

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

سعده‌الله اکبری<sup>۱</sup>، محمد سیاری<sup>۲\*</sup> و فردین قنبری<sup>۱</sup>

(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 سرمایزدگی گیاهچه‌های خیار رقم سوپر دامینوس بررسی شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار شامل شاهد، کاربرد بدتری 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 به مدت 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 بواسیله شاخص‌های نشت یونی، میزان پروولین و مالون دی‌آلدهید نشان داده شد. این مواد سبب کاهش صدمه سرمایزدگی گیاهچه‌ها بواسیله افزایش محتوای کلروفیل و پروولین و جلوگیری از افزایش نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدهید شدند. کاربرد بدتری 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 سرمایزدگی 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 بوعالی سینا، همدان

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

## مقدمه

(۳)، ۵-آمینولولونیک اسید (۱۱) و... نتایج امیدوار کننده‌ای در القاء مقاومت به تنش سرمایی در گیاهان مختلف داشته است. به عنوان مثال کاربرد خارجی متیل جاسمونات بر روی گیاهچه‌های خیار با افزایش فعالیت آنتیزیم‌های 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 دماهای پایین شد (۱۴). هم‌چنین، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک 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 میلی‌مولاً 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 آنتی اکسیدانی 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 فلاونون، فلاونوئیدها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مانند تریپتوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. در بافت‌های گیاه آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی آنتی اکسیدانی دارند. ویژگی‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمده‌تاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنها است که قادر به خشی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه هستند (۱). کاتکین‌ها به گروهی از فنل‌ها به نام فلاونوئیدها تعلق دارند. ساختار فرمولی آنها به شکل C6-C3-C6 هست و از دو حلقه آروماتیک تشکیل شده‌اند.

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 دماهی 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 زیشی 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، به دلیل 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 اندختن 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 به وسیله روش‌های مهندسی ژنتیک، تغییر عملیات تولید محصول و استفاده از مواد شیمیایی می‌باشد. در مطالعات گذشته استفاده از برخی از مواد شیمیایی از جمله اسید سالیسیلیک (۲۴)، استیل سالیسیلیک اسید (۱۲)، پاکلوبوترازول

جداگانه در داخل غلظت‌های کاتکین ۴ میلی‌مولار و اسید اگزالیک ۶ میلی‌مولار به مدت ۲۴ ساعت خیسانیده شدند. دسته دیگر نیز به منظور انجام تیمار برگی به مدت ۲۴ ساعت در داخل آب مقطر خیسانیده شدند. سپس بذرها در داخل گلدان‌های پلاستیکی در مخلوط خاکی مشکل از خاک برگ پوسیده، ماسه بادی و خاک باعچه به نسبت ۱:۱:۱ کاشته شدند و در شرایط مناسب رشد در گلخانه قرار گرفتند. زمانی که گیاهچه‌ها دارای دو برگ حقیقی کاملاً رشد کرده شدند تیمار برگی کاتکین، اسید اگزالیک، متیل جاسمونات، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک نیز انجام گرفت به نحوی که 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 تنفس سرمایی به اتفاق رشد منتقل شده و به مدت هفت روز و هر روز به مدت پنج ساعت تحت تأثیر دمای ۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۲ 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 به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شده و وزن خشک آنها به دست 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 بلا فاصله نمونه‌ها در محیط

کاتکین‌ها گروهی از آنتی اکسیدان‌ها هستند که به وفور در برگ‌های سبز چای وجود دارند (۱۵). امکان کاربرد کاتکین‌های چای در زمینه‌های مختلف به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی آنها روز به روز در حال افزایش است. تنها چند گزارش از تأثیر مثبت این ترکیب‌ها در مقابله با تنفس‌های محیطی در گیاهان موجود می‌باشد. هرچند که نقش آنتی اکسیدانی کاتکین‌ها قبل اثبات شده است (۱۵)، گزارش شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیب به واسطه گروه هیدروکسیل روی حلقه بنزن و قدرت زیاد اپی گالوکاتکین گلالات می‌باشد (۲۹). بنابراین این احتمال وجود دارد که این ترکیب بتواند سبب القاء مقاومت به تنفس‌های محیطی در گیاهان شود. اخیراً یو و همکاران (۳۱) نشان دادند که این ترکیب تأثیر مثبت و معنی‌داری بر مقاومت به تش شوری در گیاهچه‌های فلفل دارد. در این مطالعه استفاده از این ترکیب در شرایط تنفس با افزایش Na<sup>+</sup> و K<sup>+</sup>، سبب کاهش آثار سوء تنفس بر گیاهان شده است. تاکنون گزارشی از کاربرد این ماده بر تنفس 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 تنفس 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 به منظور اعمال تیمار بذری به دو قسمت کوچک‌تر تقسیم شده و به طور

قرائت شد (EC1). پس از آن نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از خنک شدن دوباره EC نمونه‌ها قرائت شد (EC2). نشت الکتروولیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر اساس درصد بیان شد.

$$\frac{EC1}{EC2} \times 100 = \text{درصد نشت الکتروولیت‌ها} \quad (5)$$

سنجهش پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (۴) صورت گرفت. در این روش ۵٪ گرم از ماده ترکیبی 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 ناین‌هیدرین (Ninhydrine) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس لوله‌ها را در حمام آب بخ 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 به دست 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 اسپکتروفوتومتر 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 ( $4 \times 3 \times 8 = 96$  گیاه‌چه) انجام گرفت. با توجه به انجام بخشی از آزمایش (اعمال تیمارهای سرما) در سرداخانه و استفاده از طبقات مختلف سرداخانه، به‌منظور به حداقل رساندن خطای آزمایش ناشی از اختلاف جزئی دما در سرداخانه، بلوک‌بندی انجام گرفت و هر بلوک در یک طبقه از سرداخانه 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.

آزمایشگاهی به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (FW). سپس به مدت 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 مجددًا توزین شدند (TW). پس از آن دیسک‌ها به مدت 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) به دست آید. سپس از رابطه (۱) محتوی ای آب برگ محاسبه گردید.

$$RWC = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش استراین و اسوک (۲۸) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۱٪ گرم برگ تازه را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به دست آید. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوز 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 اسپکتروفوتومتر طول موج جذب (A) قرائت، و کلروفیل بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$Ch\ a = mg/g FW = \{12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})\} \quad (2)$$

$$Ch\ b\ mg/g FW = \{22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})\} \quad (3)$$

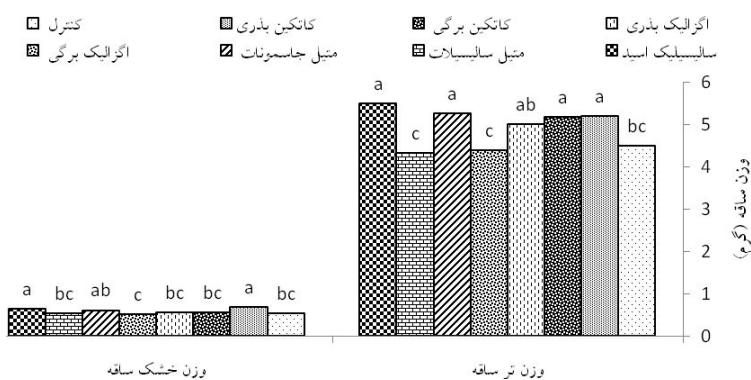
$$Ch\ a+b\ mg/g FW = \{20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})\} \quad (4)$$

به‌منظور ارزیابی دوام غشاء سلولی نشت الکتروولیت‌ها 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 به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر (۱۵۰ rpm) قرار گرفتند و پس از آن هدایت الکتریکی نمونه‌ها با استفاده از EC متر

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

منابع تغییرات	وزن شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن تر شاخساره	وزن خشک	وزن تر	آب رسی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	نشت الکتروولیت	پرولین	مالون دی‌آلدهید
بلوک	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷	۰/۳۸۲	۲۵/۹۳	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۱۰	۰/۰۴۴	۰/۱۲۷*	۰/۰۱۲**	۹/۸۸	۱/۹۴	۰/۰۲۳
تیمار	۰/۰۱**	۰/۲۱**	۰/۶۱**	۴۴/۷۶*	۰/۰۰۰۲**	۰/۱۷۹*	۰/۱۲۷*	۰/۵۱۲**	۱۵/۰۴**	۱۱/۳۱**	۰/۲۵۴**	۰/۲۵۴**
C.V	۱/۵۸	۷/۵۸	۱۳/۶	۴/۹۳	۵/۵۶	۴/۱۶	۶/۱۱	۸/۴۳	۵/۸۲	۵/۵۸	۶/۵۳	۵/۸۷

ns، \* و \*\*: به ترتیب 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 تنفس سرمایی

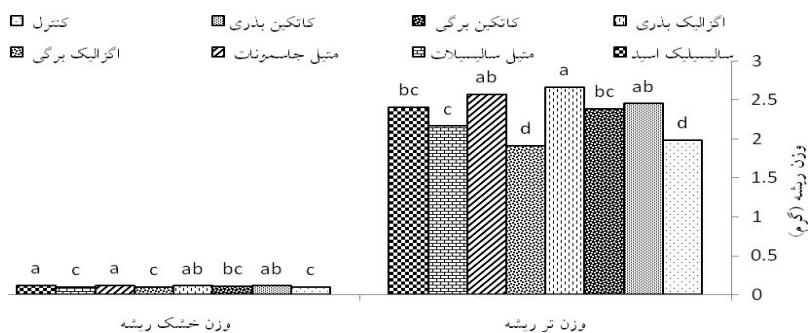
ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

تأثیر معنی‌داری نداشته و سایر تیمارهای به کار رفته سبب افزایش معنی‌دار این پارامتر نسبت به شاهد شدند (شکل ۲). اثر تنش دمای پایین همانند سایر تنسی‌های 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 فتوستیز، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوستیزی و هدایت روزنگاری، کاهش جذب عناصر غذایی و غیره می‌باشد که همه این عوامل نقش مؤثری در کاهش رشد گیاهان در شرایط تنفس سرما دارند (۵). در این مطالعه برخی اثرات مثبت تیمار کاتکین در افزایش رشد دانه‌الهای خیار در شرایط تنفس سرمازدگی مشاهده شد (شکل ۱ و ۲). به طور مشابه یو و همکاران (۳۱) نشان دادند که تیمار کاتکین سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه فلفل شیرین (طول شاخساره، طول ریشه، وزن تر و خشک بوته) تحت تنش شوری شده است که

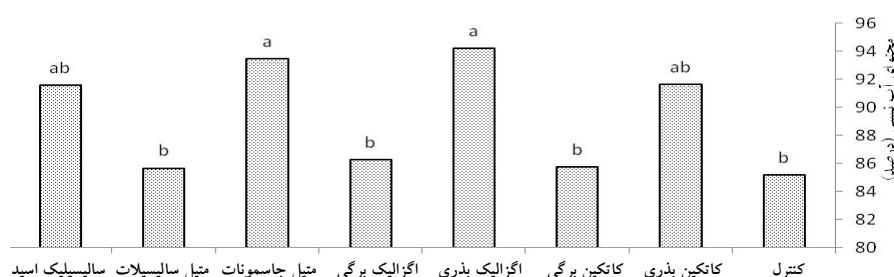
## نتایج و بحث

### پارامترهای رشد

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده شامل کاتکین بذری و برقی، اسید اگزالیک بذری، متیل سالیسیلات و اسید سالیسیلیک بر پارامترهای رشدی در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاتکین بذری و برقی، 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 به کار رفته به غیر از اسید اگزالیک برقی سبب افزایش وزن تر ریشه شدند، درحالی‌که در مورد وزن خشک ریشه کاربرد کاتکین برقی، اسید اگزالیک برقی و متیل سالیسیلات



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.

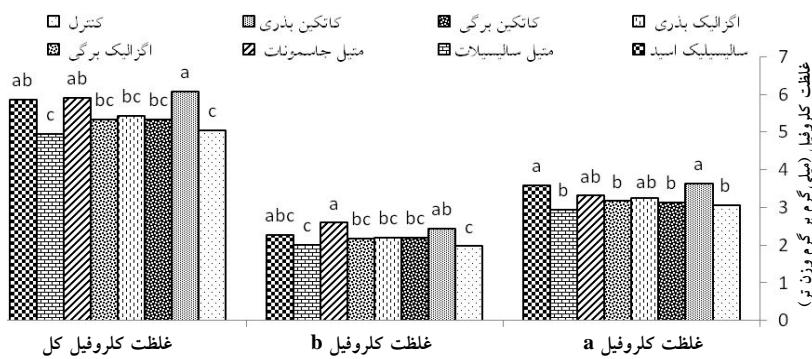
(۲۴) نشان دادند که تیمار اسید سالیسیلیک در غلاظت‌های پایین سبب افزایش رشد گیاهچه‌های هندوانه در شرایط تنش سرمایی می‌شود. همچنین تأثیر مثبت استیل سالیسیلیک اسید (۱۲)، پاکلوبوترازوول (۳)، ۵-آمینولولونیک اسید (۱۱) در افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش سرمایی گزارش شده است که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. 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

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



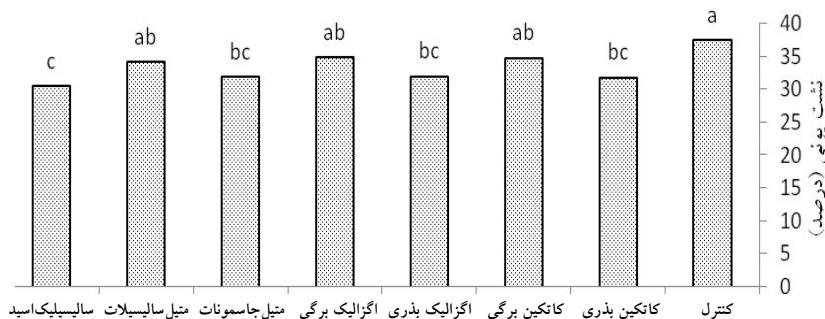
شکل ۴. اثر تیمارهای مختلف بر رنگیزه‌های فتوستتری در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون آنکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

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 فتوستتری به شمار 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 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 فتوستتری مشاهده شد به‌طوری‌که به ترتیب کاتکین بذری و اسید سالیسیلیک ۱۹ و ۱۷ درصد کلروفیل a، کاتکین بذری و متیل جاسمونات ۲۳ و ۲۱ 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

نداشتند (شکل ۳). اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه به عنوان 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 تشید می‌شود (۹). در تحقیق حاضر تنها کاربرد اسید اگرالیک 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. به نظر می‌رسد که این مواد با کاهش خسارت سرمایی گیاهچه‌های خیار، سبب حفظ محتوی آب نسبی برگ تحت تنش دمای پایین می‌شوند.

### رنگیزه‌های فتوستتری

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 فتوستتری (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) داشتند و



شکل ۵. اثر تیمارهای مختلف بر میزان نشت الکتروولیت‌ها در گیاهچه‌های خیار تحت نتش سرمایی

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

از جمله آسیب به غشاء سلولی شده است. به طور مشابه سیاری و همکاران (۲۴) نشان دادند که تیمار اسید سالیسیلیک در گیاه هندوانه تحت نتش سرمایی سبب کاهش نشت الکتروولیت و افزایش مقاومت به سرمایی شده است. این نتایج نشان می‌دهد که ساختار غشاء سلولی در گیاه خیار تحت نتش سرمایی پس از تیمار با کاتکین بذری، اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک آسیب کمتری دیده است.

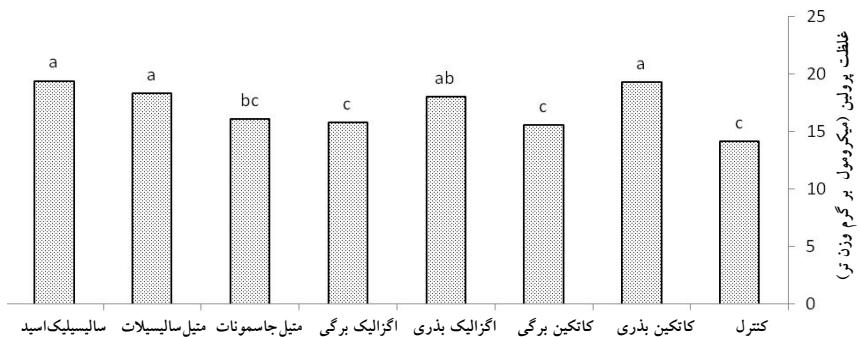
### پرولین

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 شدن (شکل ۶). گیاهان در نتش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، سرما و غیره با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این نتش‌ها 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

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

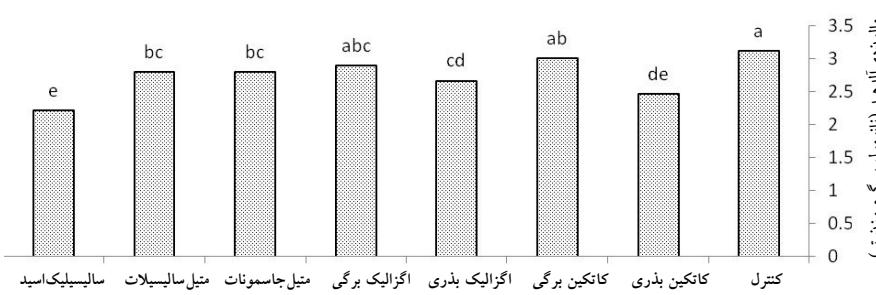
### نشست الکتروولیت‌ها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمار بر میزان نشت الکتروولیت‌ها در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). تیمارهای کاتکین بذری، اسید اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک باعث کاهش معنی‌دار نشت الکتروولیت‌ها 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، به همین دلیل از غشاء به عنوان حسگر اولیه زیستی نتش سرمای نام می‌برند (۳۰). نشت الکتروولیت‌ها به عنوان یک شاخص نشان‌دهنده میزان آسیب غشاء سلولی در زمان نتش مطرح است و اندازه‌گیری آن می‌تواند آسیب به ساختار و کارکرد غشاء‌های سلولی در شرایط نتش را نشان دهد. در این آزمایش مشاهده شد که تیمار کاتکین بذری، اسید اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک به ترتیب سبب کاهش ۱۶، ۱۵، ۱۶ و ۲۰ درصدی نشت الکتروولیتی نسبت به گیاهان شاهد شده است (شکل ۵). در واقع این مواد سبب کاهش آثار نتش



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 معنی دار 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 معنی دار ندارند.

تش 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 معنی دار بود (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین تیمارهای به کار رفته نشان داد که محتوای مالون دی‌آلدهید گیاهچه‌ها به طور معنی داری تحت تاثیر کاربرد کاتکین بذری، اسید اگرالیک بذری، میله جاسمونات، میله سالیسیلات و اسید سالیسیلیک نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت (شکل ۷). انواع گونه‌های واکنش‌گر

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، بردهاری و تحمل گیاهان را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهد (۱۳). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محل تجمع انرژی و شاخص مقاومت به تنش به حساب 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، اگرالیک بذری، میله سالیسیلات و اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین معنی دار بود، به طوری که کاربرد این مواد به ترتیب سبب افزایش ۲۹، ۳۶، ۲۷ 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 دلسردا و همکاران (۶) انباست پرولین در گیاهان را وابسته به افزایش خسارت ناشی از

بذری کاتکین باعث کاهش ۲۰ درصدی مالون دی‌آلدھید نسبت به شاهد شد (شکل ۷). یو و همکاران (۳۱) نیز نشان دادند که تیمار کاتکین به طور معنی‌داری سبب کاهش تجمع مالون دی‌آلدھید در گیاهچه‌های فلفل تحت تنفس شوری می‌شود. از میان تیمارهای به کار رفته اسید سالیسیلیک بیشترین تأثیر را در کاهش این صفت نسبت به شاهد داشت، به طوری که استفاده از اگزالیک بذری، متیل جاسمونات و متیل سالیسیلات به ترتیب باعث کاهش ۱۵، ۱۱ و ۱۱ درصدی مالون دی‌آلدھید نسبت به شاهد شدند در حالی که تیمار اسید سالیسیلیک 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 تنفس سرمایی در گیاهچه‌های خیار نشان داده شد. با توجه به نتایج به دست 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 تنفس 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.

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 به طور 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 غشاء‌ای است که باعث تولید آلدھیدهایی مثل مالون دی‌آلدھید 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 دی‌آلدھید در واکنش به اسید تیوباربیوتیریک سنجیده می‌شود. به طور کلی سازگاری به تنفس بستگی به این دارد که مقادیر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن توسط سیستم آنتی اکسیدانی گیاهان در سطح پایینی نگه داشته شوند. به نظر می‌رسد که رادیکال‌های آزاد تولید شده در شرایط تنفس سرمایی می‌توانند سبب افزایش مالون دی‌آلدھید در گیاه خیار در شرایط تنفس سرما شوند. کاتکین به واسطه اثری که بر سیستم آنتی اکسیدانی دارد، می‌تواند باعث کاهش آسیب به غشاء‌های سلولی و در نتیجه کاهش تجمع مالون دی‌آلدھید شود. نتایج این تحقیق این مطلب را تأیید کرد، به طوری که تیمار

### 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. *Scientia Horticulturae* 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 7<sup>th</sup> 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<sub>2</sub> 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 in *Capsicum annuum* L. seedlings by catechin. *Scientia Horticulturae* 134: 200-209.