افزایش مقاومت به سرما در گیاهچه‌های خیار با کاربرد برخی از مواد تنظیم کننده رشد گیاهی

سعداله اکبری[۱]، محمد سیاری[۲*] و فردین قنبری[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۵)

چکیده

گیاهان بومی مناطق گرمسیری مانند کدوئیان نسبت به سرما حساس بوده و از آن آسیب می‌بینند. در این مطالعه اثر پنج ماده تنظیم کننده رشد گیاهی بر بهبود مقاومت به تنش سرمازدگی گیاهچه‌های خیار رقم سوپر دامینوس بررسی شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار شامل شاهد، کاربرد بذری و برگی کاتکین و اسید اگزالیک و نیز کاربرد برگی متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک، در سه تکرار به اجرا در آمد. پس از انجام تیمارها گیاهچه‌ها به‌مدت ۷ روز در معرض تنش سرما (روزانه ۵ ساعت در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. ۷۲ ساعت پس از اتمام تنش سرما، برخی از پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که کاربرد کاتکین، اسید اگزالیک و اسید سالیسیلیک سبب بهبود پارامترهای رشدی و افزایش مقاومت به دمای پایین در گیاهچه‌ها شده که به‌وسیله شاخص‌های نشت یونی، میزان پرولین و مالون دی‌آلدهید نشان داده شد. این مواد سبب کاهش صدمه سرمازدگی گیاهچه‌ها به‌وسیله افزایش محتوای کلروفیل و پرولین و جلوگیری از افزایش نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدهید شدند. کاربرد بذری کاتکین و اسید اگزالیک نسبت به کاربرد برگی در تحریک مقاومت به تنش سرمایی گیاهچه‌ها مؤثرتر بودند. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد کاتکین، اسید اگزالیک و اسید سالیسیلیک می‌تواند به‌طور مؤثری سبب حفاظت گیاهچه‌های خیار در مقابل سرمازدگی در مراحل اولیه رشد شود.

واژه‌های کلیدی: اسید اگزالیک، اسید سالیسیلیک، کاتکین، متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات

۱. دانشجویان سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.sayyari@basu.ac.ir

مقدمه

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. گیاهی است یک ساله و از خانواده کدوئیان، با دوره رشد ۹۰ – ۸۵ روز که حدود ۳۰ گونه از آن در آسیا و آفریقا به ثبت رسیده است. عده‌ای این گیاه را بومی نواحی گرم شمال شرقی هندوستان می‌دانند (۲۱). خیار از گیاهان بومی مناطق گرمسیر است و کشت آن باید در مناطقی با آب و هوای نسبتاً گرم صورت گیرد این گیاه همانند سایر گیاهان بومی مناطق گرمسیر در دماهای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد دچار آسیب سرمایی می‌شوند (۲۳). قرارگیری این گیاهان در معرض دمای سرمازدگی ممکن است سبب توقف رشد گیاه، تحریک پژمردگی و آسیب برگ‌ها و افزایش حساسیت گیاه به بیماری‌ها و پاتوژن‌ها شود (۸). نشانه‌های آسیب سرمایی در این گیاهان معمولاً پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت ظاهر می‌شوند، اگرچه این دوره بسته به نوع گیاه و میزان حساسیت به تنش متغیر است. نشانه‌های ظاهری در پاسخ به تنش سرمایی شامل کاهش توسعه برگ، پژمردگی و کلروز (زردی برگ‌ها) و همچنین نکروزه شدن (مرگ بافت‌ها) می‌باشد. از طرفی سرمازدگی ممکن است به شدت به نمو زایشی گیاهان آسیب بزند (۱۶).

در بسیاری از نقاط کشور شرایط آب و هوایی برای کاشت خیار در مزرعه مناسب است ولی پس از شروع فصل رشد در بهار، به‌دلیل نوسانات دمایی و نزول دما به زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد گیاهچه‌های تازه سبز شده در معرض دمای سرمازدگی قرار می‌گیرند که باعث سرمازدگی، توقف رشد و در موارد شدید سبب نابودی آنها می‌شود که کشت دوباره و تأخیر انداختن برداشت محصول را سبب می‌شود. در کشاورزی نوین برخی راهکارهای مقابله با آثار سوء تنش بر گیاهان شامل انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم، شناسایی و انتقال ژن‌های مقاومت به گیاهان به‌وسیله روش‌های مهندسی ژنتیک، تغییر عملیات تولید محصول و استفاده از مواد شیمیایی می‌باشد. در مطالعات گذشته استفاده ار برخی از مواد شیمیایی از جمله اسید سالیسیلیک (۲۴)، استیل سالیسیلیک اسید (۱۲)، پاکلوبوترازول (۳)، ۵-آمینولوولونیک اسید (۱۱) و... نتایج امیدوار کننده‌ای در القاء مقاومت به تنش سرمایی در گیاهان مختلف داشته است. به‌عنوان مثال کاربرد خارجی متیل جاسمونات بر روی گیاهچه‌های خیار با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان صدمه سرما را کاهش داد و از ساختار میتوکندری و کلروپلاست در برابر دماهای پایین محافظت کرد و در نتیجه باعث افزایش مقاومت گیاهچه‌های خیار در برابر دمای پایین شد (۱۴). هم‌چنین، متیل جاسمونات و اسید سالسیلیک باعث افزایش مقاومت فلفل تحت تنش سرما شد گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد مقاومت به سرمای بیشتری داشتند (۱۹). اسید سالیسیلیک یا استیل سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌مولار از طریق اضافه کردن به خاک یا تیمار بذری سبب افزایش مقاومت به تنش‌هایی نظیر گرما، سرما و خشکی در گیاه لوبیا و گوجه فرنگی شد (۲۶). در بیشتر این مطالعات تنها نقش یک ماده در کاهش آثار تنش سرما در گیاهان بررسی شده است و اثر مواد مختلف با همدیگر مقایسه نشده‌اند.

اغلب تنش‌های محیطی سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند و از این طریق آسیب اکسیداتیو ایجاد می‌کنند. تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و توانایی فرونشانی آنها به واسطه سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی میزان خسارت تنش اکسیداتیو را تعیین می‌کند (۱۷ و ۲۰). ترکیبات فنلی شامل گروه کثیری از متابولیت‌های ثانوی است که بسیاری از ترکیبات حلقوی مثل فلاوون‌ها، فلاوونوئیدها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مانند تریپتوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. در بافت‌های گیاه بسیاری از ترکیبات فنلی پتانسیل آنتی اکسیدانی دارند. ویژگی‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنها است که قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه هستند (۱). کاتکین‌ها به گروهی از فنل‌ها به‌نام فلاونوئیدها تعلق دارند. ساختار فرمولی آنها به شکل C6-C3-C6 هست و از دو حلقه آروماتیک تشکیل شده‌اند.

کاتکین‌ها گروهی از آنتی اکسیدان‌ها هستند که به وفور در برگ‌های سبز چای وجود دارند (۱۵). امکان کاربرد کاتکین‌های چای در زمینه‌های مختلف به‌دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی آنها روز به روز در حال افزایش است. تنها چند گزارش از تأثیر مثبت این ترکیب‌ها در مقابله با تنش‌های محیطی در گیاهان موجود می‌باشد. هرچند که نقش آنتی اکسیدانی کاتکین قبلاً ثابت شده است (۱۵)، گزارش شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیب به‌واسطه گروه هیدروکسیل روی حلقه بنزن و قدرت زیاد اپی گالوکاتکین گالات می‌باشد (۲۹). بنابراین این احتمال وجود دارد که این ترکیب بتواند سبب القاء مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان شود. اخیراً یو و همکاران (۳۱) نشان دادند که این ترکیب تأثیر مثبت و معنی‌داری بر مقاومت به تنش شوری در گیاهچه‌های فلفل دارد. در این مطالعه استفاده از این ترکیب در شرایط تنش با افزایش اسمولیت‌ها و فعالیت آنتی اکسیدانی و نیز ایجاد تعادل بین Na^+ و K^+، سبب کاهش آثار سوء تنش بر گیاهان شده است. تاکنون گزارشی از کاربرد این ماده بر تنش سرمایی گیاهان ارائه نشده است. با توجه به موارد شرح داده شده، هدف از این آزمایش ارزیابی استفاده از مواد شیمیایی مختلف در القاء مقاومت به تنش سرما در گیاهچه‌های خیار رقم سوپر دامینوس در مراحل اولیه رشد بود.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاهان و نحوه اعمال تیمارها

این آزمایش در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. از هر ماده تنها یک غلظت که با توجه به منابع مورد بررسی مؤثرتر بود، استفاده شد. برای این منظور محلول‌های کاتکین با غلظت ۴ میلی‌مولار، اسید اگزالیک ۶ میلی‌مولار، متیل جاسمونات ۱۵۰ میکرومولار، متیل سالیسیلات ۱۵۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار استفاده شد. ابتدا بذرها به دو دسته تقسیم شدند. یک دسته از آنها به‌منظور اعمال تیمار بذری به دو قسمت کوچک‌تر تقسیم شده و به‌طور جداگانه در داخل غلظت‌های کاتکین ۴ میلی‌مولار و اسید اگزالیک ۶ میلی‌مولار به‌مدت ۲۴ ساعت خیسانیده شدند. دسته دیگر نیز به‌منظور انجام تیمار برگی به‌مدت ۲۴ ساعت در داخل آب مقطر خیسانیده شدند. سپس بذرها در داخل گلدان‌های پلاستیکی در مخلوط خاکی متشکل از خاک برگ پوسیده، ماسه بادی و خاک باغچه به نسبت ۱:۱:۱ کاشته شدند و در شرایط مناسب رشد در گلخانه قرار گرفتند. زمانی‌که گیاهچه‌ها دارای دو برگ حقیقی کاملاً رشد کرده شدند تیمار برگی کاتکین، اسید اگزالیک، متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک نیز انجام گرفت به‌نحوی‌که هر دو طرف برگ‌ها کاملاً خیس شود. برای اعمال تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. چهار روز بعد از اعمال تیمار برگی، یا چهار هفته بعد از تیمار بذری، گیاهچه‌ها جهت دریافت تنش سرمایی به اتاقک رشد منتقل شده و به‌مدت هفت روز و هر روز به‌مدت پنج ساعت تحت تأثیر دمای ۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۳ و ۱۲). بعد از پایان تیمار سرمایی همه گلدان‌ها به گلخانه و شرایط مناسب رشد منتقل شدند و پس از ۷۲ ساعت، ارزیابی صفات انجام گرفت (۳).

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

برای تعیین وزن تر و خشک شاخه و ریشه ابتدا قسمت هوایی گیاه از سطح خاک قطع شده و وزن تر آنها ثبت گردید. ریشه‌های گیاهچه‌ها برای حذف مواد بستر کاشت به دقت با آب جاری شسته شده و پس از خشک کردن با دستمال کاغذی برای برداشتن آب سطحی، وزن تر آنها ثبت گردید. سپس شاخه‌ها و ریشه‌ها در داخل پاکت کاغذی قرار گرفته و با استفاده از آون الکتریکی به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شده و وزن خشک آنها به‌دست آمد. برای تعیین محتوای آب نسبی Relative Water Content: (RWC) از روش کورکماز و همکاران (۱۱) استفاده شد. ابتدا با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن ۶ دیسک برگی از هر نمونه انتخاب و جدا گردید و بلافاصله نمونه‌ها در محیط

آزمایشگاهی به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (FW). سپس به‌مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) قرار گرفته و در این مدت در محیط آزمایشگاهی با دمای تقریبی ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شده و پس از خشک شدن آب سطحی مجدداً توزین شدند (TW). پس از آن دیسک‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون الکتریکی قرار داده شدند. پس از این مدت نمونه‌ها توزین تا وزن خشک (DW) به‌دست آید. سپس از رابطه (۱) محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید.

$$RWC= (FW–DW)/(TW– DW) \times 100 \quad (۱)$$

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش استراین و اسوک (۲۸) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۱ گرم برگ تازه را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به‌دست آید. محلول حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر طول موج جذبی (A) قرائت، و کلروفیل بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$Ch\ a=mg/g\ FW=\{12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})\} \quad (۲)$$

$$Ch\ b\ mg/g\ FW =\{22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})\} \quad (۳)$$

$$Ch\ a+b\ mg/g\ FW =\{20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})\} \quad (۴)$$

به‌منظور ارزیابی دوام غشاء سلولی نشت الکترولیت‌ها با استفاده از روش کورکماز و همکاران (۱۱) انجام گرفت. بدین‌منظور دیسک‌های برگی با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن گرفته شدند و سپس برای حذف آلودگی‌های سطحی سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند. سپس دیسک‌ها در لوله آزمایش مخصوص به خود قرار گرفته و به هر کدام ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر (۱۵۰ rpm) قرار گرفتند و پس از آن هدایت الکتریکی نمونه‌ها با استفاده از EC متر قرائت شد (EC1). پس از آن نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از خنک شدن دوباره EC نمونه‌ها قرائت شد (EC2). نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر اساس درصد بیان شد.

$$\text{درصد نشت الکترولیت‌ها} = \frac{EC1}{EC2} \times ۱۰۰ \quad (۵)$$

سنجش پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (۴) صورت گرفت. در این روش ۰/۵ گرم از ماده تر گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده گردید. از مخلوط حاصل پس از صاف کردن، ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر معرف اسید ناین هیدرین (Ninhydrine) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس لوله‌ها را در حمام آب یخ گذاشته و پس از اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به‌دست آمد.

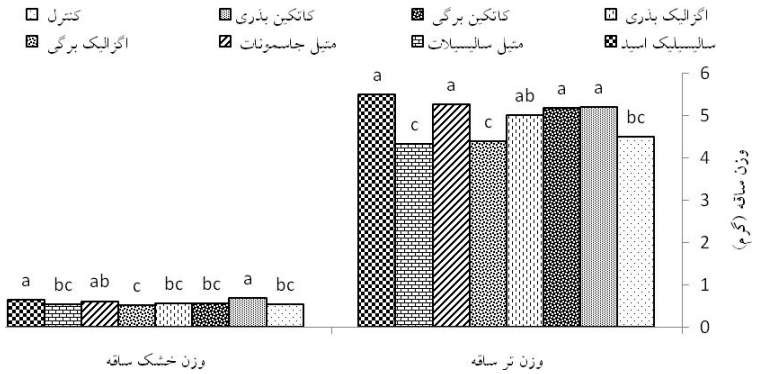
میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دی‌آلدهید ایجاد شده با تیوباربی تیوریک اسید (Thiobarbituric acid) سنجیده شد. اندازه‌گیری مقدار مالون دی‌آلدهید با استفاده از روش استیوارت و بیولی (۲۷) در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر صورت گرفت.

طرح مورد استفاده و محاسبات آماری: این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار و برای هر تکرار چهار مشاهده (۸ × ۳ × ۴ = ۹۶ گیاهچه) انجام گرفت. با توجه به انجام بخشی از آزمایش (اعمال تیمارهای سرما) در سردخانه و استفاده از طبقات مختلف سردخانه، به‌منظور به حداقل رساندن خطای آزمایش ناشی از اختلاف جزیی دما در سردخانه، بلوک‌بندی انجام گرفت و هر بلوک در یک طبقه از سردخانه قرار داده شد. به‌منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SAS استفاده گردید. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاهچه خیار تحت تأثیر تیمارهای مختلف در شرایط تنش سرمایی

منابع تغییرات	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	آب نسبی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	نشت الکترولیت	پرولین	مالون دی‌آلدهید
بلوک	۰/۳۸۲	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷	۰/۰۰۰۰۴	۲۵/۹۳	۰/۰۴۴	۰/۰۱۰	۰/۰۹۶	۹/۸۸	۱/۹۴	۰/۰۲۳
تیمار	۰/۶۱**	۰/۰۱**	۰/۲۱**	۰/۰۰۰۲**	۴۴/۷۶*	۰/۱۷۹*	۰/۱۲۷*	۰/۵۱۲**	۱۵/۵۴**	۱۱/۳۱**	۰/۲۵۴**
C.V	۱۳/۶	۷/۵۸	۴/۹۳	۵/۵۶	۴/۱۶	۶/۱۱	۸/۴۳	۵/۸۲	۵/۵۸	۶/۵۳	۵/۸۷

ns ، * و ** : به‌ترتیب فاقد تفاوت معنی‌دار و دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد



شکل ۱. اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر و خشک ساقه در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

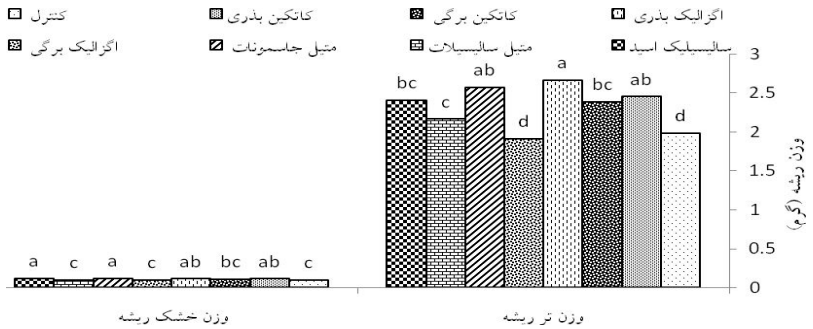
ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

نتایج و بحث

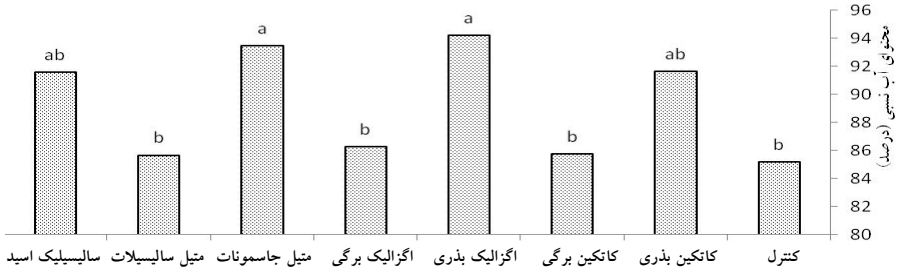
پارامترهای رشد

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده شامل کاتکین بذری و برگی، اسید اگزالیک بذری، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک بر پارامترهای رشدی در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بود. مقاسیه میانگین داده‌ها نشان داد که کاتکین بذری و برگی، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک سبب افزایش معنی‌دار وزن تر شاخساره نسبت به شاهد شدند. هم‌چنین کاتکین بذری و اسید سالیسیلیک سبب افزایش وزن خشک شاخساره شدند و سایر مواد بر این صفت تأثیر معنی‌داری نداشتند (شکل ۱). تمام تیمارهای به‌کار رفته به‌غیر از اسید اگزالیک برگی سبب افزایش وزن تر ریشه شدند، درحالی‌که در مورد وزن خشک ریشه کاربرد کاتکین برگی، اسید اگزالیک برگی و متیل سالیسیلات تأثیر معنی‌داری نداشته و سایر تیمارهای به‌کار رفته سبب افزایش معنی‌دار این پارامتر نسبت به شاهد شدند (شکل ۲).

تنش دمای پایین همانند سایر تنش‌های محیطی اثرات مخرب بر رشد گیاهان دارد. برخی از اختلالات شناخته شده در نتیجه دمای پایین در گیاهان شامل کاهش کلروفیل، کاهش انتقال الکترون در فتوسنتز، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای، کاهش جذب عناصر غذایی و غیره می‌باشد که همه این عوامل نقش مؤثری در کاهش رشد گیاهان در شرایط تنش سرما دارند (۵). در این مطالعه برخی اثرات مثبت تیمار کاتکین در افزایش رشد دانهال‌های خیار در شرایط تنش سرمازدگی مشاهده شد (شکل ۱ و ۲). به‌طور مشابه یو و همکاران (۳۱) نشان دادند که تیمار کاتکین سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه فلفل شیرین (طول شاخساره، طول ریشه، وزن تر وخشک بوته) تحت تنش شوری شده است که



شکل ۲. اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر و خشک ریشه در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.



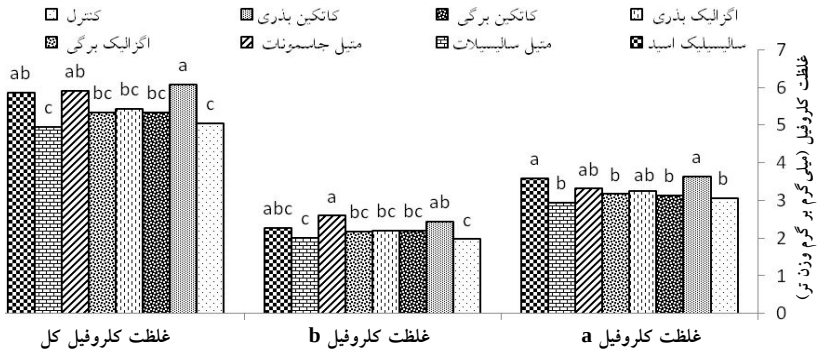
شکل ۳. اثر تیمارهای مختلف بر محتوای آب نسبی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. تنش‌های مختلف محیطی شامل تنش‌های زنده و غیر زنده سبب تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (Reactive Oxygen Species) شده و تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کنند. از طرف دیگر گیاهان برای مقابله با این گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن مجهز به سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی هستند. در بافت‌های گیاهی بسیاری از ترکیبات فنلی از جمله کاتکین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشند (۲۹). بنابراین افزایش پارامترهای رشدی در اثر تیمار کاتکین در این مطالعه می‌تواند به‌سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه خیار به‌واسطه کاربرد کاتکین باشد که سبب حذف گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن تولید شده در شرایط تنش و کاهش خسارت به این گیاه می‌شود.

علاوه بر تیمار کاتکین، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک نیز سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاهچه‌های خیار نسبت به شاهد شدند (شکل ۱ و ۲). در پژوهشی، سیاری و همکاران (۲۴) نشان دادند که تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت‌های پایین سبب افزایش رشد گیاهچه‌های هندوانه در شرایط تنش سرمایی می‌شود. هم‌چنین تأثیر مثبت استیل سالیسیلیک اسید (۱۲)، پاکلوبوترازول (۳)، ۵-آمینولوولونیک اسید (۱۱) در افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش سرمایی گزارش شده است که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. توانایی این مواد در افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش سرما نشان دهنده مؤثر بودن این مواد در کاهش آثار سرما بر گیاهان تیمار شده می‌باشد.

محتوای آب نسبی

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمار بر محتوای آب نسبی در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محتوای آب نسبی به‌طور معنی‌داری در اثر کاربرد اسید اگزالیک بذری و متیل جاسمونات افزایش پیدا کرد و سایر مواد به کار رفته تأثیر معنی‌داری بر این پارامتر

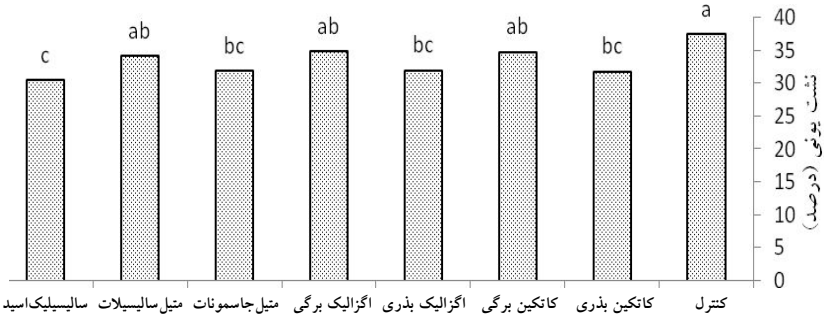


شکل ۴. اثر تیمارهای مختلف بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

نداشتند (شکل ۳). اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه به‌عنوان یک شاخص مهم در شناسایی پاسخ گیاه به تنش مطرح است. یکی از شاخص‌های نشان دهنده وضعیت آب گیاه، محتوای آب نسبی بافت گیاهی می‌باشد. در هنگام تنش سرما گیاه دچار تنش آبی نیز می‌شود که با کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه آغاز و کاهش شدید در پتانسیل آب و آماس برگ ادامه می‌یابد، روزنه‌ها بسته شده و کاهش تعرق سبب کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه گردیده و در نتیجه تنش آبی ناشی از خسارت سرمازدگی تشدید می‌شود (۹). در تحقیق حاضر تنها کاربرد اسید اگزالیک بذری و متیل جاسمونات سبب افزایش محتوای آب نسبی برگ‌های گیاهچه‌های خیار تحت تنش دمای پایین شده است (شکل ۳) که با یافته‌های سیاری و همکاران (۲۴) و کورکماز و همکاران (۱۲) مطابقت دارد. به‌نظر می‌رسد که این مواد با کاهش خسارت سرمایی گیاهچه‌های خیار، سبب حفظ محتوی آب نسبی برگ تحت تنش دمای پایین می‌شوند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر تیمارها بر میزان کلروفیل a و کلروفیل b در سطح ۵ درصد و بر کلروفیل کل در سطح یک درصد از لحاظ آماری معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که تیمارهای کاتکین بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) داشتند و تأثیر سایر مواد از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل ۴). تنش سرما سبب اختلال در تولید کلروفیل می‌شود و به کلروپلاست آسیب وارد می‌کند. با کاهش دما، کل فرآیند کلروفیل‌سازی متوقف می‌شود چون تولید کلروفیل یکی از فرآیندهای حساس وابسته به دما می‌باشد و با اندازه‌گیری آن می‌توان میزان حساسیت و یا مقاومت به تنش سرما را تخمین زد (۱۸). میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی به‌شمار می‌رود و با توجه به شدت، مدت، و مرحله رشدی تأثیر تنش بر هر کدام از مقادیر کلروفیل a و b و کل متفاوت خواهد بود (۲). بر اساس نظریه اسچوتز و فنگ میر (۲۵) کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش مربوط به افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در سلول می‌باشد که سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه در شرایط تنش می‌شوند. از طرفی چون کاتکین خاصیت آنتی اکسیدانی دارد انتظار می‌رود که تیمار کاتکین بتواند سبب حفظ کلروفیل برگ‌های خیار در شرایط تنش شود. در این مطالعه برخی اثرات مثبت تیمارها بر رنگیزه‌های فتوسنتزی مشاهده شد به‌طوری‌که به‌ترتیب کاتکین بذری و اسید سالیسیلیک ۱۹ و ۱۷ درصد کلروفیل a، کاتکین بذری و متیل جاسمونات ۲۳ و ۳۱ درصد کلروفیل b و کاتکین بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک ۲۰، ۱۷ و ۱۶ درصد کلروفیل کل را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۴). یو و همکاران (۳۱) نشان دادند که تیمار کاتکین در شرایط بدون تنش تأثیری بر کلروفیل برگ‌های گیاه



شکل ۵. اثر تیمارهای مختلف بر میزان نشت الکترولیت‌ها در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

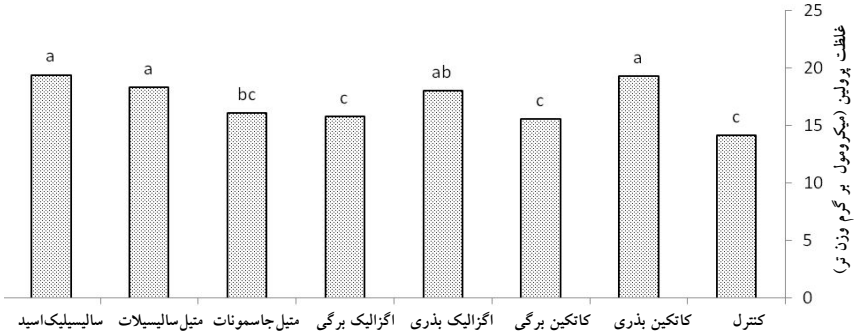
فلفل شیرین نداشته است اما استفاده از این ماده در شرایط تنش شوری سبب افزایش این رنگیزه فتوسنتزی شده است که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. هم‌چنین تأثیر مثبت و معنی‌دار اسید سالیسیلیک بر افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش سرما گزارش شده است (۲۴) که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد.

نشت الکترولیت‌ها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمار بر میزان نشت الکترولیت‌ها در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). تیمارهای کاتکین بذری، اسید اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک باعث کاهش معنی‌دار نشت الکترولیت‌ها نسبت به شاهد شدند و اثر سایر تیمارها بر این پارامتر معنی‌دار نبود (شکل ۵). دما یکی از عوامل مهمی است که بر سیالیت، پایداری و انعطاف پذیری غشاء اثرگذار است، به‌همین دلیل از غشاء به‌عنوان حسگر اولیه زیستی تنش سرما نام می‌برند (۳۰). نشت الکترولیت‌ها به‌عنوان یک شاخص نشان‌دهنده میزان آسیب غشاء سلولی در زمان تنش مطرح است و اندازه‌گیری آن می‌تواند آسیب به ساختار و کارکرد غشاءهای سلولی در شرایط تنش را نشان دهد. در این آزمایش مشاهده شد که تیمار کاتکین بذری، اسید اگزالیک بذری، متیل‌جاسمونات و اسید سالیسیلیک به‌ترتیب سبب کاهش ۱۶، ۱۵، ۱۶ و ۲۰ درصدی نشت الکترولیتی نسبت به گیاهان شاهد شده است (شکل ۵). در واقع این مواد سبب کاهش آثار تنش از جمله آسیب به غشاء سلولی شده است. به‌طور مشابه سیاری و همکاران (۲۴) نشان دادند که تیمار اسید سالیسیلیک در گیاه هندوانه تحت تنش سرما سبب کاهش نشت الکترولیت و افزایش مقاومت به سرما شده است. این نتایج نشان می‌دهد که ساختار غشاء سلولی در گیاه خیار تحت تنش سرمایی پس از تیمار با کاتکین بذری، اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک آسیب کمتری دیده است.

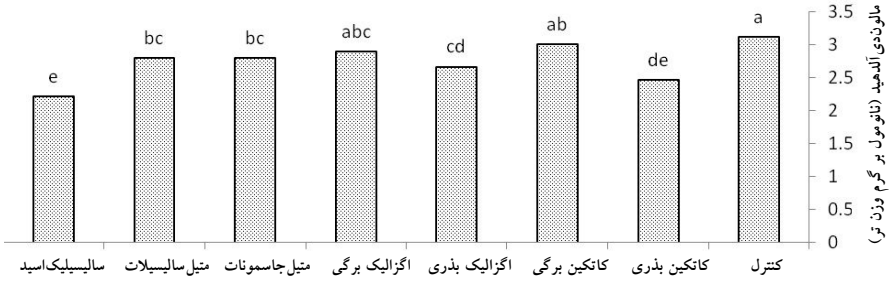
پرولین

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمارهای مختلف بر میزان پرولین در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز بیانگر آن بود که کاربرد کاتکین بذری، اسید اگزالیک بذری، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک سبب افزایش معنی‌دار محتوای پرولین گیاهچه‌ها نسبت به شاهد شدند (شکل ۶). گیاهان در تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، سرما و غیره با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می‌کنند. مواد تنظیم‌کننده فشار اسمزی بیشتر شامل اسیدهای آمینه، قندها و برخی از یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها هستند. پرولین یکی از اسیدهای آمینه فعال در پدیده تنظیم اسمزی می‌باشد که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارد (۲). افزایش غلظت این اسید آمینه که به تنظیم اسمزی کمک می‌کند، ناشی از چند عامل گزارش شده است که می‌توان به ممانعت از تجزیه پرولین، جلوگیری از ورود پرولین به ساختار پروتئین و یا افزایش



شکل ۶. اثر تیمارهای مختلف بر میزان غلظت پرولین در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.



شکل ۷. اثر تیمارهای مختلف بر میزان مالون دی‌آلدهید در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

تجزیه پروتئین اشاره نمود (۱۰). افزایش پرولین در گیاه در هنگام تنش، نوعی مکانیسم دفاعی است. پرولین از طریق تنظیم فشار اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و زدودن رادیکال‌های هیدروکسیل، بردباری و تحمل گیاهان را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهد (۱۳). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به‌عنوان محل تجمع انرژی و شاخص مقاومت به تنش به‌حساب می‌آید و باعث ثبات و پایداری غشاءها و ماکرومولکول‌ها و نیز از بین بردن سمیت ازت اضافی در بافت‌ها می‌گردد (۷). در تحقیق حاضر اثر کاتکین بذری، اگزالیک بذری، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین معنی‌دار بود، به‌طوری‌که کاربرد این مواد به‌ترتیب سبب افزایش ۳۶، ۲۷، ۲۹ و ۳۷ درصدی این صفت نسبت به شاهد شد (شکل ۶) که با یافته‌های کورکماز و همکاران (۱۱) مطابقت دارد. هرچند که برخی محققان از جمله دلاسردا و همکاران (۶) انباشت پرولین در گیاهان را وابسته به افزایش خسارت ناشی از تنش می‌دانند اما تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش، با توجه به مطالب ذکر شده در بالا می‌تواند موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر صدمات ناشی از تنش شود. بنابراین افزایش پرولین در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرما در اثر تیمارهای ذکر شده نشان دهنده مؤثر بودن این مواد در تحریک مقاومت به تنش سرمایی در این گیاه می‌باشد.

محتوای مالون دی‌آلدهید

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمارهای مختلف بر میزان مالون دی‌آلدهید در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). هم‌چنین مقایسه میانگین تیمارهای به‌کار رفته نشان داد که محتوای مالون دی‌آلدهید گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد کاتکین بذری، اسید اگزالیک بذری، متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت (شکل ۷). انواع گونه‌های واکنش‌گر

اکسیژن (آنیون سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل) می‌توانند به ترکیبات حیاتی سلول مانند اسیدهای چرب غیر اشباع، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک حمله نمایند. این واکنش‌ها به‌طور طبیعی ویژگی‌هایی چون سیالیت غشاء، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئین‌ها را کاهش داده و باعث تخریب DNA هسته‌ای و میتوکندریایی و نهایتاً مرگ سلولی می‌شوند. یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدهیدهایی مثل مالون دی‌آلدهید و ترکیباتی مثل اتانول می‌شود. اثر رادیکال‌های فعال اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسیون آنها ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد که واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند (۲۲). میزان پراکسیداسیون لیپید در بافت‌ها از طریق تعیین محتوای مالون دی‌آلدهید در واکنش به اسید تیوباربیوتریک سنجیده می‌شود. به‌طورکلی سازگاری به تنش بستگی به این دارد که مقادیر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن توسط سیستم آنتی اکسیدانی گیاهان در سطح پایینی نگه داشته شوند. به‌نظر می‌رسد که رادیکال های آزاد تولید شده در شرایط تنش سرمایی می‌توانند سبب افزایش مالون دی‌آلدهید در گیاه خیار در شرایط تنش سرما شوند. کاتکین به‌واسطه اثری که بر سیستم آنتی اکسیدانی دارد، می‌تواند باعث کاهش آسیب به غشاءهای سلولی و در نتیجه کاهش تجمع مالون دی‌آلدهید شود. نتایج این تحقیق این مطلب را تأیید کرد، به‌طوری‌که تیمار بذری کاتکین باعث کاهش ۲۰ درصدی مالون دی‌آلدهید نسبت به شاهد شد (شکل ۷). یو و همکاران (۳۱) نیز نشان دادند که تیمار کاتکین به‌طور معنی‌داری سبب کاهش تجمع مالون دی‌آلدهید در گیاهچه‌های فلفل تحت تنش شوری می‌شود. از میان تیمارهای به‌کار رفته اسید سالیسیلیک بیشترین تأثیر را در کاهش این صفت نسبت به شاهد داشت، به‌طوری‌که استفاده از اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و متیل سالیسیلات به‌ترتیب باعث کاهش ۱۵، ۱۱ و ۱۱ درصدی مالون دی‌آلدهید نسبت به شاهد شدند درحالی‌که تیمار اسید سالسیلیک با کاهش ۲۸ درصدی میانگین این صفت نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را بر این صفت داشت (شکل ۷).

نتیجه‌گیری کلی

در این آزمایش برخی اثرات مثبت چند ماده شیمیایی در کاهش آثار سوء تنش سرمایی در گیاهچه‌های خیار نشان داده شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده و در نظر گرفتن کلیه شرایط، تیمارهای کاتکین و اسید اگزالیک با کاربرد بذری و نیز متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک با کاربرد برگی برای کاهش آثار تنش سرمایی در گیاهچه‌های خیار توصیه می‌گردد. از طرف دیگر با توجه به کاربرد راحت‌تر تیمار بذری نسبت به تیمار برگی و هم‌چنین نتایج مطلوب‌تر استفاده از این تیمار در کاربرد کاتکین و اسید اگزالیک پیشنهاد می‌شود که تأثیر سایر تیمارها به روش بذری در غلظت‌های مختلف هر ماده مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

1. Ahmadi, f., M. Kadivar and M. Shahedi. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odordtissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry* 105: 57-64.
2. Arazmjo, A., M. Heidari and A. Ghanbari. 2009. Effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25: 482-494. (In Farsi).
3. Baninasab, B. 2009. Amelioration of chilling stress by paclobutrazol in watermelon seedlings. *Scientia Horticulturae* 121: 144-148.
4. Battes, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 29: 205-207.

5. Berova, M., Z. Zlatev and N. Stoeva. 2002. Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 28: 75-84.
6. De-Lacerda C. F., J. Cambraia, M. A. Oliva, H. A. Ruiz and J. T. Prisco. 2003. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 49: 107-120.
7. Ferrat, H. L. and C. J. Lovatt. 1999. Relationship between relative water content, nitrogen pools and growth of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. acutifolius* A. gray during water deficit. *Crop Science* 39: 467-475.
8. Hällgreen, J. E. and G. Öquest. 1990. Adaptations to low temperatures .PP. 265–293 *In:* R. G. Alscher and J. R. Cumming, (Eds.), Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms. Wiley-Liss Inc. New York.
9. Joshi, S. C., S. Chandra and L. M. S. Palni. 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. *Photosynthetica* 45: 594-600.
10. Kao, C. H. 2005. Senescence of rice leaves. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water-stressed excised leaves. *Plant and Cell Physiology* 22: 683-685.
11. Korkmaz, A. 2010. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedling by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. *Environmental and Experimental Botany* 67: 495-501.
12. Korkmaz, A., M. Uzunlu and A. R. Demirkiran. 2007. Acetyl salicylic acid alleviates chilling-induced damage in muskmelon plants. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 581–585.
13. Kuznetsov, V. I. and N. I. Shevykova. 1999. Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology* 46: 274-287.
14. Li, D. M., Y. Guo, G. Li, J. Zhang, X. Wang and X. Bai. 2012. The pretreatment of cucumber with methyl jasmonate regulates antioxidant enzyme activities and protects chloroplast and mitochondrial ultrastructure in chilling-stressed leaves. *Scienta Horticultrae* 143:135-143.
15. Maatsuzaki, T. and Y. Hara. 1985. Antioxidative action of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59: 129-134.
16. Mahajan, S. H. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139–158.
17. Majidi Harvan, A. 1993. Physiological mechanism to environmental stresses resistance. *In:* Proceeding of First Iranian Agronomy and Plans Breeding Congress. Tehran University. pp. 133-134. (In Farsi).
18. Mirmohammadi meybodi, A. M. 2004. Physiologic Aspects and Breeding of Agronomic Plants for Chilling and Freezing Stresses. Golben Press. Esfahan. (In Farsi).
19. Moradmand, Y., M. Mobli and A. A. Ramin. 2011. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on increasing cold tolerance of bell pepper young seedlings. Proceeding of the 7th Iranian Horticultural Sciences Congress. September 5-8, 2011. Isfahan, Iran.
20. Olga, B., V. Eija and V. F. Kurt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 91: 179-194.
21. Peyvast, G. 2009. Vegetable Crop Production **(**4th Edition). Guilan University Publication, Iran. (In Farsi)
22. Qiujie, D., Y. S. Bin, Z. Xiao and Z. Wang. 1996. Flooding- induce memberance damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in corn leaves. *Plant and Soil* 179: 261-268.
23. Saltveit, M. E. 2000. Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shocks applied after chilling. *Postharvest Biology and Technology* 21: 169–177.
24. Sayyari, M., F. Ghanbari, S. Fatahi and F. Bavandpour. 2012. Chilling tolerance improving of watermelon seedling by salicylic acid seed and foliar application. *Notulae Scientia Biologicae* 5 (1): 1-7.
25. Schutz, M. and E. Fangmeir. 2001. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. *Environmental Pollution* 11: 187-194.
26. Senaranta, T., D. Touchel, E. Bumm and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30 (2): 157-161.
27. Stewart, R. R. C. and J. D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology* 65: 245-248.

28. Strain, H. H. and W. A. Svec. 1966. Extraction, separation and isolation of chlorophylls. PP. 24- 61, *In:* L. P. Varnon and G. R. Seely (Ed.). Chlorophylls, Academic Press, New York.
29. Sugiura, K. and T. Okubo. 2000. The feature and functionality of green tea polyphenol. *New Food Industry* 42: 1–7.
30. Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant Physiology (3rd Edition). Sunderland: Sinauer Associates.
31. Yiu, J. C, M. J. Tseng, C. W. Liu and T. C. Kuo. 2012. Modulation of NaCl stress i*n Capsicum annuum* L. seedlings by catechin. *Scientia Horticulturae* 134: 200–209.