پژوهش‌های بذر ایران/ سال ششم/ شماره اول/ ۱۳۹۸ صفحات: ۱۷۲-۱۵۹

مقاله علمی کوتاه

تأثیر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر تحمل گیاهچه کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo*) به تنش سرما

مریم مختاری[۱]، سینا فلاح[۲*]

چکیده مبسوط

مقدمه: به‌منظور استفاده بیشتر از فصل رشد بهاری سازوکارهای بهبود دهنده جوانه‌زنی گیاهان بهاره در دمای پایین‌تر از دمای مناسب اهمیت زیادی دارد. از آنجا که یکی از راه‌های کاهش خسارت دمای پایین ارتقا سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهچه است، لذا در این آزمایش اثر اسید سالیسیلیک و جیبرلین بر جوانه‌زنی و سیستم آنتی‌اکسیدانی بذر گیاه کدوی پوست‌کاغذی تحت دماهای پایین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل شامل چهار غلظت جیبرلین (صفر، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار غلظت اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) و سه سطح دما (۸، ۱۱ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد) در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط کنترل شده و در شش تکرار در دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. بذرها پس از ضدعفونی در ظروف حاوی محلول‌های با غلظت صفر، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین و محلول‌های با غلظت صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد قرار داده شدند. سپس شستشوی بذرها انجام شده و در دماهای مورد نظر قرار داده شدند، جوانه‌زنی هر ۲۴ ساعت بر مبنای خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر ثبت گردید. در پایان روز هشتم پس از جداسازی گیاهچه‌های طبیعی و غیرطبیعی تعداد ۲۰ گیاهچه طبیعی از هر پتری انتخاب و سپس پارامترهای سرعت و درصد جوانه‌زنی، پروتئین محلول، میزان مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، آنزیم گایاکول پرکسیداز و آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچ یک از تیمارهای به کار برده شده نتوانست به جوانه‌زنی گیاه کمک کند و به همین علت از آزمایش حذف شدند، در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد استفاده از تیمار سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار و در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بیشترین افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی را نسبت به شاهد نشان داد. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتر تحت تأثیر هورمون جیبرلین قرار گرفت به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در تیمار ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و کمترین میزان پروتئین محلول در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین مشاهده شد. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد هورمون اسید سالیسیلیک موفق‌تر بود و اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را افزایش داد، همچنین این هورمون در راستای کاهش میزان پروتئین محلول نیز موفق بود.

نتیجه‌گیری: در این آزمایش تحمل گیاهچه به دماهای پایین توسط پیش‌تیمارهای جیبرلین و اسید سالیسیلیک به اثبات رسید. به‌طورکلی نتیجه‌گیری می‌شود که کاربرد جیبرلین و اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و درنتیجه تحمل گیاهچه کدوی پوست کاغذی به تنش دمای پایین می‌شود و بنابراین با استفاده از این ماده می‌توان اثر سرماهای احتمالی در ابتدای فصل رشد این محصول را تعدیل نمود.

واژه‌های کلیدی: دمای پایین، تنظیم کننده رشد، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، گیاهچه

جنبه‌های نوآوری:

۱- گیاهچه کدوی پوست کاغذی توسط پیش تیمارهای جیبرلین و اسید سالیسیلیک به دماهای پایین متحمل می‌شود.

۲- کاربرد جیبرلین و اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود.

۳- با استفاده از جیبرلین و اسید سالیسیلیک می‌توان اثر سرماهای احتمالی در ابتدای فصل رشد این محصول را تعدیل نمود.

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد

۲- استاد گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد

*رایانامه نویسنده مسئول: falah1357@yahoo.com

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1398.6.1.3.3

http://dx.doi.org/10.29252/yujs.6.1.159

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۰۲)

مقدمه

کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo*) گیاهی علفی، یک‌ساله و متعلق به تیره کدوئیان است (امید بیگی[1]، ۲۰۰۶) که در درمان بیماری غدد پروستات، فشارخون، درمان ناراحتی‌های مجاری ادراری، دیابت و کاهش کلسترول استفاده می‌شود (کایلی[2] و همکاران، ۲۰۰۶). این گیاه در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر جهان قابل کشت است. جوانه‌زنی آن در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد، اما دمای مطلوب برای رویش آن ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است (امید بیگی، ۲۰۰۶).

یکی از عواملی که بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد دمای محیط است زیرا فرایندهای آنزیمی و بیوشیمیایی گیاه از دمای محیط تأثیر می‌پذیرد. در گیاهانی که بهار کشت می‌شوند تنش سرما می‌تواند جوانه‌زنی گیاه را با محدودیت مواجه نماید زیرا مرحله جوانه‌زنی بسیار حساس به سرما است (مختاری[3] و همکاران، ۲۰۱۹). تنش سرمایی کم‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد در مرحله جوانه‌زنی، سبب استقرار ضعیف گیاهچه‌ها و مرگ و میر آن‌ها می‌شود و درجه حرارت مطلوب برای جوانه‌زنی بذر، به طور معمول، دمای بیشتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد است (امینی[4] و همکاران، ۲۰۱۵).

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهان تحت شرایط تنش زای محیط احتمال وقوع آن وجود دارد، تولید انواع اکسیژن فعال[5] (ROS) در کلروپلاست و میتوکندری سلول‌های گیاهان است (داوی[6] و همکاران، ۲۰۰۵). ROS ها به‌شدت با مولکول‌های زیستی مانند، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش داده و موجب پراکسیداسیون لیپید، دناتوره شدن پروتئین و ایجاد جهش می‌شوند. این امر به مختل شدن متابولیسم طبیعی گیاه و در نهایت مرگ سلول منجر خواهد شد (کاظمی شاهاندشتی[7] و همکاران، ۲۰۱۱). پراکسیداسیون لیپیدهای غشا باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دی آلدئید و ترکیباتی مثل اتانول می‌شود (پوشپالاتا[8] و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از راههای مقابله گیاهان با گونه‌های فعال اکسیژن تولید آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز است (مختاری و همکاران، ۲۰۱۹). آنزیم سوپر اکسید دسموتاز[9] (SOD) به‌عنوان اولین خط دفاعی در برابر ROSها، O^{2-} را در کلروپلاست و میتوکندری و سایر اندام‌ها (ویاس و کومار[10]، ۲۰۰۵) به H_2O_2 تبدیل می‌کند (قناتی و رحمتی[11]، ۲۰۰۶) و سپس H_2O_2 حاصل توسط آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز[12] (POX) و کاتالاز[13] (CAT) به آب تبدیل می‌شود (اردال و دوملوپینار[14]، ۲۰۱۱).

یکی از استراتژی‌های افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی استفاده از مواد تنظیم‌کننده‌های رشد است که سبب بهبود عوامل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت شرایط تنش‌های مختلف می‌شود (عبدل[15] و همکاران، ۲۰۰۷). جیبرلین یکی از هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که اثرات متعددی بر رشد و توسعه گیاه دارد. از جمله این اثرات می‌توان به جوانه‌زدن بذر، رشد و توسعه برگ، رشد ساقه، تحریک گلدهی، رشد و توسعه اجزای گل و نیز رشد و توسعه میوه اشاره نمود.

اسید سالیسیلیک نیز به عنوان یک شبه هورمون فنولیک، تنظیمات درونی گیاه را انجام می‌دهد و نقش آن در سیستم دفاعی در مقابل تنش‌های غیر زیستی (اسپنانی و فلاح[16]، ۲۰۱۶). علاوه بر این، نقش مهمی در تنظیم تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیک شامل فتوسنتز، بسته شدن روزنه‌ها، تعرق، سنتز کلروفیل، سنتز پروتئین، ممانعت از بیوسنتز اتیلن، جذب و انتقال عناصر بازی می‌کند. اسید سالیسیلیک در مقاومت به

[1] Omid Beigi
[2] Caili
[3] Mokhtari
[4] Amini
[5] Reactive oxygen species
[6] Davey
[7] Kazemi Shahandashti
[8] Pushpalatha
[9] Superoxide dismutase
[10] Vyas and Kumar
[11] Ghanati and Rahmati
[12] Guiacol peroxidase
[13] Catalase
[14] Erdal and Dumlupinar
[15] Abdul
[16] Espanany and Fallah

تنش سرما نیز نقش دارد و احتمالاً از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم پراکسید هیدروژن ، زمینه کاهش خسارت سرما و افزایش تحمل گیاه به سرما را فراهم می‌آورد (کشاورز[1] و همکاران، ۲۰۱۲).

کشت کدوی پوست کاغذی در اوایل بهار ممکن است به دلیل سرمای اوایل فصل محدودیت داشته باشد. از اینرو هدف از اجرای آزمایش حاضر بررسی اثر اسید سالیسیلیک و جیبرلین بر تحمل جوانه‌زنی بذر کدو پوست کاغذی به شرایط سرما بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کشت در ظروف پتری در شرایط ژرمیناتور در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار غلظت جیبرلین (صفر، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار غلظت اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌مولار) و سه سطح دما (۸، ۱۱ و ۱۴ درجه سانتی‌گراد) بودند. ابتدا بذرها با آب مقطر شستشو شدند، سپس به مدت ۱۰ ثانیه درون اتانول ۷۰ درصد قرار داده و پس از شستشو با آب سترون، به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد قرار گرفتند و در نهایت سه مرتبه و هر بار به مدت ۵ دقیقه با آب سترون شستشو داده شدند. بذرها در ظروف حاوی محلول‌های با غلظت صفر، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین و محلول‌هایی با غلظت صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد قرار داده شدند. سپس شستشوی بذرها انجام شده در دماهای مورد نظر قرار داده شدند (امید بیگی، ۲۰۰۶). جوانه‌زنی هر ۲۴ ساعت بر مبنای خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر ثبت گردید. در پایان روز هشتم پس از جداسازی گیاهچه‌های طبیعی و غیرطبیعی تعداد ۲۰ گیاهچه طبیعی از هر پتری انتخاب و سپس پارامترهای سرعت و درصد جوانه‌زنی با استفاده از روابط ۱ و ۲ محاسبه گردید (آیکیک[2] و همکاران، ۲۰۱۲؛ کاراتا و بکل[3]، ۲۰۱۲):

رابطه (۱): $GP = (n/N) \times 100$

GP = درصد جوانه‌زنی، n = تعداد بذرهای جوانه‌زده، N = کل بذرهای جوانه‌زده.

رابطه (۲): $GR = \Sigma (n_i / T_i)$

GR = سرعت جوانه‌زنی، n_i = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز iام، T_i = زمان پس از کاشت بر حسب روز.

علاوه بر ویژگی‌های مذکور از سه تکرار هر تیمار میزان پروتئین محلول و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نیز محاسبه گردیدند. اندازه‌گیری پروتئین محلول با روش بردفورد (برادفورد[4]، ۱۹۷۶)، میزان اکسیداسیون غشایی (مالون دی آلدئید) با استفاده از روش هیث و پاکر[5] (۱۹۶۸)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش گیانوپولایتس و ریس[6] (۱۹۷۷)، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی[7] (۱۹۸۴) و میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش مک آدام[8] و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد.

با توجه به اینکه در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچگونه جوانه‌زنی وجود نداشت، این سطح دما برای تجزیه واریانس حذف شد؛ بنابراین داده‌ها به‌صورت فاکتوریل با دو سطح دما و چهار غلظت جیبرلین و چهار غلظت اسید سالیسیلیک در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه واریانس شدند. تعداد تکرار برای سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی ۶ و برای سایر صفات ۳ بود. برای مقایسه میانگین اثرات متقابل از آزمون LSD به صورت برش‌دهی برای دما در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

[1] Keshavarz

[2] Ikic
[3] Karta and Bekel
[4] Bradford
[5] Heath and Packer
[6] Giannopolitis and Reis
[7] Abei
[8] Mac Adam

نتایج

سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر دما، هورمون و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۱). استفاده از پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی‌مولار و ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین باعث رسیدن به حداکثر سرعت جوانه‌زنی در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد شدند و به ترتیب سرعت جوانه زنی را از صفر به ۲/۳۸ و ۲/۲۴ جوانه در روز افزایش دادند که اختلاف معنی‌داری با هم نشان ندادند، و در دمای ۱۴ درجه نیز کاربرد جیبرلین با غلظت ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرعت جوانه‌زنی را از ۱/۰۱ به ترتیب به ۱۰/۴۳ و ۱۰/۲۳ جوانه در روز رساند. بیشترین سرعت جوانه‌زنی توسط جیبرلین با غلظت ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد با افزایش ۹/۴۲ درصدی نسبت به شاهد اتفاق افتاد، هر چند که در همین دما غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز با غلظت ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌دار نداشت. در تمام تیمارهای استفاده شده اسید سالیسیلیک و جیبرلین اختلاف بین دماها معنی‌دار است و با کاهش دما سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت (شکل ۱).

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اثر دما، هورمون و اثر متقابل دما با هورمون 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 پیش‌تیمار هیچ بذری جوانه نزد و استفاده از اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار میزان جوانه‌زنی را به ۶۷/۳۳ درصد رساند. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد نیز در شرایط بدون هورمون فقط ۲۶ درصد بذرها جوانه زد ولی استفاده از پیش‌تیمار میزان جوانه‌زنی را به ۱۰۰ درصد رساند. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد اسید سالیسیلیک ۱/ ۵ میلی‌مولار و جیبرلین ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر دارای حداکثر درصد جوانه‌زنی بود هر چند که تمام تیمارهای به کار رفته شده اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۲).

میزان پروتئین محلول بذرهای کدو پوست کاغذی در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر دما، هورمون و اثرات متقابل این دو عامل قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین میزان افزایش پروتئین محلول در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد مربوط به ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بود و کمترین میزان آن متعلق به ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بود (شکل ۳).

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات پرایمینگ بذر با جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر سرعت و درصد جوانه‌زنی در گیاه کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما

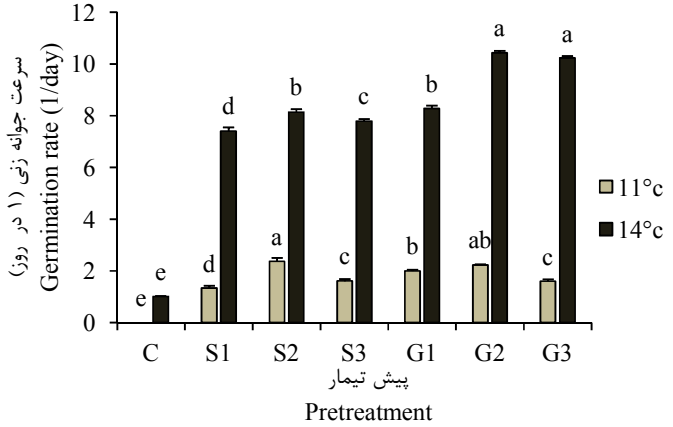
Table 1. Analysis of variance (MS) for seed priming effects with salicylic gibberellin and salicylic acid on germination rate and germination percentage of pumpkin seeds under cold stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
دما Temperature (T)	1	760.2**	41008**
هورمون Hormone (H)	6	44.57**	6870**
هورمون × دما T×H	6	18.36**	441.2**
خطا Error	70	0.05	10.06
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		4.94	4.79

** معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۱ درصد

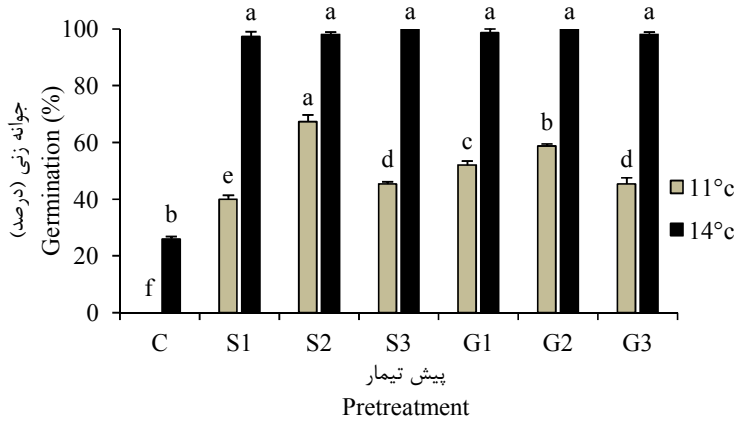
**: Significant at 1% error probability

در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان پروتئین محلول مربوط به شاهد بود و پیش‌تیمارهای بذر موجب کاهش معنی‌دار میزان پروتئین محلول بذر گردید. در تمامی پیش تیمارهای به کار رفته اختلاف بین دماها معنی‌دار بود و این پارامتر با دما رابطه معکوسی داشت (شکل ۳).



شکل ۱. اثر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. C: بدون هورمون (شاهد)، S1، S2 و S3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هستند. G1، G2 و G3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هستند.

Fig. 1. Effect of gibberellin and salicylic acid on the germination rate of pumpkin seeds under cold stress. At each temperature, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on the LSD Test. C: control, S1, S2, and S3 represent 0.5, 1 and 1.5 mM of salicylic acid, respectively. G1, G2, and G3 represent 250, 350, and 450 mg/L of gibberellin.



شکل ۲. اثر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر درصد جوانه‌زنی بذرهای کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. C: بدون هورمون (شاهد)، S1، S2 و S3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هستند. G1، G2 و G3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هستند.

Fig. 2. Effect of gibberellin and salicylic acid on the germination percentage of pumpkin seeds under cold stress. At each temperature, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on the LSD Test. C: control, S1, S2, and S3 represent 0.5, 1 and 1.5 mM of salicylic acid, respectively. G1, G2, and G3 represent 250, 350, and 450 mg/L of gibberellin.

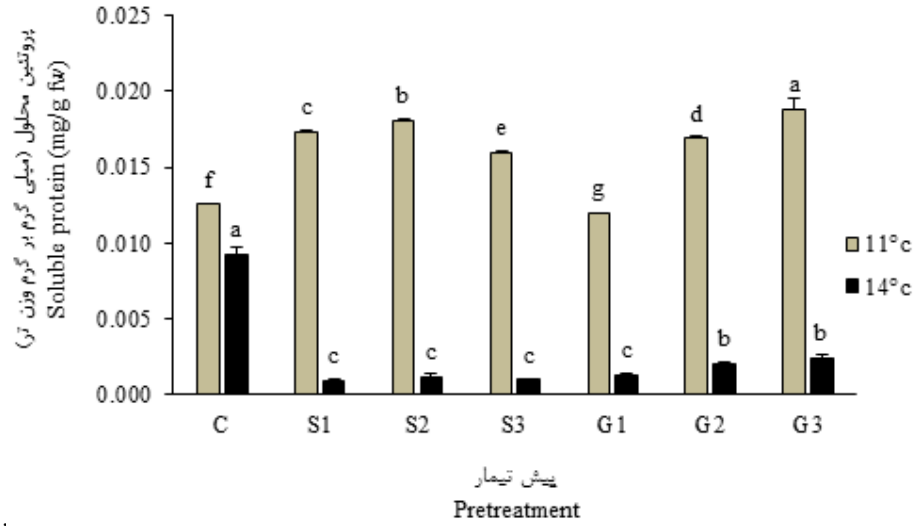
جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات پرایمینگ بذر با جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر محتوای پروتئین محلول، آنزیم سوپراکسیددیموتاز، آنزیم کاتالاز و آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما

Table 2. Analysis of variance (MS) for effects of seed priming with gibberellin and salicylic acid on soluble protein, superoxide dismutase enzyme, catalase enzyme and guaiac peroxidase enzymes of pumpkin seeds under cold stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	پروتئین محلول Soluble protein	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	گایاکول پراکسیداز Guiacol Peroxidase	کاتالاز Catalase
دما Temperature (T)	1	0.00187**	1825784**	0.0430**	0.00034**
هورمون Hormone (H)	6	0.00001**	92770**	0.0033**	0.00003**
هورمون × دما T×H	6	0.00004**	87447**	0.007**	0.00004**
خطا Error	28	0.00000011	1134	0.000016	0.00000046
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		3.55	13.45	9.20	15.41

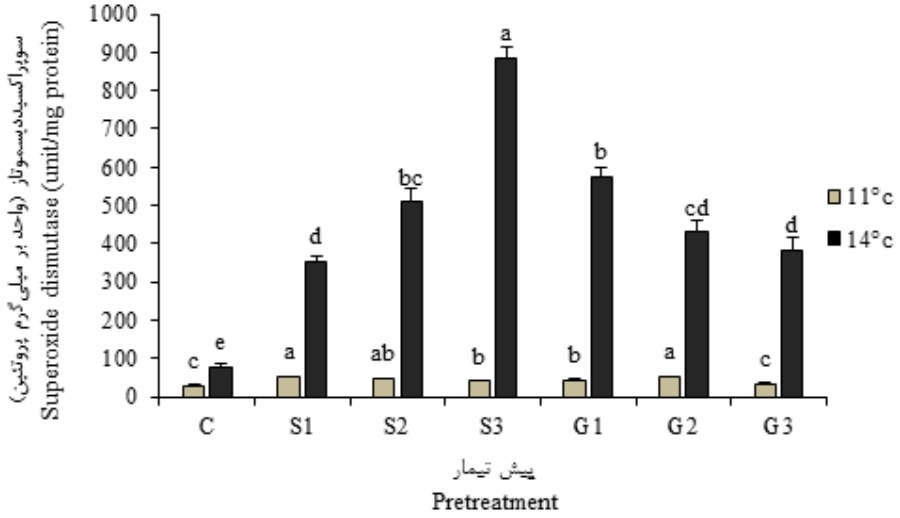
**: Significant at 1% error probability

** معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۱ درصد



شکل ۳. اثر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر پروتئین محلول کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. C: بدون هورمون (شاهد)، S1، S2 و S3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هستند. G1، G2 و G3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هستند.

Fig. 3. Effect of gibberellin and salicylic acid on the soluble protein of pumpkin seeds under cold stress. At each temperature, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on the LSD Test. C: control, S1, S2, and S3 represent 0.5, 1 and 1.5 mM of salicylic acid, respectively. G1, G2, and G3 represent 250, 350, and 450 mg/L of gibberellin.



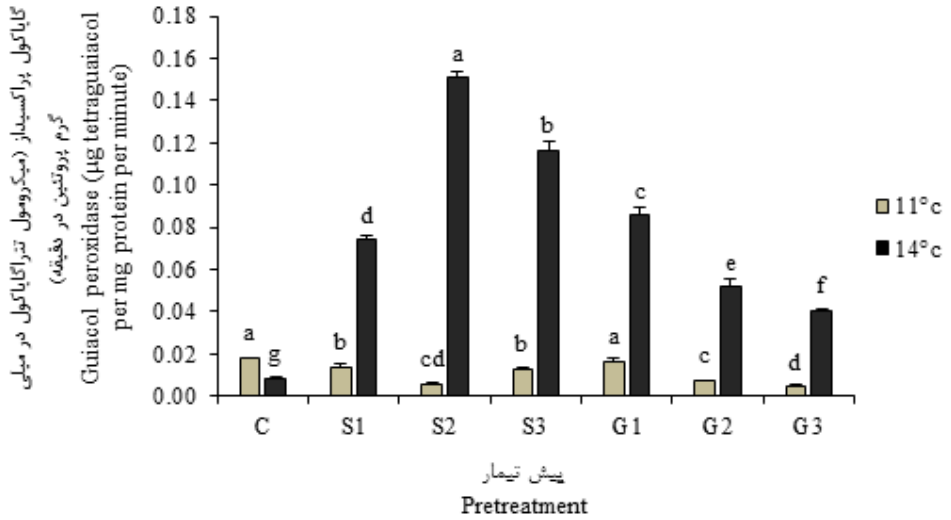
شکل ۴. اثر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر پروتئین محلول کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. C: بدون هورمون (شاهد)، S1، S2 و S3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هستند. G2،G1 و G3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هستند.

Fig. 4. Effect of gibberellin and salicylic acid on the superoxide dismutase of pumpkin seeds under cold stress. At each temperature, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on the LSD Test. C: control, S1, S2, and S3 represent 0.5, 1 and 1.5 mM of salicylic acid, respectively. G1, G2, and G3 represent 250, 350, and 450 mg/L of gibberellin.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گیاهچه کدو پوست کاغذی تحت تأثیر دما، هورمون و اثر متقابل این دو عامل قرار گرفت. در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد پیش‌تیمار هورمونی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با تیمار شاهد شد (شکل ۴). در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد، کاربرد ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD را داشت که با پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اختلاف معنی‌دار نداشت و در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد، پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD بود (شکل ۴).

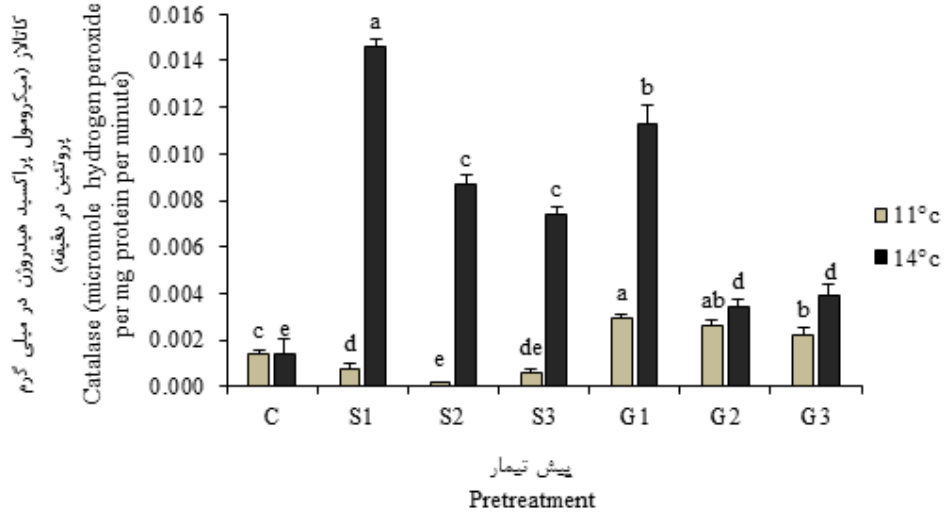
اثرات اصلی و متقابل دما و هورمون بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بذرهای کدو پوست کاغذی تحت تیمار اسید سالیسیلیک در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد و بیشترین میزان این پارامتر در اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار حاصل شد. در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد در شاهد و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بیشترین میزان این پارامتر مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. با کاهش دما میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵).

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه کدو پوست کاغذی تحت پیش‌تیمار هورمونی در شرایط تنش سرما اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۲). در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر از ۱۱ درجه سانتی‌گراد بود. علاوه بر این در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک و جیبرلین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت و در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد با افزایش غلظت جیبرلین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت، اما این روند در کاربرد اسید سالیسیلیک وجود نداشت. بیشترین میزان



شکل ۵. اثر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر آنزیم گایاکول پراکسیداز کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. C: بدون هورمون (شاهد)، S1، S2 و S3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هستند. G1، G2 و G3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هستند.

Fig. 5. Effect of gibberellin and salicylic acid on the guaiacol peroxidase of pumpkin seeds under cold stress. In each temperature, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on the LSD Test. C: control, S1, S2, and S3 represent 0.5, 1 and 1.5 mM of salicylic acid, respectively. G1, G2, and G3 represent 250, 350, and 450 mg/L of gibberellin.



شکل ۶. اثر جیبرلین و اسید سالیسیلیک بر آنزیم کاتالاز کدو پوست کاغذی تحت تنش سرما. در هر دما میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. C: بدون هورمون (شاهد)، S1، S2 و S3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هستند. G1، G2 و G3 به ترتیب بیانگر غلظت‌های ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هستند.

Fig. 6. Effect of gibberellin and salicylic acid on the catalase enzyme of pumpkin seeds under cold stress. In each temperature, means followed by the same letters are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on the LSD Test. C: control, S1, S2, and S3 represent 0.5, 1 and 1.5 mM of salicylic acid, respectively. G1, G2, and G3 represent 250, 350, and 450 mg/L of gibberellin.

افزایش این پارامتر در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد در پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار مشاهده شد و در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بود که با غلظت ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۶).

بحث

دمای بهینه رویش بذر کدو پوست کاغذی ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد است و در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد رشد آن متوقف می‌شود (امیدبیگی، ۲۰۰۶). در این آزمایش مشخص شد که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد هیچ بذری جوانه نمی‌زند و کاربرد هورمون نیز در چنین شرایطی اثری بر جوانه‌زنی نداشت؛ بنابراین هنگامی که دمای خاک اکوسیستم زراعی بسیار پایین است (حدود ۸ درجه سانتی‌گراد) استفاده از این تنظیم کننده‌های رشد برای تحریک جوانه‌زنی کدو پوست کاغذی توصیه نمی‌شود.

در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بدون استفاده از هورمون بذرهای کدو پوست کاغذی جوانه نزدند ولی استفاده از پیش‌تیمار با هورمون اسید سالیسیلیک میزان جوانه‌زنی را به ۶۷/۳ درصد رساند. اسید سالیسیلیک در نفوذپذیری غشا و فرایندهای غشایی، جذب یون و جلوگیری از تنش زنده و غیر زنده نقش دارد و در دمای پایین با جلوگیری از نشت املاح از درون بذر منجر به بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی آن می‌گردد (تیسا[1] و همکاران، ۲۰۰۰).

در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد نیز در بذرهایی که هورمون روی آنها اعمال نشده بود فقط ۲۶ درصد جوانه زدند ولی استفاده از هر دو هورمون در این دما میزان جوانه‌زنی را به ۱۰۰ درصد رسانید؛ بنابراین اثر ارزشمند هورمون برای ایجاد مقاومت به هوای نسبتاً خنک ابتدای فصل رشدکدوی پوست کاغذی (دمای بالای ۱۰ درجه سانتی‌گراد) در این آزمایش به اثبات رسید؛ زیرا تلفات ۷۴ درصدی جوانه‌زنی همان به معنی حذف کشت گیاه است.

بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که در دمای ۱۱ درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار اتفاق افتاد که دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD و کمترین میزان فعالیت آنزیم CAT بود، علاوه بر این در اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار و ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD وجود داشت و این سه تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند. احتمالاً افزایش میزان فعالیت آنزیم SOD به دلیل تجمع O_2^- می‌باشد چون هنگامی که گیاه تحت تنش قرار می‌گیرد آنزیم SOD به عنوان اولین خط دفاعی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن، O_2^- را در کلروپلاست و میتوکندری و سایر اندام‌ها به H_2O_2 تبدیل می‌کند (قناتی و رحمتی، ۲۰۰۶). نتایج پژوهش کارلیداگ[2] و همکاران (۲۰۰۹) روی توت فرنگی، فاروق[3] و همکاران (۲۰۰۸) روی ذرت و تائو[4] و همکاران (۲۰۱۰) روی خیار نشان داد که اسید سالیسیلیک منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله SOD و CAT شد و بدین طریق اثرات سرما بر گیاهان تیمار شده را کاهش داد. در کاربرد ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین نیز سرعت جوانه‌زنی افزایش نشان داد. در استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بیشترین مقدار فعالیت آنزیم‌های CAT و POX و کمترین میزان پروتئین محلول ثبت شد. ممکن است افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و POX به دلیل تلاش سیستم آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با شرایط تنش و از بین بردن H_2O_2 باشد چرا که H_2O_2 توسط آنزیم‌های POX و CAT به آب تبدیل می‌شود (گاأ[5] و همکاران، ۲۰۱۰). در تیمار ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین حداکثر میزان پروتئین محلول نیز وجود داشت و همچنین در این تیمار مقدار آنزیم‌های SOD و CAT نیز حداکثر بود. در نتایج یدالهی نوش‌آبادی[6] و همکاران (۲۰۱۲) نیز مشاهده شد که استفاده از اسید سالیسیلیک و جیبرلین سبب شد تا تمام فاکتورهای رشدی بذرهای اگروپایرون

[1] Tissa

[2] Karlidag
[3] Farooq
[4] Tao
[5] Gao
[6] Yadillahi Nooshabdi

جدول ۳. ضرایب همبستگی برخی پارامترهای اندازه‌گیری شده در بذر گیاه کدو پوست کاغذی تیمار شده با جیبرلین و اسید سالیسیلیک تحت تنش سرما

Table 3. Correlation coefficients of some measured parameters in pumpkin seed treated with gibberellin and salicylic under cold stress

	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	پروتئین محلول Soluble protein	سوپراکسیددیسموتاز Superoxide dismutase	گایاکول پراکسیداز Guiacol peroxidase	کاتالاز Catalase
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	1					
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	0.92**	1				
پروتئین محلول Soluble protein	-0.74**	-0.87**	1			
سوپراکسیددیسموتاز Superoxide dismutase	0.80**	0.52**	-0.85**	1		
گایاکول پراکسیداز Guiacol peroxidase	0.67**	0.63**	-0.76**	0.68**	1	
کاتالاز Catalase	0.71**	.072**	-0.81**	0.87**	0.74**	1

**: Significant at 1% error probability

** معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۱ درصد

(*Agropyron elongatum*) تحت تنش سرما افزایش یابد. همچنین پیش تیمار بذرهای ذرت با اسید سالیسیلیک موجب افزایش پتانسیل جوانه‌زنی و رشد این گیاه در دو دمای ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد شد (بِدی و دینگرا[1]، ۲۰۰۸). همچنین پرایم بذرهای کرچک تحت تنش سرما با جیبرلین نیز میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و POX را افزایش داد (ژو[2] و همکاران، ۲۰۱۴).

در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد تمام تیمارهای استفاده شده در رسیدن سرعت جوانه‌زنی به حداکثر مشابه بودند. غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک که تنها در راستای افزایش درصد جوانه‌زنی در این دما مؤثر بود، احتمالاً به دلیل وجود بیشترین میزان فعالیت آنزیم POX در این تیمار بود. غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در افزایش میزان فعالیت آنزیم CAT مؤثر بود. در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک میزان فعالیت آنزیم SOD نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. هر سه غلظت استفاده شده اسید سالیسیلیک و جیبرلین ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش میزان پروتئین محلول شد. نتایج پژوهش برومند[3] و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد پرایم کردن بذرهای یونجه تحت تنش سرما با اسید سالیسیلیک ۰/۲ میلی‌مولار به مدت ۱۶ ساعت موجب افزایش ۴۲ درصدی جوانه‌زنی و کاهش ۵۹ درصدی مدت زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی شد و همچنین استفاده از ۴۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین بیشترین تأثیر را در افزایش اجزای گیاهچه داشت.

غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین هیچ یک از آنزیم‌های اندازه‌گیری شده را بیشینه نکرد اما مقدار پروتئین محلول را کاهش داد. می‌توان اظهار کرد که کمتر بودن میزان جوانه‌زنی بذرهای شاهد نسبت به سایر تیمارها در دمای ۱۴ درجه سانتی‌گراد به دلیل بیشترین مقدار پروتئین و کمترین مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده موجود در این بذرها می‌باشد که این رابطه نیز با توجه به رابطه همبستگی

[1] Bedi and Dhingra
[2] Zhou
[3] Borumand

مثبت بین آنزیم‌های SOD، CAT، POX و همبستگی منفی این سه آنزیم با پروتئین محلول نیز قابل اثبات می‌باشد (جدول ۳).

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک و جیبرلین به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی 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 هورمون پرایمینگ علاوه بر کاهش خطر دمای پایین بر استقرار کدوی پوست کاغذی، کشت زودتر این گیاه در مناطق خشک و نیمه خشک امکان‌پذیر می‌گردد و افزایش طول دوره رشد و رشد رویشی بهتر در هوای معتدل امکان دستیابی به عملکردهای بیشتر را فراهم می‌کند.

منابع

Abdul, W., Mubaraka, P., Gelani, S., and Basrab, S. 2007. Pretreatment of seed with H_2O_2 improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. Journal of Plant Physiology, 164(3): 283-294. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.01.005

Abei, H. 1984. Catalase in vitro. Journal of Methods in Enzymology, 105: 121-126. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Amini, F., Shariat Zadeh, SH., and Askari, M. 2015. Effect of 24-epiburicinolide on increasing cold tolerance in eggplant seedlings. Journal of Crops Improvement, 17(3): 743-753 [In Persian with English Summary].

Bedi, S., and Dhingra, M. 2008. Stimulation of germination, emergence and seedling establishment in maize (*Zea mays* L.) at low temperature with salicylic acid. Environment and Ecology, 26(1A): 313-317.

Borumand, M., Gazanchian, A., and Ameri, A. 2013. Effect of seed priming on seed germination improvement and seedling growth of Alfalfa (*Medicago sativa*) under cold stress. Seed Research (Journal of Seed Science and Technology), 3(1): 10-22 [In Persian with English Summary].

Bradford, M. 1976. Arapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

Caili, F., Huan, S., and Quanhong, L. 2006. A review on pharmacology activities and utilization technologies of pumpkin. Plant Foods Human Nutrition, 61(2):73-80. https://doi.org/10.1007/s11130-006-0016-6

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. https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.09.041

Erdal, S., and Dumlupinar, R. 2011. Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. Acta Physiologiae Plantarum, 33(3): 1011-1017. https://doi.org/10.1007/s11738-010-0634-3

Espanany, A., and Fallah. S. 2016. Seed germination of dill (*Anethum graveolens* L.) in response to salicylic acid and halo-priming under cadmium stress. Iranian Journal of Plant Physiology, 6(3): 1643-1655.

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S.M.A., Cheema, M.A., and Rehman, H. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induce by seed priming with salicylic acid. Journal of Agronomy and Crop Science, 194(2): 161-168. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00300.x

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(1): 20-26. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.06.006

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. https://doi.org/10.1080/01904160600851536

Giannopolitis, C.N., and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 59: 309-314. https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309

Heath, R.L., and Packer, L. 1968. Photopeoxidation in isolated chloroplasts. Archives of Briochemistry and Biophysics, 125: 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1

Ikic, I., Maric evic, 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(1): 25-34. https://doi.org/10.1007/s10681-012-0735-8

Karlidag, H., Yildirim, E., and Turan, M. 2009. Exogenous applications of salicylic acid affect quality and yield of strawberry grown under anti frost heated greenhouse conditions. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 172(2): 270-276. https://doi.org/10.1002/jpln.200800058

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(21): 3202-3208. https://doi.org/10.5897/AJAR11.1489

Kazemi Shahandashti, S.S. Maali Amiri, R., and Zeynali Khangheh, H. 2011. Evaluation of some cell damage indices under cold stress in Jam chickpea. Journal of Genetics, 6(4): 70-77 [In Persian with English Summary].

Keshavarz, H., Modares Sanavi, S.A.M., Zarin Kamar, F., Dolat Aabadiyan, A., Panahi, M., and Kamal Sadat, A. 2012. Study of foliar application of salicylic acid on some biochemical properties of two canola cultivars (*Brassica napus* L.) under cold stress condition. Iranian Journal of Field Crop Science, 42(4): 723-734 [In Persian with English Summary].

Mac Adam, J.W., Nelson, C.J., and Sharp, R.E. 1992. Peroxidase Activity in the leaf elongation zone of Tall fescue. Plant Physiology, 99: 872-878. https://doi.org/10.1104/pp.99.3.872

Mokhtari, M., Fallah, S., Abbasi Surki, A., and Roshandel, P. 2019. The effect of methyl jasmonate on antioxidant enzymes and improving the resistance of *Cucurbita pepo* in low temperature. Plant Process and Function, 8(29): 261-272. [In Persian with English Summary].

Omid Beigi, R. 2006. Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Quds Razavi Publishing House Press. 397 P. [In Persian].

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(3):522-527. https://doi.org/10.1007/s10535-011-0118-3

Tao, L., Hong, F., Xin, S., Lin, D.Q., Fan, Z., Guo, L.H., and Hui, L.H. 2010. The alternative pathway in cucumber seedlings under low temperature stress was enhanced by salicylic acid. Plant Growth Regulation, 60(1): 35-42. https://doi.org/10.1007/s10725-009-9416-6

Tissa, S., Dareen, T., Eric, B., and Kinsly, D. 2000. Acetyl salicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation, 30: 157-161.

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. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.02.051

Yadollahi Nooshabadi, S.J., Sharifzadeh, F., and Entsari, M. 2012. The effect of gibberellic acid and salicylic acid priming on *Agropyron elongatum* seed germination under cold stress conditions. Seed Research (Journal of Seed Science and Technology), 1(1): 53-60 [In Persian with English Summary].

Zhou, G., Nimir, N., Lu, Sh., Zhai, F., and Wang, Y. 2014. Gibberellic acid and salinity affected growth and antioxidant enzyme activities in castor bean plants at early growth stage. American Society of Agronomy, 106(4): 1340-1348. https://doi.org/10.2134/agronj14.0044

Iranian Journal of Seed Research, 2019, 6(1): 159-172

Short Research Paper

Effect of Gibberellin and Salicylic Acid on Tolerance of Pumpkin (*Cucurbita pepo*) Seedling

Maryam Mokhtari, Sina Fallah *

Extended Abstract

Introduction: In order to take more advantage of the spring growing season, the mechanisms of germination of spring plants are of great importance at temperatures lower than the optimum temperature. Since one of the ways to reduce damage due to low temperature is enhancing the seedling antioxidant system, in this study the effects of salicylic acid and gibberellin on germination and antioxidant system of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seeds were investigated under low temperatures.

Materials and Methods: A factorial experiment including four concentrations of gibberellin (0, 250, 350 and 450 mg/L), four concentrations of salicylic acid (0, 0.5, 1 and 1.5 mM) and three temperature levels (8, 11 and 14 °C) was performed with a completely randomized design within controlled conditions and six replications at Shahrekord University in 2017. The seeds were immersed in containers containing solutions of 0, 250, 350 and 450 mg/L of gibberellin and solutions with 0, 0.5, 1, and 1.5 mM salicylic acid, were placed in a growth chamber for 24 h under dark conditions at 15 °C. Then the seeds were washed at the desired temperatures, and the germination was recorded every 24 hours based on the 2 mm of radicle length. At the end of the eighth day, after the separation of normal and abnormal seedlings, 20 normal seedlings were selected from each petri dish. Following that, the germination rate, germination percentage, soluble protein, malondialdehyde, superoxide dismutase, guiacol peroxide enzyme, and catalase enzyme were measured. Comparison of means was conducted by the least significant difference test at the 0.05 probability level.

Results: The results showed that none of the treatments used at 8 °C helped germination of the plant and, therefore, 8 °C treatment was removed from the experiment. At the temperature of 11 ° C, the use of salicylic acid 1 mM and at 14 °C, the use of gibberellin 350 mg/L showed the maximum germination rate and germination percentage, compared with the control. At 11 °C, the activity of antioxidant enzymes was more affected by gibberellin hormone so that the highest activity of superoxide dismutase enzyme was observed in 350 mg/L and the highest activity of catalase and guaiacol peroxidase enzymes and the lowest amount of soluble protein were observed in gibberellin 250 mg/L. The salicylic acid hormone was more successful at 14 ° C. The salicylic acid 1.5 mM increased the activity of superoxide dismutase enzyme; and salicylic acid 0.5 mM increased the activity of catalase and salicylic acid 1 mM improved the activity of guiacol peroxidase. This hormone also succeeded in reducing the amount of soluble protein.

Conclusion: In this experiment, seedling tolerance at low temperatures was confirmed by gibberellin and salicylic acid treatments. It is generally concluded that the use of gibberellin and salicylic acid increases the activity of antioxidant enzymes and, as a result, makes pumpkin (*Cucurbita pepo*) seedlings tolerant to low-temperature stress, and thus, can ameliorate the effect of possible chilling on growth of this crop at the beginning of the season.

Keywords*: *Low temperature, Growth regulator, Antioxidant enzymes, Seedling

Highlights:

1- Gibberellin and salicylic acid treatments make pumpkin seedling tolerant to low temperatures.
2- Application of gibberellin and salicylic acid increases the activity of antioxidant enzymes.
3- By using gibberellin and salicylic acid, the effect of possible chilling can be reduced at the beginning of the growing season.

M.Sc. Student and Professor of Agronomy Department, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

*Corresponding author, E-mail: falah1357@yahoo.com

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1398.6.1.3.3

http://dx.doi.org/10.29252/yujs.6.1.159

(Received: 02.02.2018; Accepted: 23.06.2018)

CrossMark