

Frost and the role of ice nucleating bacteria in frost damage in the pistachio orchards of Rafsanjan.

Mahdieh Rostami*

Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Rafsanjan Branch, Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran

*Corresponding author: M.Rostami_1355@yahoo.com

Receive: 2024/6/16

Accepted: 2024/7/31

Abstract

Pistachio is a strategic product with a special position among agricultural products. In recent years, climate change poses a threat to the pistachio market. These changes, including frost and adverse weather phenomena, have affected the quality and quantity of the pistachio product in different ways. Despite the development of different methods of protection against cold, frost damage to plants is a widespread serious economic problem for agricultural and horticultural producers. For this reason, many researches and studies have been done in this field. This paper reviews the results of frosting, the role of ice nucleating bacteria in Pistachio frost damage and frost management research that have been reported over the past 10 years. Ice-nucleating bacteria are the chief initiators of frost damage to many economically important crop plants. This paper also reviews the results of research including isolation and identification of epiphytic Ice Nucleation active bacteria, evaluation of Ice Nucleation Activity (INA) and INA gene detection in the bacteria Isolated from Pistachio Trees in Kerman Province, comparison of ice nucleation frequency and the possibility of biological control of them. Lastly, this review also explores the role of these bacteria in plant frost damage and the strategies and limitations of avoiding plant frost damage by managing these bacterial populations by bactericides, antagonistic bacteria, or cultural control strategies.

Key words: pistachio, frost, Ice nucleation bacteria, Rafsanjan.

سرمازدگی و نقش باکتری های هسته ی یخ در افزایش خسارت آن در باغات پسته رفسنجان

مهدیه رستمی*

استادیار گروه گیاه پزشکی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران

* نویسنده مسئول، M.Rostami_1355@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۷

چکیده

پسته به عنوان یک محصول استراتژیک، جایگاه خاصی در بین تولیدات کشاورزی ایران دارد. در سال های اخیر، تغییرات اقلیمی، بزرگترین خطری است که بازار پسته را تهدید می کند. این تغییرات از جمله سرمازدگی و پدیده های ناگوار جوی به شکل های مختلف کیفیت و کمیت محصول پسته را تحت تاثیر قرار داده است. علیرغم توسعه ی روش های مختلف حفاظت در برابر سرما، خسارت های سرمازدگی وارد به گیاهان همچنان به عنوان یک مشکل عمده ی اقتصادی برای تولیدکنندگان کشاورزی و باغی مطرح است. به همین دلیل پژوهش ها و مطالعات زیادی در این زمینه صورت گرفته است. این مقاله، مروری است بر بخشی از پژوهش های ده سال گذشته که در زمینه سرمازدگی، نقش باکتری های هسته یخ در سرمازدگی پسته و مدیریت جمعیت این باکتری ها انجام شده است. باکتری های هسته یخ، آغازگر اصلی آسیب سرمازدگی به بسیاری از گیاهان زراعی مهم اقتصادی هستند. این مقاله همچنین مروری است بر تحقیقات انجام شده شامل جداسازی و شناسایی باکتری های هسته یخ ساکن سطح درختان پسته در استان کرمان، ردیابی ژن هسته زای یخ، مقایسه فرکانس هسته یخ بین آن ها و همچنین امکان کنترل بیولوژیک آن ها. در نهایت این مقاله نقش این باکتری ها را در خسارت سرمازدگی گیاهان و راهبردها و محدودیت های جلوگیری از آسیب سرمازدگی گیاهی با مدیریت این جمعیت های باکتریایی توسط باکتری کش ها، باکتری های آنتاگونیست، یا راهبردهای کنترل زراعی را بررسی می کند.

واژگان کلیدی: باکتری هسته یخ، پسته، رفسنجان، سرمازدگی

مقدمه

در قلمرو زیست شناسی گیاهی، عوامل محیطی مختلف، تأثیر زیادی بر رشد و نمو گیاهان دارند. تغییرات آب و هوایی معاصر، جمعیت گیاهان را در معرض تنش های جدیدی از دما، خشکی، دی اکسید کربن و سایر شرایط غیرزیستی و زیستی قرار می دهد. این تغییرات به سرعت پویایی تکاملی گیاهان را مختل می کند. تنش ها هر کدام به تنهایی می توانند بر فیزیولوژی گیاه در کل چرخه ی زندگی آن تاثیرگذار باشند. به عنوان مثال تغییرات دما یا رطوبت و حتی طول روز یا تغییرات الگوی بارش در یک اقلیم خاص بر فیزیولوژی جوانه زنی، گلدهی، گرده افشانی، فنولوژی میوه دهی و حتی پیری برگی و خزان گیاه تأثیرات پیچیده ای می گذارد. از سوی دیگر تغییرات جوی تعاملات زیستی بین گیاهان و موجودات زنده دیگر از قبیل گرده افشان ها، آنتاگونیست ها، میکرواورگانیسم های همزیست آنها را نیز تحت تاثیر قرار می دهد. لذا مطالعه و بررسی هر کدام از این عوامل و پیامدهای اکولوژیکی آن می تواند ما را به درک بهتری از تغییرات روند تکاملی گیاهان، رشد محصولات کشاورزی و پر کردن شکاف های اطلاعاتی در این زمینه برساند.

آثار سوء پدیده‌های مخرب جوی، از جمله سرمازدگی و نوسانات دمایی بزرگترین خطری است که بازار محصولات کشاورزی، به‌ویژه، پسته را تهدید می‌کند. پسته، به‌عنوان یک محصول کشاورزی با ارزش و یکی از منابع درآمدهای ارزی غیرنفتی کشور به‌شمار می‌آید. سرمازدگی شدید بهاره، پدیده پرخطری برای فعالیت‌های کشاورزی، از جمله تولید پسته است. طبق آمار به‌دست آمده از اداره حفظ نباتات استان کرمان، سرمازدگی، هر سال بین ۱۵ تا ۱۰۰ درصد خسارت در اغلب باغات پسته مناطق مختلف استان کرمان، از جمله رفسنجان وارد می‌کند. سرمازدگی معمولاً زمانی رخ می‌دهد که دما به زیر نقطه انجماد برسد و اغلب اثرات مخربی بر سلامت گیاهان دارد. در سال‌های اخیر با گرمایش روز افزون زمین، گیاهان در معرض آسیب بیشتری نسبت به سرمازدگی هستند. به دلیل اینکه با گرمایش زمین، گیاهان در فصل زمستان سرمای معتدلی را تجربه می‌کنند و مکتیسم‌های پاسخ به استرس سرما کمتر فعال می‌شوند. لذا گیاه در مقابل سرمای دیررس بهاره و زودرس پاییزه، که هر دو ناشی از تغییرات اقلیمی زمین است، حساسیت بیشتری نشان می‌دهند. پاسخ‌های مولکولی و متابولیکی که در زمستان‌های سرد، باعث مقاومت سلول به سرما می‌شوند، بسیار پیچیده هستند. این فرایندها شامل تغییرات در ترکیب دیواره سلولی، نگهداری هموستاز سلولی، تغییر در ترکیبات غشای سلولی با محتوای لیپید غیراشباع بالاتر، سنتز پروتئین‌های شوک سرما، آنزیم‌های فعال و سنتز متابولیت‌های اولیه و ثانویه می‌باشد. این مقاله‌ی مروری، پس از مرور فیزیولوژی سرمازدگی در سلول گیاهی، به نقش باکتری‌های هسته‌ساز یخ در افزایش خسارت سرمازدگی می‌پردازد.

فیزیولوژی سرمازدگی در درختان پسته

سرمای وارده و تغییرات جوی ایجاد شده در چند سال اخیر نشان داده است که محصول پسته نیز یکی از محصولات حساس به سرمای بهاره بوده و بنا به تغییرات جوی احتمال سرمازدگی شدید دور از انتظار نخواهد بود. بنابراین نظر به اهمیت محصول پسته در کشور از لحاظ اقتصادی و ارزش آوری آن، لزوم اعمال روش‌هایی جهت جلوگیری از سرمای بهاره ضروری می‌باشد. به‌طور کلی در نقاط مختلف دنیا از این روش‌ها به‌منظور پیشگیری از سرمازدگی استفاده می‌کنند. استفاده از ماشین‌های مولد مه، سیستم چاهک معکوس، استفاده از کودهای پتاسیمی، استفاده از ترکیبات با میزان بالای آمینواسید آزاد (به‌ویژه پرولین)، کنترل باکتری‌های تشکیل دهنده هسته یخ، عدم انجام هرس زودهنگام، عدم انجام عملیات خاکورزی، عملیات آبیاری در خاک‌های خشک قبل از یخبندان و حذف علف‌های هرز، از راهکارهایی است که برای کاهش خسارت سرمازدگی به کشاورزان توصیه می‌شود.

مطالعه‌ی علمی و هدفمند تنش‌های طبیعی و اطلاع از میزان حساسیت یا دمای بحرانی خسارت، در ارقام مختلف یک گونه‌ی گیاهی، به انتخاب انواع مناسب برای کاشت در یک منطقه کمک می‌کند. دمای بحرانی خسارت به پسته، نقطه‌ای است که به جوانه‌ها خسارت وارد می‌گردد. این دما به نوع درخت، مرحله‌ی رشد و نمو و شرایط آب و هوایی بستگی دارد. اکثر باغداران معمولاً دمایی را بحرانی می‌دانند که طی آن ۱۰٪ جوانه‌ها از بین می‌رود. افت دما در مراحل مختلف، آسیب‌های مختلفی به جوانه‌ها و گل‌های در حال باز شدن وارد می‌کند (Sorkhan et al., 2011). دمای بحرانی آسیب‌زا در سه مرحله گل، جوانه‌ی در حال باز شدن و جوانه رکود پسته، به ترتیب ۲+۲ - ۴ - درجه سانتیگراد است (به شرط آنکه درخت به مدت دو ساعت در این دما قرار بگیرد). معمولاً در دماهای بحرانی اندام‌های زایشی در گل‌های در حال باز شدن دچار اختلال می‌شوند. این آسیب می‌تواند کلاله‌ها را در جذب دانه‌های گرده و یا رشد لوله گرده دچار مشکل کند. هر چند اگر مدت زمان افت دما به طول انجامد آسیب‌های عمیق‌تری وارد خواهد شد و یا به نگرش اندام‌های زایشی منجر شود. این آسیب‌ها در ارقام مختلف پسته، با دمای بحرانی یکسان نیز، با هم متفاوت است. به‌عنوان مثال، دو رقم پسته قزوینی و اوحدی از نظر حد بحرانی دما اختلاف معنی داری نشان نداده‌اند. اما با این حال تفاوت در زمان مراحل باز شدن جوانه و گل

حتی برای یکی، دو روز مهم و حیاتی است. علاوه بر سرمای دیررس بهاره، سرمای پاییزه و زمستانه در اقلیم‌های سرد می‌تواند به آوندهای چوب، ریشه و پوست درخت آسیب غیرقابل برگشت وارد نماید (Gholipour, 2005). در مقایسه‌ی مقاومت برخی ارقام تجاری دامغان به سرمای بهاره، نتایج نشان داده که حساس‌ترین مرحله به سرمای بهاره مرحله گل کامل بوده و بیش‌ترین خسارت سرما در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد وارد شد و هم‌چنین، رقم عباسعلی مقاوم‌ترین و رقم شاه پسند حساس‌ترین رقم به سرمای پاییزه بود و رقم خنجری نیمه مقاوم مشخص شد (Afshri et al., 2009). در مطالعه سرخان و همکاران، پنج پایه مقاوم و پنج پایه مستعد به سرمازدگی انتخاب و از نظر فیزیولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند تا پارامتر فیزیولوژیکی موثر بر مقاومت مشخص شود. لذا در شرایط آزمایشگاهی پرولین، قندهای محلول، پروتئین‌ها، عناصر غذایی شامل پتاسیم، منیزیم، کلسیم، فسفر، آهن، روی، مس، منگنز اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که در بین پایه‌های مقاوم و حساس از نظر محتوای قندهای محلول و پرولین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما پایه‌های مقاوم دارای بیشترین میزان پروتئین، پتاسیم و منیزیم در مقایسه با پایه‌های حساس بود. بر اساس این تحقیق در فیزیولوژی سرمازدگی پسته، غلظت پروتئین محلول، پتاسیم و منیزیم در مقاومت به سرمازدگی در پسته نقش داشته است (Sorkhan et al., 2011).

سازگاری گیاهان با سرما

گیاهان در آغاز فصل رشد و جوانه‌زنی، در حساس‌ترین مرحله به سرما هستند. به‌دلیل اینکه تمام مواد انباشته شده و انرژی گیاه جهت مقابله با سرما، در راستای رشد رویشی و زایشی سال جدید صرف می‌شود و در این هنگام سرماهای خیلی خفیف هم، آسیب جدی به محصولات کشاورزی در گیاهان وارد می‌کند (Keenan et al., 2020).

بسیاری از گونه‌های گیاهی که شرایط آب و هوایی سرد رشد می‌کنند، می‌توانند با این شرایط آب و هوایی سازگار شوند. سازگاری با سرما در گیاهان در آب و هوای سرد، توانایی آنها را به تحمل دمای پایین و روزهای کوتاه افزایش می‌دهد. فرایند سازگاری با سرما یا تحمل دمای پایین، با تغییرات فیزیولوژیکی و مولکولی همراه است که در نهایت با بیان ژن‌ها به‌منظور تولید ترکیبات دو لایه لیپیدی و تجمع اسمولیت‌ها در سلول تعریف می‌شود. اسمولیت‌ها مولکول‌های طبیعی و آلی کوچکی هستند که بر خواص مایعات بدن موجود زنده اثر می‌گذارند. این مولکول‌ها شامل گروه‌های شیمیایی مختلفی از جمله اسیدهای آمینه (بتائین، گلیسین، پرولین و ...)، متیل‌آمین‌ها و پلی‌آل (چندالکلی) می‌شوند. در واقع اسمولیت‌ها یا محلول‌های آلی سازگارکننده، به سلول در شرایط تنش جهت تنظیم و تعادل اسمزی سیتوپلاسم کمک می‌کنند (Serraj and Sinclair, 2002). جانداران، از تجمع بالای اسمولیت‌ها برای حفظ ساختارهای پروتئینی خود بهره می‌برند. از آنجایی که فرایندهای حیاتی سلول‌های بیشتر موجودات زنده در غلظت یک مولار (یا کمی پایین‌تر از آن) انجام می‌شود، افزایش غلظت سلولی در شرایط سرما، تحمل گیاه را به سرمازدگی بالا می‌برد. پاشش برگی گلیسین و بتائین روی گیاهان آراییدوپسیس دمای انجماد را یک درجه سانتی‌گراد افزایش داده است. به‌طور مشابه، کاربرد خارجی گلیسین-بتائین، باعث افزایش تحمل گوجه‌فرنگی به دماهای پایین شده است. مطالعات نشان داده است که اسپری گلیسین-بتائین به میزان دو میلی‌مولار تحمل به سرما را در برگ‌های توت‌فرنگی بیش از دو برابر تا ۷۲ ساعت بعد از استعمال افزایش داد و به علاوه موجب بقا در یخ‌زدگی و رشد مجدد در تمام گیاهان شد. یافته‌های اخیر نیز نشان می‌دهد که مهندسی گیاهان برای افزایش بیان این ترکیب در گیاهانی نظیر آراییدوپسیس، برنج و توتون سبب افزایش تحمل به تنش سرما و حفظ فعالیت فتوسنتزی در دماهای پایین شده است. در کل، با وجود نقش گلیسین-بتائین به‌عنوان تخفیف‌دهنده اثرات تنش، مکانیسم‌های حفاظتی آن بر علیه تنش سرما کمتر شناخته شده است (Esmaili et al., 2012).

دمای کره زمین رو به افزایش است و این گرمایش، باعث گرم‌تر شدن دمای متوسط زمستان و همچنین سرماهای دیررس بهاره شده و در نهایت یک بی‌ثباتی در سازگاری گیاهان به سرما ایجاد کرده و مقاومتشان به سرما (حتی اگر سرما خفیف باشد) کمتر می‌شود. این گرمایش که به تدریج از سال‌های گذشته آغاز شده، در هر دهه یک روز جوانه‌زنی و بیدار شدن گیاهان و ورود به مرحله رشد آنها را به جلو می‌اندازد (Francis and Skific, 2015). از سوی دیگر افزایش میزان دی‌اکسیدکربن در جو زمین سبب کاهش مقاومت به سرمازدگی در گیاهان و آسیب‌پذیری بیشتر آنها می‌شود (Repo et al., 2021).

عوامل دیگری از جمله وضعیت جغرافیایی محل، میزان رطوبت، وزش باد، طول مدت زمان ماندگاری در دمای انجماد و بسیاری عوامل دیگر در میزان خسارت سرمازدگی دخالت دارند. از آنجا که هوای سرد از هوای گرم سنگین‌تر است و در دره‌ها مستقر می‌شود، شرایط یخبندان در این مناطق مستعدتر است. دره‌ها همچنین منطقه را از بادهای قوی‌تر محافظت می‌کنند و پتانسیل یخبندان را افزایش می‌دهند (Francis and Skific, 2015). از سوی دیگر رطوبت موجود در جو یک عامل مهم در تعدیل دمای هوا می‌باشد. مولکول‌های بخار آب، یک گاز گلخانه‌ای بسیار قوی است که در طیف بسیار وسیعی می‌تواند امواج برگشتی از زمین را جذب نماید. هر چه مقدار بخار آب موجود در جو بیشتر باشد، انرژی برگشتی بیشتری را جذب نموده و از کاهش دمای محیط جلوگیری می‌نماید. در مقابل هنگامی که رطوبت هوا کم باشد امواج تابشی برگشتی کمتر به مانع برخورد نموده و موجب کاهش سریع دمای محیط می‌گردند. هرچند که با توجه به درصد میزان رطوبت این تاثیر می‌تواند متغیر باشد. بر اساس دمای نقطه ی شب‌نم در روز قبل (I) احتمال سرمازدگی و دمای کمینه روز جاری (I+1) را پیش‌بینی کرد. بر این اساس اگر میزان رطوبت نسبی حدود ۴۵ تا ۵۵ درصد باشد، دمای نقطه ی شب‌نم روز I با دمای کمینه ی روز (I+1) برابر است. اما اگر رطوبت نسبی بیشتر یا کمتر از این باشد، دمای کمینه ی روز (I+1) به ترتیب کمتر یا بیشتر از دمای نقطه ی شب‌نم در روز I خواهد بود. به‌عنوان مثال اگر درصد رطوبت نسبی در روز جاری ۷۰ تا ۸۰ باشد و دمای نقطه ی شب‌نم در عصر این روز صفر یا منفی یک درجه سانتیگراد باشد. احتمال اینکه کمینه ی دما در روز بعد به کمتر از منفی یک درجه سانتیگراد برسد و احتمال سرمازدگی خواهد بود. معمولاً شدت سرمازدگی در هنگام وقوع کمینه دما پیش از طلوع آفتاب به اوج خود می‌رسد (Nazemosadat et al., ۲۰۰۲).

انواع سرمازدگی

سرمازدگی تابشی (تشعشی): یخبندان تابشی یک تنش غیر زیستی عمده و یکی از عوامل محدود کننده اصلی تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است. سرمازدگی تابشی زمانی رخ می‌دهد که در طول روز با تابش خورشید، گیاهان و زمین گرم می‌شوند و در طول شب این انرژی را به‌صورت تابش امواج با طول موج بلند از دست می‌دهند. بنابراین، هوای مجاور سطح زمین سرد شده و با افزایش ارتفاع از سطح زمین، دمای هوا افزایش می‌یابد. سطح خاک و گیاه در اثر تشعشع خالص منفی سردتر از هوا می‌گردد. هوا نیز در اثر برخورد با این سطح سردتر و در نتیجه با از دست دادن حرارت به سطوح سرد و متراکم تبدیل می‌شود و این هوای متراکم سرد در سطح زمین باقی مانده و در تحت شرایط پایدار ایجاد یخبندان تشعشی می‌شود. حاصل این امر پدیده ای به نام وارونگی دما است که دمای هوا با زیاد شدن ارتفاع افزایش می‌یابد و به سطحی می‌رسد که ارتفاع انورسیون یا سقف نامیده می‌شود. یخبندان تشعشی در شرایط آسمان صاف و بدون ابر واقع می‌گردد، در چنین شرایطی امکان دارد که بعضی مواقع نسیم‌های ملایم، ضعیف و

کم دوام وجود داشته باشد. این سرمازدگی در یک محدوده معین و محیط محدود بدون اینکه هوای سرد از سایر مناطق نفوذ نماید به وجود می‌آید معمولاً در اواخر پاییز و اوایل بهار زمانی که گیاه فعال می‌باشد اتفاق می‌افتد. در حالتی که رطوبت هوا کم باشد میزان خسارت افزایش خواهد یافت. قابل ذکر است که در این نوع سرمازدگی چون انتقال دما از قسمت‌های مختلف بدن انسان به کندی صورت می‌گیرد لذا انسان سرما را کمتر احساس می‌نماید و موجب اشتباه کشاورزان در تشخیص احتمال این نوع سرمازدگی می‌شود. این نوع سرمازدگی همان سرمای بهاره ایست که همه ساله خسارت بالایی به باغداران مناطق مختلف وارد می‌نماید و البته در بسیاری کشورهای دارای کشاورزی پیشرفته کاملاً کنترل شده است.

سرمازدگی انتقالی: در برخی مواقع عامل سرمازدگی تابع تابش برگشتی از زمین نبوده بلکه حرکت توده‌های سرد هوا از روی نقاط سطحی زمین نقش اصلی را در سرمازدگی ایفا می‌نماید. در این حالت گذر توده‌های سرد می‌تواند دمای هوا را در مناطق کشاورزی برای مدتی کاهش داده و بسته به شدت آن موجب سرمازدگی یا یخ‌زدگی گیاهان گردد. به این نوع کاهش دما اصطلاحاً سرمای انتقالی گفته می‌شود. در نوع سرمازدگی انتقالی در اثر عبور یک جبهه هوای سرد از روی یک منطقه بروز می‌کند به طوری که دمای آن کمتر یا در حد دمای بحرانی برای محصولات خاص منطقه می‌باشد. یکی از علائم مشخص سرمازدگی انتقالی وجود باد شدید سرد در منطقه است. شرایط وقوع یخبندان جبهه‌ای را می‌توان به وسیله باد شدید و آسمان ابری تشخیص داد آسمان ممکن است ابری یا نیمه ابری باشد. در واقع ابرها ممکن است چند ساعت بعد از رسیدن جبهه سرد به منطقه ظاهر شوند اگر آسمان ابری باشد ستاره‌ها خیلی قابل رویت نیستند و ماه رنگ پریده به‌نظر می‌رسد و امکان دارد هاله‌ای اطراف آن را گرفته باشد. بعد از سرمازدگی جبهه‌ای می‌توان مشاهده نمود که خسارت آن منحصراً به برگ‌هایی که در معرض آسمان هستند محدود نمی‌شود، بلکه حتی علف‌های هرز زیرسایه گیاهان نیز آسیب می‌بینند. در چنین شرایطی نباتات حرارت خود را به هوای سرد داده و به سرعت افت درجه‌ی حرارت پیدا می‌کند، به طوری که حتی ممکن است حرارت‌های تشعشی نیز در چنین حالتی کار ساز و مفید واقع نشود. معمولاً هوای سرد در محل‌های گودی و داخل دره‌ها بیشتر توسعه یافته و شدیداً خسارت می‌زند.

باکتری‌های هسته‌ی یخ

از آنجا که آب خالص در دمای ۳۸- تا ۴۰- درجه سانتی‌گراد یخ می‌زند، لذا دلیل یخ‌زدن آب در دماهای بالاتر از این دما، بستگی به حضور ذرات زنده یا غیرزنده‌ای دارد که تشکیل کریستال‌های یخ را در دماهای بالاتر آسان می‌کنند (Santl- et al., 2016) Temkiv. ذرات گرد و غبار و املاح معدنی موجود در هوا عمده‌ترین هسته‌های یخ موجود در جو هستند که در ابرها باعث بارش و تشکیل کریستال‌های یخ به صورت برف و تگرگ می‌شوند. علاوه بر این معمولاً هوا و ابرها پر از باکتری‌هایی هستند که هسته‌های یخ بیولوژیک را ایجاد می‌کنند. باکتری‌های هسته‌ی یخ، با توانایی خود در القای تشکیل یخ در دماهای نزدیک به صفر درجه سلسیوس، با استفاده از پروتئین‌های هسته‌ساز یخ موجب سرمازدگی گیاهان می‌شوند. چنانچه هر گرم از بافت گیاهی توسط ۱۰۰۰ سلول باکتری هسته‌ی یخ کلونیزه شود، بافت گیاهی در دمای بالاتر از ۵- درجه سلسیوس در معرض یخ‌زدگی قرار خواهد گرفت. باکتری‌های هسته‌ی یخ در طبیعت به صورت اپی‌فیت و گروهی بیمارگر در سطح گیاهان مستقر هستند به همین دلیل گیاهان حساس به سرما در اثر کاهش مختصر دما به زیر صفر، دچار خسارت سرمازدگی می‌شوند (Gurian et al., 1993). در ایران نیز گونه‌های مختلف باکتری‌های فعال هسته‌ی یخ از میزبان‌های مختلف جداسازی شده است. گونه‌هایی از باکتری‌های هسته‌ی یخ از سطح درختان پسته در بیش از ۸۰ منطقه پسته‌کاری استان کرمان جداسازی و تعدادی از آنها بر اساس تعیین توالی بخشی از ناحیه ژن‌های 16SRDNA.

کم دوام وجود داشته باشد. این سرمازدگی در یک محدوده معین و محیط محدود بدون اینکه هوای سرد از سایر مناطق نفوذ نماید به وجود می آید معمولاً در اواخر پاییز و اوایل بهار زمانی که گیاه فعال می باشد اتفاق می افتد. در حالی که رطوبت هوا کم باشد میزان خسارت افزایش خواهد یافت. قابل ذکر است که در این نوع سرمازدگی چون انتقال دما از قسمت های مختلف بدن انسان به کندی صورت می گیرد لذا انسان سرما را کمتر احساس می نماید و موجب اشتباه کشاورزان در تشخیص احتمال این نوع سرمازدگی می شود. این نوع سرما زدگی همان سرمای بهاره ایست که همه ساله خسارت بالایی به باغداران مناطق مختلف وارد می نماید و البته در بسیاری کشورهای دارای کشاورزی پیشرفته کاملاً کنترل شده است.

سرمازدگی انتقالی: در برخی مواقع عامل سرمازدگی تابع تابش برگشتی از زمین نبوده بلکه حرکت توده های سرد هوا از روی نقاط سطحی زمین نقش اصلی را در سرمازدگی ایفا می نماید. در این حالت گذر توده های سرد می تواند دمای هوا را در مناطق کشاورزی برای مدتی کاهش داده و بسته به شدت آن موجب سرمازدگی یا یخ زدگی گیاهان گردد. به این نوع کاهش دما اصطلاحاً سرمای انتقالی گفته می شود. در نوع سرمازدگی انتقالی در اثر عبور یک جبهه هوای سرد از روی یک منطقه پرومی کند به طوریکه دمای آن کمتر یا در حد دمای بحرانی برای محصولات خاص منطقه می باشد. یکی از علائم مشخص سرما زدگی انتقالی وجود باد شدید سرد در منطقه است. شرایط وقوع یخبندان جبهه ای را می توان به وسیله باد شدید و آسمان ابری تشخیص داد آسمان ممکن است ابری یا نیمه ابری باشد. در واقع ابرها ممکن است چند ساعت بعد از رسیدن جبهه سرد به منطقه ظاهر شوند اگر آسمان ابری باشد ستاره ها خیلی قابل رویت نیستند و ماه رنگ پریده به نظر می رسد و امکان دارد هاله ای اطراف آن را گرفته باشد. بعد از سرمازدگی جبهه ای می توان مشاهده نمود که خسارت آن منحصراً به برگ هایی که در معرض آسمان هستند محدود نمی شود، بلکه حتی علف های هرز زیرسایه گیاهان نیز آسیب می بینند. در چنین شرایطی نباتات حرارت خود را به هوای سرد داده و به سرعت افت درجه ی حرارت پیدا می کند، به طوریکه حتی ممکن است حرارت های تشعشی نیز در چنین حالتی کار ساز و مفید واقع نشود. معمولاً هوای سرد در محل های گودی و داخل دره ها بیشتر توسعه یافته و شدیداً خسارت می زند.

باکتری های هسته ی یخ

از آنجا که آب خالص در دمای ۳۸- تا ۴۰- درجه سانتی گراد یخ می زند، لذا دلیل یخ زدن آب در دماهای بالاتر از این دما، بستگی به حضور ذرات زنده یا غیرزنده ای دارد که تشکیل کریستال های یخ را در دماهای بالاتر آسان می کنند (Santl- et al., 2016) Temkiv. ذرات گرد و غبار و املاح معدنی موجود در هوا عمده ترین هسته های یخ موجود در جو هستند که در ابرها باعث بارش و تشکیل کریستال های یخ به صورت برف و تگرگ می شوند. علاوه بر این معمولاً هوا و ابرها پر از باکتری هایی هستند که هسته های یخ بیولوژیک را ایجاد می کنند. باکتری های هسته یخ، با توانایی خود در القای تشکیل یخ در دماهای نزدیک به صفر درجه سلسیوس، با استفاده از پروتئین های هسته ساز یخ موجب سرمازدگی گیاهان می شوند. چنانچه هر گرم از بافت گیاهی توسط ۱۰۰۰ سلول باکتری هسته یخ کلونیزه شود، بافت گیاهی در دمای بالاتر از ۵- درجه سلسیوس در معرض یخ زدگی قرار خواهد گرفت. باکتری های هسته یخ در طبیعت به صورت اپی فیت و گروهی بیمارگر در سطح گیاهان مستقر هستند به همین دلیل گیاهان حساس به سرما در اثر کاهش مختصر دما به زیر صفر، دچار خسارت سرمازدگی می شوند (Gurian et al., 1993). در ایران نیز گونه های مختلف باکتری های فعال هسته یخ از میزبان های مختلف جداسازی شده است. گونه هایی از باکتری های هسته یخ از سطح درختان پسته در بیش از ۸۰ منطقه پسته کاری استان کرمان جداسازی و تعدادی از آنها بر اساس تعیین توالی بخشی از ناحیه ژن های 16SRDNA.

Pseudomonas moraviensis, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fragi*, جدایه‌های *recA* و *spoD* شناسایی شدند. جدایه‌های *Entrobacter cloacae* و *Pseudomonas viridiflava*, *Pantoea agglomerans*, شناسایی شدند. فعالیت هسته یخ در باکتری‌های *E. cloacae* و *P. fragi*, *P. moraviensis* برای نخستین بار گزارش شد که بیشترین فرکانس هسته یخ مربوط به *P. fragi* و کمترین مربوط به *E. cloacae* بود. همچنین توان ایجاد سرمازدگی این جدایه‌ها روی گیاهچه‌های گندم به اثبات رسید. جدایه‌های فعال هسته یخ مربوط به مناطقی از استان کرمان بود که میانگین سالانه 60% خسارت سرمازدگی دارند (Rostami et al., 2018a). در ادامه‌ی تحقیقات، ژن هسته یخ در این باکتری‌ها ردیابی و گزارش شد (Rostami et al., 2018b).

فعالیت هسته یخ در باکتری‌های مختلف و حتی در یک گونه باکتری، در شرایط محیطی مختلف متفاوت است. باکتری‌های مولد هسته یخ فرکانس‌های متفاوتی در ایجاد هسته زایی کریستال‌های یخ از خود نشان می‌دهند. بررسی منابع نشان می‌دهد که بیان ژن‌های هسته یخ و تولید پروتئین‌های مزبور تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی، از قبیل دما، نور، رطوبت و ماده غذایی در دسترس قرار دارد (Attard et al., 2012). منبع کربنی مورد استفاده باکتری و شرایط آزمایشگاهی در تولید ترکیبات متابولیکی باکتری تاثیر به‌سزایی دارد (Metsoviti et al., 2012). مطالعه رستمی و همکاران نشان داد، گلیسرول و گلوکز به‌عنوان منبع کربنی در محیط کشت تاثیر بسیار معنی داری در فرکانس هسته یخ دارد. به‌طوری‌که با دو برابر شدن غلظت گلیسرول، زمان یخ‌زدگی سوسپانسیون باکتری استرین *P. viridiflava* raf₂ به نصف کاهش یافت (Rostami et al., 2018). بررسی و مقایسه فرکانس هسته یخ در برخی جدایه‌های باکتریایی همراه با عارضه سرمازدگی در درختان پسته منطقه رفسنجان نشان داد که در بین استرین‌های شناسایی شده، استرین *Pseudomonas* sp. Strain 82-1 بیشترین فرکانس هسته یخ (3.6×10^4) و استرین *Curtobacterium flaccumfaciens* strain 1-4 کمترین فرکانس (1.1×10^4) را در شرایط آزمایشگاه داشت. استرین *C. flaccumfaciens* strain 1-4 و *E. cloacae* strain 69-1 در این تحقیق برای اولین بار به‌عنوان باکتری مولد هسته یخ در رفسنجان گزارش شدند (Beirami and Rostami, 2019).

کنترل باکتری‌های هسته یخ

یکی از عوامل تشدید کننده در میزان سرمازدگی، وجود باکتری‌های هسته یخ در سطح گیاهان است. آزمایش‌های صحرایی نشان داده‌اند که با کاهش جمعیت باکتری‌های هسته یخ در گیاهانی که دماهای انجماد را تجربه می‌کنند، خسارت سرمازدگی به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. در واقع کنترل جمعیت این باکتری‌ها در سطح گیاهان، آنها را از سرمازدگی در دماهای بالاتر از انجماد (حداقل ۲ درجه سانتیگراد سردتر از حد انتظار) نجات می‌دهد. درجه افزایش ابرسرد شدن گیاهان که در شرایط مزرعه مشاهده می‌شود، متناسب با لگاریتم کاهش اندازه جمعیت باکتری INA است که به دست می‌آید. افزایش ۱ درجه سانتیگراد در توانایی فوق خنک کننده نیازمند حداقل ۱۰۰ برابر کاهش اندازه جمعیت باکتری INA است (Lindow, 2023).

معمولا برای کنترل باکتری‌های هسته یخ از باکتری‌کش‌ها (سموم مسی) یا باکتری‌های رقیب استفاده می‌شود. متأسفانه، باکتری‌کش‌های نسبتاً کمی برای کنترل باکتری‌های INA ثبت شده‌اند، همانطور که برای کنترل باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی نیز وجود دارد. ترکیبات حاوی مس رایج‌ترین باکتری‌کش‌ها در مدیریت باکتری‌های مرتبط با گیاه هستند. با وجود محدودیت‌های این

کلرید سدیم، بررسی تولید آنزیم‌های خارج سلولی و حساسیت به آنتی بیوتیک مورد شناسایی قرار گرفتند. بر اساس نتایج این آزمون‌ها مشخص شد که یکی از جدایه‌ها متعلق به جنس *Pantoea* و دیگری متعلق به جنس *Streptomyces* بودند. هر دو جدایه قدرت بازدارندگی مناسبی علیه باکتری عامل هسته یخ در شرایط آزمایشگاهی داشتند. این یافته می‌تواند نوید بخش کنترل زیستی تنش سرمازدگی در باغات پسته باشد (Dehghan Moghadam and Rostami, 2021).

مطالعات متعدد نشان داده است که ترکیب باکتری‌های سطح برگ، به شدت تحت تأثیر بافت گیاه، عملیات زراعی و حتی گیاهان موجود در محیط اطراف است. مدیریت پوشش گیاهی و تغییر سایر پارامترهای آگرواکولوژیکی فرصت‌هایی را برای تعدیل کلونیزاسیون محصولات توسط باکتری‌های مهاجر INA برای جلوگیری از آسیب سرمازدگی بسیار موثر است. نقش مهم این عوامل در تأمین میکروارگانیزم‌های مهاجر در هوا، و ترکیب جامعه باکتریایی اپی فیتیک روی گیاهان می‌باشد. لذا مطالعه‌ی میکروبیوم‌های فیلوسفر گیاهان، روش‌های جدید را برای جلوگیری از آسیب سرمازدگی به گیاهان شناسایی کرده است (Meyer et al., 2022).

نقش فنوتیپ هسته یخ در باکتری‌های INA

با توجه به اینکه ژن اعطا کننده فعالیت هسته‌زایی یخ ظاهراً فقط یک بار تکامل یافته است، اما به صورت افقی به انواع مختلف گونه‌های باکتریایی منتقل شده است، دانستن مزیت انتخابی اصلی برای این ویژگی دشوار است. با این حال، چندین مزیت فرضی فنوتیپ Ice+ در گونه‌های مختلف باکتری وجود دارد. قابل توجه است که بخش زیادی از باکتری‌های INA شناخته شده با گیاهان مرتبط هستند، و بنابراین بسیاری از مشارکت‌های فرضی هسته یخ در تناسب باکتری‌ها به تعامل آنها با گیاهان مرتبط است. اندازه جمعیت *P. syringae* دارای فنوتیپ هسته یخ (Ice+) در گیاهانی که آسیب یخ زدگی را متحمل شده اند، به طور قابل توجهی، حتی به صورت موقت، افزایش می‌یابد (Buttner and Amy 1989; Gross et al., 1983; Rostami et al., 2018a).

در تعامل باکتری‌های هسته یخ با گیاهان این سوال مطرح می‌شود که تشکیل کریستال‌های مخرب یخ در سلول‌های گیاهی چه سودی برای باکتری هسته یخ خواهد داشت. در پاسخ باید گفت که، نمونه‌های متعددی از بیماری‌های تحریک شده توسط سویه‌های INA در دو گونه *Xanthomonas* و *P. syringae* وجود دارد که با تشکیل یخ تسهیل می‌شود (Azad and Schaad 1988; Fones, 2020).

نه تنها بیماری به دنبال آسیب یخ زدگی محتمل‌تر یا شدیدتر است، بلکه فرآیند انجماد، ذوب نفوذ غیر فعال باکتری هسته یخ را به گیاه آسانتر می‌کند. بنابراین، هسته‌زایی یخ یک عامل بیماری‌زایی وابسته به دما برای چندین گونه بیماری‌زای گیاهی INA است. با این حال، از آنجایی که بسیاری از باکتری‌های INA پاتوژن‌های گیاهی نیستند و سایر مزایای فنوتیپ Ice+ باید در نظر گرفته شود (Rajashekar et al., 1983). از مزایای دیگر هسته یخ بودن برای باکتری‌های هسته یخ انتشار راحت آنها در جو و ذرات هوا می‌باشد. پس از خروج از سطوح برگ، باکتری‌ها می‌توانند به سرعت از طریق وارد اتمسفر شده و در نهایت با قطرات آب فوق سرد شده در صورت برخورد با ابرها برهم کنش می‌کنند و باعث یخ زدن قطرات می‌شوند (Failor et al., 2017). همانطور که قبلاً گفته شد، رویدادهای هسته‌زایی یخ در فرآیند بارش از طریق افزایش اندازه بلورهای یخ مهم هستند. همراه با بارش پراکندگی این باکتری‌ها توسط باران و برف مجدد به سطوح گیاهان و زمین برگشته و بدین شکل در چرخه هیدرولوژیکی جابجا می‌شوند. غلظت و فعالیت هسته‌های یخ در ابرها می‌تواند بر اقلیم تأثیر بگذارد (Murray et al., 2021).

یکی از مکانیسم‌های سازگاری که موجودات زنده برای رشد در محیط‌های سرد تکامل یافته‌اند، تولید پروتئین‌های ضد یخ^۲ با قابلیت‌های عملکردی برای مقاومت در برابر دماهای سرد است. پروتئین‌های ضد یخ به‌طور گسترده در گونه‌های مختلف مقاوم به سرما شناسایی شده‌اند و با کاهش نقطه انجماد مایعات بدن، ماندگاری موجودات سازگار با سرما را تسهیل می‌کنند. این پروتئین‌ها می‌توانند با اتصال به کریستال‌های یخ، شکل آن را تغییر داده و نقطه انجماد محلول را کاهش دهند و از تبلور مجدد کریستال‌های یخ جلوگیری کنند، بنابراین به آنها پروتئین‌های اتصال یخ نیز می‌گویند (Baskaran et al., 2021). علاوه بر این، لازم به ذکر است که AFPها دارای خواص غیر سمی هستند و هیچ عواقب نامطلوبی را ادر محصولات غذایی ایجاد نمی‌کنند. از زمان کشف گلیکوپروتئین‌های ضد یخ در خون ماهی‌های قطب جنوب در اواخر دهه ۱۹۶۰، انواع مختلفی از AFPs در بسیاری از موجودات کشف شده است که در میان آن‌ها، AFPهای مشتق شده از گیاهان در مقایسه با سایر AFPها، فعالیت بازدارندگی بهتری در برابر تبلور مجدد کریستال یخ دارند. این امر ممکن است به دلیل این واقعیت باشد که AFPهای مشتق شده از گیاه معمولاً حاوی چندین حوزه اتصال کریستال یخ آبدوست هستند که به نظر می‌رسد به ویژه در جذب کریستال‌های یخ موثر باشند تا از مهاجرت مولکول‌های آب جلوگیری کرده و رشد کریستال‌های یخ را در دمای انجماد کنترل کنند (Obadi and Xu, 2023). گیاهان در دوره ی زمستان گذرانی خود پروتئین‌های ضد یخ را (AFPها) ترشح می‌کنند تا تحمل انجماد را فراهم کنند. این پروتئین‌ها به بلورهای یخی که در آپوپلاست در دمای زیر صفر تشکیل می‌شوند متصل می‌شوند و از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کنند. فعالیت ضد یخ در بیش از ۶۰ گیاه، شناسایی شده است و AFPها از ۱۵ مورد از این گیاهان، از جمله: یونجه (*Medicago sativa*)، چوادر (*Secale cereale*)، برگ نو (*Ligustrum lucidum*) خالص شده‌اند. توصیف بیوشیمیایی فعالیت ضد یخ‌های گیاهی، نشان داده است که عملکرد اصلی آن‌ها مهار رشد کریستال یخ به جای کاهش دمای انجماد است. ثابت شده است که کلسیم و هورمون‌هایی مانند اتیلن و اسید جاسمونیک فعالیت ضد یخ گیاهان را تنظیم می‌کنند (Gupta and Deswal, 2014).

از طرفی یکی از راهکارهایی که برای کاهش آسیب‌های سرمازدگی در گیاهان توصیه شده است، استفاده از ترکیبات کاهش دهنده اثرات مخرب تنش سرماست است که قبل از بروز سرما به صورت محلولپاشی احتمالاً می‌تواند خسارات ناشی از سرمازدگی را در این گیاهان کاهش داده و از تحمیل هزینه‌های واکاری این گیاهان جلوگیری کند. مطالعات میدانی و علمی نشان می‌دهد که ترکیبات حاوی اسید آمینه ال - پرولین، پلیمرهای زیست سازگار و طبیعی و برخی الکل‌های چندعاملی تاثیر بسیار زیادی در کنترل همزمان تنش‌های موقت سرمایی و بهبود آسیب‌های بعد از آن دارند به شکلی که ضمن جلوگیری از توقف رشد گیاه، عملیات ترمیم سلولی در جهت افزایش طول عمر گیاه میسر گردد. مطالعات میدانی موبد کاهش خسارات ناشی از سرمازدگی بعد از تیمار با ترکیبات حاوی ال پرولین و پلیمرهای زیست سازگار طبیعی به میزان بیش از ۳۷٪ می‌باشد. کاربرد ال - پرولین با افزایش محتوای کلروفیل، پرولین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و کاهش نشت یونی، مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن سبب کاهش صدمه سرمازدگی گیاهچه‌ها شد (Taherzai et al., 2023).

² Anti-freeze Proteins (AFPS)

نتیجه گیری

باتوجه به این نتایج به نظر می رسد شناخت فاکتورهای مؤثر در کلونیزه نمودن سطح گیاه توسط باکتری های مولدهسته یخ، می تواند راهکارهای مؤثری برای کنترل بیماری های گیاهی و خسارت سرمازدگی ارائه دهد. واضح است که از زمان کشف این باکتری هادر اوایل دهه ۱۹۷۰ اطلاعات زیادی در مورد مکانیسم های هسته زایی یخ باکتریایی به دست آمده است. مطالعات در زمینه ی مدل سازی مولکولی پروتئین های هسته یخ و مطالعات بیوفیزیکی فرآیند هسته زایی یخ باکتریایی درک ما را از فرآیندی که توسط آن ها تشکیل یخ کاتالیز می کنند، کامل می کند. در مورد فرآیندهایی مانند هسته زایی یخ که منجر به آسیب سرمازدگی به گیاهان حساس به سرم می شود، باید مطالعات بیشتری انجام شود. مطالعات در این زمینه نیازمند تیم های بین رشته ای متشکل از میکروبیولوژیست ها زیست شناسان گیاهی، زیست هواشناسان و سایر متخصصان است تا با موفقیت، با پیچیدگی های فرآیند انجماد مقابله کنند در این مسیر میکروبیوم گیاهان، واکنش گیاهان به یخ و فرآیند فیزیکی تکثیر یخ و سایر عوامل باید در نظر گرفته شود. ابزارهای جدید قدرتمند برای مطالعه فیتوبیوم و همچنین تصویربرداری مادون قرمز برای تجسم تشکیل یخ در گیاهان لازم است تا با ارائه بینش بیشتر تعدیل جمعیت های باکتریایی هسته یخ و کنترل سرمازدگی محقق شود. مطالعه ی مولکولی هسته زایی یخ باکتریایی ممکن است به کشف عوامل ضد هسته قوی برای کنترل یخ زدگی گیاهان منجر شود.

منابع

1. Afshri, H., Hokmabadi, H., ebad, a.g., Arab, H.A. and Ghorbanian, A.R. 2009. The study of spring frost resistance of some commercial damghan pistachio (*pistacia vera*) cultivars. Plant and ecosystem, 5(18): 60-76.
2. Allard, F. Houde, M. Krol, A. Ivanov, N. P. Huner, A. and Sarhan, F. 1998. Betaine improves freezing tolerance in wheat. Plant Cell Physiology, 39: 1194-1202.
3. Attard, E., Yang, H., Delort, A.M., Amato, P., Oshl, U.P., Glaux, C., Koop, T. and Morris, C.E. 2012. Effects of atmospheric conditions on ice nucleation activity of *Pseudomonas*. Atmospheric Chemistry and Physics, 12: 10667-10677
4. Azad, H. and Schaad, N.W. 1988. The relationship of *Xanthomonas campestris* pv. translucens to frost and the effect of frost on black chaff development in wheat. Phytopathology, 78(1): 95-100.
5. Baskaran, A., Kaari, M., Venugopal, G., Manikkam, R., Joseph, J. and Bhaskar, P.V. 2021. Anti-freeze proteins (Afp): Properties, sources and applications—A review. International Journal of Biological Macromolecules, 189: 292-305.
6. Beirami, A.H. and Rostami, M. 2019. Investigation and comparison of ice core frequency in some bacterial isolates associated with frostbite in pistachio trees of Rafsanjan region. 7th National Conference on Applied Research in Healthy Food Sciences from Farm to Table. P. 17. (In Persian)
7. Buttner, M.P. and Amy, P.S. 1989. Survival of ice nucleation-active and genetically engineered non-ice-nucleating *Pseudomonas syringae* strains after freezing. Applied and environmental microbiology, 55(7): 1690-1694.
8. Dehghan Moghadam, M. and Rostami, M. 2021. Antagonistic activity of some epiphytic bacteria and actinomycetes against ice nucleation active bacteria on Rafsanjan pistachio trees. Biological control of pests and plant diseases, 10(1): 77-87.

9. Eslami, S.V., Behdani, M.A. and Jami-Alahmadi, M. 2012. Influence of Exogenous Glycinebetaine Application on Improving Chilling Tolerance in Corn Seedlings (*Zea mays* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 8(6): 939-945. doi: 10.22067/gsc. v8i6.8040
10. Failor, K.C., Schmale Iii, D.G., Vinatzer, B.A. and Monteil, C.L. 2017. Ice nucleation active bacteria in precipitation are genetically diverse and nucleate ice by employing different mechanisms. The ISME Journal, 11(12): 2740-2753.
11. Fones, H.N. 2020. Presence of ice-nucleating *Pseudomonas* on wheat leaves promotes *Septoria tritici* blotch disease (*Zymoseptoria tritici*) via a mutually beneficial interaction. Scientific Reports, 10(1):1-9.
12. Francis, J. and Skific, N. 2015. Evidence linking rapid Arctic warming to mid-latitude weather patterns. Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 373(2045): 1-12. <https://doi.org/10.1098/rsta.2014.0170>
13. Gholipour, Y. 2005. Applied biology of pistachio tree. Tehran seda, Tehran. Pp.104.
14. Gross, D.C., Cody, Y.S., Proebsting Jr, E.L., Radamaker, G.K. and Spotts, R.A. 1983. Distribution, population dynamics, and characteristics of ice nucleation-active bacteria in deciduous fruit tree orchards. Applied and environmental microbiology, 46(6): 1370-1379.
15. Gupta, R. and Deswal, R. 2014. Antifreeze proteins enable plants to survive in freezing conditions. Journal of Biosciences, 39: 931-944.
16. Keenan, T.F., Richardson, A.D. and Hufkens, K. 2020. On quantifying the apparent temperature sensitivity of plant phenology. New Phytologist, 225(2): 1033-1040.
17. Lindow, S. 2023. History of discovery and environmental role of ice nucleating bacteria. Phytopathology, 113(4): 605-615.
18. Metsoviti, M., Paramithiotis, S., Drosinos E.H., Galiotou-Panayotou M., Nychas G.J.E., Zeng A.P. and Papanikolaou S. 2012. Screening of bacterial strains capable of converting biodiesel-derived raw glycerol into 1, 3-propanediol, 2, 3-butanediol and ethanol. Engineering in Life Sciences, 12: 57-68.
19. Meyer, K.M., Porch, R., Muscettola, I.E., Vasconcelos, A.L.S., Sherman, J. K., Metcalf, C.J.E. ... and Koskella, B. 2022. Plant neighborhood shapes diversity and reduces interspecific variation of the phyllosphere microbiome. The ISME journal, 16(5): 1376-1387.
20. Murray, B.J., Carslaw, K.S. and Field, P.R. 2021. Opinion: Cloud-phase climate feedback and the importance of ice-nucleating particles. Atmospheric Chemistry and Physics, 21(2): 665-679.
21. Nazemosadat, M.J., Sepaskhah, A.R. and Mohammady, S. 2001. Application of dew point in the prediction of chilling stress (case study in Jahrom, Fars Province), 5 (3): 9-16. (In Persian)
22. Obadi, M. and Xu, B. 2023. Characteristics and applications of plant-derived antifreeze proteins in frozen dough: A review. International Journal of Biological Macromolecules, 225: 128202.
23. Rajashekar, C.B., Li, P.H. and Carter, J.V. 1983. Frost injury and heterogeneous ice nucleation in leaves of tuber-bearing *Solanum* species: ice nucleation activity of external source of nucleants. Plant physiology, 71(4): 749-755.
24. Repo, T., Domisch, T., Kilpeläinen, J. and Mäkinen, H. 2021. Soil frost affects stem diameter growth of Norway spruce with delay. Trees, 35: 761-767.
25. Rostami, M., Hasanzadeh, N., Khodaygan, P. and Riahi-Madvar, A. 2018a. Ice nucleation active bacteria from pistachio in Kerman Province, Iran. Journal of Plant Pathology, 100: 51-58.

26. Rostami, M., Hasanzadeh, N., Khodaygan, P. and Riahi Madvar, A. 2018b. Evaluation of Ice Nucleation Activity (INA) and INA Gene Detection in the Bacteria Isolated from Pistachio Trees in Kerman Province, Iran. *Journal of Nuts*. 2(9):147-157.
27. Santl-Temkiv, T., Ling, M., Holm, S., Finster, K. and Boesen, T. 2016. The presence of INA proteins on the surface of single cells of *Pseudomonas syringae* R10. 79 isolated from rain. In European Geosciences Union General Assembly, 18: 15510.
28. Serraj, R. and Sinclair, T.R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. *Plant Cell Environment*, 25: 333-341.
29. Shahrokhi Kahnooj, Kh. and Rostami, M. 2021. Study of the possibility of biological control of frostbite of pistachio plants using epiphytic antifreeze bacteria. *Biological control of pests and plant diseases*, 9(2): 173-183.
30. Somersalo, S., Kyei-Boahen, S. and Pehu, E. 1996. Exogenous glycine betaine application as a possibility to increase low temperature tolerance of crop plants. *Nordisk Jordbruksforskning*, 78(2): 102.
31. Sorkhan, R.S., Enteshari, S., Hokmabadi, H. and Tajabadipour, A. 2011. Physiological evaluation of pistachio frost damage resistant rootstocks. *International Journal of Nuts and Related Sciences*. 2(4): 55-66.
32. Taherzai, A.R., Ansaripour, M.M. and Bashirinia, E. 2023. Investigating the use of biocompatible polymer compounds along with the amino acid L-proline to reduce the effect of cold stress in plants and prevent the freezing of interstitial water and cell sap. The first national frost event in the agricultural sector (challenges and solutions). <https://civilica.com/doc/1810481>. (In Persian)