به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۴۵۵-۴۴۱

اثر کاربرد برگی متیل‌جاسمونات بر تحمل به سرمای دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین'

شیوا بذل[۱]، روح‌الله کریمی[۲]*، احمد ارشادی[۳]، علیرضا شاهبداغلو[۴] و موسی رسولی[۵]

۱. کارشناس ارشد گروه باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲. استادیار گروه مهندسی فضای سبز، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
۳. دانشیار، گروه باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۴. کارشناس ارشد، گروه باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۵. استادیار، گروه مهندسی فضای سبز، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۷/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۹/۰۷

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات (غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) بر درصد نشت یونی، شاخص سرمازدگی، محتوای آب نسبی، غلظت کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و محتوای کلروفیل برگ دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' در مرحلهٔ چهار تا شش‌برگی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار، در یکی از گلخانه‌های دانشگاه بوعلی سینا، در اواخر تابستان ۱۳۹۲ انجام گرفت. محلول‌پاشی متیل جاسمونات دو بار در روز روی دانهال‌های خیار صورت پذیرفت. دو روز بعد از محلول‌پاشی، دانهال‌ها از دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به اتاقک سرماساز منتقل شدند و چهار ساعت تحت تیمارهای سرمایی ۱۵، ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. با کاهش دما، درصد نشت یونی برگ در تمام دانهال‌ها افزایش یافت. با این‌حال، در گیاهان تیمارشده با متیل‌جاسمونات، به‌ویژه با غلظت ۲۰۰ میکرومولار، نشت یونی کمتری مشاهده شد. کاهش دما از ۱۵ تا ۵ درجهٔ سانتی‌گراد سبب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ در تمام دانهال‌ها شد که این افزایش در گیاهان تیمارشده با متیل جاسمونات، به‌ویژه با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار به‌مراتب بیش از دانهال‌های شاهد بود. همچنین کاربرد برگی متیل‌جاسمونات محتوای آب نسبی و شاخص سرمازدگی برگ را در دانهال‌های سرمادیده کاهش داد، ولی محتوای کلروفیل برگ را در مقایسه با دانهال‌های شاهد افزایش داد. این تغییرات در راستای افزایش تحمل به سرما در دانهال‌ها صورت گرفت. محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات به‌ویژه با غلظت ۲۰۰ میکرومولار قادر به افزایش تحمل به سرما در دانهال‌های خیار است و می‌تواند به‌عنوان یک ابزار پیشگیری‌کننده برای محافظت از سرمازدگی در گلخانه‌های خیار به‌کار رود.

کلیدواژه‌ها: تنش سرما، کربوهیدرات‌های محلول، محتوای کلروفیل، نشت یونی.

* نویسنده مسئول Email: rouholahkarimi@gmail.com

۱. مقدمه

سرمازدگی از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زا در تولید محصولات گلخانه‌ای است که هرساله زیان‌های اقتصادی چشمگیری را به گلخانه‌داران تحمیل می‌کند. ازاین‌رو، معرفی راهکاری مؤثر برای کاهش خسارت سرمازدگی به‌خصوص در مراحل اولیهٔ رشد دانهال‌ها می‌تواند برای افزایش بهره‌وری در گلخانه‌ها مفید باشد.

دماهای کم (۱۰-۱ درجهٔ سانتی‌گراد) ضمن ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی و کاهش رشد، سبب سرمازدگی و مرگ گیاهان حساس به سرما از قبیل خیار[1] می‌شود [۲۳]. تحت تنش سرما، کاهش جذب و انتقال آب توسط ریشه‌ها و نیز کاهش عملکرد سلول‌های نگهبان در بستن روزنه‌ها، به آب‌کشیدگی و پژمردگی گیاهان حساس به سرما منجر می‌شود [۴]. همچنین تنش سرما سبب از بین رفتن انسجام و تراوایی غشاهای سلولی و در نتیجه نشت یون‌ها می‌شود. ازاین رو اندازه‌گیری نشت یونی از بافت‌های تحت تنش سرما معیار قابل قبولی برای ارزیابی تحمل گیاه به دماهای کم است [۵]. تحت تنش سرما تجمع کلروفیل در برگ گیاهان در حال رشد فعال کاهش می‌یابد که می‌تواند به‌عنوان یک شاخص حساسیت به سرمازدگی به‌کار رود [۱۷]. گیاهان با انباشت مواد تنظیم‌کنندهٔ اسمزی نظیر اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌های محلول، برخی یون‌های معدنی، اسید آبسیزیک و پروتئین‌ها تحمل خود را به دمای کم افزایش می‌دهند. از این بین، پرولین ضمن تنظیم اسمزی، موجب پایداری غشاهای سلولی و آنزیم‌ها می‌شود [۲]. کربوهیدرات‌های محلول سبب کاهش تلفات آب و حفظ تورژسانس سلول و پایداری غشا می‌شوند [۱۲]. ازاین‌رو اندازه‌گیری تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرتبط با سرما می‌تواند برای تحلیل جامع‌تر ظرفیت تحمل بافت‌های گیاهان از جمله دانهال‌های خیار به تنش سرما به‌کار رود.

یکی از روش‌های افزایش تحمل به سرما و یخزدگی در گیاهان استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از قبیل اسید آبسیزیک، اسید جاسمونیک یا اسید سالیسیلیک است که عامل مهمی در القای واکنش‌های حمایتی گیاه در برابر انواع تنش‌ها هستند [۳۵ ، ۲۰]. اسید جاسمونیک و متیل‌جاسمونات در فرایندهای نموی متعددی از قبیل جوانه‌زنی بذر، رشد ریشه، لقاح، رسیدن میوه و پیری دخالت دارند [۳۴ ، ۶]. به‌علاوه، جاسمونات‌ها به‌عنوان هورمون ضدتنش عمل می‌کنند و تأثیر زیادی در انتقال سیگنال‌های درون‌سلولی دارند [۳۵]. متیل‌جاسمونات سبب فعال کردن سازوکارهای دفاعی گیاه در واکنش به زخم‌های ناشی از حشرات، عوامل بیماری‌زا و تنش‌های محیطی مختلفی از قبیل خشکی، سرما و شوری می‌شود [۳۴، ۳۲]. این تنظیم‌کنندهٔ رشد در بسیاری از موارد مشابه اسید آبسیزیک عمل می‌کند و سبب کاهش خسارت سرمازدگی در گیاهان می‌شود [۳۴ ، ۳۳]. در آرابیدوپسیس، تیمار برگی متیل‌جاسمونات ضمن تنظیم واکنش گیاهان به تنش سرما، به‌طور معناداری موجب افزایش تحمل به سرما شد [۱۵]. کاربرد متیل‌جاسمونات در دانهال‌های برنج تحت تنش سرما (۵ درجهٔ سانتی‌گراد) تحمل به سرما و درصد زنده‌مانی دانهال‌ها سرمادیده را از طریق جلوگیری از تخریب غشا افزایش داد [۲۱].

اگرچه قابلیت استفاده از متیل‌جاسمونات در جلوگیری از سرمازدگی یا ناهنجاری‌های پس از برداشت دیگر گیاهان از قبیل آووکادو، گریپ فروت و فلفل دلمه‌ای نیز مطالعه شده است [۲۴، ۱۱]، تأثیر دقیق جاسمونات‌ها در واکنش به دمای کم و پاسخ‌های فیزیولوژیک مرتبط با آن در مراحل رشد گیاهان کمتر بررسی شده است. ازاین‌رو هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر کوتاه‌مدت کاربرد خارجی متیل‌جاسمونات بر کاهش خسارت سرمازدگی دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' بود که ضمن آن

1. *Cucumis sativus* L.

تأثیرات متقابل متیل‌جاسمونات و تنش سرما بر برخی از صفات فیزیولوژیک مرتبط با افزایش تحمل در گیاهان از قبیل نشت یونی، شاخص سرمازدگی، غلظت کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، محتوای کلروفیل و محتوای آب نسبی برگ این دانهال‌ها ارزیابی شد.

۲. مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات (غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) بر درصد نشت یونی، شاخص سرمازدگی، محتوای آب نسبی، غلظت کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و محتوای کلروفیل برگ دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' در مرحلهٔ چهار تا شش‌برگی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار، در یکی از گلخانه‌های دانشگاه بوعلی سینا، در اواخر تابستان ۱۳۹۲ انجام گرفت. فاکتور اول، شامل محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار؛ و فاکتور دوم، شامل تیمارهای دمایی ۲۵، ۱۵، ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد بود. در گام نخست بذور خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت دو تا سه دقیقه ضدعفونی شده و پس از شست‌وشو با آب مقطر تا مرحلهٔ خروج ریشه‌چه در پارچهٔ تنظیف مرطوب در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس بذور جوانه‌زده در سینی‌های کشت حاوی محیط کشت پرلایت و کوکوپیت (به‌نسبت حجمی ۱:۱) کاشته شدند. بعد از ظاهر شدن اولین برگ حقیقی، دانهال‌ها در گلدان‌های پلاستیکی ۶ لیتری حاوی مخلوط (کود دامی + ماسه + پرلایت + خاک رس به‌نسبت مساوی) کاشته و در گلخانه با شرایط دمایی ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد در روز و ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در شب و نور طبیعی در شهریور ماه قرار داده شدند. گلدان‌ها دو بار در هفته آبیاری شدند.

متیل جاسمونات (ساخت شرکت سیگما، آلمان) ابتدا در حلال غیرقطبی دی‌متیل سولفوکسید با نام اختصاری DMSO حل شد. سپس دانهال‌ها در مرحلهٔ چهار تا شش‌برگی با محلول متیل‌جاسمونات در چهار غلظت صفر (آب + توئین[1] ۲۰ با غلظت ۰/۱ درصد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار دوبار در روز (به‌فاصلهٔ ۱۲ ساعت) تا مرحلهٔ آب‌چک محلول‌پاشی شدند. دو روز بعد از اتمام محلول‌پاشی، بوته‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول در گلخانه با دمای ۱ ± ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد باقی ماندند و پس از ۲۴ ساعت نمونه‌برداری شدند. در گروه دوم، ابتدا ظرف گلدان‌ها با پشم شیشه عایق‌بندی (برای محافظت ریشه‌ها از تنش سرما) و سپس به اتاقک سرماساز منتقل شد و به‌تدریج در معرض تیمارهای سرمایی با نور حدود ۲۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه قرار گرفت. دمای اولیهٔ اتاقک سرمایی ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و سرعت سرد کردن نمونه‌ها دو درجهٔ سانتی‌گراد در ساعت بود. پس از رسیدن دما به سرمای مورد نظر (۱۵، ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) میزان ماندگاری در هر تیمار دمایی پنج ساعت بود. بعد از اعمال هر تیمار سرمایی، از برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه‌یافتهٔ دانهال‌ها نمونه‌برداری و نشت یونی برگ، محتوای آب نسبی، کربوهیدرات‌های محلول و پرولین آنها اندازه‌گیری شد. پس از تجربهٔ آخرین تیمار سرمایی (۵ درجهٔ سانتی‌گراد)، تعداد مشخصی از دانهال‌ها به‌مدت سه روز در شرایط گلخانه با دمای معمول قرار داده شد و سپس محتوای کلروفیل و شاخص سرمازدگی برگ آنها ارزیابی شد.

برای اندازه‌گیری نشت یونی، نمونه‌های برگ (به‌اندازهٔ یک دایره به‌شعاع یک سانتی‌متر) در قوطی‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور و به‌مدت ۲۰ ساعت روی

1 . Tween

دستگاه شیکر (سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه) تکان داده شد. پس از این مدت، هدایت الکتریکی محلول حاوی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج (مدل کوند۷۲۰، ساخت آلمان) قرائت شد (هدایت الکتریکی اولیه). قوطی‌های حاوی قطعات برگ به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد) تیمار و پس از سرد شدن تدریجی، هدایت الکتریکی آنها مجدداً قرائت (هدایت الکتریکی ثانویه) و در نهایت درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۵]:

(۱) ۱۰۰ × (هدایت الکتریکی ثانویه / هدایت الکتریکی اولیه) = درصد نشت‌یونی

برای اندازه گیری محتوای آب نسبی برگ ابتدا قطعات برگ به‌شعاع ۱ سانتی‌متر تهیه و وزن تر آنها تعیین شد. پس از قرارگیری قطعات برگ درون آب مقطر (۲۴ ساعت در یخچال) وزن آماس برگ‌ها تعیین شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، قطعات برگ به‌مدت ۲۴ ساعت در آون (دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد) خشک شده و سپس توزین شد. محتوای آب نسبی بر حسب درصد از رابطهٔ زیر به‌دست آمد [۱۸]:

(۲) ۱۰۰ × (وزن خشک – وزن آماس) / (وزن خشک – وزن تر) = محتوای آب نسبی (درصد)

برای استخراج پرولین، ابتد ۰/۵ گرم از بافت منجمدشدهٔ برگ با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی ساییده و قسمت بالایی محلول جدا شد. عمل استخراج یک بار دیگر با افزودن ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به رسوبات قبلی تکرار شد. برای اندازه‌گیری پرولین هر نمونه، ۱ میلی‌لیتر عصاره با ۹ میلی‌لیترآب مقطر رقیق شد. به محلول فوق ۵ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین (شامل: ۰/۱۲۵ گرم نین هیدرین + ۲ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار + ۳ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال) به‌همراه ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال اضافه شد و پس از تکان دادن جزئی، به‌مدت ۴۵ دقیقه درون حمام بخار (دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب‌یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن شود. بعد از نیم ساعت میزان جذب فاز تولوئن هر نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، ساخت استرالیا)، در طول موج ۵۱۵ نانومتر تعیین شد [۲۸]. غلظت پرولین نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد پرولین خالص تعیین و بر حسب میکرومول در گرم وزن تر برگ بیان شد.

استخراج کربوهیدرات‌های محلول با پرولین مشابه بود. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول ۰/۱ میلی‌لیتر از عصارهٔ الکلی به‌دست‌آمده با ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه‌شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط شد. برای شروع واکنش رنگ‌گیری، لوله‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از سرد شدن، میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد [۳۷]. غلظت کربوهیدرات‌های محلول براساس منحنی استاندارد گلوکز تعیین و به‌صورت میلی‌گرم در گرم وزن تر بیان شد.

برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئید، ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد تا به‌صورت تودهٔ یکنواختی درآمد. این عمل در نور کم و محیط خنک انجام گرفت. پس از سانتریفیوژ کردن عصارهٔ حاصل (۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه)، محلول رویی برداشته شد و جذب نور آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل a) و ۶۴۵ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و با استفاده از استون ۸۰ درصد به‌عنوان شاهد قرائت شد. غلظت هر یک از رنگیزه‌ها در عصاره بر حسب میلی‌گرم در لیتر با استفاده از روابط زیر محاسبه شد [۳]:

Chl_a (mg/L) = (12.7 × A_{663}) – (2.69 × A_{645})؛Chl_b (mg/L) = (25.8 × A_{645}) – (4.68 × A_{663}) ؛Chl_{total} (mg/L) = (20.21 × A_{645}) + (8.02 × A_{663})

در این رابطه‌ها، A_{663}، A_{645} و A_{470} به‌ترتیب، میزان قرائت‌شدهٔ جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر هستند [۲۲]. در نهایت غلظت کلروفیل کل در عصاره برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بیان شد.

به‌منظور ظهور علائم خسارت سرما، دانهال‌ها بعد از اعمال آخرین تیمار سرمایی به‌مدت سه روز در دمای اتاق (۲ ± ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شدند. پس از این مدت تمام دانهال‌ها به‌صورت چشمی و بر اساس سطوح زیر امتیازدهی شدند: ۱. سالم: بدون هیچ‌گونه علائم خسارت؛ ۲. خسارت کم: کمتر از ۵ درصد نکروزگی سطح برگ؛ ۳. خسارت متوسط: ۵ تا ۲۵ درصد نکروزگی سطح برگ؛ ۴. خسارت شدید: ۵۰-۲۵ درصد نکروزگی سطح برگ، اما گیاه هنوز زنده است؛ ۵. مرگ گیاه: کل گیاه نکروزه و خشک می‌شود. با اختصاص شماره‌های ۱ تا ۵ به دانهال‌های تیمارشده، میانگین سرمازدگی برای هر تیمار براساس فرمول زیر محاسبه شد [۱۹]:

(۴)

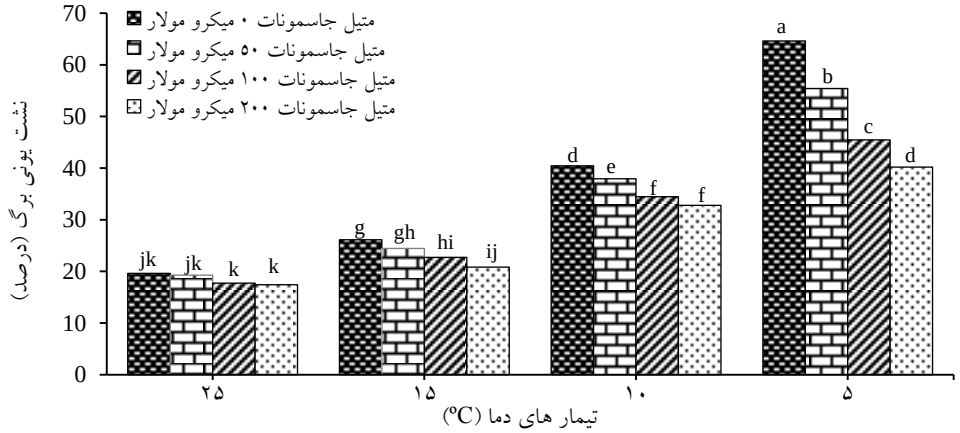
تعداد گیاهان) ×(سطح سرمازدگی)] =شاخص سرمازدگی کل گیاهان در تیمار/[(در سطح سرمازدگی

نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخهٔ ۹/۲) تجزیه شد و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

۳. نتایج و بحث

اثر متیل‌جاسمونات، تنش سرما و اثر متقابل آنها بر درصد نشت یونی نمونه‌های برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، بین درصد نشت یونی دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات و شاهد اختلاف معناداری مشاهده نشد (شکل ۱).

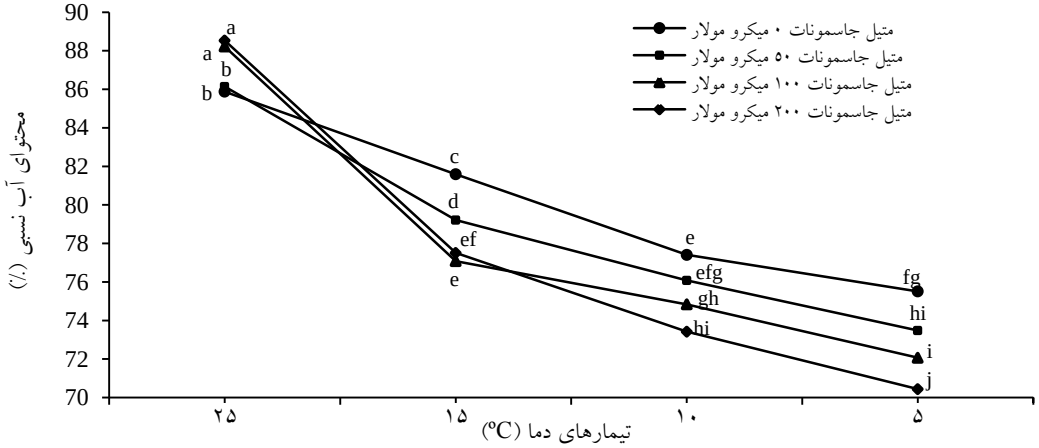
صرف‌نظر از تیمار متیل‌جاسمونات، انتقال دانهال‌ها از دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به دماهای ۱۵، ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد نشت یونی را افزایش داد، به‌طوری که با کاهش دما تا ۵ درجهٔ سانتی‌گراد این شاخص به حداکثر رسید. تحت دمای ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد، نشت یونی اندازه‌گیری‌شده در برگ دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در مقایسه با شاهد به‌طور معناداری کاهش یافت (شکل ۱).



شکل ۱. اثر متیل‌جاسمونات بر نشت یونی برگ دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' تحت تیمارهای دمایی مختلف. ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد ندارند.

با این‌حال، بین نشت یونی اندازه‌گیری‌شده در دانهال‌های تیمارشده با دو غلظت اخیر متیل‌جاسمونات اختلاف معناداری وجود نداشت. با کاهش دما از ۱۵ به ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد، متیل‌جاسمونات به‌طور معناداری میزان نشت یونی برگ را در دانهال‌های تیمارشده در مقایسه با دانهال‌های شاهد (غلظت صفر متیل‌جاسمونات) کاهش داد. در این شرایط، آثار حمایتی متیل‌جاسمونات در کاهش خسارت غشا به‌ویژه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار محسوس‌تر شد. در دمای ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد نشت یونی در همهٔ دانهال‌ها با شیب تندی افزایش یافت. در این تیمار سرمایی، بین نشت یونی دانهال‌های شاهد و دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. کمترین نشت یونی (۳۲/۷ درصد) در این تیمار سرمایی مربوط به دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بود که البته اختلاف معناداری با تیمار ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات نداشت (شکل ۱). با کاهش دما تا دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد تفاوت بین نشت یونی دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات نسبت به تیمار شاهد فاحش‌تر شد. در دانهال‌هایی که با متیل‌جاسمونات تیمار شده بودند، نشت یونی برگ وابسته به غلظت بود و از این نظر، اختلاف معناداری بین تیمارهای متیل‌جاسمونات در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. در این تیمار سرمایی، کمترین نشت یونی (۴۰/۲ درصد) مربوط به دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بود که در مقایسه با شاهد (۶۴/۷ درصد) نشت یونی کمتری نشان داد (شکل ۱).

در مطالعهٔ حاضر، تنش سرما، سبب افزایش نشت یونی برگ دانهال‌ها به‌خصوص گیاهان شاهد شد که بیانگر آسیب سیستم غشایی دانهال‌های خیار در این شرایط است. این نتایج با افزایش نشت یونی مشاهده‌شده تحت تنش سرما در موز [۲۱]، برنج [۳۶] و انگور [۱] همخوانی دارد. تنش سرما با کاهش سیال بودن فسفولیپیدهای غشاهای زیستی یا غیرفعال کردن آنها یا دست‌کم کاهش سرعت پمپ‌های یونی متصل به غشا، ضمن کاهش یا اختلال در عملکرد غشا، نشت یونی را افزایش می‌دهد [۲]. یکی از دلایلی که موجب صدمات غشایی می‌شود، تنش اکسایشی است که در نتیجهٔ افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شود. تداوم این وضعیت، موجب تخریب بیشتر غشای سلول و خروج آب از درون سلول به فضای بین‌سلولی می‌شود که نتیجهٔ آن، بروز پدیدهٔ آبگز شدن و افزایش نشت یونی است [۱۳]. در تحقیق حاضر، کاربرد برگی متیل‌جاسمونات به‌طور معناداری نشت یونی را به‌عنوان یک شاخص آسیب‌دیدگی غشا، در دانهال‌های سرمادیده کاهش داد. همزمان با افزایش غلظت متیل‌جاسمونات در دانهال‌های سرمادیده، نشت یونی کاهش یافت؛ به‌طوری که کمترین نشت یونی در تیمار ۲۰۰ میکرومولار محقق شد که حاکی از توانایی این تنظیم‌کنندهٔ رشد در افزایش انسجام و پایداری غشا و در نتیجه کاهش نشت الکترولیت‌ها از این ساختارهای زیستی است. کاربرد متیل‌جاسمونات در دانهال‌های برنج [۲۱ و ۳۶] و بوته‌های موز [۸]، ضمن کاهش نشت یونی سبب افزایش تحمل به سرما در این گیاهان شده است. اثر متیل‌جاسمونات، تنش سرما و اثر متقابل آنها بر محتوای آب نسبی برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، بین محتوای آب نسبی اندازه‌گیری‌شده در برگ دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات و شاهد اختلاف معناداری مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. اثر متیل‌جاسمونات بر محتوای آب نسبی برگ دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' تحت تیمارهای دمایی مختلف. میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد ندارند.

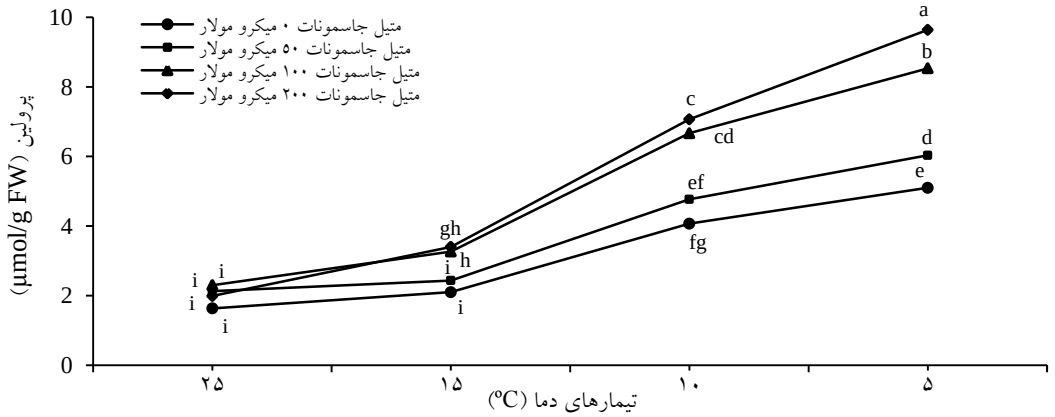
کاربرد برگی متیل‌جاسمونات در دانهال‌های واقع‌شده در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، محتوای آب نسبی را به‌واسطهٔ بستن روزنه‌ها در مقایسه با شاهد افزایش داد. این افزایش وابسته به غلظت بود و در دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار، بیشترین حد را داشت که البته با غلظت ۱۰۰ میکرومولار از لحاظ آماری تفاوت معناداری نداشت. صرف‌نظر از تیمار متیل‌جاسمونات، انتقال دانهال‌ها از دمای ۲۵ به دماهای ۱۵، ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد محتوای آب نسبی برگ را به میزان چشمگیری کاهش داد، به‌طوری که با کاهش دما تا ۵ درجهٔ سانتی‌گراد، آب‌کشیدگی تدریجی بین تمام دانهال‌ها اتفاق افتاد. با این‌حال، این الگوی کاهشی در دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بیشتر از شاهد بود (شکل۲). در دمای ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد بین محتوای آب نسبی برگ دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های متیل‌جاسمونات و شاهد اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. با این‌حال، دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، از این نظر تفاوتی نداشتند. در دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد محتوای آب نسبی به‌طور معناداری نسبت به دمای ۱۰ درجه کاهش یافت و بین محتوای آب نسبی برگ دانهال‌های شاهد و دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات در این دما اختلاف معناداری وجود داشت (شکل ۲). با این‌حال، بین محتوای آب نسبی دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در این تیمار سرمایی اختلاف معناداری مشاهده نشد. کمترین محتوای آب نسبی (۷۰/۴ درصد) در این تیمار سرمایی مربوط به دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار بود که اختلاف معناداری با دانهال‌های تیمارشده با سایر غلظت‌های متیل‌جاسمونات و دانهال‌های شاهد داشت (شکل ۲).

در تمام تیمارهای دمایی، بین محتوای آب نسبی دانهال‌های تیمارشده با هر چهار غلظت متیل‌جاسمونات اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت که تأییدی بر تأثیر سرمای تدریجی در آب‌کشیدگی سلول‌ها در راستای فرایند سازگاری به سرماست که در این میان تیمار متیل‌جاسمونات با تسریع این روند، سبب افزایش تحمل به سرما در دانهال‌ها شده است. در مطالعهٔ حاضر، کاربرد خارجی متیل‌جاسمونات به‌ویژه در

غلظت‌های زیاد، سبب افزایش محتوای آب در دانهال‌های باقی‌مانده در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد شد. این افزایش می‌تواند با نقش متیل‌جاسمونات در بستن روزنه‌ها مرتبط باشد [۱۶]. بسته شدن روزنه‌ها ضمن کاهش تبادل بخار آب، سبب حفظ آب درون بافت‌های گیاه می‌شود. با این‌حال تحت تنش سرما، محتوای آب نسبی در دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات در مقایسه با دانهال‌های شاهد کاهش پیدا کرد که حاکی از توانایی این تنظیم‌کنندهٔ رشد در کاهش آب آزاد سلولی و افزایش آب پیوندشده به درشت مولکول‌هاست که در نهایت تحمل سرما را افزایش می‌دهد. این نتیجه حاکی از نقش دوگانهٔ متیل‌جاسمونات در زمینهٔ تنظیم محتوای آب بافت‌هاست که به‌نظر می‌رسد بسته به دمای محیط قادر به تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها باشد که ممکن است این کار را با مشارکت اسید آبسیزیک انجام دهد [۱۴]. در تاک‌های تیمارشده با اسید آبسیزیک و تنش سرما، الگوی تغییرات محتوای آب نسبی برگ مشابه الگوی تغییرات این شاخص در مطالعهٔ حاضر بود [۱]. این یافته حاکی از تعامل متیل‌جاسمونات با اسید آبسیزیک در تنظیم محتوای آب سلول‌ها در راستای سازگاری بهتر به سرما در گیاهان است که ممکن است این کار را با تجمع بیشتر اسمولیت‌های سازگاری از قبیل کربوهیدرات‌های محلول و پرولین و کاهش محتوای آب آزاد سلولی در گیاهان تیمارشده با این تنظیم‌کننده‌های رشد انجام دهند.

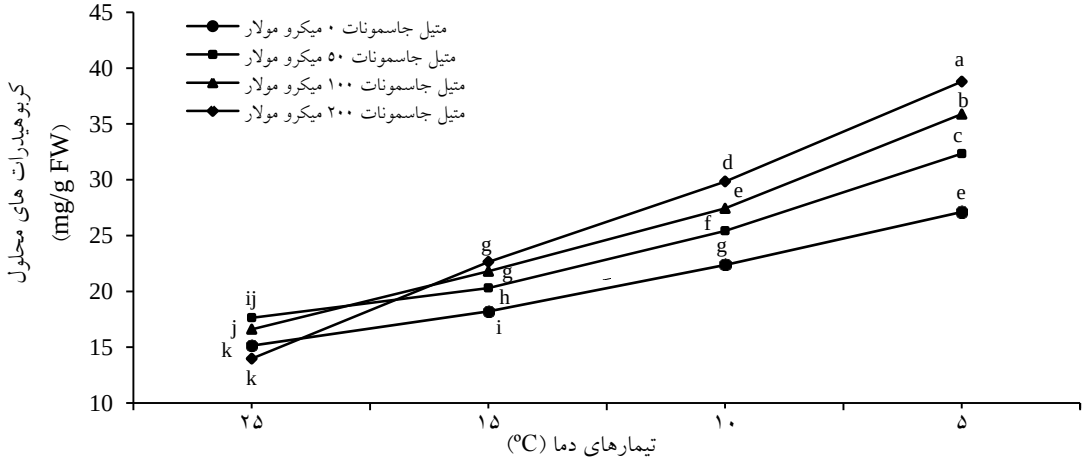
اثر متیل‌جاسمونات، تنش سرما و اثر متقابل متیل‌جاسمونات و تنش سرما بر مقدار پرولین برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. تغییرات غلظت پرولین در مورد تیمارهای دمایی و غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات برخلاف الگوی تغییرات محتوای آب نسبی برگ در دانهال‌های تحت مطالعه بود. در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد بین غلظت پرولین برگ در دانهال‌های تیمار با غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات از لحاظ آماری اختلاف معناداری وجود نداشت (شکل ۳).

دمای کم اثر چشمگیری بر تجمع پرولین برگ در تمام دانهال‌ها داشت و از این نظر بین هر سه تیمار سرمایی اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. در دمای ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد غلظت پرولین به‌مقدار کمی نسبت به دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت، به‌طوری که بین غلظت پرولین دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های صفر و ۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در این دو تیمار دمایی اختلاف معناداری مشاهده نشد. با این‌حال بین غلظت پرولین دانهال‌های شاهد (غلظت صفر) و دانهال‌های تیمارشده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو مولار متیل‌جاسمونات تحت تیمار سرمایی ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد اختلاف معناداری وجود داشت (شکل ۳).



شکل ۳. اثر متیل‌جاسمونات بر غلظت پرولین برگ دانهال‌های خیار گلخانه ای رقم 'نگین' تحت تیمارهای دمایی مختلف. میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد ندارند.

غلظت پرولین برگ در تمام دانهال‌ها تحت تیمارهای سرمایی ۱۰ و به‌ویژه ۵ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش چشمگیری نشان داد و از این نظر بین غلظت پرولین برگ دانهال‌های شاهد و تیمارشده با متیل‌جاسمونات اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت (شکل ۳). بیشترین غلظت پرولین (۹/۶۴µmol/g FW) اندازه‌گیری‌شده در این مطالعه در دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات تحت تیمار سرمایی ۵ درجهٔ سانتی‌گراد حاصل شد. این روند در مورد تیمارهای سرمایی ۱۰ و ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد نیز برقرار بود (شکل ۳). همزمان با کاهش دما تا ۵ درجهٔ سانتی‌گراد، غلظت پرولین در دانهال‌ها، افزایش چشمگیری نشان داد. پرولین یک مولکول آلی است که در بسیاری از موجودات زنده در واکنش به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابد و در راستای سازگاری به سرمای گیاهان نقش‌های متعددی ایفا می‌کند [۲]. ارتباط بین تجمع پرولین و تحمل به سرما در گندم [۱۷]، چمن ژاپنی [۲۹] و انگور [۱] نیز مشاهده شده است. پرولین یک مولکول آمفی فیلیک (دوگانه‌دوست) است که سبب افزایش سطوح آب‌دوست در سلول می‌شود. این شرایط سلول‌ها را قادر می‌سازد تا تحت شرایط آب‌کشیدگی ناشی از تنش خشکی، شوری و سرما، انسجام ساختار پروتئین‌های سیتوپلاسمی را حفظ کنند [۳۱]. همچنین شواهدی در زمینهٔ تأثیر خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، پتانسیل اکسایش کاهش و تنظیم اسمزی پرولین موجود است [۲۶]. در مطالعهٔ حاضر، کاربرد متیل‌جاسمونات به‌خصوص در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، سبب افزایش چشمگیر مقدار پرولین دانهال‌های سرمادیده شد. تحت تنش‌های مختلف از جمله شوری و سرما، کاربرد خارجی متیل‌جاسمونات سبب القای آنزیم‌های سنتزکنندهٔ پرولین و افزایش تولید این اسمولیت شد [۳۶ ، ۱۰]. تیمار دانهال‌های برنج با غلظت ۱۰۰ میکرومولار [۳۶] و بوته‌های موز با غلظت ۲۰۰ میکرورمولار متیل‌جاسمونات [۸] موجب افزایش محتوای پرولین و تحمل به سرما در این گیاهان شد. در کل تنش سرما غلظت پرولین را در برگ‌های همهٔ دانهال‌ها افزایش داد که این افزایش در گیاهان تیمارشده با متیل‌جاسمونات به‌مراتب بیشتر بود که حاکی از دخالت متیل‌جاسمونات در تنظیم مسیرهای سیگنالی مرتبط با افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش در خیار است.



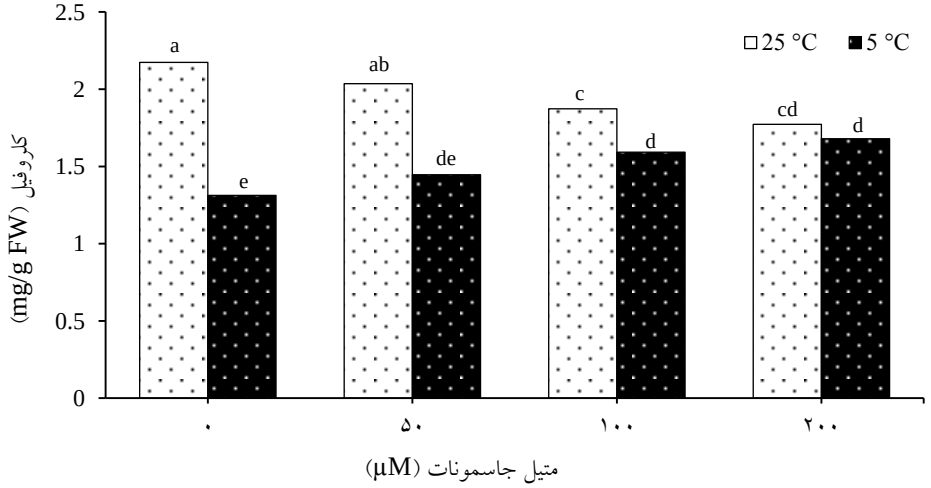
شکل ۴. اثر متیل‌جاسمونات بر غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' تحت تیمارهای دمایی مختلف. میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد ندارند.

اثر متیل‌جاسمونات، تنش سرما و اثر متقابل آنها بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول برگ دانهال‌های خیار در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. در تمام تیمارهای دمایی بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ در همهٔ دانهال‌ها اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، بیشترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ (۱۷/۷ mg/g FW) مربوط به دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بود که البته با شاهد اختلاف معناداری نداشت (شکل ۴).

کمترین غلظت کربوهیدرات اندازه‌گیری‌شده در این تیمار دمایی (۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) در دانهال‌های تیمارشده با بیشترین غلظت متیل‌جاسمونات مشاهده شد که البته با غلظت ۵۰ میکرومولار اختلاف معناداری نداشت (شکل ۴). در راستای فرایند سازگاری به سرما با کاهش تدریجی دما از ۲۵ تا ۵ درجهٔ سانتی‌گراد، غلظت کربوهیدرات‌های محلول در تمام دانهال‌ها به‌تدریج افزایش یافت. در سه تیمار دمایی ۱۵، ۱۰ و ۵ درجهٔ سانتی‌گراد بیشترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول اندازه‌گیری‌شده مربوط به دانهال‌هایی بود که با تیمار ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات تیمار شده بودند. در آخرین تیمار سرمایی تفاوت بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول دانهال‌ها نسبت به تیمارهای دمایی ۱۰ و ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد آشکارتر بود. بیشترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول (mg/g ۳۸/۸FW) در این تیمار دمایی مربوط به غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بود که نسبت به دانهال‌های شاهد ۱۱/۷ میلی‌گرم کربوهیدرات‌های محلول بیشتری داشت (شکل ۴).

دمای کم سبب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در دانهال‌های سرمادیده شد. کربوهیدرات‌های غیرساختاری از قبیل قندهای محلول، عامل مهمی در افزایش تحمل به سرمای گیاهان به‌شمار می‌روند. کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان ترکیبات محافظ ساختار سلول‌ها در برابر یخ‌زدگی عمل کرده و با کاهش نقطهٔ انجماد، از تشکیل یخ درون‌سلولی جلوگیری می‌کنند. به‌طور ویژه این قندها از طریق برهم‌کنش با سر قطبی فسفولیپیدها سبب پایداری غشاها می‌شوند [۳۱]. افزایش کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش سرما در گونه‌های گیاهی مختلفی از قبیل طالبی [۲۵]، چمن ژاپنی [۲۹] و انگور [۱] مشاهده شده است.

در مطالعهٔ حاضر، کاربرد متیل‌جاسمونات سبب افزایش چشمگیر غلظت کربوهیدرات‌های محلول به‌خصوص در گیاهان تحت تنش شد. در این شرایط، بیشترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول در تیمار ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات مشاهده شد که حاکی از تأثیر این تنظیم‌کنندهٔ رشد در مورد تجمع قندهای محلول و افزایش سازگاری به سرما در دانهال‌های خیار است. متیل‌جاسمونات تأثیر مهمی در پاسخ‌های مختلف گیاهان به تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، سرما و شوری دارد [۳۰]. تیمار دانهال‌های برنج با غلظت ۱۰۰ میکرومولار [۳۶] و بوته‌های موز با غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات [۸] ضمن افزایش محتوای قندهای محلول، تحمل به سرما را در این گیاهان افزایش داد. افزایش کربوهیدرات‌های محلول در نتیجهٔ هیدرولیز نشاسته یکی از شاخص‌ترین تغییرات متابولیکی است که طی مواجههٔ گیاهان با دمای کم به‌وقوع می‌پیوندد [۲]. تجمع کربوهیدرات‌های محلول علاوه‌بر تنظیم اسمزی و حالت آماس سلول‌ها ممکن است در تأمین انرژی لازم برای تداوم فعالیت‌های متابولیکی و از سرگیری مجدد فتوسنتز بعد از رفع شرایط تنش دخالت داشته باشد.



شکل ۵. اثر متیل‌جاسمونات بر غلظت کلروفیل برگ دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' تحت تیمارهای دمایی مختلف. ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد ندارند.

اثر متیل‌جاسمونات، دما و اثر متقابل متیل‌جاسمونات و دما بر محتوای کلروفیل برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. محتوای کلروفیل برگ دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات تحت دمای مطلوب (۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) کاهش پیدا کرد، به‌طوری که در گیاهان تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار، مقدار این شاخص فیزیولوژیکی به mg/g ۱/۷۷FW تقلیل یافت (شکل ۵).

کاربرد متیل‌جاسمونات در دانهال‌های آفتابگردان موجب تجزیهٔ کلروفیل و کاهش محتوای آن تحت دمای معمولی شد [۹]. طی محلول‌پاشی دانهال‌های جو با متیل‌جاسمونات، سرعت تجزیهٔ کلروفیل a نسبت به کلروفیل b افزایش یافت [۷]. توانایی متیل‌جاسمونات در کاهش محتوای کلروفیل با دخالت این تنظیم‌کنندهٔ رشد در فرایند پیری و تجزیهٔ کلروفیل در ارتباط است [۳۴ ، ۶].

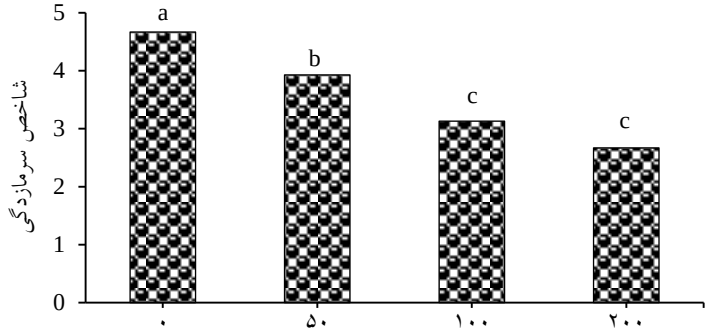
دمای کم و متیل‌جاسمونات اثر معناداری بر محتوای کلروفیل برگ داشت. مقدار کلروفیل در دانهال‌های سرمادیده بدون تیمار متیل‌جاسمونات در مقایسه با گیاهان باقی‌مانده در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد کاهش بیشتری نشان داد. در دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات تحت دمای کم، پایداری کلروفیل بیش از گیاهان شاهد (غلظت صفر) بود، به‌طوری که محتوای کلروفیل برگ دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار این تنظیم‌کنندهٔ رشد، حدود ۳۴ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل ۵). مقدار کارتنوئیدها نیز در تمام دانهال‌ها اندازه‌گیری شد و به‌دلیل داشتن الگوی تغییراتی مشابه با کلروفیل، داده‌های مربوط به آن نشان داده نشد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای درونی، در برخی موارد قادر به ایجاد محدودیت در سرعت فتوسنتز هستند [۳]. محتوای کلروفیل به‌طور معناداری در دانهال‌های سرمادیده بدون تیمار متیل‌جاسمونات کاهش یافت. تنش دمای کم از تجمع کلروفیل در برگ‌های در حال رشد جلوگیری می‌کند که می‌تواند به‌عنوان یک شاخص نشان‌دهندهٔ حساسیت به سرما به‌کار رود. در گندم زمستانه بین محتوای کلروفیل برگ و تحمل به سرمای همبستگی مثبتی مشاهده شد [۱۷]. کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش سرما ممکن است با صدمات اکسایشی وارد به غشاهای کلروپلاست در اثر سرما یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز مرتبط باشد

[۳]. در مطالعهٔ حاضر، پایداری کلروفیل تحت تنش سرما در دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات در مقایسه با شاهد بیشتر بود. توانایی متیل‌جاسمونات در کاهش پراکسیداسیون غشا در کلروپلاست، به‌ویژه ساختارهای غشایی تیلاکوئید، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های خنثی‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد یکی از سازوکارهای احتمالی کاهش تخریب کلروفیل تحت تنش سرماست [۸].

اختلاف معناداری بین شاخص سرمازدگی دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات و دانهال‌های شاهد در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. متیل‌جاسمونات به‌طور مؤثری سبب کاهش علائم ظاهری خسارت سرما در دانهال‌های تیمارشده با تنش سرما شد. سه روز بعد از آخرین تیمار سرمایی (۵ درجهٔ سانتی‌گراد)، دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات کمترین (کمتر از ۱۰ درصد نکروزگی سطح برگ) علائم ظاهری خسارت سرما را پس از قرارگیری در شرایط دمایی مناسب از خود بروز دادند، به‌طوری که شاخص سرمازدگی اندازه‌گیری‌شده در این تیمار ۲/۷۵ بود. دانهال‌های تیمارشده با غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات علائم مشخص خسارت سرما را در حد کم تا متوسط (کمتر از ۳۰ درصد سطح برگ) نشان دادند. شاخص سرمازدگی اندازه‌گیری‌شده برای تیمار ۵۰ میکرومولار و شاهد برابر ۳/۹۵ و ۴/۷۰ بود که اختلاف معناداری داشتند (شکل ۶).

براساس نتایج تحقیق حاضر، گیاهان تیمارشده با متیل‌جاسمونات نسبت به شاهد علائم خسارت ظاهری از قبیل نکروزه شدن حاشیه یا کل برگ، پژمردگی، چروکیدگی و آویزان شدن برگ‌ها را به میزان کمتری بروز دادند. این نتایج حاکی از نقش حفاظتی متیل‌جاسمونات در پاسخ به تنش دمای کم در دانهال‌های تیمارشده است که با تجمع بیشتر تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین و کربوهیدرات‌های محلول سبب کاهش تلفات آب و حفظ تورژسانس سلول و پایداری غشا شده است [۱۲]. در آناناس تیمار متیل‌جاسمونات سبب کاهش نشت یونی و خسارت ظاهری شد [۲۷] که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. سازوکار متیل‌جاسمونات در کاهش خسارت سرمازدگی هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است؛ با این‌حال تحمل به سرمای القاشده با متیل‌جاسمونات در برخی مطالعات [۳۳] با افزایش سطح اسید آبسیزیک و پلی‌آمین‌ها همراه بوده است که حاکی از دخالت این ترکیبات در راه‌اندازی سازوکارهای دفاعی موسوم به متیل‌جاسمونات در بافت‌های گیاهی تحت تنش سرماست.



شکل ۶. اثر متیل‌جاسمونات بر شاخص سرمازدگی دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' سه روز بعد از آخرین تیمار سرمایی (۵°C). ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد ندارند. شاخص‌های سرمازدگی عبارتند از: ۱ (بدون خسارت)؛ ۲ (خسارت کمتر ۵ درصد)؛ ۳ (خسارت ۵ تا ۲۵ درصد)؛ ۴ (خسارت ۲۵ تا ۵۰ درصد)؛ و ۵ (مرگ گیاه).

همچنین تیمار دانهال‌های آرابیدوپسیس با متیل‌جاسمونات موجب افزایش ژن‌های مرتبط با مقاومت به سرما در این گیاهان شد که تأییدی بر تأثیر این تنظیم‌کنندهٔ رشد در مسیرهای سیگنالی مرتبط با افزایش تحمل به سرما در گیاهان است [۱۵].

۴. نتیجه‌گیری

در پایان تنش سرما سبب افزایش نشت یونی و توسعهٔ خسارت ظاهری سرما در دانهال‌های خیار گلخانه‌ای رقم 'نگین' در مراحل اولیهٔ رشد شد. متیل‌جاسمونات به‌ویژه غلظت ۲۰۰ میکرومولار آن تأثیر زیادی در کاهش خسارت سرما در دانهال‌های خیار داشت، به‌طوری که تیمار برگی دانهال‌ها با این تنظیم‌کنندهٔ رشد قبل از اعمال تنش سرما، تحمل به سرما را در این گیاهان افزایش داد. در این راستا، تجمع بیشتر اسمولیت‌های سازگاری از قبیل کربوهیدرات‌های محلول و پرولین و کاهش محتوای آب نسبی در دانهال‌های تیمارشده با متیل‌جاسمونات، به افزایش پایداری غشا در برابر تنش سرما انجامید. این تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی القاشده توسط متیل‌جاسمونات در نهایت سبب نشت کمتر یون‌ها و نیز پایداری بیشتر کلروفیل در دانهال‌ها شد و تحمل دمای کم در این گیاهان را افزایش داد که می‌تواند به‌عنوان یک ابزار پیشگیری‌کننده برای محافظت از سرمازدگی در گلخانه‌ها استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از سازمان بسیج علمی، پژوهشی و فناوری استان همدان قدردانی می‌شود.

منابع

۱. کریمی ر(۱۳۹۳) ارزیابی اثر تغذیه و اسید آبسیزیک روی تحمل به سرمای انگور. دانشگاه بوعلی سینا. همدان. رسالهٔ دکتری.

2. Beck EH, Heim R and Hansen J (2004) Plant resistance to cold stress: mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. Biosciences. 29: 449-459.
3. Bertamini M, Zulini K, Muthuchelian K and Nedunchezhian N (2007) Low-night temperature effects on photosynthetic performance on two grapevine genotypes. Plant Biology. 51: 381-385.
4. Bloom AJ, Zwieniecki MA, Passioura JB, Randall LB, Holbrook NM and Clair DA (2004) Water relations under root chillingin asensitive and tolerant tomato species . Plant, Cell and Environment. 27: 971-979.
5. Campos PS, Quartin V, Ramalho JC and Nunes MA (2003) Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffeasp. Plants. Plant Physiology. 160: 283-292.
6. Creelman R and Mullet GE (1997) Biosoynthesis and action of Jasmonate in plant. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 48: 355-381.
7. Cuello J (1997) Differential effects of linolenic acid and methyl jasmonate on the degradation of chlorophylls and carotenoids of senescing barley leaves. Acta Botanica Neerlandica. 46(3): 303-314.
8. Dou F, WeiYan X, ZhengShu H, FuYuan D and XiAngT (2009) Effects of methyljasmonate (MeJA) on cold tolerance of banana seedlings. Fruit Science. 26: 390-393.
9. Emery RJN and Reid DM (1996) Methyljasmonate effects on ethylene synthesis andorgan-specific senescence in Helianthus annuusseedlings. Plant Growth Regulation. 18: 213-222.

10. Fedina IS and Benderliev KM (2000) Response of secendesmus incrassatulus to salt stress as affected by methyl jasmonate. Biologia Plantarum. 43(4): 625-627.

11. Fung RWM, Wang CY, Smith DL, Gross KC and Tian M (2004) MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels ofalternative oxidase and resistance against chilling injury in sweetpeppers (Capsicum annuum L.). Plant Science. 166: 711-719.

12. Guy CL (2003) Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. Canadian Journal of Botany. 81: 1216-1223.

13. Hana B and Bischoff JC (2004) Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology. 48: 8-21.

14. Hossain MA, Munemasa S, Uraji M, Nakamura Y, Mori IC and Murata Y(2011) Involvement of endogenous abscisic acid in methyl jasmonate-induced stomatal closure in Arabidopsis. Plant Physiology. 156: 430-438.

15. Hu Y, Jiang L, Wang F and Yu D (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.

16. Islam MM, Hossain MA, Jannat R, Nakamura Y, Mori IC and Murata Y (2010) Cytosolic alkalization and cytosolic calcium oscillation in Arabidopsis guard cells response to ABA and MeJA. Plant Cell Physiology. 51: 1721-1730.

17. Janmohammadi M, Tavakol-Afshari R, Mahfoozi S, Alizadeh H, Kamel M and Khiavi M (2010) Relationship among phenological development, physiological indices and freezing tolerance in winter wheat and rye under field conditions in moderate and cold regions. Crop Production. 3: 115-137.

18. Kirnak H, Kaya C, Tas I and Higgs D (2001) The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg plants. Plant Physiology: 27: 34-46.

19. Korkmaz A, Korkmaz Y and Demirkiran AR (2010) Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. Environmental and Experimental Botany. 67: 495-501.

20. Kosova K, Prasila IT, Vítámvása P, Dobrev P, Motyka VK and Vankova R (2012) Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. Plant Physiology. 169: 567-576.

21. Lee TM, Lur HS, Lin YH and Chu C (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.

22. Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148: 350-382.

23. Lukatkin AS, Brazaitytė A, Bobinas C and Duchovskis P (2012) Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. Agriculture. 99: 111-124.

24. Meyer A, Miresch O, Bottner C, Dathe W and Sembdner G (1984) Occurrence of the plant growth regulator jasmonic acid in plants. Plant Growth Regulation. 3: 1-8.

25. Mitchell DE and Madore MA (1992) Patterns of assimilate production and translocation in muskmelon (Cucumis melo L.). II Low temperature effects. Plant Physiology. 99: 966-971.

26. Molinari HB, Marur CJ, Bespalhok JC, Kobayashi AK, Pileggi M and Leite RP (2004) Osmotic adjustment in transgenic citrus

rootstock Carrizo citrange (Citrus sinensis Osb x Poncirus trifoliate L. Raf) overproducing proline. Plant Science. 167: 1375-81.

27. Nilprapruck P, Pradisthakarn N, Authanithee F and Keebjan P (2008) Effect of exogenous methyl jasmonate on chilling injury andquality of pineapple (Ananas comosus L.) cv. Pattavia. Silpakorn Science and Technology. 2: 33-42.
28. Paquin R and Lechasseur P (1979) Observations sur la methode de dosage de la proline libredans les ex traits de plantes. Canadian Journal Botany. 57: 1851-1854.
29. Patton AJ, Cunningham SM, Volenec JJ and Reicher ZJ (2007) Differences in freeze tolerance of Zoysiagrasses: II. Carbohydrate and proline accumulation. Crop Science. 47: 5.
30. Pauwels L, Inze D and Goossens A (2009) Jasmonate-inducible‌gene: what does it mean?Trends Plant Science. 14: 87-91.
31. Santarius KA (1992) Freezing of isolated thylakoid membranes in complex media. VIII. Differential cryoprotection by sucrose, proline and glycerol. Plant Physiology. 84: 87-93.
32. Seo S, Sano H and Ohashi D (1997) Jasmonic acid in wound signal transduction pathway. Physiologia Plantrum. 101: 740-745.
33. Wang CY and Buta JG (1994) Methyl jasmonate reduces chilling injuryin Cucurbita pepothrough its regulation of abscisic acid andpolyamine levels. Environmental and Experimental Botany. 34: 427-432.
34. Wasternack C and Hause B (2002) Jasmonates and octadecanoids: signals in plant stress responses and development. Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology.72: 165-221.
35. 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.
36. XiaoHua D, ZeYuan D and JinHua B (2009) Effects of methyl jasmonate on cold resistance of rice seedlings. Plant Physiology Communications. 45: 881-884.
37. Yemm EW and Willis AJ (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochemistry. 57: 508-514.