دانشگاه تربیت معلم

دانشکده ی علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی علوم گیاهی

گرایش فیزیولوژی گیاهی

بررسی اثر برهمکنش سولفات منگنز واکسین بر رشد و فتوسنتز در گیاهآفتابگردان *Helianthus annuus* L.

استاد راهنما :

جناب آقای دکتر رمضانعلی خاوری نژاد

استادمشاور:

خانم دکتر فرزانه نجفی

گردآورنده:

سونیا ترابی

دی ۱۳۸۹

بسم الله الرحمن الرحيم

چکیده

اثر غلظتهای مختلف اکسین بر رشد و فتوسنتز گیاه آفتابگردان تحت تنش سولفات منگنز

بردباری گیاه آفتابگردان به غلظتهای مختلف سولفات منگنز در همراهی با اکسین بررسی شد. پس از جوانه زنی بذرها در ظروف پتری،گیاهکهای ۵روزه به گلدانهایی با بستر شنی مرطوب‌شده با محلول غذایی هوگلند در شرایط کنترل‌شده (۱۶ ساعت روشنایی و۸ ساعت تاریکی، دمای $25C^{\circ}$ در روز و $18C^{\circ}$ در شب) انتقال یافتند. گیاهان ۲۰ روزه تحت تیمارهای مختلف محلول های سولفات منگنز با غلظتهای۰،۳۵۰،۲۵۰ و۱۵۰۰میکرومولارواکسین با غلظتهای ۰،۵۰ و ۱۰۰میکرومولار قرارگرفتندو پس از ۳۰ روزجهت آنالیزهای بیوشیمیاییو فیزیولوژیکی برداشت شدند.نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سولفات منگنزو اکسین به محیط، میزان کلروفیل و کاروتنوئید کاهش یافته است. کاهش میزان فتوسنتز در غلظتهای بالای سولفات منگنز و اکسین نیز مشاهده شد.میزان تنفس ونقطهٔ جبران CO_2 در غلظتهای بالای سولفات منگنز وIAA افزایش یافت.پارامترهای رشد در محیط محتوی سولفات منگنز کاهش، ولی با افزایش IAA تا حدودی این میزان تعدیلیافت. با افزایش غلظت سولفات منگنز میزان پروتئبن کل کاهش یافت باولی با افزودنIAA به محیط، محتوای پروتئین کل افزایشیافت. در محیط محتوی سولفات منگنز وIAA میزان قندمحلول احیاکننده کاهش، ولی قندهای نامحلول افزایش یافتند. با افزایش غلظت سولفات منگنزRWC محتوای نسبی آب برگ کاهش و با افزودن اکسین به محیطRWC افزایش یافت. در محیط محتوی سولفات منگنز وIAA نیز فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نیز افزایش یافت و با افزایش غلظت سولفات منگنزو اکسین به محیط، میزان پرولین، آنتوسیانین ، مالون دی آلدهیدو فنل افزایش یافتند.

فهرست:

فصل اول (مقدمه)

۱- ۱) خصوصیات گیاهی آفتابگردان ۱

۱-۲) مقدمه ای بر آلودگی فلزات سنگین ۳

۱- ۳) عملکرد متابولیکی منگنز ۳

۱- ۴) علائم ظاهری سمیت منگنز..... ۵

۱-۵) آنالیز لکه های قهوه ای برگی..... ۷

۱-۶)تأ ثیر منگنز بر کلروفیل وسیستم فتوسنتزی ۸

۱- ۷) تأثیر متقابل منگنز وآهن در گیاه..... ۱۰

۱-۸) مکانیسم سم زدایی فلزات سنگین..... ۱۲

۱-۹) ناقلین منگنز در سطح سلولی..... ۱۷

۱-۱۰) تولید **Ros** (گونه های فعال اکسیژنی) و عملکرد آنزیم های آنتی اکسیدان تحت تنش فلزات سنگین..... ۲۱

۱-۱۱)بیش انباشتی (**hyperaccumulation**)وگیاهان بیش انباشت کننده(**hyperaccumulator**)..... ۲۶

۱ – ۱۲)پاکسازی زیستی..... ۲۷

۱ – ۱۳) اکسین..... ۲۸

۱ -۱۴) اکسین و مشتقات آن..... ۲۸

۱-۵۱) عملکرد **ABP1** به عنوان یک گیرنده اکسین..... ۲۹

۱-۱۶) اکسین و مکانیسم رشد طولی سلول ۲۹

۱-۱۷) پاسخ روزنه ها به اکسین ۳۱

۱-۱۸) مسیر هدایتی اکسیندر بیان ژن ها و تنظیم SCF^{TIR1} ۳۲

۱- ۱۹) اثرات اکسین روی ریشه های جانبی و نابجا و تشکیل آن در گیاه ۳۳

۱- ۲۰) انتقال قطبی اکسین..... ۳۴

۱-۲۱)مکانیسم ساخت و تجزیه IAA..... ۳۶

۱- ۲۲) اثر منگنز بر میزان اکسین در گیاه ۳۷

۱-۲۳) اکسین و تأثیر آن روی میزان کلروفیل و برخی آنزیم ها در طول دوران پیری ۳۸

فصل دوم (مواد و روش ها)

۲-۱- دستگاه‌های مورد نیاز..... ۳۹

۲-۲- وسایل و مواد مورد نیاز ۳۹

۲-۳- روش کاشت و نگهداری گیاه ۴۱

۲-۴- مراقبت های بعد از کاشت ۴۳

۲-۵- آنالیز رشد ۴۷

۲-۶- تعیین محتوای نسبی آب برگ ها..... ۴۹

۲-۷- سنجش تبادلات گازی ۵۰

۲-۸- سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی..... ۵۲

۲-۹- سنجش پرولین ۵۴

۲-۱۰- سنجش پروتئین کل ۵۶

۲-۱۱- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۵۶
۲-۱۲- سنجش فعالیت آنزیم‌گایاکول پراکسیداز..... ۵۶
۲-۱۳- سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز..... ۵۶
۲-۱۴- سنجش میزان مالون دی آلدهید..... ۵۷
۲-۱۵- سنجش کربوهیدرات‌ها ۵۷
۲-۱۵-۱- سنجش قندهای محلول ۵۸
۲-۱۵-۲- سنجش قندهای نامحلول..... ۵۹
۲-۱۶- سنجش میزان آنتوسیانین‌ها و فنل‌ها..... ۶۱
۲-۱۷- محاسبات آماری..... ۶۲

فصل ۳ (نتایج)

۳-۱) نتایج مربوط به آنالیز رشد درگیاه ۶۳
۳-۲) نتایج مربوط به آنالیز گازی..... ۷۴
۳-۲-۱) نتایج مربوط به میزان فتوسنتز ۷۸
۳-۳) نتایج مربوط به رنگیزه های فتوسنتزی درگیاه ۸۱
۳-۴) نتایج مربوط به قندهای محلول و نامحلول درگیاه..... ۸۹
۳-۵) نتایج مربوط به میزان پروتئین کل درگیاه ۹۳
۳-۶) نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه ۹۶
۳-۷) نتایج مربوط به میزان مالون دی آلدهید در گیاه..... ۹۷
۳-۸) نتایج مربوط به میزان آنتوسانین در گیاه..... ۱۰۴
۳-۹)نتایج مربوط به میزان فنل در گیاه..... ۱۰۴

۳-۱۰) نتایج مربوط به میزان پرولین درگیاه.....۱۰۸

۳-۱۱) نتایج مربوط به میزان محتوای نسبی آب برگ (RWC) درگیاه.....۱۰۸

فصل ۴ (بحث و تفسیر)

۴-۱) نتایج حاصل از بررسی اثر بر همکنش سولفات منگنز واکسین بر آنالیز رشد گیاه..... ۱۱۲

۴-۲) نتایج حاصل از بررسی اثر برهمکنش سولفات منگنز واکسین بر تبادلات گازی.....۱۱۳

۴-۳) نتایج حاصل از بررسی اثر برهمکنش سولفات منگنز واکسین بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه آفتابگردان..... ۱۱۴

۴-۴) نتایج حاصل از بررسی اثر بر همکنش سولفات منگنز و اکسین بر محتوای قند محلول و نامحلول در گیاه آفتابگردان ۱۱۶

۴-۵)نتایج حاصل از اثر برهمکنشی سولفات منگنز و اکسین بر میزان پروتئین کل درگیاه آفتابگردان..... ۱۱۸

۴-۶) نتایج حاصل از بررسی اثر برهمگنشی سولفات منگنز واکسین بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان درگیاه آفتابگردان ۱۱۹

۴-۷) نتایج حاصل از بررسی اثر برهمکنش سولفات منگنز واکسین بر میزان فنل درگیاه آفتابگردان.....۱۲۱

۴-۸) نتایج حاصل از بررسی اثر بر همکنش سولفات منگنز واکسین بر میزان آنتوسیانین درگیاه آفتابگردان.....۱۲۲

۴-۹) نتایج حاصل از بررسی اثر بر همکنشی سولفات منگنز و اکسین بر میزان مالون دی آلدهید در گیاه آفتابگران..... ۱۲۳

۴-۱۰) نتایج حاصل از بررسی اثر برهمکنشی سولفات منگنز واکسین بر میزان پرولین در گیاه آفتابگردان.....۱۲۴

۴-۱۱) نتایج حاصل از بررسی اثر برهمکنشی سولفات منگنز واکسین بر میزان RWC (محتوای نسبی آب برگ) درگیاه آفتابگردان..... ۱۲۵

منابع ۱۲۷

فصل اول

(مقدمه)

۱– ۱) خصوصیات گیاه آفتابگردان :

آفتابگردان با نام علمی *Helianthus annuus* L. گیاهی است یکساله از خانواده Asteraceae و شامل ۷۶ گونه می باشدو بصورت بوته ای استوار رشد می کند. طول دوره رشد آفتابگردان بسته به رقم و کلیه عوامل محیطی از ۹۰ تا ۱۵۰ روز می باشد. آفتابگردان ریشه مستقیم و توسعه یافته ای دارد که پتانسیل نفوذ آن در خاک به سه متر می رسد . پهنک برگهایی که در معرض نور است همراه با خورشید تغییر جهت داده و همواره به حالت تقریباً عمود بر اشعه آفتاب قرار می گیرد . پهنک برگ هنگام صبح بسوی شرق،هنگام غروب بطرف غرب و ظهر رو به بالا می باشد. گل آذین آفتابگردان مطبق یا کپه ای است. لقاح به دلیل اینکه پرچمها زودتر بلوغ می یابد غالباً از نوع دگرگشنی است.میوه آفتابگردان نوعی فندقه است که در اینجا با دانه مترادف گرفته می شود.رنگ دانه از سفید تا سیاه با خاکستری خط دار و بسته به رقم تغییر می کند. هر چه درصد وزنی پوسته کمتر باشد درصد وزنی روغن بیشتر خواهد بود (Snow, 2006andReagon).

سازگاری: آفتابگردان از نظر عکس العمل نسبت به طول روز بی تفاوت بشمار می رود ولی به نور فراوان نیاز دارد . آفتابگردان ریشه توسعه یافته ای دارد که گیاه را به خشکی مقاوم می سازد ، مشروط بر آنکه خاک عمیق بوده و تراکم و ساختمان خاک محدود کننده رشد ریشه نباشد. آفتابگردان به شوری خاک نسبتاً مقاوم است و در خاک خنثی رشد خوبی دارد (Robinson and Smith, 1979) .

تناوب زراعی:موقعیت آفتابگردان در تناوب زراعی مشابه ذرت است و معمولاً بعد از بقولات علوفه ای بعنوان اولین یا دومین محصول وجینی کاشته می شود، در صورت وجود و گسترش بیماریهای ریشه ای نبایستی با گیاهانی مانند نخود، چغندر قند و سیب زمینی که بیماریهای ریشه ای مشابه دارد در تناوب قرار گیرد . مثالهایی از تناوب آن در شرایط آبیاری بشرح زیر است. علوفه چند ساله ـ پنبه ـ آفتابگردان ـ گندم ـ جو ـ آیش ـ شبدر ـ آفتابگردان ـ گندم ـ جو.

کود شیمیایی: تولید هر تن دانه آفتابگردان موجب خروج ٤٠ تا ٦٠ کیلو ازت ، ١٥ تا ٣٣ کیلو اکسید فسفر(P_2O_5و ٧٥ تا ١٢٠ کیلو اکسید پتاسیم (K_2O) از خاک می گردد. معمولاً ثلث تا نصب کود از ته را قبل از کاشت و بقیه را همراه با آخرین وجین مکانیزه به خاک اضافه و بلافاصله آبیاری می کنند.

دمای کاشت: حداقل حرارت لازم برای جوانه زدن بذر آفتابگردان حدود ٨ تا ١٠ درجه سانتیگراد در خاک است. معمولاً این حرارتها در خاک با رسیدن میانگین شبانه روزی حرارت هوا به ١٠ تا ١٥ درجه سانتیگراد تأمین می گردد (Prasad , . 2007)

برداشت:رسیدگی دانه ها بتدریج و از خارج آغاز و بسمت داخل ادامه می یابد . برداشت زود هنگام موجب افت عملکرد و تأخیر در برداشت موجب ریزش و افزایش خسارت توسط پرندگان ، بخصوص گنجشک می گردد. بطور کلی، برداشت هنگامی انجام می شود که پشت طبق به رنگ زرد مایل به قهوه ای درآمده و برگکهای کناری طبق قهوه ای شده باشد .

موارد استفاده: دو مصرف اصلی دانه آفتابگردان بصورت روغن گیری و مصرف آجیلی است.انواع آجیلی دانه درشت تری نسبت به انواع روغنی داشته و حدود ٢٥ تا ٢٠ در صد روغن دارد. میزان پروتئین دانه در آفتابگردان حدود ١٧ درصد است. ظاهراً هر چه دوران رسیدگی دانه با هوای خنک تری روبرو گردد بر درصد اکسید چرب اشباع لینولئیک در روغن اضافه می شود و برارزش غذایی آن افزوده می گردد. ساقه آفتابگردان فیبر زیادی داشته و در صنعت کاغذ سازی و تهیه سلولز مصرف دارد . ساقه از نظر ازت، کلسیم و پتاسیم نیز غنی استو اضافه کردن آن به خاک موجب افزایش ماده آلی و حاصلخیزی خاک میگردد

. (Killi and Altunbay, 2005, Robbelen et al., 1989)

١–٢) مقدمه ای بر آلودگی فلزات سنگین:

یکی از نتایج آلودگی فلزات سنگین در خاک،آب وهوا این بود که گیاهان در بعضی از مناطق دنیا آلوده شدند.اثر فلزات سنگین بر گیاهان در جلوگیری از رشد،خسارت ساختاری،کاهش در فعالیت های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و همچنین روی عملکرد گیاهان بررسی شده است.اثرات فلزات سنگین به عوامل زیادی از جمله به شرایط محیطی،pH خاک و گونه های گیاهی بستگی دارد. اما، مکانیسم های مقاومت نیز برای حفاظت گیاهان در برابر اثرات سمیت ناشی از فلزات سنگین مانند فلزات سنگین ترکیب شده بوسیله پروتئین و سم زدایی سریع آنزیمی و اسید های نوکلئیک مطالعه شده است.این مکانیسم ها برای حفاظت گیاهان در برابر آسیب های ناشی از فلزات سنگین می باشند.دو وجه برای تقابل بین گیاهان و فلزات سنگین وجود دارد که دریک وجه فلزات سنگین اثرات منفی روی گیاه نشان می دهند و در وجه دیگر گیاهان مکانیسم های مقاومتی خودشان را در برابر اثرات سمیت برای آلودگی سم زدایی فلزات سنگین دارند. اثر فلزات سنگین روی گیاهان همچنین بوسیله دیگر عناصر تحت تاثیر قرار می گیرد،تقابلی که شامل آنتاگونیسم و سینرژیسم می باشد.

۱– ۳) عملکرد متابولیکی منگنز:

منگنز یک عنصر کم مصرف ضروری در تمام مراحل نمو گیاهی است. منگنز به عنوان کوفاکتورآنزیم های متنوعی از قبیل Mn - سوپر اکسید دیسموتازو کاتالازو پیروات کربوکسیلازو فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز عمل می کند.

شرکت منگنز به ویژه در فتوسنتز اکسیژنی ضروری است. در واقع اکسیداسیون آب در فتوسیستم II اتفاق می افتد و الکترون ها را به زنجیره ی انتقال الکترونی باند شده در تیلاکوئید ها انتقال میدهد.

این عنصر آنزیم های بیوسنتز چربی ها را فعال می نماید ودر تشکیل ریبوفلاوین ها، اسید آسکوربیک و کاروتنوئیدها، متابولیسم کربو هیدرات ها، تولید اسید های آمینه وپروتئین هاشرکت می نماید و نقش ضروری در تنفس و متابولیسم نیتروژن ایفا می کند. این عنصر همچنین برای احیای نیترات ضروری است

. (Ducic and Polle, 2005, Horiguchi, 1987)

از آنجایی که با کمبود منگنز، متابولیسم سلولی نمی تواند به طور موثری تشکیل رادیکالهای اکسیژنی و رویدادهای مربوط به خسارات اکسیداتیو را کنترل نماید، این عنصر در جاروب کنندگی سوپر اکسیدها و پراکسید هیدروژنی شرکت دارند:

$$Mn(II) + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow\rightarrow Mn(III) + H_2O_2$$
$$Mn(III) + H_2O_2 \rightarrow\rightarrow Mn(II) + O_2 + 2H^+$$

سمیت منگنزمی تواند یکی از مهمترین فاکتور های محدود کننده رشد گیاه به ویژه در خاکهای اسیدی باشد. از سوی دیگر، غلظت بحرانی برای سمیت در محدوده ی وسیعی تغییر می کند و به گونه گیاه و ژنوتیپ و شرایط محیطی از جمله دما و شرایط تغذیه ای بستگی دارد.

طیف غلظت سمیت بحرانی از ۲۰۰ $mg\ kg^{-1}$ تا ۵۳۰۰ $mg\ kg^{-1}$ دروزن خشک درگیاهان گزارش شده است. منگنز در سم زدایی رادیکالهای آزاد اکسیژنی از طریق افزایش Mn-SOD(سوپراکسیددیسموتاز)عمل میکند. منگنزمنجر به اکسیداسیون آپوپلاستی و فنلیک میشودو مشاهده شده که پراکسیدازها در این عمل شرکت می کنند.

منگنز همچنین، پروتئین هایی مانند تئوماتین را در آپوپلاست افزایش میدهند. هنوز معلوم نشده که این پاسخ ها وابسته به فعالیت محافظتی برعلیه افزایش منگنز است و یا اینکه فعالیت دفاعی بر اثر القا منگنزو افزایش تولیدH_2O_2و صدمات آن ناشی می شود. همانطور که گفته شد منگنز یک عنصر غذایی کم مصرف ضروری برای گیاهان است. اما، افزایش مقدار این عنصر سنگین یک دامنه ی وسیعی از فعالیت های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند فتوسنتز، متابولیسم پروتئین ها و یکپارچگی غشا را در بردارد. اگرچه ، منگنز یک آلودگی رایج در خاک محسوب نمی شود و اغلب شرایطی مانند اسیدی شدن خاک و یا آتشفشانی و یا غوطه وری در آب می تواند منجر به کاهش منگنز و ایجاد منگنز سمی در سیستم های کشاورزی و طبیعی شود (Ducic and Polle, 2005, Horiguchi, 1987) .

۱– ۴) علائم ظاهری سمیت منگنز:

اثر افزایشی سمیت منگنز در گیاهان، به صورت نشانه های واضحی دیده می شود به طور مثال می توان به کلروز برگی، نکروز برگی، تغییر مورفولوژی برگی، بیرنگ شدن ریشه ها و کاهش محصول همراه اشاره کرد. نشانه های سمیت منگنز برای اولین بار دربرگ می تواند ظاهر شود و برای بسیاری از گونه ها مانند جو، نخود فرنگی، آفتابگردان و لوبیا اولین نشانه های منگنز، ایجاد نقاط قهوه ای تیره روی برگ های پیر است. کده بندی منگنز در دیواره های سلولی اپیدرم، کلانشیم، سلول های غلاف آوندی، واکوئل و همچنین در قسمت های فعال متابولیکی مانند سیتوزول، میتوکندری و کلروپلاست روی می دهد. به نظر می رسد اکسیداسیون منگنز به مقدار زیاد در ساقه های گیاه یک مکانیسم تحمل منگنز محسوب می شود

et al., 2004, Lebot et al., 1990, My, 2003) .(Demirevska)

در گیاهانی که در بافت هایشان دارای غلظت بالای منگنز هستند، پراکسیداز ها احتمالا در اکسیداسیون Mn(II) به Mn(IV)و تمرکز آنها در سلول درگیر هستند. آزمایشات نشان می دهد که در لوبیا و خیار نقاط قهوه ای در اثر سمیت منگنز شامل اکسید منگنز است اما در نخود فرنگی این نقاط قهوه ای، ترکیبات فنولی اکسید شده هستند. جذب وتجمع عناصر سنگین در غلظت های فوق العاده زیاد، نه تنها منجر به نشانه های سمیت و اثر بر روی فعالیت های متابولیکی دارد بلکه همچنین منجر به تغییرات فراساختاری وساختاری می شود. تشکیل کالوز، کاهش در پروتئینها، لیپید ها و رنگیزه ها در مقادیر بالای تجمع عناصر سنگین در سلول ها رخ می دهد. از علائم ظهور سمیت منگنز ،تجمع کالوز در اطراف نقاط قهوه ای در نخود فرنگی را می توان ذکر کرد (Dashtbani et al., 2008, . Chatterjee et al., 1994)

گیاه آفتابگردان مقادیر بالایی از منگنز رادر ریشه و ساقه خود انباشته می کند. به نظر می رسد تجمع عناصر سنگین در برگ ها یک توانایی ویژه ای از گیاهان را در جذب انتقالی عناصر و ذخیره ی آنها در بخش های مختلف دارند. کلروزیس در برگهای جوان ونقاط قهوه ای در برگهای پیر در غان سفید به خوبی دیده شده است. تجمع بالای منگنز در

برگها باعث کاهش در میزان فتوسنتز می شود . در مطالعات انجام شده مشاهده شد که میزان تعرق همراه با کاهش فتوسنتز توسط القای منگنز در غان سفید کاهش می یابد

(Papadakis et al., 2007, Burnell, 1988) .

کلروزیس در برگ های جوان توسط سمیت منگنز،از طریق کمبود آهن القا شده توسط منگنز ایجاد می شود. افزودن منگنز موجب مهار سنتز کلروفیل توسط مسدود کردن فرآیندهای مرتبط با آهن می شود. فنجانی شدن برگ نیز توسط غلظت بالای منگنز اتفاق می افتد که ممکن است در نتیجه ی توقف رشد برگ در نواحی حاشیه ای به علت القای منگنز در مراحل اولیه رشد برگی باشد. بنابر این ظهور نشانه های سمیت منگنز به موقعیت فیزیولوژیکی مرتبط به سن برگ، توزیع و غلظت منگنز در داخل برگ مربوط است

().1990Markus et al.,2002,Burke et al.,

۱– ۵) آنالیز لکه های قهوه ای برگی:

برای محدوده ی وسیعی از گونه های گیاهی،تشکیل لکه های قهوه ایویژه ی علائم سمیت منگنز، در برگهای پیرتر مشاهده شد که به کلروز،نکروز و ریزش برگی می انجامد.آنالیز تشکیل لکه های قهوهای القاییمنگنز،حضور منگنز اکسیده و فنل های اکسیده را به ویژه در دیواره ی سلولی لایهی اپیدرمی مشخص می سازد. پراکسیدازهاو پلی فنل اکسیداز ها(POD) در تنش،عامل قهوهای شدن بافت ها هستند. پراکسیدازهایویژه ای در قهوه ای شدن دیواره ی سلولی برگی دخالت دارد. ارتباط نزدیکی بین اکسیداسیون Mn^{2+}و ترکیبات فنلی توسط پراکسیدازها وجود دارد که با تشکیل رادیکال های واکنشگر فنوکسی (pho) همراه شده و Mn^{3+}موجب اختلالات متالبولیکی و نکروز برگی می شود

(Fecht-Christoffers et al., 2003).

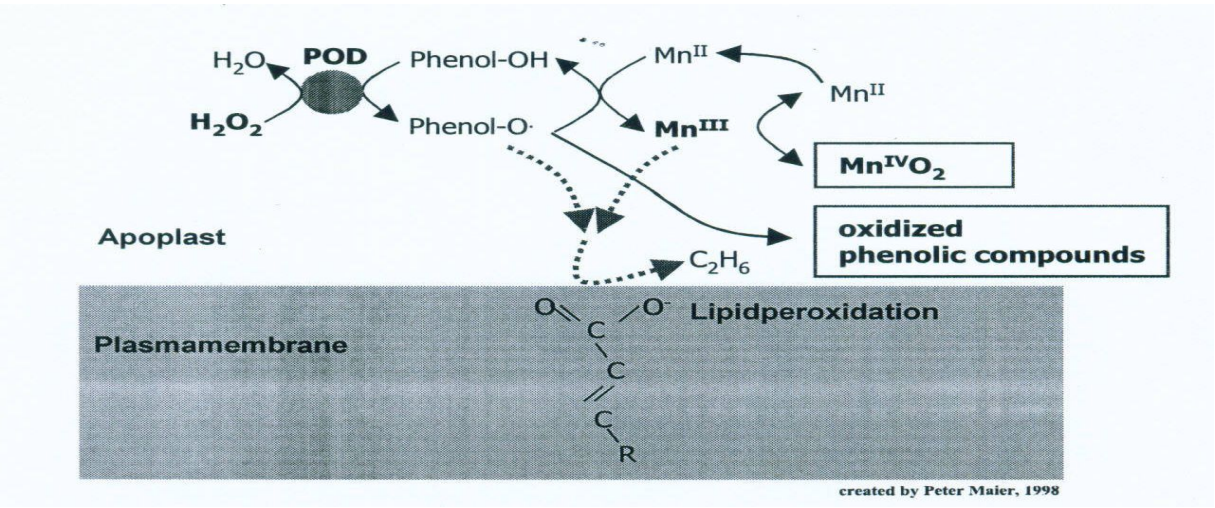
واکنش های احیایی در آپوپلاست برگی موجب پراکسیداسیون لیپیدها و تشکیل اتیلن می شودو در نهایت Mn^{4+}اکسیده در دیواره ی سلولی جمع شده،همراه با ترکیبات فنلی اکسیده، منجر به تشکیل رسوبات قهوه ای رنگ در دیواره ی سلولی می شود.آزمایشات نشان داده که منگنز منجر به تشکیل نقاط قهوه ای واضحی در دیواره ی سلول های برگی نخود فرنگی می شود که این نقاط قهوه ای شامل اکسید منگنز واکسید فنول است) Horst et al., 1999(.

اکسیداسیون منگنز و ترکیبات فنولی در آپوپلاست برگی،توسط پراکسیدازهای آپوپلاستی (PODs) صورت می گیرد وپیشنهاد شده است که این آنزیم ها در اثر القا منگنز افزایش می یابند.فعالیت PODs از طریق تیمار با منگنز طولانی مدت در بافت برگها،افزایش می یابد.

اکسیداسیون ترکیبات فنلی توسط پراکسیداز (POD) در بافت برگی حساس به منگنز، افزایش می یابد.

اکسیداسیون Mn^{2+} وترکیبات فنلی سبب تشکیل رادیکالهای فنوکسی و Mn^{3+} در آپوپلاست برگی می شود. این رادیکالهای فعال ممکن استموجب واکنش های احیایی در آپوپلاست برگی مانند پراکسیداسیون لیپیدها و تشکیل اتیلن شود. اکسیداسیون اولیه تولید Mn^{2+} می کند که ممکن است به Mn^{4+} تبدیل شود. تجمع Mn^{4+} اکسیده در دیواره سلولی با ترکیبات فنلی اکسیده منجربه تشکیل نقاط قهوه ای رنگ در دیواره سلولی می شود(شکل۱)

)Romheld, 2002, Takahama and Oniki, 1992 andRogalla(.



شکل۱) واکنش های احیایی در آپوپلاست برگ) Horst et al., 1999(.

۱–۶)تأ ثیر منگنز بر کلروفیل وسیستم فتوسنتزی:

منگنز یک نقش ضروری در گیاه به عنوان یک کوفاکتور ضروری برای تکامل O_2 دارد. افزایش منگنز، منجر به مهار سنتز کلروفیل می شود.به طور کلی، سمیت منگنز و تعداد دیگری از عناصر سنگین موجب کمبود آهن و کلروزیس می شوند. احتمالاً در سنتز کلروفیل، Mn^{2+} جایگزین Mg^{2+}در جایگاه خود یعنی در داخل تتراپیرول حلقوی می شود و به این خاطر سنتز کلروفیل را مختل می کند. چندین سیستم فیزیولوژیکی در بافت گیاهی در حضور منگنز مازاد شرکت می کنند. تأثیر منگنز بر میزان فتوسنتز، غلظت کلروفیل، فعالیت روبیسکو (ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز / اکسیژناز) و تثبیت CO_2 ثابت شده است. فلزات سنگین بر روی عملکرد PSI و PSII تاثیر میگذارند. یکسری از پروتئین های کلروفیل که پروتون را درPSIIجابه جا می کنند، تحت تنش عناصر سنگین تجزیه شدند.ساختارهای کلروپلاستی تغییر یافتو سیستم غشایسلولی تخریب شد.بنابراین، ظرفیت حمل پروتون کاهش یافت و عملکردهای سیستم فتوسنتزی تحت تاثیر قرار گرفت

. (Clarimont et al., 1986 , Csatorday et al., 1984, El-Jaoual and Cox, 1998)

دلایل کاهش فتوسنتز خالص توسط غلظت مازاد منگنز برگی عبارتند از:

۱) توقف فعالیت آنزیم های کلروپلاستی توسط افزایش غلظت تولیدات اکسیداسیون پلی فنل ناشی از فعالیت پلی فنل اکسیداز.

۲) اختلال در غشاهای کلروپلاستی به طور مستقیم یا غیر مستقیم.

۳) جایگزینی با Mg^{2+} و تشکیل کمپلکس های روبیسکو $-Mn^{2+}$

اثرات مخرّب فلزات بر دستگاه فتوسنتزی، اغلب نتیجه ی مداخله ی رقابتی با کوفاکتورهای فلزی ضروری است. منگنز با جذب آهن رقابت می کند و آهن در انتقال الکترون فتوسنتزی نقش مهمی دارد. منگنز اضافی ممکن است هدایت روزنه ای را کاهش دهد که به شدت با میزان تبادل گازیCO_2 مرتبط می باشد. تأثیر منگنز بر هدایت روزنه ای به طور

غیر مستقیم از طریق مداخله با پتاسیم روی می دهد که تنظیم کننده ی مهم عملکرد روزنه ای است ,Pospisilova)
2003, Christeller and Laing , 1979).

افزایش سریع فعالیت پلی فنل اکسیداز و کاهش در میزان فتوسنتز، با افزایش منگنز به خوبی در گیاه تنباکو مشاهده می شود. افزایش مهار فتوسنتز و افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز ها به طور نزدیکی ، با افزایش سمیت منگنز در شرایط جریان فوتونی بالا مرتبط است

(Nable, 1988, Sinha et al., 2002, Subrahmanyam and Rathore, 2000) .

مهار فتو سنتز در رابطه با افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز اینگونه است که:

۱)افزایش منگنز، منجر به تراوش پلی فنل اکسیدازها از واکوئل و ورود آنها به محتویات کلروپلاست می شود و در نتیجه ، تولید ترکیبات فنلی اکسیده می کند.

۲) در نتیجه ی تولید ترکیبات فنلی اکسیده، فعالیت آنزیم های سیکل کربن فتوسنتزی مختل می شود. در حقیقت این محصولات فنلی اکسیده، به این آنزیم ها متصل می شوند و فعالیت شان را مهار می کند.فعالیت پلی فنل اکسیدازها به طور عمومی در طول مراحل پیری یا در ایجاد زخم افزایش می یابد. کاهش تدریجی در میزان فتوسنتز در برگهای تنباکو در نتیجه ی کاهش فعالیت ریبولوز۱و۵ بیس فسفات (RUBP کربوکسیلاز/ اکسیژناز) مشاهده شده است

(Houtz, 1988, Kitao et al., 1997, Stiborova et a1., 1987) .

۱– ۷) تأثیر متقابل منگنز وآهن در گیاه :

از نظر فیزیولوژیکی،تشخیص جداگانه ی نقش آهن و منگنز در گیاه کار دشواری است به علت اینکه این دو عنصر در تضاد وآنتاگونیست هم عمل می کنند.نشان داده شده است که یک سطح بالایی از میزان منگنز،باعث کاهش در جذب یون آهن از محلول غذایی می شودکه این کار را گیاه از طریق نگهداشتن سطح بالای یون آهن محلول درآب در بافت های گیاهی انجام می دهدو بالعکس،سطح بالا از یون آهن نیز موجب کاهش جذب یون منگنز از محلول غذایی می

شود که این را از طریق نگهداشتن سطح بالایی از یون منگنز محلول در آبدر بافتهای گیاهی انجام می دهد و از علائم کمبود آهن،کلروزیس است

.(Weinstein and Robbins, 2001, Agarwala et al., 1963)

نشان داده شده که قابلیت دسترسی فیزیولوژیکی آهن در گیاهان توسط مقادیر نسبی منگنز،تعیین می شود و این دو عنصر دارای یک تضاد دو طرفه می باشدکه کمبود یکی،با سمیت دیگری در ارتباط است.

منگنز در غلظت مازاد،اثر نامطلوبی برآهن در بافت های گیاهی می گذارد که در واقع موجب اکسیداسیون فیزیولوژیکی Fe^{2+} فعال به Fe^{3+} غیر فعال می شود.منگنز در غلظت های بالا به طور رقابتی جذب آهن را مهار می کند لذا پیشنهاد می شود که این عناصر برای اتصال به جایگاه های نقل وانتقالمشابهی،رقابت می نمایند. کاهش کلروفیل در مقادیر مازاد منگنز امکان دارد به علت جایگزینی منگنز با منیزیم و آهن در بخش پورفیرین کلروفیل باشد که در نهایت،کلروز ایجاد شده، علائم کمبود آهن را منعکس می نماید.

نسبت Fe/Mg در بخش هوایی گیاه،شاخصی از سمیت منگنز می باشد،چون سطوح بالایی از منگنز در شاخه ها،اثر آنتاگونیستی بر جذب آهن دارد. کمبود آهن موجب افزایش منگنز در گیاه شده و موجب جایگزینیِ منگنز با دو اتم هیدروژن و یا اتم آهن در مولکول پور فیرین کلروفیل می شود

.(Somers and Shive, 1942, Hewitt , 1948)

دو فرضیه کلی تشریح کننده اختلالات فیزیولوژیکی به وجود آمده توسط سمیت منگنز عبارتند از

: (Weinsteins and Robbins, 2001, Twyman, 1946)

۱) تجمع منگنز موجبافزایش تخریب اکسیداتیو اکسین (IAA) و سنتز اتیلن می شود وفرایند متعاقب پیری را تسهیل می کند.

۲) علائم سمیت منگنز، رابطه ی متقابل آهن و منگنز را منعکس می کند که به اختلالات فیزیولوژیکی همراه با پیامد محدود کردن جذب آهن می انجامد,. Gonzalez et al). Oulette, 1951,1999(

۱–۸) مکانیسم سم زدایی فلزات سنگین:

الف) مکانیسم خارج سلولی که شامل: ۱- غیر متحرک کردن وقارچ میکوریزا ۲- دیواره سلولی

۳- ترشحات سلولی (اسیدهای آلی و اسیدهای آمینه)

ب) مکانیسم درون سلولی که شامل: ۱-افزایش گلوتاتیون ۲- کلاته کننده ها (متالوتیونین ، فیتوکلاتین)

۳- کده بندی واکوئلی ٤ -پروتئین های شوک حرارتی(Hall, 2002, Antonovics et al., 1971).

الف) مکانیسم های خارج سلولی:

۱) غیر متحرک کردن و قارچ میکوریزا: شواهد مستقیمی در ارتباط با تعدیل کننده قارچ های میکوریزا برای سمیت فلزات سنگین وجود دارد. اولین سد در برابر تنش منگنز اعمالی غیر متحرک کردن است که اصولاً در سطح ریشه انجام می شود، که می تواند منگنز را با وساطت دیواره ی سلولی و کربوهیدراتهای خارجی سلول(موسیلاژ،کالوز) غیر متحرک سازد. یونهای منگنز با جایگاههای پکتیکی و گروههای هیستیدین در دیواره ی سلولی باند می شوند (Gabro, 2002 . , Bethlenf and Franson,1989)

۲) دیواره سلولی: بیشتر ارتباطات دیواره سلولی و فلزات سنگین از طریق اتصال به پلی گالاکتورنیک اسیدها است که میل ترکیبی فلزات مختلف متفاوت است(Medeiros et al., 1995) .

۳) ترشحات سلولی(اسیدهای آلی و آمینواسیدها):

کربوکسیلیک اسید ها و آمینو اسید هایی مانند سیتریک،مالیک و هیستیدین، لیگاند هایی برای عناصر سنگین هستند و نقش مهمی در سم زدایی و تحمل در گیاهان ایجاد می کنند. شواهد نشان می دهد که مابین مقدار اسید تولیدی و قرار گرفتن در معرض فلزات رابطه ی واضحی وجود دارد. برای مثال یک افزایش ۳٦ برابردر محتوای هیستیدین در گزیلم وقتی یک نوع گیاه انباشت سازنیکل بنام *Alyssmles biacum* در معرض نیکل قرار گرفته بود مشاهده شد. یک نقش احتمالی برای هیستیدین کشف شده که در ترشحات ریشه به عنوان یک عنصر سم زدا عمل میکند.پیشنهاد شده که

اکسید منگنز یک نقش حفاظتی در مقابل مقدار افزایش منگنز در ریشه دارد و تراوش اکسید منگنز اطراف تریکو م ها ممکن است بخشی از مکانیسم بردباری برگها ی گیاه خیار در برابر منگنز باشد

(Weinstein and Robbins, 2001, Blamey et al.,1986 , Doncheva, 2009).

ب) مکانیسم درون سلولی:

۱– **گلوتایتون:** گلوتایتون یک تری پپتیدی است که بیشترین فراوانی را بین تیولهایی با وزن مولکولی کم در یوکاریوتها از جمله گیاهان دارد و منبع اصلی انتقال و ذخیره فرم احیاء شده سولفور است.گلوتاتیون در فرآیندهای سلولی شامل دفاععلیه ROS ها، کده بندی فلزات سنگین، سم زداییگزنوبیوتیکها، فرآیندهای نمویی شامل گلدهی و ترمیم سلولی نقش دارند. گلوتاتیون به عنوان منبع اصلی تیولهای غیر پروتئینی در بیشتر سلولهای گیاهی می باشد که هسته دوستی گروه تیول برای تشکیل اتصال با فلزات مهم است. گلوتاتیون احیا شده به عنوان یک آنتی اکسیدانت عمل می کند و به طور مستقیم در احیای بسیاری از ROS های تولید شده در طول تنش از جمله پراکسید هیدروژن می باشد. گلوتاتیون یک نقش دوتایی در پاسخ به تنش فلزات دارد و به عنوان یک آنتی اکسیدانت و پیش برنده برای کلاتور ها عمل می کنند(Gallego et al.,1996 ., Foy and Chaney, 1978)

۲) کلاته کننده ای فلزات سنگین: یک مکانیسم کلی برای سم زدایی فلزات سنگین در گیاهان و دیگر موجودات زنده، کلاته شدن فلزات به وسیله لیگاند و کده بندی کمپلکس لیگاند– فلز سنگین است.

بعضی از لیگاندهای اتصالی به فلزات سنگین در گیاهان شناسایی شده اندو شامل اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه و پپتیدها و پلی پپتیدها هستند. کلاته شدن خارج سلولی به وسیله اسیدهای آلی (سیترات و مالات) می باشد که موجب مقاومت گیاه نسبت به عناصر سنگین می شوند (Fahad, 2009).

– متالوتیونین ها:

متالوتیونین ها یک خانواده ای از پروتئین – فلز و پپتید – فلز با وزن مولکولی کم و غنی از سیستئین را تشکیل می دهند. گروهی از پپتید های غنی از سیستئین و فاقد اسیدآمینه های حلقوی هستند و در جانوران، سیانو باکتریها و قارچ