



ارزیابی تحمل سرما در ارقام/ژنوتیپ‌های مختلف بادام با استفاده از برخی نشانگرهای زیستی جوانه‌های برگ

علی کسرائیان^{۱*}، علی تهرانی‌فر^۱، علی ایمانی^۲، یحیی سلاح‌ورزی^۱

۱- گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- پژوهشکده میوه‌های سردسیری و معتدله، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۰

چکیده

این مطالعه، نشانگرهای زیستی مرتبط با تحمل سرما در جوانه‌های برگ بادام و ارتباط آن‌ها با تحمل سرما در جوانه‌های گل بادام را ارزیابی کرد. تحمل سرما در جوانه‌های گل در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ برای ۲۶ و ۳۰ رقم/ژنوتیپ به ترتیب، با استفاده از تحلیل حرارتی، ارزیابی ظاهری و نشتی یون سنجیده شد. بر اساس این ارزیابی‌ها، ارقام/ژنوتیپ‌ها در چهار خوشه حساس، نیمه‌حساس، نیمه‌متحمل و متحمل دسته‌بندی شدند. در مقایسه با خوشه حساس، خوشه متحمل در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ به ترتیب دارای ۳/۳۸ و ۲/۹۷ درجه سانتی‌گراد دمای اگزوترم پایین‌تر، ۲۱ و ۱۶ درصد نشت یون کمتر، ۴۳ و ۲۶ درصد قندهای محلول بیشتر، ۲۰ و ۴۲ درصد پراکسید هیدروژن کمتر، ۴۷ و ۴۹ درصد پرولین بیشتر، ۲۴ و ۱۶ درصد ظرفیت ضد اکسیدانی بیشتر و ۱۰ و ۲۲ درصد ترکیبات فنلی بیشتر بود. همبستگی‌های معنی‌داری بین نشانگرهای زیستی جوانه برگ و شاخص‌های تحمل سرما در جوانه گل مشاهده شد که نشان می‌دهد نشانگرهای زیستی جوانه برگ می‌توانند نمایانگر تحمل سرما در جوانه گل باشند.

واژگان کلیدی: آسیب سرمازدگی، بادام، جوانه برگ، نشانگرهای زیستی، نشت یون.

Evaluation of Cold Tolerance in Different Almond Cultivars/Genotypes Using Some Biological Markers of Leaf Buds

Ali Kasraeian^{1*}, Ali Tehranifar¹, Ali Imani², Yahya Selahvarzi¹

1- Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2- Temperate Fruit Research Center, Horticultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: February 2025

Accepted: March 2025

Abstract

This study evaluated biological markers in almond leaf buds associated with cold tolerance and their relationship to the cold tolerance of almond flower buds. Flower bud cold tolerance was assessed in 2019 and 2020 for 26 and 30 cultivars/genotypes, respectively, using thermal analysis, visual assessment, and ion leakage. Based on these assessments, cultivars/genotypes were classified into four clusters: sensitive, semi-sensitive, semi-tolerant, and tolerant. Compared to the sensitive cluster, the tolerant cluster exhibited the following differences in 2019 and 2020, respectively: exotherm temperatures were lower by 3.38°C and 2.97°C; ion leakage was reduced by 21% and 16%; soluble sugar content increased by 43% and 26%; hydrogen peroxide levels decreased by 20% and 42%; proline levels increased by 47% and 49%; antioxidant capacity increased by 24% and 16%; and phenolic compounds increased by 10% and 22%. Significant correlations were found between leaf bud biomarkers and flower bud cold tolerance indices, suggesting that leaf bud biomarkers are indicative of flower bud cold tolerance.

Keywords: Almond, Biomarkers, Frost damage, Ion leakage, Leaf bud.

۱- مقدمه

بادام از نظر اقتصادی به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات خشکباری مناطق معتدله در جهان شناخته می‌شود. میزان تولید آن در نتیجه افزایش تقاضای جهانی و درآمد قابل توجه در واحد سطح، در کشورهای مختلف تولید کننده بادام در حال افزایش است (Hasanbegovic *et al.*, 2023; Pérez de los Cobos *et al.*, 2024). بادام یکی از مهم‌ترین محصولات باغی در ایران نیز می‌باشد که به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی همچون کارایی بالای مصرف آب، مقاومت به خشکی، سهولت در برداشت، حمل و نقل آسان، نگهداری راحت‌تر میوه و همچنین میزان بالای اشتغال‌زایی در فرایند تولید و فراوری، از دیرباز مورد توجه پرورش‌دهندگان قرار گرفته است (Imani *et al.*, 2023). خسارت سرمازدگی به گل‌ها و میوه‌های زودرس، چالشی مهم در کشت بادام در ایران و سایر نقاط جهان است که تغییرات آب و هوایی این مشکل را تشدید می‌کند. از آنجا که درختان بادام در اوایل بهار شکوفا می‌شوند، به طور فزاینده‌ای در برابر سرمازدگی آسیب‌پذیر هستند، موضوعی که می‌تواند منجر به خسارات اقتصادی قابل توجهی شود (Imani *et al.*, 2012). علاوه بر بادام، تنش سرما به طور قابل توجهی تولید محصولات میوه به ویژه درختان مناطق معتدله را محدود می‌کند (Kang *et al.*, 1998; Yu and Lee, 2020). تنش سرما یکی از تنش‌های محیطی است که می‌تواند بر فعالیت فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، رشد، نمو و بهره‌وری محصول تأثیر بسزایی داشته باشد (Manasa S *et al.*, 2022). گل‌ها و میوه‌های جوان اغلب درختان میوه برگ‌ریز در برابر سرمازدگی آسیب‌پذیر هستند در نتیجه، سرمازدگی بهار یک عامل محدود کننده اصلی در تولید و توزیع محصولات باغی است (Socias i Company and Gradziel, 2017). درختان میوه برگ‌ریز در تحمل سرمای بهار در درجه اول به ژنوتیپ آن‌ها بستگی دارد؛ ظرفیت آب‌سرمايش^۱ گل، زمان گلدهی و سایر خصوصیات غیرمستقیم که بر بقای گل‌ها تأثیر می‌گذارد مانند تراکم جوانه گل و یکنواختی رشد جوانه‌ها از

نظر ژنتیکی کنترل می‌شوند (Rodrigo, 2000). از آنجایی که بادام یک گونه زود شکوفا است، کشت بادام به مناطقی محدود شده است که خطر سرمای بهار کم است، باین‌حال، با گسترش کاشت بادام در مناطقی که به طور معمول سرمای بهار با شکوفه‌دهی بیشتر ارقام بادام هم‌زمان است خطر کاهش یا حتی از بین رفتن محصول به طور قابل توجهی افزایش یافته است (Socias i Company and Gradziel, 2017). از سوی دیگر تغییرات آب و هوایی، موجب می‌شود که الگوهای دما به طور فزاینده‌ای نامنظم شوند و دوره‌های طولانی‌تر و مکررتری از دوره‌های گرم ناپهنگام در طول فصل زمستان رخ دهد. این دوره‌های گرم ممکن است باعث از بین رفتن زودرس تحمل یخ‌زدگی و شکستن خواب جوانه‌ها شود و در نتیجه خطر آسیب بافتی در اثر یخبندان‌های بعدی را افزایش دهد (Winde *et al.*, 2017). یکی از راهبردهای اولیه برای مبارزه با خسارت سرمازدگی، توسعه ارقام دیرگل بادام است. این ارقام کمتر با یخبندان‌های دیررس بهار هم‌زمان می‌شوند (Guillamón *et al.*, 2022; Imani *et al.*, 2009). از این رو روند کارهای اصلاحی (به‌نژادی) در بادام به سمت توسعه ارقام دیرگل بوده است. این راه‌حل به‌تنهایی برای غلبه بر خسارت سرمازدگی بهار کافی نیست؛ بنابراین تحمل سرما نیز یک هدف در برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (Imani and Mahamadkhani, 2011; Socias i Company and Gradziel, 2017). ارزیابی‌ها از میزان تحمل سرما در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام، تنوع ژنتیکی قابل توجهی را در پاسخ آن‌ها به دماهای پایین و سرمازدگی نشان داده است. این ارزیابی‌ها براساس طیف متنوعی از روش‌ها مانند ارزیابی ظاهری از میزان خسارت سرمازدگی روی گل‌ها و میوه‌ها، ارزیابی میزان خسارت بر تشکیل و عملکرد میوه، اندازه‌گیری تغییرات فلورسانس کلروفیل، تجمع پرولین، میزان نشت یون و یا سایر اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در شرایط آزمایشگاهی و یا میدانی انجام می‌شود (Imani *et al.*, 2011; Socias i Company and Gradziel, 2017).

¹ Supercooling

شاخه‌ها به سرعت و در شرایط مناسب به آزمایشگاه منتقل شدند.

۲-۲- سنجش دمای اگزوترم

هنگامی که جوانه‌ها یخ می‌زنند، گرمای نهان آب موجود در آن‌ها آزاد می‌شود و منجر به تشکیل منحنی‌هایی در نمودار زمان-دما می‌شود که اگزوترم^۲ نامیده می‌شود و دمای آن به نام دمای اگزوترم نامیده می‌شود. این دما بیانگر دمایی است که یخ‌زدگی در جوانه‌ها آغاز شده است. تعیین این دما با استفاده از فریزر قابل برنامه‌ریزی و دیتالاگر چند کاناله با حسگرهای دمایی که به جوانه‌های سالم و بدون آسیب متصل شده بودند، انجام شد. نمونه‌ها با فوم عایق حرارتی و فویل آلومینیومی پیچیده شده و در فلاسک‌های از قبل سرد شده تا دمای پنج درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. فلاسک‌ها در یک محفظه انجماد قرار گرفتند که برای خنک شدن با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت برنامه‌ریزی شده بود. فرآیند انجماد در دمای پنج درجه سانتی‌گراد آغاز شد و تا رسیدن دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. دمای جوانه‌ها در فواصل ۲۰ ثانیه‌ای با استفاده از دیتالاگر کنترل و ثبت شد. اگزوترم جوانه گل و برگ با ثبت انحرافات ناگهانی دما مشخص گردید (Quamme, 1974; Salazar-Gutiérrez et al., 2014; Yu and Lee, 2020).

۲-۳- تیمار سرما

از یک محفظه دمای کنترل شده برای انجام تیمار سرما استفاده شد. محفظه به گونه‌ای برنامه‌ریزی شده بود که دما را به تدریج و با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش دهد. فرآیند خنک‌سازی در دمای هفت درجه سانتی‌گراد آغاز شد و تا رسیدن دما به ۳/۵- درجه سانتی‌گراد ادامه یافت. نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳/۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از آن دما به تدریج با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت افزایش یافت تا دوباره به هفت درجه سانتی‌گراد رسید (Miranda et al., 2005). پس از اعمال

شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما از طریق روش‌های ارزیابی مطمئن و استفاده از پتانسیل ژنتیکی آن‌ها، راه‌کار مؤثری برای غلبه بر خسارات سرمازدگی بهاره است. در این راستا، استفاده از نشانگرهای زیستی به عنوان ابزارهایی برای ارزیابی و پیش‌بینی تحمل به سرما می‌تواند اطلاعات ارزشمندی فراهم آورد. این نشانگرها به عنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متأثر از تنش سرما، می‌توانند به شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل کمک نمایند. مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط این نشانگرهای زیستی در جوانه‌های برگ و میزان تحمل سرما در جوانه‌های گل ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام انجام شده است. این تحقیق می‌تواند به شناسایی دقیق‌تر نشانگرهای مؤثر در پیش‌بینی و ارزیابی تحمل به سرما در بادام کمک نموده و به توسعه روش‌های مؤثر برای انتخاب و به‌نژادی ارقام متحمل به سرما منجر گردد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- شرایط زمانی، مکانی و مشخصات مواد

گیاهی مورد استفاده

این آزمایش در آغاز فصل رشد (اواخر زمستان و اوایل بهار) در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ در قالب دو آزمایش جداگانه براساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. مواد گیاهی مورد استفاده شامل شاخه‌های حاوی جوانه‌های گل از ارقام و ژنوتیپ‌های بادام بودند که از باغ تحقیقاتی واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی کرج (با موقعیت جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی، ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۲۵۰ متری از سطح دریا) در استان البرز انتخاب شدند. درختان مورد استفاده بین ۸ تا ۱۰ سال سن داشتند و تحت شرایط یکسان باغبانی، از جمله آبیاری منظم و کوددهی متناسب، نگهداری می‌شدند. سه شاخه حاوی جوانه‌های گل و برگ به طول ۲۰ تا ۲۵ سانتی‌متر از هر رقم/ژنوتیپ جمع‌آوری شده و به‌دقت در بطری‌های پلاستیکی حاوی آب قرار گرفتند تا از آسیب به نمونه‌ها جلوگیری شود. سپس، این

² Exotherm

بر گرم وزن تر گزارش گردید (Bates *et al.*, 1973; Tamayo and Bonjoch, 2001).

۲-۷- سنجش قندهای محلول

برای سنجش قندهای محلول عصاره نمونه‌ها با اتانول ۹۵ و ۷۰ درصد استخراج شدند و عصاره حاصل پس از سانتریفیوژ، برای اندازه‌گیری قندهای محلول استفاده شد. عصاره با معرف آنترون واکنش داده و پس از گرمادهی، جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار قندهای محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه و به صورت میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

۲-۸- سنجش پراکسید هیدروژن

میزان پراکسید هیدروژن براساس واکنش آن با پتاسیم یدید (KI) ارزیابی شد. به این منظور، عصاره نمونه‌ها با تری‌کلرواستیک‌اسید ۰/۱ درصد استخراج شده و پس از سانتریفیوژ، با بافر پتاسیم فسفات و یدید پتاسیم واکنش داده شد. مخلوط به مدت یک ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگهداری و سپس جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن محاسبه و به صورت میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد (Alexieva *et al.*, 2001).

۲-۹- سنجش ظرفیت ضد اکسیدانی کل

ظرفیت ضد اکسیدانی کل براساس توانایی مهار رادیکال DPPH (۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل^۳) ارزیابی شد (Brand-Williams *et al.*, 1995). به این منظور، عصاره نمونه‌ها با متانول ۸۰ درصد استخراج و پس از سانتریفیوژ، با محلول DPPH مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند و سپس جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر

سرما، شاخه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در شرایط محیطی (۲۴ درجه سانتی‌گراد ± 1) نگهداری شدند و بعد از آن سایر شاخص‌های مرتبط با تحمل سرمازدگی ارزیابی شدند.

۲-۴- سنجش آسیب سرمازدگی

پس از تیمار سرما، گل‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند و میزان خسارت سرمازدگی براساس درجه تغییر رنگ و قهوه‌ای شدن به صورت ظاهری ارزیابی و به شکل درصد آسیب سرمازدگی گزارش شد (Bigdeli Moheb *et al.*, 2018; Pakkish and Rekika *et al.*, 2005; Tabatabaieenia, 2016).

۲-۵- سنجش نشت یون

نشت یون براساس هدایت الکتریکی نسبی ارزیابی شد (Barranco *et al.*, 2005). به این منظور، پس از تیمار سرما، نمونه‌ها در آب مقطر قرار گرفته و هدایت الکتریکی اولیه (EC1) پس از ۲۴ ساعت تکان دادن در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها اتوکلاو شده و مجدداً هدایت الکتریکی نهایی (EC2) اندازه‌گیری گردید. در نهایت نشت یونی براساس هدایت الکتریکی نسبی (ECr) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و به صورت درصد نشت یون گزارش شد.

$$ECr = (EC1/EC2) \times 100$$

۲-۶- سنجش پرولین

برای سنجش پرولین ابتدا نمونه‌ها با محلول اسید سولفوسالسیلیک مخلوط و در هاون چینی کاملاً همگن و پس از سانتریفیوژ، با معرف نین‌هیدرین و اسید استیک واکنش داده شدند. مخلوط حاصل پس از گرمادهی در حمام بن‌ماری و سردسازی، با تولون استخراج و جذب فاز آلی در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب میکرومول

³ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ثبت شد. میزان مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه و به صورت درصد گزارش شد.

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

در این رابطه A control میزان جذب شاهد و A sample میزان جذب نمونه است.

۲-۱۰- سنجش ترکیبات فنلی کل

ترکیبات فنلی کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو تعیین شد (Velioglu et al., 1998). به این منظور، عصاره نمونه‌ها با متانول ۸۰ درصد استخراج و پس از سانتریفیوژ، به عصاره معرف فولین و سپس کربنات سدیم اضافه شد. پس از واکنش، جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک غلظت ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد.

۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب دو آزمایش جداگانه در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در سال ۱۳۹۸ تعداد ۲۶ ژنوتیپ/رقم و در سال ۱۳۹۹ تعداد ۳۰ ژنوتیپ/رقم مورد بررسی قرار گرفتند. تفاوت در

ترکیب و تعداد ارقام و ژنوتیپ‌ها با هدف افزایش تنوع ژنتیکی و بهبود پوشش دامنه تحمل به سرما صورت گرفت. به دلیل محدود بودن ارقام و ژنوتیپ‌های مشترک بین دو سال (تنها ۹ رقم/ژنوتیپ)، تجزیه مرکب داده‌ها امکان‌پذیر نبود و می‌توانست منجر به نتایج نادرست به دلیل تعامل غیرقابل کنترل «ژنوتیپ × سال» شود. بنابراین، داده‌ها به صورت جداگانه برای هر سال تحلیل شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب نسخه ۲۱ صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار فیشر در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. تحلیل همبستگی با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون و تجزیه و تحلیل خوشه‌ای با استفاده از روش وارد انجام شد و از فاصله اقلیدسی به منظور اندازه‌گیری فاصله عدم تشابه استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه واریانس شاخص‌های مرتبط با تحمل

سرما در جوانه‌های گل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که در هر دو سال آزمایش، شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های گل شامل دمای اغزوترم، آسیب سرمازدگی و نشت یون تحت تأثیر رقم/ژنوتیپ در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های گل بادام در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹.

میانگین مربعات MS			درجه آزادی	منابع تغییرات (سال ۱۳۹۸)
نشت یون	آسیب سرمازدگی	دمای اغزوترم		
۵۸/۳۶۷**	۷۸۹/۰۷**	۸/۳۷۱**	۲۵	رقم/ژنوتیپ
۵/۸۴۹	۴۱/۱۳	۰/۱۷۸	۵۲	خطا
۹/۴۷	۲۳/۴۵	۲۲/۱۰		ضریب تغییرات (درصد)
میانگین مربعات MS			درجه آزادی	منابع تغییرات (سال ۱۳۹۹)
نشت یون	آسیب سرمازدگی	دمای اغزوترم		
۱۱۹/۱۵۱**	۷۹۹/۳۹**	۱۱/۲۴۰**	۲۹	رقم/ژنوتیپ
۸۴۱.۵	۳۸/۱۶	۰/۱۷۰	۶۰	خطا
۱۳/۰۹	۲۵/۶۳	۲۳/۸۰		ضریب تغییرات (درصد)

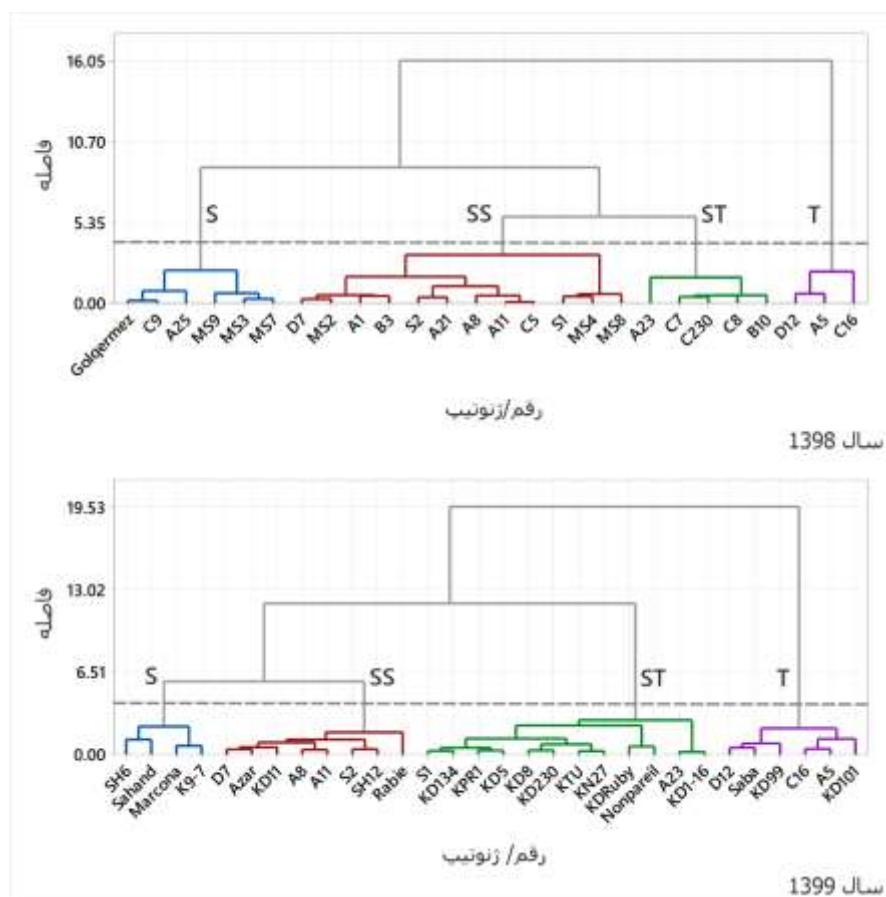
** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

۳-۲- دسته‌بندی ارقام/ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل

سرما

براساس نتایج ارزیابی تحمل سرما در جوانه‌های گل ۲۶ و ۳۰ رقم/ژنوتیپ مختلف در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹، با استفاده از آنالیز حرارتی، ارزیابی ظاهری و نشت یون و با در نظر گرفتن خط برش در حدود فاصله پنج اقلیدسی، ارقام و ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل سرما در چهار خوشه مجزا شامل حساس (S)، نیمه‌حساس (SS)، نیمه‌متحمل (ST) و متحمل (T) دسته‌بندی شدند. ارقام حساس بیشترین آسیب را در برابر سرما تجربه کردند، در حالی که ارقام متحمل کمترین آسیب را نشان دادند. در سال ۱۳۹۸ ارقام/ژنوتیپ‌های MS3، MS7،

MS4، MS8، C9، A25، MS9 و گل‌قرمز در خوشه حساس، MS4، MS8، S1، C5، A11، A8، A21، S2، B3، A1، MS2 و D7 در خوشه نیمه‌حساس، C8، B10، C230، C7 و A23 در خوشه نیمه‌متحمل و A5، C16، D12 در خوشه متحمل قرار گرفتند و در سال ۱۳۹۹ ارقام/ژنوتیپ‌های K9-7، مارکونا، SH6 و در خوشه حساس، Rabie، SH12، S2، A11، A8، KD11، KD1-16، D7 در خوشه نیمه‌حساس، KD230، KTU، KN27، KDRuby، نان‌پاریل، A23، KD5، KPR1، KD134 و S1 در خوشه نیمه‌متحمل و KD101، A5، C16، KD99، صبا و D12 در خوشه متحمل قرار گرفتند (شکل ۱).



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای برای ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه براساس شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های گل بادام در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل).

۳-۳- تجزیه واریانس نشانگرهای زیستی مرتبط

با تحمل سرما در جوانه‌های برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که نشانگرهای زیستی مرتبط با تحمل سرما در جوانه‌های برگ، شامل دمای اگزوترم، نشت یون، پرولین، قندهای محلول، پراکسید هیدروژن و ظرفیت ضد اکسیدانی، تحت تأثیر خوشه‌های حاصل از خوشه‌بندی ۲۶ رقم/ژنوتیپ در سال

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های برگ بادام در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹.

میانگین مربعات MS				درجه			منابع تغییرات	
ترکیبات فنلی	ظرفیت ضد اکسیدانی	پراکسید هیدروژن	قندهای محلول	پرولین	نشت یون	دمای اگزوترم	آزادی	(۱۳۹۸)
۰/۲۸ ^{NS}	۱۲۹/۶۵**	۱۳۹/۳۰**	۱۲/۴۳**	۹/۹۵**	۱۱۰/۷۲**	۸/۰۷**	۳	خوشه
۰/۴۰	۱۶/۲۲	۲۷/۳۱	۱/۷۲	۱/۰۶	۱۳/۴۷	۰/۳۹	۲۲	خطا
۱۲/۷۹	۱۱/۵۶	۲۰/۸۶	۱۵/۳۲	۲۶/۲۹	۹/۸۵	۱۶/۳۳	ضریب تغییرات (درصد)	
میانگین مربعات MS				درجه			منابع تغییرات	
ترکیبات فنلی	ظرفیت ضد اکسیدانی	پراکسید هیدروژن	قندهای محلول	پرولین	نشت یون	دمای اگزوترم	آزادی	(۱۳۹۹)
۰/۸۷*	۵۴/۵۶**	۴۲۶/۷۷**	۱۲/۸۴**	۶/۰۲*	۷۴/۰۶**	۱۲/۵۴**	۳	خوشه
۰/۲۷	۸/۳۶	۷۶/۹۵	۱/۹۶	۱/۳۷	۱۲/۵۰	۰/۴۶	۲۶	خطا
۱۶/۰۷	۷/۳۷	۲۷/۸۳	۱۳/۴۳	۲۰/۲۰	۹/۱۵	۱۶/۳۷	ضریب تغییرات (درصد)	

** و * و NS به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی‌دار

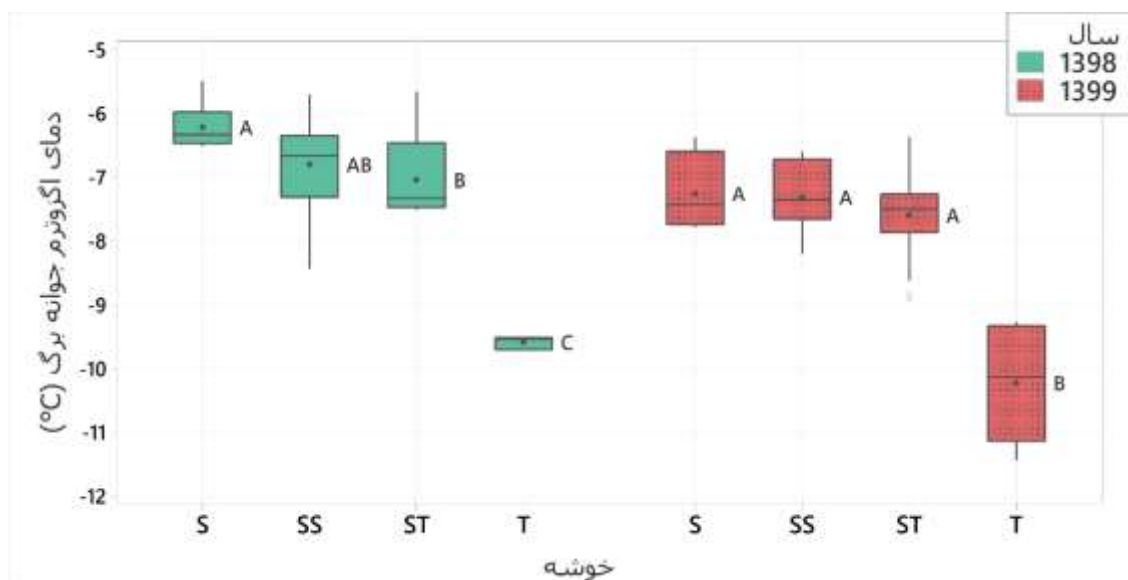
آن است که احتمالاً فرآیندهای سازگاری و سازگاری‌زدایی در جوانه‌های برگ و گل بادام سازوکارهای مشابهی دارند و به‌طور یکسان به سرما واکنش نشان می‌دهند. همبستگی‌های معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین دمای اگزوترم جوانه‌های برگ و سایر شاخص‌های تحمل سرما، نظیر دمای اگزوترم جوانه گل، آسیب سرمازدگی و نشت یون جوانه گل، این فرضیه را تقویت می‌کند که این شاخص‌ها به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم با یکدیگر ارتباط دارند و به‌طور مشترک می‌توانند به‌عنوان معیارهای قابل اطمینان برای ارزیابی تحمل

۳-۴- دمای اگزوترم جوانه برگ

در هر دو سال آزمایش دمای اگزوترم خوشه متحمل به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از دمای اگزوترم سایر خوشه‌ها است به‌طوری که دمای اگزوترم در خوشه متحمل ۳/۳۸ درجه سانتی‌گراد در سال ۱۳۹۸ و ۲/۹۷ درجه سانتی‌گراد در سال ۱۳۹۹ پایین‌تر از دمای اگزوترم خوشه حساس است (شکل ۲)، که نشان‌دهنده تفاوت‌های فیزیولوژیکی و ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام در پاسخ به سرما است. این یافته‌ها حاکی از

نیازمند تحقیقات تکمیلی و میدانی و اجرای آزمایش‌های بیشتر است. مطالعات پیشین بر روی زردآلو (Kaya et al., 2018) و گیلان (Kaya and Kose, 2022) پس از پایان دوره رکود جوانه‌ها نشان داده است که ارقام مختلف دمای اگزوترم متفاوتی دارند، که این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

به سرما در مراحل مختلف فنولوژیکی استفاده شوند. این یافته‌ها امکان استفاده از آنالیز حرارتی جوانه‌های برگ را به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی تحمل به سرما در بادام نشان می‌دهند. علاوه بر این، احتمال دارد که این روش به‌عنوان ابزاری برای شناسایی ارقام متحمل به سرما با استفاده از جوانه‌های برگ دانه‌های بادام در مرحله نونهالی و رویشی قبل از مرحله بلوغ به کار گرفته شود، که برای تأیید این کاربرد



شکل ۲- دمای اگزوترم جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۵٪).

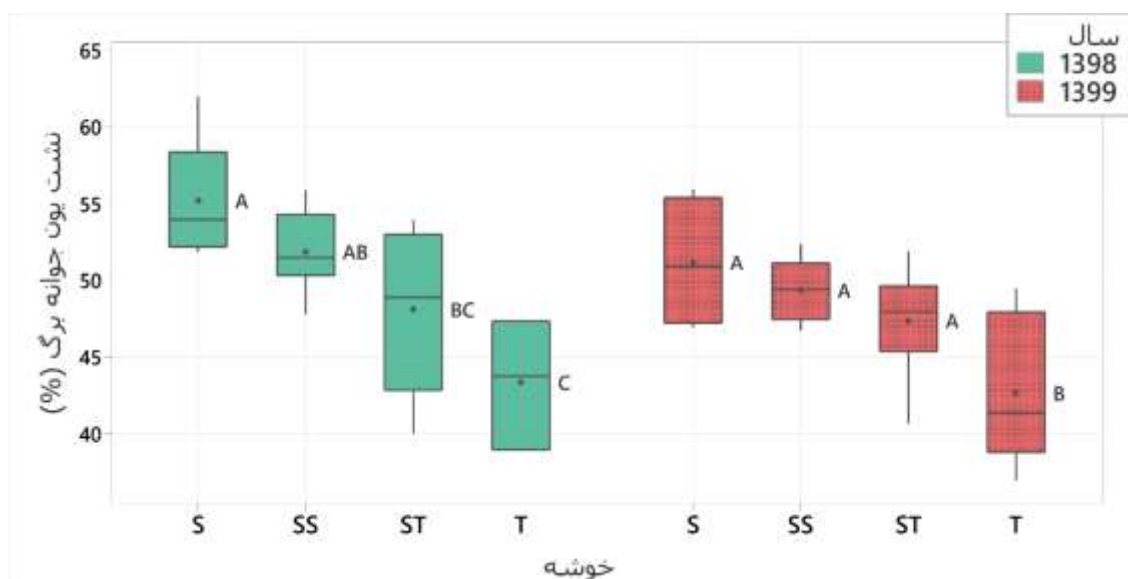
غشای سلولی و کاهش یکپارچگی غشا در اثر سرمای شدید، نشت یونی بیشتری تجربه می‌کنند. در مقابل، ارقام/ژنوتیپ‌های متحمل به سرما به دلیل پایداری بالاتر غشاهای سلولی در برابر سرمای شدید، نشت یونی کمتری دارند. هر گونه آسیب به غشای سلولی گیاه، منجر به نشت محتوای درون سلول خواهد شد (Yu and Lee, 2020). مطالعات قبلی نشان داده است که اثر سرمازدگی بر غشای سلولی گیاهی، موجب کاهش نفوذپذیری و افزایش حساسیت به شکستگی آن‌ها می‌شود که در نتیجه نشت املاح از سلول‌های آسیب‌دیده را به همراه دارد (Barranco et al., 2018).

۳-۵- نشت یون جوانه برگ

بیشترین میزان نشت یون مربوط به خوشه حساس و کمترین میزان آن مربوط به خوشه مقاوم است به‌طوری که میزان نشت یون خوشه مقاوم نسبت به خوشه حساس ۲۱ و ۱۶ درصد به‌ترتیب در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ کمتر است (شکل ۳). خوشه‌های حساس و نیمه‌حساس بیشترین میزان نشت یونی را دارند، درحالی‌که خوشه متحمل کمترین میزان نشت یونی را دارد. این تفاوت به توانایی ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف در مقابله با آسیب‌های سرما مربوط است؛ احتمالاً ارقام/ژنوتیپ‌های حساس به سرما به‌دلیل ضعف در ساختار

ژنوتیپ‌های مقاوم‌تر به سرما، نشت یونی کمتری دارند (Bigdeli Moheb *et al.*, 2018; Imani *et al.*, 2011). در پسته نیز گزارش شده است که در شرایط تنش سرما، میزان نشت یونی خوشه گل بر روی پایه‌های متحمل به سرما به‌طور معنی‌داری کمتر از پایه‌های حساس به سرما است (Tajabadipour *et al.*, 2018).

(Lindén *et al.*, 2000; 2005). این پاسخ که با نشت یونی، آسیب سرمازدگی و دمای اگزوترم جوانه‌های گل همبستگی مثبت دارد می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مفید در کنار سایر شاخص‌ها برای ارزیابی تحمل به سرمازدگی در بادام استفاده شود (جدول ۳). یافته‌های این مطالعه با نتایج تحقیقات پیشین در بادام هم‌خوانی دارد که نشان می‌دهند ارقام و



شکل ۳- نشت یون جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۵٪).

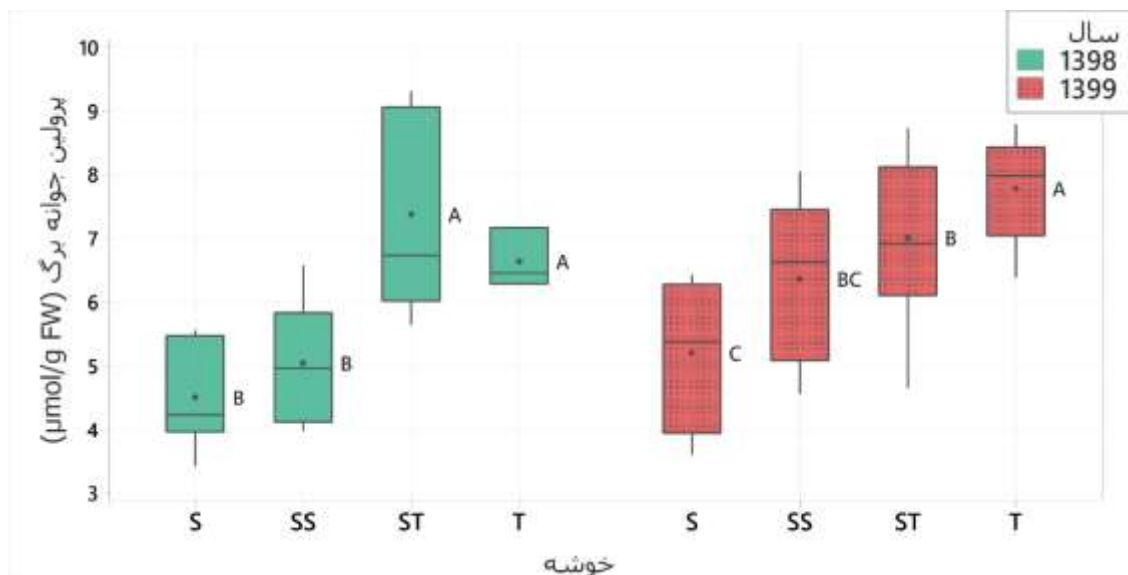
اسمولیت سازگار و آنتی‌اکسیدان شناخته شده است که با حفظ تعادل اسمزی سلول‌ها و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو، توانمندی گیاه در تحمل سرمای شدید را افزایش می‌دهد (Hasanuzzaman *et al.*, 2019; Roychoudhury *et al.*, 2015). همچنین بیان شده است که در شرایط تنش سرما، اسمولیت‌هایی مانند پرولین به تثبیت ساختار ماکرومولکولی غشای کلروپلاست کمک می‌کنند (Pakkish *et al.*, 2016). این افزایش پرولین در ارقام متحمل می‌تواند به عنوان شاخصی زیستی برای انتخاب و بهبود ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در بادام به کار رود.

۳-۶- پرولین جوانه برگ

مقایسه میانگین‌ها برای پرولین نشان می‌دهد که میزان پرولین خوشه‌های متحمل و نیمه‌متحمل در هر دو سال آزمایش به‌طور معنی‌داری بیشتر از خوشه حساس است. بیشترین میزان پرولین در سال ۱۳۹۸ مربوط به خوشه نیمه‌متحمل و در سال ۱۳۹۹ مربوط به خوشه متحمل است که به‌ترتیب ۶۳ و ۴۹ درصد بیشتر از خوشه حساس است (شکل ۴). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که افزایش سطح پرولین در جوانه‌های برگ ارقام متحمل و نیمه‌متحمل بادام نقش کلیدی در مقابله با تنش سرما دارد. پرولین به‌عنوان یک

می‌کند که پرولین می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی معتبر برای ارزیابی تحمل به سرما در بادام، در کنار سایر روش‌های ارزیابی، مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه‌ای که بر روی ارقام مختلف زردآلو در طی فرآیند سازگاری به سرما و سازگاری‌زدایی از ابتدای پاییز تا اواخر اسفند انجام شد، مشاهده گردید که میزان پرولین در ارقام مختلف به‌طور معنی‌داری متفاوت است. باین‌حال، روند تغییرات پرولین در جوانه‌های رویشی و زایشی یک رقم، مشابه یکدیگر بوده و تفاوت معنی‌داری در میزان پرولین بین این دو نوع جوانه مشاهده نگردید (Abedi *et al.*, 2011). این یافته‌ها حاکی از آن است که علی‌رغم تفاوت میزان پرولین در ارقام مختلف، واکنش‌های بیوشیمیایی مرتبط با فرآیند سازگاری به سرما در جوانه‌های رویشی و زایشی از یک الگوی مشابه پیروی می‌کنند.

همچنین، تفاوت معنی‌دار پرولین بین خوشه‌های متحمل و حساس، نشان‌دهنده توانایی متفاوت این ژنوتیپ‌ها در فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی و تنظیمات متابولیکی مرتبط با مقاومت به سرما است. این یافته‌ها همسو با نظریه‌های پیشین درباره نقش پرولین در تنش‌های غیرزیستی است و اهمیت آن را در بهبود عملکرد گیاه در شرایط محیطی نامساعد و تنش سرما برجسته می‌سازد. مطالعات پیشین در بادام نشان داده‌اند که ژنوتیپ‌هایی که مقاومت بیشتری به سرما از خود نشان می‌دهند، معمولاً مقادیر بالاتری از پرولین را در خود تجمع می‌دهند که با یافته‌های این پژوهش هم‌راستا است (Imani *et al.*, 2012; Imani *et al.*, 2023). تحلیل همبستگی نشان می‌دهد که بین میزان پرولین در جوانه‌های برگ و شاخص‌های تحمل سرما در جوانه‌های گل (شامل دمای اگزوترم، آسیب سرمازدگی و نشت یون) همبستگی منفی و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). این نتایج تأیید



شکل ۴- پرولین جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۵٪).

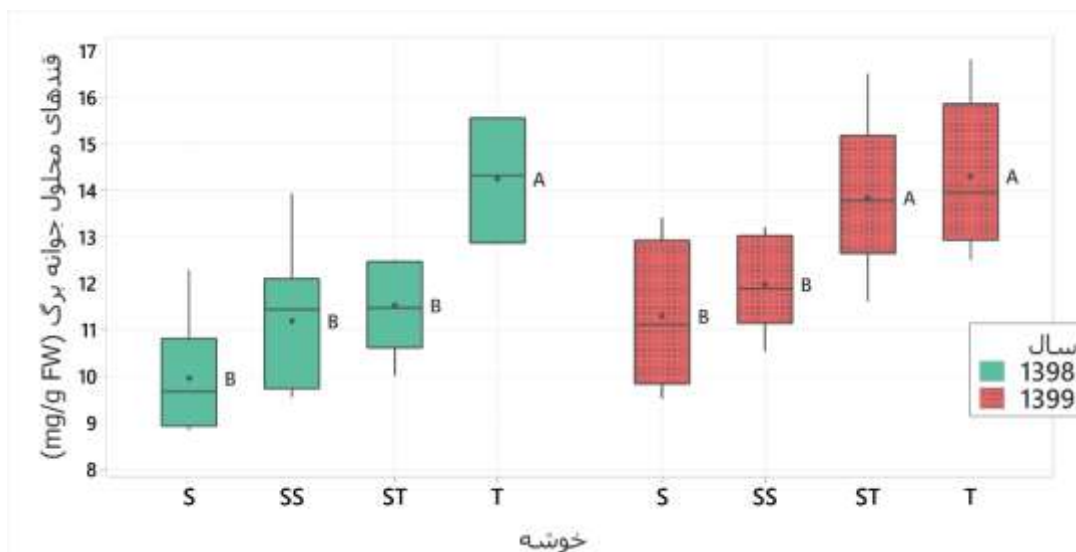
نسبت به خوشه حساس ۴۳ و ۲۶ درصد به‌ترتیب در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ بیشتر است (شکل ۵)، که این موضوع ارتباط مثبت قندهای محلول با تحمل سرما در ارقام بادام را نشان می‌دهد. افزایش سطح قندهای محلول در ارقام متحمل می‌تواند ناشی از توانایی آن‌ها در حفظ فشار اسمزی سلولی و

۳-۷- قندهای محلول جوانه برگ

مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که میزان قندهای محلول خوشه متحمل در سال ۱۳۹۸ و نیمه‌متحمل و متحمل در سال ۱۳۹۹ به‌طور معنی‌داری بیشتر از خوشه حساس و نیمه‌حساس است. میزان قندهای محلول خوشه متحمل

2018). علاوه بر این، وجود همبستگی منفی و معنی‌دار بین میزان قندهای محلول در جوانه‌های برگ و شاخص‌های آسیب سرما مانند دمای اگزوترم، میزان آسیب سرمازدگی و نشت یون در جوانه‌های گل، نشان‌دهنده نقش مثبت قندهای محلول در کاهش آسیب‌های سرما و افزایش تحمل گیاه به سرما است (جدول ۳). بررسی قندهای محلول در ارقام مختلف زردآلوی فرآورده‌های سازگاری به سرما و سازگاری‌زایی که از ابتدای پاییز تا اواخر اسفند انجام شد، نشان داد که میزان قندهای محلول در ارقام مختلف به‌طور معنی‌داری متفاوت است. با این حال، روند تغییرات قندهای محلول در جوانه‌های رویشی و زایشی مشابه یکدیگر بوده و تفاوت معنی‌داری در میزان قندهای محلول بین این دو نوع جوانه مشاهده نشد (Abedi et al., 2011). بنابراین، قندهای محلول در جوانه‌های برگ احتمالاً می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای زیستی، در کنار سایر روش‌های ارزیابی، برای شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در بادام مورد استفاده قرار گیرند.

تثبیت ساختار غشا در دماهای پایین باشد. این ترکیبات احتمالاً با جلوگیری از تبلور یخ، پایداری ساختارهای سلولی را حفظ کرده و از آسیب‌های مکانیکی ناشی از انجماد جلوگیری می‌کنند. همچنین، قندهای محلول می‌توانند به‌عنوان منابع انرژی در شرایط سرما عمل کرده و در بازسازی سلول‌های آسیب‌دیده نقش داشته باشند (Yuanyuan et al., 2009). نتایج این پژوهش حاکی از آن است که سطوح بالاتر قندهای محلول در ارقام متحمل ممکن است به حفظ عملکرد متابولیکی در دماهای پایین کمک کرده و به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های کلیدی در افزایش تحمل به سرما عمل نماید. مطالعات قبلی که از نتایج ما حمایت می‌کنند، نشان داده‌اند که قندهای محلول کل همبستگی نزدیکی با تحمل سرما در بافت‌های تنه درختان هلو دارند (Yu DukJun et al., 2017) و در پسته نیز میزان قندهای محلول در خوشه گل در پایه‌های مقاوم به سرما به‌طور معنی‌داری بیشتر از پایه‌های حساس به سرما بوده است (Tajabadipour et al., 2017).



شکل ۵- قندهای محلول جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه حساس، ST: نیمه متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۵٪).

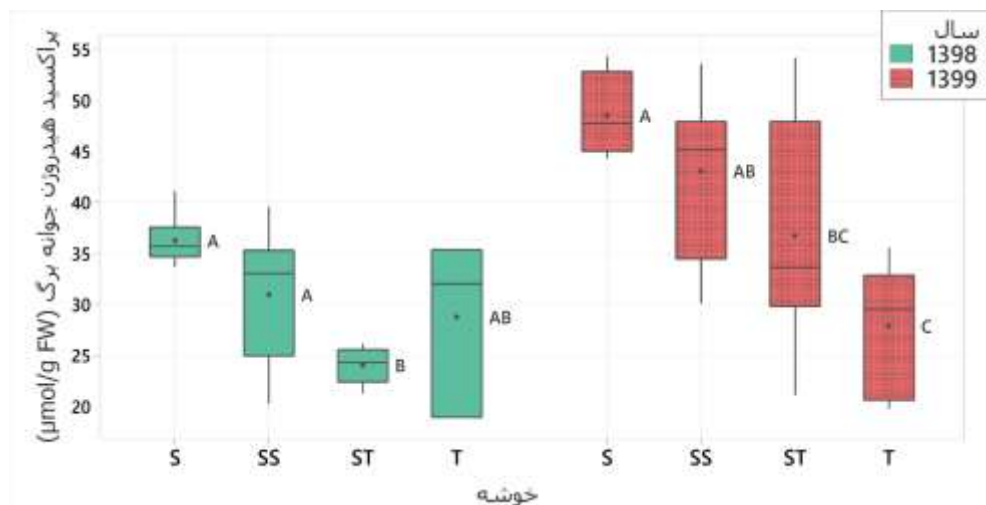
خوشه‌بندی ارقام/ژنوتیپ‌ها به صورت قابل توجهی متفاوت است. کمترین میزان پراکسید هیدروژن در سال ۱۳۹۸ مربوط به خوشه نیمه متحمل و در سال ۱۳۹۹ مربوط به خوشه متحمل است که تفاوت معنی‌داری با خوشه حساس و

۳-۸- پراکسید هیدروژن جوانه برگ

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان پراکسید هیدروژن در جوانه‌های برگ ارقام بادام تحت تأثیر ژنتیک و

ارقام متحمل با حفظ تعادل اکسیداتیو و کاهش تولید پراکسید هیدروژن، یکپارچگی غشاها و ساختارهای سلولی را حفظ کرده و توانایی بیشتری در مقابله با شرایط سرمایی دارند. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین پراکسید هیدروژن جوانه‌های برگ و آسیب سرمازدگی، دمای انجماد، و نشت یونی جوانه‌های گل (جدول ۳)، به وضوح ارتباط مستقیم تولید گونه‌های اکسیژن فعال با تخریب غشای سلولی و آسیب به ساختارهای داخلی گیاه را تأیید می‌کند. پراکسید هیدروژن با کمک به تشکیل رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال هیدروکسیل، می‌تواند فرآیندهای اکسیداتیو را در سلول‌های گیاهی تشدید کند (Gill and Tuteja, 2010). بررسی تغییرات میزان پراکسید هیدروژن در خوشه گل پسته رقم احمدآقایی روی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به سرما تحت تنش یخ‌زدگی نشان داد که تنش سرما باعث افزایش تولید پراکسید هیدروژن در ژنوتیپ‌های حساس گردیده است، به‌طوری‌که میزان آن در ژنوتیپ‌های حساس به سرما چهار تا هفت برابر بیشتر از ژنوتیپ‌های متحمل بود (Tajabadipour et al., 2018). این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

نیمه‌حساس دارند و میزان آن نسبت به خوشه حساس به‌ترتیب ۳۳ و ۴۲ درصد کمتر است (شکل ۶). این تفاوت بیانگر آن است که ارقام مقاوم‌تر قادر به کنترل بهتر تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن در شرایط استرس سرمایی هستند. پراکسید هیدروژن به عنوان یک مولکول مهم در واکنش‌های اکسیداتیو، در غلظت‌های بالا می‌تواند منجر به تولید رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار واکنش‌پذیر شود که به شدت به مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌زنند. بنابراین، کنترل میزان تولید و حذف پراکسید هیدروژن توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه برای حفظ سلامت سلولی و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو حیاتی است (Gill and Tuteja, 2010; Marta et al., 2016). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که ارقام حساس به سرما به دلیل ناتوانی در مهار تولید پراکسید هیدروژن و حذف موثر آن، بیشتر در معرض آسیب ناشی از استرس سرمایی قرار دارند؛ این امر با افزایش میزان نشت یونی و آسیب به غشای سلولی همراه است که به کاهش عملکرد و سلامت گیاه منجر می‌شود. در مقابل،



شکل ۶- پراکسید هیدروژن جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۵٪).

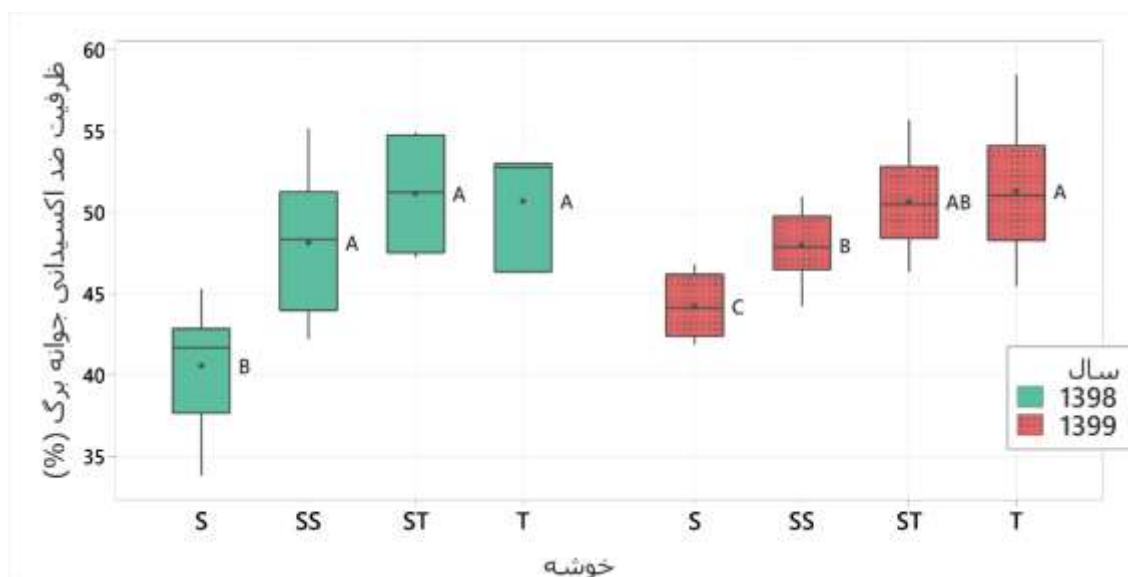
خوشه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام قرار دارد. در سال ۱۳۹۸ بیشترین ظرفیت ضد اکسیدانی مربوط به خوشه نیمه‌متحمل است که تفاوت معنی‌داری با خوشه متحمل و نیمه‌حساس

۳-۹- ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه برگ

نتایج نشان می‌دهد که ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه‌های برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر خوشه‌های حاصل از

آسیب سلولی جلوگیری می‌کنند (Hasanuzzaman *et al.*, 2019). در این پژوهش نیز مشاهده شده که ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه‌های برگ در ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه‌متحمل بیشتر است، که احتمالاً عامل مهمی در افزایش مقاومت این ژنوتیپ‌ها به سرما محسوب می‌شود. همچنین، تحلیل همبستگی نشان داده که ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه‌های برگ رابطه منفی و معنی‌داری با شاخص‌های آسیب سرمازدگی، دمای اگزوترم و نشت یونی جوانه‌های گل دارد (جدول ۳)؛ یعنی هرچه ظرفیت ضد اکسیدانی بالاتر باشد، میزان آسیب سرمازدگی و نشت یونی کمتر است. این موضوع نقش حیاتی ظرفیت ضد اکسیدانی را در کاهش آسیب سلولی ناشی از استرس سرمایی تأیید می‌کند. در مطالعه‌ای مشابه بر روی بادام، نتایج نشان داد که ظرفیت ضد اکسیدانی در پاسخ به کاهش دما افزایش می‌یابد و تحت تأثیر ژنوتیپ‌ها قرار دارد، که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد (Bigdeli Moheb *et al.*, 2018). در مجموع، ظرفیت ضد اکسیدانی بالا به عنوان یک سازوکار دفاعی مهم در ارقام/ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه‌متحمل به سرما عمل می‌کند و می‌تواند به عنوان یک شاخص زیستی برای شناسایی ارقام مقاوم به سرما مورد استفاده قرار گیرد.

ندارد و نسبت به خوشه حساس ۲۶ درصد بیشتر است. در سال ۱۳۹۹ بالاترین ظرفیت ضد اکسیدانی به خوشه متحمل تعلق دارد که با خوشه نیمه‌متحمل تفاوت معنی‌داری ندارد و نسبت به خوشه حساس و نیمه‌حساس به ترتیب ۱۶ و ۷ درصد بیشتر است (شکل ۷). تنش سرمایی با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود. این گونه‌های واکنش‌پذیر می‌توانند به مولکول‌های حیاتی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برسانند و عملکرد سلولی را مختل کنند. بنابراین، وجود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی موثر در گیاهان، یکی از مکانیسم‌های حیاتی برای حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن است. آنتی‌اکسیدان‌ها شامل ترکیبات محلول در چربی و آب و آنزیم‌های مختلف هستند که به کاهش آسیب‌های اکسیداتیو کمک می‌کنند (Gholami *et al.*, 2012). مطالعات نشان داده‌اند که تنش سرمایی منجر به افزایش فعالیت و سطح آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند آسکوربات و گلوکاتیون و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌شود که این واکنش‌ها به حفظ تعادل ردوکس سلولی کمک می‌کنند و از

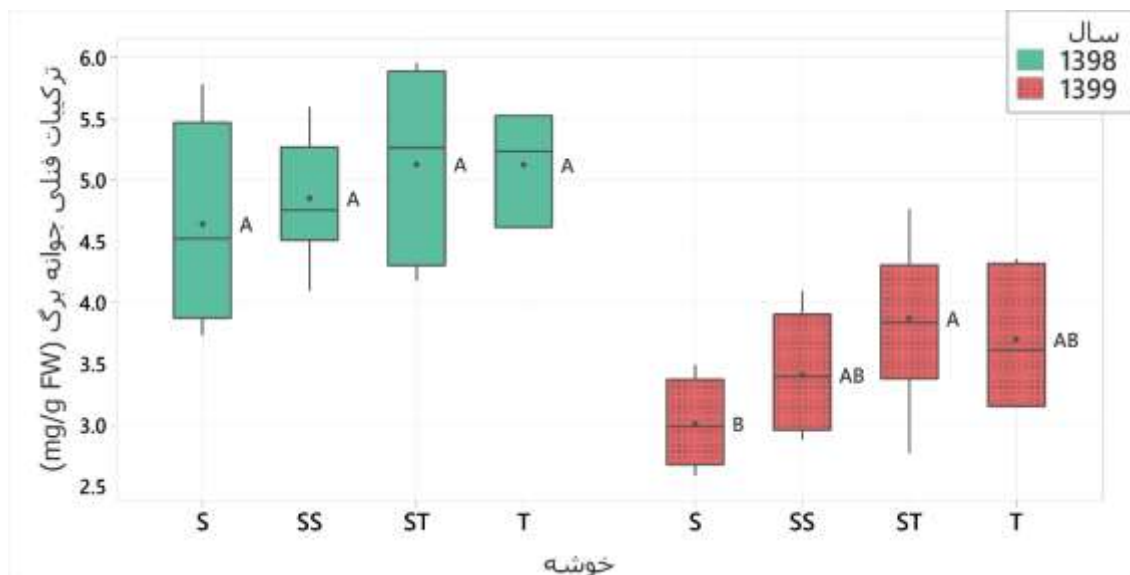


شکل ۷- ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۵٪).

۳-۱۰- ترکیبات فنلی کل جوانه برگ

نتایج مطالعه نشان می‌دهد که بین خوشه‌های مختلف در میزان ترکیبات فنلی جوانه‌های برگ برای سال ۱۳۹۸ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و در سال ۱۳۹۹ خوشه نیمه‌متحمل بیشترین میزان ترکیبات فنلی را دارد که با خوشه متحمل و نیمه‌حساس تفاوت معنی‌داری ندارد و نسبت به خوشه حساس ۲۸ درصد بیشتر است (شکل ۸). این یافته‌ها می‌تواند بیانگر تأثیر شرایط محیطی سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ بر میزان سنتز و تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان باشد، چرا که سنتز ترکیبات فنلی و دیگر متابولیت‌های ثانویه به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. ترکیبات فنلی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در گیاهان هستند که قادرند رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و از آسیب اکسیداتیو سلول‌ها جلوگیری کنند. این ترکیبات همچنین می‌توانند با کمپلکس

کردن فلزات سنگین، تشکیل رادیکال‌های آزاد را مهار کرده و فعالیت آنزیم‌های دفاعی را افزایش دهند (Król et al., 1996; Rice-Evans et al., 2015). به همین دلیل، افزایش مقدار ترکیبات فنلی می‌تواند یکی از مکانیسم‌های کلیدی گیاهان برای مقابله با استرس‌های محیطی به ویژه تنش سرمایی باشد. آنالیز همبستگی در سال ۱۳۹۹ نشان داده که ترکیبات فنلی جوانه‌های برگ ارتباط منفی و معنی‌داری با آسیب سرمازدگی و نشت یونی دارند (جدول ۳)، که این امر نقش حفاظتی و مهم این ترکیبات در حفظ سلامت سلولی و کاهش آسیب‌های ناشی از سرما را برجسته می‌کند. مطالعه تأثیرات تنش سرما بر ترکیبات فنولیک و ظرفیت ضداکسیدانی برگ‌های انگور نشان داد که در نهال‌های انگور مقاوم به سرما، محتوای کل ترکیبات فنولیک و فعالیت ضداکسیدانی بیشتر از نهال‌های حساس به سرما بوده است (Król et al., 2015).



شکل ۸- ترکیبات فنلی جوانه‌های برگ بادام از چهار خوشه با تحمل سرما متفاوت (S: حساس، SS: نیمه‌حساس، ST: نیمه‌متحمل، T: متحمل) در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹. خط داخل جعبه نمایانگر میانه (Q2)، طول جعبه دامنه بین چارک اول و سوم (Q1-Q3)، خطوط عمودی حداقل و حداکثر داده‌ها و نقطه میانگین را نشان می‌دهند. میانگین‌های با حرف مشترک در هر سال تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون LSD، سطح ۰.۰۵٪).

۳-۱۱- همبستگی‌ها

تحلیل همبستگی نشان می‌دهد که بین نشانگرهای زیستی تحمل سرما در جوانه برگ و شاخص‌های تحمل سرما در جوانه گل، همبستگی‌های معنی‌داری وجود دارد که

می‌تواند در انتخاب مؤثرترین شاخص‌ها برای ارزیابی تحمل سرما در بادام مفید باشد. در هر دو سال، دمای اگزوترم جوانه برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با تمامی شاخص‌های تحمل سرما در جوانه گل نشان داد. همچنین، نشت یون در جوانه برگ همبستگی مثبت و

در جوانه برگ در هر دو سال، عمدتاً همبستگی ضعیف یا غیر معنی‌داری با شاخص‌های تحمل سرما در جوانه گل نشان دادند، که این امر نشان‌دهنده نقش محدودتر این ترکیبات در پیش‌بینی تحمل به سرما در جوانه گل است (جدول ۳).

جدول ۳- ضریب همبستگی پیرسون بین برخی از نشانگرهای زیستی تحمل سرما جوانه برگ با شاخص‌های تحمل سرما جوانه گل ارقام/ژنوتیپ‌های بادام در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹.

متغیرها (سال ۱۳۹۸)	دمای اگزوترم جوانه گل	آسیب سرمازدگی جوانه گل	نشت یون جوانه گل
دمای اگزوترم جوانه برگ	۰/۸۹۶**	۰/۶۵۰**	۰/۷۳۶**
نشت یون جوانه برگ	۰/۶۱۸**	۰/۶۳۸**	۰/۶۰۱**
پرولین جوانه برگ	-۰/۴۰۳*	-۰/۵۰۵**	-۰/۴۵۸*
قندهای محلول جوانه برگ	-۰/۶۸۸**	-۰/۶۹۲**	-۰/۶۲۹**
پراکسید هیدروژن جوانه برگ	۰/۱۸۳ ^{ns}	۰/۵۰۷**	۰/۴۵۵*
ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه برگ	-۰/۳۲۲ ^{ns}	-۰/۶۱۴**	-۰/۳۷۸ ^{ns}
ترکیبات فنلی کل جوانه برگ	-۰/۱۸۹ ^{ns}	-۰/۲۵۳ ^{ns}	-۰/۱۷۴ ^{ns}
متغیرها (سال ۱۳۹۹)	دمای اگزوترم جوانه گل	آسیب سرمازدگی جوانه گل	نشت یون جوانه گل
دمای اگزوترم جوانه برگ	۰/۹۰۷**	۰/۷۲۰**	۰/۴۷۹**
نشت یون جوانه برگ	۰/۶۲۱**	۰/۵۹۲**	۰/۴۹۶**
پرولین جوانه برگ	-۰/۴۰۳*	-۰/۴۶۵*	-۰/۵۲۲**
قندهای محلول جوانه برگ	-۰/۴۱۸*	-۰/۶۰۳**	-۰/۵۶۱**
پراکسید هیدروژن جوانه برگ	۰/۵۰۰**	۰/۵۰۸**	۰/۵۲۳**
ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه برگ	-۰/۴۰۶*	-۰/۶۰۳**	-۰/۶۳۳**
ترکیبات فنلی کل جوانه برگ	-۰/۲۴۴ ^{ns}	-۰/۴۱۶*	-۰/۴۰۱*

***، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی‌دار

۴- نتیجه‌گیری کلی

کمتر و ۴۳ و ۲۶ درصد قندهای محلول بیشتری داشت. بیشترین میزان پرولین در سال ۱۳۹۸ مربوط به خوشه نیمه‌متحمل و در سال ۱۳۹۹ مربوط به خوشه متحمل بود که به ترتیب ۶۳٪ و ۴۹٪ بیشتر از خوشه حساس است. کمترین میزان پراکسید هیدروژن در سال ۱۳۹۸ مربوط به خوشه نیمه‌متحمل و در سال ۱۳۹۹ مربوط به خوشه متحمل بود که نسبت به خوشه حساس به ترتیب ۳۳٪ و ۴۲٪ کمتر بود. بالاترین ظرفیت ضد اکسیدانی در سال ۱۳۹۸ به خوشه نیمه‌متحمل و در سال ۱۳۹۹ به خوشه متحمل تعلق داشت که نسبت به خوشه حساس به ترتیب ۲۶٪ و ۱۶٪ بیشتر بود. در سال ۱۳۹۸ تفاوت معنی‌داری بین خوشه‌های مختلف در

این مطالعه نشان داد که نشانگرهای زیستی مرتبط با تحمل سرما در جوانه‌های برگ، از جمله دمای اگزوترم، نشت یون، پرولین، قندهای محلول، میزان پراکسید هیدروژن، ظرفیت ضد اکسیدانی و ترکیبات فنلی کل، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر خوشه‌های حاصل از دسته‌بندی ارقام/ژنوتیپ‌های بادام براساس معیارهای تحمل سرمازدگی جوانه‌های گل قرار می‌گیرند. به‌طور کلی، در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹، خوشه متحمل نسبت به خوشه حساس به ترتیب ۳/۳۸ و ۲/۹۷ درصد سانتی‌گراد دمای اگزوترم پایین‌تر، ۲۱ و ۱۶ درصد نشت یون

جوانه‌های برگ سرمازدگی جوانه‌های گل را تأیید می‌کنند، اما بالاترین ضریب همبستگی بین دمای اگزوترم جوانه‌های برگ و شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های گل مشاهده شد که نشان می‌دهد دمای اگزوترم جوانه‌های برگ این پتانسیل را دارد که به عنوان شاخصی برای تحمل سرمازدگی بهاره در درختان بادام عمل کند. در نهایت، انجام تحقیقات بیشتر، از جمله مطالعات میدانی با استفاده از ارقام ژنوتیپ‌های مقاوم یا حساس به دماهای پایین، برای تأیید یافته‌های این تحقیق ضروری است.

میزان ترکیبات فنلی جوانه‌های برگ وجود نداشت، اما در سال ۱۳۹۹ خوشه نیمه‌متحمل بیشترین میزان ترکیبات فنلی را داشت که نسبت به خوشه حساس ۲۸٪ بیشتر بود. دمای اگزوترم، نشت یون و سطح پراکسید هیدروژن جوانه‌های برگ با شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های گل همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند. از سوی دیگر، میزان تجمع پرولین، قندهای محلول و ظرفیت ضد اکسیدانی جوانه‌های برگ با شاخص‌های تحمل سرما جوانه‌های گل همبستگی منفی و معنی‌داری نشان دادند. اگرچه شاخص‌های تحمل سرما

تضاد و تعارض منافع - نویسندگان هر گونه تعارض و تضاد منافع اعم از تجاری و غیر تجاری و شخصی را که در ارتباط مستقیم یا غیر مستقیم با اثر منتشر شده است رد می‌نمایند.

منابع

- Abedi, B., Tafazoli, E., Rahemi, M., Khold Barin, B., & Ganji, E. (2011). Seasonal Change in Carbohydrates, Starch, Proline and Water Status during Dormancy of some Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 41(4), 375-382. [In Persian].
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337-1344.
- Barranco, D., Ruiz, N., & Gómez-del-Campo, M. (2005). Frost tolerance of eight olive cultivars. *HortScience*, 40(3), 558-560.
- Bates, L. S., Waldren, R., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Bigdeli Moheb, M., Imani, A., & Shamili, M. (2018). The evaluation of almond progenies of cold-susceptible and cold-tolerant parents (Filippo-Ceo × Shahrood-12). *Scientia Horticulturae*, 234, 176-183.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Gholami, M., Rahemi, M., Kholdebarin, B., & Rastegar, S. (2012). Biochemical responses in leaves of four fig cultivars subjected to water stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 148, 109-117.
- Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Guillamón, J. G., Egea, J., Mañas, F., Egea, J. A., Dicenta, F. (2022). Risk of extreme early frosts in almond. *Horticulturae*, 8(8), 687. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080687>
- Hasanbegovic, J., Hadizabulic, S., Kurtović, M., Gaši, F., Ercisli, S., Dorbić, B., & Durul, M.S. (2024). Genetic and morphological diversity of introduced cultivars of almonds (*Prunus amygdalus* L.) in Bosnia and Herzegovina. *Cellular and Molecular Biology*, 70(7), 106-114.
- Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Oku, H., & Islam, T. (2019). Plant Tolerance to Environmental Stress.
- Imani, A., Barzegar, K., Piripireivatlou, S. (2011). Relationship between frost injury and ion leakage as an indicator of cold hardiness in 60 almond selections. *Journal of Nuts*, 2(1), 22-26.
- Imani, A., Ezaddost, M., Asgari, F., Masoumi, S., & Raeisi, I. (2012). Evaluation the resistance of almond to frost in controlled and field conditions. *Journal of Nuts*, 3(02, 01), 29-36.
- Imani, A., & Mahamadkhani, Y. (2011). Characteristics of almond selections in relation to late frost spring. *Journal of Nuts*, 2(2), 31-34.

- Imani, A., Mousavi, A., Biat, S., Rasouli, M., Tavakoli, R., & Piri, S. (2009). Genetic diversity for late frost spring resistance in almond. V International Symposium on Pistachios and Almonds 912,
- Imani, A., Torkaman, H., Rasoli, V., Zandifar, & K.Z. (2023). Screening of almond cultivars and genotypes in relation to frost stress tolerance. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 13(3), 4599-4608.
- Irigoyen, J., Einerich, D., & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1), 55-60.
- Kang, S., Motosugi, H., Yonemori, K., & Sugiura, A. (1998). Supercooling characteristics of some deciduous fruit trees as related to water movement within the bud. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(2), 165-172.
- Kaya, O., & Kose, C. (2022). Sensitivity of some sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars to late spring frosts during different phenological stages following bud burst. *Theoretical and Applied Climatology*, 148(3), 1713-1725.
- Kaya, O., Kose, C., & Gecim, T. (2018). An exothermic process involved in the late spring frost injury to flower buds of some apricot cultivars (*Prunus armenica* L.). *Scientia Horticulturae*, 241, 322-328.
- Król, A., Amarowicz, R., & Weidner, S. (2015). The effects of cold stress on the phenolic compounds and antioxidant capacity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, 189, 97-104.
- Lindén, L., Palonen, P., & Lindén, M. (2000). Relating freeze-induced electrolyte leakage measurements to lethal temperature in red raspberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(4), 429-435.
- Manasa S.L., Panigrahy, M., Panigrahi, K.C., & Rout, G.R. (2022). Overview of cold stress regulation in plants. *The Botanical Review*, 88(3), 359-387.
- Marta, B., Szafrńska, K., & Posmyk, M.M. (2016). Exogenous melatonin improves antioxidant defense in cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) germinated under chilling stress. *Frontiers in plant science*, 7, 575.
- Miranda, C., Santesteban, L. G., & Royo, J.B. (2005). Variability in the relationship between frost temperature and injury level for some cultivated *Prunus* species. *HortScience*, 40(2), 357-361.
- Pakkish, Z., & Tabatabaieenia, M.S. (2016). The use and mechanism of NO to prevent frost damage to flower of apricot. *Scientia Horticulturae*, 198, 318-325.
- Pérez de los Cobos, F., Coindre, E., Dlaloh, N., Quilot-Turion, B., Batlle, I., Arús, P., Eduardo, I., & Duval, H. (2023). Almond population genomics and non-additive GWAS reveal new insights into almond dissemination history and candidate genes for nut traits and blooming time. *Horticulture Research*, 10(10).
- Quamme, H. A. (1974). An Exothermic Process Involved in the Freezing Injury to Flower Buds of Several *Prunus* Species1. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 99(4), 315-318.
- Rekika, D., Cousineau, J., Levasseur, A., Richer, C., Fisher, H., & Khanizadeh, S. (2005). The use of a bud freezing technique to determine the hardiness of 20 grape genotypes. *Small fruits review*, 4(1), 3-9.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
- Rodrigo, J. (2000). Spring frosts in deciduous fruit trees—morphological damage and flower hardiness. *Scientia Horticulturae*, 85(3), 155-173.
- Roychoudhury, A., Banerjee, A., & Lahiri, V. (2015). Metabolic and molecular-genetic regulation of proline signaling and its cross-talk with major effectors mediates abiotic stress tolerance in plants. *Turkish Journal of Botany*, 39(6), 887-910.
- Salazar-Gutiérrez, M. R., Chaves, B., Anothai, J., Whiting, M., & Hoogenboom, G. (2014). Variation in cold hardiness of sweet cherry flower buds through different phenological stages. *Scientia Horticulturae*, 172, 161-167.
- Socias i Company, R., & Gradziel, T.M. (2017). Almonds: Botany, Production and Uses. CABI. https://books.google.com/books?id=_FU7jgEACAAJ

- Tajabadipour, A., fattahi, m., zamani, z., Nasibi, F., & Hokmabadi, H. (2018). Evaluation of Physiological and Biochemical Changes of Pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Ahmad-Aghaii) on Cold Tolerant and Sensitive Rootstocks under Freezing Stress Conditions. *Journal Of Horticultural Science*, 32(3), 471-484. [In Persian].
- Tamayo, P.R., & Bonjoch, N.P. (2001). Free proline quantification. In Handbook of plant ecophysiology techniques (pp. 365-382). Springer.
- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Winde, J., Andersen, U.B., Kjaer, K.H., & Pagter, M. (2017). Variation in freezing tolerance, water content and carbohydrate metabolism of floral buds during deacclimation of contrasting blackcurrant cultivars. *Acta physiologiae plantarum*, 39, 1-14.
- Yu, D.J., & Lee, H.J. (2020). Evaluation of freezing injury in temperate fruit trees. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 61, 787-794.
- Yu DukJun, Y.D., Hwang JuYoung, H.J., Chung SunWoo, C.S., Oh HeeDuk, O.H., Yun SeokKyu, Y.S., & Lee HeeJae, L.H. (2017). Changes in cold hardiness and carbohydrate content in peach (*Prunus persica*) trunk bark and wood tissues during cold acclimation and deacclimation. *Scientia Horticulturae*, 219, 45-52.
- Yuanyuan, M., Yali, Z., Jiang, L., & Hongbo, S. (2009). Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress. *African Journal of Biotechnology*, 8(10).