Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

تغییرات میزان رسوراترول در برگ و میوه و اثر احتمالی متیل جازمونات بر آن در دو رقم انگور (*Vitis vinifera* L.) ایرانی

عقیل محمودی‌پور[۱*]، محمود اثنی عشری[۱]، امید کرمی[۲] و مهدی حصاری[۳]

(تاریخ دریافت: ۸۶/۳/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۷)

چکیده

رسوراترول (۵،۳،۴'- تری هیدروکسی استیلبن) یک ترکیب پلی‌فنولیکی ارزشمند است که از سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی در انسان جلوگیری می‌کند. این ماده از برگ و میوه دو رقم انگور ایرانی (رجبی سفید شیراز و کشمشی قرمز) با پیرایش یک شیوه عمومی استخراج و با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مورد ارزیابی کمّی قرار گرفت. مقدار رسوراترول موجود در میوه و برگ رقم رجبی سفید شیراز بیش از رقم کشمشی قرمز و میزان این ماده در میوه‌های هر دو رقم بیش از برگ‌های آنها بود. میزان تجمع رسوراترول در هر دو رقم در ابتدای رشد و نمو میوه (۴ هفته پس از مرحله تمام گل) بیشتر از مراحل بعد (۸ هفته پس از مرحله تمام گل و رسیدن کامل میوه) اندازه‌گیری شد به طوری که مقدار تجمع آن از ابتدای رشد و نمو میوه تا مرحله رسیدن کامل سیر نزولی داشت و در موقع رسیدن کامل میوه به کمترین میزان خود رسید. میوه‌ها و برگ‌های دو رقم مورد آزمایش تحت تأثیر متیل جازمونات (با غلظت ۱ میلی مولار) قرار گرفت و میزان رسوراترول آنها پس از تیمار اندازه‌گیری شد و این میزان به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. میوه‌های هر دو رقم تحت تأثیر تیمارهای مذکور در مرحله ۴ هفته پس از تمام گل واکنش بهتری نشان داده و رسوراترول بیشتری انباشته کردند، ولی میزان تجمع این ماده در مراحل بعدی (۸ هفته پس از مرحله تمام گل و رسیدن کامل میوه) سیر نزولی داشت، به‌طوری‌که اثر تیمارهای یاد شده روی تولید رسوراترول در میوه‌های کاملاً رسیده به حداقل خود رسید.

واژه‌های کلیدی: انگور، رسوراترول، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، متیل جازمونات

مقدمه

رسوراترول (Resveratrol) یک ترکیب پلی‌فنولیکی با وزن مولکولی کم است که به گروهی از فیتوالکسین‌ها (Phytoalexins) به‌نام استیلبن‌ها (Stilbenes) تعلق دارد (۱۹). استیلبن‌ها نقش مهمی در سیستم دفاعی گیاهان در مقابله با عوامل بیماری‌زا و به‌ویژه قارچ‌ها بازی می‌کنند (۵، ۱۲و ۱۶). این ترکیبات هم‌چنین در شرایط آزمایشگاهی(*In vitro*) از رشد قارچ‌ها جلوگیری می‌کنند (۱، ۱۳، ۱۴ و ۲۰).

از مهم‌ترین استیلبن‌ها می‌توان به رسوراترول و پیسید (Picied) اشاره نمود که هر دو از لحاظ ساختار شیمیایی جزء ترکیبات پلی‌فنولیکی (Polyphenolic compounds) بوده و به صورت ایزومرهای سیس و ترانس (Cis and trans isomers)

۱. به ترتیب کارشناس ارشد و استادیار باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. مربی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

۳. مربی خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: aghil_mahmoodi@yahoo.com

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

وجود دارند. ایزومر ترانس رسوراترول در گیاهان تولیدکننده استیلبن‌ها غالب بوده و فرم سیس کمتر دیده می‌شود. پیسید نیز ایزومر گلوکوزیدی (متصل به قند) رسوراترول محسوب می‌شود که در برخی از گیاهان تولیدکننده استیلبن‌ها از جمله انگور در مقادیر نسبتاً بالایی تجمع می‌یابد (۱۸).

به طور کلی این فیتوالکسین در گیاهان خانواده ویتاسه (Vitaceae)، پیناسه (Pinaceae) و آراشاسه (Arachaceae) تحت تأثیر تنش‌های بیولوژیک و غیر بیولوژیک تولید می‌شود. در بین گیاهان خانواده‌های مذکور، انگور و بادام زمینی (*Arachis hypogaea*) مهم‌ترین تولید کننده رسوراترول بوده و انگور و فرآورده‌های آن اصلی‌ترین منبع این ماده در رژیم غذایی انسان می‌باشند (۱۵، ۱۷، ۱۸، ۲۰ و ۲۶). رسوراترول یک ترکیب آنتی‌اکسیدان است که بیشتر در انگورهای قرمز تجمع می‌یابد (۱۶) و می‌تواند 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 می‌دهد (۹ و ۱۰).

این ماده به طور طبیعی در مقادیر اندک در اندام‌های مختلف درخت مو مانند ساقه ، برگ و میوه ساخته می‌شود اما در پاسخ گیاه به تنش‌های بیولوژیک و غیر بیولوژیک میزان آن افزایش فراوان می‌یابد (۱۱ و ۱۶).

در انگورهای اروپایی(*Vitis vinifera*) بخش اعظم رسوراترول موجود در گیاه در قسمت پوست میوه (حبه‌ها) انباشته شده و بخش بسیار اندکی از آن در گوشت میوه و دانه‌ها تجمع می‌یابد در حالی که در انگورهای آمریکایی (Moscadineae) علاوه بر پوست حبه، دانه‌ها نیز مقادیر متنابهی از رسوراترول را در خود انباشته می‌کنند (۶).

واتر هوس و لامولاراونتوس در سال ۱۹۹۴ گزارش نمودند که رسوراترول و پیسید (فرم اتصال به قند آن) در پوست حبه انگورهای اروپایی وجود دارند (۲۸). هم‌چنین سولیس و همکاران در سال ۱۹۹۵ مقادیر رسوراترول ترانس را در آب میوه ۱۰ رقم انگور مورد ارزیابی کمی قرار دادند (۲۵).

جازمونیک اسید (Jasmonic acid) و متیل استر آن (جازمونات) هورمون‌های طبیعی گیاهی هستند که در تنظیم رشد و نمو گیاهان و کنترل آن نقش بسیار مهمی دارند. این ترکیبات در فرایندهایی مانند پیری و در برخی گیاهان که دارای پیچک هستند در پیچاندن آن و مهم‌تر از همه در واکنش‌های دفاعی گیاهان دخالت دارند (۳ ، ۸ و ۲۷).

لارونده و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که محلول‌پاشی متیل جازمونات روی حبه‌ها و برگ‌های انگور رقم کبنه ساوینون (Cabernet sauvingon) سبب افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند ترانس رسوراترول و پیسید در آنها می‌گردد. اثر متیل جازمونات در افزایش تولید دو متابولیت مذکور روی حبه‌هایی که ۱۵ روز پس از مرحله آغاز رسیدگی (Veraison) تیمار شده بودند، بیشتر از حبه‌هایی بود که ۳۰ روز پس از ورایزون محلول‌پاشی گردیده بودند. این وضعیت نشان می‌دهد که توانایی متیل جازمونات در تحریک تجمع استیلبن‌های ترانس رسوراترول و پیسید در حبه‌های کاملاً رسیده کاهش می‌یابد. آنها هم‌چنین دریافتند که برگ‌های انگور در هر مرحله از رشد و نمو در برابر تیمار فوق واکنش نشان داده و تولید استیلبن‌های مذکور در آنها تحریک می‌گردد. این محققین بیان کردند که توانایی سنتز استیلبن‌ها، از جمله رسوراترول و پیسید در واکنش به تنش‌های بیولوژیک مانند متیل جازمونات افزایش می‌یابد و پیش تیمار این ماده می‌تواند به‌عنوان یک محرک سنتز استیلبن‌ها عمل کند. هم‌چنین مقدار بسیار اندک متیل جازمونات موجود در اتمسفر می‌تواند میزان انباشته شدن استیلبن‌های رسوراترول وپیسید در حبه‌ها و برگ‌های انگور را تحریک نماید (۲۱).

اثنی عشری و همکاران در سال ۲۰۰۶ در بررسی‌های خود میزان رسوراترول را در ۱۴۷ رقم انگور ایرانی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) مورد اندازه‌گیری قرار دادند و اعلام کردند با این‌که مقدار رسوراترول در ارقام قرمز و سیاه به طور نسبی بیشتر است ولی برخی از ارقام زرد نیز حاوی مقادیر بالایی از رسوراترول هستند (۷).

این تحقیق با هدف بررسی میزان رسوراترول در مراحل مختلف توسعه میوه به‌علاوه برگ‌های بالغ دو رقم انگور که

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

قبلاً به‌عنوان ارقام شاخص در این خصوص گزارش شده بودند، طراحی و در مرحله دوم تأثیر محرک متیل جازمونات بر تولید رسوراترول مورد بررسی قرار گرفت. لذا ضمن استخراج رسوراترول از میوه (در سه مرحله مختلف رشد و نمو) و برگ (در مرحله بالغ) دو رقم انگور ایرانی و اندازه‌گیری کمی آن بوسیله دستگاه کروماتوگراف مایع با عملکرد بالا، میزان ماده مذکور در میوه (در سه مرحله مختلف رشد و نمو) و برگ (در مرحله بالغ) تحت تأثیر محرک متیل جازمونات نیز اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه گردیدند.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی و استخراج رسوراترول

برگ‌ها و حبه‌های دو رقم از ارقام شاخص انگور ایرانی (رجبی سفید شیراز و کشمشی قرمز) که جزو ارقام تولید کننده رسوراترول گزارش شده‌اند (۷) از مرکز تحقیقات باغبانی دانشکده کشاورزی کرج تهیه گردید.

مقدار ۲۳ میکرولیتر از ماده متیل جازمونات (محصول شرکت Aldrich و دارای خلوص ۹۵ درصد) با استفاده از نمونه‌گیر، جدا و داخل ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص ریخته شد تا میزان غلظت این ماده به ۱ میلی مولار برسد.

میوه‌ها (در مراحل مختلف ۴ و ۸ هفته پس از مرحله تمام گل و میوه کاملاً رسیده) و هم‌چنین برگ‌های بالغ ارقام مربوطه از بوته‌های مادری جدا و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند سپس در آزمایشگاه و در درجه حرارت حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد محلول یک میلی مولار متیل جازمونات روی میوه‌ها و برگ‌ها طوری‌که تمام سطوح آنها خیس شود، پاشیده شد. ۲۴ ساعت بعد از تیمار حدود ده گرم از حبه‌ها و برگ‌های تیمار شده به همراه نمونه‌های شاهد (تیمار شده فقط با متانول) و شاهد کاملاً بدون تیمار هر یک به تنهایی توزین و در داخل هاون کاملاً خرد گردید. استخراج و ارزیابی کمی رسوراترول موجود در کلیه نمونه‌ها طبق روش‌هایی که شرح داده شده صورت گرفت (۲ و ۲۵).

برای استخراج رسوراترول از نمونه‌های تهیه شده، تلفیقی از روش‌های سولیس و همکاران (۲۵) و باوارسکو و همکاران (۲) به‌کار گرفته شد با کمی تغییرات (Modification) که نهایتاً به‌شرح ذیل بود:

میزان ۱۰ گرم از حبه‌ها و برگ‌های هر یک از ارقام انگور جداگانه توزین شد و هر یک به تنهایی در داخل هاون کاملاً خرد گردید به‌طوری که از پوست، گوشت و دانه میوه و هم‌چنین برگ‌ها عصاره غلیظی به‌دست آمد. عصاره مذکور در داخل یک ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتر با ۶۰ میلی‌لیتر متانول خالص مخلوط و بمدت ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. محلول حاصل به مدت ۲ دقیقه با چرخشی معادل ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ 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 مجدداً در هاون خرد گردید و پس از مخلوط نمودن با ۶۰ میلی‌لیتر متانول خالص بمدت ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی به‌هم زده شد و بمدت ۲ دقیقه با همان چرخش سانتریفوژ گردید. عمل فوق عیناً برای بار سوم نیز انجام شد به‌طوری‌که از هر ده گرم حبه انگور و هم‌چنین برگ‌های آن سه بار با روش مشابه عصاره گیری به‌عمل آمد تا با اطمینان بیشتری رسوراترول موجود در حبه‌ها و برگ‌های مورد آزمایش از آنها خارج و در حلال حل شود. عصاره نهایی در داخل بالون با متانول خالص به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس در داخل یخچال (۴- درجه سانتی‌گراد) نگه‌داری گردید تا از آن برای اندازه‌گیری‌های کمّی استفاده شود.

لازم به توضیح است که به لحاظ حساس بودن رسوراترول به نور و جهت جلوگیری از تجزیه آن، کلیه عملیات عصاره گیری از میوه‌ها و برگ‌های مورد آزمایش در محیط بسیار کم نور صورت گرفت.

ارزیابی کمّی رسوراترول

جهت ارزیابی کمی نمونه‌ها ابتدا محلول استاندارد (با غلظت ۱ میلی‌مولار) از رسوراترول جامد (محصول شرکت Sigma

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

آمریکا) تهیه و ارزیابی به‌شرح زیر صورت گرفت:

برای حذف ناخالصی ابتدا هر یک از عصاره‌های نمونه‌های موجود را از فیلتر سرسرنگی با قطر ۰/۴۵ میکرومتر گذرانده و در ویال با حجم تقریبی ۲ میلی لیتر ریخته شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از هر یک از نمونه‌ها توسط نمونه‌گیر خودکار (Auto sampler) به دستگاه کروماتوگراف مایع با عملکرد بالا محصول شرکت جی بی سی (GBC) استرالیا با مشخصات زیر تزریق گردید.

HPLC GBC Scientific Equipment
Degasser: LC 1460
HPLC Pump: LC 1150
Auto Sampler: LC 1650
UV Detector: 1205K
Software: Winchrom V1.32
Column Type: 250×4.6mm Exsil ODS 5µm
Column Gard: ODS C18
Sample volume: 20 µL
Pump Program:
0-5 min. 5% acetic acid, 15% methanol, 80% water, flow rate 0.4 mL/min
5-30 min. 5% acetic acid, 20% methanol, 75% water, flow rate 0.5 mL/min
30-45 min. 5% acetic acid, 45% methanol, 50% water, flow rate 0.5 mL/min
45-55min . Condition returning to initial condition (5% acetic acid, 15% methanol, 80% water, flow rate 0.4 mL/min) for column treatment to next injection
Maximum wavelength for detection: 306 nm

با مشاهده پیک‌های مربوط به نمونه‌های ارقام رجبی سفید شیراز و کشمشی قرمز و با توجه به زمان بازداری (Retention time) ۳۷ دقیقه‌ای که از روش لوپز و همکاران (۲۲) پیروی می‌کرد، مقادیر سطح زیر پیک کروماتوگرام مربوط به رسوراترول مشخص گردیدند.

جهت تعیین پیک مربوط به هر نمونه در کروماتوگرام حاصل، ۰/۵ میلی لیتر از آن را به ۰/۵ میلی لیتر از محلول استاندارد تهیه شده به غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر افزوده و به دستگاه مجدداً تزریق شد. به منظور تعیین مقدار رسوراترول در نمونه، سطح زیر پیک در کروماتوگرام را یک بار در نمونه تنها و بار دیگر در حضور استاندارد توسط نرم افزار دستگاه استخراج و سپس محاسبات لازم جهت تعیین مقدار خالص سطح زیر پیک انجام گرفت و نهایتاً میزان رسوراترول موجود در نمونه‌ها تعیین گردید. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی (با سه تکرار) و نرم افزار سس(SAS) و مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح ۵ درصد) صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر رقم و اندام روی تولید رسوراترول

جدول ۱ مقایسه دو رقم انگور ایرانی (رجبی سفید شیراز و کشمشی قرمز) از نظر میزان تولید رسوراترول در میوه و برگ را نشان می‌دهد. چنانکه مشاهده می‌شود رقم انگور روی تولید رسوراترول مؤثر بوده و از این نظر بین دو رقم اختلاف معنی‌داری وجود دارد به طوری که رقم رجبی سفید شیراز نسبت به کشمشی قرمز توانایی تولید رسوراترول بیشتری در میوه‌ها و برگ‌های خود دارد. بیشترین میزان تولید رسوراترول از میوه رقم رجبی سفید شیراز به‌دست آمده در حالیکه کمترین آن مربوط به برگ رقم کشمشی قرمز بود. جیندیت و همکاران (۱۵) ، اوکودا و یوکوتسوکا (۲۳) و رومرو- پرز و همکاران (۲۴) در بررسی‌های خود نشان دادند که رقم انگور در تولید رسوراترول در شرایط مختلف مؤثر است.

نتایج حاصل از این تحقیق هم‌چنین نشان داد (جدول۲) که اندام‌های مختلف انگور توانایی متفاوتی از لحاظ تولید رسوراترول از خود نشان می‌دهند و میوه بیش از برگ رسوراترول تولید کرد.

این نتیجه با تحقیقات اکتور و همکاران (۶) و جیندت و همکاران (۱۵) که گزارش کردند میزان تولید رسوراترول در اندام‌های مختلف گیاه انگور با یکدیگر متفاوت است، مطابقت دارد.

بنابراین می‌توان گفت تفاوت‌های مشاهده شده دو رقم مورد آزمایش از نظر میزان تولید رسوراترول، ممکن است ناشی از فعالیت بیشتر ژن استیلبن سنتاز (*Stilbene synthase*) در برگ‌ها و میوه‌های رقم رجبی سفید شیراز باشد. اگر چه در گزارش‌های متعدد آمده است که انگورهای قرمز و سیاه که در آنها مقدار زیادی آنتوسیانین تجمع می‌یابد، رسوراترول بیشتری نیز ذخیره

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

جدول۱. اثر رقم انگور روی میزان تولید رسوراترول (میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) از اندام‌های میوه و برگ

رقم	میوه کاملاً رسیده	برگ
رجبی سفید شیراز	۳/۳۵ [a]	۱/۳۵ [a]
کشمشی قرمز	۱/۶۲ [b]	۰/۸۵ [b]

*: حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی‌دار نبودن اختلاف‌هاست (P<۰/۰۵).

جدول۲. اثر اندام روی میزان تولید رسوراترول (میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) در دو رقم انگور*

اندام	رجبی سفید شیراز	کشمشی قرمز
میوه کاملا" رسیده	۳/۳۵ [a]	۱/۶۲ [a]
برگ	۱/۳۵ [b]	۰/۸۵ [b]

*: حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی‌دار نبودن اختلاف‌هاست (P<۰/۰۵).

می‌کنند (۱۶ و ۲۲) اما نتایج این پژوهش عکس گزارش‌های مذکور را نشان داد. بنظر می‌رسد علاوه بر رنگ میوه عوامل متعدد دیگری وجود دارند که در تولید این ماده در میوه و انگور و دیگر اندام‌های آن دخالت می‌کنند و این موضوع نیاز به مطالعات بیشتر و عمیق‌تری دارد.

اثر دوره رشد و نمو میوه انگور روی تولید رسوراترول

جدول ۳ اثر دوره رشد و نمو میوه دو رقم انگور در مراحل مختلف را روی تولید رسوراترول نشان می‌دهد. نتایج حاصل بیانگر آن است که میوه‌های هر دو رقم در مرحله ۴ هفته پس از تمام گل دارای بیشترین میزان رسوراترول بوده و این مقادیر در مراحل بعدی یعنی ۸ هفته پس از مرحله تمام گل و رسیدن کامل میوه به‌تدریج کاهش می‌یابد.

جیندیت و همکاران (۱۴) نیز نشان دادند که میوه‌های انگور در مراحل مختلف رشد و نمو مقادیر متفاوتی از رسوراترول در خود انباشته می‌کنند و این مقادیر در مراحل اولیه رشد و نمو بیش از مرحله رسیدگی کامل است و این نتایج با گزارش‌های آنان مطابقت دارد. یکی از دلایل عمده کاهش تدریجی رسوراترول از مرحله اولیه رشد و نمو تا مرحله رسیدن کامل میوه، ممکن است مربوط به رقابت مسیرهای متابولیکی تولید رسوراترول و تشکیل آنتوسیانین‌ها (در انگورهای رنگی) 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.

اثر متیل جازمونات روی تولید رسوراترول توسط میوه در مراحل مختلف رشد

جدول ۴ اثر متیل جازمونات روی تولید رسوراترول در مراحل مختلف رشد و نمو میوه دو رقم مورد آزمایش را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود این ماده سبب افزایش رسوراترول در میوه‌ها می‌گردد اما این افزایش در همه مراحل رشد و نمو میوه یکسان نبوده و در مراحل اولیه آن نقش بیشتری دارد به طوری که هر دو رقم در مرحله ۴ هفته پس از تمام گل بالاترین و میوه رسیده (شاهد بدون تیمار) کمترین میزان رسوراترول را تولید کردند. نکته قابل توجه این است که یک روند کاهشی عمومی در میزان رسوراترول طی رسیدن میوه‌ها، چه در نمونه‌های تیمار شده و چه در نمونه‌های شاهد وجود دارد اما در رقم کشمشی قرمز نمونه تیمار شده ۸ هفته پس از تمام گل، میزان رسوراترول کمتری نسبت به نمونه شاهد ۴ هفته پس از تمام گل تولید نموده است. احتمال می‌رود در این نمونه خاص فاکتور زمان که تأثیرگذار بر روند کاهشی میزان رسوراترول است

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

جدول۳. اثر دوره رشد و نمو میوه روی میزان تولید رسوراترول (میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) در دو رقم انگور ایرانی*

رقم	دوره رشد ونمو میوه		
	۴ هفته پس از تمام گل	۸ هفته پس از تمام گل	میوه رسیده
رجبی سفید شیراز	۴/۰۸ a	۳/۷۸ b	۳/۳۵ c
کشمشی قرمز	۲/۷۰ a	۲/۲۱ b	۱/۶۲ c

*: حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی‌دار نبودن اختلاف‌هاست (P<۰/۰۵).

جدول۴. اثر متیل جازمونات روی میزان تولید رسوراترول (میلی گرم درکیلوگرم وزن تر) در مراحل مختلف رسیدگی میوه دو رقم انگور*

نمونه	رجبی سفید شیراز	کشمشی قرمز
۴ هفته پس از تمام گل (شاهد بدون تیمار)	۴/۰۸ b	۲/۷۰ b
۴ هفته پس از تمام گل (شاهد فقط با متانول)	۴/۱ b	۲/۷۵ b
۸ هفته پس از تمام گل (شاهد بدون تیمار)	۳/۷۸ C	۲/۲۱ d
۸ هفته پس از تمام گل (شاهد فقط با متانول)	۳/۷۰ c	۲/۲۶ d
میوه رسیده (شاهد بدون تیمار)	۳/۳۵ d	۱/۶۲ f
میوه رسیده (شاهد فقط با متانول)	۳/۳۰ d	۱/۶۵ f
تیمار شده ۴ هفته پس از تمام گل	۵/۴۷ a	۳/۹ a
تیمار شده ۸ هفته پس از تمام گل	۴/۰۷ b	۲/۴۴ c
میوه رسیده تیمار شده	۳/۳۷ d	۱/۸۴ e

*: حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی‌دار نبودن اختلاف‌هاست (P<۰/۰۵).

بیش از اثر تحریک کنندگی متیل جازمونات مؤثر واقع گردیده است.

اثر متیل جازمونات روی تولید رسوراترول توسط برگ

داده‌های حاصل از جدول ۵ نشان می‌دهند که پاشیدن متیل جازمونات بر روی برگ‌های دو رقم انگور ایرانی (رجبی سفید شیراز و کشمشی قرمز) موجب افزایش سنتز رسوراترول در آنها می‌گردد. چنانکه مشاهده می‌شود بین رسوراترول تولید شده در برگ‌های شاهد (بدون تیمار و فقط با متانول) و تیمار شده هر کدام از ارقام اختلاف معنی‌داری وجود دارد و این نشان دهنده تحریک تولید رسوراترول در برگ‌های انگور توسط متیل جازمونات است.

لارونده و همکاران (۲۱) با بررسی‌های خود نتیجه گرفتند که محلول‌پاشی متیل جازمونات بر روی میوه‌ها و برگ‌های انگور سبب افزایش تجمع استیلبن‌ها از جمله رسوراترول می‌گردد. آنان نشان دادند که واکنش میوه‌ها در اوایل رشد و نمو به متیل جازمونات بیش از مرحله رسیدگی کامل است در حالی که برگ‌های انگور بدون توجه به مراحل رشد و نموی در برابر این ماده واکنش نشان داده و تجمع استیلبن‌ها به‌ویژه رسوراترول را افزایش می‌دهد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج فوق هم‌آهنگ است.

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

جدول۵. اثر متیل جازمونات روی میزان تولید رسوراترول (میلی گرم درکیلوگرم وزن تر) برگ دو رقم انگور*

نمونه	رجبی سفید شیراز	کشمشی قرمز
برگ (شاهد بدون تیمار)	۱/۳۵ b	۰/۸۵ b
برگ (شاهد فقط با متانول)	۱/۴۲ b	۱ b
برگ تیمار شده	۲/۲۶ a	۱/۸۳ a

*: حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی‌دار نبودن اختلاف‌هاست (P<۰/۰۵).

جدول۶. مقایسه اثر متیل جازمونات روی میزان تولید رسوراترول (میلی گرم درکیلوگرم وزن تر) توسط میوه (در مراحل مختلف رشد و نمو) و برگ دو رقم انگور*

نمونه	رجبی سفید شیراز	کشمشی قرمز
میوه		
۴ هفته پس از تمام گل (شاهد بدون تیمار)	۴/۰۸ b	۲/۷۰ b
۴ هفته پس از تمام گل (شاهد فقط با متانول)	۴/۱ b	۲/۷۵ b
۸ هفته پس از تمام گل (شاهد بدون تیمار)	۳/۷۸ c	۲/۲۱ d
۸ هفته پس از تمام گل (شاهد فقط با متانول)	۳/۷۸ c	۲/۲۶ d
رسیده (شاهد بدون تیمار)	۳/۳۵ d	۱/۶۲ f
رسیده بدون تیمار (شاهد فقط با متانول)	۳/۳۶ d	۱/۶۵ f
تیمار شده ۴ هفته پس از تمام گل	۵/۴۷ a	۳/۹ a
تیمار شده ۸ هفته پس از تمام گل	۴/۰۷ b	۲/۴۴ c
رسیده تیمار شده	۳/۳۷ d	۱/۸۴ e
برگ		
شاهد (بدون تیمار)	۱/۳۵ e	۰/۸۵ g
شاهد (فقط با متانول)	۱/۴۲ e	۱ g
تیمار شده	۲/۲۶ d	۱/۸۳ e

*: حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی‌دار نبودن اختلاف‌هاست (P<۰/۰۵).

مقایسه اثر متیل جازمونات روی تولید رسوراترول توسط میوه (در مراحل مختلف رشد و نمو) و برگ

داده‌های جدول ۶ نشان می‌دهند که تیمار متیل جازمونات روی میوه هر دو رقم سبب افزایش تجمع معنی‌دار رسوراترول نسبت به برگ می‌گردد و در این وضعیت بهترین واکنش متعلق به میوه هر دو رقم در مرحله ۴ هفته پس از مرحله تمام گل است.

با توجه به اطلاعات موجود درخصوص ژن استیلبن سینتاز چنین به‌نظر می‌رسد که نه تنها فعالیت ژن مذکور و تولید رسوراترول در مراحل اولیه رشد و نمو میوه بیش از مراحل بعدی رشد آن و برگ است، بلکه تیمار متیل جازمونات ضمن

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022

تشدید فعالیت ژن مذکور و تولید رسوراترول بالاتر در همه نمونه‌ها بیشترین اثر را روی میوه هر دو رقم در مرحله ۴ هفته پس از تمام‌گل داشته است. البته این موضوع نیاز به آزمایش‌ها دقیق‌تر در سطح مولکولی دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به آزمایش‌ها این پژوهش، رقم و نوع اندام در گیاه انگور و هم‌چنین مراحل مختلف رشد و نمو میوه روی مقدار ماده رسوراترول مؤثر است. به طور کلی این میزان در انگورهای سیاه و قرمز بالاتر از ارقام زرد و سفید است، اما چنانکه در این تحقیق مشخص گردید برخی از ارقام سفید و زرد (مانند رقم رجبی سفید شیراز) نیز مقادیر متنابهی از رسوراترول را در اندام‌های خود انباشته می‌کنند. میزان تولید این ماده در میوه‌های هر دو رقم مورد آزمایش بیش از برگ‌ها و در مراحل اولیه رشد و نمو میوه‌ها بالاتر از مراحل بعدی بوده است. چنین به نظر می‌رسد که فعالیت ژن‌های مربوطه و واکنش‌های منجر به تولید رسوراترول در مراحل اولیه رشد و نمو بیش از مراحل بعدی است که جهت اثبات آن به مطالعات سلولی و مولکولی بیشتری است. یکی از محرک‌هایی که تولید رسوراترول را افزایش می‌دهد، متیل جازمونات است که با تیمار روی برگ‌ها و میوه‌ها موجب افزایش معنی‌دار میزان تولید آن شده و شدت تأثیر آن در مراحل اولیه رشد و نمو میوه (۴ هفته پس از مرحله تمام گل) بیش از مراحل بعدی بوده به‌طوری‌که تأثیر آن در مورد میوه‌های کاملاً رسیده به حداقل خود می‌رسد. بنابراین این امکان وجود دارد که محرک متیل جازمونات ضمن تشدید فعالیت ژن‌ها و واکنش‌های شرکت کننده در بیوسنتز رسوراترول، مقدار آن را در اندام‌های تیمار شده افزایش دهد. با توجه به فواید بیولوژیکی بسیار مهم رسوراترول در انسان می‌توان اظهار نظر نمود که تولید این ماده به‌صورت دارویی با آزمایش‌ها و مطالعات دقیق‌تر و بهینه‌سازی شرایط و عوامل، امکان‌پذیر خواهد بود.

منابع مورد استفاده

1. Adrian, M., P. Jeandet, J. Veneau, L. A. Weston, R. Bessis. 1997. Biological activity of resveratrol, a stilbenic compound from grapevines, against *Botrytis cinerea*, the causal agent for gray mold. J. Chem. Ecol. 23: 1689-1702.
2. Bavaresco, L., D. Petegolli, E. Cantu, M. Fregoni, G. Chiusa and M. Trevisan. 1997. Elcitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea* Vitis. Italian J. Food Sci. 36 (2): 77-83.
3. Creelman, R.A. and J.E. Mullet. 1997. Biosynthesis and action of jasmonate in plants. Plant Mol. Biol. 48:355–381
4. Dercks, W. and L. L. Creasy. 1989. The significance of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. Physiol . Mol. Plant Pathol. 34: 189–202.
5. Dixon, R.A. and M. Harrison. 1990. Activation, structure and organization of genes involved in microbial defence in plants. Adv. in Genet. 28: 165–234.
6. Ector, B., J. Magee, C. Hegwood and M. Coign. 1996. Resveratrol concentration in muscadine berries, juice, pomace, purees, seeds and wines. Am. J. Enol. Viticult. 47:57-62.
7. Esna-Ashari, M., M. Gholami, M. Zolfigol, M. Shiri, A. Mahmoodi Pour and M. Hesari. 2006. Analysis of trans-resveratrol in 147 Iranian grape cultivars by High-Performance liquid Chromatography. 27th International Horticultural Congress and Exhibition (IHC).
8. Falkenstein, E., B. Groth, A. Mithofer and E. W. Weiler. 1991. Methyl jasmonate and a-li- nolenic acid are potent inducers of tendril coiling. Plantarum 185:316 – 22.
9. Folts, J.D. 2002. Potential health benefits from flovonoids in grape products on vascular disease. Adv. Exp. Med. and Biol. 505:95-111.
10. Frankel, E. N., A. L. Waterhouse and P. L. Teissedre. 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. J. Sci. Food Agric. 43: 890-894.
11. Fritzemeier, K. and H. Kindl. 1981. Coordinate induction by UV light of stilbene synthase phenylalanine ammonialyase and cinnamate 4-hydroxylyase in leaves of Vitaceae. Plantarum 151:48-52.
12. Hain, R., B. Bieseler, H. Kindl, G. Schroder and R. Stodker. 1990. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of phytoalexin resveratrol. Plant Mol. Biol. 15: 325–335.

13. Hoos, G. and R. Blaich. 1990. Influence of resveratrol on germination of conidia and mycelial growth of *Botrytis cinerea* and *Phomopsis viticola*. J. Phytopathol. 129: 102-110.
14. Jeandet, P., R. Bessis and B. Gautheron. 1991. The production of resveratrol by grape berries in different developmental stages. Am. J. Enol. Viticult. 42:41-46.
15. Jeandet, P., R. Bessis, M. Sbaghi and P. Meunier. 1995. Production of the phytoalexin resveratrol by grapes as a response to Botrytis attack under natural conditions. J. Phytopathol. 143:135–139.
16. Jeandet, P., A.C. Douillet-Breuil, R. Bessis, S. Debord, M. Sbaghi and M. Adrian. 2002. Phytoalexins from the Vitaceae : biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity and metabolism. J. Agric. Food Chem. 50: 2731–2741.
17. Kodan, A., H. Kuroda and F. Sakai 2001. Simultaneous expression of stilbene synthase genes in Japanese red pine (*Pinus densiflora*). J. Wood Sci. 47: 58–62.
18. Krasnow, M. N and T.M. Murphy. 2004. Polyphenol glucosylating activity in cell suspensions of grape (*Vitis Vinifera*). J. Agric. Food Chem. 52: 3467-3472.
19. Langcake, P. and Pryce, R. J. 1977. The production of resveratrol and the viniferins by grapevines in response to ultraviolet fellowship irradiation Phytochemistry 16:1193-1196.
20. Langcake, P. and R.J. Pryce 1976. The Production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. Physiol. Plant Pathol. 9:77-86.
21. Larronde, F., J. P. Gaudillere, S. Krisa, A. Decendit, G. Deffieux and J. M. Merillon. 2003. Airborne methyl jasmonate induces stilbene accumulation in the leaves and berries of grapevine plants. Am. J. Enol. Viticulture, 54: 63-66.
22. Lopez, M., F. Martinez, C. Del Valle, C. Orte and M. Miro. 2001. Analysis of phenolic constituents of biological interest in red wines by high-performance liquid chromatography. J. Chromatog. A. 922: 359-363.
23. Okuda, T. and K. Yokotsuka. 1996. trans-Resveratrol concentrations in berry skins and wines from grapes grown in Japan. Am. J. Enol. Viticult. 47:93-99.
24. Romero-Perez, A., M. Ibern-Gomez. R. Lamuela-Raventos and M. Torre-Boronat. 1999. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. J. Agric. and Food Chem. 47:1533-1538.
25. Soleas, G., D. Goldberg, E. Diamandis, A. Karumanchiri, J. Yan and E. Ng. 1995. A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. Am. J. Enol. Viticult. 46:346-353.
26. Tassoni, A., S. Fornale, M. Franceschetti, F. Musiani, B. Perry and N. Bangi. 2005. Jasmonates and Na-orthovanadate promte resveratrol in *Vitis vinifera* cv. Barbera cell cultures. New Phytol. 166: 895-905.
27. Ueda, J., J. Kato, H. Yamane and N. Takahashi. 1981. Inhibitory effect of methyl jasmonate and its related compounds on kinetin-in- duced retardation of oat leaf senescence. Physiol. Planta. 52:305–9.
28. Waterhouse, A.L. and R.M. Lamuela-Raventos. 1994. The occurrence of piceid, a stilbene glucoside, in grape berries. Phytochemistry 37: 571–573.

Downloaded from jstnar.iut.ac.ir at 5:51 IRST on Monday January 17th 2022