

اثر متیل جاسمونات بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش مقاومت کدوی تخمه کاغذی

مریم مختاری، سینا فلاح*، علی عباسی سورکی و پرتو روشندل

گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۳۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۷/۲۵)

چکیده

کشت زود محصولات بهاره برای استفاده از هوای معتدل بهاری و همچنین رشد رویشی مناسب اهمیت زیادی دارد ولی وقوع دماهای پایین در ابتدای دوره رشد ممکن است استقرار گیاه را با مشکل مواجه نماید. به منظور بررسی اثر متیل جاسمونات بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش مقاومت کدوی تخمه کاغذی به تنش دمای پایین، آزمایشی به صورت فاکتوریل شامل شش غلظت متیل جاسمونات (صفر، ۱، ۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و سه سطح دما (۸، ۱۱ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد) در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. نتایج نشان داد که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچ بذری جوانه نزد. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد در شرایط عدم استفاده از متیل جاسمونات هیچ بذری جوانه نزد و استفاده از متیل جاسمونات میزان جوانه‌زنی را به ۷۶/۶۶ درصد رساند. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد نیز در شرایط عدم استفاده از متیل جاسمونات فقط ۲۶ درصد بذور جوانه زد ولی استفاده از متیل جاسمونات میزان جوانه‌زنی را به ۱۰۰ درصد رساند. بیشترین میزان جوانه‌زنی در غلظت ۱ و ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات ثبت شد که در این دو غلظت میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز و گایاکول پراکسیداز در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد بسیار زیاد بود ولی در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت ۱ و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای متیل جاسمونات بیشتر از شاهد بود ولی در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد در تیمار شاهد بیشتر از متیل جاسمونات بود. بنابراین اثر ارزشمند متیل جاسمونات برای ایجاد مقاومت به هوای نسبتاً خنک (دمای بالای ۱۰ درجه سانتی‌گراد) در این آزمایش به اثبات رسید. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان گفت کاربرد متیل جاسمونات باعث افزایش مقاومت بذور کدوی تخمه کاغذی به تنش دمای پایین می‌شود و کشت زودتر این گیاه می‌تواند پتانسیل عملکرد آن را افزایش دهد.

کلمات کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، سرما، کدوی تخمه کاغذی، متیل جاسمونات

مقدمه

ناراحتی‌های مجاری ادراری، بهبود دیابت و کاهش کلسترول به کرات مورد تایید قرار گرفته است (Caili et al., 2006). کدوی پوست کاغذی در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر جهان می‌روید و منشأ آن اروپا و مناطق گرمسیر اروپا گزارش شده است. دوره رویش بسته به رقم و شرایط اقلیمی بین ۱۲۰ تا ۱۴۰ روز است. بذرها در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد جوانه می‌زنند اما دمای مطلوب برای رویش دانه ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. رویش این گیاه در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد

کدوی تخمه کاغذی یا دانه برهنه با نام علمی *Cucurbita pepo L.* گیاهی علفی، یک ساله و متعلق به تیره کدوئیان است. میزان بسیار اندک اسید لینولنیک و سایر اسیدهای چرب غیراشباع و نیز آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به پایداری اکسایشی خوب روغن تخم کدو طی نگهداری منجر شده است (Tsaknis et al., 1997). آثار سودمند روغن تخم کدو در درمان بیماری غدد پروستات، جلوگیری از افزایش فشارخون، درمان

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: falah1357@yahoo.com

متوقف می‌شود (امیدبگی، ۱۳۸۵).

گیاهان به طور متناوب با انواع تنش‌های محیطی مثل دمای پایین، تنش اسمزی، خشکی، غرقابی، گرما، تنش اکسیداتیو و سمیت فلزات سنگین مواجه هستند. دما، عامل محیطی مهمی است که از فصلی به فصل دیگر تغییر می‌کند و دستخوش نوسانات غیر قابل پیش بینی و زودگذر روزانه است (Browse and Xin., 2001) و بر سیالیت، پایداری و انعطاف پذیری غشا اثرگذار است، به همین دلیل از غشاء به عنوان حسگر اولیه زیستی تنش سرما نام می‌برند (Taiz and Zeiger, 2002).

تنش سرما در مناطق معتدله و در مورد گیاهانی که در فصل گرم کاشته می‌شوند، به‌خصوص در جایی که کشت زود هنگام از هر نظر دارای مزیت می‌باشد حائز اهمیت می‌باشد (میرمحمدی میبدی و ترکش اصفهانی، ۱۳۸۳). در بیشتر گیاهان جوانه‌زنی بذر حساس‌ترین مرحله در برابر سرما است (Patade et al., 2011)، بطوری که جوانه‌زنی بذر در گونه‌های حساس به سرما در دماهای زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد آهسته شده یا کاهش یافته و در نتیجه استقرار ضعیف است و معمولاً در دماهای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد کاملاً از جوانه‌زنی ممانعت می‌شود (Parvaiz and Prasad., 2012).

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهان تحت شرایط تنش‌زای محیط احتمال وقوع آن وجود دارد، تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) در کلروپلاست و میتوکندری سلول‌های گیاهی است که طی آن الکترون‌هایی که از زنجیره انتقال الکترون نشت کرده‌اند، در جریان یک واکنش هوازی، با اکسیژن محیط واکنش داده و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌نمایند (Davey et al., 2005). ROS شکل فعال اکسیژن بوده که منجر به مختل شدن متابولیسم طبیعی گیاه و در نهایت مرگ سلول خواهد شد (Misra and Gupta, 2006; Pushpalatha et al., 2011). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) برای حذف یا کاهش ROS از سازوکارهای حفاظتی گیاهان می‌باشد (Mittle, 2002). آنزیم SOD به عنوان اولین خط دفاعی در برابر ROSها، آنیون

سوپراکسید را در کلروپلاست و میتوکندری و سایر اندام‌ها (Vyas and Kumar, 2005) به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند (Ghanati and Rahmati, 2006) و سپس پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و کاتالاز به آب تبدیل می‌شود (Yong et al., 2008; Erdal and Dumlupinar, 2011).

پرایمینگ بذر یک تیمار پیش از کاشت است که کارایی جوانه‌زنی را به‌وسیله افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بهبود می‌بخشد. همچنین پرایمینگ بذر باعث بهبود رشد در مراحل بعد از جوانه‌زنی می‌شود (ملک‌زاده و فلاح، ۱۳۹۵). در سال‌های اخیری مدارکی از موفقیت پرایمینگ در شرایط تنش جمع‌آوری شده است (Espanany et al., 2016). این تکنیک بوسیله مواد مختلفی قابل انجام است که از جمله می‌توان به مواد تنظیم‌کننده رشد اشاره نمود که سبب بهبود پارامترهای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت شرایط تنش‌های مختلف می‌شوند (Abdul et al., 2007). در این ارتباط گزارش شده که متیل جاسمونات به عنوان تنظیم‌کننده رشد می‌تواند جوانه‌زنی، رشد و عملکرد محصول در گونه‌های مختلف گیاهان زراعی را افزایش دهد (Lee et al., 1998). جاسمونات‌ها به عنوان یک خانواده جدید از هورمون‌های گیاهی (Abdala et al., 2003) موجب پیری، ریزش برگ، پیچش، بسته شدن روزنه، سنتز بتاکاروتن، سنتز اتیلن و ممانعت از رشد ریشه می‌گردد. آنها به عنوان ترکیبات پیام رسان کلیدی در فرآیند القا که منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شوند، معرفی شده‌اند (Szabo et al., 1999; Yu et al., 2002; Koo and Howe, 2009) که در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی نیز نقش مهمی ایفا کرده و موجب کاهش خسارت ناشی از این تنش‌ها می‌شوند (Creelman et al., 1995).

گزارش شده که آماده‌سازی با متیل جاسمونات، تولید پلی آمین آزاد را در بافت‌های گیاهی تحریک می‌کند و جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه را افزایش می‌دهد (Kaya et al., 2002). گزارش‌هایی از اثر افزایشی درصد و سرعت جوانه‌زنی با متیل جاسمونات در بذرهای هندوانه تحت تنش دمای پایین وجود دارد، هم‌چنین متیل جاسمونات با افزایش ترجمه ژن‌های درگیر

در ساخت فلاونوئیدها و لیپوآکسیژنازها گیاه را در محیط‌های پر تنش متحمل می‌کند (Korkmaz et al., 2005). گزارش‌های زیادی نشان می‌دهد که متیل جاسمونات سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی و عملکرد گیاه سیر (Bideshki and Arvin, 2010) و پیاز شده است (Maksymiec, 2011).

جوانه‌زنی کدوی پوست کاغذی در اوایل بهار آهسته و گاه به دلیل سرما غیرممکن است. از طرفی، تأخیر در کشت آن نیز به دلیل وقوع گرمای شدید اوایل تابستان موجب کوتاه شدن فصل رشد و کاهش شدید عملکرد می‌شود. بنابراین به منظور استفاده بیشتر از فصل رشد بهاری، بهبود جوانه‌زنی این گیاه در دمای پایین‌تر از دمای مناسب اهمیت زیادی دارد. از آنجا که یکی از راه‌های کاهش خسارت دمای پایین، ارتقای سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهچه از طریق پرایمینگ بذر با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است لذا در این آزمایش اثر متیل جاسمونات بر جوانه‌زنی و سیستم آنتی‌اکسیدانی بذر گیاه کدوی پوست کاغذی تحت دماهای پایین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کشت در پتری دیش در شرایط ژرمیناتور در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل شش غلظت متیل جاسمونات (صفر، ۱، ۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و سه سطح دما (۸، ۱۱ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد) بودند که به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار انجام شد و بذور تیمار نشده در هر دما نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. پس از ضدعفونی، بذور در ظروف حاوی محلول‌های با غلظت صفر، ۱، ۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات ریخته به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (اکرم‌قادی و همکاران، ۱۳۸۷) در ژرمیناتور قرار داده شدند. سپس شستشوی بذور انجام شده و ۳ تکرار ۲۵ تایی از بذور پرایم شده هر تیمار به‌صورت جداگانه بر روی دو لایه کاغذ صافی واتمن در پتری دیش‌های ۹ سانتی‌متری کشت داده شد. به هر

پتری دیش ۵ میلی‌لیتر آب استریل اضافه شد و به‌منظور جلوگیری از تبخیر آب موجود در پتری دیش‌ها، دور هر پتری دیش چند لایه پارافیلیم کشیده شد. در نهایت پتری دیش‌ها به ژرمیناتور انتقال داده شدند و در دماهای ۸، ۱۱ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی به مدت ۸ روز در ژرمیناتور قرار گرفتند (ISTA, 2009). جوانه‌زنی هر ۲۴ ساعت ثبت شد. مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر بود (ISTA, 2009). در پایان روز هشتم پارامترهای سرعت و درصد جوانه‌زنی با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (Karta and Bekele, 2012; Ikic et al., 2012):

$$GP = (Ns / Ts) \times 100 \quad (1)$$

GP = درصد جوانه‌زنی، Ns = تعداد بذور جوانه‌زده، Ts = کل بذور جوانه زده .

$$GR = \sum (Gt / Dt) \quad (2)$$

GR = شاخص یا سرعت جوانه‌زنی، Gt = تعداد بذور جوانه‌زده در روز t ام، Dt = زمان پس از کاشت مرتبط با Gt بر حسب روز.

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی واحدهای آزمایشی ۳ تکرار انتخاب و به شرح ذیل انجام شد. جهت اندازه‌گیری مقدار پروتئین محلول به روش Bradford (۱۹۷۶)، ۵ میکرولیتر از عصاره گیاهی مورد نظر به ۳ میلی‌لیتر محلول برادفورد اضافه می‌گردد و پس از اختلاط کامل، بلافاصله میزان جذب نور در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید.

به منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش Giannopolitis و Ries (۱۹۹۷)، پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر عصاره به محلول حاوی ریوفلاوین، متیونین، EDTA₂ و NBT میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. سپس میزان فعالیت این آنزیم بر حسب جذب در میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش Mac Adam و همکاران (۱۹۹۲) پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهی به محلول حاوی بافر فسفات، گایاکول و پراکسید هیدروژن میزان جذب نور در طول موج

جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱).

درصد جوانه‌زنی: همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اثر دما، متیل جاسمونات و اثر متقابل دما با متیل جاسمونات بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. به‌طور کلی در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچ بذری جوانه نزد. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد در شرایط عدم استفاده از متیل جاسمونات هیچ بذری جوانه نزد و استفاده از متیل جاسمونات میزان جوانه‌زنی را به ۷۶/۶۶ درصد رساند. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد نیز در شرایط عدم استفاده از متیل جاسمونات فقط ۲۶ درصد بذور جوانه زد ولی استفاده از متیل جاسمونات میزان جوانه‌زنی را به ۱۰۰ درصد رساند. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد غلظت ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات با افزایش ۷۶/۶۶ درصدی نسبت به شاهد دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی بود و با غلظت ۱ میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشت. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات دارای حداکثر درصد جوانه‌زنی بود هر چند که غلظت ۱ و ۵۰ میکرومولار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشتند. در مجموع اگرچه همه غلظت‌های متیل جاسمونات موجب برتری معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد شدند اما غلظت ۱ میکرومولار متیل جاسمونات تحت هر دو دما بهتر از سایر غلظت‌ها بود (شکل ۲).

پروتئین محلول: میزان پروتئین محلول بذور کدو پوست کاغذی در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر دما، متیل جاسمونات و اثرات متقابل این دو عامل قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین میزان افزایش پروتئین محلول در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد مربوط به غلظت‌های ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات بود و کمترین میزان آن متعلق به غلظت ۱۰۰ میکرومولار بود (شکل ۳). در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد اختلاف بین غلظت‌ها زیاد نبود اما بیشترین میزان پروتئین محلول مربوط به شاهد و کمترین میزان در غلظت ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد که با غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰۰ میکرومولار اختلاف معنی‌دار نداشت. در تمامی غلظت‌های به کار رفته متیل جاسمونات اختلاف بین دماها

۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. سپس میزان فعالیت این آنزیم بر حسب میکرومول تترآگایاکول در میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد.

به منظور اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Abei (۱۹۸۴) نیز پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر عصاره‌ی گیاهی به محلول حاوی بافر فسفات، آب مقطر و آب اکسیژنه میزان جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید. سپس میزان فعالیت این آنزیم بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن در میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد.

با توجه به اینکه در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچ‌گونه بذری جوانه نزد، این سطح دما برای آنالیز واریانس حذف شد. بنابراین داده‌ها به‌صورت فاکتوریل با دو سطح دما و شش سطح متیل جاسمونات در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS V9 تجزیه واریانس شدند. تعداد تکرار برای سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی ۶ و برای سایر صفات ۳ بود. مقایسه میانگین‌ها به صورت برش‌دهی در سطوح دمایی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد.

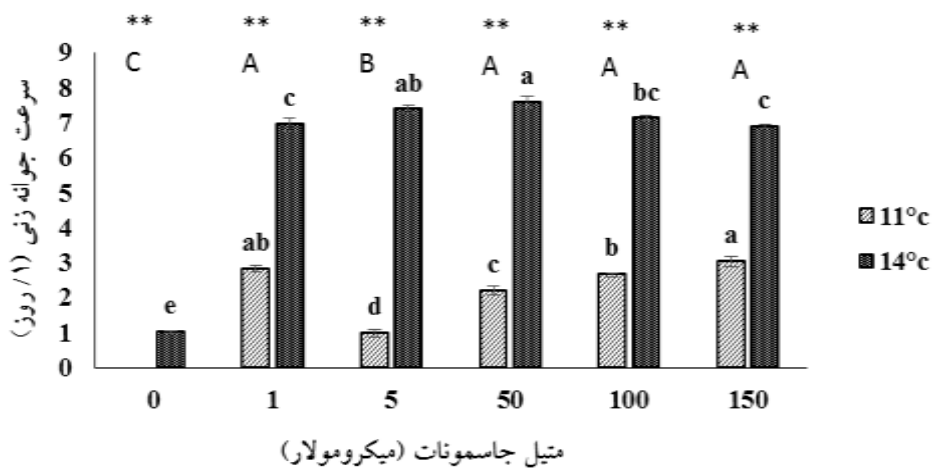
نتایج

سرعت جوانه‌زنی: سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر دما، متیل جاسمونات و اثر متقابل دما و متیل جاسمونات قرار گرفت (جدول ۱). استفاده از متیل جاسمونات در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد سرعت جوانه‌زنی را از صفر به ۳/۰۲ رساند و در دمای ۱۴ درجه سرعت جوانه‌زنی را از ۱/۰۱ به ۷/۵۹ رساند. بیشترین سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۵۰ میکرومولار دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد با افزایش ۶/۵۷ درصدی نسبت به شاهد اتفاق افتاد، هر چند که در همین دما غلظت ۵۰ میکرومولار نیز با غلظت ۵ میکرومولار اختلاف معنی‌دار نداشت و بیشترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد متعلق به غلظت ۱۵۰ میکرومولار بود. در تمام غلظت‌های استفاده شده متیل جاسمونات اختلاف بین دماها معنی‌دار بود و با کاهش دما سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. همچنین در هر دو دما وجود متیل جاسمونات موجب افزایش چند برابری سرعت

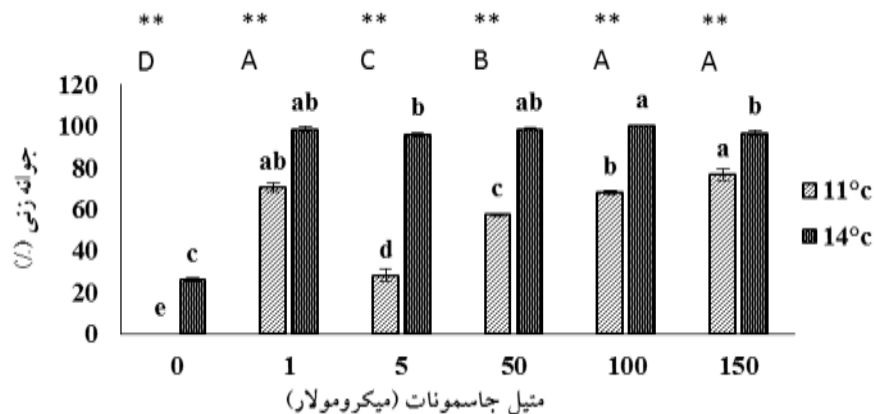
جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی گیاه کدوی پوست کاغذی تحت تنش سرما.

منابع تغییر	درجه آزادی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مربعات
دما	۱	۲۳۱۸۴**	۳۱۸/۹**
متیل جاسمونات	۵	۹۷۰۳**	۳۷/۱۸**
متیل جاسمونات × دما	۵	۸۹۳**	۹/۹۳۸**
خطا	۶۰	۱۵/۰۶۷	۰/۰۶۵۷
ضریب تغییرات (%)		۶/۳۳	۵/۴۶

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۱- اثر متیل جاسمونات بر سرعت جوانه‌زنی بذور کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد بین غلظت‌های متیل جاسمونات است. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. ** بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دماها در هر سطح از غلظت متیل جاسمونات است.

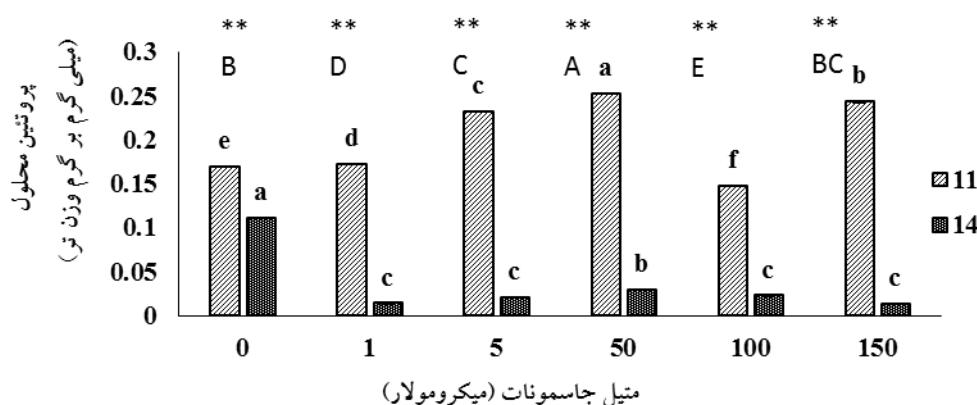


شکل ۲- اثر متیل جاسمونات بر درصد جوانه‌زنی بذور کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد بین غلظت‌های متیل جاسمونات است. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. ** بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دماها در هر سطح از غلظت متیل جاسمونات است.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات پرایمینگ بذر بر مقدار پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز در گیاه کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما.

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پروتئین محلول		
۰/۰۰۰۲۱۴*	۰/۰۰۱۱۳**	۳۵۳۰۸۱**	۰/۰۰۱۱**	۱	دما
۰/۰۰۰۰۱۴**	۰/۰۰۰۰۷**	۲۰۵۷۵**	۰/۰۰۰۰۲**	۵	متیل جاسمونات
۰/۰۰۰۰۱۹**	۰/۰۰۰۰۲۰**	۱۳۶۵۵**	۰/۰۰۰۰۴**	۱۰	متیل جاسمونات × دما
۰/۰۰۰۰۰۰۵۷	۰/۰۰۰۰۰۰۳۹	۲۳۹/۵۲	۰/۰۰۰۰۰۰۱۰	۲۴	خطا
۲۵/۶۱	۱۰/۲۴	۱۰/۷۳	۳/۲۷۸		ضریب تغییرات (%)

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.



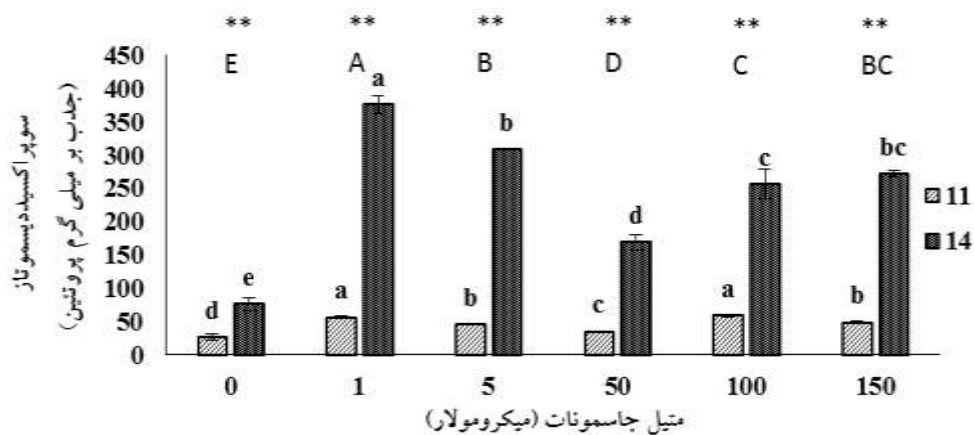
شکل ۳- اثر متیل جاسمونات بر وزن میزان پروتئین محلول کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد بین غلظت‌های متیل جاسمونات است. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. ** بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دماها در هر سطح از غلظت متیل جاسمونات است.

آنزیم SOD در مقایسه با تیمار شاهد شد. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد غلظت‌های ۱۰۰ و ۱ میکرومولار متیل جاسمونات و در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد غلظت ۱ میکرومولار متیل جاسمونات دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD بودند (شکل ۴). همبستگی سرعت و درصد جوانه‌زنی با میزان فعالیت آنزیم SOD مثبت و در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. همبستگی بین سرعت جوانه‌زنی و میزان فعالیت آنزیم SOD، ۰/۸۷ و همبستگی بین درصد جوانه‌زنی و میزان فعالیت آنزیم SOD، ۰/۷۲ بود.

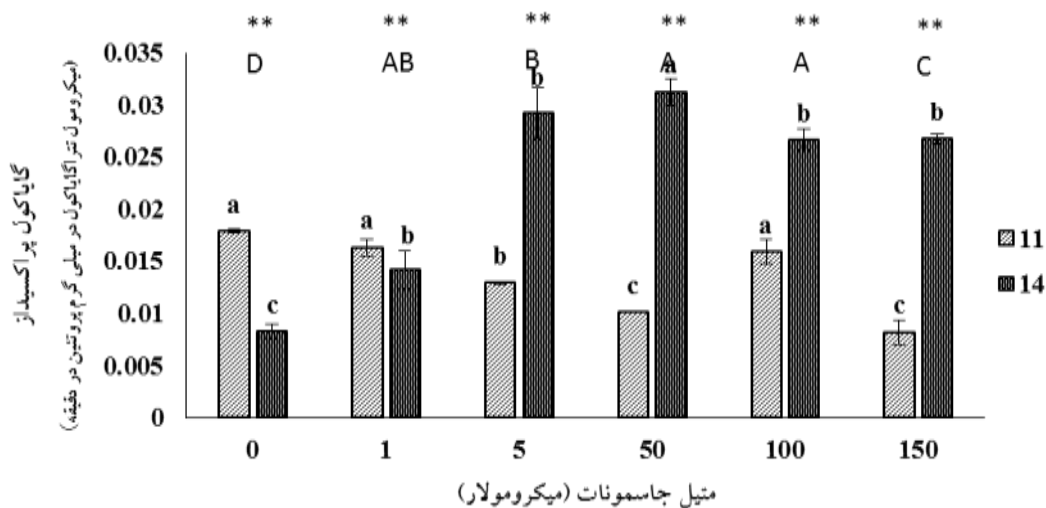
آنزیم گایاکول پراکسیداز (POX): اثرات اصلی و متقابل دما و متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

معنی‌دار بود و مقدار پروتئین محلول با افزایش دما به شدت کاهش یافت (شکل ۳). درصد و سرعت جوانه‌زنی با هم همبستگی مثبت ۰/۹۲ داشتند اما با مقدار پروتئین محلول دارای همبستگی منفی بودند که در سطح ۰/۱ درصد همبستگی معنی‌دار بود. بطوریکه درصد جوانه‌زنی با میزان پروتئین محلول دارای همبستگی (-۰/۵۹) و سرعت جوانه‌زنی با میزان پروتئین محلول همبستگی (-۰/۸۰) داشت.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود میزان فعالیت آنزیم SOD گیاهچه کدو پوست کاغذی تحت تأثیر دما، متیل جاسمونات و اثر متقابل این دو عامل قرار گرفت. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد متیل جاسمونات باعث افزایش بسیار زیاد و معنی‌دار فعالیت



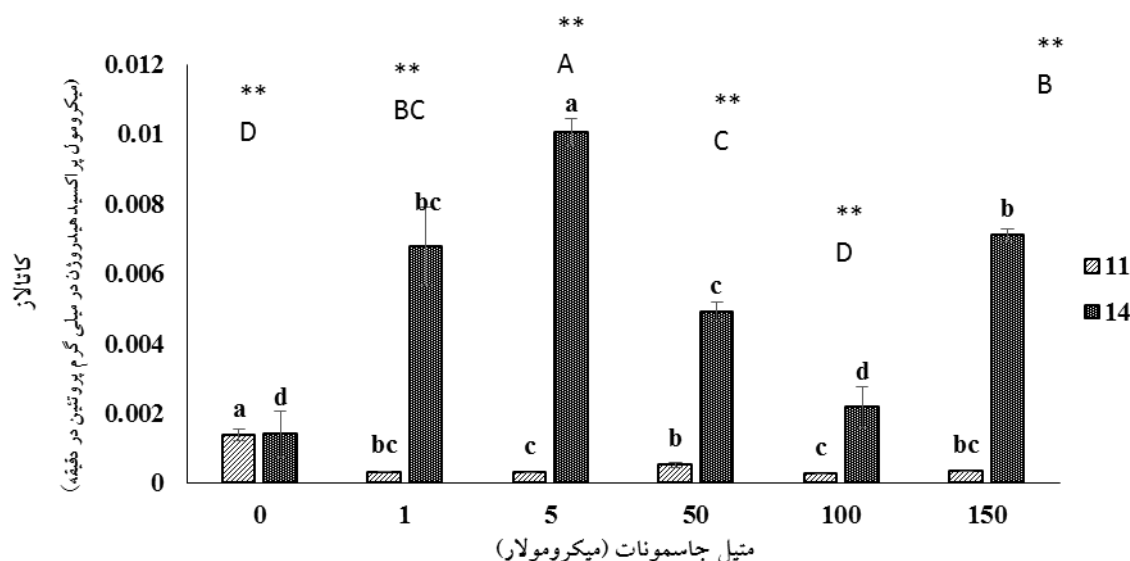
شکل ۴- اثر متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسوتاز کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد بین غلظت‌های متیل جاسمونات است. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. * بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دماها در هر سطح از غلظت متیل جاسمونات است.



شکل ۵- اثر متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد بین غلظت‌های متیل جاسمونات است. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. * بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دماها در هر سطح از غلظت متیل جاسمونات است.

تمامی غلظت‌های به کار رفته متیل جاسمونات با کاهش دما میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵). همبستگی بین درصد جوانه‌زنی و آنزیم POX مثبت و معنی‌دار بود ($r = 0.62$) و همبستگی بین سرعت جوانه‌زنی و این آنزیم نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ($r = 0.82$). آنزیم کاتالاز (CAT): میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه

میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بذور کدو پوست کاغذی تحت تیمار متیل جاسمونات در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد و بیشترین میزان این پارامتر در غلظت ۵۰ میکرومولار حاصل شد. (شکل ۵). در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان افزایش این پارامتر در بذور شاهد مشاهده شده که با غلظت‌های ۱ و ۱۰۰ میکرومولار اختلاف معنی‌دار نداشت، در



شکل ۶- اثر متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد بین غلظت‌های متیل جاسمونات است. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف آماری معنی دار هستند. ** بیانگر اختلاف آماری معنی دار بین دماها در هر سطح از غلظت متیل جاسمونات است.

بنابراین در زمانی که دمای خاک بسیار پایین است (حدود ۸ درجه سانتی‌گراد) استفاده از این تنظیم کننده رشد برای مقاومت به سرما توصیه نمی‌شود. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بدون استفاده از متیل جاسمونات بذرها جوانه نزدند ولی استفاده از متیل جاسمونات میزان جوانه‌زنی را به ۷۶/۶۶ درصد رساند. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد نیز در بذرهایی که متیل جاسمونات روی آنها اعمال نشده بود فقط ۲۶ درصد جوانه زدند ولی استفاده از متیل جاسمونات در این دما میزان جوانه‌زنی را به ۱۰۰ درصد رسانید. بنابراین اثر ارزشمند غلظت بالای متیل جاسمونات برای ایجاد مقاومت به هوای نسبتاً خنک ابتدای فصل رشد کدوی تخمه کاغذی (دمای بالای ۱۰ درجه سانتی‌گراد) در این آزمایش به اثبات رسید. پلی‌آمین‌ها مولکول‌های کوچک با وزن مولکولی کم و دارای بار مثبت هستند که به طور وسیعی در ارگانسیم‌های زنده یافت می‌شوند. این ترکیبات ضروری سلول‌های گیاهی همانند فیتوهورمون‌ها تنظیم موثر فرایندهای حیاتی مختلف گیاه را از جمله همانند سازی، رونویسی، تثبیت غشا و تعدیل فعالیت آنزیمی تحت شرایط تنش و نرمال را انجام می‌دهند (Martin-Tanguy, 2000). از آنجا که حفظ پایداری غشاء در دمای پایین برای مقاومت به

کدو پوست کاغذی تحت تیمار متیل جاسمونات در شرایط تنش سرما اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر از ۱۱ درجه سانتی‌گراد بود (شکل ۶). بیشترین میزان افزایش این پارامتر در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد در تیمار شاهد مشاهده شد و در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به غلظت ۵ میکرومولار متیل جاسمونات بود (شکل ۶). در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت کاتالاز در همه غلظت‌های متیل جاسمونات بطور معنی‌دار کمتر از تیمار شاهد بود. همبستگی درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی با آنزیم CAT مثبت و معنی‌دار بود (به ترتیب 0.057^{**} و 0.077^{**}).

بحث

دمای مطلوب برای رویش دانه ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است و رویش این گیاه در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد متوقف می‌شود (امید بیگی، ۱۳۸۵). در آزمایش حاضر مشخص شد که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچ بذری جوانه نمی‌زند و کاربرد متیل جاسمونات در چنین شرایطی اثری نداشت.

هندوانه نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی در کمترین غلظت متیل جاسمونات اتفاق افتاد. در بررسی چغندر قند تیمار شده با متیل جاسمونات در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد غلظت بالای متیل جاسمونات موجب کاهش درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه شد به همین علت به نظر می‌رسد که تاثیر متیل جاسمونات بر جوانه‌زنی بذر بستگی به نوع گیاه و غلظت آن دارد (Govahi et al., 2007).

کلروپلاست و میتوکندری مکان‌های اصلی برای فعالیت ROSها در شرایط تنش دمایی هستند بطوری که در شرایط تنش دمای پایین غشای میتوکندریایی آسیب می‌بیند (Xu et al., 2008). آنزیم SOD به عنوان اولین خط دفاعی در برابر ROSها، O_2^- را در کلروپلاست و میتوکندری و سایر اندام‌ها به H_2O_2 تبدیل می‌کند (Ghanati and Rahmati, 2006) و سپس H_2O_2 حاصل توسط آنزیم‌های POX و CAT به آب تبدیل می‌شود (Gao et al., 2010). در دمای پایین به دلیل آسیب غشای میتوکندری از فعالیت آنزیم SOD کاسته می‌شود (Pinhero et al., 1997) اما تیمار با متیل جاسمونات با تنظیم مقدار O_2^- و H_2O_2 در تنش سرما باعث القا مقاومت در گیاه می‌شود و از کاهش رشد گیاه جلوگیری می‌کند (Li et al., 2012). در گیاهچه‌های تیمار شده با متیل جاسمونات، خیار (Li et al., 2012)، سویا (Posmyk et al., 2005) و میوه لکات (*Eriobotrya japonica*) (Ding et al., 2002) مقاومت به سرما القا شد و همچنین فعالیت آنزیم SOD زیاد شد و تجمع رادیکال‌های آزاد کاهش یافت (Gao et al., 2010) که این نتایج با نتیجه حاصل از پژوهش حاضر مطابقت داشت. احتمالاً فعالیت SOD به دلیل سنتز دوباره پروتئین‌های آنزیمی و القای بیان ژن رمز گذاری SOD می‌باشد (Verma and Dubey, 2003). در گیاهچه‌های بادام زمینی کاربرد غلظت ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار (Kumari et al., 2006) و در گیاه آرابیدوپسیس و کلزا (Jung, 2004) تیمار با متیل جاسمونات سبب افزایش آنزیم‌های SOD، CAT و POX شد. آنزیم POX می‌تواند مقدار H_2O_2 را در ساختارهای سلولی مثل کلروپلاست تنظیم کند (Djanaguiraman et al., 2005).

تنش سرما مهم است (Zhung and Smith, 1996)، پلی‌آمین‌ها به دلیل ماهیت پلی‌کاتیونی در pH فیزیولوژیکی می‌توانند به شدت به جایگاه آنیونی در اجزای سلولی بچسبند و باعث تثبیت غشاء شوند و به این ترتیب در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی دخیل باشند (Groppa and Benavides, 2008). بنابراین با قرار گرفتن در معرض دمای پایین پلی‌آمین‌ها در گیاهان تجمع می‌یابند و حساسیت آن‌ها به خسارت سرما را کمتر می‌کنند (Wang and Buta, 1994). در مطالعه روی میوه های گوجه گیلاسی نشان داده شد مقدار پلی‌آمین‌ها به وسیله تیمار با متیل جاسمونات زیاد شد و مقاومت به سرما در گیاه را القا بخشید (Zhanga et al., 2012).

در غلظت ۱ و ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات که بیشترین میزان جوانه‌زنی وجود داشت میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و POX در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد بسیار زیاد بود ولی در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت‌های ۱ و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد. این نتایج حاکی است که آنزیم‌های SOD و POX با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش دمای پایین بیشترین اثر را بر بهبود جوانه‌زنی داشتند. در مطالعه Posmyk و همکاران (۲۰۰۵) بر روی ریشه سویا در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید که فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD زیاد شد. در این پژوهش میزان ترکیبات فنلی زیاد شده بود که این ترکیبات باعث شدند آنتی‌اکسیدان‌ها فعال شوند (Rice-Evans et al., 1996). متیل جاسمونات با کاهش تولید اتیلن و کاهش فعالیت و یا غلظت α -آمیلاز مانع از جوانه‌زنی و طویل شدن ریشه می‌شود. یک رابطه معکوس بین غلظت متیل جاسمونات و جوانه‌زنی و رشد ریشه‌چه وجود دارد که در این مطالعه نیز با افزایش غلظت متیل جاسمونات از طول ریشه‌چه کاسته شد اما درصد جوانه‌زنی افزایش یافت (Norastehni et al., 2007). همچنین آماده سازی بذر طالبی با متیل جاسمونات باعث افزایش وزن خشک ریشه و ساقه شد (مقبلی و آروین، ۱۳۹۳). نتایج تحقیق Korkmaz و همکاران (۲۰۰۴) نیز روی اثر پیش تیمار با متیل جاسمونات بر جوانه‌زنی در دمای پایین بذر

با توجه به همبستگی مثبت بین سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی با میزان فعالیت‌های آنزیم‌های SOD، POX و CAT می‌توان گفت بهبود جوانه‌زنی بذور کدوی تخمه کاغذی در دماهای کمتر از دمای بهینه به دلیل نقش این آنزیم‌ها به ویژه SOD و POX در کاهش رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش دمای پایین بوده است و از این طریق با حفاظت از محتویات سلولی و غشا موجب ایجاد گیاهچه نرمال شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان اظهار داشت پرایمینگ بذور با متیل جاسمونات به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث از بین بردن آثار مخرب رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش دمای پایین می‌شود و در نتیجه از کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی در این گیاه تحت شرایط تنش سرما جلوگیری می‌کند. از این‌رو با استفاده از متیل جاسمونات علاوه بر کاهش خطر دمای پایین بر استقرار کدوی تخمه کاغذی، کشت زودتر این گیاه در مناطق خشک و نیمه خشک را امکان‌پذیر است و افزایش طول دوره رشد و رشد رویشی بهتر در هوای معتدل امکان دستیابی به عملکردهای بیشتر را فراهم می‌کند.

در مطالعه بر روی خیار تیمار شده با متیل جاسمونات فعالیت POX گیاه تحت دمای پایین کاهش یافت (Li et al., 2012) و نتیجه مشابهی نیز در آفتابگردان مشاهده شد (Gujarathi and Linden., 2005)، اما در پژوهشی که بر روی ریشه گندم انجام شد کاهش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در دمای بالا نشان داده شد (Goyal and Asthir., 2010). در گیاه کدو مشاهده شد زمانی که گیاه با متیل جاسمونات تیمار شد کلروپلاست یک روز بعد از تیمار تخریب شد اما با گذشت دو روز از پرایمینگ ساختار کلروپلاست بهبود یافت و پس از پنج روز نرمال شد (Ananieva et al., 2004)، پس با توجه به این نتیجه می‌توان گفت علت زیاد شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد بهبود ساختار کلروپلاست باشد.

خانپور اردستانی و همکاران (۱۳۹۲) در پژوهشی با عنوان اثر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در کشت سلول *Scrophularia straita* Boiss اعلام کردند فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در طی ۱۲ ساعت اولیه دوره تیمار کاهش و پس از آن تا پایان دوره آزمایش افزایش یافت. در حضور متیل جاسمونات فعالیت کاتالاز در کلیه تیمارها در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت، در حالیکه فعالیت پراکسیداز پس از ۱۲ ساعت به طور معنی‌داری افزایش یافت.

منابع

- اکرم قادری، ف.، کامکار ب. و سلطانی ا. (۱۳۸۷) علوم و تکنولوژی بذر (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد (چاپ اول). امیدبگی، ر. (۱۳۸۵) تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد ۳. انتشارات آستان قدس رضوی.
- خانپور اردستانی ن. شریفی، م و بهممنش، ب. (۱۳۹۲) اثر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در کشت سلول *Scrophularia straita* Boiss. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷(۵): ۸۴۰-۸۵۳
- مقبلی، ط.، و آروین، م.ج. (۱۳۹۳) اثر آماده سازی بذر با تنظیم کننده‌های رشد بر خصوصیات جوانه‌زنی، رشد و عملکرد میوه طالبی. نشریه تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی، ۱۴: ۳۳-۲۳.
- ملک‌زاده، س. و فلاح، س. (۱۳۹۵) اثر تیمارهای پرایمینگ بذر بر سبز شدن زنیان تحت سطوح مختلف آبیاری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۹: ۱۸۴-۱۷۳.
- میرمحمدی میدی، س.ع.م. و ترکش اصفهانی، س. (۱۳۸۳) جنبه‌های فیزیولوژیک و به‌نژادی تنش‌های سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن.
- Abdala, G., Miersch, O., Kramell, R., Vigliocco, A., Agostini, E., Forchetti, G. and Alemano, S. (2003) Jasmonate and

- octadecanoid occurrence in tomato hairy roots. Endogenous level changes in response to NaCl. *Plant Growth Regulation* 40: 21-27.
- Abdul, W., Mubarak, P., Gelani, S. and Basrab, S. (2007) Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology* 164: 283-294.
- Abei, H. (1984) Catalase invitro methods in enzymology. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Ananieva, K., Malbeck, J., Kamínek, M. and van Staden, J. (2004) Methyl jasmonate downregulates endogenous cytokinin levels in cotyledons of *Cucurbita pepo* (zucchini) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 122: 496-503.
- Bideshki, A.M., and Arvin, M.J. (2010) Effect of salicylic acid (SA) and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. *Plant Ecophysiology* 2: 73-81.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review Biochemistry* 72: 248-254.
- Browse, J., Xin, Z. (2001) Temperature sensing and cold acclimation. *Physiology metabolism* 4: 241-246.
- Caili, F., Huan, S., and Quanhong, L. (2006) A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods Human Nutrition* 61: 73-80.
- Creelman, R.A. and Mullet, J.E. (1995) Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic Stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92:4114-4119.
- Davey, M.W., Stals, E., Panis, B. Keulemans, J. and Swennen, R. I. (2005) High throughput of malondialdehyde in plant. *Analytical Biochemistry* 347: 201-207.
- Ding, C. K., Wang, C. Y., Gross, K. C. and Smith, D. L. (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.
- Djanaguiraman, M., Devi, D.D., Shanker, A.K., Sheeba, J.A. and Bangarusamy, U. (2005) Selenium-an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil* 272: 77-86.
- Erdal, S. and Dumlupinar, R. (2011) Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants, *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 1011-1017.
- Espanany, A., Fallah, S. and Taddayon, A. (2016) Seed priming improves seed germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. *Industrial Crop Products* 79: 195-204.
- Gao, Y., Guo, Y. K., Lin, S. H., Fang, Y. Y. and Bai, J. G. (2010) Hydrogen peroxide pretreatment alters the activity of antioxidant enzymes and protects chloroplast ultrastructure in heat-stressed cucumber leaves. *Scientia Horticulturae* 126: 20-26.
- Ghanati, F. and Rahmati, I.M. (2006) Improvement of antioxidant system and decrease of lignin by nickel treatment in tea plant. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1649-1661.
- Giannopolitis, C. N., Ries, S. K. (1977) Superoxid dismutase. 1. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Govahi, M., Arvin, M. J. and Saffari, G. (2007) Incorporation of plant growth regulators into the priming solution improves sugar beet germination, emergence and seedling growth at low-temperature. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10: 3390-3394.
- Goyal, M. and Asthir, B. (2010) Polyamine catabolism influences antioxidative defense mechanism in shoots and roots of five wheat genotypes under high temperature stress. *Plant Growth Regulation* 60: 13-25
- Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids* 34: 35-45.
- Gujarathi, N. P. and Linden, J. C. (2005) Oxytetracycline inactivation by putative reactive oxygen species released to nutrient medium of *Helianthus annuus* hairy root cultures. *Biotechnology and Bioengineering* 92: 393-402.
- Ikic, I., Maric-ivic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z. S. and Arcevic H. S. (2012) The effect of germination temperature on seed dormancy in croatian-grown winter wheats. *Euphytica* 188: 25-34.
- ISTA (International Seed Testing Association). (2009) International rules for seed testing. International Seed Sesting Association, Bassersdorf, Switzerland.
- Jung, S. (2004) Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Journal of Plant physiology and Biochemistry* 42: 231- 255.
- Karta, K. K. and Bekele, A. (2012) Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Vicia villosa* sp. *dasycarpa* (Ten.). *African Journal of Agricultural Research* 7: 3202-3208.
- Kaya, C., Kirmak, H., Higgs, D. and Saltli, K. (2002) Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. *Scientia Horticultrea* 93: 65-74.
- Koo, A. J. K. and Howe, G. A. (2009) The wound hormone jasmonate. *Phytochemistry* 70: 1571-1580.
- Korkmaz, A. I. Tiryaki, M. Nas, N. and Ozbay, N. (2004) Inclusion of plant growth regulators into priming solution improves low-temperature germination and emergence of watermelon seeds. *Journal of Plant Science* 2: 1161 -1167.
- Korkmaz, A., Tiryaki, I. and Nas, M.N. (2005) Combining priming and plant growth regulators improves muskmelon germination and emergence at low temperatures. *European Journal of Horticultural Science* 70: 29-34.

- Kumari, G. J., Reddy, A. M., Naik, S. T., Kumar, S. G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P. C. and Sudhakar, C. (2006) Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum* 50: 219-226.
- Lee, S. S., Kim, J. H., Hong, S. B., Yun, S. H. and Park, E. H. (1998) Priming effect of rice seeds on seedling establishment under adverse soil conditions. *Korean Journal of Crop Science* 43: 194-198.
- Li, D. M., Guo, Y. K., Li, Q., Zhang, J., Wang, X.J. and Bai, J.G. (2012) The pretreatment of cucumber with methyl jasmonate regulates antioxidant enzyme activities and protects chloroplast and mitochondrial ultrastructure in chilling-stressed leaves. *Scientia Horticulturae* 143: 135-143.
- Posmyk, M. M., Bailly, C., Szafranska, K., Janas, K. M. and Corbineau, F. (2005) Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 162: 403-412.
- Mac Adam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tallfescue. *Plant Physiology* 99:872-878.
- Maksymiec, W. (2011) Effects of jasmonate and some other signalling factors on bean and onion growth during the initial phase of cadmium action. *Biologia Plantarum* 55 (1): 112-118.
- Martin-Tanguy, J. (2000) Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regulation* 34: 135-148.
- Misra, N. and Gupta, A.K. (2006) Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedling. *Journal of Plant Physiology* 163: 11-18.
- Mittle R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405-410
- Norastehni, A., Sajedi, R. H. and Nojavan-Asghari, M. (2007) Inhibitory effects of methyl jasmonates on seed germination in maize (*zea mays*): Effect on α -amilase activity and ethylen production. *Plant Physiology* 33 : 13-23.
- Parvaiz, A. and Prasad, M.N.V. (2012) Abiotic stress responses in plants, metabolism, productivity and sustainability. Springer Science+Business Media, LLC.
- Patade, V. Y., Maya, K. and Zakwan, A. (2011) Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. *Research Journal of Seed Science* 4: 125-136.
- Pinhero, R. G., Rao, M. V., Paliyath, G., Murr, D. P. and Fletcher, R. A. (1997) Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. *Plant Physiology* 114: 695-704.
- Pushpalatha, H. G. Sudisha, J., Geetha, N. P., Amruthesh, K. N. and Shekar Shetty, H. (2011) Thiamine seed treatment enhances LOX expression, promotes growth and induces downy mildew disease resistance in *Pearl millet*. *Biologia Plantarum* 55: 522-527.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology Medicine* 20: 643-648.
- Szabo, E, Thelen, A. and Peterson, M. (1999) Fungal elicitor preparations and methyl jasmonate enhance rosmarinic acid accumulation in suspension cultures of *Coleus blumei*. *Plant Cell Reports* 485-489.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) *Plant Physiology* (3rd Edition). Sunderland: Sinauer Associates. 804p.
- Tsaknis, J., Lallas S. and Lazos E. S. (1997) Characterization of crude and purified pumpkin seed oil. *Grasasy Aceites* 48: 267-272.
- Verma, S. and Dubey, R.S. (2003) Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science* 164: 645- 655.
- Vyas, D. and Kumar, S. (2005) Purification and partial characterization of a low temperature responsive Mn-SOD from tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Biochemical and Biophysical and Research Communication* 329: 831-838.
- Wang, C.Y. and Buta, J.G. (1994) Methyl jasmonate reduces chilling injury in *Cucurbita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. *Environmental and Experimental Botany* 34: 427-432.
- Xu, P.L., Guo, Y.K., Bai, J.G., Shang, L. and Wang, X.J. (2008) Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiologia Plantarum* 132: 467-478.
- Yong, Z., Hao-Ru, T. and Ya, L. (2008) Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short-term low temperature stress. *World Journal of Agricultural Sciences* 4:458-462.
- Yu, K. W., Gao, W., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2002) Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biochemical Engineering Journal* 11:211-5.
- Zhanga, X., Shenga, J., Li, F., Menga, D. and Shena, L. (2012) Methyl jasmonate alters arginine catabolism and improves postharvest chilling tolerance in cherry tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* 64: 160-167.
- Zhung, F. and Smith, D. L. (1996) Effects of low root zone temperature on the early stages of symbiosis establishment between soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and *Bradyrhizobium japonicum*. *Journal of Experimental Botany* 45: 1467-73.