اثر متقابل متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه گوجه فرنگی(*Lycopersicon esculentum* Mill.)

رمضانعلی خاوری نژاد[۲و۱]، فرزانه نجفی*[۱] و اخلاص رحیمی[۱]

[۱]دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران و [۲]گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

(تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۱۱/۰۲ ، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۴/۲)

چکیده:

سلنیوم در برخی موجودات به عنوان عنصر ضروری محسوب می‌شود اما غلظت‌های بالای آن منجر به ایجاد سمیت در گیاهان می‌گردد. در این پژوهش تأثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان رشد، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنل وآنتوسیانین گیاه گوجه فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا بذرها برای جوانه زدن در پتری دیش‌های استریل قرار گرفتند، بعد از جوانه‌زنی به گلدان‌های حاوی ماسه مرطوب منتقل شده و بعد از ایجاد برگ دوم تحت تیمار سلنات سدیم (۰، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) و متیل جاسمونات (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند. بعد از بیست روز گیاهان برداشت شدند و سنجش‌های مورد نظر انجام شد. در تیمار بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم افزایش رشد مشاهده شد که در مقایسه با مقادیر بدست آمده برای هر یک از تیمارهای فوق به تنهایی معنی‌دار است. غلظت کلروفیل‌های *a* و *b* در همه تیمارها کاهش نشان می‌دهد و محتوای کاروتنوئیدها فقط در تیمار ۶۰ میکرومولار سلنات سدیم افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها دارد. با افزودن متیل جاسمونات به محیط کشت محتوی سلنات سدیم، محتوای فنل و آنتوسیانین گیاهان تحت تیمار در مقایسه با تیمار سلنات به تنهایی افزایش معنی‌داری نشان می‌دهند. متیل جاسمونات تأثیر معنی‌داری بر تجمع پرولین ندارد، در حالی که سلنات سدیم به تنهایی و در تیمار بر هم کنش با متیل جاسمونات موجب افزایش پرولین برگ و ریشه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که تیمار توأم سلنات سدیم و متیل جاسمونات در گیاه گوجه فرنگی جهت بهبود اثرات مخرب سلنات سدیم مفید می‌باشد.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سلنات سدیم، فنل، متیل جاسمونات.

مقدمه:

سلنیوم یک ماده ضروری برای موجودات زنده مثل پستانداران، تعدادی از باکتری‌ها وجلبک‌های سبز است (Birringer *et al.*, 2002). این موجودات زنده حاوی سلنو پروتئین‌ها هستند که در جایگاه فعال خود نیاز به سلنوسیستئین دارند اما تاکنون شواهدی مبنی بر نیاز گیاهان عالی به سلنیوم یافت نشده است (Stintzi *et al*., 2001). گیاهان سلنیوم را به صورت سلنات سدیم و سلنیت سدیم جذب می‌کنند. سلنیوم شباهت متابولیکی با سولفور دارد و می‌تواند به وسیله مسیر متابولیکی سولفور متابولیزه شود (Launchli 1993). به علت شباهت متابولیکی سلنیوم و سولفور گیاهان سلنات را از طریق ناقلین سولفور از خاک جذب می‌کنند و این امر منجر به

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: f_najafi@yahoo.com

تشکیل آنالوگ متیونین و سیستئین یعنی سلنومتیونین و سلنو سیستئین می شود. وقتی گیاه در معرض مقدار زیادی از سلنیوم قرار می گیرد سنتز پروتئین با مشکل مواجه می‌شود و باعث ایجاد نشانه‌هایی مثل کلروز، کاهش رشد، پلاسیده شدن، خشک شدن برگ‌ها و مرگ زود رس می‌گردد (Terry *et al*., 2000).

محتوای سلنیوم در گیاه از راه‌های مختلفی از جمله اضافه کردن سلنیوم به خاک، غوطه ور کردن دانه در محلول سلنیوم قبل از کاشت، محیط کشت هیدروپونیک حاوی سلنیوم و محلول پاشی گیاه با سلنیوم می‌تواند افزایش یابد (Wu and Huang, 1991). جذب سلنیوم در pH بالا کاهش می یابد و در حضور کلسیم افزایش می‌یابد در حالی که سولفات مانع جذب سلنیوم می‌شود (Hyun *et al*., 2006). ریشه‌های بسیاری از گیاهان زراعی سولفات و سلنات سدیم را به وسیله ناقلین غشای سلولی منتقل می‌کنند و آنیون ها برای اتصال به این جایگاه با هم رقابت می‌کنند در نتیجه این تضاد جذب سلنیوم توسط سولفات مهار می‌شود (Grieve *et al*., 2001).

از زمان اولین جداسازی متیل جاسمونات به عنوان ترکیبی از روغن گیاه *Jasminum grandiflorum* ترکیبات متعددی از جاسمونات ها در گیاهان شناخته شده است. جاسمونات‌ها در جلبک ها، خزه‌ها، قارچ‌ها، بازدانگان و نهاندانگان وجود دارند. اصطلاح جاسمونات به جاسمونیک اسید و استر متیله شده آن گفته می‌شود و فعالیت آن به داشتن زنجیره اسیدهای چرب مربوط می‌شود. بسیاری از ترکیبات مثل پیش ساز جاسمونات‌ها و مشتقات آن که دارای ساختار حلقوی هستند و از اسیدهای چرب اشباع نشده سنتز شده باشند، فعالیت بیولوژیکی شبیه جاسمونات را نشان می‌دهند (Stintzi *et al*., 2001).

جاسمونیک اسید و متیل جاسمونات (MJ) به عنوان یک تنظیم کننده درونی گیاه است که نقش مهمی در رشد ونمو و پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی دارد و به عنوان یک ملکول علامت رسان در برخی از سیستم های انتقال علامت درگیر می باشد. متیل جاسمونات موجب فعال شدن پاسخ های دفاعی گیاهی از طریق القای بیان ژن‌های دفاعی می‌شود (Creelman and Mullet, 1997). متیل جاسمونات نه تنها در پاسخ به نمو گیاه عمل می‌کند بلکه در بیماری‌ها و زخم‌های ایجاد شده در گیاه نیز موثر است و موجب تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود، از جمله تولید آب اکسیژنه و رادیکال های آزاد هیدروکسیل را می‌توان نام برد (Faurie *et al.,* 2009; Parra- Lobao *et al.*, 2009). گونه‌های فعال اکسیژن با بیشتر ترکیبات سلولی واکنش داده و موجب خسارت‌هایی در غشاء و سایر قسمت های سلول می‌شوند. گیاهانی که دارای سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی از جمله ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی هستند موجب توازن سطح ROS ها در سلول‌ها می‌شوند(Jubany- Mari *et al*., 2010) . با تیمار گیاهان کرچک (*Ricinus communis*) توسط متیل جاسمونات تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان افزایش یافته که به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مشاهده می شود (Soares *et al.,* 2010) .

گیاه گوجه فرنگی دارای انواع ویتامین‌ها و املاح معدنی است و برای تقویت سیستم گوارشی و مبتلایان به ورم مفاصل و رماتیسم از آن استفاده می‌شود (Xie *et al.*, 2007). به علت اهمیت اقتصادی این گیاه و آلودگی محیط زیست که به عنوان یکی از مباحث مهم زندگی بشر مطرح است، پژوهش فوق انجام شد. سمیت ناشی از غلظت‌های بالای سلنیوم از یک سو و ضرورت وجود آن در انسان از سوی دیگر نشان دهنده اهمیت شناخت علائم مسمومیت این عنصر در گیاه است.

مواد و روش‌ها:

بذرهای گیاه گوجه فرنگی از موسسه اصلاح وتهیه بذر ونهال کرج تهیه شد. تعداد ۵۰۰ عدد بذر یکنواخت و همگن انتخاب شدند و برای جلوگیری از آلودگی قارچی توسط هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ده دقیقه ضد عفونی شدند. سپس بذرها چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از این مرحله ۲۰ عدد بذر درون ظروف پتری دیش حاوی یک لایه کاغذ صافی قرار داده شدند. سپس ظروف پتری با فویل آلومینیومی پوشانده شدند. بعد از چهار روز بذرها جوانه زدند واساس جوانه زنی آنها خروج ریشه چه و ساقه چه از بذرها بود. سپس پتری‌ها به گلخانه منتقل شدند. بعد از این مرحله گیاهک ها به گلدان های حاوی ماسه مرطوب شده با آب مقطر منتقل

شدند. در کف گلدان‌ها چندین منفذ کوچک وجود داشت تا آب ماسه در حد ظرفیت مزرعه باشد. گلدان‌ها به شرایط نوری مناسب منتقل شدند و به مدت ۱۰ روز با محلول هوگلند رقیق شده (۱/۲) آبیاری شدند. سپس بعد از تشکیل برگ اول به گیاهان محلول هوگلند کامل داده شد. گیاهان ۲۰ روزه تحت تیمار سلنات سدیم (صفر،۳۰ و۶۰ میکرو مولار) و تیمارمتیل جاسمونات (صفر، ۵۰ و۱۰۰میکرو مولار) و تیمار توام سلنات سدیم و میتل جاسمونات قرار گرفتند. بعد از بیست روز گیاهان جهت برخی سنجش های فیزیولوژیکی برداشت شدند.

سنجش شاخص های رشد: بلافاصله بعد از برداشت گیاهان وزن تر اندام های گیاهی اندازه گرفته شد و وزن خشک برگ و ریشه گیاهان بعد از اینکه ۲۴ساعت در دمای ۱۰۵درجه سانتی گراد خشک شدند سنجیده شد (Evans and Hughes., 1962).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای سنجش میزان کلروفیل ها، ابتدا برگ های جوان و هم سن تکرار های مختلف جدا و پس از توزین و تکه تکه شدن همراه با استن ۸۰٪ در داخل هاون چینی به صورت هموژن در آمدند. سپس هموژن حاصل از برگ ها را از کاغذ صافی واتمن شماره ی ۲ عبور داده وجذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و۶۶۳/۲ نانومتر اندازه گیری شد. از استن ۸۰٪ به عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد(Lichtenthaler , 1987) .

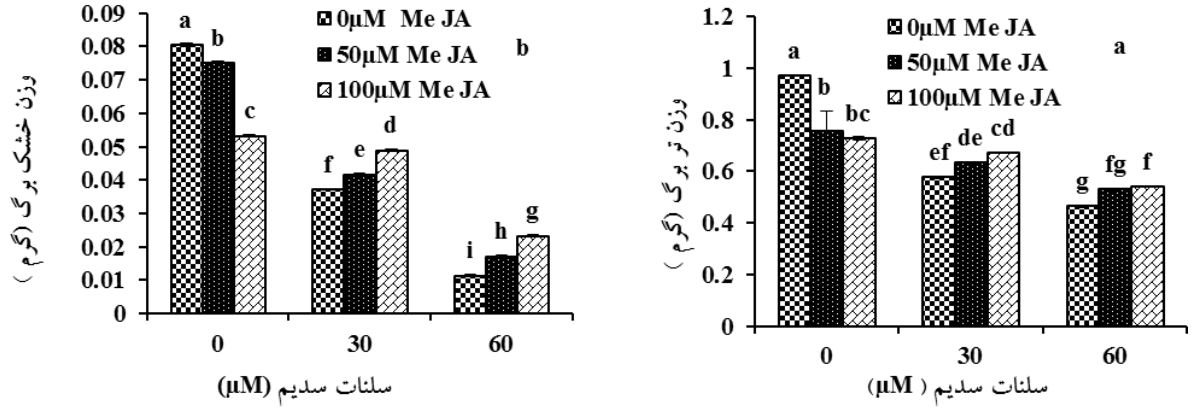
سنجش فنل وآنتوسیانین: به‌منظور سنجش آنتوسیانین‌ها و فنل‌ها، ۰/۳گرم از بافت تر برگ به دقت توزین و در هاونی‌که حاوی ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵٪ و اسیدکلریدریک ۱٪ به نسبت ۹۹ به ۱) بود، به خوبی ساییده شد. عصاره‌ها در فالکون ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی ودر دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفوژ گردید. سپس محلول رویی جدا شد و ۲ میلی‌لیتر اتر جهت حذف کلروفیل باقی‌مانده به آن اضافه گردید. محلول زیری توسط دکانتور جدا شد. از این محلول برای تعیین مقدار فنول و آنتوسیانین نیز استفاده شد. برای تعیین میزان آنتوسیانین شدت جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر تعیین و جذب ناویژه در ۶۰۰ نانومتر از آن کسر شد. برای تعیین مقدار فنول ، جذب عصاره‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Dai *et al*., 2006).

سنجش پرولین: برگ تازه ی گیاهان پس از توزین با اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد به صورت هموژن در آمد. سپس هموژن حاصل به فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل شده و با اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد حجم آن ها به ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ی دو صاف گردید. دو میلی لیتر از عصاره حاصل، دو میلی لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک خالص را در یک لوله ی آزمایش مخلوط کرده و به مدت یک ساعت جوشانیده شدند، جهت توقف واکنش نمونه ها سریعا به ظرف محتوی آب و یخ منتقل شدند(به مدت ۲۰ دقیقه) سپس به هر نمونه چهار میلی لیتر تولوئن اضافه شد و مخلوط گردید. در نهایت جذب بخش رویی در طول موج ۵۲۰ نانومترخوانده شد. غلظت پرولین نمونه ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر ارزیابی گردید (Bates *et al*., 1973).

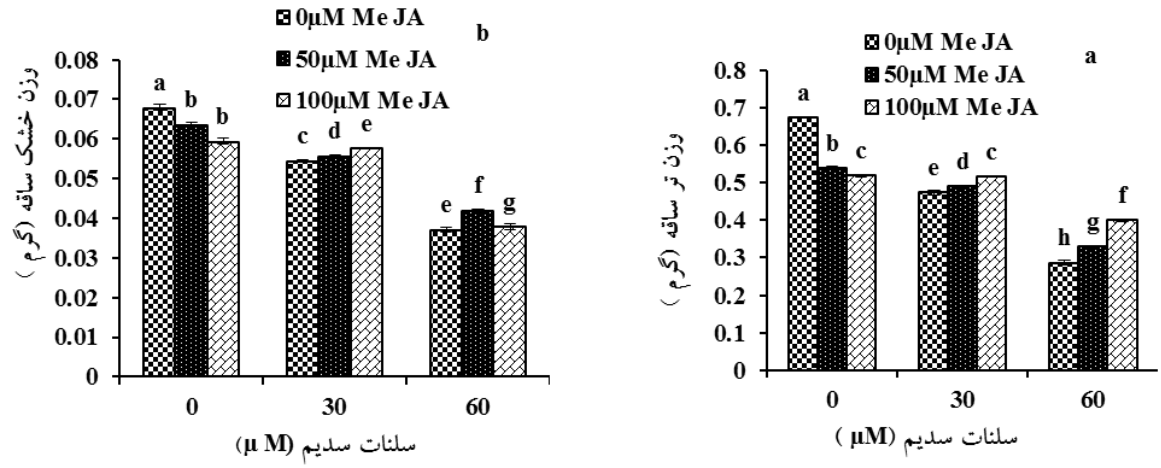
آنالیز آماری: این پژوهش در قالب یک طرح کاملا تصادفی انجام شد و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج:

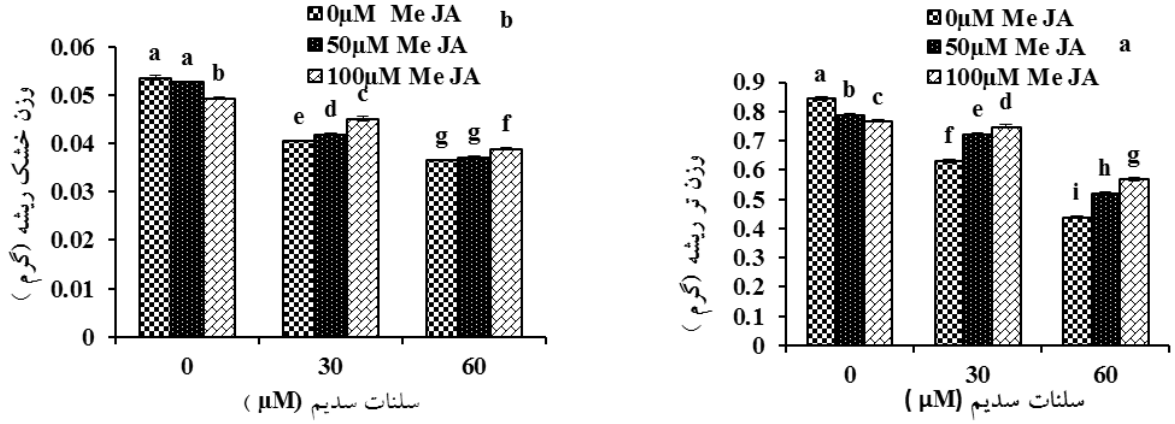
با افزایش میزان سلنات سدیم وزن تر و خشک برگ ، ساقه و ریشه کاهش یافت که بیشترین کاهش در وزن خشک برگ مشاهده شد. کاهش پارامترهای فوق در تیمار متیل جاسمونات نسبت به گیاهان تحت تیمار سلنات سدیم کمتر می‌باشد. در تیمار توام متیل جاسمونات و سلنات سدیم میزان وزن تر و خشک برگ ، ساقه و ریشه نسبت به تیمار سلنات به تنهایی افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد (شکل های ۱، ۲ و ۳).



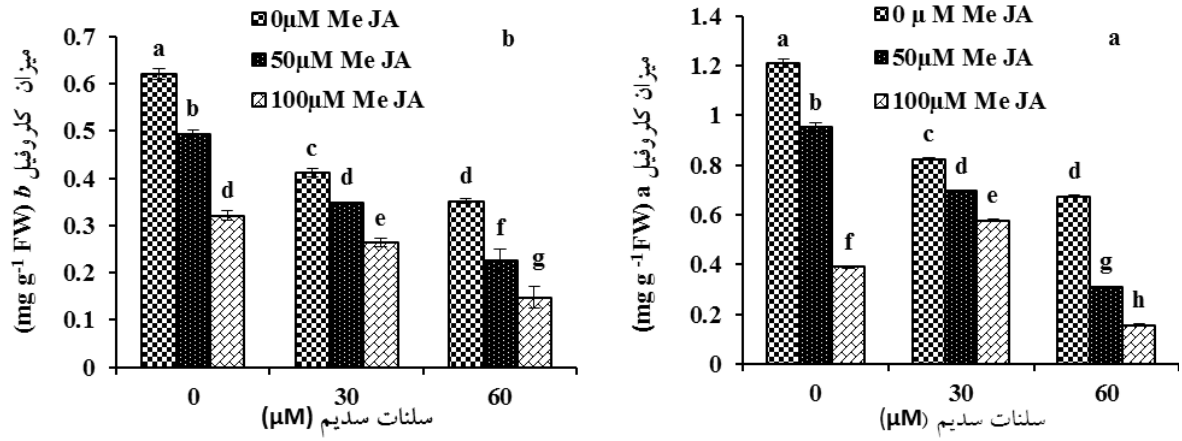
شکل ۱- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان وزن تر(a) وخشک (b) برگ. کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .



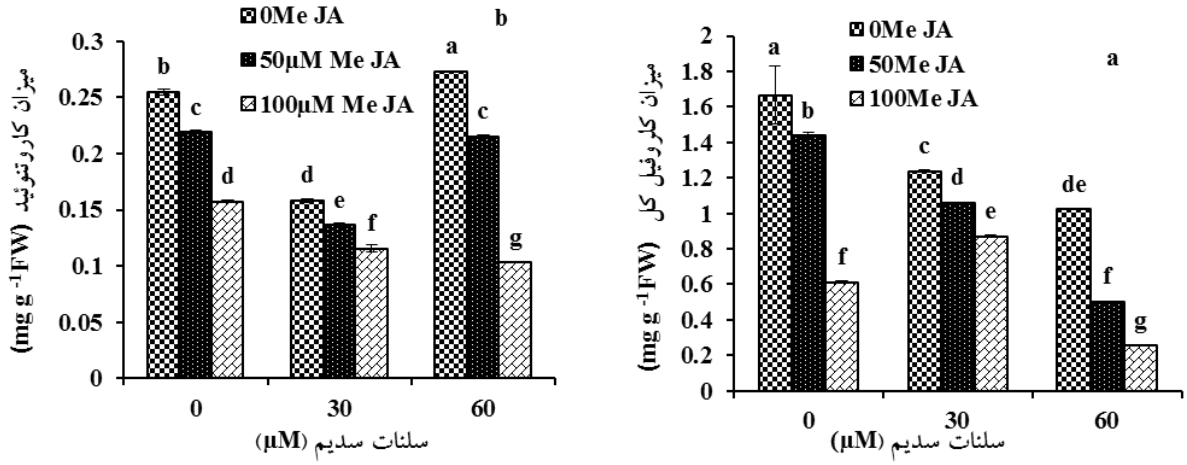
شکل ۲- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان وزن تر(a) وخشک (b) ساقه. کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .



شکل ۳- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان وزن تر(a) و خشک (b) ریشه. کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .



شکل ۴- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان کلروفیل *a*(a) و *b*(b) . کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .



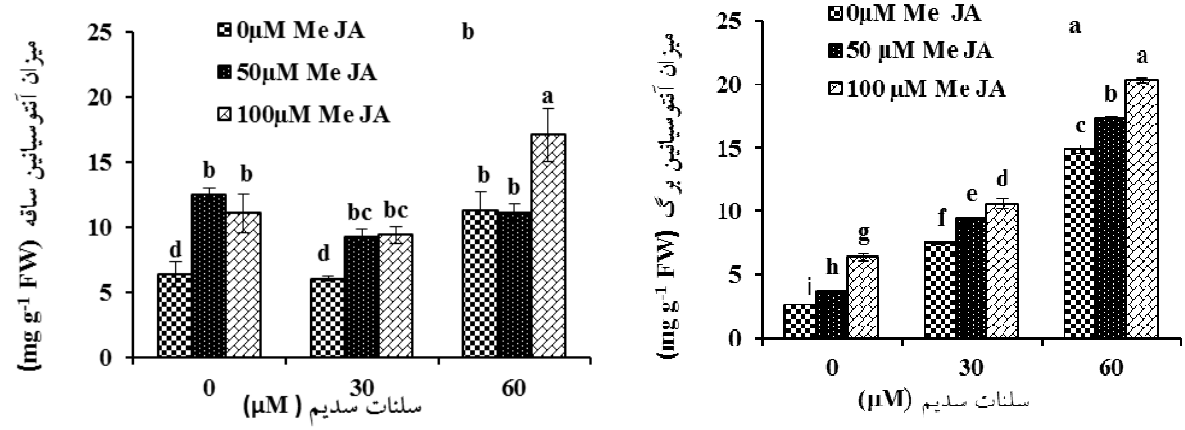
شکل ۵- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان کلرفیل کل(a) و کاروتنوئیدها(b) . کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .

با افزایش میزان سلنات سدیم میزان کلروفیل های *a*، *b* و کلروفیل کل کاهش یافت. در گیاهان تحت تیمار متیل جاسمونات و تیمارهای حاصل از برهم کنش آنها نیز میزان کلروفیل ها کاهش یافت. غلظت کاروتنوئیدها در غلظت ۶۰ میکرومولار سلنات سدیم به تنهایی و در همراهی با ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات در مقایسه با سایر تیمارها افزایش نشان می‌دهد (شکل های ۴ و ۵).

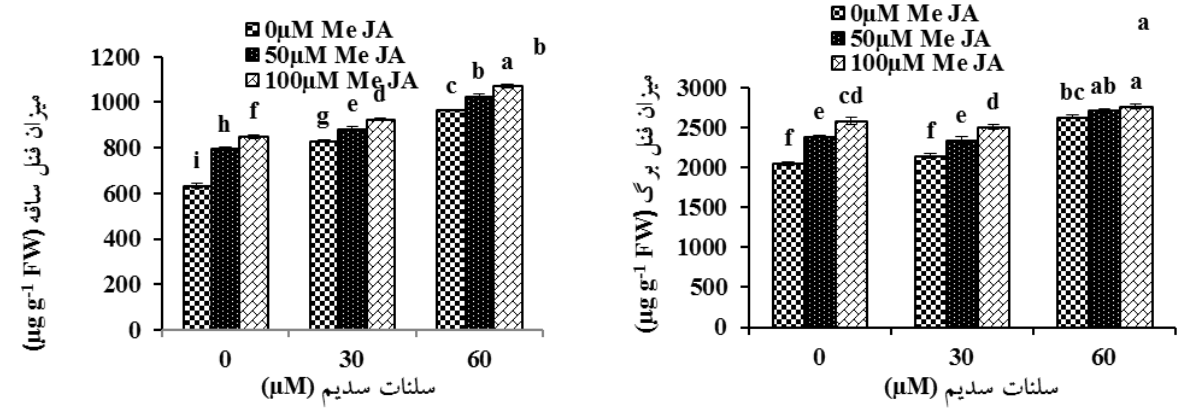
همان طور که در شکل های ۶ ، ۷ و ۸ مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار آنتوسیانین و فنل برگ وساقه و تجمع پرولین در برگ و ریشه در گیاهان تحت تیمار ۶۰ میکرومولار سلنات سدیم و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات می باشد که در مقایسه با سایر تیمارها معنی دار است .

بحث:

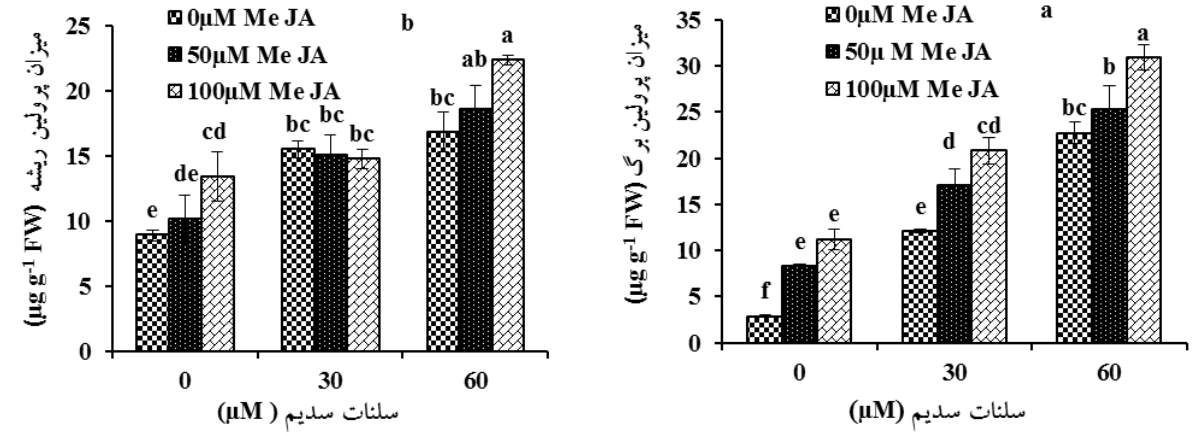
نتایج این پژوهش نشان داد که سلنات سدیم در غلظت‌های به کار گرفته شده (۳۰ و ۶۰ میکرومولار) باعث کاهش میزان وزن تر و خشک برگ، ریشه و ساقه گیاه گوجه فرنگی شده است، که با نتایج بسیاری از محققین مطابقت دارد. وزن تر و خشک



شکل ۶- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان آنتوسیانین برگ (a) وساقه (b) . کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .



شکل ۷- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان فنل برگ (a) وساقه (b) . کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .



شکل ۸- تاثیر بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم بر میزان پرولین برگ (a) و ریشه (b). کلیه میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤0.001 , mean± SE) .

گیاهان ارزن مروارید، جو دوسر، شبدر (Bawa *et al*., 1992) گیاهان قهوه (Mazzafera, 1998) تحت تیمار با سلنیوم کاهش یافته است. Ruiz و همکاران (۲۰۰۷) در مقایسه بین سمیت سلنات با آلومینیوم و مولیبدن نشان دادند که تیمار سلنات باعث بیشترین کاهش در وزن خشک ریشه، ساقه و برگ نسبت به گیاهان شاهد شد. کاهش رشد گیاه در طی تنش می تواند به دلیل کمبود پتانسیل آب، مختل شدن جذب مواد غذایی و تنش های ثانویه ای مثل تنش اکسیداتیو باشد (John *et al*., 2009).

با افزایش متیل جاسمونات کاهش وزن خشک مشاهده شد که بیشترین تأثیر آن بر وزن خشک برگ می باشد و در ساقه و ریشه کاهش قابل ملاحظه ای مشاهده نشد. غلظت های پائین جاسمونات در محیط کشت تعداد ریشه های فرعی و رشد آنها را تسریع می کند در حالی که در غلظت های بالا باعث کاهش رشد ریشه می شود (Tung *et al*., 1996). متیل جاسمونات می تواند حرکات روزنه ها را تغییر داده و باعث بسته شدن روزنه و کاهش فتوسنتز شود (Wang *et al*., 1996). مطالعات Jasik و Klerk (۲۰۰۶) نشان داد که متیل جاسمونات باعث کاهش وزن تر برگ های گیاه زنبق وحشی می شود. به نظر می رسد غلظت های متیل جاسمونات در کار حاضر می تواند اثرات سلنات سدیم بر وزن خشک اندام های مختلف گیاه گوجه فرنگی را تعدیل کنند.

نتایج حاضر نشان می‌دهد، تیمار سلنات سدیم باعث کاهش میزان رنگیزه های فتوسنتزی شده که با نتایج بسیاری از محققین مطابقت دارد. تیمار با سلنیوم باعث کاهش کلروفیل و کاروتنوئیدها در ذرت و قهوه شده است (Jain and Gadre., 1998, Mazzafera., 1998). تأثیر منفی سلنیوم بر آنزیم پورفوبیلینوژن سنتاز آنزیم ضروری برای سنتز کلروفیل در *Sinapis alba* L. مشاهده شده است (Fargasova *et al*., 2006). در جلبک *کلرلا* سلنیوم باعث کاهش میزان کلروفیل شده اما میزان کاروتنوئید و گزانتوفیل را افزایش داده است. احتمالاً جایگزینی سلنیوم به جای منیزیم یکی از راه‌های آسیب به کلروفیل می‌باشد (Chen *et al*., 2005). برخی از ترکیبات فنلی از قبیل فوماریک اسید و کوماریک اسید که سنتز آنها در پاسخ به سلنیوم افزایش می‌یابد فعالیت آنزیم کلروفیلاز را تحریک می‌کنند که به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر افزایش فنل در برگ وساقه می تواند تأثیر ترکیبات فنلی بر سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی را نشان دهد. آنزیم کلروفیلاز با جدا کردن فیتول از کلروفیل و همچنین منیزیم از کلروفیلید و تشکیل فئوفورید و در نهایت متلاشی شدن حلقه پیرولی باعث تجزیه کلروفیل می شود (Zhu *et al*., 2004).این دو ترکیب فنلی هم چنین موجب مهار مسیر تبدیل پروتوپورفیرین به Mg- پروتوپورفیرین می شود (Yang *et al*., 2002). احتمالاً سلنیوم از طریق سنتز ترکیبات فنلی موجب کاهش سنتز کلروفیل شده است. حدود یک درصد غشاهای کلروپلاست را سولفو لیپیدها تشکیل می دهند. احتمالا جایگزینی سلنیوم به جای گوگرد نیز باعث تغییر ساختمان و عمل این ترکیبات شده سنتز غشاهای تیلاکوئیدی ودر نتیجه فتوسنتز را مهار می کند. کمبود گوگرد باعث تجزیه آنزیم روبیسکو و مهار سنتز کلروفیل می‌گردد (Wu and Huang., 1991).

کاهش میزان کلروفیل و روبیسکو در برگ های جو تحت تیمار با متیل جاسمونات گزارش شده است(Weidhase *et al*., 1987). مطالعات انجام شده توسط Jung (۲۰۰۴) در گیاه *آرابیدوپسیس* نشان داد که ۷روز بعد از تیمار با متیل جاسمونات محتوای کلروفیل‌های *a*، *b* و کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد. متیل جاسمونات به سرعت باعث القای ژن کلروفیلاز می‌شود که باعث پیری و تخریب کلروفیل در گیاهان می‌گردد (Tsuchiya *et al*., 1999).

محتوای آنتوسیانین ساقه در تیمار برهم کنش متیل جاسمونات (۱۰۰ میکرومولار) و سلنات سدیم (۶۰ میکرومولار) در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد، در حالی که محتوای آنتوسیانین برگ در همه تیمارها افزایش دارد. متیل جاسمونات باعث افزایش mRNA آنزیم آلانین آمونیالیاز (آنزیم کلیدی در سنتز آنتوسیانین) در گیاه لاله (Ludwica *et al*., 2003) و آرابیدوپسیس (Loreti, *et al*., 2008) شده است و نتایج کار حاضر حاکی از

افزایش آنتوسیانین در گیاه گوجه فرنگی تحت تیمار متیل جاسمونات می‌باشد. با توجه به این که سلنات سدیم نیز باعث افزایش سنتز آنتوسیانین می شود (Hawrylak- Nowak, 2008) در گیاهان تحت تیمار برهم کنش سلنات سدیم و متیل جاسمونات میزان آنتوسیانین درمقایسه با تیمارهای دیگر افزایش قابل ملاحظه نشان می دهد.

آنتوسیانین دارای قدرت بالای جاروب کنندگی ملکول های اکسیدکننده به ویژه رادیکال های آزاد هستند (Kong *et.al.*, 2003). قدرت آنتی اکسیدانی بالای آنتوسیانین به دلیل اتم اکسونیوم در حلقه C می‌باشد (Michalak, 2006). رادیکال های پراکسید در سیتوزول به سرعت پروتونه می شوند تا رادیکال های هیدرو پرواکسیل را تشکیل دهند یا توسط سوپراکسید دیسموتاز به H_2O_2 تبدیل می شوند و بعد به درون واکوئل آزاد می شوند وتوسط آنتوسیانین جاروب می شوند (Yamamura *et al*., 1998). آنتوسیانین قدرت کلات شدگی زیادی برای اتصال با عناصر سنگین دارد. شواهد زیادی وجود داردکه آنتوسیانین‌ها قادرند یک کمپلکس قوی با یون های فلزی مثل کادمیوم، روی، آهن و مولیبدن تشکیل دهند (Shiono *et al*., 2005). اگرچه مکانیسم اتصال آنتوسیانین به عناصر سنگین ناشناخته مانده است اما به نظر می‌رسد که داشتن گروه‌های هیدروکسیل در حلقه B توانایی ایجاد کمپلکس با عناصر سنگین را به آنتوسیانین می‌دهد (Boulton, 2001) .

متیل جاسمونات سیستم دفاعی گیاه را در پاسخ به تنش های محیطی افزایش داده و موجب تجمع متابولیت های ثانویه می‌شود (Horbowicz, *et al*., 2011) . ترکیبات فنلی یکی از متابولیت های ثانویه اصلی در گیاه هستند که به علت عملکرد بیولوژیکی آنها اهمیت زیادی دارند. از جمله گیاهان را در مقابل پرتوهای UV حفاظت کرده و فعالیت ضدمیکروبی را موجب می‌شوند (Steyn *et al*., 2002; Winkel- Shirley 2002). همان طور که درشکل ۷ مشاهده می‌شود با افزایش سلنات سدیم تجمع فنل ها در برگ و ساقه افزایش می‌یابد و تیمار گیاهان فوق با متیل جاسمونات موجب افزایش معنی‌داری در غلظت فنل‌ها می‌شود. به نظر می‌رسد که متیل جاسمونات بیوسنتز فلاونوئیدها و اسید های فنولیک را باعث می‌شوند (Moglia *et al*., 2008).

تجمع ترکیبات فنلی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله فلزات سنگین و پاتوژن‌ها گزارش شده است (Bruni and Sacchetti, 2009). سلنات سدیم باعث تجمع فنل ها در کاهوی دریایی شده است (Schiavon *et al*., 2012). فنل ها به طور موقتی به عناصر سنگین کلات می‌شوند و گونه‌های اکسیژن فعال را جاروب کرده و یا موجب به دام انداختن الکوکسی لیپیدها می‌شوند (Arora *et al*., 2000). در گزارشی که توسط Basilio و Cisneros-Zevallos (۲۰۰۹) ارائه شده است کاربرد متیل جاسمونات میزان ترکیبات فنلی را در گیاهانی مثل سیب زمینی، سیب قرمز، مارچوبه و لوبیا افزایش داده است. این محققین افزایش میزان ترکیبات فنلی را به دلیل افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز که آنزیم کلیدی در سنتز فنل می‌باشد، دانسته‌اند.

در سلول‌های گیاهی ترکیبات فیتوفنلیک به ویژه پلی فنل ها در سم زدایی پراکسید هیدروژن بسیارمؤثر عمل کرده و به عنوان سیستم پشتیبان چرخه آسکوربات گلوتاتیون در دفع رادیکال های پراکسید هیدروژن عمل می کنند. وقتی فنل ها به عنوان آنتی اکسیدان در این واکنش‌ها شرکت می‌کنند به رادیکال فنوکسید اکسید می‌شوند. رادیکال های فنوکسیل از طریق واکنش با آسکوربات به حالت اولیه بر می‌گردند (Sakihama *et al*., 2002).

غلظت پرولین در تیمارهای متیل جاسمونات تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد، در حالی که با افزایش سلنات سدیم میزان پرولین در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری دارد. در تیمارهای بر هم کنش متیل جاسمونات و سلنات سدیم افزایش معنی دار پرولین در مقایسه با تیمار سلنات سدیم به تنهایی مشاهده می‌شود.

در نتیجه تأثیر متیل جاسمونات بر تجمع پرولین و پوترسین در گیاه برنج، مشاهده شد که متیل جاسمونات موجب افزایش پوترسین می‌شود و بر غلظت پرولین تأثیر ندارد (Chen *et al*., 2005) .با آزمایشی که Salwa (2012) بر روی ذرت خوشه ای انجام داد افزایش پرولین را در غلظت

های پایین سلنات (۳ و۶ میلی گرم بر لیتر) گزارش کرده است ولی در غلظت های بالای سلنات (۱۲ میلی گرم برلیتر) اثرات سمی و کاهش پرولین مشاهده شد. به نظر می رسد که غلظت های بکار گرفته شده متیل جاسمونات بر سنتز پرولین موثر نمی باشد در حالی که سلنات سدیم به تنهایی و در مجاورت متیل جاسمونات موجب القای سنتز پرولین می‌شود.

پرولین نه تنها به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی بلکه به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی و بازدارنده مرگ سلولی شناخته می‌شود. بنابراین پرولین می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی در گیاهان، جانوران و میکروب‌ها در نظر گرفته شود تا اثرات نا مطلوب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهد (Chen and Dickman, 2005). عناصر سنگین باعث القای تجمع پرولین می‌شوند که می‌تواند به عنوان مارکر بیوشیمیایی برای آلودگی عناصر سنگین به کار رود (Alia and Saradhi, 1991). متیل جاسمونات به گیاهان کمک می‌کند تا از طریق تنظیم اسمزی و افزایش پرولین (Fedina and Tsonev, 1997) و سنتز پروتئین های تنشی (Alia *et al.,* 1997) با تنش مقابله کنند.

نتیجه گیری کلی:

تنش عناصر سنگین یکی از تنش‌های محیطی است که گیاه با آن مواجه می‌شود. تنش عناصر سنگین باعث تغییراتی در صفات رویشی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود. البته گیاهان برای مقابله با تنش‌ها راهکارهایی دارند که یکی از آنها افزایش میزان هورمون‌هاست. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که گیاه گوجه فرنگی حساس به فلز سنگین سلنیوم است. عنصر سلنیوم باعث کاهش وزن تر و خشک ومیزان رنگیزه‌ها در گیاه گوجه فرنگی شد. البته کاربرد متیل جاسمونات نیز باعث کاهش وزن تر و خشک شد که می‌تواند یک راهکار دفاعی برای حفظ گیاه در برابر تنش باشد. در گیاهان تحت تنش سلنات سدیم افزایش میزان فنل، آنتوسیانین و پرولین مشاهده شد و با افزودن متیل جاسمونات به محیط کشت محتوی سلنات سدیم افزایش معنی‌دار برخی از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند فنل، آنتوسیانین و پرولین مشاهده شد. به نظر می‌رسد که غلظت بکار گرفته شده متیل جاسمونات در نقش حفاظتی آن بر اثرات مخرب حاصل از سلنات سدیم حائز اهمیت است.

.

منابع:

Alia, S. and Saradhi, P. P. (1991) Proline accumulation under heavy metal stress. Journal of Plant Physiology. 138, 554-558.

Alia, S., Saradhi, P. and Mohanty, P. (1997) Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photodamage. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 38 :253-257.

Arora, A., Byrem, T. M., Nair, M. and Strasburg, G. M. (2000) Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. Archives of Biochemistry and Biophysics 373:102–109.

Basilio ,J and Cisneros-Zevallos, L. (2009) The effects of exogenous ethylene and methyl jasmonate on the accumulation of phenolic antioxidants in selected whole and wounded fresh produce. Food Chemistry 115: 1500-1508.

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

Bawa, S. S., Dhillon, K. S. and Dhillon, S. K. (1992) Screening of different fodders for selenium absorption capacity. Indian Journal of Dairy Science 45:457–460.

Boulton, R. (2001) The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red win: a critical review. American Journal of Enology and Viticulture 52: 67–87.

Birringer M, Pilawa S, Flohe L. (2002) Trends in selenium biochemistry. Natural Production Reports 19: 693–718.

Bruni, R. and Sacchetti, G. (2009). Factors affecting polyphenol biosyntesis in wild and field grown St. John´s Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/ Guttiferael). Molecules: 14: 682-725.

Chen**,** T. F., Zheng, W. J., Luo, Y., Yang, F., Bai, Y. and Tu, F. (2005) Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology 31: 369 -373.

Chen, C. and Dickman, M. B. (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii.* Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America 102: 3459-3464.

Creelman, R. A. and Mullet, J. E. (1997) Biosynthesis and action of jasmonate in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 48: 355-381.

Mediterranean shrub *Cistus albidus* L. Enivronmental and Experimental Botany 69: 47- 55.

Jung, S. (2004) Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Plant Physiology and Biochemistry 42: 225-231.

Kong, J. M., Chia, L, S., Goh, N, K., Chia, T. F. and Brouillard, R. (2003) Analysis and biological of activities of anthocyanins. Phytochemistry 64: 923-933.

Launchli, A. (1993) Selenium in plants: uptake, functions, and environmental toxicity. Botanica Acta 106: 455–468.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Cholorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148:350-382.

Loreti, E., Povero, G., Novi, G., Solfanelli, C., Alpi, A and Perata, P. (2008) Gibberellin, jasmonate and abscisic acid modulate the sucrose-induced expression of anthocyanin biosynthetic genes in *Arabidopsis*. New Phytology13: 1004-1016.

Ludwica, M., Miszczak, A. and Saniewski, M. (2003) Effecct of methyl jasmonat and ethylen of leaf growth, antocyanin accumulation and CO_2 evolution in *Tulips Bubls*. Fruit and Ornamental Plant Research 11:59-68.

Mazzafera, P. (1998) Growth and biochemical alterations in coffee due to selenite toxicity. Plant and Soil 201: 189 -196.

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal Stress. Polish Journal of Environmental Studies 15: 523-530.

Moglia, A. A., Lanteri, S., Domino, C., Acquadro, A., DE Vos R., Beekwilder, J. (2008) Stress-induced biosynthesis of dicaffeoylquinic acids in globe artichoke. -Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 8641- 8649.

Parra-Lobato, M. C., Fernandez-Garcia, N., Olmos, E., Alvarez-Tinaut, M.C., Gomez- Jimenez M.C. (2009) Methyl jasmonate-induced antioxidant defence in root apoplast from sunflower seedlings. Enivronmental and Experimental Botany 66:9-17.

Ruiz, J. M., Rivero, R. M. and Romero, L. (2007) Comparative effect of Al, Se, and Mo toxicity on NO3 assimilation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. Journal of Environmental Management 83:207–212.

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolics antioxidant and pro oxidant activity: Phenolics-induced oxidative damage mediated by metal in plants. Toxicology 177: 67-80.

Salwa, M. A. (2012) Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 8: 268- 286.

Dai, L. P., Xiong, Z. T., Huang, Y., Li, M.J. (2006) Cadmium induced change in pigments, total phenolics, and phenilalanin ammonia-lyas activity in fronds of *Azolla imbricatsa*. Environmental Toxicology 21: 505-512.

Evans, G. C. and Hughes, A. P. (1962) Plant growth and the aerial environment. III. On the computation of unite leaf rate. New Phytologist 61:322-327. .

Fargasova, A., Pastierova, J. and Svetkova, K. (2006) Effect of Se-metal pair combinations (Cd, Zn, Cu, Pb) on photosynthetic pigments production and metal accumulation in *Sinapis alba* L. seedlings. Plant Soil and Environment 52: 8 15.

Faurie, B. Cluzet, S. Merillon, J.M. (2009) Implication of signaling pathways involving calcium, phosphorylation and active oxygen species in methyl jasmonate- induced defense responses in grapevine cell cultures. Journal of Plant Physiology 166: 1863- 1877.

Fedina, I. S. and Tsonev, T. D. (1997) Effect of pretreatment with methyl jasmonate on the response of *Pisum sativum* to salt stress. Journal of Plant Physiology 151: 735–740.

Grieve, C. M., Poss, J. A., Suarez, D. L. and Dierig, D. A. (2001) Lesquerella growth and selenium uptake affected by saline irrigation water composition. Industrial Crops and Products 13: 57-65.

Hawrylak-Nowak, B. (2008) Changes in antocyanin content as indicator of maize sensitivity to selenium. Jorunal of Plant Nutrition 31: 1232- 1242.

Horbowicz, M., Chrzanowski, G., Koczkodaj, D., Mitrus, J. (2011) The effect of methyljasmonate vapors on content of phenolic compounds in seedlings of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Acta Societatis Botanicorum Poloniae 80: 5-9.

Hyun, S., Burns, P. E., Murarka, I and Lee, L. S. (2006) Selenium (IV) and (VI) sorption by soils surrounding fly ash management facilities. Vadose Zone Journal 5: 1110-1118.

Jain, M. and Gadre, R. P. (1998) Inhibition of chlorophyll synthesis and enzymes of nitrogen assimilation by selenite in excised maize leaf segments during greening. Water, Air and Soil Pollution 104:161- 166.

Jasik, J. and de Klerk, G. J. (2006) Effect of Methyl Jasmonate on Morphology and Dormancy Development in Lily Bulblets Regenerated *In Vitro*. Journal of Plant Growth Regulation 25:45–51.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S. (2009) Heavy metal toxicity: Effect plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. International of Journal of Plant Production 3: 65-75.

Jubany- Mari, T., Prinsen, E., Munne- Bosch, S., Alegre, L. (2010) The timing of methyl jasmonate, hydrogen peroxide and ascorbate accumulation during water deficit and subsequent recovery in the

Tung, P., Hooker, T. S., Tampe, P. A., Reid, D.M. and Thorpe, T. A. (1996) Jasmonic acid: effects on growth and development of isolated tomato roots cultured in vitro. International Journal of Plant Sciences 157: 713- 721.

Wang, H., Cao, G. and Prior, R. (1996) Total antioxidant capacity of fruits. Agriculture Food Chemistry 44: 701-705.

Weidhase, R. A., Kramell, H., Lehmann, J., Liebisch, H., Lerbs, W. and Parthier, B. (1987) Methyljasmonate-induced changes in the polypeptide pattern of senescing barley leaf segments. Plant Science 51: 177-186.

Winkel- Shirley B. (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology. 5: 218- 223.

Wu, L. and Huang, Z. Z. (1991) Chloride and sulfate salinity effects on selenium accumulation by tall fescue. Crop Science 31:114-118.

Xie, L., Ying, Y. and Ying, T (2007) Combination and comparison of chemometrics method for indentification of transgenic tomatoes using visible and near-infrared diffuse transmittance technique, Journal of Food Engineering 82: 395- 401.

Yamamura, S., Ozawa, K. Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K. (1998) Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. Phytochemistry 48: 131-136.

Yang, C. M., Lee, C. N. and Chou, C. H. (2002) Effect of three allelopathic phenol on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa* L.) seedling: I. inhabitation of supply orientation. Botanical Bulletin of Academia Sinica 43: 299-304.

Zhu, Y. G., Huang, Y., Hu, Y., Liu, Y. and Christie, P. (2004) Interactions between selenium and iodine uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) in solution culture. Plant and Soil 261: 99-105.

Schiavon, M., Moro, I., Pilon-Smits, E. A. H., Matozzo, V., Malagoli, M. and Vecchia, F. D. (2010) Accumulation of selenium in *Ulva* sp. and effects on morphology, ultrastructure and antioxidant enzymes and metabolites, Aquatic Toxicology 122- 123: 222- 231.

Soares, A. M. S., Souza, T. F., Jacinto, T., Machado, O. L. T. (2010) Effect of methyl jasmonate on antioxidative enzyme activities and on the contents of ROS and H_2O_2 in *Ricinus communis* leaves. Brazilian Journal of Plant Phsyiology 22: 151- 158.

Shiono, M., Matsugaki, N. and Takeda, K. (2005) Phytochemistry: Structure of the blue cornflower pigment. Nature 436: 791.

Steyn, W. J., Wand, S. J. E., Holcroft, D.M., Jacobs, G. (2002) Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. New Phytologist 155: 349- 361.

Stintzi, A., Weber, H., Reymond, P., Browse, J. and Farmer, E. E. (2001) Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones. Proceeding of the National Academy Science USA. 98:12837–12842.

Stintzi, A., Weber, H., Reymond, P., Browse, J. and Farmer, E. E. (2001) Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones. Proceeding of The National Academy of Sciences of the United States of America. 98:12837–12842.

Terry, N., Zayed, A. M., De Souza, M. P. and Tarun, A.S. (2000) Selenium in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 51:401–432.

Tsuchiya, T., Ohta, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., Shimada, H., Masuda, T. and Takamiya, K. (1999) Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate. Proceeding of The National Academy of Sciences of the United States of America 96: 15362–15367.