



Effect of Cinnamic Acid on Morphophysiological Characteristics of Cucumber Seedling under Chilling Stress

Z. Darabi¹, F. Ghanbari^{2*}, J. Erfani Moghadam³

Received: 08-10-2021

Revised: 23-10-2021

Accepted: 02-01-2022

Available Online: 25-11-2022

How to cite this article:

Darabi, Z., Ghanbari, F., & Erfani Moghadam, J. (2022). Effect of Cinnamic Acid on Morphophysiological Characteristics of Cucumber Seedling under Chilling Stress. *Journal of Horticultural Science* 36(3): 619-630. (In Persian with English abstract)

DOI: [10.22067/jhs.2022.72749.1093](https://doi.org/10.22067/jhs.2022.72749.1093)

Introduction

Low temperature is one of the most important environmental stresses that cause damage to plants and limit the geographical distribution of plant species. Plants of tropical and sub-tropical origin, such as cucumbers, are sensitive to cold stress and severely damaged at low temperatures. Plants have evolved a set of defense mechanisms to adapt to low temperatures. These mechanisms include the regulation of gene expression and physiological and biochemical changes that increase plant resistance to chilling stress. Cinnamic acid (CA) is one of the most important phenolic acids present in all plants and has antimicrobial properties against fungi and bacteria. The application of this compound in some plants causes oxidative stress and leads to the activation of antioxidant enzymes. Therefore, in the present study, the effects of exogenous cinnamic acid treatment on cold stress tolerance in cucumber seedlings have been investigated.

Materials and Methods

This research was conducted in the greenhouse and laboratory of the Department of Horticultural Sciences of Ilam University in 2019. Cucumber seeds (Super Daminus cultivar) were planted in a 1: 1: 1 ratio of field soil, manure, and sand. In the fully developed two-leaf stage, seedlings produced were sprayed using cinnamic acid (at concentrations of 0, 50, 100, and 200 µM). Foliar spraying treatments were applied at the mentioned concentrations until the surface of the leaves was completely wet. 24 hours after foliar application, all plants were exposed to cold stress at 3 °C for 6 hours in six consecutive days. After applying the cold treatment, the seedlings were transferred to the greenhouse and 72 hours later, the traits were measured.

Results and Discussion

The results showed that exogenous CA application increased the growth characteristics of cucumber seedlings subjected to chilling stress. Improving the growth and development of plants under stress conditions by cinnamic acid treatment has been reported in other studies, which is consistent with the results of the present study. It has been reported that cinnamic acid treatment, by causing oxidative shock in plants, leads to plant defensive responses to stress conditions, and through this, plants can better withstand stress conditions. These defense responses include increasing compatible solutions and improving the antioxidant system. In the present study, the use of cinnamic acid treatment increased proline, chlorophyll, and total phenol and reduced membrane lipid peroxidation, and these changes led to a decrease in the apparent effects of cold on cucumber seedlings.

The use of chemicals that can mitigate the effects of cold on the plant can also help maintain plant growth under cold stress. In the present study, the application of cinnamic acid improved the growth of cucumber seedlings under cold stress conditions. Cinnamic acid pretreatment by inducing antioxidant compounds reduced the effects of cold on cucumber seedlings and improved plant growth in chilling conditions. Also, cinnamic acid treatment increased the growth of pepper plants under salinity stress, cucumber under drought stress, and wheat

1, 2, and 3- M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: F.ghanbari@ilam.ac.ir)

under drought conditions, which is consistent with the results of the present study. Therefore, it can be said that cinnamic acid improves plant growth under stress by changing physiological and biochemical processes. The results showed that the application of cinnamic acid improved the growth of cucumber seedlings under chilling stress conditions. Cinnamic acid pretreatment caused a significant increase in relative water content (25 to 32%), chlorophyll (108 to 125%), proline (152 to 244%), and total phenol (31%) compared to the control, therefore improving the adaptabilities of cucumber seedlings to chilling stress. The application of cinnamic acid also reduced the damage to cell membranes. The electrolyte leakage and malondialdehyde accumulation of cinnamic acid-treated seedlings were lower than that of control seedlings.

Conclusion

In general, the results of this study showed that the application of cinnamic acid reduced the effects of cold stress on cucumber seedlings. These results were associated with increased proline, chlorophyll, phenol and relative water content, in this way, the rate of ion leakage and accumulation of malondialdehyde in cucumber seedlings were reduced under cold stress. In general, the results showed that cinnamic acid treatment (especially concentration of 200 μM) can effectively reduce the effects of chilling on cucumber seedlings and improve their growth under cold stress.

Keywords: Chilling injury, Chlorophyll, Malondialdehyde, Proline, Total phenol



مقاله پژوهشی

جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۶۲۰-۶۱۹

اثر سینامیک اسید بر خصوصیات مورفووفیزیولوژیکی نشاء خیار تحت تنش سرما

زهرا دارابی^۱- فردین قنبری^{۲*}- جواد عرفانی مقدم^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

چکیده

یکی از مشکلات اصلی گیاهان گرم‌سیری مانند خیار (*Cucumis sativus L.*) حساسیت به دمای پایین است که منجر به ایجاد آسیب سرمازدگی در آن‌ها می‌شود. سینامیک اسید یک اسید فلنی است و کاربرد خارجی آن سبب بهبود سیستم آنتی اکسیدانی شده و تحمل شرایط تنش را در گیاه بالا می‌پرسد. در تحقیق حاضر اثرات کاربرد سینامیک اسید بر تحمل تنش سرمایی نشاء خیار بررسی شده است. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه ایلام انجام شد. نشاء‌های خیار در مرحله دو برگی با غلط‌های مختلف سینامیک اسید (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) محلول‌پاشی شده و سپس در معرض تنش سرما (۳ درجه سانتی‌گراد به مدت شش ساعت در شش روز متوالی) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید بر وزن‌تر و خشک شاسخاره و ریشه، محتوای رطوبت نسبی، نشت یونی، مالون دی آلهید، فل کل، پروولین، کلروفیل و شاخص سرمازدگی معنی دار شد. کاربرد سینامیک اسید سبب بهبود پارامترهای رشدی نشاء‌های خیار در شرایط تنش سرمایی شد. پیش‌تیمار سینامیک اسید سبب افزایش معنی دار محتوای رطوبت نسبی (۲۵ تا ۳۲ درصد افزایش)، کلروفیل (۱۰۸ تا ۱۲۵ درصد افزایش)، پروولین (۱۵۲ تا ۲۴۴ درصد افزایش) و فل کل (۳۱ تا ۳۶ درصد افزایش) نسبت به شاهد شده و از این طریق خسارت سرما به نشاء خیار را کاهش داد. همچنین استفاده از سینامیک اسید خسارت به غشاء‌های سلولی را کاهش داده و نشاء‌های تیمار شده با سینامیک اسید نشت یونی و تجمع مالون دی آلهید کمتری (۹ تا ۵۲ درصد کاهش) نسبت به شاهد داشتند. به طور کلی نتایج نشان داد که تیمار ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید به طور مؤثری می‌تواند آثار سرما بر نشاء خیار نسبت به شاهد را کاهش داده و سبب بهبود رشد آن در شرایط تنش سرما شود.

واژه‌های کلیدی: پروولین، خسارت سرمایی، فل کل، کلروفیل، مالون دی آلهید

تکامل داده‌اند. این مکانیسم‌ها شامل تنظیم بیان ژن و تعییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که مقاومت گیاه به سرما را افزایش می‌دهد (Lin *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2011). در شرایط تنش سرمایی غشای سلولی دچار تعییر فاز از کریستال مایع به حالت ژله‌ای شده و این امر منجر به کاهش سیالیت غشاء و سفت شدن آن می‌شود (Xe *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2011). از طرف دیگر، تولید بیش از حد گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن در شرایط سرما منجر به خطر می‌اندازد و بنابراین منجر به افزایش نشت املاح از سلول‌ها شده و تجمع مالون دی آلهید افزایش می‌یابد (Liu *et al.*, 2009). علاوه بر این تجمع املاح اسازگار، بیوسنتر کلروفیل، کاهش ظرفیت فتوستنتزی و کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها در اثر دمای پایین اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش عملکرد و کیفیت

مقدمه
 دمای پایین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که سبب آسیب به گیاهان شده و توزیع جغرافیایی گونه‌های گیاهی را محدود می‌کند. تنش دمای پایین شامل تنش سرمایی (دمای بین صفر و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و تنش بخ‌زدگی (دمای کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) است (Zhou *et al.*, 2011). گیاهان با منشأ گرم‌سیری و نیمه گرم‌سیری مانند کدوئیان نسبت به تنش سرما حساس بوده و در دمای پایین به شدت آسیب می‌یابند (Li *et al.*, 2011). گیاهان مجموعه‌ای از مکانیسم‌های دفاعی را برای سازگاری با دمای پایین

۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم باگبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
 (Email: F.ghanbari@ilam.ac.ir)
 (*)- نویسنده مسئول:
 DOI: 10.22067/jhs.2022.72749.1093

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش و تیمارها

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در گلخانه و آزمایشگاه گروه علوم باگبانی دانشگاه ایلام به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ابتدا بذرهای خیار (رقم 'سوپر دامینوس') در گلدان پلاستیکی نشایی (قطر دهانه ۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر) حاوی محیط کشت خاک مزرعه، کود دامی و ماسه بادی با نسبت ۱:۱:۱ کشت شده و در گلخانه با دمای روزانه 24 ± 3 و شبانه 17 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و نور طبیعی پرورش یافت. نشاء‌های تولید شده یک روز در میان آبیاری شدند. در مرحله دو برگ کاملاً توسعه یافته گیاهچه‌های تولید شده با استفاده از سینامیک اسید (با فرمول شیمیایی $C_6H_5CH=CHCOOH$) در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار محلول پاشی شدند. تیمارهای محلول پاشی در غلظت‌های ذکر شده تا خیس شدن کامل سطح برگ‌ها اعمال شد. ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمارهای محلول پاشی همه گیاهان به اتفاق کرشد متقل شده و در معرض تنش سرمازی در دمای سه درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت در روز برای شش روز متوالی قرار گرفتند. اعمال تیمار سرمایی به صورت پیوسته در ساعت ۸ تا ۱۴ انجام شد و پس از پایان دوره سرمایی نشاء‌ها به گلخانه منتقل شده و ۷۲ ساعت بعد صفات اندازه‌گیری شد (Korkmaz et al., 2010).

اندازه‌گیری صفات

ارتفاع گیاه با استفاده از خطکش از سطح خاک تا بالاترین نقطه شاخساره اندازه‌گیری شد. وزن تر و خشک شاخساره و ریشه (دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آون برای خشک کردن گیاه استفاده شد) با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای تعیین محتوای رطوبت نسبی (RWC) از روش کورکماز و همکاران (Korkmaz et al., 2010) استفاده شد. ابتدا تعدادی مساوی برگ از هر تکرار انتخاب و جدا گردید. نمونه‌ها به وسیله ترازو (با دقت 0.001 گرم) توزین شدند (FW) و سپس به مدت ۵ ساعت در آب مقطر (جهت آب گیری کامل) نگهداری شده و پس از خشک کردن آب سطحی مجدداً توزین شدند (TW). پس از آن برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون الکتریکی قرار داده شدند. سپس برگ‌ها توزین شدند تا وزن خشک به دست آید (DW). از رابطه ۱ محتوای رطوبت نسبی برگ محاسبه گردید.

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad (رابطه ۱)$$

محصولات می‌شود (Hussain et al., 2018). ROS‌های تولید شده در شرایط تنفس بسیار واکنش‌پذیر هستند و می‌توانند به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برسانند و در نتیجه هموستاز سلولی را مختل کنند (Liang et al., 2020). برای مقابله با این تغییرات گیاهان ظرفیت دفاعی خود را بالا برده و با استفاده از انواع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی سطح ROS‌های تولید شده را کنترل می‌کنند (Hussain et al., 2018). از آنجا که گونه‌های حساس به سرما نسبت به گونه‌های مقاوم دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری هستند، یک رویکرد امیدوار کننده برای افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش سرما، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها خواهد بود (Xu et al., 2008).

سینامیک اسید یکی از مهم‌ترین اسیدهای فنولی است (Gao et al., 2018). تولید نشاء خیار در محلول غذایی حاوی سینامیک اسید جذب یون توسط ریشه‌های گیاه را مهار کرده و با افزایش نفوذپذیری غشاء، نشت یونی را افزایش می‌دهد (Yu et al., 1997). با این وجود، لی و همکاران (Li et al., 2011) گزارش دادند که پیش تیمار نشاء‌های خیار با غلظت پایین تر سینامیک اسید (۵۰ میکرومولار) با تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سبب بهبود تحمل سرما در این گیاه شد. کاربرد خارجی سینامیک اسید سبب کاهش آثار تنش خشکی در نشاء خیار شده و با تغییر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و محلول‌های سازگار سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می‌شود (Sun et al., 2012). همچنین گزارش شده است که استفاده از غلظت پایین سینامیک اسید (۵۰ میکرومولار) سبب افزایش نیتریک اسید و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی شده و با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش پرولین و نسبت پتانسیم به سدیم سبب کاهش آثار تنش شوری در نشاء فلفل شد (Lin et al., 2020). خیار (Cucumis sativus L.) سبزی میوه‌ای پر مصرف است که در بسیاری از مناطق جهان کشت می‌شود. بر اساس آمار منتشر شده میزان تولید خیار در دنیا به بیش از $87/8$ میلیون تن در سال می‌رسد که کشور ایران با تولید $1/6$ میلیون تن بعد از کشورهای چین و ترکیه، سومین کشور تولید کننده این محصول در دنیا می‌باشد (FAO, 2021). با این حال خیار به دمای زیر 15 درجه سانتی‌گراد حساس است و اگر دما به طور ناگهانی در طول دوره رویش گیاه به این سطح برسد، ممکن است تلفات قابل توجهی داشته باشد (Xu et al., 2008). بنابراین در تحقیق حاضر اثرات کاربرد تیمار سینامیک اسید بر بهبود رشد، کنترل تنش سرمازی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی وابسته به آن بررسی شد.

(Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. برای این کار ابتدا ۰/۰ گرم از بافت برگ تازه با ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه ساییده شده درون لوله آزمایش ریخته و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش بالای آن جدا شد. مقدار ۲ میلی لیتر از عصاره فوق جدا و داخل لوله آزمایش ریخته شد. به هر نمونه ۲ میلی لیتر معرف نینهیدرین و سپس، ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. پس از طی مراحل فوق، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در داخل بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴ میلی لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به عنوان بلانک قرائت شد. میزان پرولین نمونه‌های برگ بر حسب میکرو مول در گرم وزن تر گزارش شد.

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش استراین و اسوک (Strain and Svec, 1966) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۰ گرم برگ تازه را با استفاده از پنج میلی لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به دست آید. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۴ میلی لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفوتومتر طول موج جذبی (A) قرائت، و کلروفیل b، a و کل به ترتیب بر اساس رابطه‌های ۳، ۴ و ۵ محاسبه شد.

$$Chl\ a = 12.7(A663) - 2.69(A645) \quad (رابطه ۳)$$

$$Chl\ b = 25.8(A645) - 4.68(A663) \quad (رابطه ۴)$$

$$Chl\ total = 20.21(A645) + 8.02(A663) \quad (رابطه ۵)$$

شاخص خسارت سرمآذگی بر اساس پژمرده شدن، از دست دادن آب و نکروزه شدن برگ‌ها و شاخه‌ها پس از تنفس سرمایی بر طبق مقیاس زیر طبقه‌بندی گردید:

۱: در این حالت علام سرمآذگی قابل رؤیت نبود.

۲: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها اما بدون محدودیت رشد قابل رؤیت بود (کمتر از ۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه شده بود).

۳: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها قابل رؤیت بود (کمتر از ۱۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه شده بود).

۴: نواحی نکروزه مشخص روی شاخه‌ها قابل رؤیت بود (تا ۳۰ درصد از سطح برگ‌ها نکروزه شده بود).

۵: نواحی نکروزه وسیع همراه با کاهش یا محدودیت شدید رشد مشهود بود (بیش از ۵۰ درصد سطح برگ‌ها نکروزه می‌شود اما هنوز گیاه زنده است). گروههای مذکور، با یکی از شماره‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ارزش‌گذاری شد و میانگین خسارت برای هر تیمار محاسبه گردید.

(Wang, 1985)

اندازه‌گیری نشت یونی برگ بر اساس روش لوتس و همکاران (Lutts *et al.*, 1995) انجام شد. برای این منظور تعداد ۱۲ دیسک برگی یک سانتی‌متری به صورت تصادفی از گیاهان هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های تهیه شده در داخل لوله آزمایش ریخته شده و به منظور حذف آلودگی‌های سطحی سه بار با آب مقطر شستشو شدند. سپس در داخل هر کدام از لوله‌های آزمایش مقدار ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه، در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میزان نشت یونی محلول با استفاده از دستگاه سنجش هدایت الکتریکی قرائت گردید (EC1). سپس نمونه‌ها در داخل اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. بعد از سرد شدن در دمای اتاق قرائت دوم محلول (EC2) انجام گرفت و بر اساس رابطه ۲ میزان نشت یونی محاسبه و بر اساس درصد گزارش شد.

$$\text{نشت یونی} = \frac{EC1}{EC2} \times 100 \quad (\text{رابطه ۲})$$

برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدھید که بیانگر میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشاء سلولی است، از روش استیوارت و بیولی (Stewart and Bewley, 1980) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۰ گرم از نمونه‌تازه گیاهی (برگ) را با نیتروژن مایع در هاون خرد کرده تا به صورت پودر درآید. پودر تهیه شده به تیوب ۱۵ میلی لیتری منتقل کرده و مقدار ۵ میلی لیتر اسیدتری کلرو اسید استیک ۱/۰ درصد به تیوب اضافه شد. سپس تیوب‌ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی لیتر از روشنایر را به یک تیوب جدید منتقل کرده و به آن یک میلی لیتر محلول ۰/۵ درصد وزنی به حجم (w/v) اسید تیو باربیتیوریک حاوی اسیدتری کلرواستیک ۲۰ درصد اضافه شد. سپس تیوب‌ها در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. بلافضله پس از خارج نمودن تیوب از حمام آب داغ به منظور توقف واکنش، تیوب‌ها در آب یخ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس اقدام به قرائت میزان جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در دو طول موج ۵۳۲ و ۵۳۳ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر شد.

برای اندازه‌گیری مقدار فل کل از روش فولین - سیوکالته استفاده شد. به این منظور ۰/۰ گرم نمونه برگی با اضافه کردن سه میلی لیتر متانول ۸۵ درصد کوبیده شد و پس از صاف کردن آن با کاغذ صافی، ۳۰۰ میکرو لیتر آن برداشته شد و به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به آن ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه شده و پس از دو ساعت تکان دادن روی شیکر در دمای اتاق، جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Singleton and Rossi, 1965).

برای استخراج و اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران

میکرومولار سینامیک اسید سبب افزایش ۲۵ و ۳۲ درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند ([جدول ۳](#)). وضعیت آب گیاه ارتباط مستقیمی با رشد و نمو دارد، که عامل مؤثر کلیدی بر عملکرد و کیفیت محصولات باخی است. حفظ وضعیت مطلوب آب گیاه بسیار مهم است، زیرا که اگر سطح آب گیاه فراتر از حد معینی (سطح آستانه) کاهش یابد، کاهش شدیدی در عملکرد و کیفیت گیاه به وجود می‌آید ([Parkash and Singh, 2020](#)). به طور کلی، گیاهان در شرایط تنش سرما علاوه تنفس آب را نشان می‌دهند، که با کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه و به دنبال آن کاهش شدید پتانسیل آب برگ و از دست دادن فشار تورژسانس ایجاد می‌شود ([Aroca et al., 2003](#)) . گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با کاهش آثار تنفس بر گیاه ذرت سبب حفظ رطوبت نسبی آن در شرایط تنش اسمزی می‌شود ([Singh et al., 2013](#)). همچنین ونگ و همکاران ([Wang et al., 2007](#)) گزارش دادند که در شرایط تنش، اسید سینامیک می‌تواند محتوای آب نشاء‌های خیار را افزایش دهد که برای ادامه رشد آن‌ها در شرایط تنش بسیار مفید است.

نشت یونی و مالون دی آلدهید

برطبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر تیمار سینامیک اسید در سطح یک درصد آماری بر نشت یونی و در سطح پنج درصد آماری بر محتوای مالون دی آلدهید معنی‌دار شد ([جدول ۱](#)). کاربرد سینامیک اسید در هر سه غلظت (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) سبب کاهش معنی‌دار نشت یونی و مالون دی آلدهید در نشاء‌های خیار تحت تنش سرما شد. بین غلظت‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری برای نشت یونی و مالون دی آلدهید مشاهده نشد ([جدول ۳](#)). گزارش شده است که در شرایط تنش‌های محیطی تولید زیاد ROS‌ها اتفاق می‌افتد و این ترکیبات با پراکسیداسیون لیپیدها، غشاء‌های سلولی را تخریب می‌کنند. نتیجه این فرآیند تولید مالون دی آلدهید و افزایش نشت یونی در سلول‌ها خواهد بود ([Liu et al., 2009](#)). بنابراین افزایش محتوای مالون دی آلدهید و نشت یونی سلولی در گیاهان تحت تنش مشاهده می‌شود ([Korkmaz et al., 2010](#)). سینامیک اسید یک اسید فنولی است و هنگامی که به صورت بروز زا در غلظت مناسب استفاده شود، می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و آسیب‌های ناشی از تنش بر گیاهان را کاهش دهد ([Lin et al., 2020](#)). سینامیک اسید به واسطه اثری که بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی دارد می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و از تجمع مالون دی آلدهید و افزایش نشت یونی در گیاهان تحت تنش جلوگیری کند ([Karadağ and Yücel, 2007](#)). در تحقیقی لی و همکاران ([Li et al., 2011](#)) گزارش دادند که پیش تیمار سینامیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده،

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 ترسیم گردید.

نتایج و بحث

پارامترهای رشدی

نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید بر وزن تر و خشک شاخساره و ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر تیمار سینامیک اسید بر ارتفاع نشاء معنی‌دار نشد ([جدول ۱](#)). بر طبق نتایج مقایسه میانگین کاربرد سینامیک اسید در هر سه غلظت (۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار) سبب افزایش معنی‌دار وزن تر شاخساره، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه نسبت به شاهد (افزایش ۳۹ تا ۷۰ درصدی) شد (شکل‌های ۱ و ۲). از طرف دیگر، کاربرد ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید وزن خشک شاخساره را به طور معنی‌داری افزایش داد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار تأثیر معنی‌داری بر آن نداشت (شکل ۱). بیشترین افزایش پارامترهای رشدی در تیمار ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید مشاهده شد (شکل‌های ۱ و ۲). تنش سرما همانند سایر تنش‌های محیطی آثار مخرب بر رشد گیاهان دارد ([Xu et al., 2008](#)). زیرا که در شرایط تنش سرمایی فتوستتر کاهش یافته و تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد منجر به تخریب کلروفیل شده و همچنین جذب عناصر غذایی دچار مشکل می‌شود که در نهایت کاهش رشد گیاه را در پی دارد ([Hussain et al., 2008](#)). لی و همکاران ([Li et al., 2011](#)) گزارش کردند که پیش تیمار سینامیک اسید با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش آثار سرما در نشاء خیار شده و رشد گیاه در شرایط سرد را بهبود داد. همچنین تیمار سینامیک اسید سبب افزایش رشد گیاهان فلفل در شرایط تنش شوری ([Lin et al., 2020](#)، [Sun et al., 2012](#)) و گندم در شرایط کم آبی ([Singh et al., 2013](#)) شد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر گیاهان در معرض تنش سرما قرار داشتند، بنابراین تیمار سینامیک اسید با کاهش آثار سرما بر گیاه سبب حفظ رشد نشاء در شرایط تنش سرمایی شد.

محتوای رطوبت نسبی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید در سطح یک درصد آماری بر محتوای رطوبت نسبی معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش غلظت سینامیک اسید محتوای رطوبت نسبی نیز روند افزایشی داشت به طوری که غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰

میکرومولار اختلاف معنی‌داری بر فنل کل نسبت به شاهد نداشت ولی غلظت ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید سبب افزایش معنی‌دار و ۳۱ درصدی فنل کل نسبت به شاهد شد (جدول ۳). سینامیک اسید ماده اولیه مسیر فنیل پروپانوئید و پیش‌ساز بیوسنتر ترکیبات فنلی در گیاهان است (Sharma *et al.*, 2019). بنابراین بدیهی است که تیمار خارجی سینامیک اسید منجر به تقویت مسیر فنیل پروپانوئید و بیوسنتر بیشتر ترکیبات فنلی شود (Pour, 2021).

پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد و تحمل نشاء‌های خیار در برابر تنش سرما را افزایش می‌دهد. در تحقیقی دیگر کاربرد غلظت ۵۰ میکرومولار سینامیک اسید سبب کاهش تجمع مالون دی‌آلدهید در نشاء‌های خیار تحت تنش شوری شد (Wang *et al.*, 2007).

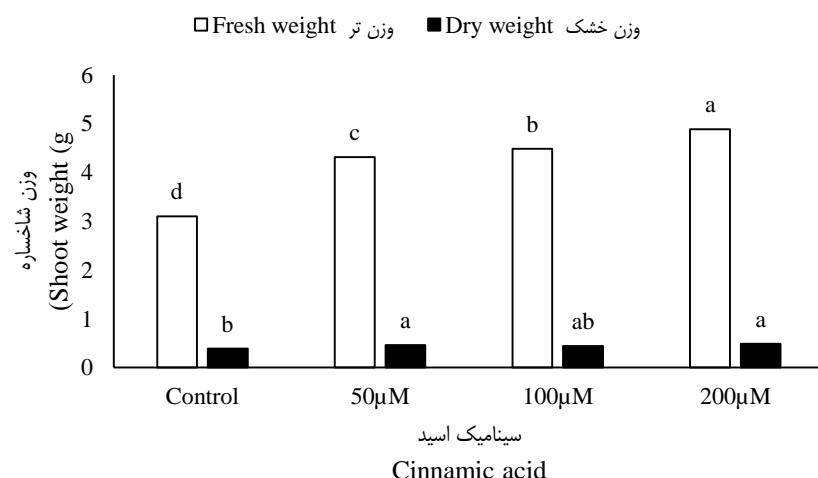
فنل کل
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای فنل کل در سطح یک درصد آماری تحت تأثیر تیمار سینامیک اسید قرار گرفت (جدول ۲). کاربرد سینامیک اسید در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات رشدی، محتوای رطوبت نسبی، نشت یونی و مالون دی‌آلدهید نشاء‌های خیار رقم 'سوپر دامینوس' تیمار شده با سینامیک اسید

Table 1- ANOVA for the growth traits, relative water content, ionic leakage and malondialdehyde in cucumber cv. Super Dominus seedlings treated with cinnamic acid

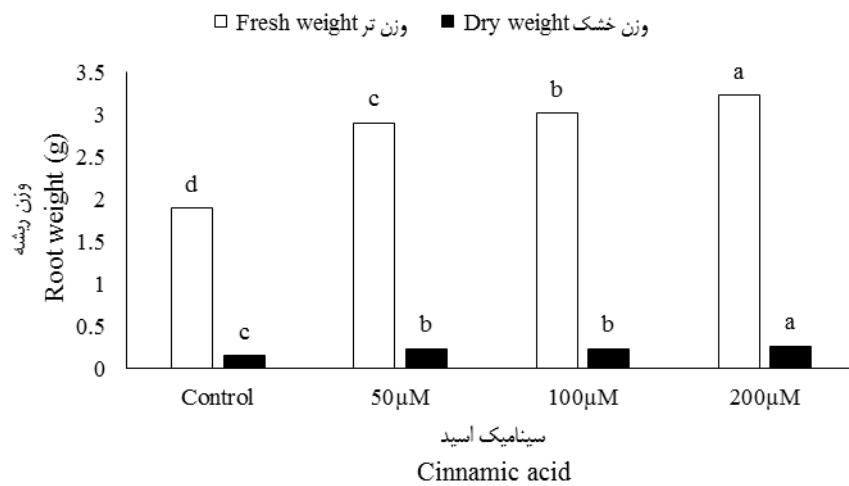
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares							
		ارتفاع گیاه Plant height	وزن تر شاخصاره Shoot fresh weight	وزن خشک شاخصاره Shoot dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	محتوای رطوبت نسبی Relative water content	نشت یونی Ionic leakage	مالون دی‌آلدهید Malondialdehyde
تیمار Treatment	3	1.95ns	1.787**	0.0055**	1.045**	0.0069**	343.26**	235.70**	0.026*
خطای آزمایشی Error	8	0.58	0.005	0.0007	0.001	0.001	0.53	3.19	0.004
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.57	10.75	6.18	11.49	4.16	8.82	8.05	4.94

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.



شکل ۱- اثر سینامیک اسید بر وزن تر و خشک شاخصاره خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 1- The effect of different concentrations of cinnamic acid on fresh and dry weight of cucumber cv. Super Dominus shoots subjected to chilling stress (Duncan, $p \leq 0.05$).



شکل ۲- اثر سینامیک اسید بر وزن تر و خشک ریشه نشاء خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 2- The effect of different concentrations of cinnamic acid on fresh and dry weight of cucumber cv. Super Dominus roots subjected to chilling stress (Duncan, $p \leq 0.05$).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیابی نشاءهای خیار رقم 'سوپر دامینوس' تیمار شده با سینامیک اسید

Table 2- ANOVA for the physiological and biochemical traits in cucumber cv. Super Dominus seedlings treated with cinnamic acid

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						شاخص سرمازدگی Chilling index
		فلل کل Total phenol	پرولین Proline	a Chlorophyll a	b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll		
تیمار Treatment	3	5.45**	100.15**	1.01**	0.23**	1.92**	3.68**	
خطای آزمایشی Error	8	0.32	3.62	0.07	0.01	0.07	0.14	
ضریب تغییرات C.V (%)	-	6.72	13.98	16.42	12.97	11.78	14.10	

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

واکنش های پراکسیداتیو را در ناحیه آبگریز غشاء محدود می کنند (Verstraeten *et al.*, 2003). افزایش ترکیبات فتلی در نشاءهای خیار با تیمار سینامیک اسید یک تغییر مثبت بوده و می تواند آثار مخرب تنش سرما بر گیاه را کاهش دهد. گزارش شده است که استفاده از سینامیک اسید در گیاه گندم تحت تنش شوری با افزایش ترکیبات فتلی سبب کاهش آثار شوری بر گیاه شد (Karadağ and Mohagheghian, 2017). همچنین محققان و احسان پور (Yücel, 2017) با بررسی اثر سینامیک اسید بر تحمل تنش شوری در گیاه تنباکو، نشان دادند که کاربرد سینامیک اسید سبب افزایش فتل، فلاونوئید و آنتوسبانین در این گیاه شد.

در سال های اخیر، نشان داده شده است که محتوای فنول گیاهان به دلیل عوامل استرس زای محیطی و زیستی به طور چشمگیری افزایش می یابد. این ترکیبات در القای بیان ژن، مسیرهای انتقال سیگنال و هموستاز متابولیک در گیاهان در شرایط نامساعد محیطی نقش دارند تا گیاهان بتوانند پاسخ های مناسبی را به شرایط تنش داشته باشند (Singh *et al.*, 2011). گزارش شده است که تجمع ترکیبات فتلی در گیاهان تحت تنش می تواند سبب کنترل پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء شود زیرا که این ترکیبات بسته به ساختار خود رادیکال های آزاد را به دام می اندازند و خشی می کنند (Milic *et al.*, 1998). ترکیبات فنولی انتشار رادیکال های آزاد را به ماتریس آبگریز (hydrophobic matrix) غشاء محدود کرده و

شوری مشاهده کردند. سان و همکاران (Sun et al., 2012) گزارش دادند که کاربرد خارجی سینامیک اسید در گیاه خیار تحت تنش خشکی با افزایش سطح پرولین و آنتی اکسیدانها سبب کاهش آثار تنش بر گیاه شد. تیمار سینامیک اسید محتوای پرولین را در برگ‌های فلفل تحت تنش شوری افزایش داد، پدیده‌ای که ممکن است به ظرفیت آنتی اکسیدانی سینامیک اسید نسبت داده شود و از این طریق گیاهان را از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌کند (Lin et al., 2020). در این تحقیق نیز پیش تیمار سینامیک اسید با افزایش محتوای پرولین، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داده و از نشاهای خیار در برابر سرما محافظت کرد.

پرولین

محتوای پرولین در نشاء‌های خیار در تنش سرما در سطح یک درصد آماری قرار گرفت (جدول ۲). در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید محتوای پرولین به ترتیب ۱۸۸، ۲۴۴ و ۱۵۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۳). تجمع بیش از حد ROS و آسیب ناشی از تنش‌های محیطی می‌تواند باعث تجمع پرولین شود. پرولین به عنوان اسмолیت و همچنین املاح سازگار عمل می‌کند و این نقش محافظتی در سازگاری سلول‌های گیاهی به شرایط تنش مؤثر است (Trovato et al., 2019). پرولین می‌تواند پتانسیل اسمزی سلولی را کاهش داده و در شرایط تنش، آماس سلول را حفظ کند (Hussain et al., 2018). کاراداگ و یوسف (Karadağ و Yosuf).

جدول ۳- اثرات سینامیک اسید بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در نشاء‌های خیار تحت تنش سرما

Table 3- The effects of cinnamic acid on some physiological and biochemical traits of cucumber cv. Super Dominus seedlings under cold stress

سینامیک اسید Cinnamic acid	محتوای رطوبت نسبی Relative water content (%)	نشت یونی Ionic leakage (%)	مالون دی آلدھید Malondialdehyde (nmol/g FW)	فنل کل Total phenol (mg.g ⁻¹ FW)	پرولین Proline (μmol.g ⁻¹ FW)
شاهد Control	73.13d	35.33a	1.54a	7.81bc	5.53c
۵۰ میکرومولار 50 μM	91.56c	17.06b	1.39b	8.56b	15.94ab
۱۰۰ میکرومولار 100 μM	94.49b	19.83b	1.31b	7.06c	19.03a
۲۰۰ میکرومولار 200 μM	96.40a	16.62b	1.38b	10.22a	13.99b

میانگین‌های با حروف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون چندانهای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Values followed by different letters had significant difference according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$

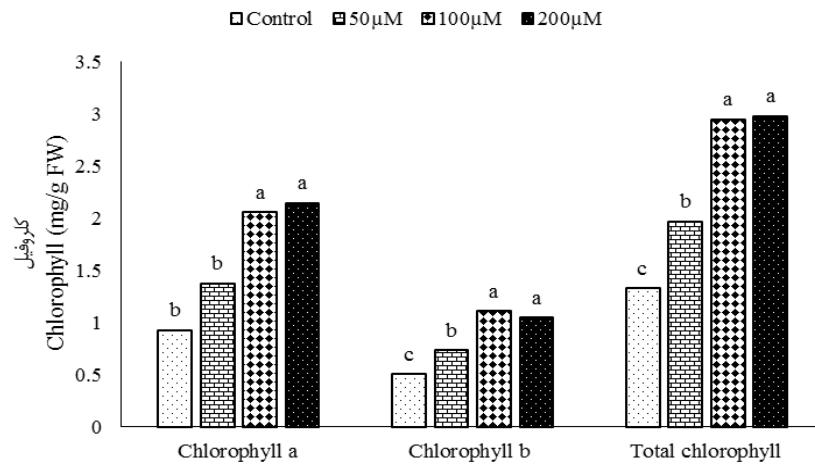
فعالیت‌های فتوستتری گیاه می‌شود (Kumar and Kumar, 2014). همچنین گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش را کنترل کرده و مانع از تخریب کلروفیل در این شرایط می‌شود (Lin et al., 2020).

شاخص سرمآزادگی

نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید بر صفت شاخص سرمآزادگی در سطح یک درصد آماری معنی‌دار شد (جدول ۲). هر سه غلظت بکار رفته سینامیک اسید (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) سبب کاهش معنی‌دار شاخص سرمآزادگی نسبت به شاهد شد. بین غلظت‌های بکار رفته اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد و هر سه غلظت به طور یکسان نشانه‌های ظاهری سرما بر نشاء را کاهش دادند (شکل ۴). تنش سرما باعث کاهش رشد و نمو در گیاهان حساس به سرما می‌شود. مطالعات مختلف اثرات منفی تنش سرما بر رشد خیار را نشان داده‌اند (Liu et al., 2009; Xu et al., 2008).

کلروفیل

نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید در سطح یک درصد بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد سینامیک اسید، به غیر از غلظت ۵۰ میکرومولار در مورد کلروفیل a، سبب افزایش کلروفیل a و کل نسبت به شاهد شد. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تأثیر مشابهی بر میزان کلروفیل داشته و به طور متوسط ۱۰۸ تا ۱۲۵ درصد میانگین کلروفیل را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۳). پیش تیمار سینامیک اسید کاهش رشد ناشی از سرما در نشاء‌های خیار را تعديل کرد که احتمالاً به دلیل حفظ کلروفیل و در نتیجه حفظ ظرفیت فتوستتری در شرایط تنش سرما باشد. به طور مشابه با این نتایج، ونگ و همکاران (Wang et al., 2007) گزارش دادند که نشاء‌های خیار تیمار شده با سینامیک اسید محتوای کلروفیل بالاتری داشته و شرایط تنش شوری را بهتر تحمل می‌کنند. در این رابطه گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با افزایش تحرک بخشی نیترات درونی بافت‌ها و افزایش بیوسنتر کلروفیل سبب بهبود

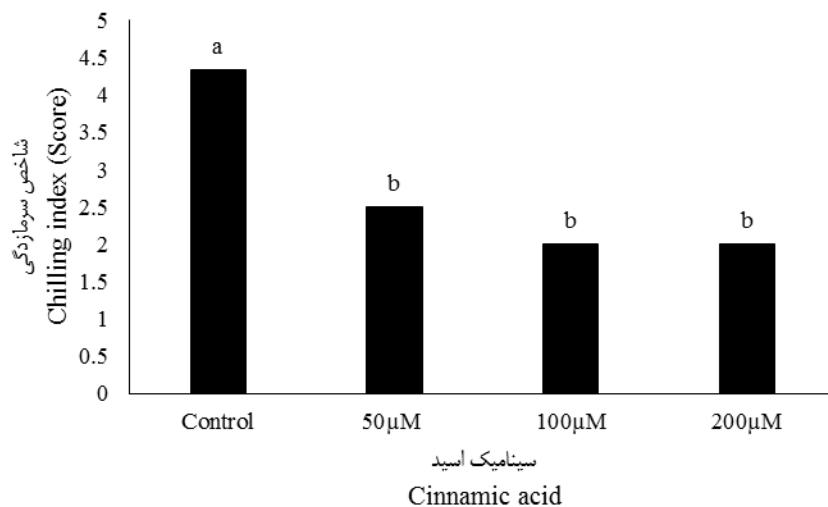


شکل ۳- اثر سینامیک اسید بر محتوای کلروفیل برگ نشاء خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 3- The effect of different concentrations of cinnamic acid on leaf chlorophyll content of cucumber cv. Super Dominus seedlings subjected to chilling stress (Duncan, $p \leq 0.05$)

رابطه گزارش شده است که کاربرد سینامیک اسید به واسطه نقشی که بر سیستم آنتیاکسیدانی گیاهان دارد، با کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش تجمع مالون دی آلهید و کاهش آسیب به برگ‌های خیار در شرایط تنش سرمایی می‌شود (Li et al., 2011). همچنین، گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با ایجاد شوک اکسیداتیو در گیاهان، منجر به پاسخ‌های دفاعی گیاهان به شرایط تنش شده و از این طریق گیاهان می‌توانند شرایط تنش را بهتر تحمل کنند (Singh et al., 2013).

همچنین، سرما ممکن است باعث ایجاد نقاط نکروزه و کلروز در برگ‌ها و شاخصاره، تأخیر در رشد برگ‌ها، طولانی شدن چرخه سلولی، ایجاد پژمردگی و افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌زا شود (Hussain et al., 2018). این تغییرات مورفولوژیکی می‌تواند به عنوان شاخص ظاهری آسیب سرما قلمداد شود. کاربرد خارجی سینامیک اسید در گیاهان ذرت، خیار و فلفل باعث بهبود رشد در این گیاهان شده و آثار تنش بر گیاه را کاهش داد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Lin et al., 2020; Li et al., 2011).



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر شاخص سرمادگی نشاء خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 4- The effect of different concentrations of cinnamic acid on chilling index of cucumber cv. Super Dominus seedlings subjected to chilling stress (Duncan, $p \leq 0.05$)

افزایش پرولین، کلروفیل، فل و محتوای رطوبت نسبی منجر به کاهش میزان نشت یونی و تجمع مالون دی آلهید در نشاءهای خیار تحت تنش سرما شد. در بیشتر صفات مورد ارزیابی در این مقاله (وزن تر و خشک شاخصاره و ریشه، محتوای رطوبت نسبی و فنل کل)، غلظت ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید تأثیر بهتری بر تحمل سرمایی گیاه نسبت به غلظت‌های دیگر در برابر شاهد داشت، که می‌توان برای استفاده در شرایط تنش سرمایی استفاده از تیمار اسید سینامیک را توصیه کرد. با این وجود تحقیقات بیشتری نیاز است تا پتانسیل کاربردی استفاده از سینامیک اسید برای کاهش آثار سرما بر گیاهان در شرایط مزرعه شناخته شود.

از جمله این پاسخ‌های دفاعی می‌توان افزایش محلول‌های سازگار و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی را نام برد (Sun Wang *et al.*, 2007; et al., 2012). طبق نتایج نیز استفاده از تیمار سینامیک اسید سبب افزایش پرولین، کلروفیل و فنل کل شده و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را کاهش داد و این تغییرات منجر به کاهش آثار ظاهری سرما بر نشاء خیار نیز شد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد سینامیک اسید سبب کاهش آثار تنش سرما بر نشاء خیار شد. بدین صورت که با

منابع

- 1- Aroca, R., Vernieri, P., Irigoyen, J.J., Sanchez-Diaz, M., Tognoni, F., & Pardossi, A. (2003). Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays L.*) in avoiding chilling-induced water stress. *Plant Sciences* 165: 671-679. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00257-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00257-7)
- 2- Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1): 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- 3- FAO. (2021). FAOSTAT, agricultural database. <http://apps.FAO.Org>.
- 4- Gao, Y., Liu, W., Wang, X., Yang, L., Han, S., Chen, S., & Qiang, S. (2018). Comparative phytotoxicity of usnic acid, salicylic acid, cinnamic acid and benzoic acid on photosynthetic apparatus of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology and Biochemistry* 128: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.037>.
- 5- Hussain, H.A., Hussain, S., Khaliq, A., Ashraf, U., Anjum, S.A., Men, S., & Wang, L. (2018). Chilling and drought stresses in crop plants: implications, cross talk, and potential management opportunities. *Frontiers in Plant Science* 9: 393. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00393>.
- 6- Karadağ, B., & Yücel, N. C. (2017). Cinnamic acid and fish flour affect wheat phenolic acids and flavonoid compounds, lipid peroxidation, proline levels under salt stress. *Acta Biologica Hungarica* 68(4): 388-397. <https://doi.org/10.1556/018.68.2017.4.5>.
- 7- Korkmaz, A., Korkmaz, Y., & Demirkiran, A.R. (2010). Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. *Environmental and Experimental Botany* 67: 495-501. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.07.009>.
- 8- Kumar, S.P., & Kumar, C.V. (2014). Impact of cinnamic acid on physiological and anatomical changes in maize plants (*Zea mays L.*) grown under salinity stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 10(2): 1-13.
- 9- Lee, S.H., Singh, A.P., Chung, G.C., Kim, Y.S., & Kong, I.B. (2002). Chilling root temperature causes rapid ultrastructural changes in cortical cells of cucumber (*Cucumis sativus L.*) root tips. *Journal of Experimental Botany* 53(378): 2225-2237. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf071>.
- 10- Li, Q., Yu, B., Gao, Y., Dai, A.H., & Bai, J.G. (2011). Cinnamic acid pretreatment mitigates chilling stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity. *Journal of Plant Physiology* 168(9): 927-934. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.11.025>.
- 11- Liang, S.M., Kuang, J.F., Ji, S.J., Chen, Q.F., Deng, W., Min, T., & Lu, W.J. (2020). The membrane lipid metabolism in horticultural products suffering chilling injury. *Food Quality and Safety* 4(1): 9-14. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaa001>.
- 12- Lin, C.Y., Chung, H.H., Kuo, C.T., & Yiu, J.C. (2020). Exogenous cinnamic acid alleviates salinity-induced stress in sweet pepper (*Capsicum annuum L.*) seedlings. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 48(3): 164-182. <https://doi.org/10.1080/01140671.2020.1765814>.
- 13- Liu, J.J., Lin, S.H., Xu, P.L., Wang, X.J., & Bai, J.G. (2009). Effects of exogenous silicon on the activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in chilling-stressed cucumber leaves. *Agricultural Sciences in China* 8(9): 1075-1086. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60315-6](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60315-6).
- 14- Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmon, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa L.*) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46(12): 1843-1852. <https://doi.org/10.1093/jxb/46.12.1843>.
- 15- Milic, B.L., Dijilas, S.M., & Canadianovic-Brunet, J.M. (1998). Antioxidative activity of phenolic compounds on metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chemistry* 61: 443-447. [https://doi.org/10.1016/S0308-0105\(97\)84020-9](https://doi.org/10.1016/S0308-0105(97)84020-9).

8146(97)00126-X.

- 16- Mohagheghian, E., & Ehsan Pour, A. (2021). Effect of Cinnamic acid on the activity of phenylalanine ammonialyase (PAL) and tyrosine ammonialyase (TAL) enzymes and some physiological characteristics of tobacco plant (*Nicotiana rustica* L.) under salinity stress in vitro culture. *Journal of Cell & Tissue* 12(2): 88-102. <https://doi.org/10.52547/JCT.12.2.88>.
- 17- Parkash, V., & Singh, S. (2020). A review on potential plant-based water stress indicators for vegetable crops. *Sustainability* 12(10): 3945. <https://doi.org/10.3390/su12103945>.
- 18- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules* 24(13): 1-22. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>.
- 19- Singh, P.K., Chaturvedi, V.K., & Singh H.B. (2011). Cross talk signaling: an emerging defense strategy in plants. *Current Science* 100(3): 288-289.
- 20- Singh, P.K., Singh, R., & Singh, S. (2013). Cinnamic acid induced changes in reactive oxygen species scavenging enzymes and protein profile in maize (*Zea mays* L.) plants grown under salt stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 19(1): 53-59. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0126-6>.
- 21- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158.
- 22- Stewart, R.R., & Bewley, J.D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology* 65(2): 245-248. <https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245>.
- 23- Strain, H.H., & Svec, W.A. (1966). Extraction, separation, estimation and isolation of the chlorophylls. *The Chlorophylls* 1: 22-66. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4832-3289-8.50008-4>.
- 24- Sun, W.J., Nie, Y.X., Gao, Y., Dai, A.H., & Bai, J.G. (2012). Exogenous cinnamic acid regulates antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in drought-stressed cucumber leaves. *Acta Physiologiae Plantarum* 34(2): 641-655. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0865-y>.
- 25- Trovato, M., Forlani, G., Signorelli, S., & Funck, D. (2019). Proline metabolism and its functions in development and stress tolerance. In Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance in plants. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8-2>.
- 26- Verstraeten, S.V., Keen, C.L., Schmitz, H.H., Fraga, C.G., & Oteiza, P.L. (2003). Flavan-3-ols and procyanidins protect liposomes against lipid oxidation and disruption of the bilayer structure. *Free Radical Biology and Medicine* 34: 84–92. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)01185-1](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01185-1).
- 27- Wang, C.Y. (1985). Modification of chilling susceptibility in seedlings of cucumber and zucchini squash by the bio regulator paclobutrazol (PP333). *Scientia Horticulturae* 26(4): 293-298. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(85\)90013-5](https://doi.org/10.1016/0304-4238(85)90013-5).
- 28- Wang, X., Wang, H., Wu, F., & Liu, B. (2007). Effects of cinnamic acid on the physiological characteristics of cucumber seedlings under salt stress. *Frontiers of Agriculture in China* 1(1): 58-61. <https://doi.org/10.1007/s11703-007-0010-2>.
- 29- Xu, P.L., Guo, Y.K., Bai, J.G., Shang, L., & 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(4): 467-478. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01036.x>.
- 30- Ye, S.F., Zhou, Y.H., Sun, Y., Zou, L.Y., & Yu, J.Q. (2006). Cinnamic acid causes oxidative stress in cucumber roots, and promotes incidence of *Fusarium* wilt. *Environmental and Experimental Botany* 56(3): 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.02.010>.
- 31- Yu, J.Q., & Matsui, Y. (1997). Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 23(3): 817-827. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006413.98507.55>.
- 32- Zhou, M.Q., Shen, C., Wu, L.H., Tang, K.X., & Lin, J. (2011). CBF-dependent signaling pathway: a key responder to low temperature stress in plants. *Critical Reviews in Biotechnology* 31(2): 186-192. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.505910>.