بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم زیستی

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه **خانم نجمه برکچی فرد** رشته **علوم گیاهی** تحت عنوان: **«تاثیر آلومینیوم بر میزان برخی پلی فنلهای سلولهای جداکشت چای»** از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر فائزه قناتی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر مهرداد بهمنش	دانشیار	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر فاطمه زرین کمر	دانشیار	
٤- استاد ناظر خارجی	دکتر وحید نیکنام	استاد	
٥- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر فاطمه زرین کمر	دانشیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم‌افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **نجمه برکچی‌فرد** دانشجوی رشته **علوم گیاهی**، گرایش **فیزیولوژی گیاهی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۹۰** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم زیستی** متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

نام و نام خانوادگی: نجمه برکچی فرد

تاریخ و امضا: ۹۲/۱۲/۵

آیین نامهٔ چاپ پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **علوم گیاهی**، گرایش **فیزیولوژی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده **علوم زیستی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **آقای دکتر فائزه قناتی** و مشاورهٔ **آقای دکتر مهرداد بهمنش** از آن دفاع شده است».

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیهٔ کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادهٔ ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **نجمه برکچی‌فرد** دانشجوی رشته **علوم گیاهی**، گرایش **فیزیولوژی گیاهی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: نجمه برکچی فرد

تاریخ و امضا: ۹۲/۱۲/۵

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه

دوره کارشناسی ارشد علوم گیاهی، گرایش فیزیولوژی

عنوان

تاثیر آلومینیوم برمیزان برخی پلی‌فنل‌های سلول‌های جداکشت چای (*Camelia sinensis* L. cv. Yabukita)

نگارنده

نجمه برکچی‌فرد

استاد راهنما

دکتر فائزه قناتی

استاد مشاور

دکتر مهرداد بهمنش

دی ۱۳۹۲

تقدیم به:

پدر و مادرم؛

که آرامش سایه سار پر مهرشان فراغت اندیشیدن و بالیدن را بر من ارزانی داشت.

خواهر و برادران عزیزم؛

برای تمام حمایت های بی دریغشان.

تقدیر و تشکر

❖ با سپاس بی منتها از لطف و عنایت خداوند سبحان، برخود لازم میدانم مراتب قدردانی و احترام قلبی خود را نسبت به استاد راهنمای گرامیم، سرکار خانم دکتر فائزه قناتی و مشاور گرانقدر جناب آقای دکتر مهرداد بهمنش، که علاوه بر علم، اخلاق و ادب را در محضر ایشان آموختم اعلام نمایم و از خداوند مهربان برای ایشان سلامتی و موفقیت روزافزون خواستارم،

❖ از دیگر اساتید محترم گروه علوم گیاهی، آقایان دکتر مظفر شریفی، دکتر شاهرخ کاظم پور، دکتر حسن زارع مایوان و خانم دکتر فاطمه زرین کمر، که در این دوره از محضرایشان استفاده کردم و همچنین از مسئول محترم آزمایشگاه، خانم خرمی شاد کمال تشکر و قدردانی را دارم،

❖ از دوست عزیزم سارا سبحان نژادکه، همواره در کنار من بود و از هیچ تلاشی فروگذار نکرد، بی نهایت سپاسگزارم،

چکیده:

سمیت آلومینیوم یکی از عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان در خاک‌های اسیدی می‌باشد، هرچند بعضی از گیاهان به عنوان انباشت کننده آلومینیوم شناخته می‌شوند. گیاه چای یک گیاه مقاوم و بیش انباشت کننده آلومینیوم است که بر خلاف سایر گیاهان، تیمار با آلومینیوم سبب افزایش رشد آن می‌گردد. در تحقیق حاضر، سلول‌های جدا کشت چای در روز پنجم واکشت (در فاز لگاریتمی رشد) با آلومینیوم درغلظت نهایی ۴۰۰ میکرومولار به مدت ۶، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت تیمار داده شدند. در مقایسه با گروه شاهد تیمار آلومینیوم باعث افزایش کاتکین در ۴۸ و ۹۶ ساعت بعد از تیمار شد. همچنین افزایش سایر پلی فنول‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش زمان مشاهده گردید. سایر پارامترهای فیزیولوژیکی مانند رشد و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و تمامیت غشا به صورت وابسته به زمان افزایش یافت. نتایج تحقیق حاضر پیشنهاد می‌کند که افزایش وابسته به زمان در میزان آنتی‌اکسیدان‌های پلی فنلی و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث سمیت زدایی آلومینیوم و تحریک رشد و متابولیسم در سلول‌های جدا کشت چای می‌شود.

واژگان کلیدی: آلومینیوم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سلول‌های جدا کشت چای، کاتکین

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱. سمیت آلومینیوم درگیاهان ۲

۱-۲. علائم سمیت آلومینیوم در گیاهان ۳

۱-۳. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان ۴

۱-۴. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر سمیت آلومینیوم ۵

۱-۵. مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ۵

۱-۶. متابولیت‌های ثانویه مهم گیاه چای ۶

۱-۷. کاتکین ۸

۱-۸. مسیر بیوسنتز کاتکین ۹

۱-۹. اهداف پژوهش ۱۰

فصل دوم: مواد و روش‌ها ۱۲

۲-۱. کشت سلول‌های چای ۱۳

۲-۲. روش تیمار سلول‌ها ۱۴

۲-۳. مشاهدات میکروسکوپی ۱۴

۲-۳-۱. ردیابی آلومینیوم در سلول‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی لوموگالیون ۱۴

۲-۳-۲. تعیین درصد زنده بودن سلول‌ها ۱۵

۲-۴. اندازه‌گیری رشد سلولی ۱۵

۲-۵. آنالیزهای بیو شیمیایی ۱۵

۲-۵-۱. اندازه‌گیری پروتئین کل ۱۵

۲-۵-۲. اندازه‌گیری قند کل ۱۶

۲-۵-۳. بررسی تمامیت غشا ۱۶

۲-۵-۴. تعیین مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) ۱۶
۲-۵-۵. ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد RSA ۱۷
۲-۵-۶. سنجش قدرت احیا کنندگی سلولی ۱۷
۲-۵-۷. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ۱۸
۲-۵-۸. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ۱۸
۲-۵-۹. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) ۱۸
۲-۵-۱۰. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) ۱۹
۲-۵-۱۱. استخراج و اندازه‌گیری فنل کل ۱۹
۲-۵-۱۲. استخراج و اندازه‌گیری فلاونویید کل ۲۰
۲-۱۵-۱۳. استخراج و اندازه‌گیری آنتوسیانین کل ۲۰
۲-۵-۱۴. استخراج و اندازه‌گیری کاتکین کل ۲۰
۲-۶. تجزیه و تحلیل آماری ۲۱

فصل سوم: نتایج ۲۲

۳-۱. ردیابی آلومینیوم در سلول‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی لوموگالیون ۲۳
۳-۲. تاثیر آلومینیوم بر زنده بودن سلول‌های جدا کشت چای ۲۳
۳-۳. تاثیر آلومینیوم بر رشد ۲۳
۳-۴. تاثیر آلومینیوم بر محتوای پروتئین کل ۲۶
۳-۵. تاثیر آلو مینیوم بر میزان قند کل ۲۷
۳-۶. تاثیر آلومینیوم بر تمامیت غشا سلول‌ها ۲۸
۳-۷. تاثیر آلومینیوم بر میزان تولید هیدروژن پراکسید (H_2O_2) ۲۹
۳-۸. تاثیر آلومینیوم بر میزان ظرفیت جاروب کنندگی رادیکالهای آزاد RSA ۳۰
۳-۹. تاثیر آلومینیوم بر قدرت احیا کنندگی سلولی ۳۱
۳-۱۰. تاثیر آلومینیوم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) ۳۲

۳-۱۱. تاثیر آلومینیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) ۳۳
۳-۱۲. تاثیر آلومینیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) ۳۴
۳-۱۳. تاثیر آلومینیوم بر میزان فعالیت فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL)..... ۳۵
۳-۱۴. تاثیر آلومینیوم بر محتوای ترکیبات فنلی ۳۶
۳-۱۵. تاثیر آلومینیوم بر محتوای آنتوسیانین..... ۳۷
۳-۱۶. تاثیر آلومینیوم بر محتوای ترکیبات فلاونوئیدی..... ۳۸
۳-۱۷ تاثیر آلومینیوم بر میزان کاتکین کل..... ۳۹

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها.....۴۰
۴-۱. بحث..... ۴۱
۴-۲. پیشنهادها..... ۴۵

فهرست منابع و مآخذ..... ۴۶
چکیده انگلیسی ۵۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل (۱-۱) مسیر تولید فنیل پروپانوئیدهای اصلی در گیاه چای ۷

شکل (۱-۲) ساختار شیمیایی کاتکین ۸

شکل (۱-۳) ساختار شیمیایی اپی کاتکین گالات و اپی گالو کاتکین گالات ۹

شکل (۱-۴) مسیر بیوسنتز کاتکین ۱۰

شکل (۲-۱) سلول‌های جدا کشت چای (Camelia sinensis L.) در(الف) کشت جامد و(ب) کشت تعلیقی ۱۳

شکل (۳-۱) رنگ‌آمیزی آلومینیوم جذب شده توسط سلول‌های جدا کشت چای با لوموگالیون ۲۴

شکل (۳-۱) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر درصد زنده بودن در سلول‌های جداکشت چای ۲۵

شکل (۳-۲) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر میزان رشد در سلول‌های جداکشت چای ۲۵

شکل (۳-۵) تاثیر آلومینیوم در زمان های مختلف تیمار بر محتوای پروتئین کل در سلول های جداکشت چای ۲۶

شکل (۳-۶) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر محتوای قند کل در سلول‌های جداکشت چای ۲۷

شکل (۳-۷) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در سلول‌های جداکشت چای ۲۸

شکل (۳-۸) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر تغییرات میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) در سلول‌های جداکشت چای ۲۹

شکل (۳-۹) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر میزان ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد در سلول‌های جداکشت چای ۳۰

شکل (۳-۱۰) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر قدرت احیا کنندگی سلولی در سلول‌های جداکشت چای ۳۱

شکل (۳-۱۱) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر تغییر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سلول‌های جداکشت چای ۳۲

شکل (۳-۱۲) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر تغییر فعالیت آنزیم کاتالاز در سلول‌های جداکشت چای ۳۳

شکل (۳-۱۳) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر تغییر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سلول‌های جداکشت چای ۳۴
شکل (۳-۱۴) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر تغییر فعالیت آنزیم فنیل آلانین امونیا لیاز در سلول‌های جداکشت چای ۳۵
شکل (۳-۱۵) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر محتوای ترکیبات فنلی در سلول‌های جداکشت چای ۳۶
شکل (۳-۱۶) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر محتوای آنتوسیانین در سلول‌های جداکشت چای ۳۷
شکل (۳-۱۷) تاثیر آلومینیوم در زمان‌های مختلف تیمار بر محتوای ترکیبات فلاونوئیدی در سلول‌های جداکشت چای ۳۸
شکل (۳-۱۸) تاثیر آلومینیوم در زمان های مختلف تیمار بر میزان کاتکین کل در سلول های جداکشت چای ۳۹

فصل اول:

مقدمه

۱-۱. سمیت آلومینیوم درگیاهان

آلومینیوم[1](Al) فلزی است که ۷ درصد از پوسته زمین را تشکیل داده و سومین عنصر فراوان بعد از اکسیژن[2] و سیلیکون[3] می‌باشد. بنابراین ریشه گیاهان تقریبا همیشه در معرض شکل‌های مختلفی از آلومینیوم قرار می‌گیرد(Feng Ma et al., 2001) .

در خاک‌هایی با pH خنثی یا اسیدی ضعیف، این عنصر به صورت شکل‌های غیرمحلول، سیلیکات یا اکسید آلومینیوم وجود دارد ولی با کاهش pH خاک (کمتر از ۵)، به‌شکل سمی و محلول در آمده و توسط ریشه گیاه جذب می‌شود (Vardar and Unal 2007; Taiz and Zeiger, 2002). در خاک‌های اسیدی که بیشتر مناطق مرطوب گرمسیری نظیر جنگل‌ها و اراضی جنگلی (۶۷ درصد) و نیز ۴۰ درصد از زمین‌های زراعی را شامل می‌شود به دلیل کاهش pH محیط (کمتر از ۴) تجمع آلومینیوم به صورت یون محلول سمی Al^{3+} نسبت به حالت غیر سمی اکسید و سیلیکات آلومینیوم افزایش می‌یابد (Wang et al., 2006; Yamamoto et al., 2002). همچنین علاوه بر pH محیط، غلظت آلومینیوم، دما و غلظت سایر کاتیون‌ها و آنیون‌ها در محیط از عوامل موثر در سمیت آلومینیوم می‌باشد (Wang et al., 2006).

سمیت آلومینیوم، اولین فاکتور محدود کننده رشد در خاک‌های اسیدی است که تولید محصولات زراعی را با خطر جدی مواجه می‌گرداند. استفاده از کودهای آمونیومی، تجمع مواد آلی، باران‌های اسیدی و

1- Aluminum
2- Oxygen
3- Silicon

نیز رشد لگوم‌ها باعث اسیدی شدن خاک و افزایش یون سمی و محلول Al^{3+} می‌شوند که در نهایت باعث ایجاد مشکلات در بخش کشاورزی و اکوسیستم‌های طبیعی می‌گردند. هر چند با افزودن آهک به خاک اسیدی می‌توان از محصولات کشاورزی حفاظت کرد، ولی اثرات و آلودگی‌های ناشی از پسماندها بسیار نامطلوب هستند. همچنین استفاده از آهک به دلیل حرکت کند آن در لایه‌های عمیق خاک‌های زیرین باعث کاهش دسترسی به عناصر غذایی می‌شود (Miayasaka 2007; Wang and Harsh 2006).

گیاهان در مقابل آلومینیوم به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱- گیاهان حساس به آلومینیوم: که آلومینیوم در آنها باعث سمیت میشود

۲- گیاهان مقاوم به آلومینیوم: که خود شامل دو گروه می‌باشند.

گروه اول با ساز وکارهای مختلفی مانع ورود این یون به درون گیاه می‌شوند.

گروه دوم ذخیره کننده‌های آلومینیوم هستند. طبق تحقیقات صورت گرفته این گیاهان قادرند تا $۱۰۰۰ mg\ kg^{-1}$ را در خود ذخیره کنند به عنوان مثال گیاه چای (*Camellia sinensis* L.) یکی از گیاهان بیش انباشت کننده آلومینیوم[1] است. غلظت آلومینیوم در برگ‌های بالغ $۳۰۷۰۰\ mg\ kg^{-1}$ است اما در برگ‌های جوان غلظت آن پایین تر و $۶۰۰\ mg\ kg^{-1}$ می‌باشد. در برگ‌های بالغ بیشترین میزان آلومینیوم در دیواره سلولی اپیدرم ذخیره شده است (Matsumoto, 2000).

۱-۲. علائم سمیت آلومینیوم در گیاهان

علائم حاصل از سمیت آلومینیوم معمولا به دو گروه تقسیم می‌شوند(Ma et al., 2000):

۱- علائم کوتاه مدت سمیت آلومینیوم: پاسخ‌های کوتاه مدت در عرض چند دقیقه یا حتی چند ثانیه پس از تیمار با آلومینیوم قابل اندازه‌گیری است. ممانعت از توسعه و طویل شدن سلول‌های ریشه از اولین و شایع ترین نشانه‌های تنش آلومینیوم بعد از چند دقیقه تماس با آلومینیوم در غلظتهای میکرو مولار می‌باشد(Ryan et al., 1993; Ma et al., 2000).

۲- علائم بلند مدت سمیت آلومینیوم: پاسخ‌های بلند مدت حداقل چندین ساعت طول می‌کشند. از علائم بلند مدت سمیت آلومینیوم بروز ناهنجاری در مورفولوژی ریشه، ایجاد ضخامت در ریشه‌های اولیه و

محدود شدن رشد جانبی در آنها است. بنابراین سیستم ریشه‌ای کاهش یافته وباعث محدود شـدن جـذب آب و مواد غذایی می‌گردد. این عنصر از طریق ایجاد عدم تعادل در عناصر معـدنی نظیـر فسـفر، منیـزم و کلسیم، ترکیب با مواد ضروری رشد گیاه، مهار سنتز DNA و تقسیم سلولی، کاهش زیتوده، کاهش میـزان تنفس و کاهش ATP موجب کاهش رشد گیاه می‌گردد (Yamamoto et al.,1994).

۱-۳. تولید گونه‌های فعال اکسیژن[1] در گیاهان

گیاهان مانند سایر موجودات زنده نیازمند اکسیژن برای تولید انرژی می‌باشند. در طـی احیـای O_2 بـه H_2O گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال‌های آنیون سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) به صورت زیر تشکیل می‌شوند:

$$O_2 \rightarrow O_2 + H_2O \rightarrow H_2O_2 \rightarrow OH + H_2O \rightarrow 2H_2O$$

یک درصد از اکسیژن مصرف شده در گیاهـان صـرف تولیـد گونـه‌هـای فعـال اکسـیژن مـی‌شـود (Matsumoto and Motoda 2012). تجمع این گونه‌های فعال در طول متابولیسم طبیعی و یا تنش‌هـای محیطی منجر به اکسیداسیون مولکول‌های زیستی می‌گردد که با وارد آمدن خسارات شدید به سـلول همراه است. این مولکول‌ها دارای یک یا چندالکترون جفت نشده در اربیتال هستند که بـه ایـن دلیـل تمایل زیادی به واکنش با سایر مولکول‌ها از جمله پروتئین‌هـا، آنـزیم هـا، لیپیـدها و DNA در سـلول دارند.

رادیکال‌های آزاد در واکنش با این مولکول‌ها می‌توانند باعث تغییر فعالیت و یا غیر فعال شدن آنهـا شده و درنهایت باعث آپوپتوزیس و مرگ سلول‌ها گردند (Chen et al. 2008). در واقع می‌توان گفـت از عوامل داخلی آسیب رسان به مولکول‌های زیستی (که اغلب غیر رادیکال بوده و دارای جفـت الکتـرون هستند)، آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشند که طی فرایندی به نام تنش اکسیداتیو، بیشترین آسیب را با تبدیل مولکول غیر رادیکال به رادیکال و ایجاد گونه‌های بسیار فعال و پایدار وارد می‌کنند.

گونه‌های فعال اکسیژن دارای نقش‌های متفاوت و دوگانه‌ای هستند بـه گونـه‌ای کـه گـاهی باعـث

1- Reactive oxygen species

تشدید خسارت به گیاه می‌شوند و درمواقعی باعث فعال‌شدن مسیر علامت رسانی[1] (سیگنالینگ) سلولی و بروز پاسخ‌های دفاعی می‌گردند. این پاسخ دفاعی در برخی موارد به شکل افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مفید و دارویی می‌باشد. در هر صورت ROS اکسیدکننده است و می‌تواند واکنش‌های زنجیره‌ای را ایجاد کند که قادر هستند باعث تغییر سریع اعمال یا ساختارهای مولکولی گردند. بنابراین نوع و غلظت آن‌ها عامل کلیدی و تعیین‌کننده مفید و یا مضر بودن آن‌ها محسوب می‌شود. بدیهی است که چنین عملکرد دوگانه‌ای به کنترل دقیق منابع متعدد مولد ROS و سیستم‌های جاروب کننده آن‌ها در سطح سلول بستگی دارد (Dat et al., 2000).

۱-۴. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر سمیت آلومینیوم

مکانسیم فیزیولوژی سمیت آلومینیوم به طور کامل مشخص نشده است، با این حال گزارش‌های زیادی نقش آن در تولید گونه‌های فعال اکسیژن مولکولی و ایجاد تنش اکسیداتیو را تایید می‌کنند.(Devi et al,. 2003)جایگاه اصلی در سمیت آلومینیوم غشای پلاسمایی و دیواره سلولی در گیاهان می‌باشد. این عنصر با تاثیر بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و ترکیبات پروتئینی آن سبب تغییر ساختار، پتانسیل الکتریکی، سیالیت و نفوذ پذیری انتخابی می‌شود .(Cakmak and Horst, 1991) آلومینیوم همچنین با تاثیر بر فعالیت آنزیم‌های موجود در غشا و دیواره سلولی موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن مولکولی می‌گردد .(Rengel and Zhang 2003 ; Tun et al., 2007)

۱-۵. مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو

پاسخ‌های مقاومتی گیاهان در مقابل شرایط تنش اکسیداتیو به کمک ترکیبات آنتی‌اکسیدان و نیز ممانعت از تولید گونه‌های فعال صورت می‌گیرد(Turhan et al., 2007; Vranova et al., 2002).گیاهان با استفاده از مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی می‌توانند غلظت گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهند و از این طریق از اثرات مخرب آن بکاهند. البته موفقیت کامل گیاه در این راستا به میزان فعالیت

1- Signaling transduction

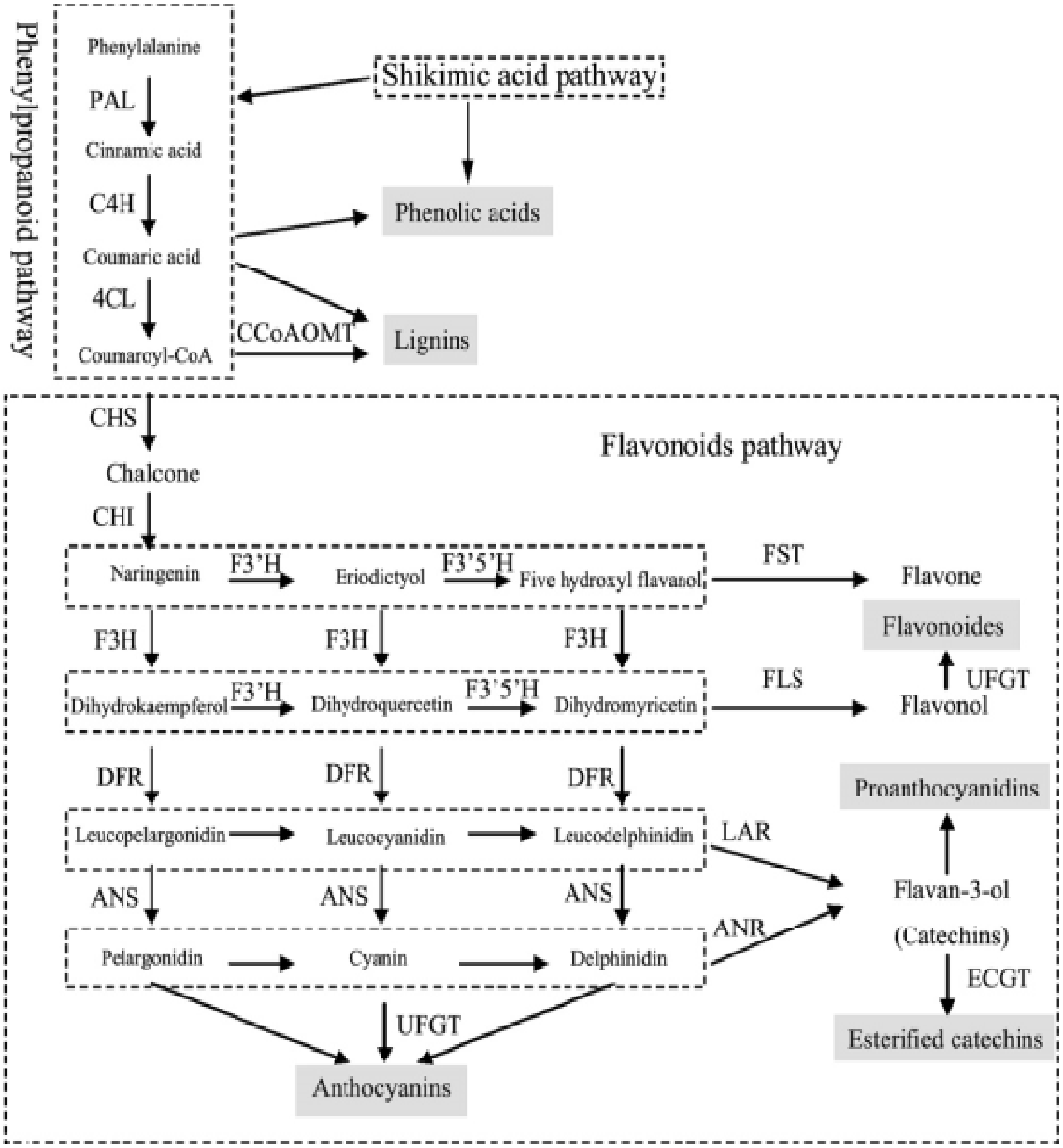
سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و غلظت گونه‌های فعال اکسیژن بستگی دارد (Plazek and Zur 2003).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با انتقال یک اتم هیدروژن به رادیکال آزاد از ادامه واکنش‌های اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند. به طور کلی آنتی‌اکسیدان‌ها شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نظیر آنزیم‌های کاتالاز(CAT)، سوپراکسیددیسموتاز(SOD)، پراکسیداز(PO) و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و سایر ترکیبات فنلی، آسکوربات، آلفاتوکوفرول، بتاکاروتن و غیره می‌باشد (Dat et al. 2000; Yang and Poovaiah 2002; Karabal et al. 2003).

۱-۶. متابولیت‌های ثانویه مهم گیاه چای

گیاه چای (*Camellia sinensis* L.) یکی از گیاهان مشهور تیره چائیان است که دارای اهمیت غذایی، دارویی و اقتصادی فراوان می‌باشد و به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه مهم دارای ارزش فراوانی است (Taiz and Zeiger 2002; Wang and Harsh 2006; Wang et al., 2012). متابولیت‌های اولیه ترکیباتی هستند که در همه گیاهان یافت می‌شود و پراکنش یکنواختی دارند و برای موجودیت و بقای سلول‌های گیاهی الزامی می‌باشند. متابولیت‌های ثانویه در مقابل این ترکیبات قرار می‌گیرند که انواع آن منحصر به گونه یا حتی نژاد خاص می‌باشد و اغلب در طی یک دوره رشد و نموی خاص در گیاه تولید می‌شوند. امروزه متابولیت‌های ثانویه گیاهی منبع حیاتی ترکیبات مهم دارویی، طعم دهنده‌های طبیعی، عطرها، رنگ‌ها و صمغ‌ها می‌باشند. همین امر باعث شده مطالعات گسترده‌ای در زمینه شناسایی و افزایش تولید این ترکیبات در گیاهان مختلف انجام شود.(Vanisree et al. 2004)

از اصلی ترین متابولیت‌های ثانویه گیاه چای می‌توان به ترکیبات فلاونوئیدی که به طور عمده شامل flavan-3-ols (کاتکین) می‌باشند و همچنین آنتوسیانین ها، پروآنتوسیانین‌ها و لیگنین‌ها اشاره کرد(wang et al., 2011). این پلی فنول از شاخه‌های متعدد مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدی مشتق می‌شوند(شکل ۱-۱)



شکل (۱-۱) مسیر تولید فنیل پروپانوئیدهای اصلی در گیاه چای (Wang et al., 2012)

شواهد تاکید بر خواص آنتی‌اکسیدانی پلی فنول‌های چای دارند. این پلی فنل‌ها با توانایی جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال سوپر اکسید، اکسیژن منفرد، رادیکال هیدروکسیل، نیتریک اکسید، نیتروژن دی اکسید و پر اکسی نیتریت از تجمع آنها جلوگیری می‌کنند. این پلی فنل‌ها همچنین همبند کننده[1]های قوی با یون‌های فلزی هستند(Kanwar et al., 2012).

1- Chelator