اثر تانن، اسید سیتریک و EDTA روی قسمت بندی Si^{2+} و Al^{3+} در سیتوپلاسم و اپوپلاسم، فیتوکلات و گلوتاتیون در دو رقم برنج ایرانی (*Oriza sativa* L.)

حیدرعلی مالمیر

همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۴

چکیده

طی دهه های اخیر تحقیقات زیادی نشان داد، فیتومتالوفورها درجذب عناصر ریز مغذی و سمیت زدایی عناصر سنگین نقش دارند. لذا به منظور تاثیر عوامل کلاته کننده خارجی روی جذب $Si^{+۴}$،$Al^{+۳}$، کل فیتوکلات، گلوتاتیون و میزان گوشتی شدن برگها، گیاهچه های ارقام برنج شیرودی و اوس به مدت ۳۰ روز با $Si^{+۲}$ و $Al^{+۳}$ وغلظت ۱ گرم در لیتر (تانن، اسید سیتریک و EDTA) در غالب طرح فاکتوریل با سه تکرار در کشت شن تیمار شدند. نتایج نشان داد بین جذب $Si^{+۲}$ و$Al^{+۳}$ و ضریب مقاومت در ریشه و برگ ها اختلاف معنی داراست (۰۵/ ۰>P).هر سه کلاته کننده متفاوت روی جذب و انتقال $Si^{+۲}$ و$Al^{+۳}$ اثر گذار هستند (۰۵/ ۰>P). تانن و اسید سیتریک به ترتیب خارج از ریشه و اپوپلاست$Al^{+۳}$ را بیشتر کلاته می کنند. EDTA جذب و انتقالAl^{3+} را بیشتر از$Si^{+۲}$ در ریشه و برگها افزایش می دهد (۰۵/ ۰>P). افزایش $Al^{+۳}$ با افزایش فیتوکلات و گلوتاتیون در ریشه و برگ ها همراه بود (۰۵/ ۰>P). در صورتیکه افزایش$Si^{+۲}$ در ریشه و برگ ها با افزایش کم فیتوکلات و کاهش گلوتاتیون همراه بود. تولید گلوتاتیون در ریشه با افزایش غلظتAl^{3+} در سیتوپلاسم مرتبط است، در صورتی که تولید گلوتاتیون در برگها با افزایش غلظت Al^{3+} در سیتوپلاسم و اپوپلاست مرتبط است. افزایش غلظت فیتوکلات در برگها متناسب با افزایش غلظت Al^{3+} در سیتوپلاسم و اپوپلاست بود(۰۵/ ۰>P). به نظر می رسدجذب Si^{2+} بیشتر به صورت یونSi^{2+} و جذب Al^{3+} بیشتر در ترکیب با کلاتور ها به خصوص EDTA است. گلوتاتیون به عنوان کلاته کننده در داخل سیتوپلاسم و یا پیش ماده جهت کلاته کردن $Al^{+۳}$ در فضای آپوپلاست عمل کرده است. نتایج نشان داد، مقاومت بیشتر رقم اوس به $Al^{+۳}$ به دلیل قسمت بندی غلظت$Al^{+۳}$ در اپوپلاست و سیم پلاست و کلاته کردن$Al^{+۳}$ در برگهای پایین و ریشه است.

واژه های کلیدی: انواع کلاته کننده، برنج، جذب و انتقالAl^{3+} و Si^{2+}، اپوپلاست و سیم پلاست، گلوتاتیون

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۱۸۲۵۷۴۰۲ ، پست الکترونیکی: Malmir1970@gmail.com

مقدمه

در بیشتر گزارش‌های تحقیقاتی از پلی‌پپتیدهای کوچک مولکول به نام ترکیبات غیر پروتئینی تیول دار اساس مقاومت در شرایط نامساعد فلزی نام برده شده است. اصطلاحا به این کمپلکس فلز مواد آلی فیتومتالوفور گفته می شود. این ترکیبات بعد از پلی فنل‌ها نقش مهمی در کاهش سمیت فلزات به عهده دارند (۱۱و ۸). پلی‌پپتیدهای که قادر به تشکیل پیوند با انواع فلزات هستند اصطلاحا به آنها فیتوکلات گفته می شود. این ترکیبات از نظر ساختمانی از واحدهای (γ–Glu-Cys)n ساخته شده‌اند که ممکن است n بار تکرارشده باشد. این ترکیبات از گلوتاتیون– هموگلوتاتیون– هیدروکسی متیل گلوتاتیون، توسط

آنزیم‌های ترانس پپتیداز و گلوتاتیون اس‌ترانسفراز کاتالیز می‌شوند (۳). برای تشکیل این ترکیبات لازم است آنزیم‌های سنتز کننده آنها ازقبل توسط فلزات سنگین فعال شوند. تحقیقات نشان می‌دهدکه آنزیم های سنتز فیتوکلات‌ها در سطح وسیع توسط فلزات به ویژه فلزات سرب، کادمیم، نقره، آلومینیم و روی می‌تواند فعال شوند (۹و۲).

نتایج تحقیقات ماجی اف (۱۳) نشان داد گیاهان مختلف در توانایی انباشت Si^{+2} در بافت‌های خود تفاوت دارند و با افزایش غلظت Si^{+2} در محیط ریشه، غلظت آن در بافت‌های گیاهی نیز افزایش می‌یابد. میزان Si^{+2} در برگ‌ها بین ۱۰۰ تا۸۰۰ ppm و در ریشه بین ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm در شرایط طبیعی گزارش شده است.از جمله آثار مثبت غلظت‌های زیاد Si^{+2} در گیاهان افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز است که افزایش رشد گیاه را در پی خواهد داشت. نتایج به دست آمده از تحقیقات هال (۹) نشان داد یک رابطه مثبت بین مقدار فیتوکلات تولید شده و افزایش غلظت فلزات سنگین در ارقام مختلف غلات وجود دارد. با این وجود تولید فیتوکلات‌های گیاهی توسط گیاهان رشد یافته در خاک غنی از نظر Si^{+2} و نقش این فیتوکلات‌ها در انتقال و جذب این عنصر هنوز به اثبات نرسیده است.این موضوع به خصوص از این جهت دارای اهمیت است که فیتوکلات‌های گیاهی با فلزات در خارج از ریشه ترکیب می شوند.

گلوتاتیون از ترکیباتی است که در اکسید آسیون سلولی نقش مهمی دارد (۲،۸ و ۹). تولید گلوتاتیون در کلروپلاست و سیتوپلاست صورت می‌گیرد در حالی‌که تخریب آن در واکوئل انجام می‌شود. همچنین جابجایی گلوتاتیون به دو شکل اکسید و احیاء(GSSG، GSSH) از عرض غشاءپلاسمایی به واسطه گروهی ناقل که فعالیت آنها وابسته به شیب پروتون است انجام می‌شود. ویژگی این ترکیبات این است که بخش عمده‌ای ازسولفور احیاء شده که در ساختمان پروتئین‌ها وارد نشده در مخزن گلوتاتیون انبار می‌شود. گلوتاتیون با توجه به فرم‌های مختلف اکسید واحیا یک آنتی‌اکسیدان مهم و کلیدی برای سلول به حساب می‌آید و نقش مهمی در تعادل پتانسیل اکسیدآسیون سلول گیاهی به‌عهده دارد (۲ و۳) . نتایج تحقیقات دی واس و همکاران (۵) نشان داده اند که تحریک سنتز فیتوکلات درشرایط طبیعی وآزمایشگاهی توسط فلزات سنگین درغلظت‌های متفاوت انجام می‌گیرد. شواهد زیادی وجود دارد که بین تغییر مقدار فیتوکلات و سمیت زدایی فلزات سنگین و تغییر گلوتاتیون در داخل سلول‌های ریشه و برگ گیاهان رابطه وجود دارد (۲، ۵، ۷و۸).

با توجه به نتایج تحقیقات ما جی اف (۱۲) فلز Al^{3+} عنصر سمی وSi^{2+}یک عنصر مفید است که به طور متفاوت فرآیندهای گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند.Al^{3+}یک عنصر سمی است و با غلظت زیاد در فضای اپوپلاست تجمع می یابد (۲و۹). نتایج تحقیقات هال (۹) نشان داد مقدار زیادی ترکیبات فنلی همچنین اسید های آلی در فضای اپوپلاست می توانند با Al^{3+}پیوند تشکیل دهند. در شرایط غیر زیستی تانن با قدرت بیشتری با Al^{+3} پیوند دارد، اما این وضعیت در داخل گیاه ضعیف است و حتی ضعیف‌تر از عناصر دو ظرفیتی است، این در حالی است که در برگها و ریشه گیاهان مقدار Si^{2+} به صورت آزاد همواره بیش از Al^{3+}آزاد است. به همین منظور آزمایشی جهت بررسی اثر تانن، اسید سیتریک و EDTA روی قسمت بندیSi^{2+} وAl^{3+} در سیتوپلاسم و اپوپلاسم، فیتوکلات وگلوتاتیون روی گیاه برنج طرح ریزی واجرا شد.

مواد و روشها

آزمایش از اول خرداد تا اواخر مرداد ماه سال ۱۳۹۱ به مدت ۵۰ روز قبل از گلدهی، هنگام طویل شدن ساقه‌های برنج در گلخانه دانشگاه بوعلی سینا انجام

گرفت. بذور ارقام برنج (*Oriza sativa* (L. شیرودی و اوس که توسط مرکز تحقیقات برنج کشور در شهر آمل به ترتیب با ویژگی‌های حساس و مقاوم به شوری در آنها مشخص شده بود تهیه گردید. طرح آزمایش به صورت فاکتوریل و کاملا تصادفی در سه تکرار به اجرا در آمد. غلظت Al^{+3} در سه سطح (۰، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر$AlCl_3$) و Si^{+2}از ترکیب دی اکسید سیلیسیمSiO2 که در آب محلول و به فرم یونی محلول$Si(OH)_4$ قابل جذب گیاه می باشدبا غلظت ۰، ۳۰و۶۰ میلی‌گرم در لیترSiO2 انتخاب گردید. آزمایش در محیط کشت شن انجام گرفت و گیاهان سی روز بعد از جوانه زنی به مدت بیست روز با محلول هوگلند و غلظت مشخص Al^{3+} و Si $^{2+}$آبیاری شدند. همزمان تیمارهای EDTA، اسید سیتریک و تانن با غلظت‌های ۱ گرم در لیتر تهیه و بعد از اضافه شدن محلول غذایی به گلدان‌هایی که حسب طرح لازم بود جداگانه اضافه شد.

اندازه گیری غلظتAl^{3+}و Si^2 در داخل اپوپلاست و سیم پلاست: اندازه گیری غلظتAl^{3+}و Si^2 در سیتوپلاسم و اپوپلاست به روش ابرکون و بلوم (۱) انجام گرفت. بعد از برداشت نمونه های برگ و ریشه،دو بار با آب دی یونیزه شسته وبه قطعات ۱ یک سانتیمتر مربعی خرد گردید. سپس مقدار ۱گرم نمونه را به داخل ظروفی که حاوی ۲۰ میلی لیتر آب دی یونیزه منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محل تاریک نگهداری شد و درپایان میزان رسانایی محلول با دستگاه رسانا سنج پرتابل هانا مدل Hanna Hi 9034 اندازه گیری شد. بار دوم نمونه ها را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای بالا نگداشته شدتا سلولها کشته شوند و غشاء سلولی از بین برود. بعد از اینکه محلول سرد شد وبه حجم رسید بار دوم میزان رسانایی و غلظت عناصر اندازه گیری می شود.اندازه گیری غلظت عناصر در بار اول به منزله غلظت عناصر در فضای اپو پلاست و اندازه گیری بار دوم با کم کردن بار اول نشانگر غلظت عناصر در سیتوپلاسم است.با قرار دادن داده ها در فرمول زیر درصد پایداری غشاء سلولی تعیین شد.۱وT۲ اندازه گیری بار اول و دوم برای نمونه تیمار ها. ۱وC۲ اندازه گیری بار اول و دوم برای نمونه شاهد.

$$\text{٪پایداری غشاء}=\frac{1-T1/T2}{1-C1/C2}$$

تعیین ضریب مقاومت و درجه گوشتی شدن: برای مقایسه اثر Al^{3+} ، Si^{2+} وترکیبات کلاته کننده روی تغییرات وزن ریشه و برگ از ضرایبی به نام ضریب مقاومت استفاده شد. ضریب مقاومت=میانگین وزن شاهد/میانگین وزن تیمار× ۱۰۰. این ضریب تغییرات را نسبت به شاهد بر حسب درصد بیان می کند. برا ی تعیین میران گوشتی شدن برگها، مقدار آب نسبت به ماده خشک در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فیتوکلات: میزان کل فیتوکلات به روش دی وس و همکاران (۵) تعیین گردید. مقدار ۰/۵ گرم از نمونه برگ یا ریشه تازه را درهاون له کرده و مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۵٪ به آن اضافه گردید. سپس دو میلی‌لیتر از محلول دی اتیلن تری پنتا اسید استیک(DTPA) ۶/۳ مولار به آن اضافه گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه بادور ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. مقدار یک میلی‌لیتر ازمحلول رویی را برداشته و به آن ۱ میلی‌لیتر از محلول استوک (محلولی به حجم ۳ میلی‌لیتر، حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر فسفات بافر سدیم دار و ۵۰ میکرولیتر معرف 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid), یا (DTNB) یا Ellman reagent اضافه گردید و حجم آن را با آب مقطر به ۵ میلی‌لیتر رسانده و بعد از ۱۵دقیقه، میزان جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر قرائت گردید. ضریب انحراف جذب بر حسب جذب مولار در نمونه استاندارد$^{-1}cm^{-1}$۴۱۲/۱۲M تعیین شد. در ادامه مقدار کل

فیتوکلات با توجه به حجم نمونه‌ها بر حسب میکرومول در گرم وزن ترمحاسبه گردید.

$$Y = \frac{412.14 \times X}{125.4} \times 100$$

Y= مقدار کل فیتوکلات (μmol g^{-1} FW)

X= مقدار جذب دستگاه

تعیین مقدارکل گلوتاتیون: میزان کل گلوتاتیون (GSSGوGSSH) به روش دی وس و همکاران (۵) اندازه گیری شد. ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از ماده گیاهی برداشته وآن را با۵ میلی‌لیتر فسفات سدیم ۰/۱ مولارکاملا آسیاب شد، سپس مقدار ۵ میلی‌لیترEDTA،۰۰۵/ مولارو ۵ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۲۵٪ به آن اضافه گردید.محتویات لوله آزمایش رادر دورg ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر میزان جذب محلول رویی را در طول موج ۴۲۰ نانومتر یاداشت و با استفاده از منحنی استاندارد برای اسیدگلوتامیک مقدار کل گلوتاتیون بر حسب μ(mol g^{-1} FW) اسید گلوتامیک محاسبه گردید.

$$y = \frac{103.4 \times X}{112.5} \times 100$$

y=مقدار کل گلوتاتیون(μmol g^{-1} FW)

X=مقدار جذب دستگاه

Al^{+3} و Si^{+2} به وسیله دستگاه جذب اتمی **FS** ۲۴۰ ساخت **Agilent** اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری Al^{+3}ابتدا دستگاه جذب اتمی با محلولهای۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر $AlCl_3$ استاندارد می شود. پس از رسم منحنی توسط دستگاه به ترتیب تیمارهای Al^{+3} اندازه گیری می شود. برای اندازه گیری Si^{+2} ابتدا دستگاه جذب اتمی با محلولهای غلظت ۰، ۳۰، ۶۰ و۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر SiO2 استاندارد شد.

نتایج

اثر Al^{3+} و Si^{2+} وکلاته کننده ها روی میزان تغییرات گوشتی شدن برگ های دو رقم برنج ایرانی:

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلفAl^{3+} وSi^{2+} (میلی گرم در لیتر)وکلاته کننده ها روی میزان تغییرات گوشتی شدن برگ. داده‌ها میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

رقم	Al^3	Si^{2+}					
	تیمار	شاهد	۱۵	۳۰	صفر	۳۰	۶۰
شیرودی	شاهد	۴/۸۲^{h}	۴/۵۷^{d}	۴/۳۹^{ab}	۴/۸۳^{h}	۴/۸۹^{i}	۴/۹۷^{k}
	EDTA	۴/۷۳^{f}	۴/۶^{d}	۴/۳۵^{a}	۴/۷۱^{f}	۴/۸۵^{h}	۴/۸۸^{i}
	تانن	۴/۶^{d}	۴/۴۸^{c}	۴/۴۱^{b}	۴/۶۱^{d}	۴/۷۶^{fg}	۴/۹۵^{jk}
	اسید سیتریک	۴/۶۲^{de}	۴/۴۹^{c}	۴/۳۵^{a}	۴/۶۳^{de}	۴/۷۵^{fg}	۴/۹۸^{k}
اوس	شاهد	۴/۸^{i}	۴/۶۸^{de}	۴/۴۶^{bc}	۴/۸۱^{h}	۴/۸۳^{h}	۴/۹^{j}
	EDTA	۴/۷۲^{f}	۴/۶۲^{de}	۴/۴۴^{b}	۴/۷۳^{f}	۴/۷۸^{g}	۴/۹۶^{k}
	تانن	۴/۶۷^{e}	۴/۵۳^{c}	۴/۴۷^{bc}	۴/۶۸^{e}	۴/۶۱^{de}	۴/۹۱^{j}
	اسید سیتریک	۴/۶۹^{e}	۴/۵۱^{c}	۴/۴۳^{bc}	۴/۷^{c}	۴/۷۷^{g}	۴/۸۷^{i}

اثر Al^{3+} وSi^{2+} وکلاته کننده ها روی میزان مقاومت در دو رقم برنج ایرانی: این ضریب درصد تغییرات وزن را نسبت به شاهد مشخص می کند.

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+} و Si^{2+} (میلی گرم در لیتر) و کلاته کننده ها روی درصد ضریب مقاومت وزن برگ . داده‌ها میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

	اوس				شیرودی			
	غلظت Si^{2+}		غلظت Al^{3+}		غلظت Si^{2+}		غلظت Al^{3+}	
	۳۰	۶۰	۱۵	۳۰	۱۵	۳۰	۶۳	۶۰
شاهد	۱۱۵^{h}	۱۲۷^{g}	۶۷^{c}	۴۳^{a}	۱۱۷^{i}	۱۲۱^{i}	۶۳^{c}	۵۹^{b}
EDTA	۱۰۷^{g}	۱۱۱^{h}	۷۶^{d}	۵۹^{b}	۱۰۰^{g}	۱۱۲^{h}	۵۵^{b}	۷۱^{d}
تاننا سید	۱۰۸^{g}	۱۱۹^{i}	۷۴^{e}	۸۴^{d}	۱۰۶^{g}	۱۱۳^{h}	۸۱^{e}	۷۹^{e}
سیتریک	۱۱۵^{h}	۱۲۰^{i}	۸۹^{g}	۸۸^{e}	۱۱۴^{a}	۱۱۹^{i}	۸۵^{f}	۷۶^{d}

اثر Al^{3+} وSi^{2+} وکلاته کننده ها روی غلظت Al^{3+} وSi^{2+} در فضای اپوپلاست برگها در دو رقم برنج ایرانی

جدول۳-اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+}و Si^{2+} (میلی گرم در لیتر) وکلاته کننده‌ها روی غلظت Al^{3+} و Si^{2+} **(میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)** در اپوپلاست برگ ها. داده‌ها میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

		Al^{3+}		Si^{2+}		
رقم	تیمار	صفر	۱۵	۳۰	صفر	۳۰	۶۰
شیرودی	شاهد	۰/۱^{a}	۱۱/۷^{e}	۲۰/۳^{h}	۰/۱^{a}	۱۷/۸^{g}	۳۸/۷^{k}
	EDTA	۰/۱^{a}	۱۳/۳^{f}	۲۳/۲^{hi}	۰/۲۱^{a}	۱۸/۴^{g}	۴۰/۸^{m}
	تانن	۰/۱^{a}	۹/۵^{c}	۱۶/۳^{f}	۰/۱۱^{a}	۱۱/۷^{e}	۲۹/۹^{k}
	اسید سیتریک	۰/۱^{a}	۷/۷^{c}	۱۵/۵^{ef}	۰/۱۱^{a}	۱۸/۳^{g}	۳۷/۴^{k}
آوس	شاهد	۰/۲^{a}	۹/۲^{d}	۱۸/۶^{g}	۰/۱^{a}	۱۷/۶^{g}	۴۳/۳^{n}
	EDTA	۰/۱^{a}	۱۱/۷^{b}	۲۱/۲^{h}	۰/۱^{a}	۱۹/۲^{gh}	۴۶/۱^{n}
	تانن	۰/۱^{a}	۷/۲^{c}	۱۷/۳^{fg}	۰/۱^{a}	۱۳/۶^{f}	۲۶/۲^{ij}
	اسید سیتریک	۰/۱^{a}	۵/۵^{b}	۱۳/۶^{ef}	۰/۱^{a}	۱۸/۶^{g}	۳۷/۲^{k}

اثر Al^{3+} وSi^{2+} وکلاته کننده ها روی مقدار Al^{3+} وSi^{2+} در برگها ی دو رقم برنج

جدول۴- اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+}و Si^{2+}(میلی گرم در لیتر)وکلاته کننده‌ها روی مجموع غلظتAl^{3+} و Si^{2+} (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) در برگها. داده‌ها میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

		Al^{3+}		Si^{2+}		
رقم	تیمار	صفر	۱۵	۳۰	صفر	۳۰	۶۰
اوس	شاهد	۰/۳۵^{b}	۱۶/۳^{e}	۲۳/۷^{g}	۰/۴۲^{c}	۳۳/۶^{i}	۴۶/۵^{l}
	EDTA	۰/۴۵^{c}	۱۸/۵^{ef}	۲۶/۸^{h}	/۳۲^{b}	۳۷/۴^{j}	۵۹/۷^{n}
	تانن	۰/۳۲^{b}	۱۵/۳^{e}	۲۴/۹^{gh}	۰/۳۱^{b}	۳۰/۴^{hi}	۴۸/۸^{m}
	اسید سیتریک	۰/۵۷^{cd}	۲۰/۸^{g}	۲۱/۳^{g}	۰/۴۵^{c}	۳۰/۶^{hi}	۵۲/۵^{n}
شیرودی	شاهد	۰/۶۳^{d}	۱۸/۶^{ef}	۲۵/۲^{gh}	۰/۵۱^{c}	۳۷/۸^{j}	۴۵/۷^{l}
	EDTA	۰/۳۷^{bc}	۲۲/۵^{g}	۲۷/۸^{h}	۰/۳۱^{b}	۳۷/۴^{j}	۴۹/۴^{mn}
	تانن	۰/۲۱^{a}	۱۷/۳^{ef}	۲۳/۷^{g}	۰/۲۲^{a}	۳۲/۸^{i}	۴۰/۵^{k}
	اسید سیتریک	۰/۴۱^{c}	۲۳/۲^{g}	۲۸/۲^{h}	۰/۳۲^{b}	۴۴/۸^{l}	۴۵/۷^{l}

جدول ۵- تحلیل واریانس تغییرات مقدار فیتوکلات و گلوتاتیون در ریشه و برگ‌های دو رقم برنج

منابع تغییر	درجه آزادی	فیتوکلات برگ	فیتوکلات ریشه	گلوتاتیون برگ	گلوتاتیون ریشه
رقم	۱	۱۲**	۱۱**	۲۲**	۱۶**
فلز	۱	۹**	۲۲**	۴۳**	۳۱**
غلظت	۲	۷**	۱۰**	۶**	۱۷**
کلاتور	۳	۳*	۵**	۱۱**	۱۰**
رقم× فلز	۱	۰/۲۳ns	۲/۴۴ns	۱/۲۹ns	۲/۰۱ns
رقم× غلظت	۲	۱/۲۹ns	۰/۱۹ns	۱/۷۷ns	۲/۵۸ns
رقم× کلاتور	۳	۱/۰۱ns	۰/۵۶ns	۱/۶۳ns	۲/۱ns
فلز× غلظت	۲	۲/۴۵ns	۲/۷۸ns	۲/۳۸ns	۷**
فلز× کلاتور	۳	۲/۷۱ns	۲/۴۲ns	۲/ ۷ns	۳*
غلظت× کلاتور	۶	۱/۱۱ns	۰/۹۸ns	۰/۴۶ns	۴*
رقم× فلز× غلظت	۲	۰/۱۴ns	۱/۷۳ns	۲/۷۱ns	۵**
رقم× فلز×کلاتو	۳	۱/۲۸ns	۰/۹۱ns	۲/۰۶ns	۲/۴۸ns
رقم× فلز× غلظت× کلاتور	۶	۲/۲۱ns	۲/۵۸ns	۲/۱۱ns	۲/۳۷ns
ضریب تغییرات (٪)		۱۳/۹	۹/۷	۴/۵	۱۱/۳

سطح معنی‌دار **۰/۰۵، *۰/۱ و ns معنی‌دار نیست.ns = Not-significant at 0.05 probability level

اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+} و Si^{2+} وکلاته کنندها روی مقدار فیتوکلات در برگ‌ها

جدول ۶- اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+}و Si^{2+} (میلی گرم در لیتر) وکلاته کنندها روی مقدار فیتوکلات ($\mu mol\ g^{-1}\ FW$) در برگ‌ها. اعداد جدول میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

		Al^{3+}			Si^{2+}			
رقم	تیمار	صفر	۱۵	۳۰	صفر	۳۰	۶۰
شیرودی	شاهد	۰/۶b	۲/۹۵d	۳/۲j	۰/۶۷b	۰/۹۵f	۲/۸۱i
	EDTA	۰/۶۳b	۱/۹۷h	۲/۶i	۰/۵۹a	۰/۸۷e	۱/۶h
	تانن	۰/۶۲b	۰/۹۷f	۱/۰۴g	۰/۵۷a	۰/۷۳d	۰/۹۹f
	اسید سیتریک	۰/۶۵b	۰/۸۷d	۰/۹f	۰/۵۸a	۰/۴۴f	۰/۸۶d
اوس	شاهد	۰/۷۸c	۱/۷g	۲/۸i	۰/۶۴b	۰/۸۲e	۱/۰۴g
	EDTA	۰/۷۱c	۱/۰۳g	۱/۷۲h	۰/۶۲b	۰/۷۶d	۰/۹۲e
	تانن	۰/۶۸b	۰/۹۴f	۰/۹۴f	۰/۶۸b	۰/۶۹c	۰/۸۶d
	اسید سیتریک	۰/۷۶c	۰/۷۴b	۰/۹۸f	۰/۶b	۰/۶b	۰/۷۲d

اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+} و Si^{2+} وکلاته کنندها روی مقدار فیتوکلات درریشه ها

جدول۷- اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+}و Si^{2+} (میلی گرم در لیتر) وکلاته کنندها روی مقدار فیتوکلات($\mu mol\ g^{-1}\ FW$) درریشه ها. داده‌ها در جدول میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

		Al^{3+}	Si^{2+}			
رقم	تیمار	۱۵	۳۰	شاهد	۳۰	۶۰
شیرودی	شاهد	۰/۷^{e}	۴/۳^{g}	۶/۱^{i}	۰/۸^{a}	۲/۲^{d}	۲/۸^{e}
	EDTA	۰/۹^{c}	۳/۲۱^{f}	۵/۵^{h}	۰/۸۴^{b}	۱/۹۸^{d}	۲/۰۴^{e}
	تانن	۰/۸۲^{a}	۲/۱^{c}	۳/۲^{f}	۰/۸۲^{ab}	۱/۵۱^{c}	۲/۰۳^{e}
	اسید سیتریک	۰/۸^{a}	۲/۱۲^{c}	۳/۴^{f}	۰/۸۱^{a}	۱^{c}	۱/۲۸^{d}
اوس	شاهد	۰/۹۱^{c}	۳/۶^{f}	۵/۹^{h}	۰/۷^{a}	۱/۳^{c}	۲/۰۳^{e}
	EDTA	۰/۹۵^{c}	۳/۴^{f}	۴/۳^{g}	۰/۸^{a}	۱/۲^{c}	۱/۷^{d}
	تانن	۰/۸۲^{a}	۲/۸^{e}	۳/۶^{f}	۰/۷۶^{a}	۰/۹۸^{c}	۰/۷^{a}
	اسید سیتریک	۰/۸^{a}	۲/۴^{e}	۲/۳^{e}	۰/۷۰^{a}	۰/۸۵^{b}	۰/۸۷^{b}

اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+} و Si^{2+} وکلاته کنندها روی کل گلوتاتیون در برگ‌ها.

جدول۸- اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+}و Si^{2+}(میلی گرم در لیتر) وکلاته کنندها روی کل گلوتاتیون($\mu mol\ g^{-1}\ FW$) در برگ‌ها. اعداد جدول میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

		Al^{3+}			Si^{2+}		
رقم	تیمار	شاهد	۱۵	۳۰	صفر	۳۰	۶۰
شیرودی	شاهد	۰/۴۴^{c}	۰/۶۲^{f}	۰/۸۷^{i}	۰/۳۸^{a}	۰/۳۷^{b}	۰/۳۹^{bc}
	EDTA	۰/۴۰^{b}	۰/۶۵^{g}	۰/۹^{h}	۰/۳۷^{a}	۰/۳۸^{b}	۰/۴۲^{bc}
	تانن	۰/۳۶^{a}	۰/۵۳^{f}	۰/۶۵^{g}	۰/۳۹^{a}	۰/۳۵^{a}	۰/۳۶^{b}
	اسیدسیتریک	۰/۴^{bc}	۰/۵۴^{fg}	۰/۶۷^{de}	۰/۳۷^{a}	۰/۳۸^{b}	۰/۳۵^{a}
اوس	شاهد	۰/۴۶^{d}	۰/۶۸^{h}	۰/۸۵^{i}	۰/۵۲^{cd}	۰/۵۳^{fg}	۰/۵۴^{fg}
	EDTA	۰/۴۴^{d}	۰/۶۲^{g}	۰/۹۷^{h}	۰/۵۲^{cd}	۰/۵۸^{g}	۰/۷۶^{i}
	تانن	۰/۴۷^{e}	۰/۵۳^{f}	۰/۷۲^{h}	۰/۵۲^{cd}	۰/۵۱^{c}	۰/۵۱^{c}
	اسید سیتریک	۰/۴۳^{c}	۰/۵۱^{c}	۰/۷۴^{hi}	۰/۵۲^{c}	۰/۵۷^{g}	۰/۴۷^{bc}

اثر Al^{3+} و Si^{2+} وکلاته کننده ها روی کل گلوتاتیون در ریشه های دو رقم برنج ایرانی

جدول۹- اثر غلظت‌های مختلف Al^{3+} و Si^{2+}(میلی گرم در لیتر) وکلاته کنندها روی کل گلوتاتیون($\mu mol\ g^{-1}\ FW$) در ریشه ها. داده‌ها میانگین ۳ تکرار است. اعداد باحداقل یک حرف مشابه در جدول براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگرندارند.

		Al^{3}			Si^{2+}		
رقم	تیمار	صفر	۱۵	۳۰	صفر	۳۰	۶۰
اوس	شاهد	۰/۳۵^{a}	۰/۴۱^{ab}	۰/۶۴^{e}	۰/۳۴^{a}	۰/۴۲^{b}	۰/۴۹^{d}
	EDTA	۰/۳۴^{a}	۰/۴۱^{ab}	۰/۶۹^{g}	۰/۳۵^{a}	۰/۴۴^{b}	۰/۵۲^{ef}
	تانن	۰/۳۶^{a}	۰/۴۴^{b}	۰/۶۶^{f}	۰/۳۵^{a}	۰/۴۱^{b}	۰/۴۸^{cd}
	اسید سیتریک	۰/۳۴^{a}	۰/۳۸^{a}	۰/۶۳^{e}	۰/۳۶^{a}	۰/۴۱^{ab}	۰/۴۹^{cd}
شیرودی	شاهد	۰/۴۱^{ab}	۰/۴۸^{bc}	۰/۶۵^{f}	۰/۴۴^{b}	۰/۴۳^{b}	۰/۴۷^{c}
	EDTA	۰/۴۳^{b}	۰/۴۹^{ab}	۰/۶۹^{g}	۰/۴۶^{b}	۰/۴۶^{cd}	۰/۴۳^{b}
	تانن	۰/۴۱^{ab}	۰/۴۸^{bc}	۰/۶۷^{f}	۰/۴۶^{b}	۰/۴۲^{b}	۰/۴۲^{b}
	اسید سیتریک	۰/۴۹^{b}	۰/۴۲^{b}	۰/۶۶^{f}	۰/۴۷^{bc}	۰/۴۴^{b}	۰/۴۵^{c}

بحث

با مقایسه داده های جدول ۱در تیمارSi^{2+} مقدار آب نسبت به وزن خشک افزایش یافت که معنی دار است $P\leq$ ۰/۰۵، اما در تیمار Al^{3+} مقدار آب نسبت به وزن خشک کاهش یافت. به نظر می رسد افزایش غلظت Si^{2+} با جذب آب بیشتر همراه است که این افزایش جذب آب گرایش بافت ها به سمت گوشتی شدن را افزایش می دهد. همچنین کاهش مقدار آب نسبت به ماده خشک می تواند دلیلی بر چوبی شدن بافت ها باشد. بنابراین اگر تغییرات آب نسبت به ماده خشک به عنوان یک پارامتر در نظر گرفته شود Al^{3+}و Si^{2+} مخالف هم عمل می کنند. Si^{2+} گوشتی شدن بافتها را پیش می برد و Al^{3+} چوبی شدن را پیش می برد.با مقایسه تاثیر انواع کلاته کننده ملاحظه می‌شود که تانن بیشتر از سایر کلاته کننده ها مقدار آب برگ را افزایش داده است، در واقع تانن Al^{3+} را خارج از ریشه کلاته کرده ومیزان جذب آب را افزایش داده است. گوشتی شدن یکی از ویژگی های گیاهان در مناطق شور است (۲۰). در نواحی شور به دلیل بالا بودن غلظت یون سدیم وکلر در محیط ریشه پتانسیل اسمزی محیط بسیار منفی است، لذا گیاه برای ایجاد تعادل اسمزی محیط داخل مقدار زیادی یون سدیم و کلر جذب می کند، که این جذب منجر به جذب آب بیشتر و گوشتی شدن گیاه را به دنبال دارد. در این آزمایش با افزایش غلظتAl^{3+} وSi^{2+} در داخل محیط کشت، گیاه برنج این عناصر را به مقدار زیاد جذب کرده، و در داخل گیاه مشکلات متابولیسمی ایجاد می کنند، لذا گیاه برنج جهت کاهش تنش این عناصر مقدار زیادی آب جذب می کند تا غلظت این عناصر داخل گیاه کاهش یابد. در واقع شرایطی مشابه شوری ایجاد می شود که نتیجه آن پدیده اسمز و جذب بیشتر آب توسط گیاه است.جذب آب توسط گیاه سبب رقیق شدن محلولهای داخل سلول می شود. در این شرایط که گیاه مقدار زیادی آب جذب کرده از یک طرف مشکل افزایش غلظتAl^{3+} و Si^{2+} حل شده، از طرف دیگر این افزایش آب سبب می‌شود بافت های گیاه به سمت گوشتی شدن پیش بروند (۲۰و۲۵).

اثر کلاته کننده ها روی ضریب مقاومت برگ: ضریب مقاومت در واقع درصد تغییراتی را نشان می‌دهدکه توسط عامل بکار گرفته شده نسبت به شاهد ایجاد می‌شود. با مقایسه ضرایب مقاومت در تیمارها، هرچقدر این ضریب بیشتر باشد دلیل بر این است که تاثیر عامل به کار گرفته شده روی آن صفت کمتر است(۷). نتایج بدست آمده در

جدول ۲ با افزایش غلظت Al^{3+} در محیط کشت ضریب مقاومت در برگ ها در دو رقم کاهش یافت. در برگ ها با افزایش Al^{3+} به ترتیب در غلظت $15 mgl^{-1}$ و $30 mgl^{-1}$در محیط کشت این ضریب به طور متوسط برای رقم اوس حدود۵۲٪و۶۳٪ و برای رقم شیرودی تقریبا به۴۶٪ و۷۴٪ ضریب وزن برگ کاهش یافته است ($P\leq ۰/۰۵$; جدول ۲). با مقایسه دو رقم ملاحظه می شود رقم اوس که به شوری مقاوم هست در مقایسه با رقم شیرودی نسبت به Al^{3+} مقاومت بیشتری دارد. با اعمال تیمارهای کلاته کننده تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $30 mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۱۷٪ و ۲۲٪ ضریب مقاومت وزن برگ را افزایش داده‌اند. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۱۳٪ و ۲۰٪ است که در دو رقم معنی دار است($P\leq ۰/۰۵$). با اعمال تیمارهای کلاته کننده EDTA، تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $15 mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۲٪ ، ۳۲٪ و ۴۵٪ ضریب وزن برگ را نسبت به شاهد افزایش یافت. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۵٪ ، ۳۰٪ و ۳۷٪ بود که این افزایش در دو رقم معنی‌دار است ($P\leq ۰/۰۵$; جدول ۲). این تغییرات در خصوص Si^{2+} با توجه به نتایج جدول ۲ اضافه شدن Si^{2+} به محیط کشت ضریب مقاومت وزن برگ را در دو رقم به طور بسیار متفاوت تغییرداده است. مقدار افزایش توسط Si^{2+} در غلظت mgl^{-1} ۳۰ و$60 mgl^{-1}$ به ترتیب به طور متوسط برای رقم اوس، ۱۱٪ و ۲٪ و برای رقم شیرودی برابر ۱۵٪ و ۳٪ ضریب وزن برگ افزایش یافته است. بنابراین افزایش غلظت Si^{2+} بیشتر از $30 mgl^{-1}$ تغییر معنی داری را در افزایش مقاومت وزن برگ به طوریکه بین دو رقم اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. با اعمال تیمارهای کلاته کننده تانن و اسید سیتریک در تیمار Si^{2+} با غلظت $60 mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۲٪ و ۱۳٪ ضریب وزن برگ را نسبت به شاهد افزایش داده است. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۶٪ و ۹٪ است که در دو رقم معنی داراست ($P\leq ۰/۰۵$ ، جدول ۲). با اعمال تیمارهای کلاته کننده اثرات متفاوتی در تغییر ضریب مقاومت ایجاد می‌شود به طوریکه در غلظت Si^{2+} با $30 mgl^{-1}$ ، در دو رقم تانن اثر منفی روی ضریب مقاومت وزن برگ دارد در حالیکه اسید سیتریک در تیمار Si^{2+} با غلظت $30 mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۲٪ و ۳٪ و برای رقم شیرودی۳٪ و ۴٪ ضریب وزن برگ را افزایش داده است که این افزایش در دو رقم معنی‌داراست (جدول ۲) است. در صورتیکه EDTA در غلظت $30 mgl^{-1}$ تاثیری روی تغییرات ضریب وزن برگ در دو رقم ندارد، ولی Si^{2+} در غلظت$60 mgl^{-1}$ در رقم اوس تقریبا ۵٪- و ۹٪- و برای رقم شیرودی ۶٪- و ۱۳٪- وزن برگ را نسبت به شاهد کاهش داده است. این داده ها با نتایج بدست آمده از تحقیقات (۲۱،۲۴،۲۵،۲۷) مطابقت دارد.

با مقایسه داده ها هر سه کلاته کننده در غلظت های مختلف Al^{3+}و Si^{2+} یکسان عمل نکرده اند. با افزایش غلظت Al^{3+} درمحیط کشت ضریب مقاومت وزن برگ‌ها در دو رقم برنج کاهش یافت. با مقایسه تاثیر انواع کلاته کننده ملاحظه شد اسید سیتریک بیشتر از تانن ضریب مقاومت وزن برگ‌ها را در دو رقم افزایش داده البته این افزایش در رقم شیرودی بیشتر از اوس بود.

بنا به گزارش مرکز تحقیقات برنج در آمل رقم اوس یک رقم مقاوم به شوری است، نتایج تحقیق حاضرنیز نشان داد رقم اوس کمتر تحت تاثیر سمیتAl^{3+} قرار گرفت. شاید بتوان گفت مکانیسم مقاومت نسبت به نمک و Al^{3+} در این رقم یکسان است. با مقایسه تاثیر انواع کلاته کننده ملاحظه شد تانن و اسید سیتریک سبب کاهش سمیت Al^{3+} شده از این نظر ضزیب مقاومت را در دو رقم افزایش یافته است. در حالیکه EDTA ضریب مقاومت را کاهش داده که با افزایش غلظت Al^{3+}در داخل سیتوپلاسم و کاهش جذب آب همراه بود. عنصر Si^{2+} همراه با کلاته کننده ها جذب آب بیشتر کرده که با افزایش ضریب مقاومت وزن برگ

همراه بود. اثر Al^{3+} روی تغییرات وزن ریشه و برگ‌ها توسط محققین زیادی گزارش شده است (۱۰و ۱۶).

نتایج تحقیقات ما جی اف (۱۴) نشان داد در غظت های بالای Si^{2+} در محیط کشت جذب NO_3 سریع‌تر از NH_3 صورت می‌گیرد که نتیجه آن افزایش بار منفی داخل سلولهای ریشه است که سبب می شود جذب کاتیون‌ها رونق بگیرد. در ادامه این فرآیندها جذب Si^{2+}که با غلظت بیشتری درمحیط وجود تشدید می شود. نتایج این تحقیق نشان داد، اسید سیتریک سمیت Al^{3+} را در دو رقم می دهد، که گزارش تحقیقات رایان و همکاران (۲۳) را تایید می کند. این محققین نشان داده اند با افزایش غلظت Al^{3+}در محیط کشت گندم، محیط ریشه به شدت اسیدی شده و خروج آنیونها از سلولهای ریشه صورت می گیرد که نتیجه آن کلاته کردن Al^{3+} در خارج از ریشه است. نتایج تحقیقات روسیر (۲۲) که اثر عوامل کلاته کننده را روی جذب کادمیم در گندم بررسی کرده نشان داده EDTA جذب کادمیم را افزایش داده است. از آنجائیکه کادمیم عنصر سمی است، وزن خشک ریشه و برگ‌ها افزایش پیدا نکرده است.

اثر کلاته کننده ها روی جذب وتجمع Al^{3+} و Si^{2+} دراپوپلاست و سیتوپلاسم دو رقم برنج: با مقایسه داده‌ها در جدول های ۳ و ۴ ملاحظه شد با اضافه شدن Al^{3+} و Si^{2+} به محیط کشت غلظت Al^{3+} وSi^{2+} در اپوپلاست و سیتوپلاسم افزایش یافت($P\leq$۰/۰۵). با اعمال کلاته کننده ها تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $15mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب۱۴٪ و۲۱٪ غظت Al^{3+}اپوپلاست را نسبت به شاهد کاهش داده‌اند. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۱۲٪ و۱۵٪ است که در دو رقم معنی‌دار است ($P\leq$۰/۰۵). هچنین کلاته کننده های تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $30mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب۲۳٪ و۳۱٪غظت Al^{3+}اپوپلاست را کاهش داده‌اند. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۱۹٪ و۲۸٪ است. در حالیکه اضافه کردن EDTA در تیمار Al^{3+}با غلظت mgl^{-1} ۳۰ و ۶۰ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۶٪ و ۱۳٪و برای رقم شیرودی به ترتیب ۹٪ و ۱۷٪ غظت Al^{3+}سیتوپلاسم را نسبت به شاهد افزایش داده‌است.که در دو رقم معنی‌دار است ($P\leq$۰/۰۵).

در صورتیکه اضافه شدن انواع ترکیبات کلاته به محیط کشت تاثیر متفاوتی روی غلظت Si^{2+} در اپوپلاست و سیتوپلاسم دو رقم دارد و اثر آنها روی تغییرات غظت کم Si^{2+} معنی دار نیست و تنها تانن و اسید سیتریک در تیمار Si^{2+} با غلظت$60mgl^{-1}$ در رقم اوس به ترتیب ۱۲٪ و۹٪ و برای رقم شیرودی به ترتیب ۹٪ و ۱۷٪ غظتSi^{2+} اپوپلاست را نسبت به شاهد کاهش داده‌اند این داده ها با نتایج بدست آمده از تحقیقات (۲۰، ۲۴ و۲۷) مطابقت دارد.

نتایج نشان داد تانن و اسید سیتریک جذبAl^{3+}را در اپوپلاست و سیتوپلاسم دو رقم به شدت کاهش داد در حالیکه تاثیری کمتری روی جذب و انتقال Si^{2+} دارد. نظر بیشتر محققین بر این است که مکانیزم کاهش غلظتAl^{3+} در گیاهان مختلف متفاوت است. Al^{3+} یک فلز به شدت هسته دوست است و در داخل گیاه و محیط کشت به فرم های,$Al(OH)_2$, $Al^{3+}Al(OH)$ و$Al(OH)_3$ وجود دارد که این فرم‌ها می توانند توسط گروههای بار دار تانن و اسید سیتریک جذب و تثبیت شوند (۱۵و۲۳).

با توجه به ویژگی‌های شیمیایی Al^{3+}با اضافه کردن EDTA، اسید سیتریک و تانن به محیط کشت در واقع فرم های مختلف Al^{3+}در محیط کشت به وجود می‌آید که ممکن است جذب بعضی از آنها توسط ارقام برنج سریع‌تر و یا کندتر باشد. با مقایسه غلظتAl^{3+}در تیمار شاهد و غلظتAl^{3+}درتیمارهای کلاته کننده، ملاحظه شد مقدار جذب کمپلکس $EDTA\text{-}Al^{3+}$حدود ۲ برابر بیشتر از مقدار جذب Al^{3+} در تیمار شاهد است. بنابراین EDTA

جذب Al^{3+} را افزایش می‌دهد. در حالیکه جذب Al^{3+} توسط سایر کلاته کننده هاتانن و اسید سیتریک کاهش داد. نتایج تحقیقات میلا و اسکالبرت (۱۹) نشان داد انواع پلی فنل با درجات متفاوتی فلزات را در داخل گیاه و بیرون از گیاه کلاته می کنند. همچنین نتایج حاصل از بررسی قدرت کلاته کردن انواع فلزات توسط تانن در دو رقم سورگوم توسط مالمیر و همکاران (۱۸) ملاحظه شد انواع پلی فنلها با درجات متفاوتی فلزات آلومینیم ، کروم ، منگز و کادمیم را کلاته می کنند. تحقیقاتی که روی ویژگی شیمیایی EDTA انجام شده نشان داده شدهEDTA دارای دو قسمت آب دوست و آب گریز است که به آسانی از غشاء سلول عبور می‌کند. به نظر می‌رسد این ویژگی EDTA است که اجازه انتقال کمپلکس $EDTA–Al^{3+}$ را به داخل سیتوپلاسم می‌دهد، در حالیکهEDTA تنها در غلظت های بالای Si^{2+} جذب Si^{2+} را به سیتوپلاسم افزایش داده است. به طور کلی نظر بیشتر محققین در رابطه با جذب و انتقال Al^{3+}، دو فاکتور pH و تر کیبات ترشح شده از ریشه را دخیل می دانند (۲۴و ۲۶). نتایج تحقیقات رایان و همکاران (۲۳)نشان داد که مقاومت به Al^{3+} درگندم به خروج اسید مالیک از ریشه‌ها بستگی دارد. در واقع رقمی از گندم که توانایی ترشح اسید مالیک بیشتری به خارج از ریشه دارد نسبت به Al^{3+} مقاوم‌تر است. مطابق جدول۳و ۴اسید سیتریک و تانن غلظتAl^{3+} را در اپوپلاست و سیتوپلاسم دو رقم برنجبه شدتکاهش داده است و این کاهش درسیتوپلاسمرقم اوس بیشتر از رقم شیرودی است. اضافه شدن سیتریک اسید به عنوان کلاته کننده خارجی منجر به کلاته شدن بیشتر Al^{3+}در فضای اپوپلاست شده به همین دلیل غلظت Al^{3+} در سیتوپلاسم کاهش یافته است. این تاثیر می‌تواند تائید کننده نتایج بسیاری از برخی محققان باشد که نشان داده اند خروج ترکیباتی مانندااسید مالیک و اسید سیتریک از ریشه جذب Al^{3+} را در گیاه کاهش می دهد. به همین دلیل با اضافه شدن اسید سیتریک به محیط کشت ضریب مقاومت وزن خشک ریشه و برگ‌ها افزایش پیدا می‌کند که دلیلی برای جذب کمترAl^{3+} است (۲۵ و۲۶). کاهش غلظتAl^{3+} وSi^{2+} در اپوپلاست و سیتوپلاسم توسط تانن سبب شده میزان مقاومت در برگها افزایش یابد. این نتایج اساس مقاومت نسبت به اکثر فلزات سنگین مانند کروم، کبالت به دلیل ترشح انواع ترکیبات تاننی به محیط کشت را تائید می کند (۲۶). تانن کمپلکسی از انواع پلی فنل است که دارای گروههای عاملی زیادی است و می تواند عناصر زیادی را کلاته کند. بنابراین می‌توان گفت که تانن می‌تواند Al^{3+} و بیشترSi^{2+} را در محیط ریزوسفر در داخل محیط کشت کلاته کرده و در نتیجه دسترسی ریشه را به آن کاهش دهد. به همین دلیل مقدار Si^{2+} و Al^{3+} در داخل اپوپلاست و سیتوپلاسم کاهش می‌یابد. از بین ترکیبات کلاته کننده، تانن مقدار انتقال Si^{2+} را بیشتر از Al^{3+} در دو رقم برنج تغییر می‌دهد. به نظر می‌رسد که تانن در فضای خارج از ریشه Si^{2+}را بیشتر از Al^{3+} کلاته می‌کند و در نتیجه از افزایش آن جلوگیری می کند (۱۳،۱۱،۱۲ و۱۹).

نتایج نشان دادSi^{2+} با اسید سیتریک و EDTA کمترکلاته شده. به همین دلیل در غلظت های کم Si^{2+}جذب و انتقالSi^{2+}توسط اپوپلاست و سیتوپلاسم کمتر تغییر دارد. در تیمار EDTAغلظتSi^{2+}در اپوپلاست و سیتوپلاسم یکسان است. بنابراین ممانعتی در انتقال Si^{2+} وجود ندارد. تعدادی از محققین اثر غلظت‌های مختلف Si^{2+}را در برنج مطالعه کرده اند و تفاوت‌های زیادی در جذب این عنصر در بین گیاهان مشاهده نموده اند (۱۳). با توجه به نتایج می توان گفتSi^{2+} در مقایسه با Al^{3+} فرمهای جذب متنوعی ندارد و فرم جذبSi^{2+} به تنهایی در مقایسه با فرمSi^{2+} درترکیب بهتر جذب می شود و حلالیت بالای دارد و سبب تغییراتی در درجه اکسیدآسیون و احیاء داخل گیاه زیاد نمی شود. در صورتی که جذب Al^{3+} با فرمهای مختلف حلالیت متفاوتی دارد و جذب آن به هر فرمی که باشد در داخل گیاه با تغییر درجه اکسیدآسیون و احیاء همراه است (۶و۱۲). رفتار تانن به عنوان یک کلاتور برای

Si^{2+} و Al^{3+} نیز متفاوت است، در صورتیکه در دو رقم یکسان است. با اضافه شدن تانن به محیط ریشه میزان جذب و انتقال Al^{3+} در اپوپلاست و سیتوپلاسم دو رقم تقریبا یکسان کاهش داده است. به نظر می رسد تانن باAl^{3+}در سطح لایه ریزودرم در ریشه کمپلکس پیچیده تشکیل می‌دهد و در این نواحی رسوب می‌کند. بنابراین در حالیکه در تیمار اسید سیتریک جذب Al^{3+} بسیار بیشتر از Si^{2+}کاهش یافته است. از طرفی تانن تاثیر کمتری روی مقدار Si^{2+}در اپوپلاست و سیتوپلاسم دو رقم تقریبا یکسان کاهش داده است. از اینجا نتیجه گرفته می شود خروج بعضی از اسیدهای آلی در محیط های فلزات سنگین هدف داراست و تنها عناصر مضر را در محیط رشد کلاته می‌شوند (۸ ،۹ و۱۷).

با اضافه شدن EDTA به محیط کشت، با توجه به ویژگی های EDTA و نفوذ پذیری غشاء سلول نسبت به آن، جذب Al^{3+} افزایش پیدا کرده است. در حالیکه در تیمار شاهد مقدار زیادی ازAl^{3+}در اپوپلاست و سیتوپلاسم برگهای پیر نگه داشته شده. بنابراین جذب Al^{3+}اگر همرا ه با EDTA باشد به همان‌صورت هم منتقل می شود که این حالت در دو رقم یکسان است. مقداری زیادی ازAl^{3+}در رقم اوس در اپوپلاست باقی ماند که شاید دلیلی برای مقاومت این رقم در غلظت بالای Al^{3+} وشرایط شور باشد (۲۷).

با تو جه به نتایج بدست آمده از تحقیقات (۵، ۲۶و۲۷) یون‌های فلزات سمی مانند Pb^{+} وAl^{3+}با گروه‌های سولفیدریل در غشاء سلولی پیوند ی برقرار می‌کنند و پروتئین‌های غشاء را اکسیده می‌کنند. بنابراین با اکسیده شدن پروتئین‌های غشای پلاسمایی از واکنش‌های ردوکتازها جلوگیری می‌شود. تحت شرایط غلظت بالای Al^{3+}مقدار زیادی از گروه‌های سولفیدریل در غشای پلاسمایی غیر فعال شده، بنابراین نفوذ پذیری غشاء سلول های ریشه نسبت به عناصر دیگر تغییر می کند. از طرفی با کاهش نفوذ پذیری غشای پلاسمایی سلول‌های ریشه مقدار زیادی ترکیبات آلی و معدنی از ریشه به خارج انتقال پیدا می کند. بنابراین در صورتی‌که غشاء آسیب ببیند انتظار می‌رود فرم جذب بعضی از فلزات دچار مشکل شده و جذ ب عناصر از جمله Si^{2+} وAl^{3+} مانند آهن به صورت کلات انجام شود .به نظر می‌رسد جذب بیشرSi^{2+} وAl^{3+} به همراه EDTA احتمالا از طریق سیستم انتقالی کلاته کننده‌های آهن و روی صورت می‌گیرد. که با افزایش کل فیتوکلات در دو رقم برنج همراه است، از طرفی این فرم جذب Al^{3+} به همراه EDTA میزان آسیب وارده به غشاء سلول نیز کمترشده که این تفاوت درمقایسه ضریب مقاومت تیمارAl^{3+} به تنهایی و تیمار Al^{3+} به همراه EDTA نشان داده شد (۴).

اثر کلاته کننده ها روی غلظت کل فیتوکلات در ریشه و برگ‌ها: با مقایسه مقادیر در جدول های ۶ و۷ نتایج نشان داد، با اضافه شدن Al^{3+} و Si^{2+} به محیط کشت مقدارکل فیتوکلات در ریشه و برگ‌افزایش می‌یابد ($P\leq$۰/۰۵ جدول ۵). این نتایج با گزارش تحقیقات (۲،۳،۷ و ۸) منطبق است.

در غلظت$۳۰mgl^{-1}$ مقدار فیتوکلات دربرگها و ریشه رقم اوس و شیرودی به ترتیب ۹۰ ٪ و ۱۰۰٪ افزایش نشان داد. با اعمال کلاته کننده EDTA، تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $۱۵mgl^{-1}$ در برگهای رقم اوس مقدار فیتوکلات برگ به ترتیب ۲۴٪، ۵۷٪ و ۴۲٪ کاهش یافت. در صورتی که در رقم شیرودی به ترتیب ۲۷٪، ۴۴٪ و۶۲٪کاهش نشان داد. با اعمال تیمارهای کلاته کننده EDTA، تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $۳۰mgl^{-1}$ در رقم اوس به ترتیب ۳۳٪ ، ۴۶٪ و ۷۸٪ فیتوکلات برگ نسبت به شاهد کاهش داد. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۳۷٪ ، ۴۷٪ و ۸۳٪ کاهش نشان داد که در دو رقم معنی‌دار است ($P\leq$۰/۰۵ جدولهای ۶ و ۷).

با اعمال کلاته کننده EDTA، تانن و اسید سیتریک در تیمار Si^{2+} با غلظت $30 mgl^{-1}$ در رقم اوس به ترتیب۱۲٪، ۲۲٪ و ۲۹٪ فیتوکلات نسبت به شاهد کاهش یافت. این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب۱۴٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ کاهش یافت که معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) جدول ۵) است. مقدار افزایش فیتوکلات برگها و ریشه در تیمارSi^{2+} با غلظت$60 mgl^{-1}$در رقم اوس و شیرودی به ترتیب ۶۳٪ و ۷۲٪ است. با اضافه شدن شدن EDTA، تانن و اسید سیتریک به محیط کشت مقدار فیتوکلات در تیمار mgl^{-1} ۶۰به ترتیب در رقم اوس ۱۶٪ ، ۳۲٪ و ۳۵٪ و در رقم شیرودی به ترتیب ۱۷٪ ، ۳۰٪ و ۳۷٪ در مقایسه با شاهدکاهش نشان داد. بنابراینAl^{3+}مقدار فیتوکلات را خیلی بیشتر از Si^{2+} افزایش داده است و عوامل کلاته کننده مقدار فیتوکلات را در ریشه و برگها کاهش داده اند. با مقایسه کلاته کننده ها : اسید سیتریک> تانن>EDTA مقدار فیتوکلات را کاهش داده است. دو عنصر مفید و سمی Si^{2+}و Al^{3+} مقدار فیتو کلات را افزایش داده اند، شاید افزایش بار مثبت در داخل گیاه سبب افزایش فیتوکلات شده است.

همچنین نتایج نشان داد اثر کلاته ها روی تغییرات فیتو کلات ریشه و برگ های دو رقم برنج متفاوت است. به نظر می رسد تغییرات مقدار فیتوکلات مطابق ویژگی های شیمیایی سه کلاته کننده و تاثیر آنها روی مقدار Si^{2+}وAl^{3+} در اپوپلاسم و سیتوپلاسم است. تانن ترکیب پلی فنلی است دارای گروههای عاملی زیادی است و اساسا نمی تواند از غشاء سلولی عبورکند و وارد سیتوپلاسم شود. بنابراین با جذب Si^{2+}وAl^{3+}در سطح خود در خارج از اپوپلاست و سیتوپلاسم از ورود Si^{2+}وAl^{3+}جلوگیری کرده است. در صورتیکه EDTAبه آسانی از غشاء عبور کرده، به همین دلیل سبب افزایش غلظت Al^{3+}بخصوص در سیتوپلاسم شده بود. البته افزایش غلظتAl^{3+} در اپوپلاست باEDTA میزان تولید فیتوکلات را کاهش داد. نتایج نشان داد کمپلکس Al^{3+} باEDTA مقدار فیتوکلات را در مقایسه با اسید سیتریک Al^{3+} و تانن Al^{3+}کمتر کاهش داده است. با مقایسه پتانسیل اکسید و ردوکس و Al^{3+} وSi^{2+} ، پتانسیل احیاییSi^{2+}کمتر از Al^{3+} است. شاید به همین دلیل مقدار تولید فیتوکلات به وسیله Al^{3+} بیشتر ازSi^{2+}است. نتایج تحقیقات دی وس و همکاران (۵) نشان داد آنزیم های که در سنتز فیتوکلات دخالت دارند ابتدا ژنوم آنها باید توسط فلزات فعال شوند. تحقیقات نشان داده بسیاری از آنزیم ها که در سنتز فیتوکلات دخالت دارند توسطAl^{3+} فعال می شوند. از طرفی رشته سنتزی فیتوکلات با دخالت فعالیت آنزیمی های گلوتاتیون ساخته می‌شود و دارای نواحی است که با Al^{3+} یا با فلزات پیوند می‌شود. شاید از این طریق با سنتز فیتو کلات اثر سمیتAl^{3+} کاسته می‌شود. در واقع شرط اصلی کاهش مسمومیت باAl^{3+} اول فعالیت ژنوم، سپس سنتز رشته فیتوکلات که با Al^{3+} پیوند تشکیل دهد. پیوند بین Si^{2+} با فیتوکلات گزارش نشده. در نتایج بدست آمده از تحقیقات اخیر توسط مالمیر (۲۰۱۲) روی سورگوم ملاحظه شد که Al^{3+}مقداز فیتوکلات را در ریشه و برگها افزایش می دهد. همچنین قدرت کلاته کردن (تانن) پلی فنل پیوند با Cd^{2+} و Mn^{2+}در مقایسه با پلی فنل پیوند با Al^{3+} در ریشه و برگ های ارقام سورگوم بیشتر است (۱۶، ۱۷ و۱۸).

نتایج نشان داد غلظت فیتوکلات در ریشه‌ها کمتر از برگ‌ها است. بنابراین تغییر غلظت فیتوکلات برای دو فلز در ریشه و برگها یک روند یکسانی نبود. در واقع متناسب با افزایش غلظت Al^{3+}و Si^{2+}در ریشه مقدار غلظت فیتوکلات افزایش پیدا نکرد. با اینکه غلظت کل Al^{3+} درتیمار اسید سیتریک در ریشه‌هاکمتر از دو کلاته کننده دیگر است. این انتظار وجود دارد که متناسب با افزایش غلظت Al^{3+} مقدار فیتوکلات هم در تیمار اسید سیتریک باید کمتر از سایر کلاته کننده باشد، که چنین است.شاید با اضافه شدن کلاته کنندها فرم جذب Al^{3+} و Si^{2+} تغییر کرده وSi^{2+}به مقدار بیشتری جذب شده‌است. با توجه به مطالب فوق اثرات سمیAl^{3+} بسیار بیشتر از Si^{2+} است. بنابر این می‌توان

عنوان نمود که Al^{3+}بیشتر ازSi^{2+}چه در داخل گیاه و یا خارج از گیاه با ترکیباتی مشابه تانن، اسید سیتریک و EDTA کمپلکس تشکیل می‌دهد. از آنجائیکه در رقم شیرودی مقدار پلی فنل (تانن) کمتر از رقم اوس است. شاید افزایش بیشتر فیتوکلات در ریشه و برگهای رقم شیرودی در حضور Al^{3+} به دلیل کمبود مقدار پلی فنل (تانن) به عنوان آنتی اکسیدان است که با افزایش فیتوکلات مکانیزمی جهت کاهش سمیت Al^{3+} بکار گرفته است (۱۶، ۱۷،۱۸ و۱۹).

اثر کلاته کننده ها روی غلظت کل گلوتاتیون درریشه وبرگ‌ها: در تیمار Al^{3+} با غلظت $30 mgl^{-1}$ مقدار کل گلوتاتیون برگ و ریشه در رقم اوس و شیرودی به ترتیب در مقایسه با شاهد به طور متوسط۶۸٪ و ۸۰٪ افزایش نشان داد (جدول های ۸ و ۹). این نتایج گزارش تحقیقات (۷،۸،۲۶ و۲۷) تایید می کند. با اعمال عوامل کلاته کننده تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $15 mgl^{-1}$به طور متوسط در برگ های رقم اوس مقدار گلوتاتیون برگ۲۲٪ و ۱۹٪ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. در صورتی که در رقم شیرودی به ترتیب ۲۴٪ و۲۵٪ کاهش نشان داد. با اعمال کلاته کننده ها، تانن و اسید سیتریک در تیمار Al^{3+} با غلظت $30 mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۲۴٪ و ۲۹٪ گلوتاتیون برگ کاهش نشان داد و این مقادیر برای رقم شیرودی به ترتیب ۲۷٪ و ۲۷٪ کاهش یافت، که در دو رقم معنی‌دار است ($P\leq$۰/۰۵، جدول۵). اثر غلظت های کمSi^{2+}روی گلوتاتیون برگ معنی دار نیست. در صورتیکه اثر Si^{2+} با غلظت ۳۰و $60 mgl^{-1}$ روی گلوتاتیون ریشه معنی دار است. اعمال کلاته کننده تانن و اسید سیتریک در تیمار Si^{2+} با غلظت $60 mgl^{-1}$ به طور متوسط در رقم اوس به ترتیب ۹٪ و ۱۲٪ و در رقم شیرودی به ترتیب ۱۰٪ و ۱۷٪ مقدار گلوتاتیون ریشه را کاهش داد که در دو رقم معنی‌دار است ($P\leq$۰/۰۵، جدول ۹).

نتایج نشان داد EDTA در مقایسه با تانن و اسید سیتریک متفاوت عمل کرده است. با اضافه شدن EDTA به محیط کشت مقدار گلوتاتیون در تیمار Al^{3+} با غلظت $15 mgl^{-1}$و ۳۰ به ترتیب در رقم اوس حدود۲۵٪ و ۳۸٪ و در رقم شیرودی به ترتیب ۳۰٪ و ۴۲٪ افزایش نشان داد. در صورتیکه با اضافه شدن شدن EDTA به محیط کشت مقدار گلوتاتیون در تیمار Si^{2+} با غلظت $30 mgl^{-1}$ و ۶۰ به ترتیب در رقم اوس حدود۱۰٪ و ۱۶٪ و در رقم شیرودی به ترتیب ۹٪ و ۱۸٪ در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد. بنابراین تیمارAl^{3+} و EDTAمقدار گلوتاتیون را خیلی بیشتر از Si^{2+} وEDTA افزایش داده است. در صورتی که اسید سیتریک و تانن مقدار گلوتاتیون را در ریشه و برگ ها کاهش داده بود. به نظر می رسد EDTA همراه با Al^{3+}شرایط را برای تولید گلوتاتیون بیشترکه یک آنتی اکسیدان هست ودر شرایط تنش تولید می شود فراهم کرده است. EDTAغلظت دو فلز Al^{3+} و Si^{2+}را در ریشه و برگها افزایش داده است. EDTA کمپلکسهای متفاوتی از Al^{3+} و Si^{2+} ایجاد می کند و کمپلکسAl^{3+} پایدار تر است(۴،۱۰،۱۲). احتمالا کمپلکس Al^{3+} و EDTA تولید گلوتاتیون را بیشتر تحریک کرده است. بنابراین EDTAباAl^{3+} فرم جذب و انتقالی Al^{3+} را تغییر می‌دهد به طوری‌که این فرم به آسانی از غشاهای سلولی عبور می‌کند. بنابراین با کلاته شدن Al^{3+}توسط EDTA فرم Al^{3+} تغییر کرده و در ضمن این کمپلکس کمتر به داخل واکوئل منتقل شده است. در صورتی‌که EDTA مقدار جذب Si^{2+}را افزایش داده که با سمیت بیشتر همراه نیست (۴، ۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۱۴).

با افزایش غلظت Al^{3+} در داخل گیاه مکانیزم‌های مقاومت شروع می‌شود. یکی از مکانیزم‌های مقاومت افزایش مقدار گوتاتیون در ریشه و برگ‌است. مقدار گلوتاتیون در برگ ها بیشتر از ریشه است. نتایج نشان داد غلظت Al^{3+}در اپوپلاست بیشتر از سیمپلاست است و متناسب با افزایش غلظت Al^{3+}در سیمپلاست مقدار گلوتاتیون افزایس پیدا

کرد. از طرفی تغییر مقدارگلوتاتیون در برنج برای دو فلز در ریشه یک روند یکسانی نیست. با مقایسه میزان کل گلوتاتیون درریشه وبرگ‌های دو رقم برنج ملاحظه شد مقدار آن در شیرودی بیشترازرقم اوس است. با مقایسه اثر کلاته کننده خارجی مقدارکل گلوتاتیون درریشه وبرگ‌ها در تیماراسید سیتریک کمتر از سایر کلاته کننده‌ها بود. با اینکه غلظت Al^{3+} درتیمار اسید سیتریک در اپوپلاست کمتر از شاهد است و این انتظار وجود دارد که متناسب با افزایش غلظت Al^{3+} مقدار گلوتاتیون هم در تیمار اسید سیتریک باید کمتر ازسایر کلاته کننده ها باشد که چنین است. بنابراین اسید سیتریک به عنوان کلاته کننده خارجی در کاهش سمیتAl^{3+} اختصاصی عمل کرده است. از طرفی در ریشه می‌توان اثرات سمیت Al^{3+}را با اندازه‌گیری مقدارغلظت Al^{3+} در سیتوپلاسم توجیه کرد که با تولید گلوتاتیون بیشترهمراه است. روند تولید فیتوکلات در برگ ها متناسب با تغییرات غلظت Al^{3+}هم در سیتوپلاسم و هم اپوپلاست است و رابطه یکسانی بین تغییرات غلظت فیتوکلات و گلوتاتیون در برگها با تغییرات غلظت Al^{3+}در برگ ها وجود دارد. به نظر می‌رسد بخشی از Al^{3+} که به طور مستقیم در ارتباط با قسمت‌های زنده سلول است روی افزایش مقدار فیتوکلات و گلوتاتیون موثر است. رابطه یکسانی بین تغییرات غلظت فیتوکلات و گلوتاتیون در ریشه و برگها متناسب با تغییر غلظت Si^{2+}وجود ندارد.

جمع بندی نتایج

به نظر می‌رسد هر سه کلاته کننده فرمهای کلاته متفاوتی ایجاد می کنند. تانن کلاتور ثابت، EDTA کلاتور متحرک و اسید سیتریک حالت حدوواسط را ایجاد کرده بود. رقم اوس در مقایسه با رقم شیرودی مقاومت بیشتری نسبت به Al^{3+} دارد. در ریشه می‌توان اثرات سمیت Al^{3+}را با اندازه گیری مقدارغلظت Al^{3+} در سیتوپلاسم توجیه کرد که با تولید گلوتاتیون همراه بود، در صورتی که روند تولید فیتوکلات در برگها متناسب با تغییرات غلظت Al^{3+}در سیتوپلاسم و اپوپلاست بود. اسید سیتریک بیشتر از سایر کلات کننده‌ها سمیت Al^{3+} را کاهش داد. به نظر می رسد تانن با کلاته کردن Al^{3+} خارج از ریشه، اسید سیتریک در فضای اپوپلاست Al^{3+} را کلاته کرده بود. کمپلکسEDTA با Al^{3+} در داخل گیاه و داخل سیتوپلاسم (واکوئل) و یا به صورت کلاته با Al^{3+} اثر سمیAl^{3+} را کاهش داده بود. بین تغییرات غلظتAl^{3+} و میزان تولید گلوتاتیون را بطه وجود دارد در صورتی که این رابطه با Si^{2+} برقرارنیست. تانن مقدار زیادی از Al^{3+} را کلاته کرده و به صورت غیر متحرک در آورده، به همین دلیل غلظت Al^{3+} را در داخل گیاه کاهش داده بود. اضافه شدن کلاتورهای خارجی در غلظت بالای Si^{2+} موثر نیست. لذا بین تغییر مقدار فیتوکلات و گلوتاتیون در ریشه و برگ‌ها در تیمار Si^{2+} رابطه یکسانی وجود ندارد.

منابع

1- Blum, A., Ebercon, A. 1981. Cell membrane stability as a measure ofdrought and heat tolerance in wheat. Crop Sci 21: 43-47.

2-Cobbett, C. S. 2000. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. Current Opin. in Plant Biol. 3: 211–216.

3-Chen, J. J., Zhou, J. M. and Goldsbrough, P. B. 1997. Characterization of phytochelatin synthase from tomato. Physiol. Plantarum. 101: 165–172.

4- Epestin, E. 1999. Silicon. Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol. 50: 641–664.

5-De Vos, Chr, V. Onk, MJ, Vooijs, R. and Schat, H. 1992. Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*. Plant Physiol. 98: 853–858.

6-Fawe, A., Abou-Zaid, M., Menzies, J.G., Bélanger, R.R. 1998. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. Phytopathology 88: 396–401.

7-Gaume, A., Ma, Chler, F. and Frossard, E. 2001. Aluminum resistance in two cultivars of *Zea mays* L.: root exudation of organic acids and influence of phosphorus nutrition. Plant and Soil 234: 73–81.

8-Grill, E. L., Winnacker, L and Zenk, M. H. 1987. Phytochelatins, a class heavy-metal-binding peptides from plants are functionally analogous to metallothioneins. P. of the Natl. Acad.of Sci. 84: 439–443.

9-Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxicationand tolerance. J. of Exp. Bot. 53: 1-11.

10-Lu-Ning, Hou-Tian. 1989. Effects of aluminum on physiological functions of rice seedlings. Acta Bot. 31: 847-853.

11-Leopold, I. Gunther, D. Schmidt, J. Neumann, D. 1999. Phytochelatins and heavy metal tolerance. Phytochemistry 50:1323–1328.

12-Ma, J.F. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. Soil Sci. and Plant Nut. 50: 11–18.

13-Ma, J.F. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends Plant Sci. 11: 392–397.

14-Ma JF. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. Soil Sci. and Plant Nut. 50:11–18.

15-Ma, J. F. and Hiradate, S. 2000. Form of Aluminium for uptake and translocation in buckwheat. Planta. 211: 355–360.

16-Malmir, H. A. 2012. The relation between Phenylalanine ammonia lyase, glutathion-s-transferase activities and the concentrations of total tannins, phytochelatins, glutathion and peroxidation of lipidsin two Cultivars of Sorghum *(Sorghum bicolor* (L.) Moench) Exposed to Aluminum. Agric research 1(3): 240-250.

17-Malmir, H. A. 2011. Comparison of Antioxidant enzyme activities in Leaves, stem and roots of sorghum (Sorghum bicolor L.) exposed to chromium (VI). Afrcan J. of Plant Sci. 5(5): 436 -444.

18-Malmir, H. A. Mostajeran, A. Almodares, A. Asghari, A. and Afkhami A. 2009. The effects of Aluminum on Fiber and protein bound condensed Tannin, polyphenols and some growth index in two Sorghum cultivars. Int. J. of Bot. 5(1): 58-66.

19-Mila, I. and Scalbert, A. 1996. Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal conditions and origin of precipitation. J. of Agri. and. Food Che. 44:599-606.

20-Peter, A. and Stoutjesdi, j. K. 2001. Possible involvement of condensed tannins in Aluminum tolerance of Lotus Pendulatus. Australian J. of Plant physiol. 28: 1063-1074.

21-Rashid, I. N. Daraghmeh, M. Alremawi, S.A. Leharne, B.Z. Chowdhry, A. Badwan, D. 2009. Characterization of chitin-metal silicates as binding superdisintegrants. J of Pharm.Sci. 98: 4887–4901.

22-Rauser, W. E. 1999. Structure and function of metal chelators produced by plants; the case for organic acids, amino acids, phytin and metallothioneins. Cell Biochem. and Biophys. 6: 3119-3148.

23-Ryan, P. R., Delhaize, E. and Jones, D. L. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. Annual Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol. 52: 527–560.

24-Schaider, L. A., Parker, D. R. and Sedlak, D. L. 2006. Uptake of EDTA-complexed Pb, Cd and Fe by solution and sand-cultured Brassica juncea. Plant and Soil Sci. 286: 377–391.

25-Schat H. and . Kalff, M. M. A. 1994. Are phytochelatins involved in differential metal tolerance or do they merely reflect metal-imposed strain. Plant Physiol. 99: 1475–1480.

26-Sema, B. and Seref, G. 2005. Selective determination of aluminum bound with tannin in tea infusion. The Japan Society for Analytical chemistry. Anal. Sci. 21:1005-1010.

27-Yong, X. U., Naokiyamaji, Aokiyamaji, Renfangshen, and Jianfengma, (2009) Sorghum Roots are In efficient inUpt ake of EDTA-chelated Lead. Annals of Botany 99, 869–875.

The effects of different chelators (tannin, acid citric and EDTA) on Si2+, Al3+ compartment in apoplastic and cymplastic, phytochelate and total glutathione in rice cultivars (*Oriza sativa* L.)

Malmir H.A.

Biology Dept., Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

There are many reports in recent year's shows that uptake of micro elements in plants have done with low molecular weight organic molecules. The effect of external chelator on absorption Si2+, Al3+, total phytochelate, glutathione and the fleshy leaves of two rice cultivars were evaluated. The results showed that the absorption coefficient of resistance for Si2+, Al3+ in roots and leaves was significant (P<0/05). Three different chelated has effect on absorption and transmission of a Si2+and Al3+. tannin outside the root of Si2+less than Al3+chelated, the citric acid in the apoplast root Si2+less than Al3+chelated and EDTA absorption of Al3+ is greater than Si2+ increases that for every three chelated of was significant (P<0/05). The increased of Al3+with increasing phytochelate and increase glutathione in roots and leaves along, but the increase of Si2+in the roots and leaves was with the low rise phytochelate and reduced glutathione. the logical relationship between the concentration of phytochelate and glutathione in leaves proportional to the concentration of Al3+ in the leaves in the cytoplasm and apoplast. As the same as the compounds glutathione can be used as chelated within the cytoplasm or chelated precursor to the Al3+ apoplast space to be secreted. The investigation will be concluded , that the cultivar Aus was more resistant to Al3+. The resistance to Al3+ was the cultivar Aus can be compartment Al3+ concentration in apoplast and cymplastic and chelated of Al3+ in the lower leaves and roots.

Key words: chelators;" Rice;" Si2+ and Al3+ uptake;" apoplastic and cymplastic, Glutathione