ارزیابی پایه‌ها و دو رگ‌های بین‌گونه‌ای جنس پسته (*Pistacia sp.*) در شرایط تنش سرما

مریم آفروشه[1*]، امیرحسین محمدی[1]، علی تاج آبادی‌پور[1]، حجت هاشمی‌نسب[1]، حسن عرب[2]

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۰

چکیده

هدف از این پژوهش، ارزیابی واکنش‌های مورفو-بیوشیمیایی پایه‌ها و دو رگ‌های بین‌گونه‌ای جنس پسته به تنش دماهای سرمازدگی و یخزدگی بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول دما (۴ ،۰ و ۴- درجه سانتی‌گراد) و فاکتور دوم پایه (پایه‌های اهلی جنس پسته (قزوینی، بادامی و سرخس)، دو رگ‌های بین‌گونه‌ای جنس پسته (قزوینی×کسور، قزوینی×بنه‌باغی، قزوینی×بنه، قزوینی×آتلانتیکا، قزوینی×اینتگریما)، گونه‌های غیراهلی (آتلانتیکا (*Pistacia atlantica*)، اینتگریما (*P. integerrima*)، کسور (*P. khinjuk*)، بنه (*P. atlantica* sp. mutica) و بنه باغی (*P. mutica* × *P. vera*)) و پایه هیبرید (UCB1) بود. نتایج این پژوهش نشان داد که با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد، درصد و شدت خسارت به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($p < 0.01$). ارزیابی شدت خسارت نشان داد که پایه‌های بنه، دو رگ قزوینی× بنه، سرخس و قزوینی متحمل به دمای یخزدگی بودند و بیشترین شاخص خسارت در پایه UCB1، اینتگریما و کسور مشاهده شد. نتایج نشان داد بیشترین درصد خسارت خشکیدگی نهال در پایه UCB1 و بیشترین درصد سرخشکیدگی شاخه مربوط به پایه اینتگریما و کسور بود. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پایه‌های سرخس، قزوینی و بنه بود و بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز مربوط به پایه بنه و دو رگ قزوینی× بنه بود. نتایج اثرات متقابل نشان داد فعالیت آنزیم‌ها در پایه‌های متحمل به سرما به‌طور معنی‌داری بیشتر از پایه‌های حساس به سرما بود. تجزیه خوشه‌ای پایه‌ها بر اساس شاخص‌های اندازه‌گیری شده حاکی از این بود که در تنش سرما پایه بنه، دو رگ قزوینی×بنه،

[1] هیأت علمی پژوهشی، پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران

[*] نویسنده مسئول: ma.afrousheh@yahoo.com

[2] محقق پژوهشی، پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران

سرخس، قزوینی و قزوینی× آتلانتیکا در یک زیرگروه قرار گرفتند که به دلیل قرابت نزدیک می‌توان به عنوان پایه‌های برتر متحمل به تنش دماهای سرمازدگی و یخزدگی در برنامه‌های اصلاحی مد نظر قرار داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پایه، پسته، تنش سرما، خسارت، دو رگ‌های بین گونه‌ای

مقدمه

با وجود سناریوی پیش‌بینی گرم شدن کره زمین برای دهه‌های بعدی، مدل‌های شبیه سازی آب و هوا نشان می‌دهد که وقایع سرد در قرن ۲۱ ادامه خواهد داشت و حتی شدیدتر از قرن ۲۰ می‌باشد (Kodra *et al*., 2011). این حوادث در مناطق گرمسیری و معتدل طی ۲۴ ساعت تا چند روز بسته به مدت و شدت کاهش دما به صورت سرمازدگی (دماهای بالاتر از صفر درجه سانتی‌گراد) و یخزدگی و انجماد (دماهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد) در بافت‌های گیاهی رخ می‌دهد و باعث کاهش رشد و نمو و عملکرد محصولات کشاورزی می‌گردد (Xin & Browse, 2000; Petoukhov & Semenov, 2010). میزان خسارت بر روی گیاهان به میزان سرد شدن، مدت زمان قرار گرفتن در معرض تنش سرما و سایر تنش‌ها بستگی دارد (Buchanan *et al*., 2015). بسته به تحمل گونه، خسارت ناشی از دماهای پایین طی چند ساعت یا چند روز رخ می‌دهد (Seckbach & Oren, 2007). گیاهان برای زنده ماندن در دماهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد یا یخبندان، سازوکارهای ویژه‌ای از طریق وراثت یا مکانیسم‌های تحمل‌پذیری دارند (Tuteja & Singh, 2012).

در ایران، پسته (*Pistacia vera* L.) یکی از محصولات حساس به سرمای بهاره است. علی‌رغم این‌که آن را به‌عنوان گیاهی سازگار با شرایط نامساعد محیطی می‌شناسند، اما تغییرات جوی ایجاد شده در سال‌های اخیر نشان داده است که احتمال سرمازدگی‌های بیشتر در سال‌های پیش‌رو دور از انتظار نخواهد بود (Gholipour, 2002). برای درختان پسته، سرمازدگی بهاره در دمای ۴ °C و کمتر از آن اتفاق می‌افتد (جهانگیری و همکاران، ۱۳۸۴). نتایج قلی‌پور (۱۳۸۱) نشان داد که دمای بحرانی بروز خسارت در سرمای بهاره ۴-، ۲- و ۲+ درجه سانتی‌گراد بود و با کاهش دما تا دو درجه پائین‌تر از دمای بحرانی، گیاه در معرض آسیب‌های جدی و غیرقابل‌برگشت (قهوه‌ای شدن بافت‌ها) قرار می‌گیرد. Afshari & Homkabadi (۲۰۰۹) گزارش دادند زمانی‌که کاهش دما باعث تخریب کامل اندام گردد، دمای بحرانی شروع خسارت است. بنابراین با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور از نظر اقتصادی و ارزآوری (آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۷)، شناسایی ارقام و پایه‌های متحمل یکی از بهترین راهکارها برای رفع مسائل و

مشکلات ناشی از تغییرات اقلیمی می‌باشد. بر اساس بررسی منابع، نوع پایه تاثیر مهمی بر روی رشد رویشی درخت و تنش‌های غیرزیستی از جمله تحمل به سرما دارد (Solari *et al*., 2006; Weibel *et al*., 2003; Cohen & Naor, 2002). تاج‌آبادی (۱۳۹۶) در درختان پسته گزارش دادند مقاومت به تنش سرمای بهاره از طریق پایه به پیوندک‌ها القاء شد.

پایهٔ آتلانتیکا دارای تحمل به خشکی، شوری و سرمای بالاتری نسبت به اینتگریما و UCB1 است. همچنین از تحمل خوبی به نماتد و گموز برخوردار است. بررسی منابع نشان داده است که تلاقی بین گونه‌های آتلانتیکا و اهلی از همه موفقیت‌آمیزتر بوده است (Guerrero *et al*., 2003; Gijón *et al*., 2010). مطالعه برنامه‌های به‌نژادی پایه در کشورهای مدیترانه‌ای به ویژه اسپانیا، ترکیه، ایتالیا و یونان نشان می‌دهد که آن‌ها توجه ویژه‌ای به دو گونه آتلانتیکا و تربینتوس در برنامه‌های به‌نژادی و اصلاحی پیش‌رو داشته‌اند. بنابراین با توجه به ویژگی‌های ذکر شده، این پایه‌ها یا تلاقی آن‌ها با پایه‌های متداول کشور می‌توانند در باغات پسته کشور مفید واقع شوند (هاشمی‌نسب و افروشه، ۱۳۹۷). پایه اینتگریما (*P. integerrima*)، دارای رشد رویشی زیادی است. علی‌رغم اینکه این گونه حساس‌ترین پایه به سرما و یخبندان در کالیفرنیا است (اسماعیل‌پور، ۱۳۸۶)، اما می‌توان به عنوان یک والد پر رشد در تلاقی با پایه‌های متداول در صورت تحمل به سرما در باغات پسته کشور بهره برد. شرافتی (۱۳۸۹) گزارش داد که سرمای ۲۶- درجه سانتی‌گراد در زمستان ۱۳۸۶ موجب خشک شدن کامل این گونه در ایستگاه تحقیقات پسته فیض‌آباد گردید. در بین چهار پایه مورد استفاده در صنعت پسته آمریکا، پایه اینتگریما و آتلانتیکا به‌ترتیب با ۹۵ و ۳ درصد سرخشکیدگی ناشی از سرما حساس‌ترین و مقاوم‌ترین پایه‌ها به سرمای زمستانه (۲۴- درجه سانتی‌گراد) شناخته شده‌اند. پایه‌های دو رگ آن‌ها UCB1 و PGI به ترتیب ۵۶ و ۷۹ درصد سرخشکیدگی ناشی از سرما را نشان دادند (Ferguson & Buchner, 1990). مطالعات اثر پایه پسته در تحمل به سرما نشان داد که پایه تربینتوس و پایه اینتگریما به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین پایه به سرما بودند (Ferguson *et al*., 2005; Gijón *et al*., 2010).

Sajadian *et al.* (۲۰۱۹) پاسخ‌های فیزیو-بیوشیمیایی پایه‌ها و دو رگ‌های بین‌گونه‌ای جنس پسته به سرما در چهار رژیم سرمایی (۰، ۲، ۲- و ۴- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که پایه دو رگ اینتگریما×بادامی ریز زرند حساس‌ترین پایه به سرما بود. هدف از این پژوهش، ارزیابی تحمل پایه‌های مختلف اهلی و وحشی پسته و دو رگ‌های بین‌گونه‌ای آن‌ها به تنش سرمای بهاره بر اساس

شاخص‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی در شرایط آزمایشگاه بود.

مواد و روش‌ها

به منظور تهیه بذرهای دو رگ، تلاقی‌های مورد نظر در کلکسیون پژوهشکده پسته واقع در رفسنجان انجام گرفت. کشت بذر پایه‌های مورد بررسی در اسفندماه ۱۳۹۸ در شرایط گلخانه پژوهشکده پسته انجام شد. بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده و به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی شدند (هاشمی‌نسب و همکاران، ۱۳۹۹). بعد از جوانه‌زنی در هر گلدان سه بذر کشت شد. این پژوهش بر روی نهال‌های یک‌ساله گلدانی در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۹ در مرحله رشد برگ های جدید انجام شد. طرح آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار بود. فاکتورها شامل پایه (اهلی، غیراهلی، دو رگ‌های بین گونه‌ای جنس پسته و پایه کشت‌بافتی UCB1) و دما (۴ و ۴- درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت) بودند. پایه‌ها مورد ارزیابی شامل جنس اهلی پسته (قزوینی، بادامی و سرخس)، دو رگ‌های بین‌گونه‌ای (قزوینی ×کسور، قزوینی× بنه‌باغی، قزوینی×بنه، قزوینی×آتلانتیکا، قزوینی×اینتگریما)، گونه‌های غیراهلی (آتلانتیکا (*P. atlantica*)، اینتگریما (*P. integerrima*)، کسور (*P. khinjuk*)، بنه (*P. atlantica* sp. mutica) و بنه باغی (*mutica* × *P. vera*) و پایه UCB1 بودند. برای اعمال تیمارهای دماهای سرمازدگی و یخزدگی (۴، ۰ و ۴- درجه سانتی‌گراد)، از انکوباتور (اتاق انجماد) استفاده شد. نهال‌ها در انکوباتور یخچال‌دار (Incubator, NST) قرار گرفتند و سپس تیمارهای دمایی مورد بررسی به‌مدت دو ساعت روی آن‌ها اعمال شد. بعد از اعمال تیمارها، نهال‌ها در شرایط طبیعی گلخانه به لحاظ شاخص شدت و درصد خسارت مورد بررسی قرار گرفتند. فاکتورهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی به شرح زیر اندازه‌گیری شدند.

الف- شاخص‌های خسارت سرمازدگی

این شاخص بعد از گذشت ۲۴ ساعت از اعمال تیمارهای دمایی بررسی شد. برای ارزیابی آن، برگ نهال‌ها در پنج گروه جداگانه شماره‌گذاری شدند: بدون علائم سرمازدگی (شماره ۱)، خسارت کم (لوله‌ای شدن یا پلاسیدگی برگ) (شماره ۲)، خسارت متوسط (تغییر رنگ و خشکیدگی برگ) (شماره ۳)، خسارت شدید (سرخشکیدگی انتهایی) (شماره ۴) و خشکیدگی نهال (شماره ۵). سپس شاخص سرمازدگی (Chilling Injury, CI) بر اساس شدت خسارت با فرمول زیر محاسبه شد (تاج‌آبادی، ۱۳۹۶).

$$CI = \sum(ni \times i)/(N)$$

در این رابطه، CI شاخص سرمازدگی، ni تعداد نمونه دارای علائم سرمازدگی i (۱-۵) و N تعداد کل نمونه‌ها است.

ب- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها

بلافاصله بعد از اعمال تیمارهای دمایی از برگ نمونه‌گیری انجام شد و فعالیت‌های آنزیمی به شرح زیر اندازه‌گیری شدند.

ابتدا در محیط یخ، ۰/۵ گرم از برگ در ۵-۳ میلی‌لیتر بافر نمونه پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (۷/۲ = pH) حاوی PVP (Polyvinylpolypyrolidone) یک درصد و EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) یک میلی‌مولار در یک هاون چینی کاملاً ساییده شدند. مخلوط حاصل بلافاصله به میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سوسپانسیون رویی جهت بررسی میزان تغییرات آنزیمی جدا و تا قبل از انجام آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد (Dhindsa, 1981). بر اساس این روش ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و ۱۵ میلی مول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است، مخلوط گردید. سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰nm به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه یک میلی مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در یک دقیقه است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) براساس اکسیداسیون آسکوربیک‌اسید در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین شد (Nakano & Asada, 1981). بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری آسکوربیک پراکسیداز که شامل ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷)، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک (ASA) و ۰/۱۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است، مخلوط گردید. سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰nm بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. یک واحد آنزیمی آسکوربیک پراکسیداز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار اسید آسکوربیک در یک دقیقه است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (GPX) با استفاده از پیش‌ماده گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین شد (Plewa *et al.*, 1991). در این روش سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷)، ۱۰۰ میکرولیتر

آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول (guaiacol) ۴ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی تتراگایاکول (mM^{-1} cm ۲۵/۵) و فرمول A=□bc، مقدار تتراگایاکول تشکیل شده محاسبه گردید (Plewa *et al.*, 1991). یک واحد فعالیت آنزیمی برابر مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول گایاکول را در مدت ۱ دقیقه اکسید کند.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در طول موج ۵۶۰ نانومتر تعیین شد (Beauchamp & Fridovich, 1971). اندازه‌گیری بر اساس توانایی آنزیم SOD در متوقف کردن احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم(NBT) توسط رادیکال‌های سوپر اکسید در حضور ریبوفلاوین در نور صورت گرفت. بر اساس این روش ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج با یک میلی لیتر محلول اندازه گیری سوپراکسید دیسموتاز که شامل ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸)، ۷۵ میکرومولار NBT، ۱۳ میلی مولار ال- متیونین، ۰/۱ میلی مولار EDAT و ۲ میکرومولار ریبوفلاوین است، مخلوط شد. لازم به ذکر است که محلول ریبو فلاوین را باید به صورت جداگانه و در ظرف تیره نگهداری نمود و پس از اضافه کردن عصاره استخراج و محلول اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز، به کیوت اضافه می‌گردد. جهت انجام واکنش این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نور قرار می‌گیرد. سپس محلول حاصل در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفته و میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰nm قرائت می‌شود.

در این پژوهش تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین داده‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

الف- نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های شدت و درصد خسارت

نتایج تجزیه واریانس شاخص شدت خسارت و درصد خسارت تحت‌تاثیر تیمارهای اعمال شده در جدول ۱ و جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، این دو شاخص تحت‌تاثیر پایه و دما در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند.

نتایج مقایسه میانگین ارزیابی شاخص شدت خسارت نشان داد که بیشترین میزان مربوط به تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۳). نتایج شدت خسارت در پایه‌های مورد بررسی تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده در شکل ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد که پایه بنه، سرخس، دو رگ قزوینی×بنه، به دمای

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات حاصل از اندازه‌گیری شاخص شدت خسارت در ۱۴ پایه پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی.

	میانگین مربعات	
منابع تغییرات	درجه آزادی	شاخص شدت تنش
دما	۲	۲۱/۶۲**
پایه	۱۳	۲/۶۶**
دما×پایه	۲۶	۲/۳۶ ns
خطای آزمایشی	۸۴	۰/۴۸۲
CV٪	-	۱/۰۱

ns تغییرات معنی دار نیست، *معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات حاصل از اندازه‌گیری درصد خسارت در ۱۴ پایه پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی.

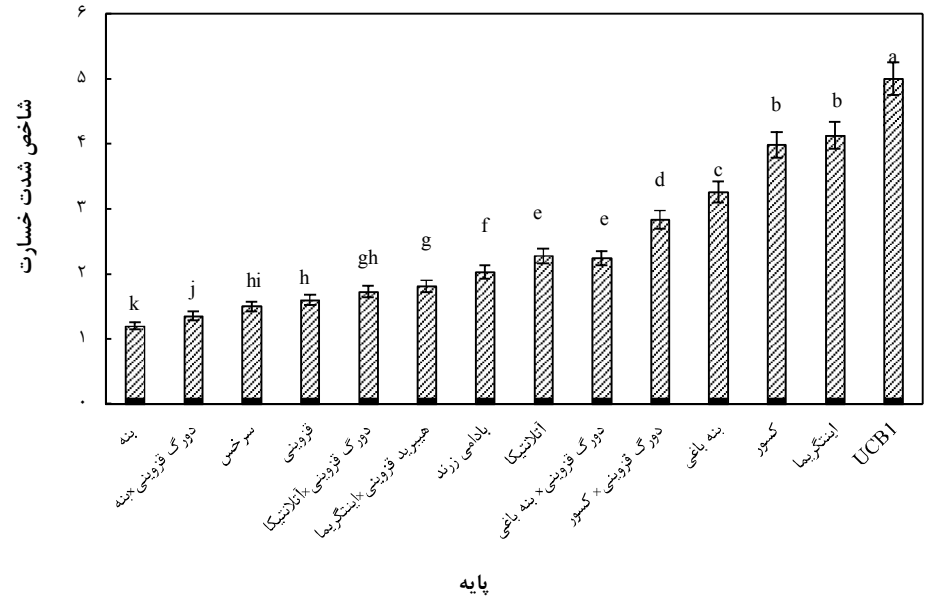
		میانگین مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	لوله‌ای شدن یا پلاسیدگی برگ (%)	تغییر رنگ (%)	سرخشکیدگی انتهایی(%)	خشکیدگی نهال (%)
دما	۲	۴۸۲/۱۲۷*	۳۲۹/۲ *	۲۲/۲۲ **	۶۳۲۹/۲۷**
پایه	۱۳	۵۰۲/۰۱**	۷۲/۴ ns	۷/۵ **	۸۹۴/۰۶۱**
دما×پایه	۲۶	۳۸۹/۴۵۶ns	۷۲/۴ ns	۷/۵ ns	۸۹۴/۰۸ ns
خطای آزمایشی	۸۴	۱۴۹/۶۸	۸۴/۱	۲/۱۹	۲۱۵/۹
CV٪	-	۵/۰۳	۲/۱۵	۱/۰۵	۵/۳۳

ns تغییرات معنی دار نیست، *معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین حاصل از اندازه‌گیری شاخص شدت خسارت در ۱۴ پایه پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی.

		میانگین
تیمار		شاخص شدت تنش
	۴	۱/۰۴۶ b
۳	۰	۱/۱۲۵ b
	-۴	۳/۲۸ a

میانگین هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.



شکل۱- ارزیابی شاخص شدت خسارت در ۱۴ پایه پسته مورد مطالعه تحت تاثیر تیمارهای دمایی (حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

یخزدگی متحمل بودند و شدت آن از ۱/۰۱ تا ۱/۶ متغیر بود و بیشترین شاخص خسارت در پایه UCB1، اینتگریما و کسور مشاهده شد. بر اساس فرمول، محدوده شدت خسارت از ۱ تا ۵ می‌باشد. مقادیر نزدیک به ۵ نشان‌دهنده شدت خسارت بالا و مقادیر نزدیک به ۱ شدت خسارت کمتر را نشان می‌دهند.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین درصد خسارت در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۴). نتایج نشان داد بیشترین درصد سرخشکیدگی در پایه کسور، آتلانتیکا و اینتگریما مشاهده شد. بیشترین درصد خسارت خشکیدگی نهال مربوط به پایه UCB1 مشاهده شد (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فعالیت آنزیم‌ها تحت تاثیر تیمارها و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌داری بودند (جدول ۵).

نتایج مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای دمایی مورد بررسی نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۶).

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین صفات حاصل از اندازه‌گیری درصد خسارت در ۱۴ پایه پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی.

	میانگین مربعات			
تیمارها	لوله‌ای شدن یا پلاسیدگی برگ (%)	تغییر رنگ (%)	سرخشکیدگی انتهایی (%)	خشکیدگی نهال (%)
۴	۴/۵۸ b	۰ b	۰ b	۰ b
۰	۵/۱۶ b	۰ b	۰ b	۰ b
-۴	۱۰/۷۲ a	۴/۹ a	۱/۲۶ a	۲۱/۲۶ a
بادامی زرند	۲/۴۶ c	۱۴/۶ b	۰ b	۰ b
قزوینی	۵/۸۷ bc	۰ b	۰ b	۰ b
سرخس	۵c	۰ b	۰ b	۰ b
بنه	۳/۵۷ c	۰ b	۰ b	۰ b
بنه باغی	۲۴/۱ a	۴/۳ ab	۰ b	۱۵/۰۶ b
کسور	۱۲/۱۵ abc	۵/۵۵ ab	۳/۰۸ a	۱۴/۰۲ b
آتلانتیکا	۲/۷ c	۴/۰۴ ab	۱/۲۲ a	۹/۱۱ b
اینتگریما	۱۶/۹ ab	۰ b	۳/۴۵ a	۱۳/۹۸ b
UCB1	۱۰/۱۶ bc	۰ b	۰ b	۳۳/۳۳ a
دو رگ قزوینی× بنه	۴/۱۶ bc	۰ b	۰ b	۰ b
دو رگ قزوینی× بنه باغی	۰c	۱۱ b	۰ b	۰ b
دو رگ قزوینی× کسور	۱۳/۵ abc	۱۱/۱۱ b	۰ b	۰ b
دو رگ قزوینی× آتلانتیکا	۱۳/۲ c	۷ b	۰ b	۰ b
دو رگ قزوینی× اینتگریما	۱۵/۰۵ ab	۰ b	۱ b	۱ b

در هر ستون، میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات حاصل از اندازه‌گیری فعالیت‌های آنزیمی در برگ ۱۴ پایه پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی.

		میانگین مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	اسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز	سوپراکسید دسموتاز
دما	۲	۷/۷۷۴ **	۱۱/۱۰ **	۰/۴۶۴ **	۰/۱۷۲ **
پایه	۱۳	۰/۳۷۷ **	۰/۲ **	۰/۰۳۸ **	۰/۰۱۱ **
دما×پایه	۲۶	۰/۱۶۵ **	۰/۱۳۹ **	۰/۰۱۵ **	۰/۰۰۲ **
خطای آزمایشی	۸۴	۰/۰۱۴ **	۰/۰۱۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱
CV٪	-	۲/۴۳	۱/۳۱	۲/۵۹	۱/۴۱

ns تغییرات معنی دار نیست، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین صفات حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده.

	میانگین مربعات			
تیمارها	کاتالاز (U/mg Protein)	آسکوربات پراکسیداز (U/mg Protein)	گایاکول پراکسیداز (U/mg Protein)	سوپراکسید دسموتاز (U/mg Protein)
۴	۱/۳۱۲ c	۰/۴۸۴ c	۰/۴۱۹ c	۰/۴۴۸ c
۰	۱/۶۴۴ a	۰/۶۲۷ b	۰/۵۱۲ a	۰/۵۰۸ a
-۴	۱/۵۶۵ b	۱/۴۳۷ a	۰/۴۶۲ b	۰/۴۹۳ a
بادامی زرند	۱/۵۷۴ bc	۰/۸۰۵ bcd	۰/۵۲۶ def	۰/۵۰۲ b
قزوینی	۱/۵۸۹ bc	۱/۰۴۲ a	۰/۴۷۱ g	۰/۴۵۲ ef
سرخس	۱/۵۷۵ bc	۱/۱۵۵ a	۰/۵۴۴ d	۰/۴۹۱ bc
بنه	۱/۸۳۲ a	۱/۰۴۳ a	۰/۶۱۵ b	۰/۵۳۱ a
بنه باغی	۱/۴۳۷ d	۰/۷۵۷ cde	۰/۴۷۴ g	۰/۴۷۹ cd
کسور	۱/۱۶۴ f	۰/۷۲۹ def	۰/۴۵۰ g	۰/۴۰۳ g
آتلانتیکا	۱/۶۴۸ b	۰/۸۷۷ bc	۰/۵۲۵ def	۰/۴۶۵ de
اینتگریما	۱/۲۴۲ ef	۰/۶۷۲ fg	۰/۴۵۲ g	۰/۴۴۵ f
UCB1	۱/۲۹۲ e	۰/۷۳۸ def	۰/۴۶۶ g	۰/۴۴۰ f
دو رگ قزوینی× بنه	۱/۵۲۶ bcd	۰/۸۸۲ b	۰/۶۷۶ a	۰/۵۳۰ a
دو رگ قزوینی× بنه باغی	۱/۴۹۰ cd	۰/۸۳۲ bcd	۰/۵۱۱ f	۰/۴۷۴ cd
دو رگ قزوینی× کسور	۱/۴۲۹ d	۰/۸۳۵ bcd	۰/۵۱۶ ef	۰/۵ b
دو رگ قزوینی× آتلانتیکا	۱/۴۳۳ d	۰/۸۹۱ b	۰/۵۷۸ c	۰/۴۸۴ bc
دو رگ قزوینی× اینتگریما	۱/۴۰۵ d	۰/۶۲۲ g	۰/۵۳۸ de	۰/۴۶۵ de

در هر ستون، میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

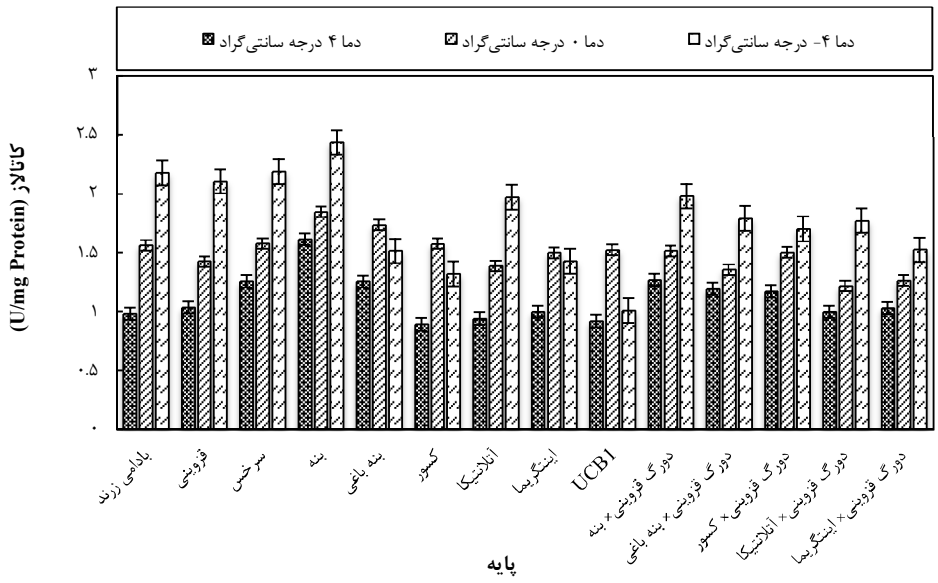
نتایج مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم‌ها در پایه‌های مورد بررسی نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در پایه‌های بنه (۱/۸۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پایه‌های سرخس، قزوینی و بنه (۱/۱۵، ۱/۰۴۲ و ۱/۰۴۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) بود. بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز مربوط به پایه دو رگ قزوینی× بنه (۰/۶۷۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز مربوط به پایه بنه و دو رگ قزوینی× بنه (۰/۵۳۱ و ۰/۵۳۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) بود (جدول ۶).

نتایج اثرات متقابل دما در پایه نشان داد که فعالیت همه آنزیم‌ها در همه پایه‌های مورد بررسی با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌دار افزایش یافت. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در پایه بنه (۲/۴۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین فعالیت به ترتیب در پایه‌های UCB1، اینتگریما و کسور (۱/۰۱،

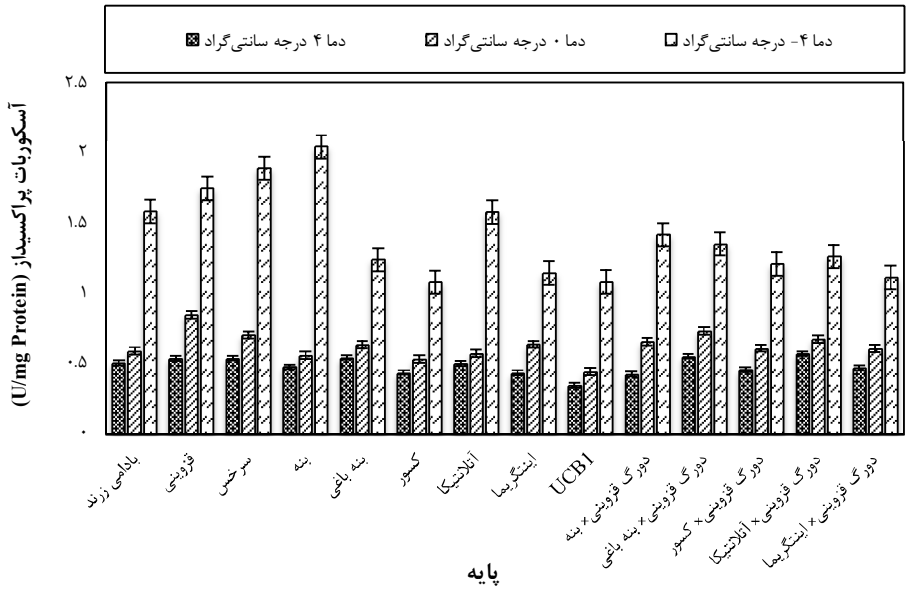
۱/۴۲ و ۱/۳۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (شکل ۲).

نتایج اثرات متقابل فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز نشان داد که فعالیت این آنزیم با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌دار افزایش یافت. نتایج اثرات متقابل دما در پایه‌های مورد بررسی نشان داد، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز به‌ترتیب در پایه‌های بنه، سرخس و قزوینی (۲/۰۴۲، ۱/۸۹ و۱/۷۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین فعالیت به‌ترتیب در پایه‌های کسور، UCB1، قزوینی× اینتگریما و اینتگریما (۱/۰۷۹۲، ۱/۰۸۲، ۱/۱۱ و ۱/۱۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (شکل ۳).

نتایج اثرات متقابل فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نشان داد که فعالیت این آنزیم با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌دار تحت تاثیر قرار گرفت. نتایج اثرات متقابل دما در پایه‌های مورد بررسی نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز به‌ترتیب در پایه‌های بنه، هیبرید قزوینی×بنه و هیبرید قزوینی×آتلانتیکا (۰/۸۲، ۰/۸۲ و ۰/۷۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین فعالیت به‌ترتیب در پایه‌های UCB1،



شکل ۲- ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز در ۱۴ پایه‌پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی (اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

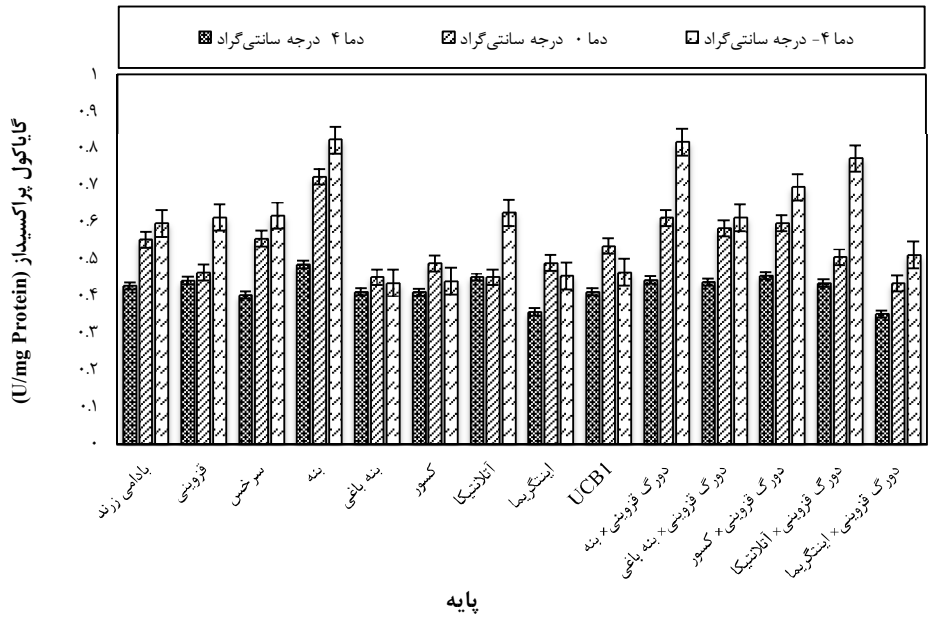


شکل ۳- ارزیابی فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در ۱۴ پایه پسته تحت تاثیر تیمارهای دمایی (اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

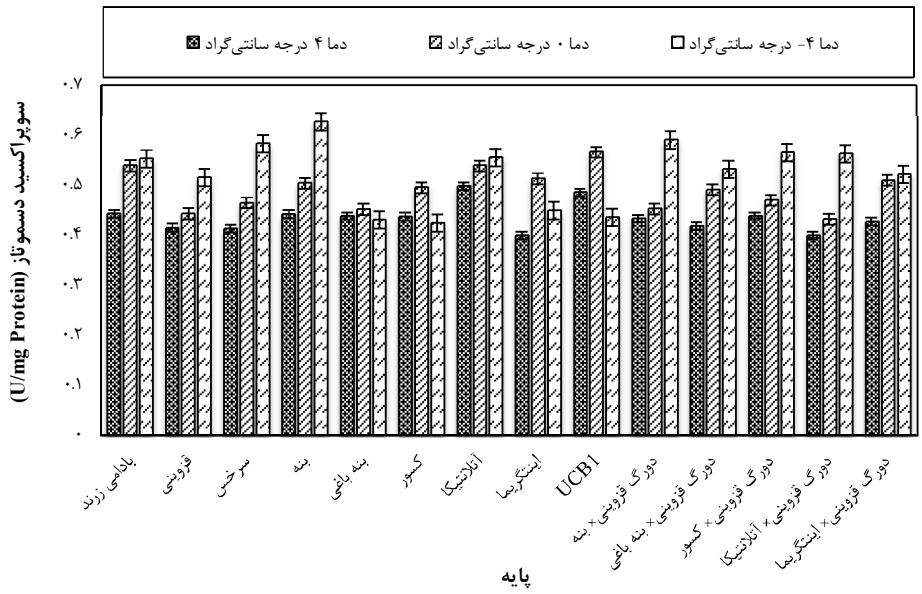
اینتگریما، کسور و بنه‌باغی (۰/۴۶، ۰/۴۵، ۰/۴۴ و ۰/۴۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (شکل ۴).

نتایج اثرات متقابل فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز نیز نشان داد که فعالیت این آنزیم با کاهش دما به طور معنی‌دار تحت تاثیر قرار گرفت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز در پایه بنه (۰/۶۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین فعالیت به‌ترتیب در پایه‌های کسور و UCB1 (۰/۴۲ و ۰/۴۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (شکل ۵).

نتایج این پژوهش در ارتباط با شاخص شدت و درصد خسارت نشان داد که تاثیرات دماهای یخزدگی، بیشتر در برگ‌های جوان مشاهده شد. نتایج این پژوهش در ۱۴ پایه مورد بررسی نشان داد که پایه بنه، سرخس و دو رگ قزوینی×بنه، به دمای یخزدگی متحمل بودند. نتایج همچنین نشان داد که بیشترین درصد سرخشکیدگی در پایه کسور، آتلانتیکا و اینتگریما مشاهده شد. بیشترین درصد خسارت خشکیدگی نهال به‌ترتیب مربوط به پایه UCB1، بنه باغی، اینتگریما و کسور بود که با نتایج اسماعیل‌پور (۱۳۸۶)، شرافتی (۱۳۸۹)، Ferguson *et al.* (۲۰۰۵) و Gijón *et al.* (۲۰۱۰) مطابقت دارد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که در پایه کسور حساسیت ساقه به سرما وجود داشت که با نتایج همایون‌فر و



شکل ۴- ارزیابی فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در ۱۴ پایه پسته مورد مطالعه تحت تاثیر تیمارهای دمایی (اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

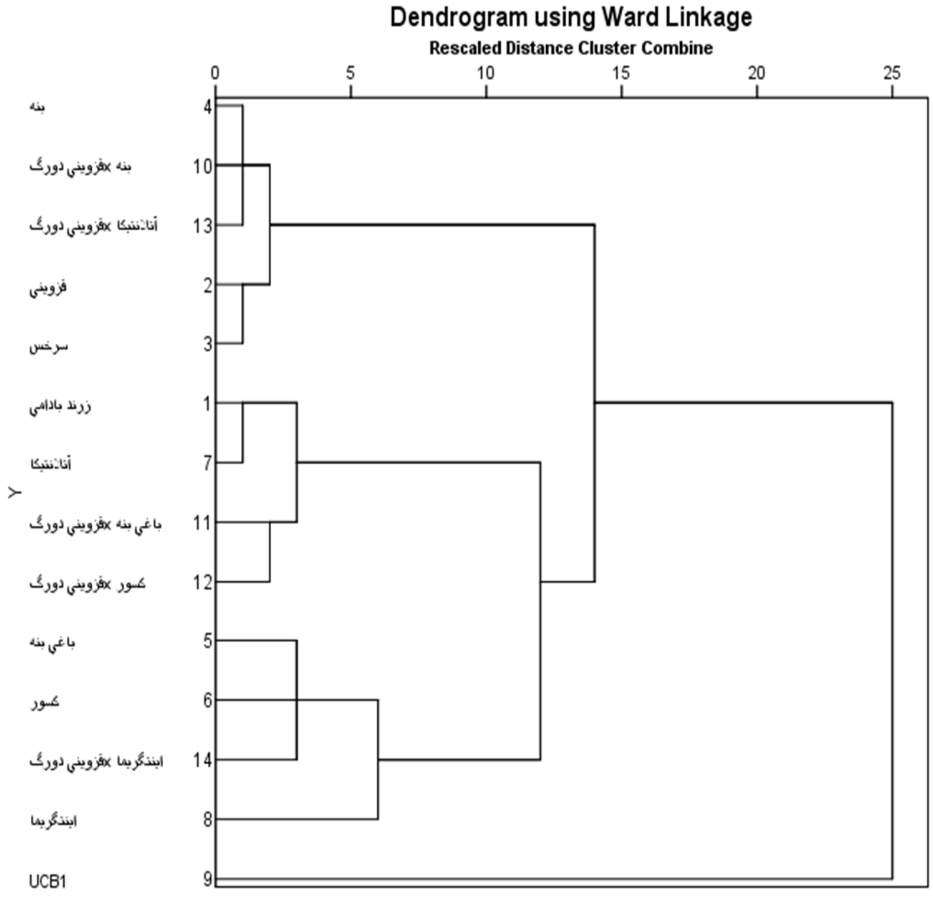


شکل ۵- ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در ۱۴ پایه پسته مورد مطالعه تحت تاثیر تیمارهای دمایی (اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

همکاران (۱۳۹۸) نیز مطابقت داشت. اما در دو رگ قزوینی× کسور، تحمل به سرما مشاهده گردید. همایون‌فر و همکاران (۱۳۹۸)، سازوکارهای فیزیولوژیک تحمل به سرما در گونه بنه و کسور را مورد بررسی قرار دادند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که خسارت به ساقه، در گونه کسور (۴۴ درصد) اتفاق افتاد. بر اساس بررسی منابع، همبستگی مثبت بین حساسیت به سرما و میزان خسارت برگ وجود دارد (Ma *et al*., 2010; Zhang *et al*., 2011; Ghasemi Soloklui *et al*., 2012; Ershadi *et al*., 2016; Nikoogoftar Sedghi *et al*., 2020).

غشاء یکی از اصلی‌ترین مسیرهای سیگنالی در پاسخ به سرما است. بنابراین از دست دادن سیالیت غشاء منجر به افزایش سنتز گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و گونه‌های نیتروژن واکنش‌پذیر می‌شود (Corpas *et al*., 2008). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، دارای سیستم دفاعی می‌باشند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز (CAT)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR) و آسکوربات پراکسیداز (APX) می‌باشند (Blokhina *et al*., 2003; Lin *et al*., 2012; Clark *et al*., 2000; Begara-Morales *et al*., 2014& 2015). نتایج این پژوهش نشان داد که بین فعالیت این آنزیم‌ها با افزایش تحمل به تنش در پایه‌های مورد بررسی رابطه مستقیم وجود داشت و با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد، فعالیت آنزیم‌ها افزایش یافت. در بین پایه‌های مورد بررسی، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در پایه بنه مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پایه‌های سرخس، قزوینی و بنه بود. بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز مربوط به پایه دو رگ قزوینی× بنه و بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز مربوط به پایه‌های بنه و پایه دو رگ قزوینی× بنه بود. افزایش فعالیت آنزیمی با نتایج محققین دیگر نیز مطابقت داشت (Sairam and Srivastava, 2002; Lukatkin, 2002; Rivero *et al*., 2002; Zhang *et al*., 2011). بر اساس نتایج در پایه‌های متحمل غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش سرما افزایش یافت که با نتایج حکم‌آبادی (۱۳۹۵) و تاج‌آبادی‌پور (۱۳۹۶) مطابقت دارد. بررسی منابع نیز نشان داد سازوکارهای کاهش تنش اکسیداتیو، نقش مهمی در سازگاری گیاه به تنش‌های محیطی دارند (Sairam & Srivastava, 2002). بر اساس نتایج، انتقال صفات سازگاری به تنش سرما در دو رگ‌های مورد بررسی نیز وجود داشت که نتایج بدست آمده با نتایج سجادیان و همکاران (۱۳۹۸) مطابقت دارد. بنابراین تلاقی پایه‌های مختلف جنس پسته جهت رسیدن به دو رگ‌های برتر در تحمل به تنش سرما می‌تواند نقش مهمی در برنامه به‌نژادی پسته باشد

نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها به روش خوشه‌بندی (کلاسترینگ) برای ۱۴ پایه مورد ارزیابی نشان داد که پایه‌ها در دو گروه اصلی قرار گرفتند. گروه اصلی اول، پایه UCB1است که بر اساس نتایج بدست آمده، حساس‌ترین پایه به سرما، UCB1 بود. گروه اصلی دوم، دارای ۳ زیرگروه می‌باشد. زیرگروه اول شامل پایه بنه، دو رگ قزوینی×بنه، دو رگ قزوینی×آتلانتیکا است. در این زیرگروه پایه سرخس و قزوینی دارای شباهت بیشتری بودند. بر اساس نتایج بدست آمده، پایه‌های این زیرگروه متحمل به تنش سرما می‌باشند. زیرگروه دوم، شامل دو رگ قزوینی×بنه باغی، دو رگ قزوینی× کسور است. در این زیرگروه پایه‌های بادامی زرند و آتلانتیکا دارای مشابهت بالایی می‌باشند. بر اساس نتایج بدست آمده، پایه‌های این زیرگروه دارای حساسیت متوسط به سرما می‌باشند. زیرگروه سوم، شامل پایه اینتگریما، دو رگ قزوینی× اینتگریما، کسور و بنه‌باغی بودند. بر اساس نتایج



شکل ۶- درختواره (دندروگرام) حاصل از گروه‌بندی ۱۴ پایه مورد مطالعه با استفاده از صفات مورد ارزیابی بر مبنای مربعات فواصل اقلیدسی با روش Ward.

بدست آمده، پایه‌های این زیرگروه، دارای حساسیت بالا به سرما می‌باشند و بیشترین حساسیت مربوط به پایه اینتگریما بود (شکل ۶).

نتیجه‌گیری کلی

ارزیابی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در ۱۴ پایه تحت شرایط تنش دماهای سرمازدگی و یخزدگی(۴+، ۰ و ۴- درجه سانتی‌گراد) نشان داد که پایه‌های مورد بررسی، واکنش‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوت در تحمل تنش سرما داشتند که این تنوع مربوط به تنوع ژنتیکی پایه‌های اهلی و وحشی پسته است. بر اساس نتایج، پایه UCB1، به دلیل خشکیدگی نهال حساس به سرما بود. پایه‌های اینتگریما، کسور، بنه باغی و قزوینی×اینتگریما تحت تاثیر سرما به دلیل سرخشکیدگی شاخه نیز دچار خسارت شدند. بر اساس نتایج درختواره، پایه‌های متحمل شامل پایه بنه، دو رگ قزوینی×بنه، سرخس، قزوینی و قزوینی× آتلانتیکا بودند. نتایج دو رگ‌های حاصل از تلاقی قزوینی با پایه‌های بنه‌باغی، کسور و اینتگریما توانست تنش ناشی از دماهای پایین را در مقایسه با پایه‌های مذکور به طور معنی‌دار کاهش دهد که می توانند در برنامه اصلاحی پیش رو مدنظر قرار گیرند.

منابع

۱- آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی. (۱۳۹۷). محصولات باغبانی، وزارت جهاد کشاورزی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات، جلد سوم، ۲۴۰ صفحه.

۲- اسماعیل‌پور، ع. (۱۳۸۶). آشنایی با پایه‌های پسته در دنیا. فصلنامه علمی، تحلیلی و خبری، مؤسسه تحقیقات پسته ایران، ۱(۳).

۳- تاج‌آبادی‌پور، ع. (۱۳۹۶). بررسی اثر کاربرد اسید آمینه آرژنین و متیل جاسمونات بر خصوصیات رویشی و زایشی و تحمل به سرما در پسته. پایان‌نامه دکتری. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۴- تاج‌آبادی‌پور، ع، و پناهی، ب. (۱۳۸۴). رده‌بندی پسته. ترجمه، نشریه فنی پژوهشکده پسته، ۲۳.

۵- حکم‌آبادی، ح. (۱۳۹۵). بررسی مقاومت به سرما در سه رقم تجاری پسته دامغان و سه پایه عمده پسته کاری از طریق پارامترهای نشت یونی. گزارش نهایی، پژوهشکده پسته کشور.

۶- شرافتی، ع‌ا. (۱۳۸۹). تأثیر برخی از پایه‌های پسته بر صفات رویشی و اکوفیزیولوژیک دو رقم پسته در اقلیم فیض‌آباد (خراسان رضوی). گزارش نهایی، موسسه تحقیقات پسته کشور.

۷- همایون‌فر، س، ذوالفقاری، ر، و فیاض، پ. (۱۳۹۸). مقایسه برخی صفات فیزیولوژیک بنه (*Pistacia*

(*atlantica*) و کلخونگ (*P. khinjuk*) تحت تأثیر سخت‌واره‌شدن و سرما. *مجله جنگل ایران*، ۱۱(۲): ۲۰۷-۲۱۹.

۸- هاشمی‌نسب، ح، و افروشه، م. (۱۳۹۷). معرفی پایه‌ها و ارقام پسته آمریکا و مقایسه آن‌ها با شرایط ایران. وزارت جهاد کشاورزی سازمان ترویج آموزش و تحقیقات کشاورزی، پژوهشکده پسته کشور.

۹- هاشمی‌نسب، ح، حسینی فرد، س‌ج، اسماعیل‌پور، ع، علی‌پور، ح، و پناهی، ب. (۱۳۹۹). دستورالعمل آماده‌سازی بذر جهت جوانه‌زنی و کاشت گونه‌های غیراهلی جنس پسته. وزارت جهاد کشاورزی سازمان ترویج آموزش و تحقیقات کشاورزی، پژوهشکده پسته کشور.

10- Afshari, H, & Homkabadi, H. (2009). Investigation on the resistance of main pistachio cultivars of Damghan region (Iran) to spring frost. 5th International Symposium on Pistachios and Almonds – ISHS – Sanliurfa – Turkey, Oct. 06-10.

11- Bates, LS, Waldern, RP, & Teave, ID. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil, 39*, 205-107. 7.

12- Beauchamp, C, & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutases: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry, 44*(1), 276-287.

13- Begara-Morales, JC, Sánchez-Calvo, B, Chaki, M, Valderrama, R, Mata-Pérez, C, López-Jaramillo, J, Padilla, MN, Carreras, A, Corpas, FJ, & Barroso, JB. (2014). Dual regulation of cytosolic ascorbate peroxidase (APX) by tyrosine nitration and S-nitrosylation. *Journal of Experimental Botany, 65*(2), 527–538.

14- Begara-Morales, JC, Sánchez-Calvo, B, Chaki, M, Mata-Pérez, C, Valderrama, R, Padilla, MN, López-Jaramillo, J, Luque, F, Corpas, FJ, & Barroso, JB. (2015). Differential molecular response of monodehydroascorbate reductase and glutathione reductase by nitration and S-nitrosylation. *Journal of Experimental Botany*, *66*(19), 5983-5996.

15- Blokhina, O, Virolainen, E, & Fagerstedt, KV. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annual Botany*, *91*, 179-194.

16- Buchanan, BB, Gruissem, W, & Jones, RL. (2015). Biochemistry & molecular biology of plants, 2nd ed. West Sussex, UK: Wiley Blackwell;. 1280 p.

17- Clark, D, Durner, J, Navarre, DA, & Klessig, DF. (2000). Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 13*(12), 1380-1384.

18- Cohen, S, & Naor, A. (2002). The effect of three rootstocks on water use, canopy con-ductance and hydraulic parameters of apple trees and predicting canopy from hydraulic conductances. *Plant, Cell and Environment, 2,* 17-28.

19- Corpas, FJ, Chaki, M, Fernández-Ocaña, A, Valderrama, R, Palma, JM, Carreras, A, Begara-Morales, JC, Airaki, M, Del Río, LA, & Barroso, JB. (2008). Metabolism of reactive

26- Gijón, MD, Gimenez, C, Perez-Lopez, D, Guerrero, J, Couceiro, JF, & Moriana, A. (2010). Rootstock influences the response of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Kerman) to water stress and rehydration. *Scientia Horticulturae (Amsterdam), 125*, 666-671.

27- Guerrero, J, Moriana, A, & Couceiro, JF. (2003). El pistachero en castilla-la mancha. primeros resultados. *Fruticultura Profesiona, 135*, 23-38.

28- Kodra, E, Steinhaeuser, K, & Ganguly, AR. (2011). Persisting cold extremes under 21st-century warming scenarios. *Geophysical Research Letters, 38*(8), 187.

29- Lin, A, Wang, Y, Tang, J, Xue, P, Li, C, Liu, L, Hu, B, Yang, F, Loake, GJ, & Chu, C. (2012). Nitric oxide and protein S-nitrosylation are integral to hydrogen peroxide-induced leaf cell death in rice. *Plant Physiology, 158*(1), 451-464.

30- Lukatkin, AS. (2002) Contribution of oxidative stress to the development of cold-induced damage to leaves of chilling-sensitive plants: 2. the activity of antioxidant enzymes during plant chilling. *Russian Journal of Plant Physiology, 49*(6), 782-788.

31- Ma, YY, Zhang, YL, Shao, H, & Lu, J. (2010). Differential physio-biochemical responses to cold stress of cold-tolerant and non-tolerant grapes (*Vitis* L.) from China. *Journal of Agronomy and Crop Science, 196*, 212-219.

32- Nakano, Y, & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplast. *Plant and Cell Physiology, 22*, 867-880.

nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions. *Plant Cell Physiology, 49*, 1711-1721.

20- Dhindsa, RS, Dhindsa, P, & Thorpe, AT. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany, 32*, 93-101.

21- Ershadi, A, Karimi, R, & Mahdei, KN. (2016). Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars. *Acta Physiology Plant, 38*, 1-10.

22- Ferguson, L, & Buchner, R. (1990). Relative cold tolerance of four unbudded pistachio seedling rootstocks. *HortScience, 25* (9), 1089-1089.

23- Ferguson, L, Reyes, H, Sanden, B, Grattan, S, Epstein, L, & Krueger, B. (2005). Pistachio rootstocks, in Pistachio production manual, ed. by Ferguson L. Center for Fruit and Nut Research and Information, Davis, CA, pp. 67-73.

24- Ghasemi Soloklui, AA, Ershadi, A, Fallahi, E. (2012). Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *HortScience, 47,* 1821–1825.

25- Gholipour, Y. (2002). Study of frost damage on major commercial varieties flowers of pistachio in Qazvin region and determination level of resistance. Final report on research projects. Agriculture and Natural Resources Research Center, Qazvin.

33- Nikoogoftar Sedghi, M, ValizadehKaji, B, Karimi, R. (2020). Physiological and biochemical responses of 10 commercial Iranian pistachio cultivars to freezing. *Biologia, 76*, 329-339.

34- Plewa, MJ, Smith, SR, & Wagner, ED. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research, 247*, 57-64.

35- Petoukhov, V, & Semenov, VAA. (2010). Link between reduced Barents-Kara sea ice and cold winter extremes over northern continents. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 115*(21), 1-11.

36- Rivero, RM, Ruiz, JM, García, PC, López-Lefebre, LR, Sánchez, E, & Romero, L. (2002). Response of oxidative metabolism in watermelon plants subjected to cold stress. *Functional Plant Biology, 29*(5), 643.

37- Sairam, RK, & Srivastava, GC. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science, 162,* 897-904.

38- Sajadian, H, Shamili, M, Hokmabadi, H, Tajabadipour, A, & Hasheminasab, H. (2019). Physiological responses of some rootstocks and interspecific hybrids of pistachio to cold stress under greenhouse conditions. *Journal of Nuts*, *10(2),* 139-151.

39- Seckbach, J, Oren, A. (2007). Oxygenic photosynthetic microorganisms in extreme environments. In: Algae and cyanobacteria in extreme environments. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 3-25.

40- Solari, L, Johnson, S, & Dejong, TM. (2006). Hydraulic conductance characteristics of peach (*Prunus persica*) trees on different rootstocks are related to biomass production and distribution. *Tree Physiology, 26,* 1343-1350.

41- Tuteja, N, & Singh, GS. (2012). Plant acclimation to environmental stress. Springer Science & Business Media.

42- Weibel, A, Johnson, RS, & DeJong, TM. (2003). Comparative vegetative growth responses of two peach cultivars grown on size-controlling versus standard rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science, 128,* 463-471.

43- Xin, Z, & Browse, J. (2000). Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant Cell, 23,* 893-902.

44- Zhang, S, Jiang, H, Peng, S, Korpelainen, H, & Li, C. (2011). Sex-related differences in morphological, physiological, and ultrastructural responses of *Populus cathayana* to chilling. *Journal of Experimental Botany, 62*(2), 675-686.

Evaluation of Rootstocks and Interspecific Hybrids of Pistachio (*Pistacia sp.*) under Cold Stress Condition

Abstract

The aim of this study was to evaluate the morpho-biochemical reactions of pistachio rootstocks and their interspecific hybrids to frost and freezing temperature stress. The experiment was performed as a factorial in a completely randomized design with three replications. The first factor was temperature (4, 0 and -4 °C) and the second factor was rootstock ((pistachio domestic rootstocks (Badami Zarand, Sarakhs and Qazvini), hybrids (Qazvini×Khinjuk, Qazvini× Mutica, Qazvini × Baneh Baghi, Qazvini × Atlantica, Qazvini× Integerrima), non-domesticated species including Atlantica ((*Pistacia atlantica*, Integerrima, Khinjuk, Sarakhs, Mutica (*P. atlantica* sub. mutica) and Baneh Baghi (*P. mutica* × *P. vera*) and UCB1 hybrid. The results of this study showed that morphological and biochemical indices were statistically significant by the applied treatments. According to the results, with decreasing the temperature to -4 °C, the percentage and severity of damage significantly increased ($p < 0.01$). The evaluation of the damage severity showed that the Mutica, hybrid Qazvini × Mutica, Sarakhs, Qazvini were tolerant to freezing temperature and the highest damage index was observed in UCB1, Integerrima and Khinjuk. Based on the results, the highest percentage of seedling drought damage was observed in UCB1 rootstock and the highest percentage of shoot tip drought was related to Integerrima and Khinjuk rootstock. The highest activity of Ascorbate peroxidase enzyme was in Sarakhs, Qazvini and Mutica rootstocks and the highest activity of Superoxide dismutase enzyme was related to Mutica rootstock and hybrid Qazvini× Mutica. The interaction effect showed that the activity of Catalase, Ascorbate peroxidase, Superoxide dismutase, and Guaiacol peroxidase enzymes in cold-tolerant rootstocks was significantly higher than cold-susceptible rootstocks. The results of cluster diagrams based on the evaluated indices showed that in cold temperature stresses, Mutica, Qazvini × Baneh, Sarakhs, Qazvini, and Qazvini ×Atlantica were in a subgroup which indicated the close proximity can be considered as the tolerant rootstocks to frost and freezing temperature stress in the breeding program.

Keywords: Cold stress, Damage, Enzyme, Interspecific hybrids, Pistachio, Rootstock