skin	43.78 ^b	69.94 ^a	53.15 ^b
	Ripe		Leaf	64.74 ^a	23.3 ^b	14.96 ^c	
			Skin	5.16 ^a	4.55 ^a	4.76 ^a	
	Anthocyanin (mg/gFW)	"Shahani" cultivar	Unripe	Leaf	0.641 ^b	1.047 ^a	0.471 ^c
				Skin	0.365 ^b	0.370 ^a	0.315 ^c
				Flesh	0.009 ^c	0.022 ^b	0.027 ^a
				Seed	0.058 ^b	0.038 ^c	0.067 ^a
Ripe			Leaf	2.17 ^c	2.34 ^a	2.213 ^b	
			Skin	3.00 ^c	3.21 ^a	3.15 ^b	
"Fakhri" cultivar		Unripe	Flesh	0.092 ^c	0.249 ^a	0.210 ^b	
			Seed	0.09 ^a	0.071 ^b	0.061 ^c	
			Leaf	0.378 ^b	0.230 ^c	0.485 ^a	
			Skin	0.046 ^b	0.062 ^a	0.045 ^b	
		Ripe	Flesh	0.013 ^c	0.031 ^b	0.038 ^a	
			Seed	0.063 ^a	0.038 ^c	0.054 ^b	
"Fakhri" cultivar	Unripe	Leaf	0.871 ^a	0.850 ^b	0.678 ^c		
		Skin	0.12 ^b	0.188 ^a	0.108 ^c		
	Ripe	Flesh	0.04 ^b	0.049 ^a	0.039 ^b		
		Seed	0.08 ^a	0.078 ^b	0.061 ^c		

ادامهٔ جدول ۱. تأثیر اسید سالیسیلیک در سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار بر محتوای کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئید کل برگ، پوست، گوشت و بذر میوهٔ رقم‌های "شاهانی" و "فخری" در مرحلهٔ غوره‌گی و مرحلهٔ رسیدگی. حرف متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.05$ است.

Continued table 1. The effect of SA treatment in three concentrations of 0 (Control), 0.1 and 1mM on crotenoids, anthocyanin and total flavonoid content of leaves, skin, flesh and seeds of "Shahani".and "Fakhri" grapes in unripe stage and ripe stage. Different letters indicate significant differences are at the level of $p \leq 0.05$.

Characteristics	Cultivars	Growth stage	Organ	Control	SA Treatment 0.1mM	1mM SA Treatment
Total flavonoid (mg/gFW)	"Shahani" cultivar	Unripe	Leaf	1.353 ^c	1.511 ^b	1.602 ^a
			Skin	0.053 ^c	0.275 ^b	0.288 ^a
			Flesh	0.184 ^c	0.350 ^b	0.355 ^a
		Seed	0.565 ^b	0.59 ^a	0.410 ^c	
		Ripe	Leaf	1.025 ^b	1.212 ^a	1.031 ^a
			Skin	0.103 ^b	0.141 ^a	0.104 ^b
	Flesh		0.146 ^c	0.226 ^a	0.155 ^a	
	"Fakhri" cultivar	Unripe	Leaf	1.911 ^a	1.69 ^b	1.426 ^c
			Skin	0.18 ^c	0.211 ^a	0.206 ^b
			Flesh	0.213 ^b	0.271 ^a	0.211 ^c
		Seed	0.325 ^a	0.283 ^b	0.201 ^c	
		Ripe	Leaf	1.531 ^b	1.890 ^a	1.54 ^b
Skin			0.078 ^b	0.103 ^a	0.077 ^b	
Flesh	0.106 ^c		0.127 ^a	0.109 ^b		
Seed	0.282 ^a	0.169 ^b	0.149 ^c			

Different letters show significantly differences at 5% probability level.

حرف متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $p \leq 0.05$ است.

رقم "شاهانی" بیشتر از دیگر قسمت‌های این رقم و همهٔ قسمت‌های رقم "فخری" بود. برابر با نتایج این پژوهش، نتایج تحقیقات دیگر نشان داد، در میان عصاره‌های انگور قرمز و سبز، میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها در انگور قرمز بیشتر از انگور سبز بوده و میزان این ترکیب‌ها در پوست میوه بیشتر از گوشت آن است (Lo Scalzo *et al.*, 2007). نتایج بررسی‌ها همچنین نشان داد، استفاده از غلظت‌های بهینهٔ تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند باعث افزایش آنتوسیانین‌ها قسمت‌های مختلف برگ و میوهٔ رقم‌های انگور (البته به‌جز استثناءهایی از جمله بذر) شود. البته رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" اندکی بیشتر تحت تأثیر این تیمار قرار گرفت. به‌طوری‌که در رقم "شاهانی" در هر دو مرحلهٔ رشدی تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اثر افزایشی بر میزان آنتوسیانین برگ داشت، درحالی‌که در برگ رقم "فخری" میزان آنتوسیانین تنها در مرحلهٔ غورگی، تحت تأثیر غلظت ۱ میلی‌مولار افزایش داشت. همچنین افزایش میزان آنتوسیانین بذر تنها در مرحلهٔ غورگی در رقم "شاهانی" تحت تأثیر غلظت‌ها ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد ولی در رقم "فخری" در هر دو مرحلهٔ این تیمار تأثیری کاهشی داشت. نتایج بررسی‌ها همچنین نشان داد، اثر افزایشی اسید سالیسیلیک بر میزان آنتوسیانین

تأثیر اسید سالیسیلیک بر آنتوسیانین‌های قسمت‌های مختلف برگ و میوهٔ انگور

در این پژوهش مشاهده شد (جدول ۱) در رقم "شاهانی" در مرحلهٔ رسیدگی به دلیل تغییر رنگ پوست میوهٔ این رقم و سیاه‌رنگ شدن آن، میزان آنتوسیانین‌های پوست میوهٔ این رقم بیشتر از پوست میوهٔ رقم "فخری" با رنگ حبهٔ سبز بود، که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت مناسب (۰/۱ میلی‌مولار) می‌تواند باعث افزایش آن شود. برابر این نتایج، تحقیقات نشان داد، رنگ برخی از رقم‌های انگور در فرآیند مرحلهٔ بلوغ تغییر می‌یابد (Kennedy, 2001). نتایج بررسی‌های دیگر همچنین نشان داد، ساخت (سنتز) آنتوسیانین‌ها هنگامی که هیچ رشد یاخته‌ای وجود ندارد افزایش می‌یابد (Saw *et al.*, 2010)، این بررسی با نتایج این پژوهش که مشاهده شد میزان آنتوسیانین در هر دو رقم در مرحلهٔ رسیدگی (بلوغ) که رشد یاخته‌ای متوقف بود افزایش یافت، همخوانی دارد. نتایج مقایسهٔ دو مرحلهٔ رشدی (جدول ۱) بیانگر این است که میزان آنتوسیانین‌ها در هر دو رقم در مرحلهٔ رسیدگی بیشتر از مرحلهٔ غورگی بود. همچنین میزان آنتوسیانین‌ها در بیشتر قسمت‌های میوهٔ رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" در هر دو مرحلهٔ رشدی بیشتر بود. نتایج بررسی‌ها نشان داد، میزان آنتوسیانین‌های پوست میوهٔ

برگ‌ها، میوه‌ها و سبزی‌ها به میزان زیادی وجود دارند (Hendrich *et al.*, 1999). نتایج بررسی‌ها نشان داد (جدول ۱) میزان فلاونوئید کل در همه قسمت‌های مورد بررسی به جز پوست میوه رقم "شاهانی" در روند مرحله بلوغ کاهش یافته بود. همچنین بنابر نتایج به‌دست‌آمده، در مرحله غورگی میزان فلاونوئید کل در رقم "فخری" (در پوست و گوشت میوه) بیشتر از رقم "شاهانی" بود، که این حالت به‌طور دقیق در فعالیت پاداکنندگی (شکل ۱) منعکس شد. اما در مرحله رسیدگی برعکس میزان فلاونوئید کل در رقم "شاهانی" بیشتر از رقم "فخری" بود. نتایج تحقیقات نشان داد، میزان ترکیب‌های فنلی از جمله فلاونوئید در انگور قرمز بیشتر از انگور سبز است (Pellegrin *et al.*, 2000). در این پژوهش نیز مشاهده شد در مرحله رسیدگی میزان فلاونوئید کل در پوست میوه رقم "شاهانی" بیشتر از رقم "فخری" بود. همچنین بنابر نتایج به‌دست‌آمده، در بیشتر قسمت‌های مورد بررسی تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان فلاونوئید کل در هر دو مرحله رشدی شد که رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" برتری نشان داد. در واقع در مرحله غورگی در قسمت برگ، پوست و گوشت میوه رقم "شاهانی" هر دو غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان فلاونوئید کل شد که اثر افزایشی غلظت ۱ میلی‌مولار مشهودتر بود. در حالی که در رقم "فخری" در قسمت برگ و بذر در این مرحله تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار باعث کاهش و در پوست و گوشت میوه غلظت ۰/۱ میلی‌مولار باعث افزایش میزان فلاونوئید کل شد. این نتایج همچنین نشان داد، در مرحله رسیدگی در هر دو رقم "شاهانی" و "فخری"، در همه قسمت‌های مورد بررسی به جز بذر استفاده از غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (غلظت‌های پایین‌تر) باعث افزایش میزان فلاونوئید کل شد. برابر این نتایج تیمار اسید سالیسیلیک روی حبه‌های میوه زغال‌اخته نیز باعث افزایش معنی‌دار ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی شده است (Yousefpour Dokhanieh *et al.*, 2013). در مرحله رسیدگی در بذر هر دو رقم

قسمت‌های گوشت و پوست میوه رقم "شاهانی" نسبت به رقم "فخری" مشهودتر بود. در کل اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به‌طور مؤثرتری میزان آنتوسیانین پوست میوه هر دو رقم را در هر دو مرحله رشد افزایش داد. همچنین اسید سالیسیلیک میزان آنتوسیانین گوشت هر دو رقم در مرحله غورگی با غلظت ۱ میلی‌مولار و در مرحله رسیدگی با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود. بنابر نتایج این پژوهش بررسی‌ها روی انگور نشان داد، هنگامی اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به محیط کشت انگور اضافه می‌شود، آنتوسیانین‌های تولیدشده در انگور نزدیک به سه برابر افزایش می‌یابد (Obinata *et al.*, 2003). نتایج بررسی‌های انجام‌شده توسط Brezeanu & Mihai (2011) در کشت یاخته‌ای انگور نیز نشان داد، تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش آنتوسیانین‌ها می‌شود. نتایج بررسی‌های آنان همچنین نشان داد، اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک مسیر علامت‌دهنده در تحریک مسیر زیست‌ساختی (بیوسنتزی) اسید شیکیمیک و در نتیجه تجمع معنی‌دار آنتوسیانین اثر می‌گذارد. بالاترین غلظت آنتوسیانین در مرحله رسیدگی و در قسمت پوست میوه رقم "شاهانی" تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میزان ۳/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. پس از پوست میوه، قسمت برگ تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار با میزان ۲/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در مرحله رسیدگی بالاترین میزان آنتوسیانین‌ها را داشت. نتایج تحقیقات همچنین نشان داد، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های موجود در برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسایشی (اکسیداتیو) محافظت می‌کنند (Borsanio *et al.*, 2001). یکی از رایج‌ترین منابع رنگ طبیعی برای استفاده در صنایع غذایی، عصاره‌های آنتوسیانین پوست میوه انگور به‌عنوان فرآورده‌های جانبی در صنعت تهیه آب انگور است (Pepin *et al.*, 1995).

تأثیر اسید سالیسیلیک بر فلاونوئید کل قسمت‌های مختلف برگ و میوه انگور

فلاونوئیدها فراوان‌ترین ترکیب‌های فنلی است که تا حدودی در همه قسمت‌های مختلف گیاهی به‌ویژه در

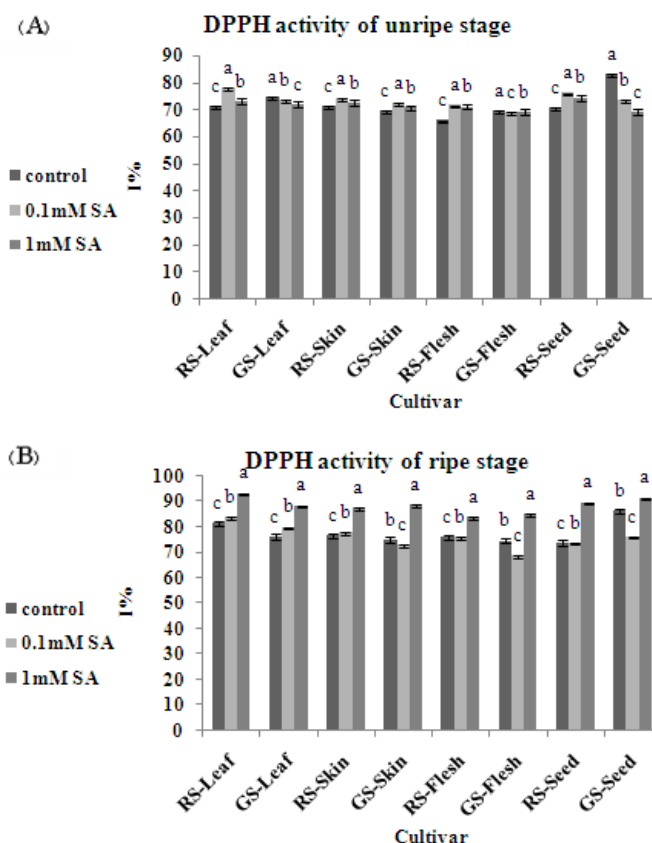
تأثیر اسید سالیسیلیک بر فعالیت پاداکسندگی (به کمک سنجش DPPH) توسط قسمت‌های مختلف برگ و میوه انگور

عصاره انگور ویژگی‌های پاداکسندگی داشته و ویژگی مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد را نیز دارد. نتایج بررسی‌های انجام‌شده بیانگر این است که حتی خالص‌سازی جزئی ترکیب‌های فنولی انگور تأثیر مهمی بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد این ترکیب‌ها دارند (Caillet *et al.*, 2006). نتایج نشان داد (شکل 1-A) در مرحله غورگی فعالیت پاداکسندگی همه قسمت‌های رقم "فخری" (به جز پوست میوه) بیشتر از رقم "شاهانی" بود که تیمار اسید سالیسیلیک در رقم "فخری" تنها در پوست میوه اثر افزایشی بر میزان آن داشت و در دیگر قسمت‌ها تأثیری کاهش‌ی مشاهده شد، در رقم "شاهانی" نیز این تیمار در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار تا حدودی در همه قسمت‌ها باعث افزایش فعالیت پاداکسندگی شد. درحالی‌که در مرحله رسیدگی (شکل 1-B) فعالیت پاداکسندگی در همه قسمت‌های برگ و میوه رقم "شاهانی" (به جز بذر) بیشتر از قسمت‌های برگ و میوه رقم "فخری" بود، که استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی‌مولار باعث افزایش میزان آن‌ها در هر دو رقم شد. نتایج به‌دست‌آمده بیانگر این است که فعالیت پاداکسندگی در هر دو رقم در مرحله رسیدگی بیشتر از مرحله غورگی بود یعنی روند بلوغ باعث افزایش فعالیت پاداکسندگی شد. همچنین مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از سنجش ترکیب‌های پاداکسندگی قسمت‌های مختلف رقم‌های انگور در دو مرحله رشدی (جدول ۱) در این پژوهش نشان داد در روند مرحله بلوغ برخی ترکیب‌های پاداکسندگی کاهش می‌یابد. بنابراین برای پاسخ به این تناقض باید گفت، در روند مرحله بلوغ کاهش برخی از ترکیب‌های پاداکسندگی (از جمله کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها) با افزایش برخی ترکیب‌های پاداکسندگی دیگر (از جمله آنتوسیانین‌ها) و شاید بعضی از آنزیم‌های پاداکسنده (از جمله آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز) همراه است که باعث افزایش فعالیت پاداکسندگی در مرحله رسیدگی نسبت به مرحله غورگی شده است. از سوی دیگر استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک در مرحله غورگی (در همه رقم

تأثیر کاهش تیمار اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید کل مشاهده شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد، اسید سالیسیلیک نمی‌تواند تنها به‌عنوان تحریک‌کننده بلکه به‌عنوان بازدارنده تولید ترکیب‌های ثانویه هم عمل می‌کند که در برخی گیاهان گزارش شده بعضی فلاونوئیدها را کاهش و برخی دیگر را افزایش می‌دهد (Ghasemzadeh *et al.*, 2012). در نتایج این پژوهش (جدول ۱) نیز بنابر آنچه گفته شد، تیمار اسید سالیسیلیک در بعضی قسمت‌ها باعث افزایش و در بعضی قسمت‌ها باعث کاهش میزان فلاونوئید کل شد. در نتایج این پژوهش همچنین دیده شد با نزدیک شدن به پدیده بلوغ (جدول ۱) میزان فلاونوئید کل همه قسمت‌های دو رقم انگور مورد بررسی کاهش می‌یابد، البته به جز پوست میوه رقم "شاهانی" که در مرحله رسیدگی میزان فلاونوئید کل در آن افزایش یافت که این حالت به دلیل تجمع فراوان‌ترین فلاونوئید یعنی آنتوسیانین‌ها بوده است. نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان داد، ترکیب‌های فنلی مونومریک و پلی‌مریک در فرآیند مرحله بلوغ یا رسیدگی انگور در پوست و گوشت میوه انگور کاهش می‌یابد (Kennedy, 2001; Jordao, 2001). در نتایج این پژوهش (جدول ۱) مشاهده شد در مرحله رسیدگی استفاده از تیمار ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک می‌تواند کاهش میزان فلاونوئید کل ناشی از نزدیک شدن به مرحله بلوغ را در بیشتر قسمت‌های هر دو رقم جبران و باعث افزایش آن شود. نتایج بررسی‌های دیگر نشان داد، انباشتگی ترکیب‌های فنلی در انگور با تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند از راه افزایش در فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) تحریک شود، PAL نخستین آنزیم کلیدی دخیل در زیست‌ساخت فنل‌ها در میوه‌ها است (Chen *et al.*, 2006). در این پژوهش بالاترین غلظت فلاونوئید کل در مرحله رسیدگی، در قسمت برگ رقم "فخری" تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میزان ۱/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. همچنین از بین قسمت‌های مختلف میوه، بالاترین غلظت فلاونوئید کل در مرحله غورگی در بذر رقم "شاهانی" تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میزان ۰/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد.

شود. بالاترین فعالیت پاداکسندگی در مرحله رسیدگی، در قسمت برگ رقم "شاهانی" تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میزان ۹۳/۳۸ میلی‌گرم برگرم وزن تر و همچنین بذر هر دو رقم "شاهانی" و "فخری" تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار به ترتیب با مقادیر ۸۹/۸۳ و ۹۱/۶۱ میلی‌گرم برگرم وزن تر بود. از بین قسمت‌های مختلف میوه هر دو رقم، به ترتیب پس از بذر، پوست و گوشت میوه (شکل ۱) تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بیشترین فعالیت پاداکسندگی در مرحله رسیدگی را داشتند. با اندکی دقت در نتایج به دست آمده (جدول ۱) مشاهده می‌شود، اسید سالیسیلیک در قسمت بذر رقم‌ها رفتار متفاوتی نسبت به دیگر قسمت‌های مورد بررسی داشته، به طوری که این تیمار باعث کاهش ترکیب‌های پاداکسندگی مانند آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها، به ویژه در مرحله رسیدگی شده، در حالی که این تیمار میزان فعالیت پاداکسندگی بذر را (به طور مؤثرتر در مرحله رسیدگی) افزایش داده است. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد افزون بر اینکه فعالیت پاداکسندگی در روند مرحله بلوغ بنابر آنچه یاد شد، افزایش می‌یابد، تیمار اسید سالیسیلیک احتمال دارد پاداکسنده‌های آزیمی مانند آزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزون بر پاداکسنده‌های غیر آزیمی افزایش داده که این باعث افزایش فعالیت پاداکسندگی در این مرحله شده است. در یک بررسی دیگر روی بذره‌های انگور پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع با غلظت‌های بسیار کم (۲ میلی‌گرم بر لیتر) پروسیانیدین‌های بذر انگور، مهار شدند. ویژگی‌های پاداکسندگی بذر انگور برای درمان پانکراتیت، سرطان، رگ‌های واریسی، اختلال بیش‌فعالی، آلزایمر، آرتروز، یبوست و غیره مؤثر است. همچنین ترکیب‌های پاداکسندگی بذر انگور به پیشگیری یا تخفیف نشانه‌های بیماری دیابت، نارسایی‌های بینایی و یا جلوگیری از تصلب شراین پایین آوردن فشارخون و بهبود سطح کلسترول خون کمک می‌کند (Bouhamidi et al., 1998). در نتایج بررسی دیگری تأیید شده که عصاره پروسیانیدینی انگور (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) اثر حفاظتی در مقابل رادیکال‌های آزاد ایجاد کرده که از ویتامین C و E بهتر عمل کرده است (Baghchi et al., 2000).

"شاهانی" و پوست رقم "فخری" در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار و در مرحله رسیدگی (در همه قسمت‌های هر دو رقم) در غلظت ۱ میلی‌مولار باعث افزایش هر چه بیشتر فعالیت پاداکسندگی شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد، ارتباط مستقیمی بین میزان کاروتنوئیدها و فعالیت پاداکسندگی وجود داشت. به طور مثال در پوست میوه رقم‌ها در مرحله غورگی که میزان کاروتنوئیدها بالا بود و تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک نیز افزایش یافته بود، فعالیت پاداکسندگی این قسمت بیشتر بود. در این پژوهش (شکل ۱، قسمت B) رقم "شاهانی" (به ویژه در مرحله رسیدگی) با رنگ حبه سیاه فعالیت پاداکسندگی بیشتری نسبت به رقم "فخری" داشت که تیمار اسید سالیسیلیک، باعث افزایش میزان آن شد. نتایج (جدول ۱ و شکل ۱) همچنین نشان داد، در همه قسمت‌های هر دو رقم، به ویژه پوست میوه رقم "شاهانی" که میزان آنتوسیانین بیشتر بود و تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک نیز افزایش یافته بود، فعالیت پاداکسندگی بیشتر از دیگر قسمت‌ها بود. بنابر این نتایج تحقیقات روی انگور نشان داد، در انگور قرمز فعالیت پاداکسندگی بیشتر از رقم‌های دیگر است (Sanchez-Moreno et al., 1999) و همچنین مشاهده شد در انگور ارتباط نزدیکی بین فعالیت پاداکسندگی و محتوای آنتوسیانین کل وجود دارد (Kallithraka et al., 2005). در نتایج این پژوهش همچنین مشاهده شد، بین قسمت‌های غنی از فلاونوئید با فعالیت پاداکسندگی اندازه‌گیری شده به کمک سنجش DPPH ارتباط مستقیمی وجود داشت. به طوری که در قسمت‌هایی مانند برگ و بذر رقم‌های انگور که میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی بیشتر بود، فعالیت پاداکسندگی نیز بالاتر بود که به نظر می‌رسد اعمال تیمار اسید سالیسیک در غلظت‌های بهینه یاد شده باعث افزایش آن شد. همسان این نتایج در تحقیقی روی انگور گزارش شده فعالیت پاداکسندگی ارتباط مستقیمی با بخش غنی از فلاونوئیدها دارد (Brenna & Pagliarini, 2001 ; Arnous et al., 2001, 2002b). در واقع در این پژوهش، با توجه به رقم، قسمت مورد بررسی، غلظت اسید سالیسیلیک، میزان ترکیب‌های پاداکسندگی و فعالیت پاداکسندگی متفاوت بود. البته نوع مرحله رشدی نیز در این مقایسه عامل مهمی است که باید همواره به آن توجه



شکل ۱. تأثیر اسید سالیسیلیک در سه غلظت ۰ (شاهد)، ۰.۱ و ۱ میلی‌مولار (mM) بر فعالیت پاداکسندگی (DPPH) موجود در برگ، پوست، گوشت و بذر میوه رقم‌های "شاهانی" (RS) و "فخری" (GS) در مرحله غورگی (قسمت A) و مرحله رسیدگی (قسمت B). حرف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در $p \leq 0.05$ سطح است.

Figure 1. The effect of SA treatment in three concentrations of 0 (Control) 0.1 and 1mM on DPPH content of leaves, skin, flesh and seed of "Shahani" (RS) and "Fakhri" (GS) grapes in unripe stage (Part A) and ripe stage (Part B). Different letters indicate significant differences at the level of $p \leq 0.05$.

قسمت‌های مختلف میوه و برگ انگور تحت این تیمار می‌توان تأثیر متفاوت غلظت‌های تیمار اسید سالیسیلیک را مشاهده کرد، به بیان دیگر تیمار اسید سالیسیلیک همچنان که میزان پاداکسندگی بعضی از قسمت‌های میوه و برگ رقم‌های انگور را افزایش می‌دهد به موازات آن در برخی از قسمت‌ها موجب کاهش این ترکیب‌ها می‌شود که در تحقیقات دیگر همواره باید به این نکته توجه کرد. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد، تیمار اسید سالیسیلیک در بیشتر قسمت‌ها در هر دو مرحله غورگی و رسیدگی باعث افزایش ترکیب‌های پاداکسندگی شد، که در مرحله رسیدگی این تیمار می‌تواند کاهش میزان ترکیب‌های پاداکسندگی ناشی از روند مرحله بلوغ رقم‌های انگور را جبران کند.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از تأثیر مثبت یک تحریک‌کننده همانند اسید سالیسیلیک بر محتوای ترکیب‌های فنلی و پاداکسندگی از یک سو و اهمیت بالای انگور و بالا بودن ویژگی‌های پاداکسندگی آن از سوی دیگر می‌تواند ما را به استفاده هرچه بیشتر میوه انگور در رژیم غذایی تشویق کند. پاداکسندگی با ویژگی‌هایی که دارند از بسیاری از بیماری‌های خطرناک و شایع امروزی (از جمله سرطان) پیشگیری می‌کنند. مقایسه دو مرحله رشدی رقم‌های انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک در این پژوهش، این امکان را فراهم کرد که مؤثرترین غلظت و مؤثرترین مرحله تأثیر این تیمار برای افزایش ترکیب‌های پاداکسندگی به دست آید. همچنین با اندازه‌گیری ترکیب‌های پاداکسندگی

REFERENCES

1. Agarwal, C., Sharma, Y. & Agarwal, R. (2000). Anticarcinogenic effect of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in human prostate carcinoma DU145 cells: modulation of mitogenic signaling and cell-cycle regulators and induction of G1 arrest and apoptosis. *Molecular Carcinogenesis*, 28(3), 129-38.
2. Akoh, E., Sellappan, C. C. & Krewer, S. G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5497-4503.
3. Arnous, A., Makris, D. P. & Kefalas, P. (2001). Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (12), 5736-5742.
4. Asghari, M. & Aghdam, M. S. (2010). Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 502-509.
5. Bagchi, D. (2000). Resveratrol and human health. Keats publishing Lincolnwood, IL, pp.48.
6. Baydar, N. G., Ozkan, G. & Sadic, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15(5), 335-339.
7. Borsanio, O., Valpuesta, V. & Botella, M. A. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiol*, 126, 1024-1030.
8. Bouhamidi, R., Prevost, V. & Nouvelot, A. (1998). High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. *Life Sciences*, 321, 31-38.
9. Brenna, O. V. & Pagliarini, E. (2001). Multivariate analysis of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4841-4844.
10. Caillet, S., Salmieri, S. & 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. & 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. & 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. Ghasemzadeh, A., Jaafar Hawa, Z. E. & 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.
14. Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A. & Scaccini, C. (1998). Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 361-367.
15. Gimenez, M. J., Valverde, J. M., Valero, D., Guillen, F., Martinez-Romero, D., Serrano, M. & Castillo, S. (2014). Quality and antioxidant properties on sweet cherries as affected by preharvest salicylic and acetylsalicylic acids treatments. *Food Chemistry*, 160, 226-232.
16. Hendrich, S., Wang, G. J. & Lin, H. K. (1999). Isoflavone metabolism and bioavailability. In: A. M. Papas (Ed), *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. (pp. 211-30.) Boca Raton.
17. Hernandez-Jimenez, A., Gomez-Plaza, E., Martinez-Cutillas, A. & Kennedy, J. A. (2009). Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10798-10803.
18. Jordao, A., Ricardo-da-Silva, J. & Laurenço, O. (2001). Evolution of proanthocyanidins in bunch stems during berry development. *Vitis*, 40 (1), 17-22.
19. Kallithrakaa, S., Mohdalya, A. A., Makris, D. P. & Kefalasb, P. (2005). Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 375-386.
20. Kennedy, J., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E. & Jones, G. (2001). Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5348-5355.
21. Kennedy, J., Matthews, M. & Waterhouse, A. (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Journal Phytochemistry*, 55, 77-85.
22. Leifert, W. R. & Abeywardena, M. Y. (2008). Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition Research*, 28(11), 729-37.
23. Lichtenthaler, H. & Wellburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction*, 603, 591-593.
24. Lo Scalzo, R., Iannocari, T. & 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. *Journal of Food Science*, 19, 329-341.

25. Lopez-Miranda, S., Hernandez-Sanchez, P., Serrano-Martinez, A., Hellin, P. E. & Nunez-Delicado, J. F. (2011). Effect of ripening on protein content and enzymatic activity of Crimson Seedless table grape. *Food Chemistry*, 15, 481-486.
26. Luo, Z., Wu, X., Xie, Y. & Chen, C. (2012). Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid treatment. *Food Chemistry*, 131(3), 456-461.
27. Mihai, R. A. & Brezeanu, A. (2011). *Enhancement of anthocyanin biosynthesis in a longterm Vitis vinifera L. callus culture in response to some biotic and abiotic elicitors*. (Annual Report 2011). Current Opinion in Biotechnology. 136.
28. Mitic, M. N., Obradovic, M. V., Grahovac, Z. B. & Pavlovic, A. N. (2010). Antioxidant capacities and phenolic levels of different varieties of Serbian white wines. *Journal Molecules*, 15, 2016-2027.
29. Nogues, S. & Baker, N. (2000). Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany*, 348(51), 1309-1317.
30. Obinata, N., Yamakawa, T., Takamiya, M., Tanaka, N., Ishimaru, K. & Kodama, T. (2003). Effect of salicylic acid on the production of procyanidin and anthocyanin in cultured grape cell. *Plant Biotechnology*, 20(2), 105-111.
31. Pellegrini, N., Simonetti, P., Gardana, C., Brenna, O., Brighenti, F. & Pietta, P. (2000). Polyphenol content and total antioxidant activity of Vini novelli (Young red wines). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 732-735.
32. Pepin, M. T., Archambault, J., Chavarie, C. & Cormire, F. (1995). Growth kinetics of *Vitis vinifera* cell suspension cultures: 1. Shake flask cultures. *Biotechnology Bioengineering*, 47, 131-138.
33. Peterson, D. M., Emmons, C. L. & Hibbs, A. (2001). Phenolic antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *Journal of Cereal Science*, 33, 97-103.
34. Popova, L., Pancheva, T. & Uzonova, A. (1997). Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Plant Physiology*, 23, 85-93.
35. Pourmorad, F., Ebrahimzadeh, M. & Hafezi, A. S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Journal of Biosciences*, 132, 43-49.
36. Razavi, F., Hajilou, J., Dehgan, G. H., Nagshi, band Hassani, R. & Turchi, M. (2014). Enhancement of postharvest quality of peach fruit by salicylic acid treatment. *International Journal of Biosciences*, 2220-6655, 2222-5234.
37. Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. & Saxena, D. C. (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. *Biology plant*, 41(3), 387-394.
38. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & 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.
39. Saw, N. M. T., Riedel, H., Kutuk, O., Ravichandran, K. & Smetanska, I. (2010). Effect of elicitors and precursors on the synthesis of anthocyanin in grape *Vitis vinifera* Cell Culture. *Journal Energy Research*, 1(2), 189-192.
40. Stojicevic Sasa, S., Stanisavljevic Ivana, T., Velickovic Dragan, T. B., Veljkovic Vlada, B. & Lazic Miodrag, L. (2008). Poređenje antioksidativnog i antimikrobnog dejstva ekstrakata *Sempervivum marmoreum* L. dobijenih razlicitim ekstrakcionim tehnikama. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73, 597-607.
41. Valero, D., Diaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillen, F., Martinez-Romero, D. & Serrano, M. (2011). Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5483-5489.
42. Vatanparast, G., Mirdehghan, S. H., Karimi, H. R. & Vazifeshenas, M. H. (2012). Foliar application of salicylic acid, methyl jasmonate and potassium sulfate on photosynthetic characteristics and fruit quality of pomegranate. *Iran Agricultural Research*, 31, 23-43.
43. Wang, S. Y. & 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.
44. Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J. & Li, H. B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 622-646.
45. Yousefpour Dokhanieh, A., Soleimani Aghdam, M., Rezapour Fard, J. & Hassanpour, H. (2013). Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. *Scientia Horticulturae*, 154, 31-36.
46. Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H. & Nury, F. S. (1990). Production wine pastrana-bonilla. *Van Nostrand and Reinhold*. New York, NY. pp. 475.