

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

فروغ صیدپورا^۱ و محمد سیاری^{۲*}

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

چکیده

گیاه خیار محصول فصل گرم بوده و در دماهای پایین دچار سرمازدگی می‌شود. در سال‌های اخیر از جاسمونات‌ها جهت کاهش سرمازدگی در گیاهان بهره گرفته شده است. لذا در مطالعه حاضر، اثر متیل جاسمونات در ۴ غلظت ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ میلی‌مولار با دو روش کاربرد خیساندن بذری و محلول‌پاشی برگ‌گی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای متیل جاسمونات سبب کاهش درصد سرمازدگی، نشت یونی، محتوای مالون دی‌آلدئید و مقدار رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن شده و شاخص‌های رشدی، میزان پرولین، میزان کلروفیل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. هم‌چنین کاربرد بذری متیل جاسمونات در مقایسه با کاربرد برگ‌گی مؤثرتر بوده است. بالاترین مقدار تحمل به سرمازدگی در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات و در هر دو روش کاربرد مشاهده شد که دارای کمترین میزان شاخص سرمازدگی (۱/۶۷)، محتوای مالون دی‌آلدئید (۰/۱۱ نانومول بر گرم وزن تر)، رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن (۰/۲۲ 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 به‌طور مؤثری سبب افزایش مقاومت به تنش سرمای گیاهچه‌های خیار در مراحل اولیه رشد شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، شاخص سرمازدگی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای مالون دی‌آلدئید، نشت یونی

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

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

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

مقدمه

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 نیمه‌گرمسیری، در نتیجه قرار گرفتن در معرض دماهای پایین (غیر یخ‌زدگی) دچار آسیب‌های فیزیولوژیک می‌شوند که سرمازدگی نامیده می‌شود (۷، ۱۲ و ۲۶). اثر اصلی تنش سرما بر غشاء سلولی وارد شده و آب از دست‌دهی سلول را افزایش می‌دهد. به‌طور 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، ۱۸ 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 به‌عنوان 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 (۲۴، ۲۸ 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، ۱۴، 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 غلظت‌های 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 تنظیم‌کننده رشد

در بسیاری از موارد مشابه با اسید آسبیزیک عمل نموده و باعث کاهش خسارت سرمازدگی در گیاهان می‌شود (۳۱ و ۳۳). در آرابیدوپسیس، تیمار برگ‌گی با متیل جاسمونات ضمن تنظیم واکنش گیاهان به تنش سرما، به‌طور معنی‌داری باعث افزایش مقاومت به سرما شده است (۱۶). در پژوهشی تحمل به سرما در دانه‌های 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 دانه‌های 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 کشت 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 به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل متیل جاسمونات در چهار غلظت ۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار و فاکتور دوم روش استفاده از هورمون بود که در برگ‌گیرنده خیساندن بذر در محلول و هورمون‌پاشی روی بوته‌ها تا حد آب چکه بود. پس از اعمال تیمارها گیاهچه‌ها تحت تنش سرمایی (دمای ۳ درجه

هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) محلول توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل حمام آب جوش قرار داده شدند و پس از قرارگیری در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی ثانویه (EC_2) محلول اندازه‌گیری گردید. درصد نشست یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

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

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بی‌تس و همکاران استفاده شد (۳). بدین ترتیب که ۵/۰ گرم از بافت تازه برگ‌ها را با ۱۰ میلی‌لیتر از سولفو سالیسیلیک اسید ۳ درصد در داخل هاون به‌خوبی له کرده تا مخلوط یکنواختی به‌دست آید. پس از سانتریفیوژ محلول در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از رو شناور به‌همراه ۲ میلی‌لیتر ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط و به‌مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار گرفته و پس از خارج نمودن از حمام آب جوش بلافاصله جهت توقف واکنش، نمونه‌ها در یخ گذاشته شدند. سپس جذب محلول در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری محتوی مالون دی‌آلدئید 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 ۲۵/۰ گرم از بافت تازه برگ‌ها در ۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید ۱٪ هموژنایز شد. پس از سانتریفیوژ، ۱ میلی‌لیتر از رو شناور به‌همراه ۴ میلی‌لیتر از تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۵/۰ گرم تیوباربتوریک اسید است مخلوط کرده، ۳۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۹۵ درجه قرار داده و پس از آن در یخ گذاشته شده و در نهایت جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد.

محتوی پراکسید هیدروژن براساس روش اردال که به تفصیل توسط دینگ و همکاران (۲۰۰۱) تشریح شده است اندازه‌گیری شد (۱۱). بر این اساس ۵/۰ گرم از بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرو استیک اسید ۱٪ درصد مخلوط و

سانتی‌گراد روزی ۶ ساعت) به‌مدت ۶ روز نگهداری شدند. پس از آن گیاهچه‌ها دو روز دیگر در شرایط گلخانه نگهداری شدند و شاخص‌هایی نظیر علائم سرمازدگی، میزان کلروفیل، محتوای پرولین، میزان مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری گردیدند.

به‌منظور تعیین میزان علائم ظاهری سرمازدگی در گیاهان، تمامی گیاهچه‌های خیار با توجه به‌میزان خسارت‌های قابل رؤیت (پژمردگی، نکروزه شدن و سوختگی حاشیه برگ‌ها) بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ طبقه‌بندی شدند. اعداد به‌عنوان درجه‌های سرمازدگی انتخاب شده‌اند که عدد ۵ بیانگر بیشترین آسیب و عدد ۱ بیانگر کمترین آسیب بودند. براساس میزان خسارتی که به گیاهچه‌ها وارد شده بود درجات مختلف به گیاهان اختصاص یافته و میانگین آسیب‌ها برای هر تیمار محاسبه گردید (۱۱). برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان از سطح خاک گلدان بریده شده، ریشه‌ها نیز با شستشو از خاک گلدان جدا و سپس در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک و توزین شدند.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از روش لیشتانتر (۱۹۸۷) استفاده شد (۲۱). ابتدا ۱/۰ گرم بافت تازه را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر از استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به‌دست آید. پس از سانتریفیوژ محلول در ۴۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای آزمایشگاه، ۳ میلی‌لیتر از رو شناور برداشته و میزان جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردیده و میزان کلروفیل با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

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

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

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

نشست یونی با استفاده از روش لوتس و همکاران اندازه‌گیری شد (۲۲). از قسمت میانی برگ‌های جوان و کاملاً توسعه‌یافته، ۶ تکه با چوب پنبه سوراخ‌کن برداشته شد. نمونه‌های برگ‌ها در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه،

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

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل با غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد شده توسط ماده ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بی‌رنگ کردن آن صورت پذیرفت و ظرفیت آنتی اکسیدانی 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 سرمازدگی که روی برگ‌ها ظاهر شد در اثر کاربرد متیل جاسمونات کاهش یافت. این نتیجه می‌تواند بیان‌کننده بهبود مقاومت به سرمازدگی در اثر کاربرد متیل جاسمونات باشد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیشترین علائم ظاهری سرمازدگی مربوط به شاهد و کمترین علائم ظاهری سرمازدگی مربوط به تیمار ۰/۱۵ میلی مولار متیل جاسمونات بود که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱). سایر تیمارها نیز به‌طور معنی‌داری علائم ظاهری سرمازدگی را کاهش داده‌اند. کاربرد متیل جاسمونات علائم تنش سرمازدگی را در گیاه گوجه‌فرنگی و هم‌چنین میوه‌های گوجه‌فرنگی کاهش داد (۱۰ و ۲۷). در تعدادی از گزارش‌ها نیز کاربرد متیل جاسمونات باعث تخفیف یا از بین رفتن علائم ناشی از تنش سرما در برخی از میوه‌ها از جمله آلبالو، آوآکادو، گواوا و انبه شده است (۲۴ و ۳۴).

محتوای کلروفیل: بررسی تأثیر سطوح مختلف متیل جاسمونات بر محتوای کلروفیل گیاهچه‌های خیار نشان داد بیشترین میزان کلروفیل در غلظت ۰/۱۵ میلی مولار و کمترین میزان آن در غلظت صفر میلی مولار متیل جاسمونات به‌دست آمد. ضمن اینکه روش کاربرد بذری مؤثرتر از کاربرد برگری ظاهر شد (شکل ۲- الف و ب).

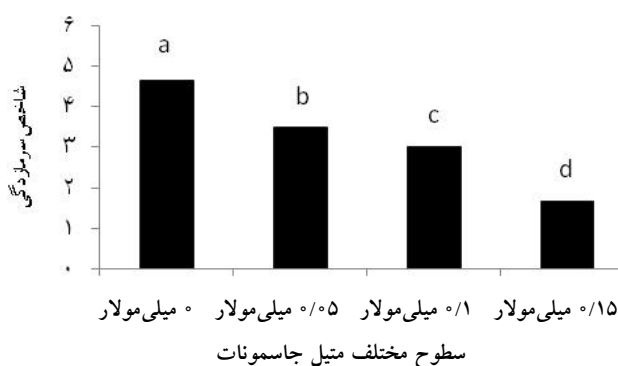
یکی از فرآیندهای حساس به کاهش دما در گیاهان، سنتز کلروفیل است. اختلال در تولید کلروفیل و از بین رفتن ساختار کلروپلاست‌ها ممکن است سبب کاهش فتوسنتز در گیاهان شود. با نزول بیشتر دما کل فرآیند کلروفیل‌سازی متوقف شده و رنگ برگ‌ها به زردی می‌گراید که نشان‌دهنده کمبود کلروفیل است (۱۱). در واقع تنش سرما و هر 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 به‌نظر می‌رسد متیل جاسمونات از ساختار کلروپلاست در برابر دماهای 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 دمای پایین در گیاهان شامل کاهش کلروفیل، کاهش انتقال الکترون در فتوسنتز، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای و کاهش جذب عناصر غذایی می‌باشد که همه این عوامل نقش مؤثری در کاهش رشد گیاهان در شرایط تنش سرمازدگی دارند (۱ و ۴). در این مطالعه برخی اثرات مثبت تیمار متیل جاسمونات در افزایش رشد دانه‌ها، وزن خشک ریشه و اندام هوایی در شرایط تنش سرمازدگی

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

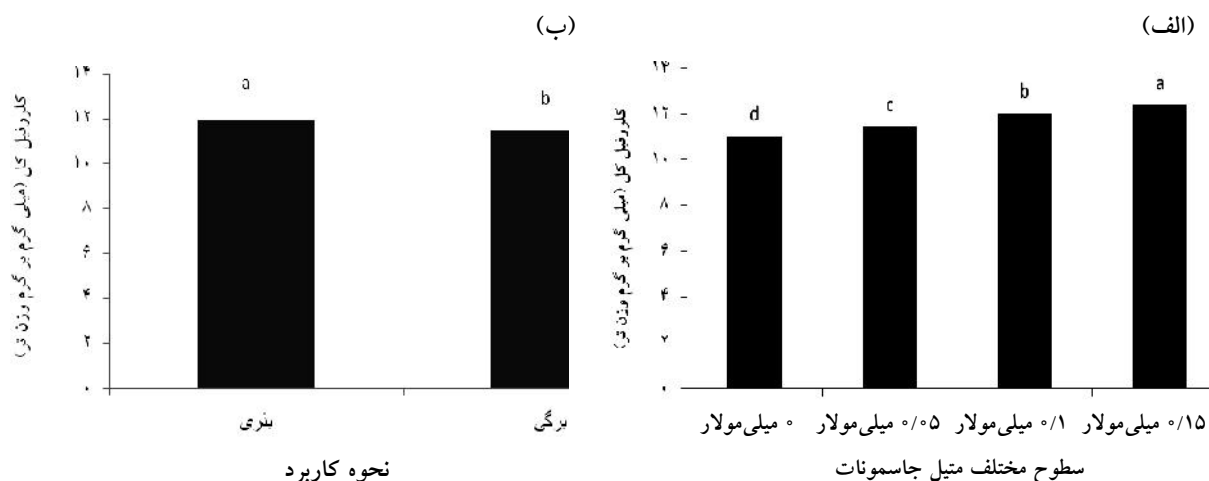
منابع تغییرات	درجه آزادی	شاخص سرمازدگی	وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	کلروفیل کل
بلوک	۲	۰/۵۴ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}
روش کاربرد	۱	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۰۱ ^{**}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۱/۳ ^{**}
غلظت	۳	۱۰/۰۵ ^{**}	۰/۰۳ ^{**}	۰/۰۱ ^{**}	۲/۱۱ ^{**}
روش کاربرد × غلظت	۳	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۱۳۱ ^{ns}
خطای آزمایشی	۱۴	۰/۳۹	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۷
ضریب تغییرات (%)		۲۰/۴۸	۸/۷۴	۱۶/۶۲	۲/۳

ns: بدون اثر معنی‌دار، * **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد



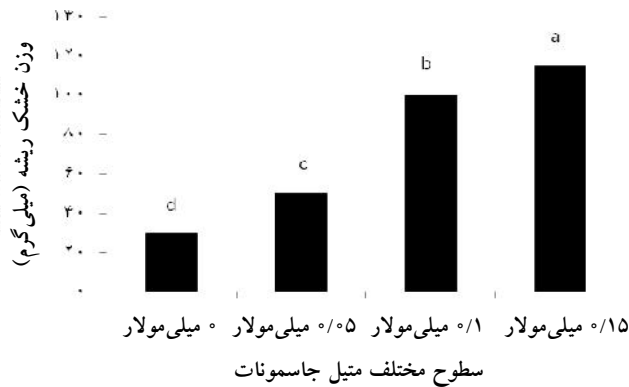
شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر درصد سرمازدگی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی.

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

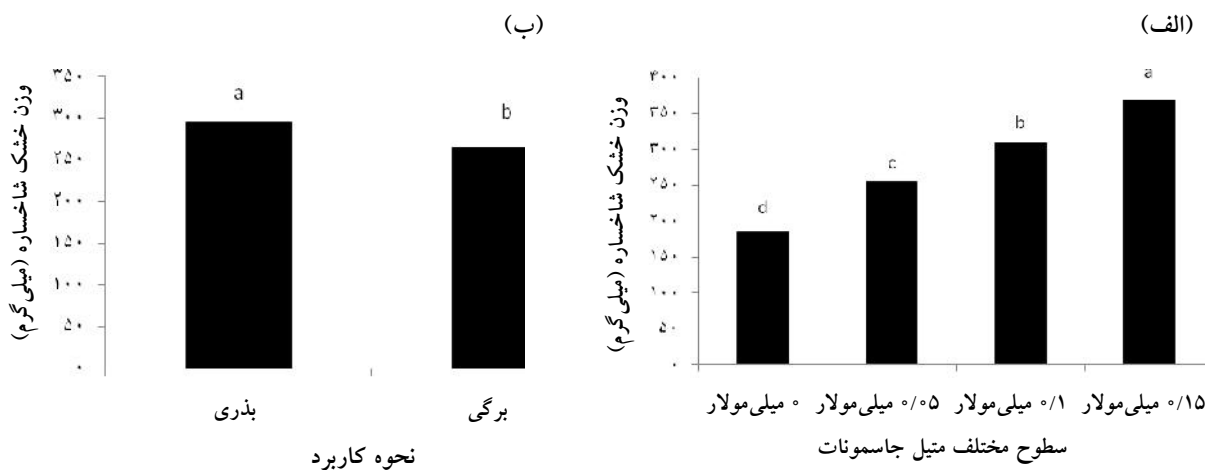


شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف (الف) و روش کاربرد (ب) متیل جاسمونات بر میزان کلروفیل گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی.

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



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



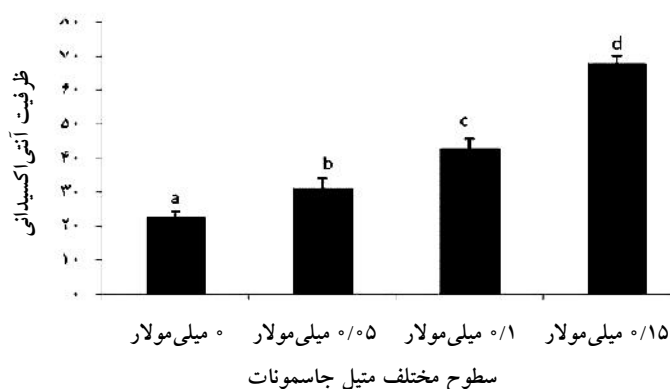
شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف (الف) و روش کاربرد (ب) متیل جاسمونات بر وزن خشک شاخساره گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

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 به دست 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



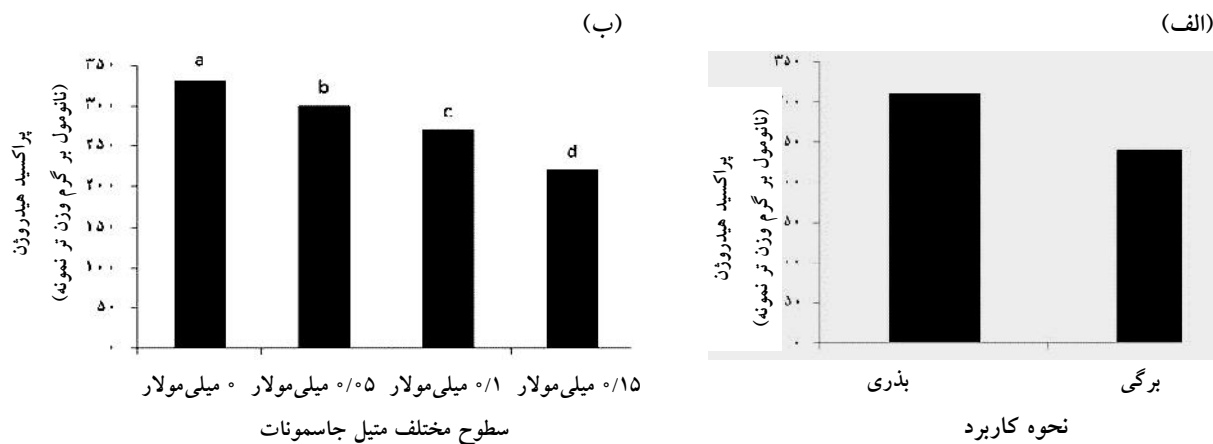
شکل ۵. غلظت های مختلف متیل جاسمونات بر ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌های که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

(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 به‌شمار می‌آیند (۸). بر این اساس به‌نظر می‌رسد متیل جاسمونات با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی در مقابل تنش سرمایی مؤثر باشد.

نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدئید: تیمار متیل جاسمونات بر کاهش میزان نشت یونی و محتوای مالون دی‌آلدئید مؤثر بود (جدول ۲). نشت الکترولیت‌ها به‌عنوان 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 لیپیدهای غیر اشباع غشای سلولی می‌شوند که نتیجه آن ظهور صدمات ناشی از تنش سرما در گیاهان می‌باشد. آلدئیدها 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 فتوسنتز می‌باشد (۱۹). انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن محل‌های اثر مختلفی مانند لیپیدها، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئوتیک در سلول‌های گیاهی دارند که با تخریب آنها آسیب جدی به سلول و در نهایت به گیاه وارد می‌شود (۷). در تنش سرمایی ظرفیت جاروکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط آنتی‌اکسیدان‌ها به مراتب کمتر از غلظت گونه‌های واکنشگر اکسیژن بوده و در واقع ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی 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 به‌عنوان مولکول انتقال دهنده سیگنال در سیستم دفاعی در برابر تنش شناخته شده‌اند (۳۶) و حتی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود که در غلظت‌های بالا برای گیاه مضر بوده تا جایی که سیستم آنتی‌اکسیدانی 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 برگ‌گی 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 دانکن 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 سرما در اثر کاربرد متیل جاسمونات با دو روش کاربرد برگ‌گی و بذری

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	پراکسید هیدروژن	نشست یونی	مالون دی‌آلدئید
بلوک	۲	۱/۱۴ ns	۱۲/۷۳ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۱۳/۱۷ ns	۰/۰۰۸ ns
روش کاربرد	۱	۱۱۷/۹۴**	۰/۰۹۷ ns	۰/۰۱۵**	۴۰/۶**	۰/۰۳**
غلظت متیل جاسمونات	۳	۱۱۱/۲۹*	۱۹۱۵/۸۴**	۰/۰۱۴**	۵۹۸/۶۲**	۰/۴۵**
روش کاربرد × غلظت	۳	۱۱/۳۱ *	۳۸/۴۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۲۴/۸**	۰/۰۲۷**
خطای آزمایش	۱۴	۳/۰۷	۱۲/۴۷	۰/۰۰۰۱	۳/۲۴	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (%)		۱۱/۷۹	۵/۸۶	۴/۴۶	۴/۱۴	۱۳/۸

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

عمده پراکسیداسیون لیپیدها هستند به‌عنوان شاخص این

واکنش‌ها اندازه‌گیری می‌شوند. از مهم‌ترین این آلدئیدها مالون

دی‌آلدئید می‌باشد (۳۰). کمترین میزان تجمع مالون دی‌آلدئید

در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات مشاهده شد (شکل

۸) که نشان‌دهنده کاهش آسیب ایجاد شده به گیاه خیار در

شرایط تنش سرمایی به‌واسطه تیمار متیل جاسمونات می‌باشد.

بنابراین به‌نظر می‌رسد تیمار متیل جاسمونات در این آزمایش

توانسته است با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در مقایسه با

گیاهان شاهد به‌نحو مؤثرتری رادیکال‌های آزاد و مولکول‌های

پراکسید هیدروژن را خنثی کرده و پایداری غشاء پلاسمایی را

به‌وجود آورد.

پرولین: نتایج نشان داد همه تیمارهای هورمونی متیل

جاسمونات میزان پرولین را به‌صورت معنی‌داری نسبت به

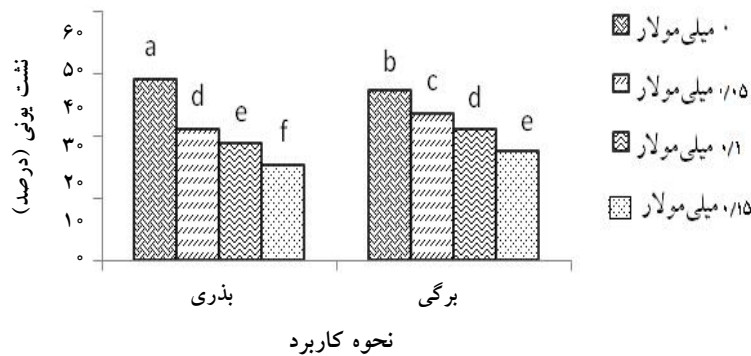
شاهد افزایش دادند. بیشترین میزان پرولین در غلظت ۰/۱۵

میلی‌مولار متیل جاسمونات به‌دست آمد و به‌طور مؤثری میزان

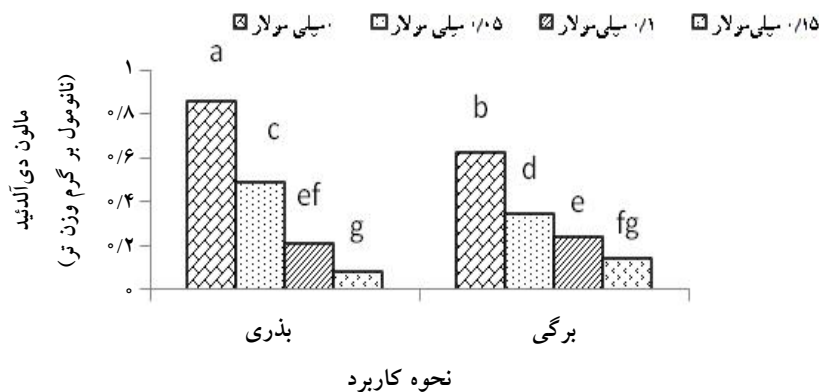
صدمه تنش کاهش یافت. روش محلول‌پاشی برگ‌گی نسبت به

روش خیساندن بذور اثر بیشتری بر میزان پرولین داشت

(شکل ۹). پرولین به‌عنوان یک اسید آمینه خاص در شرایط تنش نقش تنظیم‌کنندگی پتانسیل اسمزی را داشته و سبب پایداری



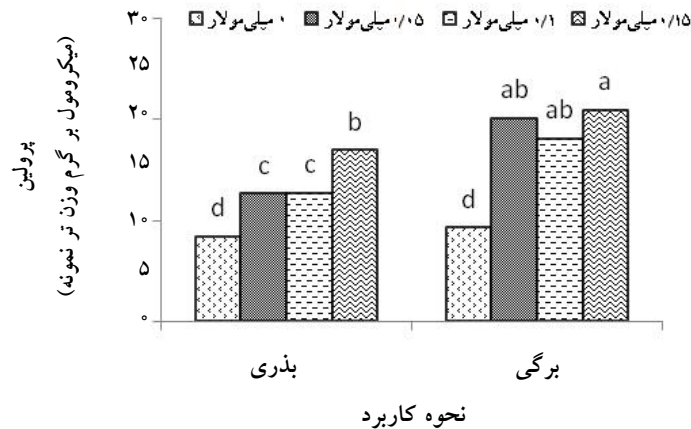
شکل ۷. اثر متقابل روش کاربرد و غلظت متیل جاسمونات بر نشت یونی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.



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

اسمزی در برابر تنش‌های محیطی مطرح است (۶). با توجه به اینکه میزان پرولین با کاربرد متیل جاسمونات افزایش یافته و از سوی دیگر تجمع پرولین در گیاهان باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌شود (۲۹). لذا تجمع اسید آمینه پرولین در اثر کاربرد متیل جاسمونات بر روی گیاهچه‌های خیار می‌تواند به‌عنوان سازوکاری مؤثر جهت کاهش غلظت رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط تنش سرمایی مطرح باشد. کاربرد متیل جاسمونات تنش سرمایی را در دانه‌های گیاهان مختلف بهبود می‌دهد. به‌عنوان مثال تحمل سرما در دانه‌های 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 پرولین بالاتری نسبت به گیاهان غیر سازگار داشته‌اند و این گیاهان وقتی در معرض سرمازدگی قرار گرفتند سریع‌تر بهبود یافته‌اند. کوک و همکاران نشان دادند محتوای پرولین در ساقه و برگ گیاهان فلفل نیز به‌وسیله تنش سرما افزایش یافته است و همبستگی مثبتی بین تحمل به یخ‌زدگی و افزایش غلظت پرولین در ساقه و برگ فلفل پس از قرار گرفتن در دمای پایین مشاهده شده است (۱۷). پرولین به‌عنوان ماده محافظت‌کننده غیر سمی جهت تنظیم



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

سرمازدگی افزایش یافته است. آثار مثبت کاربرد متیل جاسمونات همراه با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش نشت یونی، محتوای مالون دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن بود. با توجه به نتایج حاصل از انجام آزمایش می‌توان بیان کرد که متیل جاسمونات با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تحریک تولید برخی آنزیم‌ها در گیاهچه‌ها باعث می‌شود صدمه تنش در گیاه کاهش یابد. هر سه غلظت به‌کار رفته در این تحقیق مؤثر بود، ولیکن با افزایش غلظت، اثر بخشی آن نیز افزایش یافت به‌طوری‌که بالاترین اثر در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار با روش کاربرد بذری مشاهده شد.

است با تأثیری که بر تنظیم میزان پلی‌آمین‌ها می‌گذارند از صدمات ناشی از تنش سرمایی جلوگیری کنند که اثر محافظت‌کنندگی آنها بیشتر از طریق حفظ ساختار غشای سلولی و جلوگیری از اثر رادیکال‌های آزاد اعمال می‌گردد (۳۱ و ۳۳).

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که با کاربرد متیل جاسمونات، به‌ویژه با روش بذری، از بروز اثر سوء سرما بر 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. Chinnsamy, V., J. Zhu and J. K. Zhu. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant*

- 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 oxidase 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. Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *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. Moradmamand, 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 7th 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. Saydpour¹ and M. Sayyari^{2*}

(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⁻¹ FW), hydrogen peroxide free radical (0.22 nm g⁻¹ 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