

تأثیر متیل جازمونات و سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل به سرمای فلفل دلمه‌ای گلخانه‌ای

رقم امیلی

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

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

چکیده

از مواد شیمیایی که در سال‌های اخیر روی اثرات آنها در کاهش سرمآذگی کار شده است می‌توان سالیسیلات‌ها و جازمونات‌ها را نام برد. در این مطالعه تأثیر ترکیبات سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات در افزایش تحمل به سرمای گیاه فلفل دلمه‌ای رقم امیلی (گلخانه‌ای) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل 2×7 در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول شامل سالیسیلیک اسید در سه غلظت $0/1$ ، $0/5$ و 1 میلی‌مولاو و متیل جازمونات در سه غلظت $0/0/1$ ، $0/0/1$ و $0/0/0$ میلی‌مولاو همراه با یک شاهد (آب مقطر) و فاکتور دوم شامل دو روش محلول‌پاشی و خاک مصرف این ترکیبات در مرحله ۹ - ۷ برگی گیاه بود. پس از انجام تیمارها گیاهان برای مدت ۳ روز در دمای صفر درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از سه روز نگهداری در دمای گلخانه، شاخص‌های مختلفی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که به‌جز برای قندهای محلول و پرولین برگ در سایر موارد تفاوتی بین دو روش کاربرد هورمون مشاهده نشد. برای تمام صفات تیمارهای هورمونی تأثیر معنی‌داری نشان دادند. اما به‌دلیل اثر متقابل معنی‌دار بین تیمار هورمونی و روش کاربرد، اثر هورمون تحت تأثیر روش کاربرد قرار گرفت. غلظت $0/5$ میلی‌مولاو سالیسیلیک اسید، به روش خاک مصرف، سبب کاهش علائم ظاهری سرمآذگی و افزایش کلروفیل نسبی، فلورسانس کلروفیل، قندهای محلول و پرولین برگ در مقایسه با شاهد گردید. لذا تحمل گیاهان را در مقابل سرما نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. در بین غلظت‌های متیل جازمونات کاربرد غلظت $0/0/1$ میلی‌مولاو سبب کاهش علائم سرمآذگی و افزایش فلورسانس کلروفیل نسبت به شاهد شد و تنها به روش خاک مصرف سبب افزایش کلروفیل **a** و **b** و قندهای محلول گردید و در افزایش مقاومت به سرمای گیاهان بهتر از سایر غلظت‌ها عمل کرد.

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

۱ و ۲. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

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

مقدمه

در ابتدا به منظور تعیین حدود دمای سرمazدگی در فلفل دلمه‌ای گلخانه‌ای رقم امیلی آزمایش مقدماتی انجام گردید. به این منظور ابتدا بذور فلفل دلمه‌ای در اواسط اسفند ماه ۱۳۸۸ در سینی‌های کاشت محتوی (پیت ۲۰٪ + پرلایت ۸۰٪) کاشته شدند. پس از طی ۳۵ روز از تاریخ کاشت گیاهان به گلدان منتقل شدند. در هر گلدان ۲ بوته کاشته شد. پس از استقرار گیاهان و رسیدن به مرحله ۹-۷ برگی، آزمایش مقدماتی شروع گردید. به این منظور تعداد ۵ گلدان در هر یک از دماهای ۳، ۱/۵، ۱، ۰/۵ و صفر درجه سانتی‌گراد به منظور تعیین دمای مناسب برای بروز علائم سرمazدگی ظاهری برای ۲ تا ۳ شبانه روز قرار گرفتند. در نهایت دمای صفر درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای مناسب برای بروز علائم سرمazدگی ظاهری انتخاب شد.

آزمایش اصلی به صورت فاکتوریل 2×4 در ۷ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. فاکتور اول شامل سالیسیلیک اسید در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار و متیل جازمونات در سه غلظت ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌مولار همراه با یک شاهد (آب مقطر) و فاکتور دوم شامل دو روش محلول‌پاشی و خاک مصرف این ترکیبات در مرحله ۹-۷ برگی گیاه بود. روش خاک مصرف ریختن ۲۰ میلی‌لیتر از محلول پای بوته‌ها بود. نشاء‌های ۴-۵ برگی فلفل دلمه‌ای گلخانه‌ای رقم امیلی از مجتمع گلخانه‌های پر دیس خریداری گردید. سپس بوته‌ها در گلدان‌های به قطر ۹ سانتی‌متر حاوی بستر مخلوط خاک، پرلایت و پیت (با نسبت حجمی ۱:۴:۵) کاشته شدند. در هر گلدان ۳ گیاه کاشته شد. آبیاری گلدان‌ها به صورت مرتب و هر دو روز یکبار صورت پذیرفت. گیاهان در مرحله ۹-۷ برگی در نیمه شهریورماه ۱۳۸۹ در معرض تیمارهای متیل جازمونات و سالیسیلیک اسید قرار گرفتند. دو روز پس از انجام تیمارها، گیاهان برای ۳ روز در دمای صفر درجه نگهداری و پس از آن به گلخانه ($20^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$) و رطوبت نسبی $5 \pm 75\%$ انتقال یافته و ۳ روز بعد شاخص‌هایی

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

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

میزان جذب نور در دو طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردید و محتوای کلروفیل a و b به ترتیب از طریق رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه گردید (۱).

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

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

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

نتایج

علائم ظاهری سرمازدگی

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

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

نظیر علائم ظاهری سرمازدگی، فلورسانس کلروفیل، کلروفیل نسبی، قندهای محلول و پرولین اندازه‌گیری شدند. برای تعیین میزان علائم ظاهری سرمازدگی در گیاهان، تمامی گیاهان فلفل دلمه‌ای بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ طبقه‌بندی شدند (۱- بدون هیچ‌گونه علائم قابل رویت -۲- ملایم: مناطق نکروزه کوچک برروی شاخساره‌ها ولی بدون محدودیت رشدی (مناطق نکروزه سطح برگ کمتر از ۰/۵) -۳- مناطق نکروزه روی شاخساره‌ها (نکروزه شدن ۲۵ - ۰/۵٪ سطح برگ) -۴- شدید: مناطق نکروزه گسترده و کاهش رشد شدید (نکروزه شدن ۵۰ - ۰/۲۶٪ سطح برگ ولی گیاه هنوز زنده است) -۵- مرگ: نکروزه شدن کامل گیاه و افتادن آن). پس از امتیاز دادن بر حسب ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵، میانگین آسیب‌ها برای هر تیمار محاسبه شد (۱۴).

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

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

همچنین به‌منظور تعیین میزان کلروفیل a و b نمونه‌های برگی با ۱۰ میلی لیتر از استون ۸۰٪ مخلوط گردید و به خوبی در هاون چینی له گردید و توسط کاغذ صافی، فیلتر شد. سپس

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

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	تحاک مصرف	محلولپاشی روی بوته	
۲/۷۰۰ ^A	۳/۴۱۳ ^{a-c}	۳/۹۱۵ ^a	شاهد (صفر)
۲/۴۵۰ ^B	۲/۶۸۵ ^{a-d}	۲/۱۳۶ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۲/۷۸۷ ^B	۲/۹۳۲ ^{a-d}	۲/۶۴۲ ^{a-d}	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۲/۵۸۲ ^B	۲/۱۶۷ ^{cd}	۲/۹۹۷ ^{a-c}	متیل جازمونات (۰/۱)
۲/۴۱۴ ^B	۲/۳۳۰ ^{cd}	۲/۵۲۶ ^{b-d}	سالسیلیک اسید (۰/۱)
۲/۶۶۳ ^B	۱/۶۹۰ ^d	۳/۶۳۶ ^{ab}	سالسیلیک اسید (۰/۵)
۲/۸۲۱ ^B	۳/۱۰۲ ^{a-c}	۲/۵۴۰ ^{b-d}	سالسیلیک اسید (۱)
میانگین		۲/۶۲۲ ^A	۲/۳۹۱ ^A

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

علائم ظاهری بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ می‌باشد:

۱- بدون علائم: بدون هیچ‌گونه علائم قابل رویت

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

۳- مناطق نکروزه روی ساخساره‌ها (نکروزه شدن ۲۵ - ۵٪ سطح برگ)

۴- شدید: مناطق نکروزه گسترده و کاهش رشد شدید (نکروزه شدن ۵ - ۲۶٪ سطح برگ ولی گیاه هنوز زنده است)

۵- مرگ: نکروزه شدن کامل گیاه و افتادن آن

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (جدول ۲) نشان داد که بین تیمارهای هورمونی اثر تیمارهای متیل جازمونات ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار و سالسیلیک اسید ۰/۰۵ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد معنی‌دار گردید و میزان شاخص FV/FM

بالاتری را نسبت به تیمار شاهد دارند بدین معنی که تنش سرما تأثیر کمتری بر آنها داشته است. بالاترین شاخص FV/FM مربوط به تیمار سالسیلیک اسید ۰/۰۱ میلی‌مولار بود که از این نظر با هر سه تیمار متیل جازمونات و سالسیلیک اسید ۰/۰۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

اسید ۰/۰۵ میلی‌مولار خاک مصرف بروز علائم ظاهری سرمایزدگی را نسبت به محلولپاشی آن به صورت معنی‌داری کاهش داد.

فلورسانس کلروفیل

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تنها اثر تیمارهای هورمونی بر روی میزان فلورسانس کلروفیل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید، لیکن اثر روش کاربرد و اثر متقابل آن با هورمون روی این صفت معنی‌دار نگردید.

جدول ۲. تأثیر تیمار هورمون بروی کلروفیل نسبی و فلورسانس کلروفیل در بوته های فلفل دلمه ای رقم امیلی پس از دریافت سرما*

تیمار (میلی مول در لیتر)	کلروفیل نسبی (SPAD)	فلورسانس کلروفیل (FV/FM)
شاهد (صفر)	۶/۵۰ ^c	۰/۷۴۳ ^c
متیل جازمونات (۰/۰۰۱)	۷/۹۴ ^{ab}	۰/۷۸۷ ^a
متیل جازمونات (۰/۰۱)	۸/۸۵ ^a	۰/۷۸۳ ^{ab}
متیل جازمونات (۰/۱)	۸/۵۱ ^a	۰/۷۶۷ ^{a-c}
سالسیلیک اسید (۰/۱)	۷/۸۰ ^{ab}	۰/۷۸۹ ^a
سالسیلیک اسید (۰/۵)	۷/۸۰ ^{ab}	۰/۷۷۰ ^{a-c}
سالسیلیک اسید (۱)	۷/۱۵ ^{bc}	۰/۷۵۲ ^{bc}

*: در هر ستون میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

روش خاک مصرف نسبت به شاهد موجب افزایش کلروفیل a در گیاهان سرما دیده شدند. همچنین بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار سالسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار در روش محلول پاشی بود که با شاهد تفاوت معنی داری را نشان داد. اثر متقابل معنی دار بین تیمار هورمون و روش کاربرد نشان داد که تأثیر هورمون تابع روش کاربرد است. برای مثال در حالی که متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی مولار در روش محلول پاشی در مقایسه با شاهد تأثیر معنی داری روی کلروفیل a نداشت، استفاده خاک مصرف آن به صورت معنی داری سبب افزایش کلروفیل a در برگ ها گردید.

کلروفیل b

آنالیز واریانس داده ها نشان داد که تأثیر هورمون و اثر متقابل آن با روش کاربرد روی کلروفیل b در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار گردید در حالی که اثر روش کاربرد معنی دار نگردید.

مقایسه میانگین ها (جدول ۴) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به تیمار سالسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار به روش خاک مصرف بود که در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری نشان داد. اما به دلیل اثر متقابل بین تیمار هورمون و روش کاربرد، محلول پاشی سالسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار

کلروفیل نسبی

آنالیز واریانس داده ها نشان داد که تنها اثر تیمارهای هورمونی بروی کلروفیل نسبی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید، اما اثر روش کاربرد و اثر متقابل آن با تیمارهای هورمونی روی این صفت معنی دار نگردید.

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمون (جدول ۲) نشان داد که تمامی گیاهانی که تیمارهای هورمون دریافت کردند میزان کلروفیل نسبی بیشتری نسبت به شاهد دارند که برای تمامی تیمارها به جز تیمار سالسیلیک اسید ۱ میلی مولار این افزایش معنی دار است. بیشترین میزان کلروفیل نسبی در تیمار متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی مولار مشاهده شد (۸/۸۵) که با تیمارهای ۰/۰۰۱ و ۰/۱ میلی مولار متیل جازمونات و ۰/۰۵ میلی مولار سالسیلیک اسید تفاوت معنی داری ندارد. کمترین میزان کلروفیل نسبی در تیمار شاهد مشاهده شد.

کلروفیل a

آنالیز واریانس داده ها نشان داد که تأثیر هورمون و اثر متقابل آن با روش کاربرد در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید لیکن اثر روش کاربرد معنی دار نگردید.

مقایسه میانگین ها (جدول ۳) نشان داد که تیمارهای متیل جازمونات ۰/۰۱ و سالسیلیک اسید ۰/۰۵ میلی مولار در

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

روش کاربرد				
میانگین	خاک مصرف	محلول‌پاشی روی بوته	تیمار (میلی‌مول در لیتر)	
۹/۱۴۱ ^C	۸/۶۶۳ ^d	۹/۷۸۰ ^{b-d}	شاهد (صفر)	
۹/۱۷۰ ^C	۹/۷۰ ^{b-d}	۸/۴۶ ^d	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)	
۱۰/۹۴۷ ^{A-C}	۱۲/۳۹۸ ^{ab}	۹/۴۹۸ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۱)	
۱۱/۱۴۸ ^{AB}	۱۰/۳۲۰ ^{a-d}	۱۱/۹۷۷ ^{a-c}	متیل جازمونات (۰/۱)	
۱۱/۴۵۷ ^{AB}	۱۲/۳۵۵ ^{ab}	۱۰/۵۶ ^{a-d}	سالسیلیک اسید (۰/۱)	
۱۲/۶۱۶ ^A	۱۲/۳۴۳ ^{ab}	۱۲/۸۹۰ ^a	سالسیلیک اسید (۰/۵)	
۱۰/۴۳۰ ^{BC}	۱۱/۲۶۸ ^{a-d}	۹/۳۱۳ ^{cd}	سالسیلیک اسید (۱)	
میانگین		۱۱/۰۷۵ ^A	۱۰/۸۲۰ ^A	میانگین

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

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

روش کاربرد				
میانگین	خاک مصرف	محلول‌پاشی روی بوته	تیمار (میلی‌مول در لیتر)	
۳/۸۷۲ ^B	۳/۶۹۵ ^e	۴/۱۱۰ ^{a-e}	شاهد (صفر)	
۳/۹۲۸ ^B	۳/۰۷۵ ^{b-e}	۳/۷۸۲ ^{ed}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)	
۴/۴۷۶ ^{AB}	۴/۹۹۵ ^{ab}	۳/۹۵۷ ^{b-e}	متیل جازمونات (۰/۰۱)	
۴/۵۴۸ ^{AB}	۴/۰۰۳ ^{a-e}	۵/۰۹۳ ^a	متیل جازمونات (۰/۱)	
۴/۴۲۲ ^{AB}	۴/۷۳۵ ^{a-e}	۴/۱۱۰ ^{a-e}	سالسیلیک اسید (۰/۱)	
۴/۸۹۵ ^A	۴/۹۳۰ ^{a-c}	۴/۸۶۰ ^{a-d}	سالسیلیک اسید (۰/۵)	
۴/۱۶۷ ^{AB}	۴/۴۲۵ ^{a-e}	۷/۸۲۳ ^{c-e}	سالسیلیک اسید (۱)	
میانگین		۴/۴۰۳ ^A	۴/۲۱۰ ^A	میانگین

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

ضمناً در روش محلول‌پاشی هیچ‌کدام از تیمارها با شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند.
قندهای محلول آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار هورمون، روش

روی بوته‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین در حالی که متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی‌مollar به روش خاک مصرف تأثیر معنی‌داری روی افزایش کلروفیل b در بوته‌هایی که سرما را تجربه کرده بودند در مقایسه با شاهد داشت، در روش محلول‌پاشی روی بوته‌ها تفاوت معنی‌دار با شاهد نشان نداد.

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

میانگین	روش کاربرد		تیمار (میلی مول در لیتر)
	محلول پاشی روی بوته	خاک مصرف	
۵/۰۳۸ ^D	۶/۹۰۴ ^{cd}	۲/۵۵۰ ^d	شاهد (صفر)
۹/۷۴۴ ^{BC}	۸/۴۶۸ ^{bc}	۱۱/۰۱۹ ^{bc}	متیل جازمونات (۰/۰۰۱)
۱۰/۲۷۵ ^{BC}	۱۳/۳۷۵ ^{ab}	۷/۱۷۶ ^{cd}	متیل جازمونات (۰/۰۱)
۷/۲۸۴ ^{CD}	۶/۱۱۳ ^{cd}	۸/۴۵۵ ^{bc}	متیل جازمونات (۰/۱)
۱۰/۷۷۴ ^{BC}	۱۳/۶۱۴ ^{ab}	۶/۹۲۹ ^{cd}	سالسیلیک اسید (۰/۱)
۱۴/۱۹۰ ^A	۱۶/۶۳۹ ^a	۱۲/۳۵۳ ^{ab}	سالسیلیک اسید (۰/۵)
۱۲/۶۴۲ ^{AB}	۱۲/۶۴۷ ^{ab}	۱۲/۶۳۹ ^{ab}	سالسیلیک اسید (۱)
	۱۱/۱۱۳ ^A	۸/۹۸ ^B	میانگین

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

گردید. اثر متقابل آن دو نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که روش

محلول پاشی روی بوته نسبت به روش خاک مصرف میزان پرولین را به صورت معنی داری افزایش داد. همچنانی به دلیل معنی دار بودن اثر متقابل هورمون و روش کاربرد بر خلاف اینکه در مجموع محلول پاشی روی بوته میزان پرولین را در مقایسه با روش خاک مصرف به صورت معنی داری افزایش داد ولی در برخی از تیمارها از جمله تیمارهای سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی مولار تفاوتی بین این دو روش مشاهده نشد. همچنانی بیشترین میزان پرولین در تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار به روش محلول پاشی به دست آمد که با تیمار سالیسیلیک اسید ۱/۰ میلی مولار به روش محلول پاشی تفاوت معنی داری، نشان دادند.

بحث

علمائی ظاہری سرمادگی

همان‌گونه که در نتایج نشان داده شد تمامی تیمارهای هورمونی به صورت معنی‌داری میزان بروز علائم سرمایزدگی را نسبت به

کاربرد و اثر متقابل تیمار هورمون با روش کاربرد بر روی
قندهای محلول برگ‌های فلفل دلمهای در سطح احتمال ۱
درصد معنی دار است.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) نشان داد که بیشترین میزان قندهای محلول مربوط به گیاهانی بود که تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار به روش خاک مصرف دریافت کردند. که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد، اما با متیل جازمونات ۱/۰ میلی‌مولار به روش خاک مصرف تفاوت معنی‌دار نشان نداد. همچنین خاک مصرف هورمون نسبت به محلول پاشی روی بوته موجب افزایش قندهای محلول شد. اما به دلیل اثر متقابل معنی‌دار بین هورمون و روش کاربرد آن میزان اثر هورمون‌ها در دو روش متفاوت بود. برای مثال در حالی که متیل جازمونات ۱/۰ میلی‌مولار به روش محلول پاشی موجب افزایش معنی‌دار قندهای محلول در مقایسه با شاهد گردید، خاک مصرف آن میزان قندهای محلول را در مقایسه با شاهد تغییر معنی‌دار نداد.

پرولیز

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر هورمون و اثر روش کاربرد آن در سطح احتمال ۱ درصد روی میزان پرولین معنی‌دار

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

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

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

فلورسانس کلروفیل

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

در این پژوهش هورمون‌های سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات نسبت F_V/F_m را در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط تنفس سرما افزایش دادند. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران مطابقت دارد. جاندا و همکاران (۹) گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید $5/0$ میلی مولار در گیاه ذرت در شرایط تنفس سرما نسبت F_V/F_m را افزایش داده است.

شاهد کاهش داد (جدول ۱). کمترین میزان بروز علائم سرمازدگی در تیمار سالسیلیک اسید ۱/۰ میلی مولار مشاهده شد.

سناراتنا و همکاران (۲۲) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید در غلظت‌های $0/1$ و $0/5$ میلی‌مولار موجب زنده ماندن و بقای گیاهان لوپیا و گوجه‌فرنگی پس از سرمازدگی شده است. درحالی‌که گیاهان شاهد پس از تجربه سرما از بین رفته‌ند. سناراتنا و همکاران (۲۳) نیز گزارش کردند که سالیسیلیک اسید و مشتقات آن در غلظت‌های کم موجب بقای گیاهان لوپیا و گوجه‌فرنگی در سرما نسبت به گیاهان شاهد شدند. یانگ و همکاران (۲۸) نیز نشان دادند که سالیسیلیک اسید 1 میلی‌مولار مقاومت به سرما را در گیاهان هندوانه افزایش می‌دهد اگرچه غلظت‌های بالاتر سالیسیلیک اسید میزان مقاومت به سرما را کم کرده بود. لی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که کاربرد متیل جازمونات در غلظت $0/01$ میلی‌مولار در برنج میزان بقای برنج در مقابل سرما را افزایش داده است. بنابراین نتایج به‌دست آمده در پژوهش ما روی فلفل دلمه‌ای با گزارش‌های عنوان شده توسط سایر پژوهشگران روی گیاهان دیگ همراه بودند.

پروتئین‌ها نقش تنظیم اسمزی را برای یاخته ایفا می‌کند (۱۲). بنابراین با افزایش قندهای محلول تحمل به سرما نیز باید افزایش یابد ضمناً همین تیمارها بروز علاطم سرمایشی را کاهش دادند (جدول ۱). باغبانها و همکاران (۳) نیز گزارش کردند که کاربرد سالسیلیک اسید $0/5$ میلی‌مولار در دانه‌الهای لیمو در تنش یخ‌زدگی توانست به صورت معنی‌داری میزان قندهای محلول را افزایش دهد.

پرولین

همه تیمارهای هورمونی میزان پرولین برگ را نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۶). بیشترین میزان پرولین برگ در تیمارهای سالسیلیک اسید $0/1$ و $0/5$ میلی‌مولار مشاهده شد. باغبانها و همکاران (۳) گزارش نمودند که میزان اسید آمینه پرولین در اثر کاربرد سالسیلیک اسید $0/5$ میلی‌مولار به صورت معنی‌داری در شرایط سرد افزایش یافته است. در گیاهان سویا نیز هنگامی که در معرض دمای سرمایشی 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته‌اند میزان پرولین در آنها افزایش یافته است (۲۷). محتوای پرولین در گیاهان سازگار شده به سرما بیشتر از گیاهان غیر سازگار گزارش شده است. 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 (۱۳).

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع برای تمام صفات اندازه‌گیری شده مرتبط با تحمل به سرما، کاربرد سالسیلیک اسید و متیل جازمونات در مقایسه با شاهد اثر مثبت نشان دادند و تحمل به سرما گیاهان فلفل دلمه‌ای را افزایش دادند. البته این اثرات در مواردی وابسته به روش مصرف هورمون بود و به‌جز برای دو صفت میزان قندهای محلول و پرولین برگ، دو روش مصرف محلول‌پاشی روی بوته و ریختن محلول پای بوته تفاوتی نداشتند.

کلروفیل

همه تیمارها کلروفیل نسبی را در مقایسه با شاهد در شرایط سرما افزایش دادند (جدول ۲). این نتایج، با نتایج گزارش شده توسط دیگر محققان مطابقت دارد. کاربرد سالسیلیک اسید در رویارویی با تنفس‌هایی همانند خشکی و شوری توانسته است در حفظ کلروفیل مؤثر باشد و سرعت فتوستز را افزایش دهد و یا خسارت به کلروفیل a و کارتوئیدها را کاهش دهد (۲۴ و ۲۵). هم‌چنین کاربرد سالسیلیک اسید بروی گیاهان برگی شلغم سفت (*Brassica napus*) محتوای کلروفیل را در آنها بهمود بخشیده است. مشابه آن خیساندن بذرهای گندم در سالسیلیک اسید موجب افزایش پیگمانهای کلروفیل شده است ولی با افزایش غلظت سالسیلیک اسید میزان پیگمانهای کلروفیل کاهش یافته است (۲). در آزمایش حاضر نیز تأثیر غلظت بالای سالسیلیک اسید (۱ میلی‌مولار) کمتر بوده است.

اگرچه در مورد اثر متیل جازمونات در جلوگیری از کاهش کلروفیل ناشی از تنش سرما کمتر مطالعه شده است لیکن در مورد کاهش تنش شوری متیل جازمونات مفید بوده است. یون و همکاران (۲۹) گزارش کردند که کاربرد متیل جازمونات در گیاهان سویا به میزان معنی‌داری میزان کلروفیل را در آنها تحت شرایط تنش شوری افزایش داده است. تیسونو و همکاران (۲۶) گزارش نمودند تیمار گیاهان جو با 25 میکرومولار از جازمونیک اسید از تنش وارد کردن به سیستم‌های فتوستزی پس از انتقال به محلول کلرید سدیم به میزان 100 میلی‌مولار جلوگیری نموده است.

قندهای محلول

سالسیلیک اسید و متیل جازمونات میزان قندهای محلول را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار سالسیلیک اسید $0/5$ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۵). تحقیقات نشان داده است بروز تحمل به تنش با تغییر در مواد اسمزای درون یاخته همراه است که تیمار با سالسیلیک اسید با تحریک هیدرولیز قندهای نامحلول یا

منابع مورد استفاده

1. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 24: 1-15.
2. Ananieva, E. A., V. S. Alexieva and L. P. Popova. 2002. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis . *Journal of Plant Physiology* 159: 685-693.
3. Baghbanha, M., R. Fotohi Ghazvini, A. Hatamzade and M. Heidari. 2005. Effect of salicylic acid on freezing tolerance of mexican lime seedling (*Citrus aurantifolia*). *Iranian Journal of Horticulture Science and Technology* 8: 185-198. (In Farsi).
4. Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil Plant and Soil* 39: 205-207.
5. Ding, C. K., C. Y .Wang, K. C. Gross and D. L. Smith. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Journal of Plant Science* 161: 1153-1159.
6. Ding, C. K., C. Y. Wang, K. C. Gross and D. L. Smith. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214: 895-901.
7. Dubios, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Journal of Analytical Chemistry* 28: 350-356.
8. Jackman, R. L., R. Y. Yada, A. Marangoni, K. L. Parkin and D. W. Stanley. 1988. Chilling Injury. A review of quality aspects. *Journal of Food Quality* 11: 253-278.
9. Janda, T., G. Szalai, I. Tari and E. Pa'ldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effect of chilling injury in maize (*Zea mays L.*) plants. *Planta* 208: 175-180.
10. Janda, T., G. Szalai, Z. S. Antunovics, E. Horva'th and E. Pa'ldi. 2000. Effect of benzoic acid and aspirin on chilling tolerance and photosynthesis in young maize plants. *Maydica* 45: 29-33.
11. Kang, H. M. and M. E. Saltveit. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Journal of Plant Physiology* 115: 571-576.
12. Kafi, M. and A. Mahdavi Damghani. 2002. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants (Translated). Published by Ferdowsi University Mashhad. Mashhad.
13. Koc, E., C. Islek and A. S. Ustun. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum L.*) varieties. *Journal of Science* 23 :1-6.
14. Korkmaz, A., M. Uzunlu and A. R. Demirkiran. 2007. Acetyl salicylic acid alleviates chilling-induced damage in muskmelon plants. *Candaian Journal of Plant Science* 87: 581-585.
15. Lee, T. M., H. S. Lur, Y. H. Lin and C. Chu. 1996. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate-induced chilling tolerance of rice (*Oryza sativa L.*) seedlings. *Plant Cell and Environment* 19: 65-74.
16. Mangrich, M. E. 2000. Effects of abiotic shocks on the induction of chilling tolerance in seedling. PhD.Thesis, Graduate Division. California State University.
17. Martinez, J., S. Lutts, A. Schanck, M. Bajji and J. Kinet. 2004. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub (*Atriplex halimus L.*). *Journal of Plant Physiology* 161: 1041-1051.
18. Mora-Herrera, M. E., H. Lopez-Delgado, A. Castillo-Morales and C. H. Foyer. 2005. Salicylic acid and H₂O₂ function by independent pathways in the induction of freezing tolerance in potato. *Journal of Plant Physiology* 125: 430-440.
19. Oliveira, G. and A. Penuelas. 2000. Comparative Photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex L.*) and semi-deciduous (*Cistus albidus L.*) Mediterranean woody species. *Acta Oecologica* 21: 97-107.
20. Percival, G. and A. Henderson. 2003. An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. *Arboriculture* 24: 19-27.
21. Rhodes, D., P. E. Verslues and R. E. Sharp. 1999.“Role of aminoacids in abiotic stress resistance, In: Plant Aminoacids Biochemistry and Biotechnology, Sing”, BK. Marcel Dekker, Newyork.
22. Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
23. Senaratna, T., D. Merritt, K. Dixon, E. Bunn, D. Touchell and K. Sivasithamparam .2003. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants. *Plant Growth Regulation* 39: 77-81.
24. Singh, B. and K. Usha. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedling under water stress. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141.

25. Tari, I., J. Csizar, G. Szalai, F. Horvath, A. Pecsaradi, G. Kiss, A. Szepesi, M. Szabo and L. Erdei. 2002. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pretreatment. *Acta Biology Szegediensis* .46: 55-56.
26. Tsonev, T. D., G. N. Lazova, Z. G. Stoinova and L. P. Popova. 1998. A possible role for jasmonic acid in adaptation of barley seedlings to salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 17: 153-159.
27. Yadegari, L. Z., R. Heidari and J. Carapetian. 2007. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Journal of Biological Sciences* 7: 1436-1141.
28. Yang, J. H., G. Yuan, L. Y. Man, Q. X. Hua and Z. M. Fang. 2008. Salicylic acid-induced enhancement of cold tolerance through activation of antioxidative capacity in watermelon. *Scientia Horticulturae* 118: 200-205.
29. Yoon, J. Y., M. Hamayun, S. K. Lee and I. J. Lee. 2009. Methyl jasmonate alleviated salinity stress in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology* 12: 63-68.

Effects of Methyl Jasmonate and Salicylic Acid on Increasing Cold Tolerance of Bell Pepper (cv.Emily) Seedlings

Y. Moradmand¹, M. Mobli^{2*} and A. A. Ramin²

(Received: Sep. 4-2012; Accepted: May. 3-2014)

Abstract

Among the chemicals that their effects on reducing chilling injury has recently been studied are salicylates and jasmonates. Therefore, in this study the effects of salicylic acid and methyl jasmonate on increasing the cold tolerance of bell pepper cv.Emily was examined. Experiment was done as 7×2 factorial in the completely randomized design (CRD) with four replications. The first factor contains salicylic acid in three concentrations of 0.1, 0.5 and 1 mM and methyl jasmonate at the rates of 0.001, 0.01 and 0.1 mM plus control (distilled water) and the second factor involved application of hormone, spraying whole plant and soil drenching. Treatments were applied at 7-9 leaves stage. After application of hormones, plants moved to 0° centigrade for 3 days and then returned back to greenhouse temperature. Three days later different factors were measured. Results showed that except for soluble sugars and leaf proline there was no significant differences between two methods of hormone application. For all traits application of hormone showed significant effects but due to significant interactions between hormone and application method, the effect of hormone treatment depends on by method of application. Drenching 0.5 mM salicylic acid reduced chilling injury (necrotic lesions) and increased chlorophyll fluorescence (F_v/F_m), chlorophyll content, soluble sugars and leaf proline, compared to untreated plants thus improved cold tolerance. Methyl jasmonate in the rate of 0.01 mM reduced chilling injury and increased chlorophyll fluorescence in comparison with control but only when used as drench increased chlorophyll a and b and soluble sugars. So increased cold tolerance better than other two concentrations.

Keywords: Bell pepper, Chilling injury, Methyl Jasmonate, Salicylic Acid.

1, 2. Former MSc. Student and Professor of Horticultural Sciences, Respectively, Department of Horticultural College of Agricultural, Isfahan University Technology, Isfahan, Iran

*: Corresponding Author, Email: mobli@cc.iut.ac.ir