

بررسی برخی ترکیبات شیمیایی در جوانه گل سه رقم بومی بادام (*Prunus amygdalus* L.) طی دوران رکود

سمیه ناصری، مهدیه غلامی* و بهرام بانی نسب

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۸/۲۰)

چکیده

مکانیسم‌های مقاومت در برابر دمای پایین، طی رکود پیچیده هستند. گیاهان از چندین فرآیند بیوشیمیایی برای مقابله با اثرات مستقیم و غیرمستقیم دمای پایین استفاده می‌کنند. به منظور بررسی تغییرات فصلی برخی از ترکیبات بیوشیمیایی در جوانه گل سه رقم بومی بادام (*Prunus amygdalus* L.) آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در زمان با سه تکرار در سال ۹۶-۹۷ طراحی و انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه رقم بومی بادام با زمان گلدهی متفاوت (به ترتیب 'محب'، 'مامایی' و 'ربیع') در محل آزمایش و ۵ بازه زمانی ۲۰ روزه طی دوران رکود تا پس از شکستن رکود درونی بود. نتایج نشان داد تجمع اسیدآمین پرولین طی رکود درونی و رهایی از رکود در ارقام افزایش یافت و رقم 'محب' محتوای پرولین کمتری (۱۰/۵۵ میکرومول بر گرم وزن تازه) در مقایسه با ارقام 'مامایی' و 'ربیع' داشت (به ترتیب ۱۵/۲۵ و ۱۵/۰۴ میکرومول بر گرم وزن تازه). حداکثر محتوای نشاسته در ابتدای آزمایش، قبل از تجمع سرما در ارقام مورد مطالعه مشاهده شد ('محب'، 'مامایی' و 'ربیع' به ترتیب: ۱۹/۹۹، ۱۹/۰۸ و ۲۱/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) و با پیشرفت رکود و افزایش تجمع سرما محتوای نشاسته در هر سه رقم روند کاهشی نشان داد ('محب'، 'مامایی' و 'ربیع' به ترتیب: ۱۵/۳۳، ۸/۷۳ و ۱۴/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه). میزان فنل کل و فلاونوئیدها به ترتیب با میانگین ۱۵/۲۱ و ۱/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر با نزدیک شدن به زمان رهایی از رکود افزایش یافت. همچنین در دمای پایین ارتباط واضح و مثبتی بین اسیدآمین پرولین و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی مشاهده شد و ارقام مختلف پاسخ‌های متفاوتی را طی دوران رکود نشان دادند. در نتیجه، بررسی تغییرات بیوشیمیایی طی دوران رکود در انتخاب بادام‌های مقاوم و حساس به سرمای بهاره حائز اهمیت است.

کلمات کلیدی: پرولین، سرما، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدها، فنل کل

مقدمه

درختان میوه خزان‌دار است که به آن‌ها امکان بقاء در شرایط محیطی نامناسب طی زمستان را می‌دهد (Camargo-Alvarez *et al.*, 2020). مطالعات نشان می‌دهد گرچه در دوران رکود رشد قابل مشاهده وجود ندارد اما جوانه‌ها از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی فعال هستند. تغییرات فیزیولوژیکی متعددی نظیر

رکود مکانیسمی است که بیشتر در چند ساله‌های چوبی رشد یافته در آب‌وهوای معتدله توسعه یافته است و جلوگیری از رشد در زمستان‌های با دمای پایین جلوگیری می‌کند (Campoy *et al.*, 2011). به عبارت دیگر رکود، فاز نموی از

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mah.gholami@iut.ac.ir

میانگرمه و جوانه شاخه‌های یکساله انگور 'Superior Seedless' تحت تیمارهای سرمایی کاهش یافت (Mohamed *et al.*, 2010). همچنین با شکستن رکود جوانه این رقم انگور، پرولین سریعاً افزایش یافت، که می‌تواند به دلیل فعال شدن رشد مجدد باشد (Mohamed *et al.*, 2010).

تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در کلروپلاست و میتوکندری گیاهان تحت تنش‌های سرما و یخبندان از مهم‌ترین اثرات نامطلوب آن‌ها بوده و می‌تواند اختلال در متابولیسم سلول از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، اکسید شدن پروتئین‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و در نهایت مرگ سلول‌ها را به دنبال داشته باشد (Jackson *et al.*, 2009). گیاهان نیز برای مقابله با اثرات زیان‌آور رادیکال‌های آزاد، مکانسیم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی بکار می‌گیرند (Ahmad *et al.*, 2010). آنتی‌اکسیدان‌ها بسته به شرایط محیطی غالب در چرخه سالیانه در گیاهان تغییر و به بقای آنها کمک می‌کنند. فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در رکود عمیق و پس از این مرحله افزایش می‌یابد. افزایش قابل توجهی از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ارقام زردآلو با نیاز سرمایی پایین در پایان رکود مشاهده شده است (توپچی تبریزیان و همکاران، ۱۳۹۵). فنل‌ها و فلاونوئیدها از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی هستند (Ahmad *et al.*, 2010). فنل‌ها از ترکیبات بسیار مهم گیاه هستند که به علت داشتن گروه هیدروکسیلی توانایی پاکسازی رادیکال‌های آزاد را دارند. مکانسیم عمل ترکیبات فنلی گیاه که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند شامل از بین بردن رادیکال‌های آزاد، خصوصیات کلات‌کنندگی فلز، توانایی تنظیم بیان ژن و نقش کوآنتی‌اکسیدانی است (Das and Roychoudhury, 2014, Ahmad *et al.*, 2010). سرما نیز موجب تجمع ترکیبات فنلی می‌گردد. تجمع این ترکیبات می‌تواند نقش مهمی در حفاظت جوانه در زمستان، فصل رکود و شکسته شدن رکود جوانه‌ها داشته باشند. به طوری که ارتباط بین ترکیبات فنلی گیاه در رکود جوانه و شکسته شدن رکود درختان سیب 'Astrachan' گزارش شده است (Seif El-Yazal and Rady, 2018).

سرعت تنفس، تنظیم‌کننده‌های رشد، متابولیسم کربوهیدرات، محتوای نسبی آب و دیگر ترکیبات در رهایی از رکود دخالت دارند (Mohamed *et al.*, 2012). همچنین در زمان رکود تغییراتی در سنتز پروتئین‌های تنش (مانند دهیدرین‌ها)، غشا (مانند کاهش در ناقل‌ها) و تغییر در ترکیبات فسفولیپیدها، تغییرات فراساختاری در سلول، افزایش غلظت پرولین، گاما آمینوبوتریک اسید (GABA)، سنتز پلی‌آمین‌ها و تغییراتی در غلظت کربوهیدرات صورت می‌گیرد (Vitasse *et al.*, 2014).

قندها، در فرآیندهای فتوسنتز، پیری و سازگار شدن به سرما نقش مرکزی دارند و ممکن است به طور مستقیم در رکود جوانه‌ها نقش داشته باشند (Richardson *et al.*, 2010). محققان در تحقیقات اولیه عامل اصلی رکود را قندها معرفی کردند. همچنین مقدار ناکافی آن را باعث رکود و علت پایان رکود توسط سرما را تحریک و تبدیل نشاسته به قند می‌دانستند. هیدرولیز نشاسته در بافت‌های چوبی و انتقال کربوهیدرات‌ها از پوست به جوانه‌ها، منجر به کاهش کربوهیدرات‌های پوست و چوب می‌گردد (Mohamed *et al.*, 2010). از سوی دیگر، کربوهیدرات‌های محلول در دوران رکود در جوانه‌ها به منظور جلوگیری از شکسته شدن خواب و آسیب سرمایی ناشی از نوسانات دمای زمستانه حائز اهمیت هستند (Zhao *et al.*, 2020).

اسیدآمینو پرولین به طور گسترده در گیاهان مطالعه شده و مشخص شده است که در ثبات ساختارهای سلولی نظیر غشاها و پروتئین‌ها مشارکت دارد. این ماده نقش مهمی در ایجاد تنظیم اسمزی و القای ژن‌های مرتبط با تنش دارد. همچنین تأثیر مثبت تجمع پرولین و مقاومت به تنش در گیاهان گزارش شده است (Banerjee and Roychoudhury, 2019). به طوری که تغییر در میزان پرولین و آرژنین در جوانه‌های سیب 'Anna' طی رکود و پس از آن مشاهده شده است (Seif El-Yazal *et al.*, 2014). همچنین مشخص شد که در شروع رکود میزان پرولین و آرژنین در جوانه‌های این رقم، پایین بود ولی در طول رهایی از رکود افزایش یافت (Seif El-Yazal *et al.*, 2014). در پژوهشی دیگر، نشان داده شد که میزان پرولین در بافت‌های

آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شدند. جوانه‌های بر روی ۵۰ شاخه در هر زمان نمونه‌برداری در هر رقم مخلوط و به‌عنوان یک تکرار بیولوژیکی در نظر گرفته شدند. جوانه‌های جمع‌آوری شده بلافاصله در ازت مایع تثبیت و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه و تحلیل تغییرات ترکیبات موردنظر نگهداری شدند.

اندازه‌گیری نشاسته: نیم گرم از نمونه گیاهی برای جدا کردن نشاسته در اتانول ۸۰ درصد به حالت یکنواخت در آورده شد. مخلوط زیری با اتانول ۸۰ درصد چندین مرتبه شستشو شد. باقیمانده در حمام آب گرم خشک شده، سپس ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۶/۵ میلی‌لیتر پرکلریک ۵۲ درصد به آن اضافه شد و در دمای صفر درجه سانتی‌گراد (روی یخ) عصاره‌گیری شدند. مخلوط فوق به مدت ۲۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور دقیقه سانتریفیوژ و بخش رویی نگهداری و با اسید پرکلریک عصاره‌گیری تکرار گردید. مجدداً سانتریفیوژ و بخش رویی نگهداری و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌لیتر از بخش رویی را در یک لوله ریخته و ۴ میلی‌لیتر معرف آترون به هر لوله آزمایش اضافه و در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس لوله‌های آزمایش به سرعت سرد شده و شدت رنگ در طول موج ۶۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و در نهایت از گلوکز برای تهیه محلول استاندارد (صفر تا ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) استفاده و براساس معادله استاندارد، میزان نشاسته را برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه محاسبه شد (Hedge and Hofreiter, 1962).

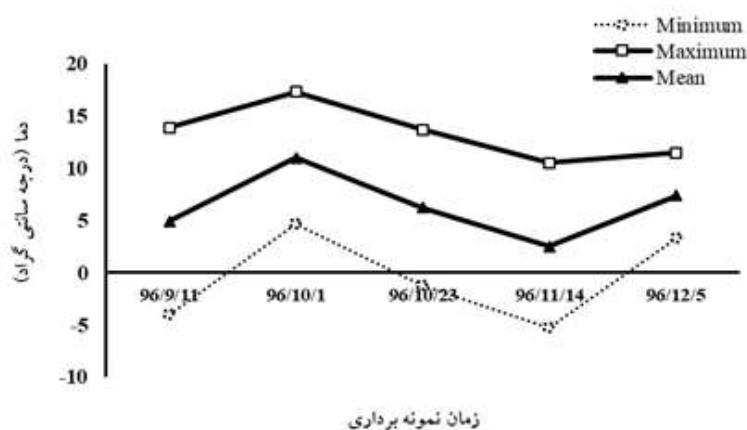
اندازه‌گیری پرولین: اندازه‌گیری غلظت پرولین مطابق با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. بدین منظور مقدار ۰/۵ گرم بافت تازه همراه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک ۳ درصد (یا اسید سولفوریک ۳ درصد) در یک هاون چینی به مدت ۳۰ دقیقه سائیده شد. محلول هم‌وزن‌شده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده با ۲ میلی‌لیتر از معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر

با توجه به اهمیت اقتصادی بادام در مناطق نیمه‌خشک، بررسی تغییرات بیوشیمیایی طی دوران رکود جوانه‌های گل در شرایط تغییرات آب‌وهوایی (به‌ویژه گرمای جهانی) مورد توجه بسیاری از پژوهشگران و به‌نژادگران است. از سوی دیگر، مطالعات زیادی از تغییرات فیزیولوژیکی در طول مدت رکود مانند میزان تنفس، متابولیسم کربوهیدرات و محتوای آب که در رهایی از رکود دخالت دارند، انجام شده است. از این‌رو توصیف‌های مختلفی برای رهایی از رکود درونی در گیاهان چوبی چندساله وجود دارد اما درک فرآیندهایی که منجر به رهایی از رکود می‌گردد محدود است و هیچ یک رضایت‌بخش نیست. بنابراین هدف پژوهش حاضر، بررسی تغییرات برخی از ترکیبات بیوشیمیایی جوانه‌ها از شروع تا پایان رکود در رقم‌های بومی بادام انتخاب شده می‌باشد. این اطلاعات برای درک بهتر روند تغییرات بیوشیمیایی طی رکود جوانه گل در چرخه زندگی گیاهان خزان‌دار از جمله بادام کمک می‌کند.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در زمان با سه تکرار در سال ۹۷-۹۶ طراحی و انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه رقم بومی بادام با زمان گلدهی متفاوت (به‌ترتیب 'محب'، 'مامایی' و 'ربیع') در محل آزمایش و ۵ بازه زمانی ۲۰ روزه طی دوران رکود تا پس از شکستن رکود درونی با جمع‌آوری شاخه‌های مورد نیاز ارقام در یک باغ تجاری واقع در استان چهارمحال بختیاری در منطقه سامان، روستای گرمدره (با مختصات جغرافیایی: ۳۲/۴۵ درجه شمالی، ۵۰/۹۱ درجه شرقی و ۱۹۶۰ متر ارتفاع از سطح دریا) بود.

برای تهیه نمونه‌های گیاهی، به‌صورت تصادفی حدود ۵۰ تا شاخه به طول ۴۰ سانتی‌متر از قسمت میانی سه درخت بالغ از هر رقم بعد از ریزش برگ‌ها (قبل از تجمع سرمایی، ۱۱ آذرماه) تا تورم جوانه هر رقم (نهایت ۵ اسفندماه) در بازه زمانی ۲۰ روزه جمع‌آوری شد. همچنین، دمای هوا (حداقل، حداکثر و میانگین دما) در تاریخ‌های نمونه‌برداری ثبت شد (شکل ۱). سپس شاخه‌های جمع‌آوری شده از هر رقم به



شکل ۱- دماهای حداقل، حداکثر و میانگین طی زمان‌های مختلف نمونه برداری در دوران رکود

میکرولیتر از عصاره تهیه شده همراه با ۲/۷ میلی لیتر محلول DPPH یک دهم میلی مولار، ترکیب و محلول به شدت تکان داده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. در نهایت جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (%I) توسط ترکیب آنتی اکسیدان عصاره‌ها به کمک فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%I = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

A controln میزان جذب شاهد و A sample جذب نمونه است.

ترکیبات فنلی: جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی در ابتدا بافت جوانه با متانول ۸۰ درصد همگن شد. سپس نمونه‌ها با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ و از محلول رویی جهت تعیین ترکیبات فنولیک استفاده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه عصاره‌گیری شده به ۱ میلی لیتر فولین سیوکالتو ۱:۱۰ رقیق شده اضافه شد. پس از ۵ دقیقه، ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه شد و به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد. از گالیک اسید (غلظت‌های صفر تا ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده و براساس معادله استاندارد به دست آمده غلظت ترکیبات فنلی برحسب میلی گرم بر گرم وزن تازه محاسبه شد (Slinkard and Singleton, 1977).

فلاونوئیدها: جهت اندازه‌گیری فلاونوئیدها یک میلی لیتر از

اسید استیک در یک لوله آزمایش ریخته شد و برای مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شد، سپس به محلول واکنش در لوله آزمایش پس از سرد شدن ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه گردید و لوله آزمایش مربوطه برای مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه به شدت به هم زده شد. سپس جذب نوری محلول رویی واکنش از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از محلول بلانک تولوئن خوانده شد و غلظت اسیدآمینه پرولین آزاد نمونه با استفاده از یک منحنی استاندارد پرولین خالص تعیین شد و میزان آن به صورت میکرومول در گرم وزن تر نمونه به صورت زیر محاسبه گردید.

پرولین = $(\text{تولوئن مصرفی} \times \text{عدد خوانده شده}) / [115/5]$ / $(\text{گرم نمونه} / 5)$ (دستگاه)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: ۱۰۰ میلی گرم از بافت جوانه گل با ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد همگن و به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۲۰۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ کنید. از محلول رویی جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و فلاونوئید استفاده شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی جوانه گل، از طریق خاصیت بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از روش اسپکتروفتومتری انجام گردید (Brand-Williams et al., 1995). جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ۳۰۰

نشان داد در ابتدای رکود قبل از شروع تجمع سرمای محتوای نشاسته در سه رقم 'محب'، 'مامایی' و 'ربیع' بیشترین میزان بوده ولی اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (به ترتیب، ۱۹/۹۹، ۱۹/۰۸ و ۲۱/۳۹ میلی گرم بر گرم وزن جوانه گل تازه). با تجمع سرمای دوران رکود، به تدریج نشاسته هیدرولیز شده و با نزدیک شدن به پایان رکود درونی (مرحله تورم جوانه گل)، میزان نشاسته در 'محب' و 'مامایی' در ۱۴ بهمن (به ترتیب ۱۶/۶۵ و ۱۰/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن جوانه گل تازه) و پس از آن، و در 'ربیع' در ۵ اسفند (۱۴/۶۹ میلی گرم بر گرم وزن جوانه گل تازه) کاهش یافت و همچنین در مرحله شکستن رکود و پس از آن کاهش در محتوای نشاسته در 'مامایی' در مقایسه با دو رقم دیگر چشمگیرتر بود. به طور کلی، در هر سه رقم محتوای نشاسته در فازهای انتهایی نمو جوانه گل کاهش یافت. همچنین در مرحله رهایی از رکود، کاهش معنی داری در محتوای نشاسته ارقام در مقایسه با ابتدای رکود مشاهده شد.

پرویلین: براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر رقم و زمان و همچنین اثر متقابل زمان و رقم بر محتوای پرویلین آزاد در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم (جدول ۲) نشان داد بیشترین محتوای پرویلین در ارقام 'مامایی' و 'ربیع' (به ترتیب ۱۵/۲۵ و ۱۵/۰۴ میکرومول بر گرم وزن ماده تازه) وجود داشت که تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند و کمترین محتوای پرویلین در رقم 'محب' مشاهده شد. همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر زمان (جدول ۲) نشان داد که کمترین محتوای پرویلین در شروع دوره رکود و بیشترین آن در پایان زمان نمونه برداری مشاهده شد (۱۶/۳۶ میکرومول بر گرم وزن ماده تازه). نتایج برهمکنش زمان و رقم نشان داد (شکل ۳) در همه ارقام مورد مطالعه محتوای اسیدآمین پرویلین طی رکود درونی و رهایی از رکود افزایش یافته است. بیشترین محتوای پرویلین در رقم 'مامایی' پس از رهایی از رکود درونی، ۵ اسفند (۲۰/۳۰ میکرومول بر گرم وزن جوانه گل تازه) مشاهده شد که با بیشترین محتوای پرویلین در رقم 'محب' در ۲۳ دی ماه (۱۳/۰۶ میکرومول بر گرم وزن جوانه گل تازه)، و رقم 'ربیع' در

عصاره شفاف رویی استخراج شده جهت تخمین ترکیبات فنولیک، به ۰/۵ میلی لیتر نیتريت سدیم ۵ درصد اضافه و به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد به آن اضافه شد و مجدداً ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در نهایت ۲ میلی لیتر سدیم هیدروکسید یک مولار به آن‌ها اضافه شد. محلول به خوبی ورتکس شد. سپس جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. همچنین از کاتچین (صفر تا ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد. در نهایت براساس معادله استاندارد به دست آمده میزان فلاونوئیدها برحسب میلی گرم بر گرم وزن تازه محاسبه شد (Du et al., 2009).

آنالیز آماری: تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار SAS انجام شد. همچنین مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. ارتباط بین صفات اندازه‌گیری شده طی زمان‌های مختلف اندازه‌گیری از طریق تجزیه به مؤلفه‌ها (بای پلات) با نرم افزار Statgraphics (2018) انجام شد.

نتایج

محتوای نشاسته: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر رقم و زمان بر محتوای نشاسته در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. همچنین، اثر متقابل زمان و رقم بر روی محتوای نشاسته در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم (جدول ۲) نشان داد بیشترین محتوای نشاسته در ارقام 'محب' و 'ربیع' (به ترتیب ۱۷/۵۳ و ۱۴/۵۴ میلی گرم بر گرم وزن ماده تازه) وجود داشت که تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند و کمترین محتوای نشاسته در رقم 'مامایی' مشاهده شد (۱۴/۵۴ میلی گرم بر گرم وزن ماده تازه). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر زمان (جدول ۲) نشان داد بیشترین و کمترین محتوای نشاسته به ترتیب در ابتدای رکود (۱۱ آذرماه) و انتهای رکود (۵ اسفندماه) مشاهده شد (به ترتیب ۲۰/۱۵ و ۱۲/۸۲ میلی گرم بر گرم وزن ماده تازه). نتایج مربوط به تأثیر برهمکنش زمان‌های مختلف نمونه برداری طی دوران رکود و ارقام مختلف بادام بر محتوای نشاسته جوانه گل (شکل ۲)

جدول ۱- تجزیه واریانس تغییرات برخی از ترکیبات بیوشیمیایی طی دوران رکود در جوانه گل رقم بومی بادام

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
فلاونوئیدها	فنل کل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	پرولین	نشاسته		
۰/۰۰۴ ^{ns}	۱/۰۰۴ ^{ns}	۲/۱۲ ^{ns}	۱/۳۲ ^{ns}	۵/۹۳ ^{ns}	۲	بلوک
۰/۴۱ ^{**}	۱۴/۵۲ ^{**}	۲/۶۴ ^{ns}	۱۰۵/۲۳ ^{**}	۴۵/۹۱ ^{**}	۲	رقم
۰/۰۴	۲/۹۷	۰/۸۳	۱/۰۶	۶/۴۹	۴	بلوک (رقم)
۰/۴۱ ^{**}	۷/۷۹ ^{**}	۱۱/۷۹ ^{**}	۴۹/۶۴ ^{**}	۷۷/۵۸ ^{**}	۴	زمان
۰/۰۳ ^{ns}	۳/۲۳ ^{ns}	۰/۳۹ ^{ns}	۰/۵۰ ^{ns}	۲/۸۹ ^{ns}	۸	بلوک × زمان
۰/۲۷ ^{**}	۱۳/۴۹ ^{**}	۴/۳۰ ^{**}	۶/۲۱ ^{**}	۱۱/۵۹ ^{**}	۸	زمان × رقم
۰/۰۴	۱/۲۱	۰/۹۷	۰/۵۴	۲/۲۴	۴۴	خطای آزمایش
۱۲/۳۳	۷/۸۴	۱/۰۶	۶/۷۸	۹/۰۴		ضرب تغییرات (%)

ns، * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود تفاوت معنی‌دار

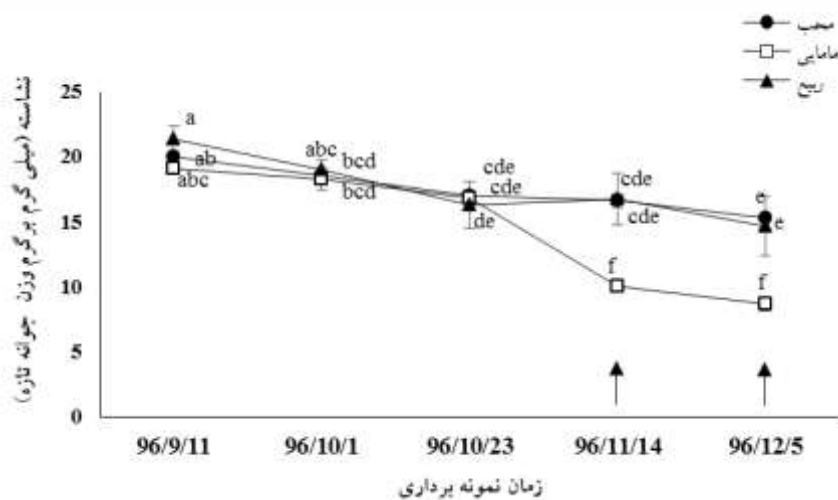
جدول ۲- مقایسه میانگین رقم و زمان مختلف نمونه‌برداری بر روی محتوای نشاسته، فنل و فلاونوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه)، پرولین (میکرومول بر گرم وزن ماده تازه) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد)

تیمارهای آزمایش	نشاسته	پرولین	فنل	فلاونوئیدها	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
رقم					
‘محب’	۱۷/۵۲ ^a	۱۰/۵۵ ^b	۱۲/۹۲ ^b	۱/۴۵ ^b	۹۲/۶۹ ^a
‘مامایی’	۱۴/۵۴ ^b	۱۵/۲۵ ^a	۱۴/۶۸ ^a	۱/۶۵ ^{ab}	۹۳/۰۷ ^a
‘ربیع’	۱۷/۶۲ ^a	۱۵/۰۴ ^a	۱۴/۵۶ ^{ab}	۱/۷۹ ^a	۹۲/۲۷ ^a
زمان					
۱۱ آذر	۲۰/۱۵ ^a	۱۰/۹۷ ^c	۱۲/۸۴ ^c	۱/۲۸ ^c	۹۳/۸۴ ^a
۱ دی	۱۸/۶۱ ^b	۱۱/۲۷ ^c	۱۴/۷۵ ^{ab}	۱/۷۰ ^{ab}	۹۳/۶۱ ^a
۲۳ دی	۱۶/۷۴ ^c	۱۴/۵۰ ^b	۱۳/۸۳ ^{bc}	۱/۸۱ ^a	۹۳/۱۴ ^a
۱۴ بهمن	۱۴/۵۰ ^d	۱۴/۹۸ ^b	۱۵/۲۱ ^a	۱/۷۷ ^a	۹۱/۴۰ ^b
۵ اسفند	۱۲/۸۲ ^e	۱۶/۳۶ ^a	۱۳/۶۳ ^{bc}	۱/۵۸ ^b	۹۱/۴۰ ^b

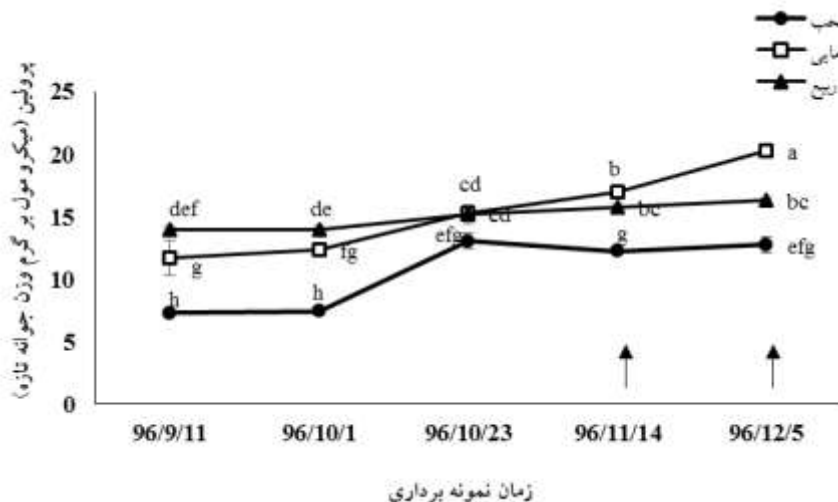
در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر رقم بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نبود. اثر زمان بر روی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و سه رقم بادام ‘محب’، ‘مامایی’ و ‘ربیع’ بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثر زمان (جدول ۲) نشان

مرحله‌رهایی از رکود در ۵ اسفند (۱۶/۳۴ میکرومول بر گرم وزن جوانه گل تازه) و سایر مراحل نمو تفاوت معنی‌داری داشت. کمترین محتوای پرولین در رقم ‘محب’ در ۱۱ آذر و ۱ دی‌ماه مشاهده شد (۷/۲۸ و ۷/۴۶ میکرومول بر گرم وزن جوانه گل تازه) و تفاوت معنی‌داری با سایر مراحل نمونه‌برداری داشت. همچنین افزایش محتوای پرولین آزاد در انتهای رکود در ارقام در مقایسه با ابتدای رکود معنی‌دار بود.



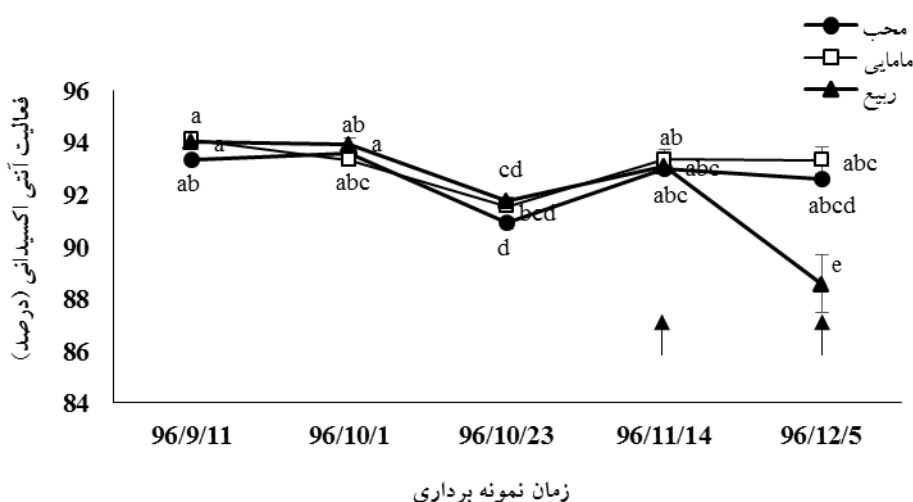
شکل ۲- تغییرات محتوای نشاسته در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری طی دوران رکود در جوانه گل سه رقم بومی بادام. علامت‌ها بیانگر زمان‌هایی از رکود درونی در هر رقم می‌باشد. میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد هستند.



شکل ۳- تغییرات محتوای پروتئین آزاد در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری طی دوران رکود در جوانه گل سه رقم بومی بادام. علامت‌ها بیانگر زمان‌هایی از رکود درونی در هر رقم می‌باشد. میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

طی دوران رکود درونی و رهایی از رکود در رقم‌های بادام 'محب' و 'مامایی' اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۴) ولی بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ارقام 'محب' و 'مامایی' (به ترتیب ۹۰/۹۱ و ۹۱/۵۵ درصد) در تمامی مراحل بجز ۲۳ دی‌ماه مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی رقم 'ربیع' در ۱۱ آذر مشاهده شد (۹۴/۰۴ درصد) و تفاوت

داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ۱۱ آذر، ۱ و ۲۳ دی‌ماه (به ترتیب ۹۳/۸۴، ۹۳/۶۱ و ۹۳/۱۴ درصد) مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در انتهای رکود ۱۴ بهمن و ۵ اسفندماه وجود داشت (به ترتیب ۹۱/۴۰ و ۹۱/۴۰ درصد) که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. به‌طورکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی



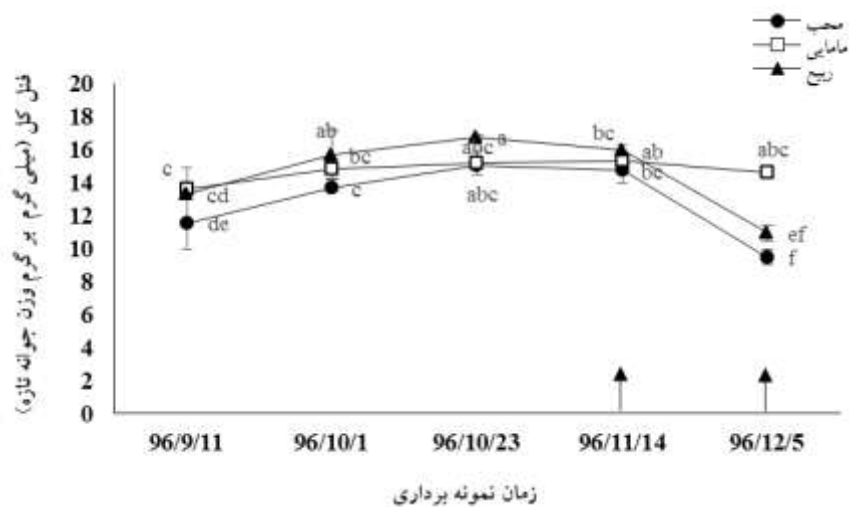
شکل ۴- تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی در زمان‌های مختلف نمونه برداری طی دوران رکود در جوانه گل سه رقم بومی بادام. علامت‌ها بیانگر زمان رهایی از رکود در هر رقم می‌باشد. میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) و ۱۴ بهمن‌ماه مشاهده شد (۱۵/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه). میزان فنل کل در زمان‌های مختلف نمونه برداری طی دوران رکود و رهایی از رکود در جوانه گل ارقام مختلف بادام نشان داد (شکل ۵) بیشترین میزان فنل کل در رقم 'ربیع' در ۲۳ دی‌ماه (۱۶/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه جوانه گل) وجود داشت که تفاوت معنی‌داری با میزان فنل در ۱ دی‌ماه و ۱۴ بهمن (۱۵/۳۳ و ۱۵/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) در همین رقم و ۲۳ دی و ۱۴ بهمن در رقم 'مامایی' (به ترتیب ۱۵/۳۱ و ۱۵/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) و ۲۳ دی‌ماه در رقم 'محب' (۱۵/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) نداشت. کمترین میزان فنل کل در ۵ اسفند ارقام 'محب' و 'ربیع' مشاهده شد (به ترتیب ۹/۵ و ۱۰/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

فلاونوئیدها: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر رقم بر روی میزان فلاونوئیدها در جوانه گل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر زمان در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین برهمکنش زمان و رقم در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم (جدول ۲) نشان داد بیشترین محتوای فلاونوئیدها در ارقام 'مامایی' و

معنی‌داری تا تاریخ نمونه برداری، ۱۴ بهمن نداشت (۹۳/۰۹ درصد). کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی در جوانه گل رقم 'ربیع' در انتهای فاز رکود در مرحله تورم، ۵ اسفند مشاهده شد (۸۸/۵۷ درصد) که در مقایسه با سایر زمان‌های نمونه برداری کاهش معنی‌داری داشت.

فنل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس تغییرات ترکیبات فنلی در جوانه گل رقم‌های مختلف بادام طی دوران رکود نشان داد (جدول ۱) اثر رقم بر روی میزان فنل کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در زمان‌های مختلف نمونه برداری طی دوران رکود مشاهده شد. برهمکنش بین زمان‌های مختلف نمونه برداری و ارقام مختلف بادام طی دوران رکود جوانه گل تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم (جدول ۲) نشان داد بیشترین محتوای فنل کل در ارقام 'مامایی' و 'ربیع' (به ترتیب ۱۴/۶۸ و ۱۴/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) وجود داشت که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و کمترین محتوای فنل کل در رقم 'محب' مشاهده شد (۱۲/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر زمان (جدول ۲) نشان داد که بیشترین و کمترین محتوای پرولین به ترتیب در ۱۱ آذرماه (۱۲/۸۴

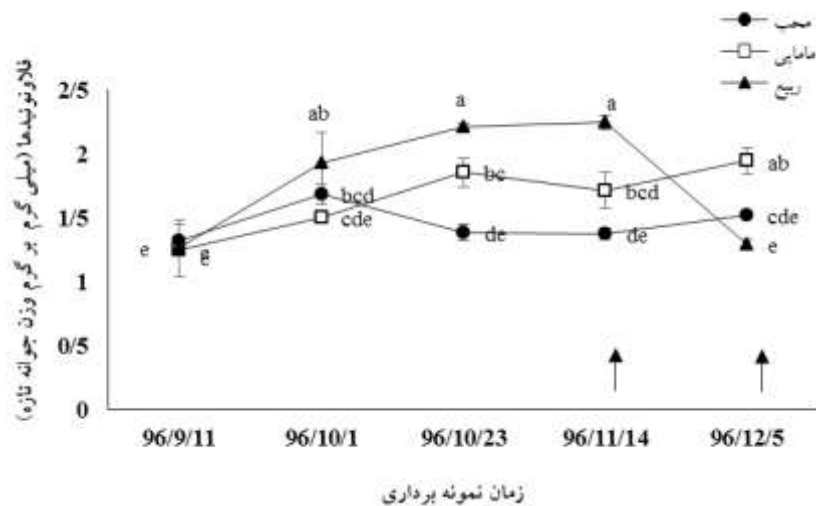


شکل ۵- تغییرات فنل کل در زمان‌های مختلف نمونه برداری طی دوران رکود در جوانه گل سه رقم بومی بادام. علامت‌ها بیانگر زمان‌هایی از رکود درونی در هر رقم می‌باشد. میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد هستند.

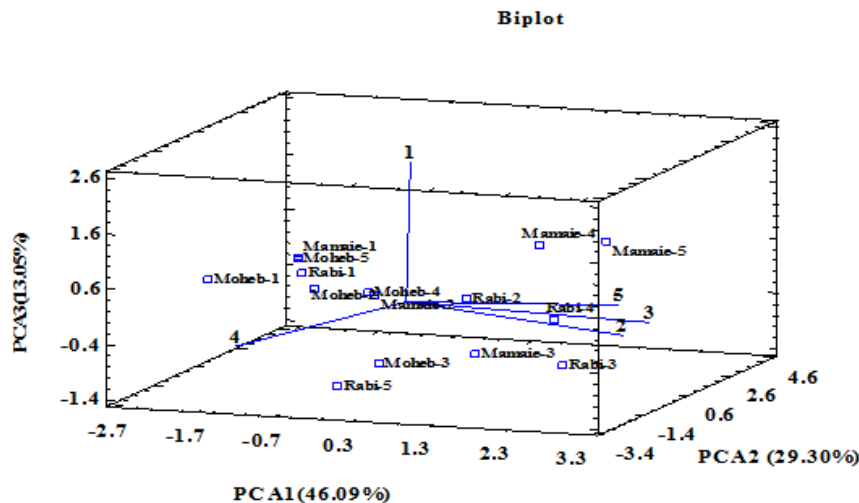
دی‌ماه تا ۵ اسفندماه رقم 'محب'، ۱ دی‌ماه در رقم 'مامایی' و ۵ اسفندماه در رقم 'ربیع' نداشت. به‌طور کلی با پیشرفت رکود و تجمع بیشتر سرما میزان فلاونوئیدها در مقایسه با ابتدای رکود در ارقام افزایش یافت و افزایش محتوای فلاونوئیدها همراه با تجمع سرما در ارقام 'مامایی' و 'ربیع' واضح‌تر بود. اگرچه در رقم 'ربیع' محتوای فلاونوئیدها در ۵ اسفندماه کاهش چشمگیری در مقایسه با سایر ارقام نشان داد و این امر می‌تواند ناشی از تجمع بیشتر سرما به دلیل نیاز سرمایی بالاتر این رقم باشد.

بای پلات: در مطالعه حاضر، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بای پلات ارتباط واضحی را بین ترکیبات بیوشیمیایی طی رکود درونی نشان داد (شکل ۷). نتایج نشان داد که هر سه مؤلفه ۸۸/۴۴ درصد از کل تغییرات توجیه کردند. مؤلفه اول ۴۶/۰۹ درصد از کل تغییرات را توجیه کرد و ارتباط مثبت و قوی با محتوای فنل کل، فلاونوئیدها و پرولین داشت اما ارتباط منفی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نشاسته نشان داد. مؤلفه دوم ۲۹/۳۰ درصد از کل تغییرات را توضیح داد و ارتباط قوی و مثبتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئیدها داشت اما با پرولین ارتباط منفی داشت. مؤلفه سوم نیز ۱۳/۰۵ درصد از کل تغییرات را توجیه کرده و ارتباط بسیار مثبتی با فعالیت

'ربیع' (به ترتیب ۱/۶۵ و ۱/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) وجود داشت که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و کمترین محتوای فلاونوئیدها در رقم 'محب' مشاهده شد (۱/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) که تفاوت معنی‌داری با میزان فلاونوئیدها در رقم 'مامایی' نداشت. همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر زمان (جدول ۲) نشان داد بیشترین محتوای فلاونوئیدها همراه با تجمع سرما در ۱ دی، ۲۳ دی و ۱۴ بهمن (به ترتیب ۱/۷۰، ۱/۸۱ و ۱/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و کمترین محتوای فلاونوئیدها در ابتدای رکود (۱۱ آذرماه) وجود داشت (۱/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه). نتایج برهمکنش زمان و رقم نشان داد (شکل ۶) بیشترین میزان فلاونوئیدها در جوانه‌های گل رقم 'ربیع' در ۱ و ۲۳ دی‌ماه و ۱۴ بهمن مشاهده شد (به ترتیب ۱/۹۳، ۲/۲۱ و ۲/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه جوانه گل) که تفاوت معنی‌داری با میزان فلاونوئید در تاریخ ۵ اسفندماه رقم 'مامایی' نداشت (۱/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه جوانه گل). همچنین کمترین میزان فلاونوئیدها در مراحل ابتدایی رکود ارقام 'محب'، 'مامایی' و 'ربیع' وجود داشت (به ترتیب ۱/۳۲، ۱/۲۴ و ۱/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) که تفاوت معنی‌داری با میزان فلاونوئیدها در ۲۳



شکل ۶- تغییرات فلاونوئیدها در زمان‌های مختلف نمونه برداری طی دوران رکود در جوانه گل سه رقم بومی بادام. علامت‌ها بیانگر زمان رهایی از رکود درونی در هر رقم می‌باشد. میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد هستند.



شکل ۷- ارتباط برخی از ترکیبات بیوشیمیایی طی زمان‌های مختلف نمونه برداری در جوانه گل ارقام مختلف بادام (۱: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ۲: فنل کل، ۳: فلاونوئیدها، ۴: محتوای نشاسته و ۵: پرولین آزاد). (Mamaie-1: 'مامایی' در ۱۱ آذر، Mamaie-2: 'مامایی' در ۱ دی ماه، Mamaie-3: 'مامایی' در ۲۳ دی ماه، Mamaie-4: 'مامایی' در ۱۴ بهمن و Mamaie-5: 'مامایی' در ۵ اسفند و در دو رقم دیگر نیز به همین ترتیب می‌باشد).

ابتدای رکود در هر سه رقم و در ۱۴ بهمن تنها در رقم 'ربیع' وجود داشت.

بحث

همان‌طور که مشاهده شد در ابتدای رکود، قبل از تجمع سرما،

آنتی‌اکسیدانی و با سایر صفات ارتباط منفی داشت. به‌طورکلی، براساس نتایج بای پلات ارتباط مثبتی بین پرولین و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنژیومی (فنل و فلاونوئیدها) در ۱ دی و ۱۴ بهمن در رقم 'محب' و رقم 'مامایی' در ۱ دی‌ماه نشان داد. همچنین ارتباط مثبت و قوی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در

تجمع پرولین طی دوران رکود یک رخداد فیزیولوژیکی در متابولیسم ذخیره نیتروژن است. طی مراحل انتهایی نمو جوانه گل محتوای پرولین در هر سه رقم در مطالعه حاضر افزایش یافت، به طوری که در 'محب'، ۲۳ دی، 'مامایی'، ۵ اسفند و 'ربیع'، ۱۴ بهمن ثبت شد (شکل ۳). به نظر می‌رسد افزایش تجمع پرولین طی رکود درونی تا رهایی از رکود ارقام بادام، به دلیل حفظ پتانسیل آب در بافت جوانه گل طی تجمع سرما باشد. علاوه بر این، احتمال دارد رقم 'محب' به دلیل داشتن محتوای پرولین آزاد کمتر در مقایسه با ارقام 'مامایی' و 'ربیع' حساس‌تر است (جدول ۲). افزایش پرولین را می‌توان تبدیل فرم ذخیره‌ای پرولین به فرم آزاد پرولین و قابل مصرف گیاه ذکر نمود. مطالعات نشان داده است که ترکیبات نیتروژنه شامل آمینواسیدها از جمله پرولین طی رکود در جوانه‌ها به میزان کمی وجود دارند و به تدریج تا قبل از شکستن رکود جوانه به حداکثر میزان خود می‌رسند (Seif El-Yazal *et al.*, 2012). همچنین میزان بالایی از نیتروژن کل و نیتروژن محلول پس از رهایی از رکود در جوانه‌های سیب مشاهده شده است. این ذخایر نیتروژن در پوست و چوب در اواسط اسفند و اواخر فروردین تجزیه می‌شوند و افزایش سریع در سطح ازت محلول برای رشد استفاده می‌شود (Seif El-Yazal *et al.*, 2012). بنابراین، پرولین طی دوران رکود علاوه بر نقش دفاعی با حفظ پتانسیل آب، گیاه را در برابر آسیب تنش سرما حفظ می‌کند و با نزدیک شدن به مرحله رهایی از رکود به عنوان انرژی و کربن جهت رشد مجدد جوانه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mohamad *et al.*, 2010). افزایش پرولین طی تنش سرما و در رهایی از رکود در رقم 'محب' حدود ۸۰ درصد، در رقم 'مامایی' حدود ۴۰ درصد و در رقم 'ربیع' حدود ۳۰ درصد بود. این تفاوت در درصد افزایش در طول دوره خواب در جوانه‌های گل ارقام مختلف سیب نیز گزارش شده بود (Seif El-Yazal *et al.*, 2012 and 2014).

نتایج این پژوهش نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ابتدای رکود در هر سه رقم دارای حداکثر مقدار بود. با تجمع سرما و نزدیک شدن به پایان رکود در هر سه رقم درصد بازدارندگی

محتوای نشاسته در هر سه رقم حداکثر بود. با پیشرفت رکود و افزایش تجمع سرما محتوای نشاسته در هر سه رقم کاهش یافت. این نتیجه حاکی از آن است که کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای طی ریزش برگ‌ها در گیاهان ذخیره می‌شوند و در دمای پایین و نزدیک شدن به رهایی رکود، هیدرولیز شده و به کمترین میزان خود می‌رسند. انباشته شدن نشاسته در مرحله اولیه خواب در سازگاری به دمای پایین و جلوگیری از یخ‌زدگی جوانه‌ها کمک می‌کند و روند کاهش نشاسته با پایان رکود در جوانه‌ها همراه است (Vicas and Laslo, 2011). علت کاهش غلظت نشاسته تبدیل شدن به قندهای محلول از جمله گلوکز نسبت داده شده است (Richardson *et al.*, 2010). از سوی دیگر، تبدیل نشاسته به قندهای محلول علاوه بر تنظیم پتانسیل اسمزی، جهت شروع مجدد رشد جوانه گل استفاده می‌گردد (Vicas and Laslo, 2011). همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد در مرحله انتهایی رکود، کاهش محتوای نشاسته 'مامایی' و 'ربیع' در مقایسه با 'محب' چشمگیرتر بود (شکل ۲). احتمال دارد کاهش معنی‌دار نشاسته در دو رقم 'مامایی' و 'ربیع' به دلیل تجمع سرما بیشتر جهت نیاز سرمایی رضایت‌بخش باشد. از سوی دیگر، مطابق با دماهای ثبت شده در تاریخ‌های مورد مطالعه (شکل ۱) مشخص شد در انتهای رکود (۱۴ بهمن) کاهش دما قابل ملاحظه‌ای مشاهده شده است. مشخص گردید در دمای پایین نشاسته هیدرولیز شد و همزمان با آن ساکاروز در قلمه‌های یکساله انگور 'Superior Seedless' تجمع یافت (Mohamad *et al.*, 2010). به علاوه نشان داده شده است که تغییرات عمده‌ای در غلظت قند، به خصوص ساکاروز در مریستم‌های جوانه کیوی (*Actinidia deliciosa*) از پاییز تا بهار مشاهده شده است (Richardson *et al.*, 2010). کاهش محتوای نشاسته در این مطالعه نیز با کاهش محتوای نشاسته در جوانه‌های گل سیب طی ۳۰۰ واحد تجمع سرما (۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) توسط Mohamad و همکاران (۲۰۱۰) و در جوانه‌های برگ کیوی (۶/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده خشک) توسط Richardson و همکاران (۲۰۱۰) مشابهت داشت.

همچنین میزان فلاونوئیدها نیز طی دوران رکود و نزدیک شدن به رهایی رکود در کلیه ارقام مورد مطالعه افزایش یافت (شکل ۶). افزایش این ترکیبات با کاهش دما در دوران رکود سازگار بود (شکل ۱). نشان داده شده است درختان سیب در زمان رکود حاوی ترکیبات فنلی زیادی هستند (Seif El-Yazal and Rady, 2018). مکانیسم عمومی ترکیبات فنلی در جهت فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Razali et al., 2008). در دمای پایین، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لاز افزایش می‌یابد، ولی فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده ترکیبات فنلی از قبیل پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز کاهش می‌یابد (Seif El-Yazal and Rady, 2018). فلاونوئیدها نیز گروه بزرگی از ترکیبات فنلی هستند که همانند فنل‌ها توانایی بالایی در بازدارندگی رادیکال‌ها از جمله سوپراکسید دارند (Vogt, 2010; Razali et al., 2008). همچنین این ترکیبات به‌عنوان یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاهان در برابر تغییرات محیطی نشان داده شده‌اند (Vogt, 2010; Razali et al., 2008). بنابراین این موضوع باعث افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در دمای پایین طی دوران رکود می‌گردد و به‌عنوان نوعی سازوکار برای غلبه بر رادیکال‌های آزاد تولیدشده در دمای پایین عمل می‌کنند. کریمی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که حداکثر مقدار ترکیبات فنلی همزمان با رکود عمیق زمستانه در دی‌ماه در ارقام مختلف انگور مشاهده شده است که حاکی از ارتباط این ترکیبات با مقاومت به دمای پایین و نقش حفاظتی آن‌ها در جوانه‌های در حال رکود انگور (۱۰/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن ماده تازه) است. با توجه به جدول ۲، بیشترین میزان محتوای فنل کل و فلاونوئیدها در 'مامایی' و 'ربیع' مشاهده شد و کمترین میزان در 'محب' بود. کریمی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که در انگور، ارقام مقاوم به سرما دارای فنل کل بیشتری در مقایسه با ارقام حساس به سرما هستند (کریمی و همکاران، ۱۳۹۳). به‌نظر می‌رسد بدون در نظر گرفتن زمان نمونه‌برداری رقم 'محب' به‌دلیل تجمع کمتر فنل به‌عنوان آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی در مقایسه با ارقام 'مامایی' و 'ربیع' رقمی حساس

رادیکال DPPH کاهش یافته است که این کاهش در ارقام 'محب' و 'مامایی' در ۲۳ دی‌ماه و در 'ربیع' علاوه بر ۲۳ دی‌ماه در مرحله پایان رکود چشمگیرتر بود (شکل ۴). کاهش درصد بازدارندگی رادیکال DPPH در ۲۳ دی‌ماه را در تمامی ارقام با کاهش میانگین دمای ثبت شده در شکل ۱ سازگار بود. به‌طورکلی با افزایش تجمع سرما، فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH در هر سه رقم در مقایسه با ابتدای رکود کاهش یافت. همچنین احتمال دارد کاهش معنی‌دار درصد بازدارندگی DPPH در انتهای رکود رقم 'ربیع' به‌دلیل نیاز سرمایی بالاتر یا در معرض قرارگرفتن بیشتر در دمای پایین، در مقایسه با دو رقم دیگر باشد. گزارش شده است که فعالیت بازدارندگی DPPH با افزایش دمای پایین در مقایسه با شاهد در گیاه دارویی سرخارگل کاهش یافته می‌یابد و بیشترین درصد بازدارندگی (۹۳ درصد) در تیمار شاهد بود (اسدی‌صنم و همکاران، ۱۳۹۴)، که با کاهش درصد بازدارندگی DPPH با افزایش دمای پایین در ۲۳ دی‌ماه به‌دلیل تولید رادیکال‌های آزاد بیشتر در تمامی ارقام و ۵ اسفندماه در رقم 'ربیع' به‌دلیل نیاز سرمایی بالا مطابقت داشت. DPPH با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها و گونه‌های رادیکالی دهنده هیدروژن واکنش داده و به شکل احیاء در می‌آیند و بدین ترتیب، میزان جذب کاهش می‌یابد (Chen et al., 2020).

در دوران رکود، ترکیبات فنلی، در جوانه‌های درختان تجمع می‌یابد و پس از دریافت سرمای کافی در زمستان، غلظت این ترکیبات در مرحله شکوفایی جوانه‌ها به حداقل می‌رسد. به‌نظر می‌رسد رسوب ترکیبات فنلی در فلس‌های جوانه در ارقام از پیشرفت بلورهای یخ به درون بخش‌های درونی جوانه جلوگیری می‌کند (Seif El-Yazal and Rady, 2018). در این پژوهش، تغییرات فنل در سه رقم مختلف بادام در دوران رکود درونی جوانه گل و رهایی از رکود متفاوت بود، اما به‌طورکلی در هر سه رقم با پیشرفت رکود و در معرض دمای پایین میزان فنل کل افزایش یافته است، به‌طوری‌که، در 'محب' و 'ربیع' در ۲۳ دی و 'مامایی' در ۲۳ دی و ۱۴ بهمن بیشترین میزان فنل کل مشاهده شد (شکل ۵).

به سرما باشد و چون گل‌ها در این رقم نسبت به بقیه زودتر باز می‌شود به سرمای بهاره نیز حساس است. اما بین دو رقم 'ربیع' و 'مامایی' تفاوت معنی‌داری از نظر پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (فنل کل) مشاهده نشد.

رابطه احتمالی بین پارامترهای اندازه‌گیری‌شده با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌ها (بای پلات) بررسی شد. نتایج به‌طور واضح نشان داد که در ارقام مختلف بادام طی دوران رکود در جوانه‌های گل ارتباط واضح و مثبتی بین اسیدآمین پرولین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی از جمله ترکیبات فنولیکی و فلاونوئیدی همراه با تجمع سرما مشاهده شد (شکل ۷). نقش مثبت پرولین در دوران رکود، با حفظ پتانسیل آب و به‌عنوان منبع انرژی برای شروع رشد مجدد نشان داده شده است (Vicas and Laslo, 2011). همچنین Khanizadeh و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند کاهش دما باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در درختان سیب شده و منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. تنش اکسیداتیو باعث واسرشته شدن و تجزیه پروتئین‌ها می‌شود. بنابراین، در این وضعیت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند فنل و فلاونوئیدها به‌منظور پاکسازی و حذف رادیکال‌های آزاد تولیدشده ناشی از تنش سرما طی دوران رکود فعالیت می‌کنند. به‌طورکلی، این پارامترها در کنار یکدیگر، براساس کارکردهایی که در برابر تنش دارند، می‌توانند به گیاه برای مقابله با آسیب تنش‌ها (به‌ویژه سرما) کمک کنند.

نتیجه‌گیری

در دمای پایین طی دوران رکود درختان خزان‌دار از جمله بادام،

برخی تغییرات بیوشیمیایی برای مقابله با تنش سرما صورت می‌گیرد. کاهش نشاسته در دمای پایین یکی از فرایندهای دفاعی برای جلوگیری از یخ‌زدگی به‌واسطه افزایش قندهای محلول می‌باشد. همچنین افزایش پرولین از سازوکارهای دفاعی دیگر گیاهان در برابر تنش‌ها به‌ویژه سرما برای جلوگیری از یخ‌زدگی جوانه‌ها می‌باشد و همچنین، به‌عنوان منبع غذایی و انرژی در شروع رشد استفاده می‌گردد. از سوی دیگر، جهت پاکسازی رادیکال‌های آزاد تولیدشده در دمای پایین طی رکود، سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (فنل و فلاونوئیدها) فعال می‌شود. به‌طورکلی، مطابق نتایج و با توجه به مکانیسم‌های دفاعی در برابر تنش سرما، ارقام 'ربیع' (دیر گل) و 'مامایی' (متوسط گل) - پرولین، فنل و فلاونوئیدهای بالاتری در مقایسه با 'محب' (زود گل) داشتند. بنابراین فارغ از زمان گلدهی که می‌تواند سبب فرار از تنش سرمای بهاره شود، به‌نظر می‌رسد براساس این صفات و همچنین ویژگی زود گلدهی رقم 'محب' در مقایسه با دو رقم دیگر در برابر سرما آسیب‌پذیرتر است. با این حال جهت توصیه رقم برتر مطالعات بیشتری نیاز است.

تشکر و قدردانی

از همکاری جناب آقای مهندس شریفی (شرکت سناد) به جهت در اختیار قرار دادن نمونه‌های گیاهی بسیار سپاسگزاری می‌شود. همچنین از دقت بسیار و سعه صدر داوران محترم این مقاله قدردانی می‌شود.

منابع

- اسدی‌صنم، س.، زواره، م.، پیردشتی، ه. الف.، سفیدکن، ف. و نعمت‌زاده، ق. (۱۳۹۴) بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه دارویی سرخارگل به تنش دمای پایین. فرآیند و کارکرد گیاهی ۴: ۱۱-۲۸.
- توپچی تبریزیان، س.، حاجی‌لو، ج. و دهقان، غ. (۱۳۹۵) ارزیابی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در طی دوره رکود جوانه گل چند رقم زردآلو (*Prunus armeniaca*) براساس تجمع نیاز سرمای. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۹: ۵۴-۶۴.
- کریمی، ر. الف.، ارشادی، الف.، اثنی‌عشری، م. و مشهدی اکبر بوجار، م. (۱۳۹۳) تغییرات فصلی در محتوای پروتئین‌های محلول، فنول کل و مالون دی‌آلدهید و ارتباط آنها با مقاومت به سرمای برخی از ارقام تاک. به‌زراعی کشاورزی ۱۶: ۹۹۹-۱۰۱۳.

- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G. and Sharma, S. (2010) Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology* 30: 161-75.
- Banerjee, A. and Roychoudhury, A. (2019) Cold stress and photosynthesis. In: *Photosynthesis, Productivity and Environmental Stress* (Eds. Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N. and Alam, P.) Pp. 27-37. John Wiley and Sons, Incorporated.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil* 39: 205-208.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant capacity. *Food Science and Technology* 28: 25-30.
- Camargo-Alvarez, H., Salazar-Gutierrez, M., Keller, M. and Hoogenboom, G. (2020) Modeling the effect of temperature on bud dormancy of grapevines. *Agricultural and Forest Meteorology* 280.
- Campoy, J. A., Ruiz, D., Cook, N., Allderman, L. and Egea, J. (2011) High temperatures and time to budbreak in low chill apricot 'Palsteyn'. Towards a better understanding of chill and heat requirements fulfilment. *Scientia Horticulturae* 129: 649-655.
- Campoy, J. A., Ruiz, D. and Egea, J. (2011) Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae* 130: 357-372.
- Chen, X., Liang, L. and Han, C. (2020) Borate suppresses the scavenging activity of gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical: A potential interference to DPPH assay, *LWT. Food Science and Technology* 131: 109769.
- Das, K. and Roychoudhury, A. (2014) Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers of Environmental Science and Engineering* 02.
- Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. (2009) Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry* 113: 557-562.
- Hedge, J. E. and Hofreiter, B. T. (1962) *Carbohydrate Chemistry whistler*. Academic press, New York.
- Jackson, M. B., Ishizawa, K. and Ito, O. (2009) Evolution and mechanisms of plant tolerance to flooding stress. *Annals of Botany* 103: 137-42.
- Khanizadeh, S., Brodeur, C., Granger, R. and Buszard, D. (2000) Factor associated with winter injury to apple trees. *Acta Horticulturae* 179-190.
- Mohamed, H. B., Vadel, A. M., Geuns, J. M. and Khemira, H. (2012) Effects of hydrogen cyanamide on antioxidant enzymes' activity, proline and polyamine contents during bud dormancy release in superior seedless grapevine buds. *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 429-437.
- Mohamed, H. B., Vadel, A. M., Geuns, J. M. and Khemira, H. (2010) Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling: Possible role in dormancy release. *Scientia Horticulturae* 124: 440-447.
- Razali, N., Razab, R., Mat Junit, S. and Abdulaziz, A. (2008) Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry* 111: 38-44.
- Richardson, A. C., Walton, E. F., Meekings, J. S. and Boldingh, H. L. (2010) Carbohydrate changes in kiwifruit buds during the onset and release from dormancy. *Scientia Horticulturae* 124: 463-468.
- Seif El-Yazal, M. A., El-Yazal, S. A. S. and Rady, M. M. (2014) Exogenous dormancy-breaking substances positively change endogenous phytohormones and amino acids during dormancy release in 'Anna' apple trees. *Plant Growth Regulation* 72: 211-220.
- Seif El-Yazal, M. A. and Rady, M. M. (2018) Foliar-applied mineral oil enhanced hormones and phenols content and hastened breaking bud dormancy in "Astrachan" apple trees. *International Journal for Empirical Education and Research* 57-73.
- Seif El-Yazal, M. A., Rady, M. M. and Seif, S. A. (2012) Foliar-applied dormancy-breaking chemicals change the content of nitrogenous compounds in the buds of apple (*Malus sylvestris* Mill. cv. Anna) trees. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 87: 299-304.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977) Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal Enology and Viticulture* 28: 49-559.
- Vicas, S. I. and Laslo, V. (2011) The correlation of the accumulation of cold units with some physiological and biochemical processes in the floral buds in the cultivation of nectarines (*Prunus Persica*) in North-Western Romania, *Studia Universitatis "Vasile Goldis"*. *Seria Stiintele Vietii* 21: 639-645.
- Vitasse, Y., Lenz, A. and Korner, C. (2014) The interaction between freezing tolerance and phenology in temperate deciduous trees. *Frontiers in Plant Sciences* 5: 541.
- Vogt, T. (2010) Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant* 3: 2-20.
- Zhao, Y., Wang, Z. X., Yang, Y. M., Liu, H. S., Shi, G. L. and Ai, J. (2020) Analysis of the cold tolerance and physiological response differences of amur grape (*Vitis amurensis*) germplasms during overwintering. *Scientia Horticulturae* 259.

Investigation of some chemical compounds in flower buds of three domestic almond (*Prunus amygdalus* L.) cultivars during dormancy period

Somayeh Naseri, Mahdijeh Gholami* and Bahram Baninasab

Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Iran

(Received: 03/06/2020, Accepted: 10/11/2020)

Abstract

Low temperature resistance mechanisms are complex during dormancy. Plants can use several biochemical processes to counteract the direct and indirect effects of low temperatures. In order to investigate the seasonal changes of some biochemical compounds in flower buds of three domestic almond (*Prunus amygdalus* L.) cultivars, a split plots in time experiment was conducted with three replications, in 2017-2018. Experimental treatments included three domestic almond cultivars with different flowering times ('Moheb', 'Mamaie' and 'Rabi', respectively) in region and 5 time periods of 20 days during the endodormancy until after breaking the endodormancy. The results showed that the proline amino acids accumulation increased during endodormancy and endodormancy release in cultivars, and 'Moheb' cultivar had lower proline content ($10.55 \mu\text{mol g}^{-1}$ FW) compared to the 'Mamaie' and 'Rabi' (15.25 and $15.04 \mu\text{mol g}^{-1}$ FW, respectively). At the beginning of the experiment, the maximum starch content was observed before the cold accumulation in the studied cultivars ('Moheb', 'Mamaie' and 'Rabi': 19.99 , 19.08 and 21.39 mg g^{-1} FW, respectively), but it showed a decreasing trend in all three cultivars with the progress of the dormancy and the increase in the chill unit accumulation ('Moheb', 'Mamaie' and 'Rabi': 15.33 , 8.73 and 14.69 mg g^{-1} FW, respectively). Total phenols and flavonoids with 15.21 and 1.77 mg g^{-1} FW, respectively increased during the dormancy and approaching to dormancy release in all cultivars. The results showed a clear and positive relationship between proline amino acid and non-enzymatic antioxidant compounds at low temperature. Also, different cultivars of a species showed different responses during the dormancy. As a result, it is important to consider biochemical changes during the dormancy periods in the selection of resistant and cold-sensitive almonds to spring frost.

Keywords: Antioxidant capacity, Cold, Flavonoids, Phenol total, Proline

Corresponding author, Email: mah.gholami@iut.ac.ir