

## اثر متیل جاسمونات در افزایش تحمل به سرمایزدگی گیاهچه‌های خیار (*Cucumis sativus L.*)

فروغ صیدپور<sup>۱</sup> و محمد سیاری<sup>۲\*</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۲۹)

### چکیده

گیاه خیار محصول نصل گرم بوده و در دماهای پایین دچار سرمایزدگی می‌شود. در سال‌های اخیر از جاسمونات‌ها جهت کاهش سرمایزدگی در گیاهان بهره گرفته شده است. لذا در مطالعه حاضر، اثر متیل جاسمونات در غلظت ۰،۰/۰۵، ۰،۰/۱۵ میلی‌مولا را دو روش کاربرد خیساندن بذری و محلول‌پاشی برگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای متیل جاسمونات سبب کاهش درصد سرمایزدگی، نشت یونی، محتوای مالون دی‌آلدهید و مقدار رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن شده و شاخص‌های رشدی، میزان پرولین، میزان کلروفیل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را به طور معنی‌داری افزایش دادند. هم‌چنین کاربرد بذری متیل جاسمونات در مقایسه با کاربرد برگی مؤثرتر بوده است. بالاترین مقدار تحمل به سرمایزدگی در غلظت ۰،۰/۱۵ میلی‌مولا متیل جاسمونات و در هر دو روش کاربرد مشاهده شد که دارای کمترین میزان شاخص سرمایزدگی (۱/۶۷)، محتوای مالون دی‌آلدهید (۱۱/۰ نانومول بر گرم وزن تر)، رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن (۲۲/۰ نانومول بر گرم وزن تر) و نشت یونی (۳۲/۸۷ درصد) بودند. براساس نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان بیان کرد که تیمار متیل جاسمونات می‌تواند به طور مؤثری سبب افزایش مقاومت به تنش سرمای گیاهچه‌های خیار در مراحل اولیه رشد شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، شاخص سرمایزدگی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای مالون دی‌آلدهید، نشت یونی

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم باگبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲. استادیار، گروه علوم باگبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یوپلی سینا، همدان

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

## مقدمه

در بسیاری از موارد مشابه با اسید آبسیزیک عمل نموده و باعث کاهش خسارت سرمازدگی در گیاهان می‌شود (۳۱ و ۳۳). در آبیدوپسیس، تیمار برگی با متیل جاسمونات خمن تنظیم واکنش گیاهان به تنش سرما، به طور معنی‌داری باعث افزایش مقاومت به سرما شده است (۱۶). در پژوهشی تحمل به سرما در دانه‌الهای برنج بعد از تیمار با متیل جاسمونات افزایش یافت که ممکن است به دلیل تجمع پوترسین در نتیجه کاربرد متیل جاسمونات باشد (۲۰). متیل جاسمونات با محافظت از ساختار میتوکندری و کلروپلاست صدمه سرمایی را کاهش داده و افزایش مقاومت به تنش سرمایی ایجاد می‌کند (۱۴ و ۲۵).

متیل جاسمونات باعث افزایش مقاومت به سرمای دانه‌الهای فلفل تحت تنش سرما شده و گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد مقاومت به سرمای بیشتری داشتند (۱۳ و ۱۷).

با توجه به اینکه خیار در مقابل سرما حساس بوده و نکش آن بایستی در مناطقی با آب و هوای نسبتاً گرم صورت گیرد و چنانچه کشت آن در اوایل فصل رشد در هوای آزاد صورت بگیرد، به دلیل نوسانات دمایی و نزول دما به زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد گیاهچه‌ها دچار خسارت سرمازدگی می‌شوند و با لحاظ این موضوع که یکی از محصولات اصلی مورد کاشت در استان ایلام گیاه خیار می‌باشد و نیز زمان کاشت در منطقه به گونه‌ای است که در اوایل فصل دارای نوسان دمایی می‌باشد این پژوهش به منظور بررسی اثر کاربرد متیل جاسمونات بر مقاومت به سرمای گیاهچه‌های خیار انجام شد.

## مواد و روش‌ها

آزمایش در سال ۱۳۹۱ بر روی رقم مزرعه‌ای "سوپر دامینوس" و به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل متیل جاسمونات در چهار غلظت ۰،۰/۰۵، ۰،۰/۱ و ۰،۰/۱۵ میلی‌مولار و فاکتور دوم روش استفاده از هورمون بود که در برگیرنده خیساندن بذر در محلول و هورمون پاشی روی بوته‌ها تا حد آب چکه بود. پس از اعمال تیمارها گیاهچه‌ها تحت تنش سرمایی (دما ۳ درجه

تنش سرما آسیب فراوانی بر رشد و نمو گیاهان داشته و سبب محدودیت بهره‌وری (کاهش محصول) و پراکنش جغرافیایی می‌شود که دارای اهمیت خاصی است. بسیاری از گیاهان با منشاء گرم‌سیری و نیمه گرم‌سیری، در نتیجه قرار گرفتن در معرض دماهای پایین (غیر یخ‌زدگی) دچار آسیب‌های فیزیولوژیک می‌شوند که سرمازدگی نامیده می‌شود (۷ و ۲۶). اثر اصلی تنش سرما بر غشاء سلولی وارد شده و آب از دست‌دهی سلول را افزایش می‌دهد. به طور کلی اثر سرما به دو صورت ظاهر می‌شود: اثر مستقیم که شامل نکروزه شدن، کاهش رشد و فقدان جوانه‌زنی می‌باشد که در این حالت اثر و پاسخ گیاه سریع است (۱۷ و ۱۹) و اثر غیر مستقیم که بیشتر روی فرآیندهای فیزیولوژیک مانند تنفس، فتوسنتز و سنتز پروتئین‌ها مؤثر است و در این حالت واکنش کند است (۳۲).

جاسمونات‌ها به عنوان هورمون تنش عمل کرده و نقش مهمی در انتقال سیگنال‌های درون سلولی دارند (۹ و ۳۲). متیل جاسمونات باعث فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی گیاه در واکنش به زخم‌های ناشی از حشرات، عوامل بیماری‌زا و تنش‌های محیطی مختلفی از قبیل خشکی، سرما و شوری می‌شوند (۲۸، ۲۴ و ۳۳). کاربرد خارجی متیل جاسمونات صدمات ایجاد شده ناشی از تنش سرما در طول دوره پس از برداشت در میوه‌های تازه برداشت شده و سبزی‌ها را کاهش می‌دهد (۸، ۲۳ و ۳۴).

تیمار میوه‌های گوجه‌فرنگی با متیل سالیسیلات و متیل جاسمونات در مرحله سبز رسیده باعث مقاومت به سرما شده است (۱۱). تیمار با غلط‌های کم متیل جاسمونات از خسارت سرما در تعدادی از میوه‌ها از جمله گریپ‌فروت محافظت می‌کند. کاربرد متیل جاسمونات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میوه‌های لوکوات تحت تنش سرما را افزایش می‌دهد و این افزایش در میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با بهبود تنش سرما در میوه‌های تحت تنش در ارتباط است (۵). این تنظیم کننده رشد

هدايت الکترونیکی اولیه (EC<sub>1</sub>) محلول توسط دستگاه سنجش هدايت الکترونیکی اندازه گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل حمام آب جوش قرار داده شدند و پس از قرار گیری در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت، هدايت الکترونیکی ثانویه (EC<sub>2</sub>) محلول اندازه گیری گردید. درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$EL\% = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه گیری پروولین از روش بیتس و همکاران استفاده شد (۳). بدین ترتیب که ۰/۵ گرم از بافت تازه برگی را با ۱۰ میلی لیتر از سولفو سالیسیلیک اسید ۳ درصد در داخل هاون به خوبی له کرده تا مخلوط یکنواختی به دست آید. پس از سانتریفیوژ محلول در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، ۲ میلی لیتر از رو شناور به همراه ۲ میلی لیتر ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلایسیال مخلوط و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار گرفته و پس از خارج نمودن از حمام آب جوش بالا فاصله جهت توقف واکنش، نمونه ها در یخ گذاشته شدند. سپس جذب محلول در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه گیری محتوی مالون دی آلدئید که بیانگر میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشاء سلولی است با استفاده از روش زانگ و همکاران و با ایجاد اندکی تغییرات انجام شد (۳۵). ابتدا ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگی در ۵ میلی لیتر از تری کلرواستیک اسید ۰/۱٪ هموژنایز شد. پس از سانتریفیوژ، ۱ میلی لیتر از رو شناور به همراه ۴ میلی لیتر از تری کلرو استیک اسید ۰/۵ گرم تیوباریتوريک اسید است مخلوط کرده، ۳۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۹۵ درجه قرار داده و پس از آن در یخ گذاشته شده و در نهایت جذب در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد.

محتوی پراکسید هیدروژن براساس روش ارداد که به تفصیل توسط دینگ و همکاران (۲۰۰۱) تشریح شده است اندازه گیری شد (۱۱). بر این اساس ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ با ۵ میلی لیتر از تری کلرو استیک اسید ۱٪ درصد مخلوط و

سانتی گراد روزی ۶ ساعت) به مدت ۶ روز نگهداری شدند. پس از آن گیاهچه ها دو روز دیگر در شرایط گلخانه نگهداری شدند و شاخص هایی نظیر علائم سرمادگی، میزان کلروفیل، محتوای پروولین، میزان مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن و ظرفیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری گردیدند.

به منظور تعیین میزان علائم ظاهری سرمادگی در گیاهان، تمامی گیاهچه های خیار با توجه به میزان خسارت های قابل رویت (پژمردگی، نکروزه شدن و سوختگی حاشیه برگ ها) بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ طبقه بندی شدند. اعداد به عنوان درجه های سرمادگی انتخاب شده اند که عدد ۵ بیانگر بیشترین آسیب و عدد ۱ بیانگر کمترین آسیب بودند. براساس میزان خسارتی که به گیاهچه ها وارد شده بود درجات مختلف به گیاهان اختصاص یافته و میانگین آسیب ها برای هر تیمار محاسبه گردید (۱۱). برای اندازه گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان از سطح خاک گلدان بریده شده، ریشه ها نیز با شستشو از خاک گلدان جدا و سپس درآون با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و توزین شدند.

برای اندازه گیری میزان کلروفیل از روش لیشتانتلر (۱۹۸۷) استفاده شد (۲۱). ابتدا ۰/۱ گرم بافت برگی تازه را با استفاده از ۵ میلی لیتر از استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به دست آید. پس از سانتریفیوژ محلول در ۴۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای آزمایشگاه، ۳ میلی لیتر از رو شناور برداشته و میزان جذب آن با استفاده از دستگاه اسپیکتو فوتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردیده و میزان کلروفیل با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chlorophyll a (mg/g F.W)} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g F.W)} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})$$

$$\text{Chlorophyll a+b (mg/g F.W)} = 20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})$$

نشت یونی با استفاده از روش لوتس و همکاران اندازه گیری شد (۲۲). از قسمت میانی برگ های جوان و کاملاً توسعه یافته، ۶ تکه با چوب پنبه سوراخ کن برداشته شد. نمونه های برگی در داخل لوله های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه،

**محتوای کلروفیل:** بررسی تأثیر سطوح مختلف متیل جاسمونات بر محتوای کلروفیل گیاهچه‌های خیار نشان داد بیشترین میزان کلروفیل در غلظت ۱۵٪ میلی‌مولار و کمترین میزان آن در غلظت صفر میلی‌مولار متیل جاسمونات به دست آمد. ضمن اینکه روش کاربرد بذری مؤثرتر از کاربرد برگی ظاهر شد (شکل ۲-الف و ب).

یکی از فرآیندهای حساس به کاهش دما در گیاهان، ستر کلروفیل است. اختلال در تولید کلروفیل و از بین رفتن ساختار کلروپلاست‌ها ممکن است سبب کاهش فتوستز در گیاهان شود. با نزول بیشتر دما کل فرآیند کلروفیل‌سازی متوقف شده و رنگ برگ‌ها به زردی می‌گراید که نشان‌دهنده کمبود کلروفیل است (۱۱). در واقع تش شرما و هر نوع تنش غیر زنده محیطی منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست‌ها و سیتوپلاسم شده و در نتیجه غشاء کلروپلاستی و سیتوپلاسمی دچار آسیب می‌شود، اما نتایج این آزمایش نشان داد کاربرد خارجی متیل جاسمونات بر روی گیاهچه‌های خیار باعث افزایش میزان کلروفیل شده است. لذا به نظر می‌رسد متیل جاسمونات از ساختار کلروپلاست در برابر دمایی پایین محافظت کرده و محتوای کلروفیلی گیاه را حفظ می‌کند. با بررسی تأثیر متیل جاسمونات بر روی مقاومت به سرمای گیاهچه‌های فلفل مشخص شد با افزایش غلظت متیل جاسمونات میزان کلروفیل نسبی افزایش پیدا کرد (۲۵).

**وزن خشک ریشه و اندام هوایی:** برخی از اختلالات شناخته شده در نتیجه دمایی پایین در گیاهان شامل کاهش کلروفیل، کاهش انتقال الکترون در فتوستز، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوستزی و هدایت روزنه‌ای و کاهش جذب عناصر غذایی می‌باشد که همه این عوامل نقش مؤثری در کاهش رشد گیاهان در شرایط تنش سرمایزدگی دارند (۱ و ۴). در این مطالعه برخی اثرات مثبت تیمار متیل جاسمونات در افزایش رشد دانه‌الها، وزن خشک ریشه و اندام هوایی در شرایط تنش سرمایزدگی

کاملاً هم زده شد. در این زمان باید هاون در داخل یخ قرار داشته باشد. مخلوط حاصل هموزن شد و در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از رو شناور به نیم میلی‌لیتر از بافر پتابسیم فسفات (pH = ۷) و یک میلی‌لیتر یدور پتابسیم ۱ مولار اضافه شد. جذب محلول حاصل در ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد شده توسط ماده ۲-۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) و بی‌رنگ کردن آن صورت پذیرفت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۷):

$$\%AA = \left[ 1 - \frac{A517(\text{Sample})}{A517(\text{Control})} \right] \times 100 \quad (2)$$

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و MSTAT-C و رسم نمودارها هم توسط نرم‌افزار اکسل انجام شده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

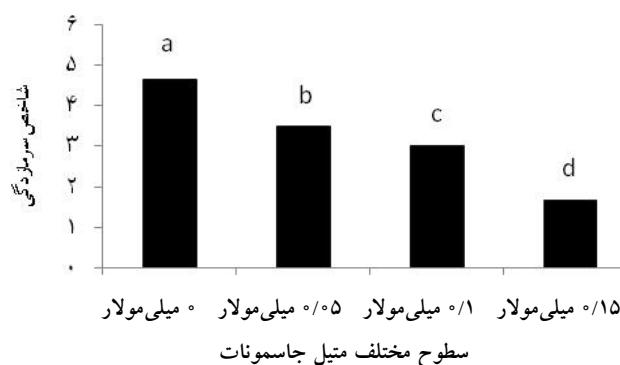
## نتایج و بحث

علائم ظاهری سرمایزدگی که روی برگ‌ها ظاهر شد در اثر کاربرد متیل جاسمونات کاهش یافت. این نتیجه می‌تواند بیان کننده بهبود مقاومت به سرمایزدگی در اثر کاربرد متیل جاسمونات باشد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیشترین علائم ظاهری سرمایزدگی مربوط به شاهد و کمترین علائم ظاهری سرمایزدگی مربوط به تیمار ۰/۱۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات بود که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱). سایر تیمارها نیز به طور معنی‌داری علائم ظاهری سرمایزدگی را کاهش داده‌اند. کاربرد متیل جاسمونات عالیم تنش سرمایزدگی را در گیاه گوجه‌فرنگی و هم‌چنین میوه‌های گوجه‌فرنگی کاهش داد (۱۰ و ۲۷). در تعدادی از گزارش‌ها نیز کاربرد متیل جاسمونات باعث تحفیض یا از بین رفتن علائم ناشی از تنش سرما در برخی از میوه‌ها از جمله آلبالو، آواکادو، گواوا و انبه شده است (۲۴ و ۳۴).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر کاربرد متیل جاسمونات بر روی برخی صفات گیاهچه‌های خیار رقم سوپر دامینوس تحت تنش سرما

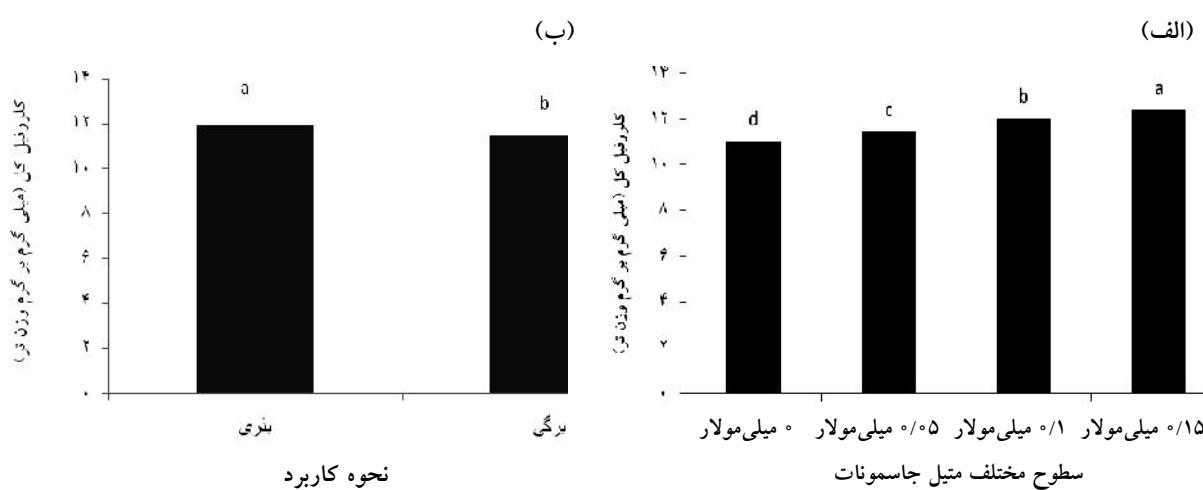
منابع تغییرات	درجه آزادی	شاخص سرمادگی	وزن خشک شاخصاره	وزن خشک ریشه	کلروفیل کل
بلوک	۲	۰/۵۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۱ <sup>ns</sup>
روش کاربرد	۱	۰/۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۱**	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱/۲**
غلظت	۳	۱۰/۰۵**	۰/۰۳**	۰/۰۱**	۲/۱۱**
روش کاربرد × غلظت	۳	۰/۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۱۳ <sup>ns</sup>
خطای آزمایشی	۱۴	۰/۳۹	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۷
ضریب تغییرات (%)	۲۰/۴۸	۸/۷۴	۱۶/۶۲	۲/۳	

ns: بدون اثر معنی دار، \* \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد



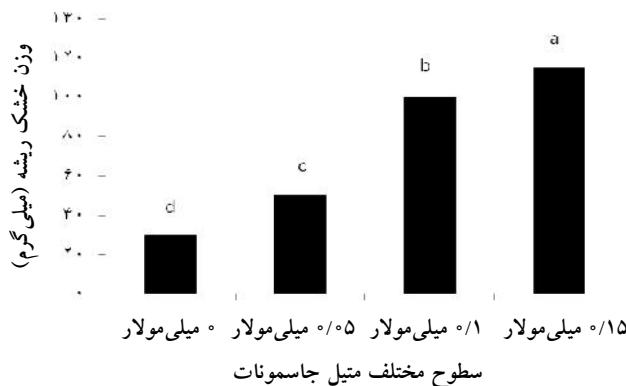
شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر درصد سرمادگی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی.

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

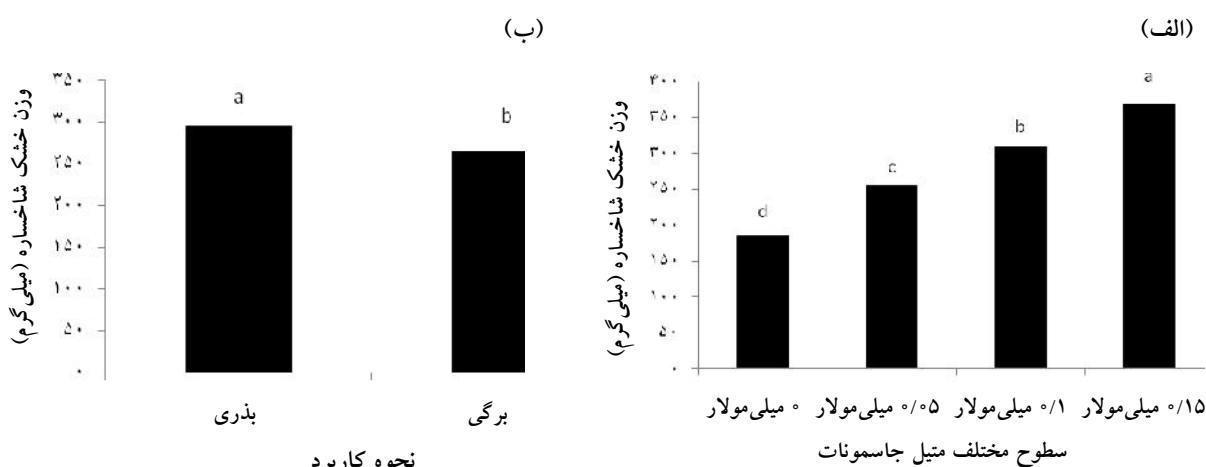


شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف (الف) و روش کاربرد (ب) متیل جاسمونات بر میزان کلروفیل گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی.

ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر وزن خشک گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون آنکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.



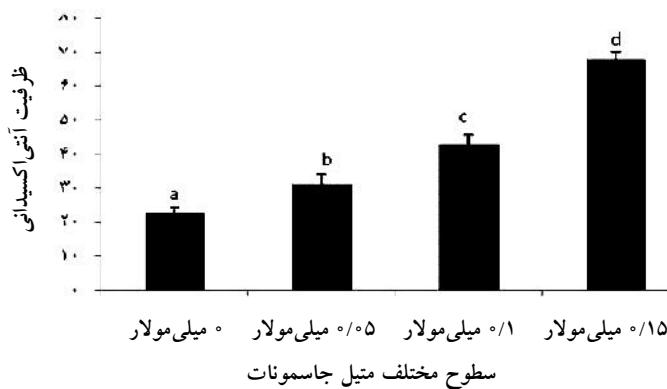
شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف (الف) و روش کاربرد (ب) متیل جاسمونات بر وزن خشک شاخصاره گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون آنکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

به دنبال کاهش رشد ریشه میزان رشد کل اندام گیاهی کاهش می‌یابد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان پراکسید هیدروژن: نتایج نشان داد با افزایش غلظت متیل جاسمونات ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی افزایش و میزان پراکسید هیدروژن کاهش یافت، بر این اساس بیشترین مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بالاترین سطح متیل جاسمونات به‌دست آمد (شکل ۵).

با تغییر خصوصیات غشاء در حین تنش سرمایی تعادل

مشاهده شد (شکل‌های ۳ و ۴-الف و ب). کاهش رشد ریشه در اثر کاهش دما باعث کم شدن ظرفیت جذب آب و مواد معدنی توسط ریشه و به دنبال آن ظهور اثرات ثانویه ناشی از کمبود مواد غذایی و اختلال در رشد گیاه می‌شود. در دمای پایین در انتقال مواد در گیاهان، شکل و مقدار مواد انتقال یافته تغییراتی رخ داده و باعث کاهش رشد ریشه می‌شود (۲). از طرفی در شرایط تنش روزنه قادر به بسته شدن نبوده که آب از دست‌دهی و پژمردگی گیاه را به دنبال خواهد داشت که کاهش رشد ریشه هم مزید بر علت خواهد شد، لذا



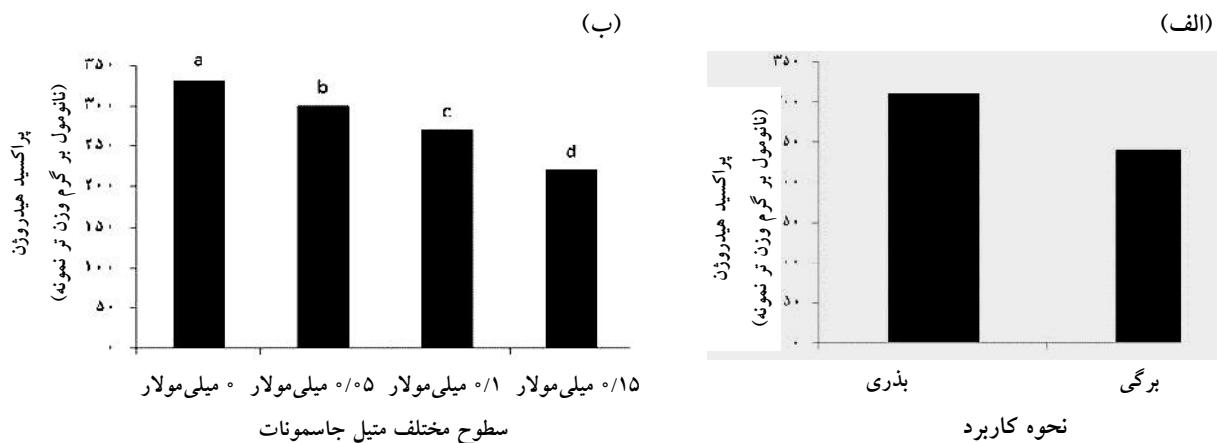
شکل ۵. غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌های که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

(شکل ۶-الف و ب). جاسمونات‌ها در مسیر انتقال سیگنال در گیاهان و فعال کردن سیستم دفاعی گیاهان در برابر بسیاری از فاکتورهای زیستی و غیر زیستی نقش مهمی بر عهده دارند و شاید از این طریق در مقاوم‌سازی گیاهان به تنش‌های غیر زیستی مهم به شمار می‌آیند (۸). بر این اساس به‌نظر مری رسد متیل جاسمونات با فعال کردن سیستم آنتی اکسیدانی به عنوان یک مکانیسم دفاعی در مقابل تنش سرمایی مؤثر باشد.

نشست یونی و محتوای مالون دی‌آلدئید: تیمار متیل جاسمونات بر کاهش میزان نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدئید مؤثر بود (جدول ۲). نشت الکتروولیت‌ها به عنوان یک شاخص نشان‌دهنده وسعت آسیب غشاء سلولی 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 غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات سبب کاهش این صفت نسبت به شاهد شده است (شکل ۷).

در اثر تنش سرما میزان رادیکال‌های واکنشگر اکسیژن افزایش می‌یابد که این رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های بالای سلولی سمی بوده و باعث پراکسیده شدن لپیدهای غیر اشباع غشای سلولی می‌شوند که نتیجه آن ظهور صدمات ناشی از تنش سرما در گیاهان می‌باشد. آلدیدها که از جمله محصولات

متابولیسمی به‌هم خورده و با افزایش متابولیت‌های سمی و افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن آسیب‌های ثانوی در گیاهان ایجاد می‌شود. علت اصلی تشکیل رادیکال‌های آزاد در دمای پایین عدم تعادل بین دریافت نور و فتوستتر می‌باشد (۱۹). انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن محل‌های اثر مختلفی مانند لپیدهای رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئوئیک در سلول‌های گیاهی دارند که با تخرب آنها آسیب جدی به سلول و در نهایت به گیاه وارد می‌شود (۷). در تنش سرمایی ظرفیت جاروکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط آنتی اکسیدان‌ها به مراتب کمتر از غلظت گونه‌های واکنشگر اکسیژن بوده و در واقع ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی گیاه به‌هم خورده و میزان پراکسید هیدروژن و سوپر اکسید افزایش پیدا می‌کند (۱۱). رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسید هیدروژن در گیاهان دارای نقش دوگانه هستند. در غلظت کم به عنوان مولکول انتقال دهنده سیگنال در سیستم دفاعی در برابر تنش شناخته شده‌اند (۳۶) و حتی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سبب بهبود ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی گیاه می‌شود که در غلظت‌های بالا برای گیاه مضر بوده تا جایی که سیستم آنتی اکسیدانی اقدام به زدودن رادیکال‌های اضافه می‌کند (۱۶). در آزمایش انجام شده نیز کمترین میزان پراکسید هیدروژن مربوط به غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات و روش کاربرد برگی بود



شکل ۶. اثر روش کاربرد (الف) و غلظت‌های مختلف (ب) متیل جاسمونات بر میزان پراکسید هیدروژن گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون آنکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس برخی صفات مورد بررسی در گیاهچه‌های خیار رقم سوپر دامینوس تحت تنش سرمایی در اثر کاربرد متیل جاسمونات با دو روش کاربرد برگی و بذری

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروولین	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	پراکسید هیدروژن	نشت یونی	مالون دی‌آلدئید	بلوک
روش کاربرد	۲	۱/۱۴ ns	۱۲/۷۳ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۱۳/۱۷ ns	۰/۰۰۸ ns	روش کاربرد
غلاظت متیل جاسمونات	۱	۱۱۷/۹۴**	۰/۰۹۷ ns	۰/۰۱۵**	۴۰/۶**	۰/۰۳**	غلاظت متیل جاسمونات
روش کاربرد × غلاظت	۳	۱۱۱/۲۹*	۱۹۱۵/۸۴**	۰/۰۱۴**	۵۹۸/۶۲**	۰/۴۵**	روش کاربرد × غلاظت
خطای آزمایش	۳	۱۱/۳۱ *	۳۸/۴۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۲۴/۸**	۰/۰۲۷**	خطای آزمایش
ضریب تغییرات (%)	۱۴	۳/۰۷	۱۲/۴۷	۰/۰۰۰۱	۳/۲۴	۰/۰۰۲	ضریب تغییرات (%)
بدون اثر معنی دار، *، **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد		۵/۸۶	۱۱/۷۹	۴/۴۶	۴/۱۴	۱۳/۸	بدون اثر معنی دار، *، **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

ns: بدون اثر معنی دار، \*، \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

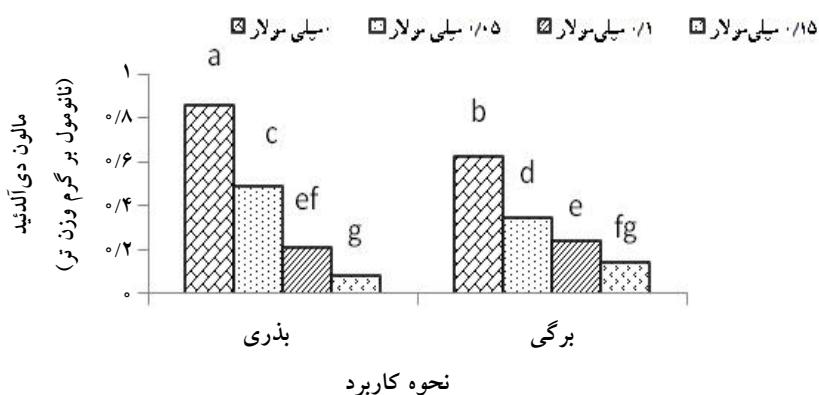
به وجود آورد.

عمده پراکسیداسیون لیپیدها هستند به عنوان شاخص این واکنش‌ها اندازه‌گیری می‌شوند. از مهم‌ترین این آلدئیدها مالون دی‌آلدئید می‌باشد (۳۰). کمترین میزان تجمع مالون دی‌آلدئید در غلاظت ۱/۱۵ میلی مولار متیل جاسمونات مشاهده شد (شکل ۸) که نشان‌دهنده کاهش آسیب ایجاد شده به گیاه خیار در شرایط تنش سرمایی به واسطه تیمار متیل جاسمونات می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد تیمار متیل جاسمونات در این آزمایش توانسته است با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد به نحو مؤثرتری رادیکال‌های آزاد و مولکول‌های پراکسید هیدروژن را خشی کرده و پایداری غشاء پلاسمایی را

پروولین: نتایج نشان داد همه تیمارهای هورمونی متیل جاسمونات میزان پروولین را به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دادند. بیشترین میزان پروولین در غلاظت ۰/۱۵ میلی مولار متیل جاسمونات به دست آمد و به طور مؤثری میزان صدمه تنش کاهش یافت. روش محلول‌پاشی برگی نسبت به روش خیساندن بذور اثر بیشتری بر میزان پروولین داشت (شکل ۹). پروولین به عنوان یک اسید آمینه خاص در شرایط تنش نقش تنظیم کننده‌گی پتانسیل اسمزی را داشته و سبب پایداری



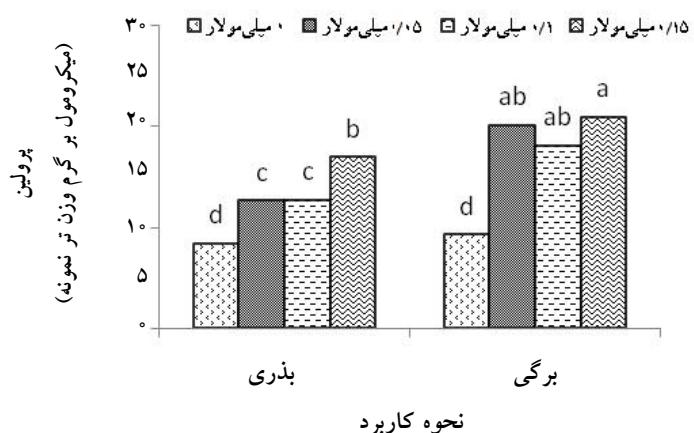
شکل ۷. اثر متقابل روش کاربرد و غلظت متیل جاسمونات بر نشت یونی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.



شکل ۸ اثر متقابل روش کاربرد و غلظت متیل جاسمونات بر محتوای مalon دی‌آلدئید گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

اسمزی در برابر تنش‌های محیطی مطرح است (۶). با توجه به اینکه میزان پروولین با کاربرد متیل جاسمونات افزایش یافته و از سوی دیگر تجمع پروولین در گیاهان باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌شود (۲۹). لذا تجمع اسید آمینه پروولین در اثر کاربرد متیل جاسمونات بر روی گیاهچه‌های خیار می‌تواند به عنوان سازوکاری مؤثر جهت کاهش غلظت رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط تنش سرمایی مطرح باشد. کاربرد متیل جاسمونات تنش سرمایی را در دانهال‌های گیاهان مختلف بهبود می‌دهد. به عنوان مثال تحمل سرما در دانهال‌های برنج بعد از تیمار با متیل جاسمونات افزایش یافت (۲۰). جاسمونات‌ها ممکن

ساختارهای سلولی (از جمله غشاء‌ها سلولی و پروتئین‌ها)، از بین بردن رادیکال‌های آزاد و خنثی کردن پتانسیل اکسیداسیون احیاء سلولی تحت شرایط تنش می‌شود (۱۵). گیاهان سازگار به سرما محتوای پروولین بالاتری نسبت به گیاهان غیر سازگار داشته‌اند و این گیاهان وقتی در معرض سرمادگی قرار گرفتند سریع‌تر بهبود یافته‌اند. کوک و همکاران نشان دادند محتوای پروولین در ساقه و برگ گیاهان فلفل نیز به وسیله تنش سرما افزایش یافته است و همبستگی مثبتی بین تحمل به بخزدگی و افزایش غلظت پروولین در ساقه و برگ فلفل پس از قرار گرفتن در دمای پایین مشاهده شده است (۱۷). پروولین به عنوان ماده محافظت کننده غیر سمتی جهت تنظیم



شکل ۹. اثر متقابل کاربرد و غلطت متبیل جاسمونات بر محتوای پرولین گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانک، در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

سرمازدگی افزایش یافته است. آثار مثبت کاربرد متیل جاسمونات همراه با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش نشت یونی، محتوای مالون دی آلدید و پراکسید هیدروژن بود. با توجه به نتایج حاصل از انجام آزمایش می توان بیان کرد که متیل جاسمونات با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و تحریک تولید برخی آنزیم ها در گیاهچه ها باعث می شود صدمه تنفس در گیاه کاهش یابد. هر سه غلاظت به کار رفته در این تحقیق مؤثر بود، ولیکن با افزایش غلاظت، اثر بخشی آن نیز افزایش یافت به طوری که بالاترین اثر در غلاظت ۰/۱۵ میلی مولار با روش کاربرد بذری مشاهده شد.

است با تأثیری که بر تنظیم میزان پلی آمین ها می گذارند از  
صدمات ناشی از تنش سرمایی جلوگیری کنند که اثر  
محافظت کنندگی آنها بیشتر از طریق حفظ ساختار غشای  
سلولی و جلوگیری از اثر رادیکال های آزاد اعمال می گردد

نتیجہ گیری

براساس نتایج به دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که با کاربرد مตیل جسمونات، بهویژه با روش بدزی، از بروز اثر سوء سرمای پارامترهای رشدی کاسته شده و مقاومت به

منابع مورد استفاده

1. Akbari, S., M. Sayyary and F. Ghanbari. 2015. Increasing chilling resistance of cucumber seedlings by some plant growth regulators. *Journal of Crop Production and Processing* 5: 25-36. (In Farsi).
  2. Ashraf, M. and M. A. Foolad. 2007. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine betaine and proline. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
  3. Bates, 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.
  4. 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.
  5. Cao, S., Y. Zheng, K. Wang, P. Jin and H. Rui. 2009. Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. *Food Chemistry* 115:1458-1463.
  6. Cayley, S., B. A. Lewis and M. T. Record. 1992. Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology* 174: 1586-1595.
  7. Chinnasamy, V., J. Zhu and J. K. Zhu. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Science* 12: 18-25.

- Science 12: 444-451.
8. Claus Wasternack, C. and B. Hause. 2002. Jasmonates and octadecanoids: Signals in plant stress responses and development. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 72: 165-221.
  9. Creelman, R. and G. E. Mullet. 1997. Biosynthesis and action of Jasmonate in plant. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 355-381.
  10. Ding, C. K. and C. Wang. 2003. The dual effects of methyl salicylate on ripening and expression of ethylene biosynthetic genes in tomato fruit. *Plant Science* 164: 589-596.
  11. Ding, C. K., K. Chachin, Y. Uda and Y. Imahori. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock protein genes in tomatoes by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Plant Science* 161: 1153-1159.
  12. Erdal, S. 2012. Androsterone-induced molecular and physiological changes in maize seedlings in response to chilling stress. *Plant Physiology and Biology* 57: 1-7.
  13. Fung, R. W., C. Y. Wang, D. L. Smith, K. C. Gross and M. Tian. 2004. MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidize and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science* 166: 711-719.
  14. Gonzalez-Aguilar, G., M. Tiznado-Hernandez and C. Y. Wang. 2006. Physiological and biochemical responses of horticultural products to methyl jasmonate. *Stewart Postharvest Review* 2: 1-9.
  15. Hayat, S., S. A. Hasan, Q. Fariduddin and A. Ahmad. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions* 3: 297-304.
  16. Hu, Y., L. Jiang, F. Wang and D. Yu. 2013. Jasmonate regulates the inducer of CBF expression-C-repeat binding factor/DRE binding factor1 cascade and freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* 25: 2907-2924.
  17. 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. *Gazi University Journal of Science* 23: 1-6.
  18. Korkmaz, A., Y. Korkmaz and A. R. Demirkiran. 2010. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedling by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. *Environmental and Experimental Botany* 67: 495-501.
  19. Lee, D. and C. B. Lee. 2000. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber in gel enzyme activity assays. *Plant Science* 159:75-87.
  20. Lee, T. M., H. S. Lur, Y. H. Lin and C. Chu. 1996. Physiological and biochemical changes related methyl jasmonate-induced chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Cell and Environment* 19: 65-74.
  21. Lichtenhaller, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomemranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
  22. Lutts, S., J. M. Kinet and J. Bouharmont. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.
  23. Meir, S., S. Philison-Hadas, S. Lurie, S. Droby, M. Akerman, and G. Zauberman. 1996. Reduction chilling injury in stored avocado, grape fruit and bell pepper by methyl jasmonate. *Canadian Journal of Botany* 74: 807-847.
  24. Meir, S., S. Droby, H. Davidson, S. L. Alsevia, L. Cohen and B. Horev. 2006. Suppression of Botrytis rot in cut rose flowers by postharvest application of methyl jasmonate. *Postharvest Biology and Technology* 13: 235-243.
  25. 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. In: Proceeding of the 7<sup>th</sup> Iranian Horticultural Sciences Congress. Isfahan, Iran. pp. 171-176. (In Farsi).
  26. Rab, A. and M. E. Saltveit. 1996. Differential chilling sensitivity in cucumber seedling. *Plant Physiology* 96: 375-382.
  27. Raymond, W., M. Funga, Y. Chien, L. David, C. Kenneth and Y. Taob. 2006. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes. *Journal of Plant Physiology* 163: 1049-1060.
  28. Seo, S., H. Sano and D. Ohashi. 1997. Jasmonic acid in wound signal transduction pathway. *Physiologiae Plantarum* 101: 740-745.
  29. Smirnoff, N. 2005. Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions in Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.
  30. Stevens, J., T. Senaratna and K. Sivasithamparam. 2006. Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): Associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Journal of Plant Growth Regulation* 49: 77-83.
  31. Wang, C. Y. and J. G. Buta. 1994. Methyl jasmonate reduces chilling injury in *Cucurbita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. *Environmental and Experimental Botany* 34: 427-432.
  32. Wasternack, C. 2007. Jasmonates: An Update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany* 100: 681-697.
  33. Wasternack, C. and B. Hause. 2002. Jasmonates and octadecanoids: signals in plant stress responses and development. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 72: 165–221.

34. Yao, H. and S. Tian. 2005. Effects of pre and post harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry in fruit strong. *Postharvest Biology and Technology* 35: 254-262.
35. Zhang, J. Z., R. A. Creelman and J. K. Zhu. 2004. From laboratory to field Using information from Arabidopsis to engineer salt, cold and drought tolerance in crops. *Plant Physiology* 135: 615-621.
36. Zhou, J., J. Wang, K. Shi, X. J. Xia, Y. H. Zhou and J. Q. Yu. 2012. Hydrogen peroxide is involved in the cold acclimation-induced chilling tolerance of tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 60: 141-149.

## Impact of Methyl Jasmonate on Enhancing Chilling Tolerance of Cucumber (*Cucumis sativus L.*) Seedlings

F. Saydpour<sup>1</sup> and M. Sayyari<sup>2\*</sup>

(Received: October 7-2014; Accepted: January 19-2016)

### Abstract

Cucumber is a warm season crop that suffers from chilling injury at temperatures below 10°C. In recent years, jasmonates have been used for reduction of chilling injuries in plants. An experiment was, therefore, conducted to test whether methyl jasmonate (MeJA) application at various concentrations (0, 0.05, 0.1 and 0.15 mM) through seed soaking or foliar spray would protect cucumber seedlings, subjected to chilling stress. Results showed that MeJA application decreased chilling index, ion leakage, malondialdehyde content and hydrogen peroxide free radical and increased growth parameters, proline contents, chlorophylls contents and antioxidant activity. Although, seed soaking method provided better protection compared to foliar spray method, the highest cold tolerance was obtained with 0.15mM MeJA application in both application methods that caused low level of chilling index (1.67), malondialdehyde content (0.11 nm g<sup>-1</sup> FW), hydrogen peroxide free radical (0.22 nm g<sup>-1</sup> FW) and ion leakage (32.87%). In general, it may be concluded that MeJA could be used effectively to protect cucumber seedling from damaging effects of chilling stress at the early stages of growth.

**Keywords:** Hydrogen peroxide, Chilling Index, Antioxidant Activity, Malondialdehyde Content, Ion Leakage

1. Former MSc. Student, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.  
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran.

\* Corresponding Author, Email: m.sayyari@basu.ac.ir