

تأثیر متیل جازمونات و سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل سرما در فلفل دلمه‌ای گلخانه‌ای رقم امیلی

یسری مرادمند^۱، مصطفی مبلی^{۲*} و علی اکبر رامین^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۱۳)

چکیده

از مواد شیمیایی که در سال‌های اخیر روی اثرات آنها در کاهش سرمازدگی کار شده است می‌توان سالیسیلات‌ها و جازمونات‌ها را نام برد. در این مطالعه تأثیر ترکیبات سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات در افزایش تحمل سرما در گیاه فلفل دلمه‌ای رقم امیلی (گلخانه‌ای) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل 2×7 در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول شامل سالیسیلیک اسید در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار و متیل جازمونات در سه غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌مولار همراه با یک شاهد (آب مقطر) و فاکتور دوم شامل دو روش محلول‌پاشی و خاک مصرف این ترکیبات در مرحله ۷-۹ برگ گیاه بود. پس از انجام تیمارها گیاهان برای مدت ۳ روز در دمای صفر درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از سه روز نگهداری در دمای گلخانه، شاخص‌های مختلفی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که به‌جز برای قندهای محلول و پرولین برگ در سایر موارد تفاوتی بین دو روش کاربرد هورمون مشاهده نشد. برای تمام صفات تیمارهای هورمونی تأثیر معنی‌داری نشان دادند. اما به‌دلیل اثر متقابل معنی‌دار بین تیمار هورمونی و روش کاربرد، اثر هورمون تحت تأثیر روش کاربرد قرار گرفت. غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، به روش خاک مصرف، سبب کاهش علائم ظاهری سرمازدگی و افزایش کلروفیل نسبی، فلورسانس کلروفیل، قندهای محلول و پرولین برگ در مقایسه با شاهد گردید. لذا تحمل گیاهان را در مقابل سرما نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. در بین غلظت‌های متیل جازمونات کاربرد غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار سبب کاهش علائم سرمازدگی و افزایش فلورسانس کلروفیل نسبت به شاهد شد و تنها به روش خاک مصرف سبب افزایش کلروفیل a و b و قندهای محلول گردید و در افزایش مقاومت به سرمای گیاهان بهتر از سایر غلظت‌ها عمل کرد.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک اسید، سرمازدگی، فلفل دلمه‌ای، متیل جازمونات

او ۲. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادان گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mobli@cc.iut.ac.ir

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده انتشار و بقای گونه‌های گیاهی میزان مقاومت آنها در مقابل تنش‌های محیطی می‌باشد. خسارات زیادی در بخش کشاورزی و باغبانی به سبب قرار گرفتن گیاهان در شرایط محیطی نامطلوب سالانه رخ می‌دهد (۶ و ۱۶).

بسیاری از گیاهان و محصولات گیاهی به‌ویژه آنهایی که منشاء گرمسیری و نیمه گرمسیری دارند در نتیجه قرار گرفتن در معرض دماهای پایین (معمولاً ۱۰ - ۱ درجه سانتی‌گراد) دچار آسیب‌های فیزیولوژیک می‌شوند که سرمازدگی نامیده می‌شود (۸). بنابراین ایجاد روش‌هایی به منظور افزایش مقاومت به سرما در گیاهان و محصولات گیاهی ضروری می‌باشد. از جمله این روش‌ها کاربرد مواد شیمیایی است. از مواد شیمیایی که در سال‌های اخیر از آنها برای کاهش سرمازدگی استفاده شده است می‌توان سالیسیلات‌ها و جازمونات‌ها را نام برد (۵ و ۶). سالیسیلیک اسید و دیگر ترکیبات فنولیکی (بنزوئیک اسید، استیل سالیسیلیک اسید و ...) مقاومت به سرمازدگی را در گیاهان جوان ذرت در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار هنگامی که به صورت هیدروپونیک به کار برده شده‌اند افزایش داده است (۱۰ و ۱۱). پیش تیمار بوته‌های سیب زمینی با ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقاومت به سرمازدگی شده است (۱۸). خیساندن بذور گوجه فرنگی و لوبیا در ۰/۵ - ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید یا استیل سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقاومت نشاء آنها به سرما شده است و یا استفاده این ترکیبات در محیط ریشه میزان مقاومت به سرما را در این گیاهان افزایش داده است (۲۲). استفاده از بنزوئیک اسید، سولفوسالیسیلیک اسید و متیل سالیسیلیک اسید موجب مقاومت به سرما در لوبیا و گوجه فرنگی شده است (۲۳). استفاده از متیل جازمونات در گیاهان برنج مقاومت آنها را به سرما افزایش داده است (۱۵). بنابراین به‌منظور بررسی اثر این مواد در افزایش تحمل به سرما گیاهان فلفل دلمه‌ای این تحقیق صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در ابتدا به‌منظور تعیین حدود دمای سرمازدگی در فلفل دلمه‌ای گلخانه‌ای رقم امیلی آزمایش مقدماتی انجام گردید. به این منظور ابتدا بذور فلفل دلمه‌ای در اواسط اسفند ماه ۱۳۸۸ در سینی‌های کاشت محتوی (پیت ۲۰٪ + پرلایت ۸۰٪) کاشته شدند. پس از طی ۳۵ روز از تاریخ کاشت گیاهان به گلدان منتقل شدند. در هر گلدان ۲ بوته کاشته شد. پس از استقرار گیاهان و رسیدن به مرحله ۹ - ۷ برگی، آزمایش مقدماتی شروع گردید. به این منظور تعداد ۵ گلدان در هر یک از دماهای ۳، ۱/۵، ۱، ۰/۵ و صفر درجه سانتی‌گراد به‌منظور تعیین دمای مناسب برای بروز علائم سرمازدگی ظاهری برای ۲ تا ۳ شبانه روز قرار گرفتند. در نهایت دمای صفر درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای مناسب برای بروز علائم سرمازدگی ظاهری انتخاب شد. آزمایش اصلی به‌صورت فاکتوریل ۲ × ۷ در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. فاکتور اول شامل سالیسیلیک اسید در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار و متیل جازمونات در سه غلظت ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌مولار همراه با یک شاهد (آب مقطر) و فاکتور دوم شامل دو روش محلول‌پاشی و خاک مصرف این ترکیبات در مرحله ۹ - ۷ برگی گیاه بود. روش خاک مصرف ریختن ۲۰ میلی‌لیتر از محلول پای بوته‌ها بود. نشاءهای ۵-۴ برگی فلفل دلمه‌ای گلخانه‌ای رقم امیلی از مجتمع گلخانه‌های پردیس خریداری گردید. سپس بوته‌ها در گلدان‌های به قطر ۹ سانتی‌متر حاوی بستر مخلوط خاک، پرلایت و پیت (با نسبت حجمی ۴:۱:۵) کاشته شدند. در هر گلدان ۳ گیاه کاشته شد. آبیاری گلدان‌ها به صورت مرتب و هر دو روز یک‌بار صورت پذیرفت. گیاهان در مرحله ۹ - ۷ برگی در نیمه شهریورماه ۱۳۸۹ در معرض تیمارهای متیل جازمونات و سالیسیلیک اسید قرار گرفتند. دو روز پس از انجام تیمارها، گیاهان برای ۳ روز در دمای صفر درجه نگهداری و پس از آن به گلخانه (۲ ± ۲۵ °C) و رطوبت نسبی ۵ ± ۷۵٪ انتقال یافته و ۳ روز بعد شاخص‌هایی نظیر علائم ظاهری سرمازدگی، فلورسانس کلروفیل، کلروفیل نسبی،

و ۲ محاسبه گردید (۱).

$$\text{Chl a (mg/g FW)} = 11.75 \times A663 - 2.35 \times A645 \quad (1)$$

$$\text{Chl b (mg/g FW)} = 18.61 \times A645 - 3.96 \times A663 \quad (2)$$

جهت اندازه‌گیری میزان قندهای محلول، تهیه عصاره از نمونه‌ها طبق روش مارتینز و همکاران (۱۷) با اندکی تغییر و سپس اندازه‌گیری میزان قندهای محلول طبق روش پیشنهادی دابوس و همکاران (۷) صورت گرفت. میزان پرولین آزاد نمونه‌ها به روش بیتز و همکاران (۴) اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹.۱) (Statistical analysis system (SAS), version 9.1) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

علائم ظاهری سرمازدگی

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر هورمون و اثر متقابل آن با روش کاربرد در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید. اما روش کاربرد هورمون تأثیری بر علائم ظاهری سرمازدگی نداشت.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد که بیشترین علائم ظاهری سرمازدگی مربوط به تیمار شاهد و کمترین علائم ظاهری سرمازدگی مربوط به گیاهانی است که تیمار متیل جازمونات ۰/۰۰۱ میلی‌مولار به روش محلول‌پاشی و پس از آن سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار به روش خاک مصرف دریافت کرده اند که با شاهد اختلاف معنی‌داری دارد (۳۵٪ کاهش نسبت به شاهد). کاربرد سالیسیلیک اسید ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار در لیتر به روش محلول‌پاشی نیز در مقایسه با شاهد موجب کاهش علائم سرمازدگی شدند. هم‌چنین گرچه در مجموع دو روش کاربرد هورمون اختلافی نشان ندادند اما با توجه به اثر متقابل معنی‌دار بین تیمار هورمون و روش کاربرد، محلول سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار خاک مصرف بروز علائم ظاهری سرمازدگی را نسبت به محلول‌پاشی آن به‌صورت

قندهای محلول و پرولین اندازه‌گیری شدند. برای تعیین میزان علائم ظاهری سرمازدگی در گیاهان، تمامی گیاهان فلفل دلمه‌ای بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ طبقه‌بندی شدند (۱- بدون هیچ‌گونه علائم قابل رویت ۲- ملایم: مناطق نکروزه کوچک بر روی شاخساره‌ها ولی بدون محدودیت رشدی (مناطق نکروزه سطح برگ کمتر از ۵٪) ۳- مناطق نکروزه روی شاخساره‌ها (نکروزه شدن ۲۵ - ۵٪ سطح برگ) ۴- شدید: مناطق نکروزه گسترده و کاهش رشد شدید (نکروزه شدن ۵۰ - ۲۶٪ سطح برگ ولی گیاه هنوز زنده است) ۵- مرگ: نکروزه شدن کامل گیاه و افتادن آن). پس از امتیاز دادن برحسب ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵، میانگین آسیب‌ها برای هر تیمار محاسبه شد (۱۴).

میزان فلورسانس کلروفیل کلیه نمونه‌ها در پایان آزمایش با استفاده از دستگاه سنجش فلورسانس کلروفیل Plant Efficiency analyzer [مدل RS232] (ساخت کشور انگلستان، شرکت ELE International) اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور از هر گیاه بالاترین برگ بالغ انتخاب و به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌وسیله گیره‌های دستگاه تاریکی داده شد و سپس با باز کردن دریچه و تاباندن نور به برگ راندمان فتوشیمیایی سیستم نوری II، [Fv/Fm]، به‌وسیله دستگاه فلورسانس سنج اندازه‌گیری گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری کلروفیل نسبی، کلروفیل a و b، قندهای محلول و پرولین نمونه‌های برگ‌ها به‌میزان ۰/۱ گرم پس از تثبیت در نیترون مایع در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شدند. اندازه‌گیری میزان کلروفیل نسبی برگ توسط دستگاه کلروفیل سنج [مدل CL-01] (ساخت کشور انگلستان، شرکت Hansatech Instruments Ltd) انجام گرفت.

هم‌چنین به‌منظور تعیین میزان کلروفیل a و b نمونه‌های برگ‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر از استون ۸۰٪ مخلوط گردید و به‌خوبی در هاون چینی له گردید و توسط کاغذ صافی، فیلتر شد. سپس میزان جذب نور در دو طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردید و محتوای کلروفیل a و b به‌ترتیب از طریق رابطه‌های ۱

جدول ۱. تاثیر هورمون، روش کاربرد و اثر متقابل آنها بر روی علائم ظاهری سرمازدگی در رقم امیلی^{۱*}

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	خاک مصرف	محلول پاشی روی بوته	
۳/۷۰ ^{۰A}	۳/۴۱۳ ^{a-c}	۳/۹۱۵ ^a	شاهد (صفر)
۲/۴۵ ^{۰B}	۲/۶۸۵ ^{a-d}	۲/۱۳۶ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۲/۷۸۷ ^B	۲/۹۳۲ ^{a-d}	۲/۶۴۲ ^{a-d}	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۲/۵۸۲ ^B	۲/۱۶۷ ^{cd}	۲/۹۹۷ ^{a-c}	متیل جازمونات (۰/۱)
۲/۴۱۴ ^B	۲/۳۳۰ ^{cd}	۲/۵۲۶ ^{b-d}	سالیسیلیک اسید (۰/۱)
۲/۶۶۳ ^B	۱/۶۹ ^{۰d}	۳/۶۳۶ ^{ab}	سالیسیلیک اسید (۰/۵)
۲/۸۲۱ ^B	۳/۱۰۲ ^{a-c}	۲/۵۴ ^{۰ b-d}	سالیسیلیک اسید (۱)
	۲/۶۲۲ ^A	۲/۳۹۱ ^A	میانگین

*: میانگین‌های هر تیمار که حداقل دارای یک حرف بزرگ مشابه هستند یا میانگین‌های اثر متقابل دو تیمار که حداقل دارای یک حرف کوچک مشابه‌اند، بر مبنای تست دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی داری نیستند.

علائم ظاهری بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ می‌باشد:

۱- بدون علائم: بدون هیچ‌گونه علائم قابل رؤیت

۲- ملایم: مناطق نکروزه کوچک بر روی شاخساره‌ها ولی بدون محدودیت رشدی (مناطق نکروزه سطح برگ کمتر از ۰/۵)

۳- مناطق نکروزه روی شاخساره‌ها (نکروزه شدن ۲۵ - ۵۰٪ سطح برگ)

۴- شدید: مناطق نکروزه گسترده و کاهش رشد شدید (نکروزه شدن ۵۰ - ۲۶٪ سطح برگ ولی گیاه هنوز زنده است)

۵- مرگ: نکروزه شدن کامل گیاه و افتادن آن

معنی داری کاهش داد. تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی مولار بود که از این نظر با هر

سه تیمار متیل جازمونات و سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار

اختلاف معنی داری را نشان نداد.

فلورسانس کلروفیل

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تنها اثر تیمارهای هورمونی

بر روی میزان فلورسانس کلروفیل در سطح احتمال ۵ درصد

معنی دار گردید، لیکن اثر روش کاربرد و اثر متقابل آن با

هورمون روی این صفت معنی دار نگردید.

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (جدول ۲) نشان داد که بین

تیمارهای هورمونی اثر تیمارهای متیل جازمونات ۰/۰۰۱ و

۰/۰۱ میلی مولار و سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی مولار در مقایسه

با شاهد معنی دار گردید و میزان شاخص FV/FM بالاتری را

نسبت به تیمار شاهد دارند بدین معنی که تنش سرما تأثیر

کمتری بر آنها داشته است. بالاترین شاخص FV/FM مربوط به

کلروفیل نسبی

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تنها اثر تیمارهای هورمونی

بر روی کلروفیل نسبی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید،

اما اثر روش کاربرد و اثر متقابل آن با تیمارهای هورمونی روی

این صفت معنی دار نگردید.

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمون (جدول ۲) نشان

داد که تمامی گیاهانی که تیمارهای هورمون دریافت کردند

میزان کلروفیل نسبی بیشتری نسبت به شاهد دارند که برای

تمامی تیمارها به جز تیمار سالیسیلیک اسید ۱ میلی مولار این

جدول ۲. تأثیر تیمار هورمون بروی کلروفیل نسبی و فلورسانس کلروفیل در بوته‌های فلفل دلمه‌ای رقم امیلی پس از دریافت سرما*

تیمار (میلی مول در لیتر)	کلروفیل نسبی (SPAD)	فلورسانس کلروفیل (FV/FM)
شاهد (صفر)	۶/۵ ^c	۰/۷۴۳ ^c
متیل جازمونات (۰/۰۰۱)	۷/۹۴ ^{ab}	۰/۷۸۷ ^a
متیل جازمونات (۰/۰۱)	۸/۸۵ ^a	۰/۷۸۳ ^{ab}
متیل جازمونات (۰/۱)	۸/۵۱ ^a	۰/۷۶۷ ^{a-c}
سالیسیلیک اسید (۰/۱)	۷/۸۰ ^{ab}	۰/۷۸۹ ^a
سالیسیلیک اسید (۰/۵)	۷/۸۰ ^{ab}	۰/۷۷۰ ^{a-c}
سالیسیلیک اسید (۱)	۷/۱۵ ^{bc}	۰/۷۵۲ ^{bc}

*: در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

استفاده خاک مصرف آن به صورت معنی‌داری سبب افزایش کلروفیل a در برگ‌ها گردید.

کلروفیل b

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر هورمون و اثر متقابل آن با روش کاربرد روی کلروفیل b در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید درحالی‌که اثر روش کاربرد معنی‌دار نگردید.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار به روش خاک مصرف بود که در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. اما به دلیل اثر متقابل بین تیمار هورمون و روش کاربرد، محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار روی بوته‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. هم‌چنین درحالی‌که متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی‌مولار به روش خاک مصرف تأثیر معنی‌داری روی افزایش کلروفیل b در بوته‌هایی که سرما را تجربه کرده بودند در مقایسه با شاهد داشت، در روش محلول‌پاشی روی بوته‌ها تفاوت معنی‌دار با شاهد نشان نداد. ضمناً در روش محلول‌پاشی هیچ‌کدام از تیمارها با شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند.

افزایش معنی‌دار است. بیشترین میزان کلروفیل نسبی در تیمار متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی‌مولار مشاهده شد (۸/۸۵) که با تیمارهای ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی‌مولار متیل جازمونات و ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری ندارد. کمترین میزان کلروفیل نسبی در تیمار شاهد مشاهده شد.

کلروفیل a

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر هورمون و اثر متقابل آن با روش کاربرد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید لیکن اثر روش کاربرد معنی‌دار نگردید.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد که تیمارهای متیل جازمونات ۰/۰۱ و سالیسیلیک اسید ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار در روش خاک مصرف نسبت به شاهد موجب افزایش کلروفیل a در گیاهان سرما دیده شدند. هم‌چنین بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار در روش محلول‌پاشی بود که با شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد. اثر متقابل معنی‌دار بین تیمار هورمون و روش کاربرد نشان داد که تأثیر هورمون تابع روش کاربرد است. برای مثال درحالی‌که متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی‌مولار در روش محلول‌پاشی در مقایسه با شاهد تأثیر معنی‌داری روی کلروفیل a نداشت،

جدول ۳. تأثیر هورمون، روش کاربرد و اثر متقابل آنها بر روی کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر) در رقم امیلی*

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	خاک مصرف	محلول پاشی روی بوته	
۹/۱۴۱ ^C	۸/۶۶۳ ^d	۹/۷۸۰ ^{b-d}	شاهد (صفر)
۹/۱۷۰ ^C	۹/۷۰۳ ^{b-d}	۸/۴۶۰ ^d	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۱۰/۹۴۷ ^{A-C}	۱۲/۳۹۸ ^{ab}	۹/۴۹۸ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۱۱/۱۴۸ ^{AB}	۱۰/۳۲۰ ^{a-d}	۱۱/۹۷۷ ^{a-c}	متیل جازمونات (۰/۱)
۱۱/۴۵۷ ^{AB}	۱۲/۳۵۵ ^{ab}	۱۰/۵۶۰ ^{a-d}	سالیسیلیک اسید (۰/۱)
۱۲/۶۱۶ ^A	۱۲/۳۴۳ ^{ab}	۱۲/۸۹۰ ^a	سالیسیلیک اسید (۰/۵)
۱۰/۴۳۰ ^{BC}	۱۱/۲۶۸ ^{a-d}	۹/۳۱۳ ^{cd}	سالیسیلیک اسید (۱)
	۱۱/۰۷۵ ^A	۱۰/۸۲۰ ^A	میانگین

*: میانگین‌های هر تیمار که حداقل دارای یک حرف بزرگ مشابه هستند یا میانگین‌های اثر متقابل دو تیمار که حداقل دارای یک حرف کوچک مشابه اند بر مبنای تست دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی داری نیستند.

جدول ۴. تأثیر هورمون، روش کاربرد و اثر متقابل آنها بر روی کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن تر) در رقم امیلی*

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	خاک مصرف	محلول پاشی روی بوته	
۳/۸۷۲ ^B	۳/۶۹۵ ^e	۴/۱۱۰ ^{a-e}	شاهد (صفر)
۳/۹۲۸ ^B	۳/۰۷۵ ^{b-e}	۳/۷۸۲ ^{ed}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۴/۴۷۶ ^{AB}	۴/۹۹۵ ^{ab}	۳/۹۵۷ ^{b-e}	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۴/۵۴۸ ^{AB}	۴/۰۰۳ ^{a-e}	۵/۰۹۳ ^a	متیل جازمونات (۰/۱)
۴/۴۲۲ ^{AB}	۴/۷۳۵ ^{a-e}	۴/۱۱۰ ^{a-e}	سالیسیلیک اسید (۰/۱)
۴/۸۹۵ ^A	۴/۹۳۰ ^{a-c}	۴/۸۶۰ ^{a-d}	سالیسیلیک اسید (۰/۵)
۴/۱۶۷ ^{AB}	۴/۴۲۵ ^{a-e}	۳/۸۲۳ ^{c-e}	سالیسیلیک اسید (۱)
	۴/۴۰۳ ^A	۴/۲۱۰ ^A	میانگین

*: میانگین‌های هر تیمار که حداقل دارای یک حرف بزرگ مشابه هستند یا میانگین‌های اثر متقابل دو تیمار که حداقل دارای یک حرف کوچک مشابه‌اند، بر مبنای تست دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی داری نیستند.

قندهای محلول

قندهای محلول مربوط به گیاهانی بود که تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار به روش خاک مصرف دریافت کردند. که با تیمار شاهد تفاوت معنی داری نشان داد، اما با متیل جازمونات ۰/۰۱، سالیسیلیک اسید ۰/۱ و ۱ میلی مولار به روش خاک مصرف تفاوت معنی دار نشان نداد. هم‌چنین خاک مصرف هورمون نسبت به محلول پاشی روی بوته موجب افزایش

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار هورمون، روش کاربرد و اثر متقابل تیمار هورمون با روش کاربرد بر روی قندهای محلول برگ‌های فلفل دلمه‌ای در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) نشان داد که بیشترین میزان

جدول ۵. تأثیر هورمون، روش کاربرد و اثر متقابل آنها بر روی قندهای محلول (میلی گرم در گرم وزن تر) در رقم امیلی*

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	خاک مصرف	محلول پاشی روی بوته	
۵/۰۳۸ ^D	۶/۹۰۴ ^{cd}	۲/۵۵۰ ^d	شاهد (صفر)
۹/۷۴۴ ^{BC}	۸/۴۶۸ ^{bc}	۱۱/۰۱۹ ^{bc}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۱۰/۲۷۵ ^{BC}	۱۳/۳۷۵ ^{ab}	۷/۱۷۶ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۷/۲۸۴ ^{CD}	۶/۱۱۳ ^{cd}	۸/۴۵۵ ^{bc}	متیل جازمونات (۰/۱)
۱۰/۷۴۹ ^{BC}	۱۳/۶۱۴ ^{ab}	۶/۹۲۹ ^{cd}	سالیسیلیک اسید (۰/۱)
۱۴/۱۹۰ ^A	۱۶/۶۳۹ ^a	۱۲/۳۵۳ ^{ab}	سالیسیلیک اسید (۰/۵)
۱۲/۶۴۳ ^{AB}	۱۲/۶۴۷ ^{ab}	۱۲/۶۳۹ ^{ab}	سالیسیلیک اسید (۱)
	۱۱/۱۳ ^A	۸/۹۸ ^B	میانگین

*: میانگین‌های هر تیمار که حداقل دارای یک حرف بزرگ مشابه هستند یا میانگین‌های اثر متقابل دو تیمار که حداقل دارای یک حرف کوچک مشابه‌اند بر مبنای تست دانکن در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی داری نیستند.

جدول ۶. تأثیر هورمون، روش کاربرد و اثر متقابل آنها بر روی میزان پرولین برگ (میکرومول پرولین در گرم وزن تر گیاه) در رقم امیلی*

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	خاک مصرف	محلول پاشی روی بوته	
۰/۷۹ ^E	۰/۲۹ ^f	۱/۴۶ ^{d-f}	شاهد (صفر)
۱/۵۱ ^{DE}	۰/۶۳ ^{ef}	۲/۳۹ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۲/۴۱ ^C	۱/۲۰ ^{d-f}	۴/۰۳ ^b	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۳/۳۸ ^B	۲/۷۹ ^c	۳/۹۷ ^b	متیل جازمونات (۰/۱)
۴/۴۴ ^A	۴/۴۶ ^{ab}	۴/۴۲ ^{ab}	سالیسیلیک اسید (۰/۱)
۴/۸۴ ^A	۴/۵۷ ^{ab}	۵/۴۰ ^a	سالیسیلیک اسید (۰/۵)
۱/۸۴ ^{CD}	۱/۷۰ ^{c-e}	۱/۹۷ ^{cd}	سالیسیلیک اسید (۱)
	۲/۲۳ ^B	۳/۲۶ ^A	میانگین

*: میانگین‌های هر تیمار که حداقل دارای یک حرف بزرگ مشابه هستند یا میانگین‌های اثر متقابل دو تیمار که حداقل دارای یک حرف کوچک مشابه‌اند بر مبنای تست دانکن در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی داری نیستند.

پرولین

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر هورمون و اثر روش کاربرد آن در سطح احتمال ۱ درصد روی میزان پرولین معنی دار گردید. اثر متقابل آن دو نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که روش محلول پاشی روی بوته نسبت به روش خاک مصرف میزان پرولین را به صورت معنی داری افزایش داد. هم‌چنین به دلیل

قندهای محلول شد. اما به دلیل اثر متقابل معنی دار بین هورمون و روش کاربرد آن میزان اثر هورمون‌ها در دو روش متفاوت بود. برای مثال درحالی که متیل جازمونات ۰/۱ میلی مولار به روش محلول پاشی موجب افزایش معنی دار قندهای محلول در مقایسه با شاهد گردید، خاک مصرف آن میزان قندهای محلول را در مقایسه با شاهد تغییر معنی دار نداد.

فلورسانس کلروفیل

پرسیوال و هندرسون (۲۰) گزارش کردند کلروفیل فلورسانسی روشی غیر مخرب، قابل اعتماد و سریع برای تخمین مقاومت ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی به تنش‌های محیطی است. نسبت F_v/F_m فلورسانس کلروفیل که نشان دهنده بازده فتوسنتز است در شرایط تنش سرمایی و یخ‌زدگی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و در گیاهان حساس به سرما مقادیر آن کاهش می‌یابد. اولیویرا و پنو آلس (۱۹) نشان دادند که در گیاهان نواحی مدیترانه، در شرایط زمستان با تخریب کمپلکس‌های فتوسیستم II فرآیند بازدارندگی نوری رخ داده و مقدار این بازدارندگی در روزهای سردتر افزایش یافته که همین امر موجب کاهش شاخص F_v/F_m می‌شود.

در این پژوهش هورمون‌های سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات نسبت F_v/F_m را در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط تنش سرما افزایش دادند. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران مطابقت دارد. جاندا و همکاران (۹) گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار در گیاه ذرت در شرایط تنش سرما نسبت F_v/F_m را افزایش داده است.

کلروفیل

همه تیمارها کلروفیل نسبی را در مقایسه با شاهد در شرایط سرما افزایش دادند (جدول ۲). این نتایج، با نتایج گزارش شده توسط دیگر محققان مطابقت دارد. کاربرد سالیسیلیک اسید در رویارویی با تنش‌هایی همانند خشکی و شوری توانسته است در حفظ کلروفیل مؤثر باشد و سرعت فتوسنتز را افزایش دهد و یا خسارت به کلروفیل a و کارتنوئیدها را کاهش دهد (۲۴) و (۲۵). هم‌چنین کاربرد سالیسیلیک اسید بروی گیاهان برگی شلغم سفت (*Brassica napus*) محتوای کلروفیل را در آنها بهبود بخشیده است. مشابه آن خیساندن بذره‌های گندم در سالیسیلیک اسید موجب افزایش پیگمان‌های کلروفیل شده است ولی با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید میزان پیگمان‌های کلروفیل کاهش یافته است (۲). در آزمایش حاضر نیز تأثیر غلظت بالای

معنی‌دار بودن اثر متقابل هورمون و روش کاربرد بر خلاف اینکه در مجموع محلول‌پاشی روی بوته میزان پرولین را در مقایسه با روش خاک مصرف به‌صورت معنی‌داری افزایش داد ولی در برخی از تیمارها از جمله تیمارهای سالیسیلیک اسید ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار تفاوتی بین این دو روش مشاهده نشد. هم‌چنین بیشترین میزان پرولین در تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار به روش محلول‌پاشی به‌دست آمد که با تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی‌مولار به روش محلول‌پاشی تفاوت معنی‌داری نداشت ولی با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان دادند.

بحث

علائم ظاهری سرمازدگی

همان‌گونه که در نتایج نشان داده شد تمامی تیمارهای هورمونی به‌صورت معنی‌داری میزان بروز علائم سرمازدگی را نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۱). کمترین میزان بروز علائم سرمازدگی در تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی‌مولار مشاهده شد.

سناراتنا و همکاران (۲۲) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار موجب زنده ماندن و بقای گیاهان لوبیا و گوجه‌فرنگی پس از سرمازدگی شده است. درحالی‌که گیاهان شاهد پس از تجربه سرما از بین رفتند. سناراتنا و همکاران (۲۳) نیز گزارش کردند که سالیسیلیک اسید و مشتقات آن در غلظت‌های کم موجب بقای گیاهان لوبیا و گوجه‌فرنگی در سرما نسبت به گیاهان شاهد شدند. یانگ و همکاران (۲۸) نیز نشان دادند که سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مولار مقاومت به سرما را در گیاهان هندوانه افزایش می‌دهد اگرچه غلظت‌های بالاتر سالیسیلیک اسید میزان مقاومت به سرما را کم کرده بود. لی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که کاربرد متیل جازمونات در غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار در برنج میزان بقای برنج در مقابل سرما را افزایش داده است. بنابراین نتایج به‌دست آمده در پژوهش ما روی فلفل دلمه‌ای با گزارش‌های عنوان شده توسط سایر پژوهشگران روی گیاهان دیگر همسویی دارد.

پرویلین

همه تیمارهای هورمونی میزان پرویلین برگ را نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۶). بیشترین میزان پرویلین برگ در تیمارهای سالیسیلیک اسید ۱/۰ و ۵/۰ میلی مولار مشاهده شد. باغبانها و همکاران (۳) گزارش نمودند که میزان اسید آمینه پرویلین در اثر کاربرد سالیسیلیک اسید ۵/۰ میلی مولار به صورت معنی داری در شرایط سرد افزایش یافته است. در گیاهان سویا نیز هنگامی که در معرض دمای سرمازدگی ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفته اند میزان پرویلین در آنها افزایش یافته است (۲۷). محتوای پرویلین در گیاهان سازگار شده به سرما بیشتر از گیاهان غیر سازگار گزارش شده است. محتوای پرویلین در ساقه و برگ گیاهان فلفل نیز بوسیله تنش سرما افزایش یافته است و همبستگی مثبتی بین تحمل به یخزدگی و افزایش غلظت پرویلین در ساقه و برگ فلفل پس از قرار گرفتن در دمای پایین مشاهده شده است (۱۳).

نتیجه گیری کلی

در مجموع برای تمام صفات اندازه گیری شده مرتبط با تحمل به سرما، کاربرد سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات در مقایسه با شاهد اثر مثبت نشان دادند و تحمل به سرمای گیاهان فلفل دلمه ای را افزایش دادند. البته این اثرات در مواردی وابسته به روش مصرف هورمون بود و به جز برای دو صفت میزان قندهای محلول و پرویلین برگ، دو روش مصرف محلول پاشی روی بوته و ریختن محلول پای بوته تفاوتی نداشتند.

سالیسیلیک اسید (۱ میلی مولار) کمتر بوده است.

اگرچه در مورد اثر متیل جازمونات در جلوگیری از کاهش کلروفیل ناشی از تنش سرما کمتر مطالعه شده است لیکن در مورد کاهش تنش شوری متیل جازمونات مفید بوده است. یون و همکاران (۲۹) گزارش کردند که کاربرد متیل جازمونات در گیاهان سویا به میزان معنی داری میزان کلروفیل را در آنها تحت شرایط تنش شوری افزایش داده است. تیسونو و همکاران (۲۶) گزارش نمودند تیمار گیاهان جو با ۲۵ میکرومولار از جازمونیک اسید از تنش وارد کردن به سیستم های فتوسنتزی پس از انتقال به محلول کلرید سدیم به میزان ۱۰۰ میلی مولار جلوگیری نموده است.

قندهای محلول

سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات میزان قندهای محلول را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار سالیسیلیک اسید ۵/۰ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۵). تحقیقات نشان داده است بروز تحمل به تنش با تغییر در مواد اسمزای درون یاخته همراه است که تیمار با سالیسیلیک اسید با تحریک هیدرولیز قندهای نامحلول یا پروتئین ها نقش تنظیم اسمزی را برای یاخته ایفا می کند (۱۲). بنابراین با افزایش قندهای محلول تحمل به سرما نیز باید افزایش یابد ضمناً همین تیمارها بروز علائم سرمازدگی را کاهش دادند (جدول ۱). باغبانها و همکاران (۳) نیز گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید ۵/۰ میلی مولار در دانهال های لیمو در تنش یخزدگی توانست به صورت معنی داری میزان قندهای محلول را افزایش دهد.

منابع مورد استفاده

1. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 24: 1-15.
2. Ananieva, E. A., V. S. Alexieva and L. P. Popova. 2002. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. *Journal of Plant Physiology* 159: 685-693.
3. Baghbanha, M., R. Fotohi Ghazvini, A. Hatamzade and M. Heidari. 2005. Effect of salicylic acid on freezing tolerance of mexican lime seedling (*Citrus aurantifolia*). *Iranian Journal of Horticulture Science and Technology* 8: 185-198. (In Farsi).
4. Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant*

- and Soil 39: 205-207.
5. Ding, C. K., C. Y. Wang, K. C. Gross and D. L. Smith. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Journal of Plant Science* 161: 1153-1159.
 6. Ding, C. K., C. Y. Wang, K. C. Gross and D. L. Smith. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214: 895-901.
 7. Dubios, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Journal of Analytical Chemistry* 28: 350-356.
 8. Jackman, R. L., R. Y. Yada, A. Marangoni, K. L. Parkin and D. W. Stanley. 1988. Chilling Injury. A review of quality aspects. *Journal of Food Quality* 11: 253-278.
 9. Janda, T., G. Szalai, I. Tari and E. Pa'ldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effect of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* 208: 175-180.
 10. Janda, T., G. Szalai, Z. S. Antunovics, E. Horvath and E. Pa'ldi. 2000. Effect of benzoic acid and aspirin on chilling tolerance and photosynthesis in young maize plants. *Maydica* 45: 29-33.
 11. Kang, H. M. and M. E. Saltveit. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Journal of Plant Physiology* 115: 571-576.
 12. Kafi, M. and A. Mahdavi Damghani. 2002. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants (Translated). Published by Ferdowsi University Mashhad. Mashhad.
 13. Koc, E., C. Islek and A. S. Ustun. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Journal of Science* 23 :1-6.
 14. Korkmaz, A., M. Uzunlu and A. R. Demirkiran. 2007. Acetyl salicylic acid alleviates chilling-induced damage in muskmelon plants. *Candaian Journal of Plant Science* 87: 581-585.
 15. Lee, T. M., H. S. Lur, Y. H. Lin and C. Chu. 1996. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate-induced chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Cell and Environment* 19: 65-74.
 16. Mangrich, M. E. 2000. Effects of abiotic shocks on the induction of chilling tolerance in seedling. PhD.Thesis, Graduate Division. California State University.
 17. Martinez, J., S. Lutts, A. Schanck, M. Bajji and J. Kinet. 2004. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub (*Atriplex halimus* L.). *Journal of Plant Physiology* 161: 1041-1051.
 18. Mora-Herrera, M. E., H. Lopez-Delgado, A. Castillo-Morales and C. H. Foyer. 2005. Salicylic acid and H₂O₂ function by independent pathways in the induction of freezing tolerance in potato. *Journal of Plant Physiology* 125: 430-440.
 19. Oliveira, G. and A. Penuelas. 2000. Comparative Photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. *Acta Oecologica* 21: 97-107.
 20. Percival, G. and A. Henderson. 2003. An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. *Arboriculture* 24: 19-27.
 21. Rhodes, D., P. E. Verslues and R. E. Sharp. 1999. "Role of aminoacids in abiotic stress resistance, In: Plant Aminoacids Biochemistry and Biotechnology, Sing", BK. Marcel Dekker, Newyork.
 22. Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
 23. Senaratna, T., D. Merritt, K. Dixon, E. Bunn, D. Touchell and K. Sivasithamparam .2003. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants. *Plant Growth Regulation* 39: 77-81.
 24. Singh, B. and K. Usha. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedling under water stress. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141.
 25. Tari, I., J. Csiszar, G. Szalai, F. Horvath, A. Pecsaradi, G. Kiss, A. Szepesi, M. Szabo and L. Erdei. 2002. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pretreatment. *Acta Biology Szegediensis* .46: 55-56.
 26. Tsonev, T. D., G. N. Lazova, Z. G. Stoinova and L. P. Popova. 1998. A possible role for jasmonic acid in adaptation of barley seedlings to salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 17: 153-159.
 27. Yadegari, L. Z., R. Heidari and J. Carapetian. 2007. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Journal of Biological Sciences* 7: 1436-1141.
 28. Yang, J. H., G. Yuan, L. Y. Man, Q. X. Hua and Z. M. Fang. 2008. Salicylic acid-induced enhancement of cold tolerance through activation of antioxidative capacity in watermelon. *Scientia Horticulturae* 118: 200-205.
 29. Yoon, J. Y., M. Hamayun, S. K. Lee and I. J. Lee. 2009. Methyl jasmonate alleviated salinity stress in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology* 12: 63-68.