اثر تیمارهای مقاوم‌سازی بر تحمل تنش سرما در نشا خیار

فردین قنبری*[1]، سجاد کردی[2]

تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۳/۸
تاریخ پذیرش : ۱۳۹۶/۱۰/۲۴

چکیده

تنش سرمایی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و نمو گیاهان مناطق گرمسیری مانند خیار در اوایل فصل رشد می‌باشد. در این تحقیق امکان مقاوم‌سازی به سرما در نشا خیار با پیش تیمار دمایی و خشکی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور ارقام خیار (سوپر دامینوس و سوپر استار) و پنج تیمار مقاوم‌سازی (شاهد، دمای ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و تنش خشکی با استفاده از ۱۰ و ۲۰ درصد پلی‌اتیلن گلیکول در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. پس از اعمال تیمارهای مقاوم‌سازی و فرصت ۴۸ ساعته بازیابی، نشاها در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ روز و هر روز ۶ ساعت قرار گرفتند. نتایج نشان داد که مقاوم‌سازی سبب افزایش رشد نشا در شرایط تنش سرمایی شد. همچنین تیمار مقاوم‌سازی میزان کلروفیل، نسبت کلروفیل a/b، رطوبت نسبی، پرولین و پراکسید هیدروژن نشاها را افزایش و میزان نشت یونی را کاهش دادند. در بیشتر صفات مورد ارزیابی اختلاف آماری معنی‌داری بین ارقام مشاهده نشد. بیشترین تحمل سرمایی در پیش‌تیمار ۱۰ و ۲۰ درصد PEG به دست آمد. به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که اعمال پیش تیمار مقاوم‌سازی با تنش سرمایی و تنش خشکی می‌تواند آثار سوء تنش سرمایی بر نشا خیار را کاهش دهد.

واژه های کلیدی: *پراکسید هیدروژن، پرولین، پلی‌اتیلن گلیکول، خوگیری، مقاوم‌سازی.*

مقدمه

تنش‌های محیطی از دلایل اولیه کاهش عملکرد محصولات کشاورزی در سراسر دنیا هستند که منجر به کاهش ۵۰ درصدی عملکرد در بسیاری از گیاهان می‌شوند (Sharma *et al*., 2012). پیش‌بینی می‌شود که با توجه به تغییرات آب و هوایی، اثر تنش بر گیاهان در آینده نزدیک افزایش‌یافته و اثر سوء بیشتری بر گیاهان بگذارد. از طرف دیگر با توجه به افزایش سریع جمعیت دنیا تا سال ۲۰۵۰ تولید غذا باید دو برابر شود تا بتواند نیازهای غذایی انسان تأمین شود (Tilman *et al*., 2002). بنابراین، اصلاح و توسعه ارقام متحمل به تنش نگرانی اصلی بسیاری از برنامه‌های اصلاحی در گیاهان برای تضمین امنیت غذایی بشر است. نکته

۱-باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم‌آباد، خرم‌آباد، ایران.
*(نویسنده مسئول: F.ghanbari63@gmai.com)

کلیدی در این مورد، شناخت صحیح تغییرات سلولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان در پاسخ به شرایط تنش می‌باشد تا به‌وسیله آن بتوان راهکار و امکانات جدیدی را برای بهبود تحمل تنش در گیاهان فراهم آورد (Hossain *et al*., 2016).

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. گیاهی است یک‌ساله و از خانواده کدوئیان، که دوره رشد آن ۸۵ تا ۹۰ روز می‌باشد. عده‌ای این گیاه را بومی نواحی گرم شمال شرقی هندوستان می‌دانند و گروهی معتقدند که نوع خودروی آن در ارتفاعات هیمالیا یافت شده است (پیوست، ۱۳۸۸). خیار از جمله مهم‌ترین سبزی‌های تولیدی در کشور ایران می‌باشد. بر اساس آخرین آمار منتشرشده تولید خیار در ایران در سال ۲۰۱۶ بیش از ۱/۷ میلیون تن بوده است که حدود دو درصد تولید جهانی این محصول را به خود اختصاص داده و چهارمین تولیدکننده عمده این محصول در سطح دنیا می‌باشد (FAO, 2016). اگرچه شرایط محیطی در بسیاری از نواحی ایران برای کشت کدوئیان مناسب است، به دلیل نوسانات دمایی در اوایل فصل بهار نشاهای کاشته شده در مزرعه تحت دمای پایین و آسیب سرمازدگی قرار می‌گیرند (Baninasab, 2009). در این حالت با توجه به‌شدت و طول دوره ممکن است سبب توقف رشد، ظهور علائم سرمازدگی، تأخیر در برداشت و در موارد شدیدتر مرگ گیاه شود (جوانمردی، ۱۳۸۸).

تلاش‌های متعددی برای افزایش تحمل گیاهان به تنش سرمایی از طریق روش‌های بیوتکنولوژی، اصلاح ارقام و تغییر شرایط کشت و کار صورت گرفته است (Vinocur & Altman, 2005). گیاهان توانایی اکتساب تحمل سرمایی به‌وسیله پیش تیمار خوگیری دمایی را دارند (Pardossi *et al*., 1987). این فرآیند در گیاهان پدیده پیچیده‌ای است که شامل تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است و شامل کاهش آب از دست‌دهی بافت‌ها، افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش محلول‌های سازگار می‌باشد (Hossain *et al*., 2016). مطالعات گذشته نشان داده است که در معرض قرار گرفتن گیاه با تنش خشکی می‌تواند سبب افزایش تحمل یخزدگی در گیاهان شود. به‌عنوان‌مثال پیش تیمار خشکی در مرحله رویشی گیاه سبب تحمل اثرهای تنش خشکی و تنش گرمایی در مرحله زایشی شد (Wang *et al*., 2015). به‌علاوه گزارش شده است که پیش تیمار خشکی سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تحمل تنش سرمایی در مراحل بعدی رشد می‌شود (Dong *et al*., 2013). علاوه بر این شواهد نشان می‌دهد که تنش خشکی به‌تنهایی و یا به همراه دمای پایین سبب افزایش تحمل سرما در گیاهان مختلف مانند توت‌فرنگی می‌شود (Rajashekar & Panda, 2014). این فرایند تحت عنوان مقاومت تقاطعی به تنش‌های محیطی شناخته شده است به این معنی که در معرض تنش قرار گرفتن گیاهان می‌تواند سبب افزایش تحمل به تنش‌های بعدی شود (Hossain *et al*., 2016).

درحالی‌که مکانیسم مولکولی دقیق این پدیده شناخته‌نشده است، این احتمال وجود دارد که مقاومت تقاطعی بین تنش‌های شوری، خشکی، فلزات سنگین، گرما و سرما به دلیل نتایج مشترک این تنش‌ها بر گیاهان باشد (Li *et al*., 2011). اخیراً، مطالعات گسترده نشان داده‌اند که رادیکال‌های آزاد و به‌خصوص پراکسید هیدروژن فعالیت سیگنالی مهمی در پاسخ به

تنش‌های زیستی و غیرزیستی نشان می‌دهند، این نکته یادآوری می‌کند که این مولکول ممکن است ترکیب مرکزی کنترل‌کننده مقاومت بین تنش‌های محیطی در گیاهان باشد (Iseri *et al*., 2013). با توجه به موارد شرح داده‌شده و لزوم استفاده از روش‌های طبیعی بدون استفاده از مواد شیمیایی برای افزایش تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان، در این تحقیق نقش احتمالی پیش‌تیمار دمایی و خشکی بر تحمل سرمایی نشا خیار و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی وابسته به آن مورد بررسی قرارگرفته است.

مواد و روش‌ها

شرایط کشت و اعمال تیمارها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای موردبررسی در این تحقیق شامل پنج تیمار مقاوم‌سازی شامل بدون مقاوم‌سازی (شاهد)، کاربرد تنش خشکی با پلی‌اتیلن گلیکول ۱۰ درصد، کاربرد تنش خشکی با پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد، پیش تیمار سرمایی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و پیش تیمار سرمایی در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد بر روی دو رقم مشهور خیار مزرعه (سوپر دامینوس و سوپر استار) بودند.

ابتدا بذرهای گیاه خیار (شرکت US Agriseeds) در گلدان‌های کوچک نشایی کشت شدند. محیط کشت مورد استفاده پرلایت و ورمیکولایت (به ترتیب با نسبت ۱ به ۲) بود که پس از اختلاط کامل و شستشوی اولیه به اندازه ۴۰ گرم برای هر چاهک استفاده شد. گلدان‌ها در گلخانه با نور طبیعی و دمای روزانه حدود ۲۵ و شبانه حدود ۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای جلوگیری از کمبود عناصر غذایی آبیاری نشاها به‌صورت یک روز در میان با استفاده از غلظت یک در هزار کود کامل فوسامکو انجام گرفت. پس از سبز شدن نشاها در چند مرحله عمل تنک کردن و حذف نشای غیر یکسان انجام شد و در نهایت درون هر گلدان یک نشا حفظ شد.

در مرحله چهار برگ کاملاً توسعه‌یافته گیاهچه‌های حاصله به مدت دو روز متوالی، تحت پیش تیمار تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول با وزن مولکولی ۶۰۰۰ در دو سطح تنش متوسط (۱۰ درصد PEG، معادل پتانسیل اسمزی ۰/۱۸۳ مگاپاسکال) و تنش شدید (۲۰ درصد PEG، معادل پتانسیل اسمزی ۰/۵۷۷ مگاپاسکال) و یا تیمار سرمایی ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مقادیر موردنیاز PEG برای ایجاد پتانسیل-های اسمزی مورد نظر بر اساس رابطه زیر تعیین شد (Michel & Kaufmann, 1973).

$$\Psi S = -(1.18 \times 10\text{-}2)\, C - (1.18 \times 10\text{-}4)\, C2 + (2.67 \times 10\text{-}4)\, CT + (8.39 \times 10\text{-}7)\, C2T$$

در رابطه فوق، ΨS، C و T به ترتیب پتانسیل اسمزی (بر حسب بار)، غلظت PEG-6000 (گرم در لیتر آب) و درجه حرارت محیط (۲۰ درجه سانتی‌گراد) می‌باشند. برای جلوگیری از تجمع PEG در گلدان‌ها، آبیاری آن‌ها به‌صورت روزانه و با مقدار بیشتر محلول انجام می‌گرفت به‌طوری‌که حدود نصف محلول PEG مورداستفاده به‌صورت زه‌آب از ته گلدان خارج می‌شد. پس از اعمال تیمارها، نشاها به مدت ۴۸ ساعت در گلخانه (بدون تیمار، فرصت بازیابی) قرار گرفتند.

پس از تیمارهای مقاوم‌سازی (خشکی و سرما) و فرصت بازیابی، گیاهچه‌ها تحت تیمار سرمایی قرار گرفتند. برای اعمال تنش سرما گیاهچه‌ها به سردخانه با دمای سه درجه سانتی‌گراد به مدت شش روز و در هر روز به مدت شش ساعت منتقل شدند (Baninasab, 2009). بعد از پایان تیمار سرمایی همه گلدان‌ها به گلخانه با شرایط نور و دما ذکرشده منتقل شدند و پس از ۷۲ ساعت در این شرایط، اندازه‌گیری صفات انجام گرفت (Korkmaz *et al*., 2010).

اندازه‌گیری صفات

برای تعیین وزن تر شاخساره و ریشه ابتدا قسمت هوایی گیاه از سطح محیط کشت قطع شد و وزن تر آن ثبت گردید. ریشه‌ها برای حذف مواد بستر کاشت به‌دقت با آب جاری شسته شدند و پس از خشک کردن با دستمال‌کاغذی برای برداشتن آب سطحی، وزن تر آن‌ها ثبت گردید. میانگین وزن پنج بوته به‌عنوان وزن تر ریشه و شاخساره آن واحد آزمایشی در نظر گرفته شد.

برای تعیین محتوای آب نسبی (RWC) از روش Korkmaz *et al*. 20 استفاده شد. ابتدا تعدادی مساوی برگ رسیده و جوان از هر تکرار انتخاب و جدا گردید. بعد از جدا نمودن برگ‌ها از گیاه بلافاصله نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (FW) و سپس به مدت ۴ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) قرار گرفتند و در این مدت در محیط آزمایشگاهی با دمای تقریبی ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و پس از خشک کردن آب سطحی مجدداً توزین شدند (TW). پس از آن برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون الکتریکی قرار داده شدند. سپس برگ‌ها توزین شدند تا وزن خشک به دست آید (DW). از رابطه زیر، محتوای آب نسبی برگ محاسبه گردید.

$$\mathrm{RWC} = \frac{\mathrm{FW}-\mathrm{DW}}{\mathrm{TW}-\mathrm{DW}} \times 100$$

در رابطه فوق RWC: محتوای آب نسبی بر حسب درصد، FW: وزن تر، TW: وزن آماس و DW: وزن خشک نمونه‌ها می‌باشد.

اندازه‌گیری نشت یونی برگ بر اساس روش Korkmaz *et al*. (2010) انجام شد. برای این منظور تعداد ۱۲ دیسک برگی به‌صورت تصادفی از گیاهان هر تیمار مورداستفاده قرار گرفت. نمونه‌های تهیه‌شده در داخل لوله آزمایش ریخته شد و به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی سه بار با آب مقطر شستشو شدند. سپس در داخل هرکدام از لوله‌های آزمایش مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه، در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میزان نشت یونی محلول با استفاده از دستگاه سنجش هدایت الکتریکی قرائت گردید (EC_1). سپس نمونه‌ها در داخل اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. بعد از سرد شدن در دمای اتاق قرائت دوم محلول (EC_2) انجام گرفت و بر اساس رابطه زیر میزان نشت الکترولیت محاسبه و بر اساس درصد گزارش شد.

$$\text{نشت الکترولیت‌ها} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

در رابطه فوق، EC_1: هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت و EC_2: هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از اتوکلاو می‌باشد.

برای اندازه‌گیری کلروفیل ابتدا مقدار ۰/۱ گرم برگ تازه را با اســتفاده از پنج میلی‌لیتر اســتون ۸۰ درصــد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به‌دست آید. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی با چهار میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و با ا ستفاده از ا سپکتروفتومتر طول‌موج جذبی (A) قرائت، و کلروفیل a، b به ترتیب بر ا ساس روابط زیر محا سبه شد (Strain & Svec, 1966).

$$\text{کلروفیل } a = 12.7(A663) - 2.69(A645)$$

$$\text{کلروفیل } b = 25.8(A645) - 4.68(A663)$$

شاخص خسارت سرمازدگی بر اساس پژمرده شدن، از دست دادن آب و نکروزه شدن برگ‌ها و شاخه‌ها پس از تنش سرمایی بر طبق مقیاس از یک (بدون علایم) تا ۵ (بیش از ۵۰ درصد سطح برگ آسیب ببیند) طبقه‌بندی شد (Baninasab, 2009).

برای استخراج و اندازه‌گیری پرولین از روش Bates *et al*. (1973) استفاده شد. برای این کار ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد (وزنی به حجمی) در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه ساییده شده درون لوله آزمایش ریخته و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش بالایی آن جدا شد. برای اندازه‌گیری میزان پرولین، مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره فوق جدا و داخل لوله آزمایش ریخته شد. به هر نمونه مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و سپس، ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال اضافه گردید. پس از طی مراحل فوق، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند و میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به‌عنوان بلانک قرائت شد. میزان پرولین نمونه‌های برگ بر حسب میکرو مول در گرم وزن تر برگ گزارش گردید.

مقدار پراکسید هیدروژن بر اساس واکنش H_2O_2 با یدید پتاسیم و با استفاده از روش Alexieva *et al*. (2001) اندازه‌گیری شد. در این روش نیم گرم بافت تازه گیاه در تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس به ۵۰۰ میکرو لیتر از عصاره صاف‌شده، ۵۰۰ میکرو لیتر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار و ۲ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی و دمای اتاق

نگهداری شد و پس از آن جذب محلول در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد. با استفاده از منحنی استاندارد غلظت پراکسید هیدروژن بر اساس نانومول بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد.

تجزیه آماری

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق به کمک نرم‌افزار SAS-9.1 تجزیه آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

پارامترهای رشدی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی رقم و تیمار بر وزن تر شاخساره و وزن تر ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. هیچ‌کدام از اثرات متقابل رقم × تیمار بر پارامترهای رشدی معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان داد که رقم سوپر استار نسبت به رقم سوپر دامینوس وزن تر شاخساره و وزن تر ریشه بیشتری داشت (جدول ۲). نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف مقاوم‌سازی تأثیر متفاوتی بر پارامترهای رشدی خیار داشتند. تیمار ۱۰ درصد PEG سبب افزایش معنی‌دار وزن تر شاخساره نسبت به شاهد شد و تیمارهای دیگر تأثیر معنی‌داری بر آن نداشتند. همچنین نتایج نشان داد که کاربرد ۱۰ درصد PEG و دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش و کاربرد ۲۰ درصد PEG سبب کاهش وزن تر ریشه نسبت به شاهد شدند (جدول ۲).

تنش سرما همانند سایر تنش‌های محیطی می‌تواند اثرهای مخربی بر رشد و نمو گیاهان داشته باشد. در گیاهان هنگام قرار گرفتن در دماهای پایین و تنش سرمایی، کاهش کلروفیل، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی رخ می‌دهد و نیز کاهش هدایت روزنه‌ای و در نتیجه کاهش دی‌اکسید کربن، کاهش انتقال الکترون در فتوسنتز، آسیب به ریشه و کاهش جذب عناصر غذایی اتفاق می‌افتد، که همه این عوامل سبب کاهش رشد گیاهان در شرایط تنش سرما می‌شوند (Berova *et al*., 2002). نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار نشا خیار با تنش خشکی و تنش دمایی سبب بهبود رشد آن پس از تنش سرمایی می‌شود. این نتیجه با گزارش Pardossi *et al*. (1987) مطابقت دارد که گزارش کردند تنش خشکی در گوجه‌فرنگی سبب افزایش مقاومت آن به سرما شد و رشد گیاه و میزان عملکرد آن را در شرایط سرد گلخانه افزایش داد. Nayyar *et al*. (2005) نشان دادند که پیش تیمار دمایی ۱۰: ۷ (روز: شب) درجه سانتی‌گراد به مدت شش روز میزان رشد گیاه را در شرایط تنش سرمایی افزایش داد. همچنین گزارش شده است که در گیاه خیار پیش تیمار دمایی با تغییر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب افزایش تحمل و حفظ رشد گیاه در شرایط تنش سرمایی می‌شود (Dong *et al*., 2013). به نظر می‌رسد گیاهانی که تحت پیش تیمار خشکی و دمایی قرار می‌گیرند، میزان رشد طولی ساقه و گسترش برگ‌ها کاهش و تجمع مواد محافظتی در برگ‌های آن‌ها افزایش می‌یابد. این گیاهان

در شرایط تنش رشد بهتری نسبت به گیاهان شاهد خواهند داشت. شرایط پیش‌تیمار (سرما و خشکی) باعث تغییراتی در میزان رشد گیاه می‌شود که ممکن است در آماده‌سازی آن‌ها برای نشاکاری و تحمل شرایط مزرعه مفید باشد (جوانمردی، ۱۳۸۸).

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس صفات موردبررسی در نشا خیار تحت تنش سرما پس از پیش تیمار دمایی و خشکی

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر شاخساره	وزن تر ریشه	محتوای رطوبت نسبی	نشت یونی	کلروفیل a	کلروفیل b	نسبت کلروفیل a/b	پراکسید هیدروژن	پرولین	شاخص سرمازدگی
رقم	۱	۰/۹۵**	۰/۷۸**	۰/۶۹^{ns}	۵/۷۵^{ns}	۰/۰۷۶**	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۲۰*	۲۱/۳۵**	۰/۸۴*	۰/۰۰۸^{ns}
تیمار	۴	۰/۷۵**	۰/۹۰**	۷۷/۸۷**	۵۹/۸۷**	۰/۰۸۳**	۰/۱۰۷**	۱/۰۸**	۲۷/۶۰**	۴/۹۶**	۳/۲۰**
رقم×تیمار	۴	۰/۱۲^{ns}	۰/۱۴^{ns}	۵/۳۰^{ns}	۲/۴۳^{ns}	۰/۰۲۶**	۰/۰۰۹^{ns}	۰/۳۴**	۱/۲۷*	۰/۰۶^{ns}	۰/۰۱^{ns}
خطا	۲۰	۰/۱۰	۰/۰۸	۸/۴۷	۱/۸۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۵	۰/۴۰	۰/۲۱	۰/۰۶
C.V	-	۶/۸۸	۵/۹۷	۳/۴۶	۵/۵۴	۵/۲۳	۱۳/۹۷	۱۰/۴۳	۶/۹۹	۶/۴۳	۱۲/۵۹

ns، * و **به ترتیب فاقد تفاوت معنی‌دار و دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲: نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی رقم و تیمار در گیاه خیار تحت تنش سرما

تیمار	وزن تر شاخساره (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	محتوای رطوبت نسبی (درصد)	نشت یونی (درصد)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	شاخص سرمازدگی (نمره)
سوپر دامینوس	۴/۵۵^{b}	۴/۸۵^{b}	۸۳/۸۹^{a}	۲۳/۸۴^{a}	۰/۴۶^{a}	۶/۹۶^{a}	۲/۰۱^{a}
سوپر استار	۴/۹۱^{a}	۵/۱۷^{a}	۸۴/۱۹^{a}	۲۴/۷۱^{a}	۰/۴۷^{a}	۷/۳۰^{a}	۲/۰۴^{a}
شاهد	۴/۵۴^{bc}	۴/۹۸^{b}	۷۸/۰۸^{b}	۲۹/۶۸^{a}	۰/۳۹^{c}	۶/۰۴^{c}	۳/۳۱^{a}
۱۰ درصد PEG	۵/۲۱^{a}	۵/۳۶^{a}	۸۷/۱۱^{a}	۲۱/۷۷^{c}	۰/۶۷^{a}	۷/۵۲^{b}	۱/۶۱^{b}
۲۰ درصد PEG	۴/۷۸^{b}	۴/۵۶^{c}	۸۴/۴۱^{a}	۲۲/۹۳^{bc}	۰/۵۳^{a}	۸/۴۱^{a}	۱/۵۵^{b}
دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد	۴/۲۶^{c}	۴/۷۲^{bc}	۸۳/۹۶^{a}	۲۴/۳۲^{b}	۰/۳۹^{c}	۷/۱۴^{b}	۱/۸۱^{b}
دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد	۴/۸۴^{ab}	۵/۴۵^{a}	۸۶/۶۰^{a}	۲۲/۶۶^{bc}	۰/۳۴^{c}	۶/۵۵^{c}	۱/۸۵^{b}

میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد هستند.

محتوای آب نسبی برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تیمار در سطح یک درصد بر محتوای آب نسبی برگ معنی‌دار شد. اثر اصلی رقم و اثر متقابل رقم × تیمار بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمار نشان داد که همه تیمارهای مقاوم‌سازی سبب افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی برگ در مقایسه با شاهد شدند. بین تیمارهای مختلف مقاوم‌سازی (خشکی و سرما) اختلاف آماری معنی‌داری برای این صفت مشاهده نشد (جدول ۴).

به‌طورکلی محتوای رطوبت نسبی آب در گیاه معرف بسیار خوبی از وضعیت آبی گیاه است و به‌عنوان شاخص مناسب و مهمی در انتخاب برای مقاومت به تنش‌های محیطی در برنامه‌های مختلف اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاهانی که در پایان تنش بتوانند میزان آب برگ بیشتری را حفظ کنند به لحاظ مقاومت به تنش نیز موفق‌تر خواهند بود. کاهش آب برگ باعث می‌شود که میزان هدایت روزنه‌ای و درنهایت فتوسنتز و فرآوری CO_2 کاهش پیدا کند (حسن‌پور، ۱۳۸۷). در واقع در تنش

سرمایی گیاه دچار تنش خشکی نیز می‌شود که به‌وسیله کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه آغاز و با کاهش پتانسیل آب و فشار آماس برگ ادامه می‌یابد، روزنه‌ها بسته‌شده و تعرق پایین‌تر سبب کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه و در نهایت گیاه دچار کمبود آب می‌شود (Joshi *et al*., 2007). نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار سرمایی و خشکی سبب حفظ رطوبت نسبی برگ‌های خیار پس از تنش سرمایی شد که با یافته‌های Banon *et al*. (2003) در مورد مقاوم‌سازی گیاه خرزهره با استفاده از تنش خشکی و کاهش رطوبت نسبی هوا مطابقت دارد. De Juan *et al*. (1997) گزارش کردند که در گیاه ذرت پیش تیمار خشکی سبب افزایش تحمل گیاه به تنش سرمایی با تأثیر بر روابط آبی گیاه و میزان هورمون آبسزیک اسید می‌شود. به نظر می‌رسد که پیش تیمار خشکی و سرما با تغییر هدایت روزنه‌ها و همچنین کاهش آب بافت‌های گیاهی سبب حفظ رطوبت نسبی و جلوگیری از کاهش بیشتر آب در شرایط تنش سرمایی می‌شود.

نشت الکترولیت‌ها

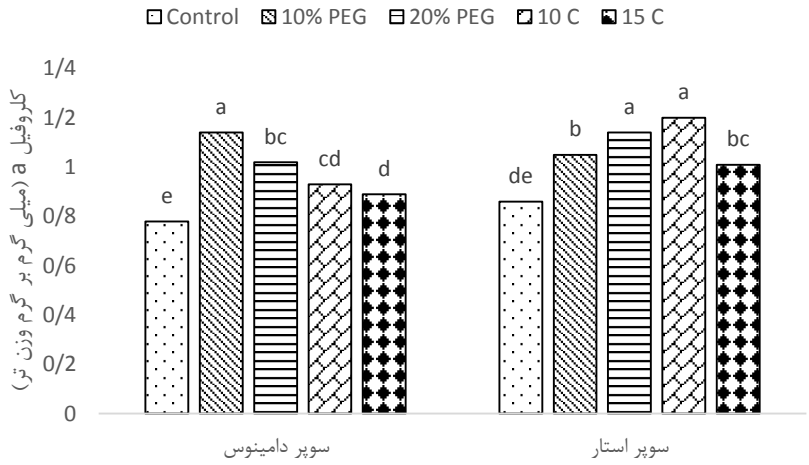
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تیمار در سطح یک درصد بر نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار شد. اثر اصلی رقم و همچنین اثر متقابل رقم × تیمار بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر اصلی تیمار نشان داد که همه تیمارهای بکار رفته سبب کاهش معنی‌دار نشت یونی نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان نشت یونی (۲۱/۷۷ درصد) در تیمار ۱۰ درصد PEG به دست آمد که البته اختلاف آماری معنی‌داری با تیمارهای ۲۰ درصد PEG و دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نداشت. (جدول ۲). به‌طور مشابه Nayyar *et al*. (2005) با بررسی تأثیر پیش تیمار دمایی بر افزایش تحمل به تنش دمای بالا در گیاه نخود گزارش دادند که استفاده از این روش مقاوم‌سازی سبب جلوگیری از آسیب به غشاها در گیاه تحت تنش دمایی می‌شود. Dong *et al*. (2013) نشان دادند که پیش تیمار خشکی با استفاده از PEG به‌طور معنی‌داری سبب حفظ ساختار غشا و کاهش تجمع مالون دی آلدئید در نشاهای خیار تحت تنش سرما شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. تنش سرما همانند سایر تنش‌های زنده و غیرزنده سبب تولید انواع گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS)[1]می‌شود. ROSها می‌توانند به غشاهای سلولی مانند اسیدهای چرب غیراشباع، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها حمله کنند. درنتیجه ویژگی‌هایی چون سیالیت غشا انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئین‌ها را کاهش می‌دهد و باعث مرگ سلولی می‌شوند (Sharma *et al*., 2012). یکی از واکنش‌هایی که در اثر حمله رادیکال‌های آزاد سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پر اکسیداسیون لیپیدهای غشا است که باعث تولید مالون دی آلدئید و افزایش نشت الکترولیت‌ها می‌شود (Sharma *et al*., 2012). ثابت‌شده است که کاهش صدمه به غشا سلولی موجب پایداری بیشتر اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در غشاهای سلولی و تحمل بیشتر به تنش در گیاهان می‌شود

[1] - Reactive Oxygen Species (ROS)

(Maali-Amiri *et al*., 2007). به نظر می‌رسد حفظ ساختار غشا و جلوگیری از افزایش نشت الکترولیت‌ها در نشاهای خیار در اثر تنش سرما، بیانگر فعالیت مکانیسم‌های دفاعی ایجادشده به وسیله پیش تیمار خشکی و سرما می‌باشد.

کلروفیل a و b

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی رقم و تیمار و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد بر کلروفیل a معنی‌دار شد. همچنین اثر اصلی تیمار در سطح یک درصد بر کلروفیل b معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم × تیمار در مورد کلروفیل a نشان داد که همه تیمارهای مقاوم‌سازی در هر دو رقم سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل a نسبت به شاهد شدند. در رقم سوپر دامینوس پیش تیمار خشکی ۱۰ درصد PEG نسبت به تیمارهای دیگر تأثیر بیشتری در افزایش کلروفیل a داشت درحالی‌که در رقم سوپر استار تیمار ۲۰ درصد PEG و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاترین میزان کلروفیل a را نسبت به تیمارهای دیگر داشت (شکل ۱).



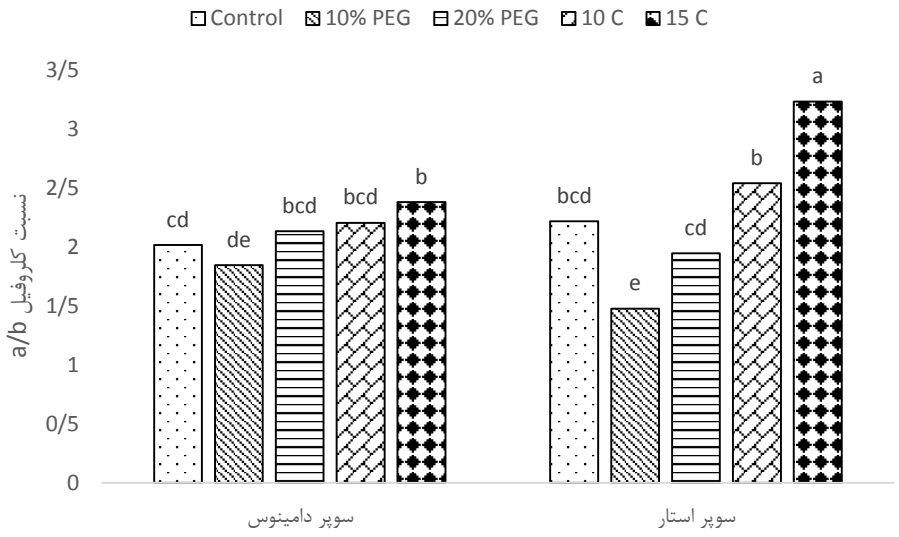
شکل ۱: اثر تیمارهای مقاوم‌سازی بر محتوای کلروفیل a در نشاهای خیار تحت تنش سرما

گزارش‌شده است که تنش سرما سبب اختلال در تولید انواع کلروفیل می‌شود و به کلروپلاست آسیب وارد می‌کند (Hallgren & Oquest, 1990). با کاهش دما فرآیند بیوسنتز کلروفیل در گیاهان متوقف می‌شود زیرا که تولید کلروفیل یکی از فرآیندهای حساس وابسته به دما می‌باشد و با اندازه‌گیری آن می‌توان میزان حساسیت و یا مقاومت گیاهان به تنش سرما را تخمین زد (Mahajan & Tuteja, 2005). بر اساس نظریه Schütz & Fangmeier (2001) کاهش رنگدانه کلروفیل در اثر تنش مربوط به افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در سلول می‌باشد که سبب تجزیه این رنگیزه در شرایط تنش می‌شوند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیش تیمار دمایی و خشکی سبب افزایش میزان کلروفیل در نشا خیار تحت تنش سرما می‌شود. در هر دو رقم خیار تأثیر پیش تیمار در حفظ محتوای کلروفیل مشاهده شد که به‌طورکلی تأثیر پیش تیمار خشکی بیشتر از پیش

تیمار سرمایی بود. Li *et al*. (2014) گزارش کردند که پیش تیمار خشکی ملایم سبب حفظ کلروفیل گیاهان گندم در شرایط دمای پایین می‌شود. همچنین Helmy *et al*. (1999) گزارش کردند که مقاوم‌سازی نشاهای خیار با استفاده از پیش تیمار دمایی سبب افزایش کلروفیل و کاهش نشت یونی نشاها در شرایط تنش سرمایی می‌شود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. به نظر می‌رسد پیش تیمار تنش دمایی و خشکی از طریق تغییرات فیزیولوژیکی سبب کاهش آثار تنش سرما در گیاه و کاهش کلروفیل در این شرایط می‌شود.

نسبت کلروفیل a/b

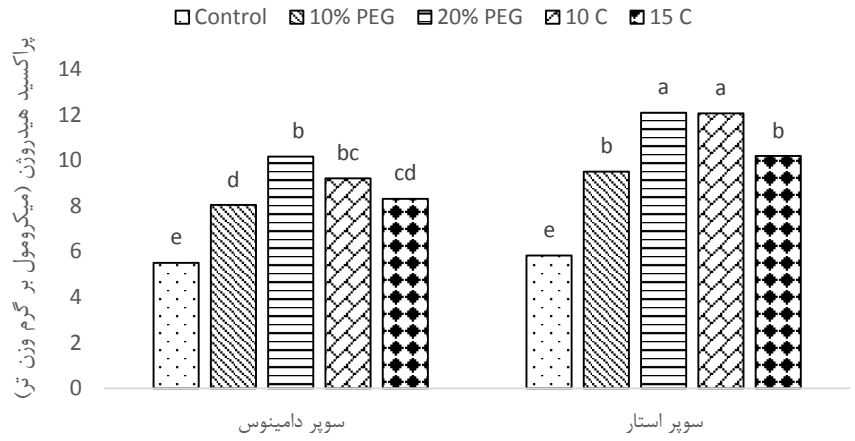
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی رقم در سطح پنج درصد و اثر اصلی تیمار در سطح یک درصد بر نسبت کلروفیل a/b معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل رقم× تیمار بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که در دو رقم خیار، تیمارهای مقاوم‌سازی تاثیر متفاوتی بر نسبت کلروفیل a/b داشت. در رقم سوپر دامینوس، تنها پیش‌تیمار دمایی ۱۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شاهد شد و بقیه تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد نداشتند. در رقم سوپر استار، ۱۰ درصد PEG سبب کاهش و دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش معنی‌دار نسبت کلروفیل a/b شد (شکل ۲). میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی به‌شمار می‌رود. در این حالت با توجه به شدت تنش، مرحله رشدی گیاه و همچنین گونه گیاهی تاثیر تنش بر هر کدام از مقادیر کلروفیل a و b متفاوت خواهد بود (Haldimann, 1998). در تحقیق حاضر نسبت کلروفیل a/b در دو رقم خیار به طور متفاوتی تحت تاثیر تیمارهای مختلف مقاوم‌سازی قرار گرفت که مربوط به واکنش متفاوت ارقام بود و با نتایج Kalisz *et al*. (2016) همخوانی داشت. نسبت کلروفیل a/b شاخصی از عملکرد رنگدانه‌ها و هماهنگی دستگاه فتوسنتزی با محیط است. کلروفیل b به عنوان دریافت‌کننده انرژی نورانی در سیستم‌های فتوسنتزی عمل می‌کند و کلروفیل a، رنگدانه کلیدی در مراکز واکنش فتوسیستم یک و دو است (Lichtenthaler, 2007). Kalisz *et al*. (2016) با بررسی تاثیر تنش سرمایی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی پنج رقم ریحان گزارش کردند که در شرایط تنش سرمایی نسبت کلروفیل a/b در این ارقام افزایش می‌یابد و البته واکنش ارقام در این شرایط یکسان نبود. در این ارتباط Yang *et al*. (2009) گزارش کردند که افزایش نسبت کلروفیل a/b در شرایط تنش ممکن است در ارتباط با تبدیل کلروفیل b به کلروفیل a برای خوگیری سرمایی گیاهان باشد. همچنین گزارش شده است که افزایش نسبت کلروفیل a/b در گیاهان سبب کاهش آسیب نوری به گیاه می‌شود (Lichtenthaler, 2007). در تحقیق حاضر پیش‌تیمار دمایی ۱۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش نسبت کلروفیل a/b در هر دو رقم خیار تحت تنش سرما شد که نشان‌دهنده موثر بودن این تیمارها در شرایط سرمازدگی می‌باشد.



شکل ۲: اثر تیمارهای مقاوم‌سازی بر نسبت کلروفیل a/b در نشاهای خیار تحت تنش سرما

پراکسید هیدروژن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی رقم و تیمار در سطح یک درصد آماری بر میزان پراکسید هیدروژن معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل رقم × تیمار در سطح پنج درصد بر پراکسید هیدروژن معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که همه تیمارهای مقاوم‌سازی در هر دو رقم سبب افزایش معنی‌دار پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد شدند. در هر دو رقم تیمارهای ۲۰ درصد PEG و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بیشترین تأثیر را در افزایش پراکسید هیدروژن داشتند و تأثیر این تیمارها در رقم سوپر استار بیشتر بود (شکل ۳).



شکل ۳: اثر تیمارهای مقاوم‌سازی بر محتوای پراکسید هیدروژن در نشاهای خیار تحت تنش سرما

پر اکسید هیدروژن در گیاهان می‌تواند نقش دوگانه‌ای داشته باشد. این مولکول در غلظت بالا سبب خسارت سلولی شده و به بافت‌های گیاهی آسیب می‌رساند ولی در غلظت پایین به‌عنوان سیگنال می‌تواند مسیرهای دفاعی گیاه را فعال کند

(Zhang *et al*., 2007). در مورد نقش پر اکسید هیدروژن در مقاومت تقاطعی گیاهان گزارش‌هایی منتشرشده است. Hoffman *et al*. (2012) نشان دادند که پیش تیمار خشکی سبب افزایش سنتز پر اکسید هیدروژن در گیاه می‌شود که می‌تواند مکانیسم آنتی‌اکسیدانی گیاه برای مقابله با یخزدگی را فعال کند. Gong *et al*. (2001) گزارش کردند که پیش تیمار شوک دمایی سبب تولید پیک H_2O_2 در ارقام ذرت شد. ظهور پیک H_2O_2 قبل از تحریک مقاومت تقاطعی بود که نشان می‌دهد یک افزایش اولیه H_2O_2 ممکن است یکی از پیش‌نیازهای لازم برای مقاومت تقاطعی در گیاهان باشد. همچنین تأثیر کاربرد خارجی پر اکسید هیدروژن در مقاومت به تنش سرما گزارش‌شده است (Iseri *et al*., 2013). در تحقیق حاضر، پیش تیمار خشکی و دمایی سبب افزایش پر اکسید هیدروژن در نشا خیار شد که می‌تواند نقش مهمی در سازگاری گیاه به شرایط تنش داشته باشد. لازم به ذکر است که در منابع گذشته، غلظت پر اکسید هیدروژن که نقش تخریبی و یا سیگنالی آن را تعیین می‌کند مشخص نشده است، بنابراین نمی‌توان افزایش پر اکسید هیدروژن را صرفاً تغییر مثبت برای گیاه در مقابله با تنش محیطی قلمداد کرد.

پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تیمار در سطح یک درصد آماری بر میزان پرولین معنی‌دار شد. همانند بسیاری از صفات دیگر اثر اصلی رقم و اثر متقابل رقم × تیمار بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمار در مورد محتوای پرولین نشان داد که تیمارهای ۱۰ و ۲۰ درصد PEG و همچنین دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش معنی‌دار پرولین نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان پرولین در تیمار ۲۰ درصد PEG مشاهده شد و پیش تیمار دمایی ۱۵ درجه سانتی‌گراد اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۲). یکی از مکانیسم‌های مؤثر گیاهان برای تحمل بهتر تنش‌های محیطی تنظیم اسمزی می‌باشد (Hayat *et al*., 2012). در این فرآیند پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش درنتیجه تجمع مواد اسمولایت (مانند پرولین) کاهش می‌یابد. بنابراین فشار آماس گیاهان در سطح مطلوب حفظ می‌شود. گزارش شده است که تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش، نوعی مکانیسم دفاعی است (Hossain *et al*., 2016). این اسید آمینه از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پاک کردن رادیکال‌های آزاد، بردباری و تحمل گیاهان را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهد (Dar *et al*., 2016). افزایش پرولین در نتیجه تنش‌های محیطی در گیاهان مختلف یک پدیده شایع بوده و در مطالعات زیادی گزارش‌شده است (Dar *et al*., 2016; Hossain *et al*., 2016). Kuznetsov *et al*. (1999) برای ارزیابی مکانیسم تحمل تنش خشکی با استفاده از شوک حرارتی آزمایشی روی گیاه پنبه انجام دادند. نتایج نشان داد که پیش تیمار شوک حرارتی (۴۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱/۵ ساعت) مقاومت به تنش خشکی در گیاه را افزایش داد. شوک حرارتی تجمع آمینواسیدها و آمیدها را افزایش و سبب افزایش ورود آن‌ها به فشار اسمزی سلول‌های برگ شد. این نتایج نشان می‌دهد که سیستم مقاومت مشترکی بین تنش‌های محیطی وجود دارد و مخصوصاً تجمع اسیدهای آمینه مانند پرولین در این فرآیند دخیل است (Hossain *et al*.,

2016). در این تحقیق پیش تیمار دمایی و خشکی سبب افزایش پرولین در نشاهای خیار پس از تنش سرمایی شد. گزارش شده است که یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاوم‌سازی گیاهان با استفاده از عوامل محیطی مانند خشکی و سرما تجمع پرولین است که می‌تواند سبب افزایش تحمل گیاه به تنش‌های بعدی شود (Li & Gong, 2011). همچنین تیمار پرولین خارجی در بسیاری از گیاهان سبب افزایش تحمل شرایط تنش در گیاه شده است (Hayat *et al*., 2012) که نشان‌دهنده مؤثر بودن این اسید آمینه در پاسخ گیاهان به تنش می‌باشد. با توجه به نتایج گفته‌شده افزایش تجمع پرولین در اثر پیش تیمار خشکی و سرما تغییر مثبتی برای افزایش تحمل تنش سرما در گیاه خیار می‌باشد.

شاخص سرمازدگی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنها اثر اصلی تیمار در سطح یک درصد بر شاخص سرمازدگی نشاهای خیار معنی‌دار شد. اثر اصلی رقم و همچنین اثر متقابل رقم × تیمار بر شاخص سرمازدگی معنی‌دار نشد (جدول ۱). نتایج نشان داد که همه تیمارهای مقاوم‌سازی شاخص سرمازدگی را نسبت به شاهد کاهش دادند و البته اختلاف آماری معنی‌داری بین این تیمارها مشاهده نشد (جدول ۲). دماهای پایین در گیاهان مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مانند کدوییان، سولاناسه، ذرت و سورگوم ممکن است سبب کاهش رشد، ایجاد نقاط پژمرده و نکروزه بر روی برگ‌ها و افزایش حساسیت به پاتوژن‌های عامل بیماری شود (Hallgren & Oquest, 1999). این علائم ظاهری معمولاً ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از تنش ظاهر می‌شوند. برخی نشانه‌های ظاهری در پاسخ به دماهای پایین در گیاهان حساس به سرمازدگی شامل کاهش توسعه برگ، پژمردگی، کلروز برگ‌ها و نکروزه شدن آن‌ها می‌باشد (Mahajan & Tuteja, 2005). در این تحقیق به‌منظور اندازه‌گیری شاخص سرمازدگی به نشاهای خیار از ویژگی‌هایی مانند نقاط نکروز و کلروز روی برگ‌ها و میزان آسیب به برگ‌های گیاه استفاده شد. نتایج نشان داد که پیش تیمار خشکی ۱۰ و ۲۰ درصد PEG و همچنین پیش تیمار دمایی ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش علائم سرمازدگی در نشاهای خیار شد. Dong *et al*. (2013) نیز در گزارش مشابهی نشان دادند که پیش تیمار خشکی با PEG با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش آثار سرما بر نشا خیار می‌شود. همچنین کاهش خسارت سرمایی در گیاه ذرت با پیش تیمار سرمایی (Li *et al*., 2011) و در گیاه *Jatropha* با پیش تیمار دمایی (Ao *et al*., 2013) گزارش شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار دمایی و خشکی سبب افزایش تحمل سرمایی در ارقام خیار سوپر دامینوس و سوپر استار شد. این نتایج وابسته به افزایش رطوبت نسبی، کلروفیل، پرولین و پراکسید هیدروژن و کاهش نشت یونی بود. اگرچه هر دو روش تأثیر مثبتی در کاهش سرمازدگی داشت ولی تیمار تنش خشکی تأثیر بهتری نسبت به تیمار سرمایی

گذاشت. درمجموع با توجه به تأثیر سوء تنش سرمایی بر رشد گیاهان فصل گرم در اوایل فصل رشد، کاربرد تنش خشکی می‌تواند روش مؤثری برای کاهش این آثار سوء باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از اعتبارات پژوهشی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم‌آباد انجام‌گرفته است. بدین‌وسیله از همکاری دست‌اندرکاران باشگاه به‌خصوص آقای دکتر فولادوند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

پیوست، غ، (۱۳۸۸) سبزیکاری، چاپ پنجم، انتشارات دانش پذیر. ۵۷۷ صفحه.

جوانمردی، ج. (۱۳۸۸) مبانی علمی و عملی تولید نشای سبزی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۵۶ صفحه.

حسن‌پور، ج. م.، کافی، م.، میرهادی، م. ج. (۱۳۸۷) اثر تنش خشکی بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک جو. مجله علوم کشاورزی ایران: دوره ۳۹، شماره ۱، ۱۷۷-۱۶۵.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell and Environment 24(12): 1337-1344.

Ao, P.X., Li, Z. G., Fan, D.M. and Gong, M. (2013) Involvement of antioxidant defense system in chill hardening-induced chilling tolerance in Jatropha curcas seedlings. Acta physiologiae plantarum 35(1): 153-160.

Baninasab, B. (2009) Amelioration of chilling stress by paclobutrazol in watermelon seedlings. Scientia horticulturae 121(2): 144-148.

Banon, S., Ochoa, J., Franco, J.A., Alarcón, J.J. and Sánchez-Blanco, M.J. (2006) Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. Environmental and Experimental Botany 56(1): 36-43.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39(1): 205-207.

Berova, M., Zlatev, Z. and Stoeva, N. (2002) Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology 28(1-2): 75-84.

Dar, M.I., Naikoo, M.I., Rehman, F., Naushin, F. and Khan, F.A. (2016) Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment. Emerging Omics Technologies. Springer India.

De Juan, P., José, I.J. and Manuel, S.D. (1997) Chilling of drought-hardened and non-hardened plants of different chilling-sensitive maize lines changes in water relations and ABA contents. Plant Science 122(1): 71-79.

Dong, X., Bi, H., Wu, G., Ai, X. (2013). Drought-induced chilling tolerance in cucumber involves membrane stabilisation improved by antioxidant system. International Journal of Plant Production 7: 67–80.

FAO. (2016). from http://faostat3.fao.org. Accessed: January 11, 2016.

Gong, M., Chen, B.O, Li, Z.G. and Guo, L.H. (2001) Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H2O2. Journal of Plant Physiology 158(9): 1125-1130.

Haldimann, P. (1998) Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in Zea mays genotypes differing in chilling sensitivity. Plant, Cell & Environment 21(2): 200-208.

Hallgren, J. and Oquest, G. (1990) Adaptations to low temperatures. In stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms. Eds R Alscher and J Cumming. pp. 265-293.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J. and Ahmad, A. (2012) Role of proline under changing environments: a review. Plant Signaling & Behavior 7(11): 1456-1466.

Helmy, Y.I., Singer, S.M. and El-Abd, S.O. (1999) Reducing chilling injury by short-term cold acclimation of cucumber seedlings under protected cultivation. In International Symposium Greenhouse Management for Better Yield and Quality in Mild Winter Climates 491: 177-184.

Hoffman, L., DaCosta, M., Ebdon, J.S. and Zhao, J. (2012) Effects of drought preconditioning on freezing tolerance of perennial ryegrass. Environmental and experimental Botany 79: 11-20.

Hossain, M.A., Burritt, D.J. and Fujita, M. (2016) Cross-stress tolerance in plants: molecular mechanisms and possible involvement of reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification systems. Abiotic Stress Response in Plants. 323-375.

Iseri, Ö.D., Körpe, D.A., Sahin, F.I. and Haberal, M. (2013) Hydrogen peroxide pretreatment of roots enhanced oxidative stress response of tomato under cold stress. Acta physiologiae plantarum 35(6): 1905-1913.

Joshi, S.C., Chandra, S. and Palni, L.M. (2007) Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica 45(4): 594-600.

Kalisz, A., Jezdinský, A., Pokluda, R., Sękara, A., Grabowska, A. and Gil, J. (2016). Impacts of chilling on photosynthesis and chlorophyll pigment content in juvenile basil cultivars. Horticulture, Environment, and Biotechnology 57(4): 330-339.

Korkmaz, A., Korkmaz, Y. and Demirkıran, A.R. (2010) Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. Environmental and Experimental Botany 67(3): 495-501.

Kuznetsov, V.V., Rakitin, V.Y. and Zholkevich, V.N. (1999) Effects of preliminary heat-shock treatment on accumulation of osmolytes and drought resistance in cotton plants during water deficiency. Physiologia Plantarum 107(4): 399-406.

Li, H.Y., Li, C.G. and Gong, M. (2011) Short-term cold-shock at 1 C induced chilling tolerance in maize seedlings. International Conference of Biology Environment and Chemistry 1: 346-349.

Li, X., Cai, J., Liu, F., Dai, T., Cao, W. and Jiang, D. (2014) Physiological, proteomic and transcriptional responses of wheat to combination of drought or waterlogging with late spring low temperature. Functional plant biology 41(7): 690-703.

Li, Z.G. and Gong, M. (2011) Mechanical stimulation-induced cross-adaptation in plants: an overview. Journal of Plant Biology 54(6): 358-364.

Lichtenthaler, H.K. (2007) Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids, α-tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. Photosynthesis Research 92(2): 163-179.

Maali-Amiri, R., Goldenkova-Pavlova, I.V., Yur'eva, N.O., Pchelkin, V.P., Tsydendambaev, V.D., Vereshchagin, A.G. and Nosov, A.M. (2007) Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the Δ12-desaturase gene from cyanobacterium. Russian Journal of Plant Physiology 54(5): 600-606.

Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of biochemistry and biophysics 444(2): 139-158.

Michel, B.E., and Kaufmann, M.R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant physiology 51(5): 914-916.

Nayyar, H., Bains, T.S. and Kumar, S. (2005) Chilling stressed chickpea seedlings: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. Environmental and Experimental Botany 54(3): 275-285.

Pardossi, A., Tognoni, F. and Lovemore, S.S. (1987) The effect of different hardening treatments on tomato seedling growth, chilling resistance and crop production in cold greenhouse. In Symposium on Biological Aspects of Energy Saving in Protected Cultivation 229: 371-378.

Rajashekar, C.B. and Panda, M. (2014) Water stress is a component of cold acclimation process essential for inducing full freezing tolerance in strawberry. Scientia Horticulturae 174: 54-59.

Schütz, M. and Fangmeier, A. (2001) Growth and yield responses of spring wheat (Triticum aestivum L. cv. Minaret) to elevated CO2 and water limitation. Environmental Pollution 114(2): 187-194.

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany 212: 1-26.

Strain, H.H. and Svec, W.A. (1966) Extraction, separation, estimation and isolation of the chlorophylls. The Chlorophylls 1: 22-66.

Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R. and Polasky, S. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature 418: 671-677.

Vinocur, B. and Altman, A. (2005) Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Current Opinion in Biotechnology 16(2): 123-132.

Wang, X., Vignjevic, M., Liu, F., Jacobsen, S., Jiang, D. and Wollenweber, B. (2015) Drought priming at vegetative growth stages improves tolerance to drought and heat stresses occurring during grain filling in spring wheat. Plant Growth Regulation 75(3): 677-687.

Yang, J., Kong, Q., & Xiang, C. (2009) Effects of low night temperature on pigments, chl a fluorescence and energy allocation in two bitter gourd (Momordica charantia L.) genotypes. Acta physiologiae plantarum 31(2): 285-293.

Zhang, A., Jiang, M., Zhang, J., Ding, H., Xu, S., Hu, X. and Tan, M. (2007) Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. New Phytologist 175(1): 36-50.

The effect of hardening treatments on chilling stress tolerance of cucumber seedlings

F.Ghanbari* , S.Kordi

Received:2018.1.8
Accepted:2019.3.4

Abstract

Chilling stress is a major limiting factor on growth and development of tropical crops like cucumber in early of growing season. In this research, the possibility of chilling hardening of cucumber seedlings was investigated through pretreatment of drought and decreased temperature. The factorial experiment was consisted of two factors including cucumber cultivars (i.e. Super dominos and Super star) and hardening treatments (control, 10 °C, and 15 °C as well as 10% and 20% PEG) based on CRD in three replications in 2017. After applying treatments and allowing them 48 hrs to be recovered, the seedlings were placed 3 °C for a six days and 6 hrs for each day. The results showed that hardening increased cucumber growth under chilling stress. Hardening treatments improved seedlings' chlorophyll content, chlorophyll a/b ratio, relative water content, proline accumulation, and hydrogen peroxide while reducing electrolyte leakage content. It was not observed a significant difference between cultivars in terms of measured traits. The highest chilling tolerance was obtained by 10 and 20% PEG. Overall, the results of this experiment showed that employing drought and decreased temperature pretreatments are able to mitigate the harmful effects of chilling on cucumber seedlings.

Keyword: Acclimation, Hardening, Hydrogen peroxide, Polyethylene glycol, Proline.

1-Young and Elite Research Club, Islamic Azad University, Khorramabad Branch, Khorramabad, Iran.

*(Corresponding author: F.ghanbari63@gmail.com)