

تأثیر متیل ژاسمونات بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تیمار اتیلن

ندا حسینی، خسرو منوچهری کلانتری، زهرا اسرار:
بخش زیست شناسی دانشگاه پیام نور کرمان

چکیده

ژاسمونات‌ها به تازگی به عنوان گروه جدیدی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی محسوب شده‌اند که در بسیاری از مراحل مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه شرکت دارند و نقش دفاعی در گیاه ایفا می‌کنند. در این تحقیق اثر متیل ژاسمونات و اتیلن و برهمکنش آن‌ها بر پارامترهایی مانند وزن تر، وزن خشک و سطح برگ و همچنین اثر آن‌ها بر مقدار پروتئین، مالون دآلدنید و نشت یونی در برگ گیاه کلزا بررسی شد. بذرهای کلزا در گلدان‌های حاوی ماسه، رس و خاک برگ به نسبت (۱:۱:۲) کاشته شدند. ۴۵ روز پس از سبز شدن دانه‌ها، گیاهان به مدت ۵ روز با ۱۰۰ میکرومول متیل ژاسمونات محلول‌پاشی شدند و سپس به مدت ۲ روز تحت تیمار اتیلن (۱۰۰ و ۱۵۰ ppm) قرار گرفتند. گیاهان شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که مقدار وزن تر و خشک برگ در تیمار با اتیلن و متیل ژاسمونات کاهش یافت. سطح برگ نیز در سطوح تیمار با اتیلن کاهش یافت؛ مقدار پراکسیداسیون لیپیدها که در تیمار با اتیلن افزایش یافته بود در پیش تیمار با متیل ژاسمونات کاهش یافت که نشان دهنده کاهش خسارت اکسیداتیو توسط متیل ژاسمونات است. همچنین مقدار پروتئین طی تیمار با اتیلن کاهش یافت اما تیمار با متیل ژاسمونات از کاهش این پارامتر در گیاهان تحت تیمار با اتیلن جلوگیری کرد. حاصل آن‌که متیل ژاسمونات موجب کاهش خسارت اکسیداتیو می‌شود.

مقدمه

ژاسمونات‌ها ترکیبات غیراشباع مشتق شده از سیکلوپنتان لینولنیک اسیدند و ساختمانی شبیه به ایکوزانوئیدها در پستانداران دارند [۳]. داموئل و همکاران در سال ۱۹۶۲ اولین کسانی بودند که متیل‌استر ژاسمونیک اسید را به عنوان ماده‌ای معطر از اسانس یاسمن^۱ و چند گونه دیگر جدا ساختند [۳]، [۲۰]. در ابتدا ژاسمونات‌ها به عنوان بازدارنده رشد شناخته شده بودند، اما امروزه به دلیل قابلیت آن در افزایش بروز ژن‌های اختصاصی در گیاهان مورد توجه واقع شده‌اند [۴]. گزارش شده است که این ترکیبات خسارات ناشی از سرما، کم آبی و سایر تنش‌های فیزیکی را کاهش می‌دهند [۱۲]، [۲۵].

تنش‌های محیطی همچون سرما، خشکی، استرس آبی منجر به ایجاد مجموعه‌ای پیامبر ثانویه می‌شوند که در نهایت در تولید اتیلن در گیاه نقش دارند [۱۰]. اتیلن باعث کاهش رشد، کاهش فتوسنتز، پیری زودرس و مرگ سلولی می‌شود [۲]، [۲۲]. گزارش شده است که تنش‌های محیطی باعث تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال می‌شوند و تولید اتیلن را تحریک می‌کنند. اتیلن ایجاد شده نیز باعث افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌گردد که در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود. این در حالی است که متیل‌ژاسمونات از اثر اتیلن بر تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری می‌کند [۱۱]. گزارش شده است که متیل‌ژاسمونات تجمع مالون دآلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را تحت شرایط تنش کاهش می‌دهد [۱۲]. تنش‌های محیطی باعث خسارت به گیاه و کاهش محصول می‌شوند. با توجه به این‌که همه این تنش‌ها باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید اتیلن می‌شوند، برای روشن شدن تأثیر متیل‌ژاسمونات بر کاهش خسارت ایجاد شده توسط اتیلن و ایجاد مقاومت در گیاه کلزا، متیل‌ژاسمونات به صورت برون‌زا مورد استفاده قرار گرفت و پارامترهایی همچون صفات ریخت‌شناسی، مقدار پروتئین و پراکسیداسیون لیپیدها مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) استفاده شد. بذرها از مرکز تحقیقات کشاورزی کرج تهیه شد.

کشت و تیمار گیاه

در این پژوهش، از گلدان‌هایی با قطر ۷ سانتی‌متر استفاده شد که با مخلوطی از ماسه، رس و خاک برگ به نسبت ۱:۱:۲ پر شده بودند. چهار بذر سالم و یکسان برای هر گلدان انتخاب و کاشته شد. پس از رشد دانه‌رست‌ها تعداد گیاهان به یک عدد کاهش یافت. همچنین گلدان‌ها روزانه با آب مقطر آبیاری و تغذیه گیاهان هر هفته با محلول غذایی هوگلند [۷] با رقت نصف غلظت انجام شد. کاشت گیاه در گل‌خانه انجام شد و هنگامی که گیاه به مرحله چهار برگی رسید (هنگام ظهور برگ پنجم) تیمارهای مذکور بر روی آن اعمال شد. محلول متیل‌ژاسمونات با غلظت $100 \mu\text{M}$ تهیه شد و برگ‌های گیاهان با این محلول به مدت پنج روز متوالی محلول‌پاشی شد. گیاهان شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. برای اعمال تیمار اتیلن گلدان‌ها به مخزن‌هایی به ابعاد $45 \times 40 \times 90$ سانتی‌متر از جنس PMMA (هوابندی شده) منتقل شدند. قبل از اعمال تیمار اتیلن، مخزن‌ها تعیین حجم شده و حجم گلدان‌ها از آن‌ها کسر شد. پس از بسته شدن در مخزن‌ها با سوباسیلی که در روی درب مخزن قرار داشت اتیلن در سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام با استفاده از سرنگ به درون مخزن‌ها تزریق شد.

دو روز تیمار اتیلن اعمال شد و هر ۲۴ ساعت مخزن‌ها به مدت ۱۰ دقیقه به منظور هوادهی باز شدند و دو باره تیمار اتیلن با غلظت‌های ذکر شده اعمال شد.

اندازه‌گیری وزن تر برگ

برای اندازه‌گیری این پارامتر برگ سوم گیاهان پس از جدا شدن با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم گزارش شد.

اندازه‌گیری وزن خشک برگ

برای اندازه‌گیری این پارامتر برگ سوم هر گیاه پس از جدا شدن در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها و ثابت ماندن وزن، وزن خشک آن‌ها با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم گزارش شد.

اندازه‌گیری سطح برگ در گیاه

برای اندازه‌گیری سطح برگ، سومین برگ از هر گیاه انتخاب شد. برگ‌های انتخاب شده از گیاه جدا شد و بر روی کاغذ قرار داده شد و از آن‌ها کپی کاغذی تهیه شد. پس از تهیه کپی، مربعی که ابعاد آن ۱×۱ سانتی‌متر جدا و توزین شد. وزن این مربع یادداشت شد. سپس کپی برگ مورد نظر توزین شد و با رابطه تناسبی، سطح برگ بر اساس وزن آن مشخص شد.

سنجش مقدار پروتئین محلول

مقدار پروتئین‌ها در برگ با استفاده از روش لوری اندازه‌گیری شد [۱۵]. در این روش در اولین مرحله واکنش، کمپلکس پروتئین-مس در محلول قلیایی تشکیل می‌شود. بقایای تیروزین، تریپتوفان و سیستئین این کمپلکس، در مرحله بعد معرف فسفو مولیبدیک- فسفوتنگستیک (معرف فولن) زرد رنگ را احیا می‌کنند. رنگ آبی تندی حاصل می‌شود. از آنجا که این معرف تنها در $HP = 10$ صورت می‌گیرد لازم است پس از افزودن معرف فولن، مخلوط شدیداً بهم زده شود تا قبل از تخریب معرف فولن در محلول قلیایی مس-پروتئین، احیا صورت گیرد. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌ها از منحنی استاندارد (آلبومن گاوی) استفاده شد.

سنجش پراکسیداسیون لیپیدها

مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دالدنید ایجاد شده با تیوباربیتوریک اسید (TBA) سنجش شد. غلظت مالون دالدنید با استفاده از روش Heath & Packer [۶] در طول موج ۵۵۰

نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر صورت گرفت. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ در رابطه $A=\epsilon bc$ استفاده شد.

اندازه‌گیری سایر آلدئیدها

بر اساس روش Meir و همکاران [۱۶] انجام شد. برای سنجش میزان این آلدئیدها مطابق روش قبل (Packer & Heath) عمل شد اما شدت جذب این محلول در طول موج ۴۵۵ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت این آلدئیدها از ضریب خاموشی معادل $10^5 \times 0/458 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده شد. این ضریب خاموشی میانگین ضریب خاموشی برای پنج آلدئید مورد نظر است.

اندازه‌گیری مقدار نشت یونی در برگ از روش (Lutts et.al 1996) استفاده شد. ابتدا لوله‌های آزمایش در دار در آون با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل شد، سپس از برگ‌های گیاه به مقدار ۲ گرم دیسک برگی (توسط چوب پنبه سوراخ کن با قطر داخلی ۱ سانتی‌متر) تهیه شد. دیسک‌های برگی برای بر طرف شدن آلودگی‌های سطح برگ ۳ بار با آب مقطر شستشو شد، سپس در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، در لوله‌های آزمایش در دار قرار داده شد. لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی محلول حاوی نمونه‌ها (EC_1) با دستگاه EC سنجیده شد، سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در آون با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، بعد از سرد شدن نمونه‌ها برای دومین بار هدایت الکتریکی (EC_2) محلول حاوی دیسک‌های برگی سنجیده شد. برای به دست آوردن مقدار نشت یونی از این رابطه استفاده شد [۵]:

$$EL = EC_1/EC_2 \times 100:$$

رابطه ۱

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل‌های آماری طبق طرح کامل تصادفی صورت گرفت. برای ارزیابی اثر دو تیمار روی صفت اندازه‌گیری شده همه داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS version 9 تحت آنالیز واریانس (ANOVA) دو طرفه قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج

وزن تر و خشک برگ تحت تیمارهای مختلف اتیلن و تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات کاهش معنی‌داری در سطح ۵ درصد نسبت به شاهد (که تنها با آب مقطر محلول پاشی شدند) نشان داد (جدول ۱).

در تمام گیاهانی که با اتیلن تیمار شده بودند کاهش معنی‌داری در سطح برگ نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول ۱). در تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات افزایش نسبی سطح برگ نسبت به تیمارهای اتیلن مشاهده شد اما این افزایش در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود.

اتیلن باعث کاهش مقدار معنی‌دار پروتئین برگ گیاه نسبت به شاهد در سطح اطمینان ۹۵ درصد شد. بیش‌ترین کاهش در مقدار پروتئین گیاه در سطح ppm ۱۵۰ اتیلن دیده شد. متیل ژاسمونات کاهش پروتئین ناشی از اتیلن را بهبود بخشید (جدول ۱).

مالون دالدنید به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌شود. در این آزمایش مقدار مالون دالدنید تحت تیمار اتیلن افزایش معنی‌داری یافت. متیل ژاسمونات مقدار مالون دالدنید در گیاهان تحت تیمار اتیلن را به طور چشمگیری کاهش داد؛ ولی متیل ژاسمونات به تنهایی و در حضور اتیلن ppm ۱۰۰ نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ایجاد نکرد (جدول ۱). نتایج آنالیز واریانس حاصل از تیمار اتیلن بر مقدار آلدنیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال) نشان داد که تیمار با اتیلن مقدار پنج آلدنید را به طور معنی‌داری افزایش داد، به طوری که بیش‌ترین مقدار آن در گیاه مربوط به گیاهان تحت تیمار با ppm ۱۵۰ اتیلن بود. همچنین متیل ژاسمونات باعث کاهش مقدار سایر آلدنیدها در گیاهان تحت تیمار با اتیلن شد ($p=0/05$) (جدول ۱).

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار نشت یونی برگ گیاه کلزا تحت تیمارهای مختلف متیل ژاسمونات، اتیلن و اتیلن همراه با متیل ژاسمونات نشان داد که مقدار نشت یونی برگ گیاه کلزا در تیمارهای مختلف اتیلن به طور چشمگیری افزایش یافته و بیش‌ترین مقدار نشت یونی مربوط به گیاهانی بود که تحت تیمار ppm ۱۵۰ اتیلن قرار داشتند، به طوری که مقدار نشت یونی در تیمار ppm ۱۵۰ اتیلن افزایش زیادی نسبت به گیاهان شاهد و تیمار شده با ppm ۱۰۰ اتیلن نشان داد. در تیمار با متیل ژاسمونات به تنهایی نشت یونی افزایش معنی‌داری در سطح ۵ درصد نسبت به شاهد نداشت (جدول ۱).

بحث

گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر تیمار اتیلن بر مهار رشد و کاهش سطح برگ وجود دارد و علت آن را کاهش فتوسنتز و ماده‌سازی، تخریب کلروفیل و عدم توسعه و تقسیم سلولی ذکر کرده‌اند [۱]، [۹]، [۱۴]، [۲۲]. همچنین گزارش شده است که ژاسمونات در شرایط کشت برون شیشه و درون شیشه اثر مهاری و یا تحریکی بر رشد داشته و غلظت‌های نانومولار تا میکرومولار در کشت سلولی موجب افزایش وزن خشک می‌شود. در حالی که در غلظت‌های بالاتر رشد را باز می‌دارد. همچنین ژاسمونات در دانه رسته‌های سیب‌زمینی رشد ریشه را نسبت

به رشد اندام هوایی بیشتر تحت تأثیر خود قرار داده است [۲۳]. در تحقیق انجام شده نیز متیل ژاسمونات از کاهش وزن برگ و سطح برگ به مقدار ناچیزی جلوگیری کرد (جدول ۱).

جدول ۱. اثر تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات بر برگ گیاه کلزا

اتیلن	متیل ژاسمونات	وزن تر برگ (میلی گرم)	وزن خشک برگ (میلی گرم)	سطح برگ (ساتی متر مربع)	پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	مالون دالدنید (میکرومول بر گرم وزن تر)	سایر آلدنیدها (میکرومول بر گرم وزن تر)	نشست یونی (%)
0	-	153.8353 ^a	13.38035 ^a	24.11 ^a	3.63881 ^a	1.1397 ^d	1.4512 ^c	15.06667 ^c
0	+	129.756 ^{ab}	10.43191 ^{ab}	21.44 ^{ab}	3.579286 ^a	1.258 ^{cd}	1.641 ^{de}	18.41102 ^c
100 ppm	-	120.3458 ^b	8.034577 ^b	18.42 ^b	2.83881 ^c	1.8172 ^{ab}	2.253 ^b	43.6230 ^c
100 ppm	+	121.1647 ^b	8.565362 ^b	19.26667 ^{ab}	3.314705 ^{ab}	1.3548 ^{cd}	1.8811 ^{cd}	30.73333 ^d
150 ppm	-	103.5039 ^b	7.692448 ^b	17.90667 ^b	2.057857 ^d	1.912 ^a	2.6301 ^a	73.73333 ^a
150 ppm	+	116.3409 ^b	7.763118 ^b	17.24667 ^b	3.062286 ^{bc}	1.511 ^{bc}	2.16102 ^{bc}	54.3102 ^b

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد، مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

یکی از پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش سنتز پپتیدها و پروتئین‌هاست. این گروه شامل فیتوشلاتین‌ها، هوموفیتوشلاتین‌ها، متالوپروتئین‌های گیاهی، پروتئین‌های مرتبط با پاتوزن، پروتئین‌های HSP و آنزیم‌های دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی‌اند [۱۹]. در این پژوهش تیمار با اتیلن کاهش میزان پروتئین مشاهده شد (جدول ۱). گزارش شده است که اتفون (یک ترکیب آزاد کننده اتیلن) باعث القای پروتئین‌های دخیل در دفاع پاتوزنی می‌شود؛ اما این تجمع باعث متلاشی شدن بسیار زیاد دیگر پروتئین‌های سلولی مخصوصاً روبیسکو شده و یا تخریب دیگر پروتئین‌های فعال گیاهی می‌شود [۲۴]. در نتیجه کاهش مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً ناشی از تخریب و متلاشی شدن پروتئین‌های ضروری گیاه مخصوصاً روبیسکو است. در حالی که مقدار پروتئین‌های سنتز شده در مقابل میزان پروتئین‌های تخریب شده کمتر است. بنا بر این میزان پروتئین‌ها در نهایت کاهش یافته است. تیمار با متیل ژاسمونات کاهش پروتئین ناشی از تیمار با اتیلن را تخفیف می‌بخشد. گزارش شده است که متیل ژاسمونات باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در توت فرنگی [۲۵] و گیاهچه ذرت [۱۳] شده است. شاید متیل ژاسمونات با اثر بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش تخریب روبیسکو و سایر پروتئین‌های ضروری گیاه شده است و بنا بر این میزان پروتئین‌ها افزایش یافته است.

مالون دالدنید از جمله محصولات پراکسیداسیون لیپیدهاست و به عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون در نظر گرفته می‌شود. گزارش شده است که هنگامی که گیاه جعفری و جو دوسر در معرض اتیلن برون‌زا قرار گرفتند، مالون دالدنید و سایر آلدنیدها شامل پروپانول، بوتانول، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی‌متیل استات

افزایش یافت [۸]، [۱۶]. همچنین اتیلن باعث افزایش مالون دالدئید در گیاهان تحت تیمار تنش خشکی و دما شده است [۱۷]. اتیلن از طریق اثر بر گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد، و در نتیجه باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت مرگ سلولی می‌شود [۱۷]. در این تحقیق تیمار توام متیل ژاسمونات و اتیلن، متیل ژاسمونات خسارت ناشی از تیمار اتیلن را بر روی غشا تخفیف داد (جدول ۱). بررسی‌های انجام شده نشان داده است که بعضی از تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله متیل ژاسمونات روی سیستم آنتی‌اکسیدانی تأثیر می‌گذارد [۲۵]. نشان داده شده است که در شرایط تنش کم‌آبی اگر گیاه توت فرنگی با متیل ژاسمونات تیمار شود، به طور محسوس فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش و فعالیت پراکسیداز کاهش می‌یابد. در ضمن گزارش شده است که تیمار با متیل ژاسمونات پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را کاهش می‌دهد [۲۵]. در بررسی اثر متیل ژاسمونات بر روی گیاهچه‌های ذرت، دو واریته مقاوم و حساس تحت تنش کم‌آبی مشاهده شده است که در واریته مقاوم، متیل ژاسمونات، مقدار اسید آسکوربیک را افزایش داده است؛ اما در واریته حساس تغییری مشاهده نشده است [۱۳]. به نظر می‌رسد که افزایش تحمل در واریته مقاوم به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به وسیله متیل ژاسمونات باشد. گزارش شده است که در گیاهچه‌های برنج که تحت شرایط سرما قرار گرفته بودند، متیل ژاسمونات باعث بقای بیش‌تر گیاهچه‌ها شده و صدمات ناشی از سرما بر روی غشا و همچنین نشت یونی را کاهش داده است [۱۲]. گزارش شده است که در تیمار با پاراکوات پراکسید هیدروژن و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی افزایش می‌یابد، اما در پیش تیمار با متیل ژاسمونات این پارامترها نسبت به تیمار پاراکوات کاهش می‌یابند [۱۸]. در تحقیق انجام شده نیز متیل ژاسمونات نشت یونی را کاهش داد (جدول ۱).

بنا بر این می‌توان نتیجه گرفت که متیل ژاسمونات ممکن است با القای مجموعه‌ای از پروتئین‌های خاص، غشا را در مقابل تنش‌ها محافظت کند. از آنجا که پیش تیمار گیاه با متیل ژاسمونات توانسته است پروتئین، نشت یونی و پراکسیداسیون ناشی از تیمار با اتیلن را کاهش دهد، به احتمال زیاد می‌تواند در تنش‌های محیطی که باتفاق باعث افزایش تولید اتیلن می‌شوند نقش بزرگی ایفا کند و در مقابل تنش مقاومت ایجاد کند. با تحقیقات و بررسی‌های بیش‌تر کاربرد احتمالی متیل ژاسمونات در کشاورزی مشخص خواهد شد.

منابع

- 1.J. Ayala-Zavala, Sh.Y. Wang, Ch.Y. Wang and A.G Gonzalez-Aguilar, Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and post harvest life of strawberry fruit. *Eur Food Technol.* 221 (2005) 731-738.

2. M. Costa, P. Civello, G. Chaves and G. Martinez, Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica Oleraceae* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 35 (2005) 191-199.
- 3.R. Creelman and J.E. Mullet, Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 92 (1995) 4114-4119.
4. R. Creelman and J.E. Mullet, Biosynthesis and action of Jasmonate in plant *Annu. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol.* 48 (1997) 355- 381.
- 5.M.A. El-Tayab, Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*. 45 (2005) 215-224.
- 6.R.L. Heath and L. Packer, Photoperoxidation in isolated chloroplast. I Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch, Biochem Biophys*. 125 (1968) 189-198.
- 7.D.R. Hoagland and D.I. Arnon, The water culture method of growing plants without soil. *University of California Berkeley Coll. Agric. Cir.* 347.
- 8.Y. Hoon, Y. Jae, R.E. James and T.Ch. Hyung. Effects of ethylene inhibitors on the ordered lipid peroxidation, lipoxygenase activities in Oat leaves and chloroplasts in vitro and its relevance to senescence. *American Society of Plant Biologists meeting*. (1997). USA.
- 9.A. Hussain, C. Ramsay, B. Taylor and J. Roberts, Soil compaction. A role for Ethylene in regulating leaf expansion and shoot growth in Tomato. *Plant physiology*. 121 (1999) 1227-1237.
10. W. Jordan, P. Morgan, and T. Davenport, Water stress enhances Ethylene-mediated leaf abscission in Cotton. *Plant physiol.* 50 (1972) 756-758.
11. K. L.C Wang, H. Li, and J.R. Ecker, Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The plant cell*. 14 (Special issue) (2002) 131-151.
12. T. Lee, H. Lur, Y. Lin and C. Chu, Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate induced chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedling. *Plant, Cell and Environment*. 19 (1996) 65-74.

13. Li, L., Van Staden, J. and Jager, A.K. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regulation*. 25(1998) 81-87.
14. M. Locke, J. H. Bryce and P. Morris, Contrasting effects of ethylene perception and biosynthesis inhibitors on germination and seedling growth of barley (*Hordeum vulgare*). *Journal of Experimental Botany*. 51 (352) (2000) 1843-1849.
15. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. Protein measurement with folin - phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*. 193 (1951) 265-275.
16. S. Meirs, S. Philosophhadass and N. Aharoni, Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid-peroxidation products detected during senescence Parsley by a newly developed method. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 117 (1992) 128-132.
17. S. Munne-Bosch, J. Penuelas, D. Asensio and J. Llusia, Airborne ethylene may alter antioxidant protection and Reduce tolerance of Holm Oak to heat and drought Stress. *Plant Physiology*. 136 (2004) 2937-2947.
18. L. Popova, V. Ananieva, V. Hristova, K. Christov, K. Georgieva, V. Alexieva and Zh. Stoinova, J. Salicylic acid-and Methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Plant Physiol. Special issue* (2003) 133-152.
19. R. przymusinski, R. Rucinska and E. Gwozdz, Increased accumulation of pathogenesis-related proteins in response of lupin roots to various abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*. 52 (2004) 53-61.
20. G. Sembdner and B. Parthier. The biochemistry and the physiological molecular action of jasmonate. *Annu. Rev. Plant physiol. Plant mol. Boil*. 44 (1993) 569-589.
21. D. Tang, K. M.Christiasen and W. Innes. Regulation of plant disease resistance, stress responses, cell death and ethylene signaling in Arabidopsis by the EDR1 protein kinase. *Plant physiology*. 138 (2005) 1018-1026.
22. D. Tholen, L. Voeselek and H. poorter. Ethylene insensitivity does not increase leaf area or relative growth rate in Arabidopsis, *Nicotiana tabacum* and *Petunia x hybrida*. *Plant physiology*. 134 (2004) 1803-1812.

23. F.J. Toro, L. Martin-closas and A.M. Pelacho, Jasmonate promote cabbage (*Brassica oleracea* L. var *Capitana* L.) root and shoot development. *Plant and Soil*. 255 (2003) 77-83.
- P. Vera and V. Conejero, Effect of ethephon on protein degradation and the accumulation of 'Pathogenesis-Related' (PR) proteins in tomato leaf discs. *Plant Physiology*. 92 (1990) 227-233.
24. S.Y. Wang, Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. *Journal of plant growth regulation*. 18 (1999) 127-134.