بسم الله الرحمن الرحيم

۱۲۹۹۱۲

دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه دکتری رشته زیست شناسی- فیزیولوژی گیاهی

مطالعه کلاته کردن فلزات Al، Cr، Mn و Cd توسط تانن در ارقام سورگم

استادان راهنما:
دکتر عباس المدرس
دکتر اکبر مستاجران

استادان مشاور:
دکتر غلامرضا اصغری
دکتر عباس افخمی

پژوهشگر:
حیدرعلی مالمیر

تیر ماه ۱۳۸۸

۱۳۸۸/۱۰/۲۷
تأیید اطلاعات مدارک علمی برای
تسهیل مدارک

۱۲۹۹۱۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،
ابتکارات و نوآوری های ناشی از تحقیق
موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه
اصفهان است.

شیوه نگارش پایان نامه
رعایت شده است
تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان

دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه دکتری رشته زیست شناسی- فیزیولوژی گیاهی

آقای حیدرعلی مالمیر تحت عنوان:

مطالعه کلاته کردن فلزات Al، Cr، Mn و Cd توسط تانن در ارقام سورگوم

در تاریخ ۸۸/٤/۲۲ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه ..عالی.. به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر عباس المدرس	با مرتبه ی علمی	دانشیار	امضا .....
۲- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر اکبر مستاجران	با مرتبه ی علمی	استاد	امضا .....
۳- استاد مشاور پایان نامه	دکتر غلامرضا اصغری	با مرتبه ی علمی	استاد	امضا .....
٤- استاد مشاور پایان نامه	دکتر عباس افخمی	با مرتبه ی علمی	استاد	امضا .....
٥- استاد داور داخل گروه	دکتر علی اکبر احسان‌پور	با مرتبه ی علمی	استاد	امضا .....
٦- استاد داور داخل گروه	دکتر سید مجید قادریان	با مرتبه ی علمی	دانشیار	امضا .....
۷- استاد داور خارج از گروه	خانم دکتر فائزه قناتی	با مرتبه ی علمی	دانشیار	امضا .....
۸- استاد داور خارج از گروه	دکتر بهروز عشقی ملایری	با مرتبه ی علمی	استادیار	امضا .....

امضای مدیر گروه

سپاس ویژه خود را به همسرم و فرزندانم تقدیم می‌کنم که همیشه پیشرفت‌هایم را مدیون همراهی‌ها، گذشت و کمک‌های بی‌دریغ آنها می‌دانم.

سپاسگزاری

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت. حمد و سپاس ایزد منان را که با الطاف بی‌کران خود همه را از سر مهر و لطف آفرید و نور ایمان و دانش را در دل بندگان خود روشنی بخشید. به نام و ستایش آن که همیشه بوده هست و خواهد بود، خدای بزرگ دانا و بخشاینده پاک که دادگری نیک و تواناست، آفریدگار بزرگی که آدمی را با دهش نیروی هوش و دانش بر دیگر آفریدگان شهریاری بخشید.

در طول دوران تحصیل از الطاف و راهنمایی‌ها و محبت‌های بی‌دریغ اساتید بزرگواری بهره‌مند بودم و شاگردی این عزیزان برای من مایه افتخار است. از اساتید راهنمای گرامیم جناب آقای دکتر اکبر مستاجران و جناب آقای دکتر عباس المدرس که با صبر و بزرگواری تمام، بنده را راهنمایی و تحمل نموده‌اند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از مدیریت محترم گروه آقای دکتر مشتاقیان و اساتید ارجمند آقایان دکتر شریعتی، دکتر رحیم نژاد، دکتر افشار زاده ، دکتر صاحبی، دکتر احسان پور و دکتر قادریان که در طی تحصیل در دوره دکتری از وجود پر برکت آنها در تعلیم و تربیت خود بهره مند شدم، از جناب آقای مهندس حیدری مسئول سایت کامپیوتر گروه زیست شناسی نهایت تقدیر و تشکر را می‌نمایم.

از کلیه عزیزانی که به نحوی در به ثمر رسیدن این پژوهش مرا یاری نموده و درحق من لطف و مساعدت نمودند بی نهایت تشکر و قدردانی نموده و برای همهٔ آنها آرزوی توفیق و سربلندی داشته و برای آنها دعای خیر می‌نمایم.

چکیده

به منظور تعیین قدرت کلاته کردن فلزات آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز توسط تانن در ارقام سورگوم و روابط آنها با رشد و نمو در این گیاه تعدادی آزمایش انجام شد. ابتدا کشت دو رقم سورگوم ۱۳۲ و ۵۵۲ جهت بررسی مقدار انواع تانن، پلی‌فنل کل، پروتئین و کربوهیدرات، در محیط کشت شن با حضور فلزات نامبرده انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که با اضافه شدن آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز به محیط کشت وزن خشک ریشه و برگ‌ها و سطح برگ‌ها در دو رقم سورگوم را کاهش می‌دهد و مقدار کاهش وزن توسط آلومینیم و کروم بیشتر از کادمیم و منگنز است. آلومینیم در محیط کشت مقدار کربوهیدرات‌های غیرساختمانی را در برگ‌های دو رقم سورگوم افزایش داده ولی کروم تاثیری روی تجمع کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها نداشت و وزن خشک برگ‌ها و ریشه‌ها را بیشتر از فلزات دیگر کاهش داد. آلومینیم با کاهش انتقال کربوهیدرات‌ها قدرت بارگیری مخازن ریشه و برگ‌ها راکاهش داده و به همین دلیل آلومینیم تشکیل برگ‌ها را در محدوده‌های کم افزایش می‌دهد. سرعت انتقال کروم از ریشه به برگ‌ها در دو رقم سورگوم سریع‌تر از سرعت انتقال آلومینیم است بنابراین کروم فتوسنتز را بیشتر از رشد آسیب می‌رساند به همین دلیل در تیمار کروم تجمع قند در گیاه صورت نمی‌گیرد. انتقال آلومینیم در دو رقم سورگوم یکنواخت بود، در واقع مقدار آلومینیم در ریشه همواره بیشتر از قسمت هوایی و به همین ترتیب آلومینیم در برگ پایینی بیشتر از برگ‌های بالای است. بنابراین برای آلومینیم محدودیت انتقال وجود دارد در صورتی‌که از نظر انتقال کروم از ریشه به برگ‌ها در دو رقم سورگوم محدودیتی وجود ندارد و کروم از برگ‌های پیر از طریق آوند آبکش به سایر قسمت‌ها انتقال پیدا می‌کند. با مقایسه سرعت جذب دو فلز آلومینیم و کروم در سورگوم انتظار می‌رفت که با کاهش غلظت فلزات در محیط خارج جذب آنها به داخل ریشه کاهش یابد اما چنین نیست. به نظر می‌رسد سیستم‌های که در جذب آلومینیم و کروم دخالت دارند فقط از طریق کانالهای موجود نیست بلکه روش‌های دیگری از سیستم‌های انتقال نیز مشارکت دارند.

افزودن EDTA به محیط کشت جذب کروم را بیشتر از آلومینیم افزایش داده ولی سیتریک اسید مقدار آلومینیم را بیشتر از کروم در ریشه دو رقم سورگوم افزایش می‌دهد. سیتریک اسید مقدار آلومینیم را در ریشه دو رقم سورگوم بیشتر از برگ‌ها افزایش داده که این افزایش در ریشه رقم ۵۵۲ بیشتر است. از طرفی این افزایش با سمیت بیشتر آلومینیم همراه نیست. به نظر می رسد اضافه شدن سیتریک اسید به محیط کشت می‌تواند بخش بیشتری از آلومینیم را در فضای اپوپلاست ریشه‌ها کلاته کند و از انتقال آلومینیم به داخل سیتوپلاسم سلول‌های ریشه جلوگیری نمایند. به همین دلیل با مقایسه برش‌هایی که از ریشه و برگ‌ها گرفته شده بود ملاحظه می‌شود که با خروج بیشتر اسیدهای آلی از ریشه این اسیدها با آلومینیم در سطح لایه ریزودرم و اندودرم در ریشه کمپلکس پیچیده تشکیل می‌دهد که دارای رنگ قرمز است. افزایش جذب کروم با EDTA در محیط کشت با افزایش فیتوکلات بیشتر و سمیت بیشتر در دو رقم سورگوم همراه است. شاید

سمیت بیشتر کروم به دلیل آزاد شدن کروم در داخل ریشه و برگ‌های دو رقم و عدم انتقال آن باEDTA باشد. EDTA آلومی‌نی‌م را کلاته کرده، فرم جذب و انتقالی آلومینیم را تغییر می‌دهد و آن را به داخل واکوئل منتقل کند. تاثیر کروم روی تولید فیتوکلات در دو رقم سورگوم بیشتر از آلومینیم است و مقدار آن نیز در رقم ۵۵۲ بیشتر از رقم ۱۳۲ است. بنابراین اضافه کردن EDTA و اسید سیتریک به محیط کشت ممکن است اشکال مختلفی از آلومینیم و کروم را در محیط کشت به وجود آورد که جذب بعضی از آنها توسط ارقام مختلف سورگوم سریع‌تر و یا کندتر باشد. تحقیقات نشان می دهد که یون کروم با گروه‌های سولفی‌دری‌ل غشاء پیوند قوی برقرار می‌کند که با این عمل نفوذ پذیری غشاء سلول‌های ریشه کاهش می‌یابد. نتایج آزمایش نشان می‌دهد که EDTA جذب کروم را در مقایسه با شاهد افزایش می‌دهد، بنابراین EDTA تاثیر کروم را روی غشاء کاهش داده و ممانعت از جذب سایر عناصر تا حدودی کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که جذب بیشرکروم به همراه EDTA احتمالا از طریق سیستم انتقالی کلاته کننده‌های آهن و روی صورت می‌گیرد.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کروم مقدار پروتئین و پلی‌فنل را کاهش داده ولی مقدار تانن را افزایش می‌دهد. تانن به دو طریق می‌تواند در کاهش سمیت فلزات سنگین در گیاهان کمک کند: (الف) با ایجاد پیوند بین تانن و فلزات سنگین در واقع کلاته کردن این فلزات و (ب) تانن به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان. به طور متوسط ۷۰٪ آلومینیم در برگ‌های رقم ۱۳۲ و حدود ۵۰٪ آلومینیم در برگ‌های رقم ۵۵۲ به وسیله تانن مهار می‌شود. این موارد برای کروم در رقم ۱۳۲ تقریبا ۴۰٪ و برای رقم ۵۵۲ حدود ۳۰٪ است. بنابراین بخش فزونی آلومینیم در داخل گیاه توسط تانن مهار می‌شود.

براساس نتایج حاصل از این بررسی، کروم بیشتر از سایر فلزت مقدار تانن در ترکیب با چوب را کاهش می‌دهد. با مقایسه دو رقم سورگوم میزان کاهش تانن پیوند با چوب در رقم ۵۵۲ بیشتر از رقم ۱۳۲ است. به نظر می‌رسد که تغییر مقدار تانن در ترکیب با چوب با سخت شدن دیواره سلولی و برگ‌ها مرتبط است. تانن در ترکی‌ب با چوب از ترکی‌بات مهم دیواره سلول گی‌اهی است و آلومینیم و کروم سرعت چوبی شدن دیواره‌ها را افزایش می‌دهند. با مقایسه برش‌های عرضی تهیه شده از برگ‌ها و ریشه به نظر می‌رسد که آلومینیم و کروم سرعت چوبی شدن را در رقم ۵۵۲ بیشتر از رقم ۱۳۲ افزایش داده‌اند. در این راستا با چوبی شدن سریع ریشه و برگ‌ها مقدار وزن خشک کاهش بیشتری پیدا می‌کند.

آلومینیم مقدار پلی‌فنل‌ها را در دو رقم سورگوم افزایش می‌دهد ولی کروم این مقدار را کاهش می‌دهد. آلومینیم سبب افزایش فعالیت PAL در دو رقم سورگوم می‌شود. اگرچه در غلظت‌های پایین کروم فعالیت PAL افزایش پیدا می‌کند اما در غلظت بالای آن فعالیت PAL در دو رقم سورگوم کاهش نشان می‌دهد. با توجه به فرآیندهای فیزیولوژیکی متنوعی که محصولات سنتزی PAL در گیاهان انجام می‌دهند افزایش فعالیت آنزیم PAL در شرایط تنش فلزات سنگین یک روند منطقی است. کروم فعالیت آنزیمPAL را کاهش داده و متناسب با آن کل فنل نیزکاهش می‌یابد، اما مقدار تانن را در در دو رقم افزایش داده است. با توجه به این نتایج می‌توان گفت: (الف) مسیر سنتز پلی‌فنل‌ها متنوع است اگرچه سنتز از طریق آنزیم

PALتوسط کروم کاهش می‌یابد مسیرهای دیگری نیز وجود دارد زیرا کروم سرعت چوبی شدن را با مصرف تانن پیوند با چوب افزایش می‌دهد،(ب) نوع پلی‌فنلی که در چوبی شدن دیواره مصرف می‌شود احتمالاً تانن پیوند با چوب است و شاید توسط مسیر دیگری غیر از آنزیم PAL ساخته شود و (ج) با توجه به تنوع پلی‌فنل‌ها، به نظر می‌رسد کروم سنتز پلی‌فنل‌های را کاهش داده که پیش ماده های تولید لیگنین نیستند. میزان افزایش فعالیت آنزیم PAL در برگ‌های جوان بیشتر از پیر و آن هم به نوبه خود بیشتر از ریشه است.به نظر می‌رسد محصولات آنزیم PAL در جاهای دیگری هم غیر از چوبی شدن مصرف دارند.

گزارش شده EDTA مقدار فیتوکلات را در ریشه و برگ‌ها کاهش می‌دهد. کروم مقدار فیتوکلات را در ارقام سورگوم افزایش می‌دهد، در مقابل آلومینیم کاهش می‌دهد. مقدار فیتوکلات در رقم ۵۵۲ بیشتر از رقم ۱۳۲ است. کروم بیشتر از آلومینیم مقدار گلوتاتیون را در برگ‌ها افزایش و در ریشه کاهش می‌دهد. از آنجائی‌که گلوتاتی‌ون پی‌ش ماده تشکی‌ل فیتوکلات‌ها است. بنابراین تغییر گلوتاتیون برای دو فلز در ریشه یک روند منطقی است، در واقع متناسب با افزایش غلظت آلومینیم و کروم در ریشه مقدار فیتوکلات افزایش یافته که این افزایش برابر کاهش گلوتاتیون است. متناسب با افزایش غلظت آلومینیم مقدار فیتوکلات هم در تیمار اسید سیتریک باید بیشتر از شاهد باشد ولی چنین نیست و می‌توان نتیجه گرفت که نمی‌توان اثرات سمیت آلومینیم را با اندازه‌گیری مقدارکل آلومینیم توجیه کرد. به نظر می‌رسد بخشی از آلومینیم که به طور مستقیم در ارتباط با قسمت‌های زنده سلول است روی افزایش مقدار فیتوکلات موثر است.

کروم مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدان را بیشتر از آلومینیم افزایش داده در صورتی‌که آلومینیم مقدار مالون‌دی‌آلدهید را در برگ‌ها و ریشه‌های دو رقم افزایش داد. بنابراین افزایش بیشتر آنتی‌اکسیدان همواره با کاهش مقدار پروکسیداز همراه است. با افزایش غلظت کروم و آلومینیم در دو رقم سورگوم سیستم‌های حفاظتی فعال شده و مکانیسم‌های دفاعی را پیش می‌گیرند که یکی از این مکانیزم‌ها افزایش مقدار بیشتر ترکیبات فنلی و تانن است که در تیمار آلومینیم رقم ۱۳۲ فعال است. کروم شدیداً مقدار فیتوکلات وگلوتاتیون را در دو رقم سورگوم افزایش داده که به مقدار بیشتر در رقم ۵۵۲ است. با توجه به نتایج به دست آمده استفاده از سیستم گلوتاتیون و فیتوکلات جهت کاهش سمیت فلزات سنگین بهره‌وری بیشتری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های مانند پلی‌فنل و تانن دارد. هر دو سیستم آنتی‌اکسیدان فرآیند چوبی شدن را افزایش می‌دهند که با افزایش ضخامت ریزودرم و اندودرمیس ریشه در حد ۲-۰/۰۵ میکرومتر (دو یا سه لایه سلول) و افزایش ضخامت سلول‌های باندل شیت و لایه کوتیکول در برش‌های گرفته شده به خوبی نمایان است. تشکیل لایه‌های چوب و افزایش ضخامت در دیواره سلول ریزودرمیس و اندودرمیس مانع از نفوذ بیشتر آلومینیم و کروم به داخل سلول‌های ریشه و آوند چوبی است.

کلمات کلیدی: تانن، پلی‌فنل، تانن پیوند با چوب، فنیل‌آلانین‌آمونیالیز، آنتی‌اکسیدانت، مالوندی‌آلدهید، فیتوکلاتین، گلوتاتیون، چوبی شدن

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول کلیات

۱-۱. مقدمه ۱
۱-۲. سورگوم ۲
۱-۲-۱. گیاه شناسی سورگوم ۲
۱-۲-۲. دما و آب ۳
۱-۲-۳. کیفیت تغذیه‌ای و مصارف سورگوم ۵
۱-۲-۴. کربوهیدرات، املاح و ویتامین دانه سورگوم ۶
۱-۳. تانن ۶
۱-۳-۱. ساختمان شیمیایی تانن فشرده ۸
۱-۳-۲. ساختمان شیمیایی تانن قابل هیدرولیز ۱۱
۱-۳-۳. فعالیت بیولوزیکی تانن‌ها ۱۲
۱-۳-۴. تانن‌ها به عنوان کلاته کننده فلزات ۱۲
۱-۳-۵. تانن‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدانت ۱۳
۱-۳-۶. رسوب پروتئین با تانن ۱۴
۱-۴. فنیل آلانین آمونیالیز ۱۵
۱-۵ فیتوکلات ۱۷
۱-۶.گلوتاتیون ۱۸

فصل دوم

تاثیر عناصر آلومینیم، منگنز، کادمیم و کروم روی مقدار انواع پلی‌فنل‌ها در دو رقم سورگوم دانه‌ای۱۳۲ و ۵۵۲

۲-۱. مقدمه ۲۱
۲-۱-۲ تنش فلزات سنگین در گیاهان ۲۳
۲-۱-۳. مکانیزم‌های گیاهان برای تعدیل مسمومیت (غلظت) فلزات سنگین ۲۴
۲-۱-۴. تاثیر فلزات سنگین روی پلی‌فنل‌ها ۲۶
۲-۱-۵. تاثیر فلزات سنگین روی پروتئین‌ها و قندها ۲۷

عنوان | صفحه

۲-۲ هدف آزمایش ۲۸
۲-۳. مواد و روش‌ها ۲۹
۲-۳-۱. شرایط آزمایش ۲۹
۲-۳-۲. شرایط کاشت و برداشت ۳۰
۲-۳-۳. آماده سازی بذور ۳۰
۲-۳-۴. اندازه‌گیری سطح برگ، وزن برگ و وزن ریشه ۳۰
۲-۳-۵. آماده سازی و اندازه‌گیری متوالی پلی‌فنل‌ها ۳۲
۲-۳-۶. تعیین مقدارکل پلی‌فنل ۳۳
۲-۳-۷. اندازه‌گیری مقدارکل تانن ۳۳
۲-۳-۸. اندازه‌گیری مقدار تانن ترکیب با پروتئین ۳۴
۲-۳-۹. اندازه‌گیری تانن ترکیب با چوب ۳۵
۲-۳-۱۱. تعیین مقدار پروتئین در برگ ۳۶
۲-۳-۱۲. تعیین مقدارکل هیدرات‌های کربن غیر ساختمانی ۳۶
۲-۳-۱۳. روش تهیه برش‌ها و رنگ آمیزی ۳۷
۲-۴. آنالیز آماری نتایج ۳۸
۲-۵. نتایج آزمایش ۳۸
۲-۵-۱. نتایج تحلیل واریانس تاثیر عناصر آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز روی وزن خشک برگ، ریشه، سطح برگ و سختی برگ ۳۸
۲-۵-۲. اثر متقابل فلزات و غلظت‌های آنها روی سه شاخص وزن برگ، وزن ریشه و سطح برگ ۴۰
۲-۵-۳. اثر متقابل غلظت عناصر و برداشت روی تغییرات وزن خشک برگ، ریشه و سطح برگ ۴۰
۲-۵-۴. تاثیرعناصر آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز روی وزن خشک برگ ۴۱
۲-۵-۵. تاثیرآلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز روی سطح کل برگ‌ها ۴۳
۲-۵-۶. تاثیر آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز روی وزن خشک ریشه ۴۴
۲-۵-۷. سختی برگ‌ها ۴۵
۲-۵-۸. اثر گروهی عناصر آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز روی وزن خشک برگ، سطح برگ، وزن ریشه و سختی برگ‌ها ۴۶
۲-۵-۹. مقایسه دو رقم سورگوم از نظر وزن خشک برگ، سطح برگ، وزن ریشه و سختی برگ‌ها. ۴۷

عنوان صفحه

۲-۵-۱۰. مقایسه اثر گروهی فلزات در برداشت‌های مختلف ۴۸
۲-۵-۱۱. نتایج تحلیل واریانس تاثیر چهار فلز آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییر انواع پلی‌فنل‌های برگ در برداشت‌های مختلف ۴۹
۲-۵-۱۲. تغییر مقدار کل پلی‌فنل برگ در برداشت‌های مختلف ۵۰
۲-۵-۱۳. تغییرات کل تانن در برگ ۵۱
۲-۵-۱۴. تغییرات تانن پیوند با پروتئین برگ ۵۲
۲-۵-۱۵. تغییرات تانن پیوند با چوب در برگ‌ها ۵۳
۲-۵-۱۷. تغییرات پروتئین در برگ‌ها ۵۵
۲-۵-۱۸. تغییرکربوهیدرات غیر ساختمانی در برگ ۵۶
۲-۵-۱۹. تاثیر گروهی فلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییرات کل پلی‌فنل، کل پروتئین و کل کربوهیدرات غیر ساختمانی در برگ ۵۷
۲-۵-۲۰. تغییرات کل پلی‌فنل، کل تانن، تانن پیوند با پروتئین، تانن پیوند با چوب، کل پروتئین و کل کربوهیدرات غیر ساختمانی در برگ‌های دو رقم سورگوم ۵۸
۲-۵-۲۱. تغییرات کل پلی‌فنل، کل تانن، تانن پیوند با پروتئین، تانن پیوند با چوب، کل پروتئین و کل کربوهیدرات غیر ساختمانی در برداشت‌های مختلف ۵۹
۲-۵-۲۲. تفسیر نتایج هیستولوژی برش‌های تیمار آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز ۶۱
۲-۵-۲۲-۱. بررسی برش‌های تهیه شده از ریشه و برگ‌ها در تیمار آلومینیم ۶۱
۲-۵-۲۲-۲. بررسی برش‌های تهیه شده از ریشه و برگ‌ها در تیمار کادمیم ۶۳
۲-۵-۲۲-۳. بررسی برش‌های تهیه شده از ریشه و برگ‌ها در تیمار کروم ۶۴
۲-۵-۲۲-۴. بررسی برش‌های تهیه شده از ریشه و برگ‌ها در تیمار منگنز ۶۵
۲-۶. رگرسیون چند متغیره بین عناصر و شاخص‌های مختلف ۷۰
۲-۶-۱ پلی‌فنل‌ها ۷۱
۲-۶-۲ تانن‌ها ۷۲
۲-۶-۳ تانن پیوند با پروتئین ۷۲
۲-۶-۴ تانن پیوند با چوب ۷۲
۲-۶-۶ پروتئین برگ ۷۳
۲-۶-۷. کربوهیدرات برگ ۷۳
۲-۶-۸. نتایج تحلیل رگرسیون ۷۳

عنوان صفحه

۲-۶-۹. مقایسه به صورت دو گروه ۷۴

۲-۷. بحث و نتیجه گیری ۷۴

۲-۷-۱. تاثیرفلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی وزن خشک ریشه و برگ‌ها ۷۴

۲-۷-۲. تاثیر فلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییرات کربوهیدرات سورگوم ۷۷

۲-۷-۳. تاثیر فلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییرات پروتئین در برگ‌ها ۷۸

۲-۷-۵. تاثیرفلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییرات پلی‌فنل‌ها در برگ‌ها ۷۹

۲-۷-۶. تاثیر فلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییر کل نانن‌ها در برگ‌ها ۸۱

۲-۷-۷. تاثیر فلزات آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز روی تغییرات نانن در ترکیب با پروتئین و چوب در برگ‌ها ۸۲

۲-۷-۸. سختی برگ‌ها ۸۴

۲-۷-۹. اختصاص منابع به پلی‌فنل‌ها و تانن به منظور سازگاری برای کاهش سمیت فلزات ۸۵

۲-۷-۱۰. مقایسه منابع سازگاری نسبت به تنش فلزات در دو رقم سورگوم ۸۷

فصل سوم

مقایسه مقدار انواع تانن (تانن پیوند با آلومینیم، کروم و تانن آزاد) و میزان برداشت، توزیع و سرعت انتقال آلومینیم و کروم در دو رقم سورگوم ۱۳۲ و ۵۵۲

۳-۱. مقدمه ۸۹

۳-۱-۲. جذب کروم ۹۱

۳-۱-۳. چرخش کروم در داخل گیاهان ۹۲

۳-۱-۴ جذب آلومینیم ۹۳

۳-۱-۵. انتقال آلومینیم ۹۴

۳-۱-۶. ویژگی‌های تانن برای کلاته کردن ۹۵

۳-۲ هدف آزمایش ۹۶

۳-۳. مواد و روش‌ها ۹۷

۳-۳-۱. شرایط آزمایش ۹۷

۳-۳-۲. تهیه نمونه ریشه و تقسیم بندی آن براساس فاصله از نوک ریشه ۹۷

۳-۳-۳. تهیه نمونه برگ و تقسیم‌بندی آنها براساس سن ۹۷

۳-۳-۴. برداشت نمونه ازعصاره محیط کشت ۹۸

۳-۳-۵. روش انتخابی جهت تعیین مقدار تانن پیوند با آلومینیم و کروم در نمونه گیاهی ۹۸

عنوان صفحه

۳-۴. نتایج آزمایش ۹۹
۳-۴-۱. تغییر غلظت عناصر آلومینیم و کروم در محیط کشت ۹۹
۳-۴-۲. نتایج تحلیل واریانس تغییر مقدار کروم در برگ‌های دو رقم سورگوم ۱۰۰
۳-۴-۳. مقایسه سرعت انتقال کروم در رقم ۱۳۲ و ۵۵۲ ۱۰۱
۳-۴-۴. نتایج تحلیل واریانس تغییر مقدار آلومینیم در برگ‌های دو رقم سورگوم ۱۰۲
۳-۴-۵. مقایسه سرعت انتقال آلومینیم در برگ‌های رقم ۵۵۲ و۱۳۲ ۱۰۳
۳-۴-۶. تغییر مقدار کل تانن، آلومینیم و کروم آزاد و پیوند با تانن در رقم ۵۵۲ ۱۰۵
۳-۴-۷. تغییر مقدار کل تانن، آلومینیم و کروم آزاد و پیوند با تانن در رقم ۱۳۲ ۱۰۷
۳-۴-۸. مقایسه ضریب انتقال آلومینیم و کروم از ریشه به برگ‌ها در دو رقم سورگوم ۱۰۹
۳-۵-۱. تغییرات غلظت کروم و آلومینیم در ریشه و برگ‌های سورگوم ۱۱۱
۳-۵-۲. رابطه بین آلومینیم و کروم آزاد با آلومینیم و کروم پیوند با تانن دردو رقم سورگوم ۱۱۶
۳-۵-۳. اندازه‌گیری یون آلومینیم کل و یون آلومینیم پیوند با تانن در برگ‌های تیمار شده ۱۱۷
۳-۵-۴. اندازه‌گیری یون کروم کل و یون کروم پیوند با تانن در برگ‌های تیمار شده ۱۱۸
۳-۵-۵. ویژگی تانن برای جذب کروم و آلومینیم ۱۱۹

فصل چهارم

اثر کروم و آلومینیم روی فعالیت فنیل‌آلا نین‌آمونیالیز، کل لیگنین، آنتی‌اکسیدانت، پروکسیداسیون در دو رقم سورگوم

۴-۱. مقدمه ۱۲۱
۴-۱-۲. واکنش سنتزی فنیل‌آلانین‌آمونیالیز ۱۲۲
۴-۱-۳. متابولیسم پلی‌فنل‌ها ۱۲۳
۴-۱-۴. منشاء تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی ۱۲۴
۴-۱-۵. نقش آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها ۱۲۵
۴-۲. هدف آزمایش ۱۲۷
۴-۳. مواد و روش‌ها ۱۲۸
۴-۳-۱.شرایط آزمایش ۱۲۸
۴-۳-۲. اندازه‌گیری وزن برگ و وزن ریشه ۱۲۸
۴-۳-۳. اندازه‌گیری مقدار لیگنین ۱۲۸
۴-۳-۴. اندازه‌گیری میزان پروکسیداسیون لیپیدها ۱۲۹

عنوان | صفحه

۴-۳-۵. اندازه‌گیری فعالیت PAL ۱۳۰
۴-۳-۶. اندازه‌گیری مقدار کل آنتی‌اکسیدانت ۱۳۱
۴-۴. نتایج ۱۳۲
۴-۴-۱.اثر فلزات کروم و آلومینیم روی تغییرات وزن برگ و ریشه ۱۳۲
۴-۴-۲. نتایج تحلیل واریانس تاثیر آلومینیم، کروم روی تغییر فعالیت PAL در اجزاء مختلف سورگوم. ۱۳۳
۴-۴-۳. اثر کروم و آلومینیم روی تغییر فعالیت فنیل‌آلانین‌آمونیالیز ۱۳۴
۴-۴-۴. نتایج تحلیل واریانس تاثیر آلومینیم، کروم روی تغییر مالوندی‌آلدهید در اجزاء مختلف سورگوم. ۱۳۵
۴-۴-۵. تغییرات پروکسیداسیون در اجزاء مختلف دو رقم سورگوم در تیمار کروم و آلومینیم ۱۳۶
۴-۴-۶. نتایج تحلیل واریانس تاثیر آلومینیم، کروم روی تغییر مقدار لیگنین در اجزاء مختلف سورگوم. ۱۳۷
۴-۵-۷. تغییرات مقدار لیگنین در غلظت‌های مختلف کروم و آلومینیم ۱۳۸
۴-۴-۷. نتایج تحلیل واریانس تاثیر فلزات آلومینیم، کروم روی تغییر مقدار آنتی اکسیدان در اجزاء مختلف سورگوم. ۱۳۹
۴-۵-۸. تغییرات مقدار کل ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت‌های مختلف کروم و آلومینیم ۱۴۰
۴-۶. بحث و نتیجه گیری ۱۴۱
۴-۶-۱. اثر کروم و آلومینیم روی تغییرات وزن خشک برگ‌ها، ریشه ۱۴۱
۴-۶-۲. اثر کروم و آلومینیم روی فعالیت فنیل‌آلانین‌آمونیالیز ۱۴۲
۴-۶-۳. رابطه بین تولید پلی‌فنل‌ها (تانن) فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و پروکسیدازها در دو رقم سورگوم ۱۴۳

فصل پنجم

تاثیرعوامل کلاته کننده خارجی (تانن، اسید سیتریک، EDTA)روی تغییرات فیتوکلات‌های غیرپروتئینی، گلوتاتیون و جذب آلومینیم و کروم در دو رقم سورگوم ۵۵۲ و۱۳۲

۵-۱. مقدمه ۱۴۸
۵-۱-۲. نقش فیتوکلات‌ها در گیاهان ۱۴۹
۵-۱-۳. نقش گلوتاتیون در گیاهان ۱۵۰

عنوان صفحه

۵-۱-۴. نقش فیتوکلات‌ها و گلوتاتیون درکاهش سمیت فلزات سنگین ۱۵۱
۵-۲. هدف آزمایش ۱۵۲
۵-۳. مواد و روش‌ها ۱۵۳
۵-۳-۱. شرایط آزمایش ۱۵۳
۵-۳-۲. تعیین ضریب مقاومت و سرعت نسبی ممانعت ۱۵۳
۵-۳-۳. اندازه‌گیری ترکیبات غیر پروتئینی-تیول ۱۵۴
۵-۳-۴. تعیین مقدار کل گلوتاتیون ۱۵۵
۵-۳-۵. اندازه‌گیری میزان آلومینیم وکروم ۱۵۵
۵-۵. نتایج آزمایش ۱۵۶
۵-۵-۱. تغییر ضریب مقاومت وزن ریشه با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۵۶
۵-۵-۲. تغییر ضریب مقاومت وزن برگ با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۵۷
۵-۵-۳. نتایج تجزیه واریانس آزمایش اثر فلزات آلومینیم، کروم روی تغییرات مقدار فیتوکلات و گلوتاتیون ۱۵۸
۵-۵-۴ تغییر مقدار فیتوکلاتِ برگ با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۵۹
۵-۵-۵ تغییر مقدار فیتوکلات ریشه با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۶۰
۵-۵-۶ تغییر مقدار گلوتاتیون برگ با تغییر مقدار آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۶۱
۵-۵-۷. تغییر مقدار گلوتاتیون ریشه با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۶۳
۵-۵-۸. تغییر مقدار آلومینیم و کروم ریشه با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۶۵
۵-۵-۹. تحلیل واریانس آلومینیم، کروم روی تغییرات مقدار گلوتاتیون و فیتوکلاتین ۱۵۸
۵-۵-۱۰. تغییر مقدار آلومینیم و کروم برگ با حضور آلومینیم، کروم و کلاته کننده‌ها ۱۶۶
۵-۶. بحث و نتیجه گیری ۱۶۷
۵-۶-۱. ضریب مقاومت برگ ۱۶۷
۵-۶-۲. اثر EDTA، تانن و اسید سیتریک روی جذب و تجمیع آلومینیم و کروم در سورگوم ۱۶۹
۵-۶-۳. اثرترکیبات کلاته کننده خارجی روی میزان غلظت فیتوکلات کل گلوتاتیون در ریشه و برگ‌ها ۱۷۲

فصل ششم

جمع بندی نهایی

عنوان صفحه

نتایج ۱۹۴
پیشنهادات ۱۹۶
منابع و مأخذ ۱۹۱

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱. نتایج تحلیل واریانس تغییرات وزن برگ، وزن ریشه، سطح برگ و سختی..... ۳۸

جدول ۲-۲. اثر متقابل غلظت و فلزات روی شاخص‌های وزن ریشه، وزن برگ(g)، سط برگ..... ۴۰

جدول ۲-۳. اثر متقابل غلظت عناصر و برداشت مختلف روی شاخص‌های وزن ریشه، وزن..... ۴۰

جدول ۲-۴. تاثیر چهار عنصرآلومینیم، کادمیم، کروم و منگنزروی مقادیر وزن خشک برگ..... ۴۱

جدول ۲-۵. سطح کل برگ در برداشت‌های مختلف در ارقام مختلف سورگوم (۱۳۲ و ۵۵۲)..... ۴۳

جدول ۲-۶. میانگین مقادیر کل پلی‌فنل در برگ در ارقام مختلف سورگوم..... ۵۰

جدول ۲-۷. میانگین مقادیر کل تانن در برگ در ارقام مختلف سورگوم ۵۱

جدول۲-۸. میانگین مقادیر تانن پیوند با پروتئین برگ در ارقام سورگوم ۵۲

جدول۲-۹. میانگین مقادیر تانن پیوند با چوب در برگ در ارقام مختلف سورگوم..... ۵۳

جدول ۲-۱۰. میانگین مقادیر پروتئین‌های برگ در ارقام مختلف سورگوم..... ۵۵

جدول ۲-۱۱ میانگین مقادیر کربوهیدرات در برگ مختلف در ارقام مختلف سورگوم..... ۵۶

جدول۲-۱۲. رابطه درصد پیش‌بینی تغییرات وزن برگ توسط انواع..... ۷۰

جدول۳-۱. مقدار غلظت آلومینیم و کروم در عصاره محیط کشت..... ۹۹

جدول۳-۲ غلظت کروم در ریشه و برگ‌ها..... ۱۰۱

جدول۳-۳. غلظت آلومینیم در ریشه و برگ‌ها ۱۰۳

جدول ۳-۴. میانگین مقادیر کل تانن، غلظت آلومینیم و کروم در برگ‌های مختلف رقم۵۵۲ ...۱۰۵

جدول۳-۵. میانگین مقادیر کل تانن غلظت آلومینیم و کروم در برگ‌های مختلف رقم۱۳۲..... ۱۰۷.

جدول۳-۶. درصد تغییر غلظت عناصر آلومینیم و کروم در بخش بالای گیاه نسبت به ریشه..... ۱۱۱

جدول۴-۱. اثر غلظت‌های مختلف آلومینیم و کروم روی مقدار وزن خشک ریشه..... ۱۳۲

جدول۴-۲. بررسی اثر کروم و آلومینیم روی میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیز..... ۱۳۴

جدول۴-۳. بررسی اثر غلظت‌های مختلف کروم و آلومینیم روی میزان تغییر مالون دی آلدهید..۱۳۵

جدول۴-۴. بررسی اثر غلظت‌های مختلف کروم و آلومینیم روی میزان لیگنین..... ۱۳۸

جدول۴-۵ میانگین مقادیر آنتی‌اکسیدانت در اجزاء مختلف ارقام سورگوم ۱۴۰

جدول ۵-۱ مقادیر درصد تغییر ضریب مقاومت ریشه..... ۱۵۶

عنوان صفحه

جدول ۵-۲ مقادیر درصد تغییر ضریب مقاومت برگ..... ۱۵۷
جدول۵-۳. مقدار کل فیتوکلات در برگ‌های دو رقم سورگوم ۱۵۹
جدول۵-۴. مقدار کل فیتوکلات در ریشه‌های دو رقم سورگوم ۱۶۰
جدول۵-۵. مقدار کل گلوتاتیون در برگ‌های دو رقم سورگوم..... ۱۶۱
جدول۵-۶ مقدار کل گلوتاتیون در ریشه‌های دو رقم سورگوم ۱۶۳
جدول۵-۷ اثر غلظت‌های مختلف آلومینیم و کلاته کننده‌ها روی مقدار آلومینیم و کروم.ریشه..۱۶۵
جدول۵-۸. اثر غلظت‌های مختلف آلومینیم و کلاته کننده‌ها روی مقدار آلومینیم و کروم برگ..۱۶۶

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱. ساختمان میوه رسیده سورگوم ۵
شکل۱-۲. ساختمان مولکولی فلاونوئید..... ۶
شکل۱-۳. اپی‌کاتکین و کاتکین ۹
شکل ۱-۴. ساختار مولکولی اپی گالوکاتکین..... ۱۰
شکل۱-۵. ساختار مولکولی پروسیانیدین جداشده از سورگوم ۱۱
شکل ۱-۶ واکنش سنتز پلیفنل به وسیله PAL ۱۶
شکل ۱-۷. سیکل اکسیداسیون و احیاء گلوتاتیون..... ۱۹
شکل ۲-۱ فلوچارت مراحل جداسازی پلی‌فنل‌ها و پروتئین از نمونه های گیاهی..... ۳۲
شکل ۲-۲. برش عرضی از ناحیه بالای تار کشنده تیمار آلومینیم، نوک ریشه رقم۱۳۲..... ۶۱
شکل ۲-۳ برش عرضی از برگ رقم ۱۳۲ پر تانن و رقم ۵۵۲ کم تانن..... ۶۲
شکل ۲-۴ برش‌های عرضی از نوک ریشه در تیمار کادمیم رقم ۱۳۲..... ۶۳
شکل۲-۵ برش عرضی نوک ریشه در تیمار کروم رقم ۱۳۲..... ۶۴
شکل ۲-۶ برش عرضی که از ناحیه بالای تار کشنده، تیمار منگنز رقم ۱۳۲ ..... ۶۵

پیشگفتار

در نتیجه پیشرفت‌های بشر طی فرآیند صنعتی شدن مقدار زیادی فلزات سنگین از منابع مختلف از قبیل سوخت‌های فسیلی، کارخانجات آبکاری و کارخانجات کودهای شیمیایی وارد محیط شده و محیط را آلوده می‌کنند. مکانیزم‌های متفاوتی از قبیل جذب عناصر به داخل ریشه، رسوب آنها در داخل ریشه، تغییر ظرفیت‌های فلزات در داخل ریشه و نواحی اطراف ریشه و همچنین تجمع عناصر توسط ترشحات ریشه از فرآیندهای تثبیت عناصر توسط گیاهان است. سورگوم یک گیاه C_4 است که توانایی بالای جهت ساختن مواد آلی دارد و در ضمن در شرایط مختلف شوری، خشکی و باتلاقی به آسانی رشد می‌کند. ارقام مقاومی از سورگوم وجود دارند که می‌توانند در کانال‌های فاضلاب و آب‌های آلوده به فلزات صنعتی به آسانی رشد کنند. مقدار تانن در ارقام سورگوم بین ۶٪-۱۸٪ تغییر می‌کند. در بیشتر تحقیقات کاربردی از پلی‌فنل‌ها به خصوص تانن به عنوان یک کلاته کننده در شرایط غیر زیستی برای جدا سازی آلومینیم، کروم، کادمیم و منگنز از فاضلاب صنایع آبکاری و چرم‌سازی، استفاده شده است در فصل دوم این تحقیق ابتدا تاثیر چهار فلز فلزات سنگین(Al، Cd، Mn و Cr) روی ویژگی‌های رشد و نمو دو رقم سورگوم بررسی شد. از آنجائی‌که این چهار فلز از لحاظ ظرفیت، پتانسیل ردوکس و فرم جذب و انتقال متفاوت هستند، طبیعتاً تاثیر متفاوتی روی پلی فنل‌ها در سورگوم خواهند داشت. از طرفی در شرایط غیر زیستی تانن می‌تواند فلزات سنگین(Al، Cd، Mn و Cr) را کلاته کند. لذا از سورگوم برای بررسی افزایش غلظت فلزات نامبرده و سازکارهای احتمالی که گیاه بکار می‌گیرد جهت کلاته کردن این فلزات توسط تانن مورد بررسی قرار خواهد گرفت. برای بررسی اثر فلزات سنگین آلومینیم، کادمیم، کروم و منگنز در غلظتی بالاتر از سطح سمیت روی دو رقم سورگوم ۱۳۲ و ۵۵۲ طراحی و اثر این فلزات روی ترکیبات پلی‌فنلی (کل فنل، کل تانن، تانن پیوند با پروتئین، تانن پیوند با چوب و آلکالوئید) و متابولیت‌های اولیه (کل پروتئین و کل هیدرات کربن غیر ساختمانی) و ویژگی‌های مرفولوژیکی مانند سختی برگ‌ها روی دو رقم سورگوم ارزیابی گردید با مقایسه دو رقم سورگوم مشخص شد که در رقم ۱۳۲ که مقدار پلی‌فنل بیشتری دارد و سختی برگ‌ها در این رقم کم است در حالی‌که رقم ۵۵۲ که مقدار پلی‌فنل کمتری دارد، سختی برگ‌های بیشتر دارد. افزایش و یا کاهش تانن در ترکیب با چوب با سمیت کروم و آلومینیم ارتباط دارد . لذا در فصول بعدی این تحقیق با توجه به تاثیر متفاوت آلومینیم و کروم در آزمایش اول روی پلی‌فنل‌ها این دو فلز انتخاب شدند تا مشخص شود چه مقدار آلومینیم و کروم توسط تانن در دو رقم با رفتار متفاوت کلاته می‌شود. در ضمن سرعت انتقال این فلزات در داخل گیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می دهد که کروم فعالیت آنزیم