

رابطه بین مقدار فیتوکلات کل و فیتوکلات پیوند با Al^{+3} و Si^{+2} با توزیع یون Al^{+3} و Si^{+2} در ریشه و برگ‌های دو رقم برنج ایرانی (*Oryza sativa* L.)

حیدرعلی مالمیر^{۱*} و اللهیار فلاح^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، ^۲عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات برنج آمل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۰/۲۵)

چکیده

فیتوکلات‌ها ترکیبات بارداری هستند که با عناصر پیوند تشکیل می‌دهند. بدین منظور در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه بوعلی سینا اثر Al^{+3} ، Si^{+2} و Al^{+3} روی مقدار فیتوکلات کل، فیتوکلات پیوند با Al^{+3} و Si^{+2} و توزیع یون Al^{+3} ، Si^{+2} در دو رقم برنج با مقاومت‌های متفاوت نسبت به شوری بررسی شد. در این تحقیق گیاهچه‌های ۳۰ روزه برنج (شیرودی، آوس) در کشت شن با محلول‌های حاوی Al^{+3} و Si^{+2} در قالب طرح اسپلیت پلات در زمان تیمار شدند و هر سه روز نمونه برداری انجام گرفت. نتایج نشان داد بین دو رقم برنج از نظر توزیع یون Al^{+3} و Si^{+2} در ریشه و برگ‌ها اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). با مقایسه غلظت Al^{+3} و Si^{+2} در ریشه و انواع برگ ملاحظه شد غلظت Al^{+3} در گیاه بخش‌بندی شده است. روند جذب Si^{+2} در ابتدا شیب غلظت از پایین به بالای گیاه سپس برعکس شد. در صورتی که در روند جذب Al^{+3} شیب غلظت از پایین به بالای گیاه تشدید شد. مقدار Al^{+3} با فیتوکلات بیش از Al^{+3} آزاد است. مقدار Si^{+2} با فیتوکلات کمتر از Si^{+2} آزاد است. لذا نتایج نشان داد فیتوکلات‌ها ترکیباتی هستند که ممکن است متحرک یا غیرمتحرک باشند و نقش مهمی در تعادل بار و انتقال کاتیون‌ها دارند و مقاومت بیشتر رقم آوس به Al^{+3} به دلیل افزایش فیتوکلات غیرمتحرک در ترکیب با Al^{+3} در ریشه بود.

واژه‌های کلیدی: توزیع یون Al^{+3} و Si^{+2} ، حجره‌بندی، انواع فیتوکلات

مقدمه

به میزان زیادی عناصر را در درون خود تجمع می‌دهند (Miyasaka and Hawes, 2001). گیاهان بومی یک ناحیه اغلب با مکانیزم‌های متفاوتی به خاک‌های آلوده مقاومت نشان می‌دهند و این مقاومت یک ویژگی کاملاً ضروری برای بقا آنها است.

بیشتر تحقیقات نشان داد که گیاهان دارای ترکیبات درشت مولکولی به نام فیتوکلات هستند که از واحدهای اسیدهای آمینه تشکیل شده است. این مولکول از نظر

گیاهان سازوکارهای متعددی جهت مقاومت نسبت به غلظت بالای عناصر به کار می‌گیرند. در بعضی از گونه‌ها مقاومت به جذب عناصر با جلوگیری از انتقال آنها به داخل سلول‌های ریشه است. این گیاهان پتانسیل بالایی جهت ممانعت از ورود عناصر به داخل سلول ریشه دارند (Brown et al., 2004). گروه دیگری از گیاهان مانع از ورود عناصر به داخل ریشه نمی‌شوند، بلکه این گیاهان

فیتوکلات‌های گیاهی میل ترکیبی بیشتری برای کلاته کردن عناصر دوظرفیتی به خصوص آهن در مقایسه با عناصر تک‌ظرفیتی دارند (Leopold *et al.*, 1999). از طرفی جذب برخی از عناصر با انواع فیتوکلات آسان‌تر است.

با مقایسه کینتیکی منحنی‌های جذب Al^{+3} در گندم و عناصر دوظرفیتی نشان داده شد که جذب این عناصر به صورت دو مرحله‌ای است که دارای دو فاز پیک جذب است. فاز اولیه کوتاه و سریع و قابل‌اشباع و فاز بعدی کمی طولانی‌تر و خطی است. فاز سریع اولیه مربوط به تجمع این عناصر در آپوپلاسم قابل تبادل است. با توجه به گزارش Juan و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیشتر مقدار Al^{+3} بعد از ۶۰ دقیقه جذب ریشه‌ای در ترکیب با اسید سیتریکی است که از داخل ریشه به محیط خارج ترشح شده است. فاز خطی در جذب Al^{+3} ممکن است انتقال Al^{+3} در مسیر آپوپلاسم را براساس تفسیر داده‌هایی که کینتیک جذب را با جای‌جای Al^{+3} با عناصر دیگر در فضای آپوپلاسم که وابسته به متابولیسم است را توجیح می‌کند (Miyasaka and Hawes, 2001; Ma, 2000).

تحقیقات Chen و همکاران (۱۹۹۷) نشان داد که فیتوکلات در شرایط زیستی با وضعیت اکسیدآسیون / احیای بالا به مقدار زیاد با انواع عناصر آلومینیم، کادمیم، پیوند ایجاد می‌کند. لذا در این تحقیق با توجه به رفتار متفاوت Al^{+3} و Si^{+2} در گیاهان، همچنین با مقایسه دو رقم برنج با توجه به گزارش مرکز تحقیقات برنج کشور رقم آوس مقاوم به شوری است در حالی که رقم شیرودی به شوری حساسیت دارد. بنابراین این آزمایش به منظور تعیین روابط بین توزیع و سرعت انتقال دو عنصر Al^{+3} و Si^{+2} ، میزان فیتوکلات در دو رقم برنج شیرودی و آوس به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

آزمایش از اول خرداد تا اواخر مردادماه سال ۱۳۹۱

ساختمان و تراکم گروه‌های عاملی باعث ایجاد تراکم فوق‌العاده بار بر روی مولکول می‌شود. ساختار مولکول با توجه به سطح ویژه آن خاصیت جذب‌کنندگی زیادی دارد و قادر است با انواع کاتیون‌ها پیوند تشکیل دهد. بعضی از گیاهان نسبت به غلظت بالای عناصر از جمله Al^{+3} در خاک مقاوم هستند. انواع متفاوتی از گونه‌های برنج وجود دارند که غلظت کم Al^{+3} را تحمل می‌کنند (Ma, 2004; Chaffai *et al.*, 2009).

مقدار عنصر Si^{+2} در اغلب خاک‌ها بالا است. تحقیقات زیادی نشان داد که جذب Si^{+2} آسان صورت می‌گیرد (Epstein, 1999). Epstein در سال ۱۹۹۹ گزارش داد گیاهان مختلف در توانایی انباشت Si^{+2} در بافت‌های خود تفاوت دارند، و با افزایش غلظت Si^{+2} در محیط رشد، غلظت آن در بافت‌های گیاهی افزایش می‌یابد. از جمله آثار مثبت غلظت‌های زیاد Si^{+2} در گیاهان افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز است که به دنبال آن افزایش تولید محصول را در پی خواهد داشت. Si^{+2} یک کاتیون است و با توجه به غلظت آن در خاک‌ها به نظر می‌رسد جذب سایر کاتیون‌ها دچار مشکل شود، ولی چنین نیست. بنابراین فرم Si^{+2} در داخل خاک و یا فرم جذب آن چنین رقابتی را نشان نداده است. میزان Si^{+2} در برگ‌ها بین ۱۰۰ تا ۸۰۰ ppm و در ریشه بین ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ ppm در شرایط طبیعی گزارش شده است (Epstein, 1999; Richmond and Sussman, 2003).

گزارش‌های زیادی نشان داده که یک رابطه مثبت بین افزایش غلظت عناصر تک‌ظرفیتی و دوظرفیتی در محیط کشت و مقدار فیتوکلات تولیدشده در ژنوتیپ‌های مختلف غلات وجود دارد (Juan and Charlotte, 2002). با این وجود تولید فیتوکلات‌های گیاهی توسط گیاهان رشدیافته در خاک غنی از Si^{+2} و نقش این فیتوکلات‌ها در انتقال و جذب این عنصر از خاک‌هایی که با افزایش Si^{+2} روبرو هستند هنوز به اثبات نرسیده است. این موضوع به خصوص از این جهت دارای اهمیت است که

دی اتیلن تری آمینو پنتا اسید استیک (DTPA) داخل هاون کاملاً ساییده شد. محتویات ساییده شده را به مدت ۱۰ دقیقه به حال خود گذاشته، و بعد از سانتریفوژ با دور ۱۲۰۰۰g در ۴°C برای مدت ۱۰ دقیقه محلول رویی برای اندازه گیری فیتوکلات به داخل لوله آزمایش دیگری منتقل شد. برای ثابت نگه داشتن PH محیط به تدریج (H₂PO₄K) ۰/۵ مولار به طور جداگانه داخل لوله های آزمایش ریخته با هم مخلوط شد، و میزان جذب را با دستگاه اسپکترومتر در طول موج ۴۱۲ نانومتر یادداشت گردید (Perkin, Elmer Lambda, 45 UV/VIS, D6484, USA). سپس منحنی استاندارد تهیه شد و در پایان غلظت فیتوکلاتین بر حسب $\mu\text{mol/g}^{-1}$ FW محاسبه گردید.

اندازه گیری مقدار فیتوکلات پیوند با Al^{+3} و Si^{+2} :
 برای اندازه گیری مقدار فیتوکلات پیوند با آلومینیم در این تحقیق از روش Sema و همکاران (۲۰۰۵) که برای جداسازی Al^{+3} پیوند با پلی فنل ها در برگ های چای انجام شده بود به صورت انتخابی برای اولین بار جهت تعیین Al^{+3} و Si^{+2} پیوند با فیتوکلات استفاده گردید. از آنجایی که این روش جداسازی براساس شستشوی یونها و تشکیل رسوب است، بنابراین می تواند برای جداسازی عناصر از فیتوکلات ها نیز مورد استفاده قرار بگیرد. برای این منظور بعد از جداسازی فیتوکلات کل توسط روش ذکر شده مقدار ۱۵ ml از محتویات نمونه برگی تیمار شده با Al^{+3} را با ۶ ml از BSA (Bovien Serum Albumin) با غلظت 2 g.L^{-1} مخلوط کرده، سپس این مخلوط در حمام داغ در دمای ۹۰°C برای مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد و بعد از سرد شدن در دور ۸۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. غلظت Al^{+3} در محلول رویی سریع با دستگاه (FAAS Fleam Atomic Absorbtion Spectrometer) تعیین شد. برای تعیین غلظت Al^{+3} در رسوب آن را در ۱۰ ml سدیم دودسیل سولفات (SDS) حل کرده، سپس غلظت Al^{+3} با دستگاه FAAS اندازه گیری شد. با آزمایش زمان های متفاوت برای

به مدت ۴۸ روز قبل از گلدهی، هنگام طویل شدن ساقه های برنج در گلخانه دانشگاه بوعلی سینا انجام گرفت. طرح آزمایش در قالب طرح اسپلیت پلات در زمان در دو بلوک سیمانی با مساحت هر بلوک دو متر مربع به تعداد ۷۰ عدد گیاه برنج از دو رقم جداگانه در داخل هر بلوک کشت گردید. روش نمونه برداری به صورت تصادفی و منظم انجام گرفت. بذور ارقام برنج *Oriza sativa* (L.) شیرودی و آوس که در آزمایش های قبلی به ترتیب با ویژگی های حساس و مقاوم به شوری در آنها مشخص شده بود از مرکز تحقیقات برنج کشور در شهر آمل تهیه گردید. آزمایش در محیط کشت شن انجام گرفت و گیاهان ۳۰ روز بعد از جوانه زنی با محلول هوگلند با غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر Si^{+2} از دی اکسید سیلیسیم (SiO₂) که در آب محلول و به فرم یونی محلول $\text{Si}(\text{OH})_4$ قابل جذب گیاه است و ۳۰ میلی گرم در لیتر از Al^{+3} از (AlCl₃) آبیاری شدند (Ma, 2003). با ظهور اولین برگ، برگ ها براساس سن برگ از پیرترین تا جوان ترین برگ علامت زده شدند تا مطابق با هدف آزمایش برداشت شوند. برای تعیین مقدار توزیع، ضریب تجمع و ضریب انتقال یون Al^{+3} و Si^{+2} در اندام های ارقام برنج و همچنین مقدار برداشت این عناصر از محیط کشت نمونه برداری هنگام رشد ساقه به ترتیب در ۳۶، ۳۳، ۳۹، ۴۲، ۴۵ و ۴۸ روز بعد از جوانه زنی انجام گرفت. پس از برداشت ابتدا وزن تر نمونه ها تعیین شد سپس نمونه ها در داخل آون خشک گردید و وزن خشک آنها تعیین گردید. برای تعیین ضریب تجمع و ضریب انتقال از روش (Bonanno et al., 2010) استفاده شد. غلظت عناصر در نمونه های زه آب و داخل برگ ها به روش خاکستر تر با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد.

اندازه گیری مقدار فیتوکلات کل: میزان فیتوکلات به روش (De Vos et al., 1992) اندازه گیری شد. در این روش مقدار دو گرم از ماده تر گیاهی را با ۲۰ میلی لیتر اسید ۵- سولفو سالیسیلیک (SSA) ۰.۵٪ و ۲۰ میلی لیتر

محیط‌کشت به تدریج غلظت Al^{+3} در ریشه افزایش و به خصوص در ریشه رقم آوس بیشتر از رقم شیروودی است ($P < 0/05$ ، جدول ۴). بعد از گذشت شش روز از اضافه شدن Al^{+3} به محیط‌کشت، در رقم آوس تقریباً ۵۰٪ Al^{+3} در ریشه اصلی باقی ماند و بقیه به قسمت‌های بالای گیاه منتقل شد. با توجه به توزیع دو عنصر Al^{+3} و Si^{+2} مشاهده شد Si^{+2} با سرعت بیشتری در داخل گیاه انتقال پیدا کرد، در حالی که Al^{+3} از عناصر اساساً سرعت انتقال کمی داشته و از انتقال آن به داخل ریشه جلوگیری شده است. ملاحظه شد Al^{+3} در ریشه دو رقم برنج بیشتر از Si^{+2} تجمع شده است ($P < 0/05$). تغییرات غلظت Si^{+2} از الگوی زیر تبعیت می‌کند.

ریشه = مریستم انتهایی = برگ پایین < برگ‌های وسط = برگ‌های بالا

با مقایسه مقدار Si^{+2} و Al^{+3} انتقال یافته، ضریب انتقال Si^{+2} در دو رقم برنج یکنواخت‌تر از ضریب انتقال Al^{+3} است. مقدار ضریب انتقال Si^{+2} با پیرشدن گیاه افزایش یافت، در صورتی که ضریب انتقال Al^{+3} در دو رقم برنج کاهش یافت و این کاهش در رقم آوس سریع‌تر از رقم شیروودی بود. بنابراین با مقایسه غلظت Al^{+3} در محیط‌کشت، ریشه و برگ‌ها ملاحظه شد که تغییرات غلظت Al^{+3} از الگوی زیر تبعیت می‌کند.

ریشه < برگ پایین < برگ‌های وسط < برگ‌های بالا < مریستم انتهایی

غلظت Al^{+3} در محیط‌کشت بیشتر از ریشه و در ریشه هم بیشتر از برگ‌ها بود. در حقیقت شیب غلظت از محیط‌کشت تا انتهای قسمت هوایی تقسیم‌بندی شده است (جدول ۵). در صورتی که این روند در مورد Si^{+2} وجود نداشت. در حقیقت ابتدای رشد یک شیب غلظت از محیط‌کشت به انتهای قسمت هوایی وجود داشت و به تدریج این روند به سمت برابری و در آخر عکس شد (جدول ۳). از آنجایی که گیاه برنج دائماً در حال رشد است، به خصوص در مرحله نمودی القای خوشه است که

تشکیل رسوب Si^{+2} ، در نهایت بهترین زمان لازم برای تشکیل رسوب در $pH=6$ برابر ۳۰ دقیقه به دست آمد. در واقع در $pH=6$ و مقدار $BSA=8 \text{ mol}^{-1}$ با زمان ۳۰ دقیقه مناسب‌ترین شرایط برای رسوب Si^{+2} است. برای تجزیه داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۱۲ استفاده شد.

Al^{+3} و Si^{+2} آزاد به وسیله دستگاه جذب اتمی FAAS اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری ابتدا دستگاه جذب اتمی با محلول‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر $AlCl_3$ استاندارد می‌شود. پس از رسم منحنی توسط دستگاه به ترتیب تیمارهای Al^{+3} اندازه‌گیری می‌شود. برای اندازه‌گیری Si^{+2} ابتدا دستگاه جذب اتمی با محلول‌های غلظت صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر SiO_2 استاندارد شد.

نتایج و بحث

مقایسه غلظت Si^{+2} و Al^{+3} در محیط‌کشت، ریشه و برگ‌های دو رقم برنج: با مقایسه تغییرات غلظت عناصر Al^{+3} و Si^{+2} در داخل ریشه گیاه نسبت به تغییرات غلظت این عناصر در محیط‌کشت (جدول ۱) ملاحظه شد که با گذشت زمان غلظت هر دو فلز در محیط‌کشت کاهش یافت. این کاهش غلظت برای Si^{+2} در برداشت‌ها به طور متوسط ۱۸٪ و برای Al^{+3} ۷/۵٪ است ($P < 0/05$). بنابراین متوسط سرعت جذب Si^{+2} بیش از دو برابر Al^{+3} از محیط‌کشت است. بین دو رقم برنج با توجه به غلظت Si^{+2} و Al^{+3} در ریشه و برگ اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$ ، جدول ۲ و ۴). نتایج توزیع این دو عنصر در برگ‌ها و سایر قسمت‌های ریشه در جداول (۳، ۵ و ۱۰) نشان داد مقدار Si^{+2} ابتدا در ریشه اصلی افزایش و سپس کاهش یافت که میزان این کاهش متناسب با افزایش غلظت Si^{+2} در برگ‌ها است (فلاح، ۱۳۸۳). با گذشت زمان غلظت Si^{+2} در برگ‌های ۳، ۴ و ۵ در دو رقم برنج ابتدا افزایش سپس کاهش پیدا کرد ($P < 0/05$ ، جدول ۲). با مقایسه داده‌های (جدول ۵) بعد از اضافه شدن Al^{+3} به

جدول ۱- مقایسه میانگین غلظت Al^{+3} و Si^{+2} در زه آب محیط کشت. اعداد با حداقل یک حرف مشابه در هر ردیف براساس آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر در سطح ۰.۵٪ ندارند.

زمان نمونه برداری (روز بعد از جوانه زنی)							
عناصر ($mg.L^{-1}$)	۳۰	۳۳	۳۶	۳۹	۴۲	۴۵	۴۸
آلومینیم	۳۰ ^a	۲۸/۴ ^b	۲۶/۸ ^c	۲۵/۵ ^d	۲۴/۳ ^e	۲۲ ^f	۲۱/۷ ^g
سیلیسیم	۳۰۰ ^a	۲۸۱/۶ ^b	۲۵۴/۴ ^c	۲۰۷/۳ ^d	۱۶۴/۲ ^e	۱۱۴ ^f	۸۸/۵ ^g

جدول ۲- تحلیل واریانس غلظت Si^{+2} در برگ اول، دوم، سوم، چهارم، پنجم، ششم، قسمت اول ریشه و قسمت دوم ریشه

منابع تغییر	درجه آزادی	برگ اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	اول ریشه	دوم ریشه
فلز	۱	۲۳ ^{**}	۱۴ ^{**}	۱۰ ^{**}	۷ ^{**}	۷ ^{**}	۸ ^{**}	۱۲ ^{**}	۳۷ ^{**}
رقم	۱	۲۷ ^{**}	۱۸ ^{**}	۱۴ ^{**}	۱۲ ^{**}	۹ ^{**}	۷ ^{**}	۲۵ [*]	۳۲ ^{**}
برداشت	۵	۲۵ ^{**}	۳۲ ^{**}	۲۵ ^{**}	۱۶ ^{**}	۱۸ ^{**}	۱۲ ^{**}	۳۱ ^{**}	۲۱ ^{**}
فلز × رقم	۱	۵ [*]	۴ [*]	۵ [*]	۹ ^{**}	۳ [*]	۲/۴۳ ^{ns}	۱۵ ^{**}	۳۱ ^{**}
فلز × برداشت	۵	۳ [*]	۴ [*]	۵ [*]	۶ [*]	۲/۹۱ ^{ns}	۱/۵۲ ^{ns}	۱/۵۳ ^{ns}	۱/۹۱ ^{ns}
رقم × برداشت	۵	۲/۶۵ ^{ns}	۱/۷۴ ^{ns}	۱/۵۷ ^{ns}	۱/۱۵ ^{ns}	۲/۱۵ ^{ns}	۲/۶۷ ^{ns}	۱/۱۱ ^{ns}	۲/۱۵ ^{ns}
فلز × رقم × برداشت	۵	۱/۵۱ ^{ns}	۲/۳۵ ^{ns}	۱/۶۷ ^{ns}	۱/۵۷ ^{ns}	۲/۷۴ ^{ns}	۱/۶۵ ^{ns}	۲/۵۵ ^{ns}	۲/۴۱ ^{ns}
خطای کل	۴۸	۰/۳۲	۰/۲	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۱۳	۰/۱۸	۰/۱
ضریب تغییرات (%)		۷/۳	۴/۲	۵/۶	۷/۹	۵/۴	۴/۵	۷/۲۱	۱۳/۵

ns و *، ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و غیر معنی دار

جدول ۳- مقایسه میانگین غلظت Si^{+2} در ریشه و برگ ها

شیرودی						آوس						
برداشت	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
برگ ۱	۷/۸ ^e	۱۹/۳ ^c	۲۱/۳ ^a	۲۱/۶ ^a	۲۰/۶ ^b	۲۰/۲ ^b	۲۰/۷ ^f	۱۹/۷ ^b	۲۰/۳ ^b	۲۰/۳ ^b	۱۸/۸ ^c	۱۶/۷ ^d
برگ ۲	۳/۳ ^f	۱۷/۶ ^b	۱۸/۱ ^{ab}	۱۹/۴ ^a	۱۹/۲ ^a	۱۹/۱ ^a	۱۵/۷ ^c	۱۹/۵ ^a	۱۹/۳ ^a	۱۶/۳ ^c	۱۳/۴ ^d	۱۲/۸ ^e
برگ ۳	۱	۱۲/۸ ^d	۱۳/۲ ^b	۱۷/۶ ^b	۱۶/۶ ^b	۱۴/۳ ^c	۷/۴ ^f	۱۵/۳ ^c	۱۵/۸ ^a	۱۹/۸ ^a	۲۱/۷ ^a	۱۶/۹ ^b
برگ ۴	۲/۲	۴/۷ ^f	۴/۷ ^f	۱۲/۱ ^d	۱۰/۲ ^e	۹/۳ ^e	۵/۳ ^f	۱۲/۲ ^d	۱۴/۳ ^c	۱۵/۳ ^c	۱۵/۳ ^c	۱۶/۴ ^d
برگ ۵	۲/۲ ^h	۳/۲ ^g	۳/۲ ^g	۹/۵ ^{bc}	۱۰/۵ ^b	۱۱/۶ ^a	۴/۳ ^f	۵/۷ ^e	۵/۷ ^e	۵/۷ ^e	۶/۸ ^d	۱۱/۹ ^a
برگ ۶				۲/۱ ^d	۳/۲ ^c	۶/۷ ^b						۸/۶ ^a
برگ ۷						۸/۳ ^a						۸/۳ ^a
نوک ساقه	۵/۵ ^d	۸/۳ ^c	۱۰/۳ ^b	۱۲/۳ ^a	۱۳/۳ ^a	۱۰/۲ ^b	۷/۷ ^d	۷/۷ ^d	۷/۷ ^d	۷/۷ ^d	۱۰/۴ ^b	۱۰/۹ ^b
اول ریشه	۲۵/۷ ^e	۳۵/۶ ^d	۳۹/۶ ^{bc}	۴۱/۳ ^b	۴۳/۴ ^a	۴۱/۴ ^b	۱۹/۷ ^e	۱۹/۷ ^e	۱۹/۷ ^e	۳۶ ^d	۳۸/۷ ^c	۳۸/۳ ^c
دوم ریشه	۲۱/۴ ^h	۳۰/۷ ^g	۳۲/۷ ^f	۴۰/۸ ^b	۴۱/۸ ^a	۴۱/۵ ^b	۲۱/۵ ^h	۲۰/۶ ^c	۲۰/۲ ^b	۲۰/۲ ^b	۳۴/۸ ^e	۳۴/۵ ^e

مقادیر میانگین ها با حداقل یک حرف مشابه در هر ردیف براساس آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر در سطح ۰.۵٪ ندارند.

جدول ۴- تحلیل واریانس غلظت Al^{+3} در برگ اول، دوم، سوم، چهارم، پنجم، ششم، قسمت اول ریشه و قسمت دوم ریشه

منابع تغییر	درجه آزادی	برگ اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	اول ریشه	دوم ریشه
فلز	۱	۵*	۸**	۱۵**	۱۷**	۱۱**	۱۴**	۹**	۱۶**
رقم	۱	۱۴**	۱۴**	۱۴**	۱۴**	۱۴**	۱۴**	۱۴**	۱/۲ ^{ns}
برداشت	۵	۹**	۶**	۱۴**	۱۰**	۱۵**	۴/۵*	۹/۸**	۱۱/۴**
فلز × رقم	۱	۵/۸*	۳/۲ ^{ns}	۱۲/۳**	۸/۳**	۲/۱۵ ^{ns}	۱/۲۱ ^{ns}	۱۳/۲**	۱/۲۵ ^{ns}
فلز × برداشت	۵	۱/۳ ^{ns}	۲ ^{ns}	۱/۵۴ ^{ns}	۱/۵۵ ^{ns}	۱/۹۹ ^{ns}	۱/۹ ^{ns}	۵/۱**	۳/۷*
رقم × برداشت	۵	۱۱/۳**	۸/۲**	۶/۸*	۲/۴۱ ^{ns}	۱/۶۱ ^{ns}	۲/۸۵ ^{ns}	۱۴/۵**	۱/۴۵**
فلز × رقم × برداشت	۵	۱/۱۵ ^{ns}	۱/۸ ^{ns}	۱/۴۱ ^{ns}	۱/۳۵ ^{ns}	۱/۲۲ ^{ns}	۲/۳ ^{ns}	۴/۲*	۵/۸*
خطای کل	۴۸	۱/۲	۲/۲	۸/۳۱	۳/۷۸	۱۲/۴	۳/۶	۸/۳	۶/۴
ضریب تغییرات (%)		۱۴/۹	۱۰/۷	۵/۵	۱۲/۳	۷/۷	۴/۵	۵۰/۸	۶۱/۳

*، **، ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۱ و غیرمعنی دار

جدول ۵- مقایسه میانگین غلظت Al^{+3} در ریشه و برگ در برداشت های مختلف

برداشت	شیرودی						آوس					
	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
برگ ۱	۳/۱ ^f	۶/۷ ^d	۷/۷ ^c	۸/۴ ^c	۸/۹ ^c	۹/۱ ^b	۴/۱ ^e	۹/۷ ^b	۱۰/۴ ^b	۱۱/۴ ^a	۱۱/۳ ^a	۱۲/۸ ^a
برگ ۲	۴/۷ ^d	۵/۳ ^d	۷/۹ ^b	۸/۵ ^b	۸/۳ ^b	۸/۳ ^b	۳/۴ ^e	۷/۵ ^b	۸/۳ ^b	۹/۲ ^a	۹/۳ ^a	۱۰/۵ ^a
برگ ۳	۲/۶ ^e	۳/۴ ^d	۵/۷ ^c	۶/۸ ^b	۶/۸ ^b	۶/۸ ^b				۳/۷ ^d	۳/۷ ^d	۷/۸ ^a
برگ ۴	۳/۷ ^c	۳/۹ ^c	۴/۳ ^{bc}	۴/۸ ^b	۵/۲ ^a	۵/۲ ^a				۴/۶ ^b	۴/۶ ^b	۴/۸ ^a
برگ ۵	۳/۱ ^c	۳/۸ ^c	۴/۱ ^b	۴/۵ ^a	۴/۷ ^a	۴/۷ ^a				۳/۳ ^c	۳/۳ ^c	۳/۷ ^c
برگ ۶			۴/۲ ^a	۳/۹ ^a	۴/۱ ^a	۴/۱ ^a						۲/۳ ^b
برگ ۷			۲/۱ ^b	۲/۷ ^b	۳/۸ ^a	۳/۸ ^a						۲/۶ ^b
نوک ساقه			۲/۶ ^b	۲/۶ ^b	۳/۴ ^a	۳/۴ ^a				۳/۲ ^a	۳/۲ ^a	۳/۴ ^a
اول ریشه	۱۵/۴ ^c	۱۸/۱ ^b	۱۷/۹ ^b	۱۷/۳ ^{bc}	۲۰/۶ ^a	۱۸/۳ ^b	۱۱/۵ ^e	۱۳/۵ ^d	۱۰/۵ ^f	۱۱/۵ ^e	۱۳/۵ ^d	۱۵/۷ ^c
دوم ریشه	۱۳/۷ ^e	۱۵/۴ ^{cd}	۱۷/۴ ^b	۱۸/۲ ^a	۱۶/۵ ^c	۱۷/۸ ^a	۴/۱ ⁱ	۹/۷ ^h	۱۱/۴ ^f	۱۰/۴ ^g	۱۱/۳ ^f	۱۲/۸ ^{ef}

مقادیر میانگین ها با حداقل یک حرف مشابه در هر ردیف براساس آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر در سطح ۰/۰۵ ندارند.

محیط کشت به ریشه و از ریشه به برگ ها وجود ندارد و جذب Si^{+2} متناسب با غلظت محیط صورت می گیرد. در حالی که برای Al^{+3} با توجه به غلظت محیط اساساً Al^{+3} به مقدار کم توسط دو رقم برنج جذب شده با اینکه در این مرحله از رشد سرعت انتقال بیشتر از جذب است.

گیاه برنج به فتوپریود عکس العمل نشان می دهد. با توسعه برگ های نزدیک به خوشه، غلظت عناصر در داخل برگ های پایین مرتب کاهش می یابد. و در این مرحله از رشد سرعت انتقال عناصر از جذب آنها پیشی می گیرد. بنابراین در طول رشد محدودیتی از نظر انتقال Si^{+2} از

جدول ۶- مقایسه میانگین‌ها و درصد تغییرات غلظت کل فیتوکلات در برگ‌ها و ریشه رقم شیرودی

شیرودی	کل فیتوکلات		درصد تغییرات فیتوکلات		اجزا
	شاهد	Al	Si	Al	
برگ ۱	۱۸/۷ ^c	۳۹/۷ ^a	۳۰/۹ ^b	۵۲/۹	۳۹/۵
برگ ۲	۲۰/۸ ^b	۳۷/۹ ^b	۳۱/۶ ^a	۴۵/۲	۳۴/۲
برگ ۳	۲۱/۴ ^a	۳۷/۵ ^b	۳۰/۷ ^b	۴۲/۹	۳۰/۲
برگ ۴	۲۱/۲ ^a	۳۷/۶ ^b	۳۰/۵ ^b	۴۳/۶	۳۰/۴
برگ ۵	۲۲/۳ ^a	۳۷/۲ ^b	۲۹/۱ ^c	۴۰/۲	۲۳/۳
برگ ۶	۲۰/۷ ^b	۳۶/۵ ^{bc}	۲۷/۵ ^d	۴۸/۸	۲۹/۵
برگ ۷	۱۸/۶ ^c	۳۶/۳ ^c	۲۶/۴ ^e	۴۵/۳	۳۰/۴
میانگین	۲۰	۳۷	۲۹	۴۵/۳	۳۰/۴
نوک ساقه	۱۶/۲ ^a	۳۴/۷ ^a	۲۲/۶ ^a	۵۳/۳	۲۸/۳
نوک ریشه	۱۰/۷ ^b	۲۳/۵ ^b	۱۱/۷ ^b	۵۴/۵	۸/۵
اول ریشه	۱۰/۵ ^b	۲۲/۳ ^b	۱۰/۲ ^b	۵۲/۹	۲۰/۹
دوم ریشه	۹/۳ ^c	۱۷/۸ ^c	۱۱/۸ ^c	۴۷/۸	۲۱/۲
میانگین	۱۰	۲۱	۱۲	۵۲	۱۸
R2	۰/۶۵	۰/۸۹	۰/۷۸	۰/۸۲	۰/۷۹

مقادیر میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در سطح ۰.۰۵ ندارند.

انعکاس‌دهنده مقاومت به تعدادی از عناصر در محیط رشد گیاه باشد. علت کاهش غلظت Si^{+2} در برگ سوم و چهارم شاید به دلیل کشیدگی ساقه و انتقال Si^{+2} از برگ‌های نزدیک به قسمت‌های نوک و برگ‌های در حال رشد باشد (Ma, 2003). در این مورد Epstein و همکاران (۱۹۹۹) گزارش داده‌اند که Si^{+2} ممکن است در آوند آبکش انتقال پیدا کند.

بیشتر عناصر از جمله Si^{+2} از طریق آوند چوبی ابتدا به بخش‌های بالای گیاه منتقل شده، سپس وارد آوند آبکش می‌شود. چون نواحی در حال رشد فعال به عناصر و انرژی نیاز دارند. بنابراین با افزایش بیشتر رشد Si^{+2} به سرعت به بالای گیاه انتقال می‌یابد. حتی اگر این نیاز شدید باشد ممکن همراه موادی مانند فیتوکلات از برگ‌های پایین‌تر وارد نواحی در حال رشد و فعال گردد. همچنین گزارش‌هایی وجود دارد که نشان داده انتقال Si^{+2} می‌تواند از طریق آوند آبکش به نوک ریشه و

مقدار بیشتر Al^{+3} جذب شده در ریشه و برگ‌های پایین تجمیع داشت. این نتایج، گزارش تحقیقات (Collet *et al.*, 2002; Juan *et al.*, 2002; Miyasaka and Hawes, 2001) را تأیید کرد که نشان داده‌اند سهم Al^{+3} اتصال‌یافته آپوپلاستی در ریشه بالغ بر ۵۰٪ Al^{+3} جذب شده است و مقدار کمی Al^{+3} وارد بخش‌های بالای گیاه می‌شود.

تحقیقاتی که روی گیاه ذرت انجام شده نشان داد توزیع Al^{+3} در ریشه و برگ‌های این گیاه متفاوت است (Collet *et al.*, 2002). مطالعات Ma در سال ۲۰۰۴ نشان داد در گیاه برنج میزان جذب Si^{+2} از محلول غذایی به رشد گیاه، عملکرد بافت‌ها و دانه‌ها بستگی دارد. مطالعات بسیاری گزارش داده‌اند که مقاومت نسبت به فلز مس در برنج تا حدودی برای عناصر دیگر هم قابل استناد است (Lidon *et al.*, 1998). بنابراین وقتی مقاومت نسبت به یک یا دو فلز ایجاد شود شاید

جدول ۷- میانگین مقادیر فیتوکلات در ترکیب با Al^{+3} و Si^{+2} بر حسب $mg.g^{-1}$ و غلظت کل عناصر آزاد Al^{+3} و Si^{+2} در برگ‌ها و ریشه رقم شیرودی

درصد عناصر آزاد		عناصر آزاد		عناصر با فیتوکلات		شیرودی
Si	Al	Si	Al	Si	Al	اجزا
۹۶/۷	۲۵/۵	۱۵۶ ^a	۱۶/۱ ^a	۹ ^b	۱۲ ^b	برگ ۱
۹۵/۲	۲۶/۷	۱۴۸ ^b	۱۵/۳ ^b	۱۱ ^a	۱۱/۲ ^b	برگ ۲
۹۵/۶	۲۳/۹	۱۳۹ ^c	۱۳/۸ ^c	۱۰ ^a	۱۰/۵ ^c	برگ ۳
۹۶/۹	۱۹/۶	۱۳۳ ^d	۱۲/۲ ^d	۷ ^c	۹/۸ ^d	برگ ۴
۹۶/۲	۳۰/۸	۱۳۰ ^d	۱۳/۶ ^e	۷ ^c	۹/۴ ^d	برگ ۵
۹۶	۳۴/۲	۱۳۱ ^d	۱۲/۹ ^e	۹ ^b	۸/۵ ^e	برگ ۶
۹۴	۲۰	۱۲۷ ^d	۱۹/۵ ^f	۹ ^b	۱۵/۵ ^a	برگ ۷
۱۴۷	۲۵	۱۲۸	۲/۵	۵	۱۱	میانگین
۹۵	۱۴/۵	۱۲۷ ^b	۲۲/۷ ^b	۶ ^d	۱۹/۴ ^d	نوک ساقه
۹۱	۳	۱۴۸ ^a	۲۱/۴ ^c	۱۳ ^a	۲۲/۲ ^a	نوک ریشه
۹۳	۲۸	۱۴۸ ^a	۲۷/۶ ^a	۹ ^c	۲۰/۳ ^c	اول ریشه
۹۱	۲۶	۱۴۹ ^a	۲۸/۵ ^a	۱۲ ^b	۲۱ ^b	دوم ریشه
۹۳	۱۵	۱۴۳	۲۵	۱۰	۲۰/۷	میانگین
۰/۸۵	۰/۹۳	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۷۴	۰/۶۱	R2

مقادیر میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در سطح ۰.۵٪ ندارند.

با شاهد ملاحظه شد در رقم شیرودی Al^{+3} غلظت فیتوکلات را تقریباً ۱۵٪ و در رقم آوس تقریباً ۹٪ بیشتر از Si^{+2} افزایش داده است ($P < 0.05$ ، جدول ۶ و ۸). Al^{+3} غلظت فیتوکلات را در رقم شیرودی در برگ اول تا هفتم به ترتیب ۵۲، ۴۵، ۴۲، ۴۳، ۴۰، ۴۸ و ۴۵٪ افزایش داد. در حالیکه Si^{+2} غلظت فیتوکلات را در برگ اول تا هفتم به ترتیب ۳۹، ۳۴، ۳۰، ۳۰، ۲۳، ۲۹ و ۳۰٪ افزایش داد. با مقایسه فیتوکلات در رقم آوس در تیمار Al^{+3} و Si^{+2} با شاهد ملاحظه شد با اضافه شدن Al^{+3} به محیط‌کشت میزان کل فیتوکلات در رقم آوس حدود ۵۲٪ افزایش یافت ($P < 0.05$ ، جدول ۸). Al^{+3} غلظت فیتوکلات را در برگ اول تا هفتم به ترتیب ۵۶، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۰، ۴۸ و ۴۱٪ افزایش داد. در حالی که اضافه شدن Si^{+2} به محیط‌کشت غلظت فیتوکلات را در برگ اول تا هفتم در

برگ‌ها جوان صورت بگیرد (Ma, 2005, 2004). شاید یک دلیل این باشد که آوند آبکش سریع‌تر از آوند چوبی تمایز پیدا می‌کند و انتقال Si^{+2} به بخش‌های در حالت رشد فعال بیشتر با شیره پرورده از طریق آوند آبکش صورت می‌گیرد. بنابراین عدم تجمع Si^{+2} در ریشه به احتمال زیاد در نتیجه انتقال سریع این عنصر از طریق هر دو آوند است (فلاح، ۱۳۸۳).

تغییرات مقدار فیتوکلات در دو رقم برنج: تحقیقات
Ma در سال ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ نشان داد رشد فعال گیاه برنج به مقدار زیادی کربن نیاز دارد. حال اگر کربن به متابولیت‌های دیگری غیر مواد رشد، مانند فیتوکلات‌ها اختصاص یابد، پیش‌بینی می‌شود که رشد کاهش یابد. در واقع مواد اختصاص یافته به ترکیبات سازگاری افزایش می‌یابد. با مقایسه غلظت فیتوکلات در تیمار Al^{+3} و Si^{+2}

جدول ۸- مقایسه میانگین‌ها و درصد تغییرات غلظت کل فیتوکلات (mg g⁻¹ FW) در برگ‌ها و ریشه رقم آوس

آوس	کل فیتوکلات		درصد تغییرات فیتوکلات		اجزا
	شاهد	Si	Al	تغییرات Al	
برگ ۱	۲۱/۳ ^a	۳۸/۹ ^a	۴۸/۶ ^a	۵۶	۴۵
برگ ۲	۲۲/۶ ^a	۳۷/۷ ^b	۴۹/۳ ^a	۵۴	۳۹
برگ ۳	۲۰/۳ ^b	۳۹/۸ ^a	۴۶/۳ ^b	۵۵	۴۸
برگ ۴	۱۹/۴ ^c	۳۷/۲ ^b	۴۴/۸ ^c	۵۶	۴۸
برگ ۵	۲۰/۳ ^b	۳۶/۷ ^b	۴۲/۲ ^d	۵۰	۴۲
برگ ۶	۲۰/۶ ^b	۳۵/۶ ^b	۳۹/۳ ^e	۴۸	۴۲
برگ ۷	۲۰/۳ ^b	۳۳/۳ ^b	۳۵/۲ ^f	۴۱	۳۸
میانگین	۲۰	۳۶	۴۳	۵۲	۴۳
نوک ساقه	۱۳/۲ ^a	۱۶/۵ ^a	۲۸/۷ ^c	۵۴	۲۰
نوک ریشه	۱۱/۲ ^b	۱۶/۳ ^a	۵۵/۷ ^b	۷۹	۳۱
اول ریشه	۱۱/۴ ^b	۱۵/۵ ^b	۵۷/۳ ^a	۸۰	۲۶
دوم ریشه	۱۱/۲ ^b	۳۴/۶ ^c	۵۶/۳ ^a	۸۰	۶۷
میانگین	۱۱	۱۸	۵۶	۸۰	۴۹
R2	۰/۶۴	۰/۷۰	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۷۱

مقادیر میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشابه به ترتیب در هر ستون یا بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

در صورتی که این روند برای Al^{+3} متفاوت است حتی در ریشه بین دو قسمت نوک ریشه و قسمت‌های بالاتر تفاوت وجود داشت و با افزایش غلظت Al^{+3} در برگ‌های دو رقم مقدار فیتوکلات افزایش یافت و این افزایش متناسب با مقدار فیتوکلات در ترکیب با Al^{+3} و حدود ۷۵٪ کل فیتوکلات بود. بنابراین با توجه به تغییرات کمی که از نظر مقدار Al^{+3} در قسمت‌های مختلف ریشه و برگ‌ها وجود دارد، تجمع Al^{+3} را در بافت‌های ریشه و در دیواره‌های سلولی و یا کلاً فضای آپوپلاست ریشه تأیید می‌کند. به طوری که نتایج تحقیق نشان داده کمتر از ۱۰٪ از مقدار کل Al^{+3} در ریشه و برگ‌ها به صورت آزاد وجود دارد (Miyasaka and Hawes, 2001; Leopold et al., 1999).

نتایج این تحقیق نشان داد بیش از ۷۰٪ Al^{+3} در آپوپلاست ریشه باقی ماند که احتمالاً با نواحی باردار منفی در سطح

این رقم به ترتیب ۴۵، ۳۹، ۴۸، ۴۸، ۴۲، ۴۲ و ۳۸٪ افزایش داد. با مقایسه تأثیر دو فلز روی افزایش فیتوکلات در رقم آوس Al^{+3} غلظت فیتوکلات را در بخش‌های هوایی تقریباً ۹٪ بیشتر از Si^{+2} افزایش داد. در حالی که این مقدار در ریشه بیش از ۳۲٪ است. بنابراین مقدار بیشتری از Al^{+3} جذب شده بود در ریشه نگهداری می‌شود. مقدار فیتوکلات در رقم آوس بیشتر از رقم شیروودی است ($P < 0/05$ ، جدول ۸). تحقیقاتی که روی رقمی از برنج انجام شده بود نشان داد زمانی که Si^{+2} با EDTA در اختیار گیاه قرار گیرد سرعت انتقال Si^{+2} چندین برابر افزایش پیدا می‌کند (Juan and Charlot, 2002). بر این اساس بعضی محققین اعتقاد دارند که انتقال سریع Si^{+2} در گیاهان ممکن هست با نوعی از فیتوکلات همراه باشد که قابل انتقال است و در نتیجه انتقال آن سریع‌تر انجام می‌شود.

جدول ۹- مقایسه میانگین فیتوکلات ترکیب با Al^{+3} و Si^{+2} بر حسب $mg.g^{-1}$ و غلظت کل Al^{+3} و Si^{+2} در برگ‌ها و ریشه رقم آوس

درصد عناصر آزاد		غلظت کل عناصر		عناصر پیوند با فیتوکلات		آوس
Si	Al	Si	Al	Si	Al	اجزا
۹۶	۳۱	۱۳۳ ^a	۲۴/۸ ^a	۵ ^a	۱۷ ^a	برگ ۱
۹۶	۲۷	۱۲۸ ^b	۲۲/۶ ^b	۵ ^a	۱۶/۱ ^a	برگ ۲
۹۶	۱۳	۱۳۲ ^a	۱۹/۶ ^c	۴ ^b	۱۷/۶ ^a	برگ ۳
۹۶	۱۰	۱۲۸ ^b	۱۶/۸ ^d	۴ ^b	۱۵/۲ ^b	برگ ۴
۹۵	۱۶	۱۲۴ ^d	۱۵/۶ ^d	۵ ^a	۱۳/۴ ^c	برگ ۵
۹۵	۸	۱۲۵ ^c	۱۵/۳ ^c	۵ ^a	۱۳/۹ ^d	برگ ۶
۹۶	۳۱	۱۲۵ ^c	۱۴/۶ ^f	۴ ^b	۱۰/۳ ^e	برگ ۷
۹۶	۲۰	۱۲۷	۱۸/۴	۴	۱۴	میانگین
۹۷	۱۲	۱۴۴ ^c	۲۳/۴ ^d	۳ ^c	۲۰/۷ ^a	نوک ساقه
۹۵	۱۷	۱۴۹ ^a	۲۵/۷ ^c	۷ ^b	۲۱/۲ ^a	نوک ریشه
۹۳	۳۴	۱۴۶ ^b	۳۱/۷ ^a	۹ ^a	۲۰/۷ ^a	اول ریشه
۹۳	۲۸	۱۴۶ ^b	۲۸/۷ ^b	۹ ^a	۲۰/۴ ^b	دوم ریشه
۹۴	۲۷	۱۴۷	۲۸	۸	۲۰	میانگین
۰/۶۵	۰/۸۷	۰/۶۵	۰/۸۷	۰/۷۱	۰/۷۱	R2

اعداد با حداقل یک حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در سطح ۵٪ ندارند.

برداشت‌های سوم و چهارم بیشتر از سایر مراحل بود، از طرفی افزایش فیتوکلات در برگ‌های پیر بیشتر از برگ‌های جوان و آن هم به‌نوبه خود بیشتر از ریشه بود. بنابراین از یک طرف رابطه منطقی بین افزایش غلظت Al^{+3} و افزایش فیتوکلات وجود داشت. از طرفی افزایش فیتوکلات در برگ‌های جوان تیمار شده با Al^{+3} کمتر از برگ‌های پیر و آن هم کمتر از ریشه بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فیتوکلات تولیدی در برگ‌ها در جای دیگری مصرف دارد (Leopold et al., 1999).

رابطه بین Al^{+3} و Si^{+2} آزاد با Al^{+3} و Si^{+2} پیوند با فیتوکلات در دو رقم برنج: جذب عناصر توسط گیاه به‌طور معمول دو مرحله‌ای است، و جذب یون در یک توده گیاهی زنده، قبل از اینکه یون‌ها به داخل سلول وارد شوند جذب آنها توسط دیواره ترجیح داده می‌شود. فرضیه‌های ارائه‌شده در جذب یون Juan و Charlot

دیواره سلول‌های ریشه پیوند تشکیل داده است (Marzouk and Chaffai, 2009). به فرض اینکه سهم Al^{+3} انتقال‌یافته از ریشه به برگ‌ها کمتر از حد برآورد شده باشد، در این تحقیق ملاحظه شد در رقم آوس بالغ بر ۵۰٪ مقدار Al^{+3} جذب‌شده توسط فیتوکلات در ریشه نگهداری شد. لذا انتقال مجدد Al^{+3} در آوند آبکش به سایر قسمت‌های دیگر گیاه نمی‌تواند توسط هیچ یک از روش‌های شناخته‌شده صورت گرفته باشد چون اساساً مقدار Al^{+3} به‌صورت یون آزاد کم هست. در مقابل Juan و Charlotte (۲۰۰۲) نشان داده‌اند که Al^{+3} به مقدار بسیار کم وارد آوند آبکش می‌شود و انتقال آن در آوند آبکش بسیار کند است. زیرا شیره آوند آبکش دارای مقدار زیادی ترکیبات کلاته‌کننده شامل گلوکوتانیون و پروتئین است که می‌توانند با Al^{+3} پیوند تشکیل دهند. در تیمار Al^{+3} با توجه به نتایج حاصل از برداشت‌های مختلف افزایش مقدار فیتوکلات در

جدول ۱۰- مقایسه میانگین ضریب انتقال و تجمع Al^{+3} و Si^{+2} بین ریشه و برگها

برداشت	سیلیسیم		آلومینیم	
	شیرودی	آوس	شیرودی	آوس
اول	انتقال ۰/۵۹ ^c تجمع ۰/۱۲ ^d	انتقال ۰/۳۴ ^c تجمع ۰/۲۴ ^e	انتقال ۰/۹۲ ^a تجمع ۰/۲۹ ^c	انتقال ۰/۲۲ ^d تجمع ۰/۲۶ ^b
دوم	انتقال ۱/۲۲ ^b تجمع ۰/۳۵ ^c	انتقال ۰/۳۵ ^c تجمع ۰/۳۷ ^d	انتقال ۰/۷۵ ^c تجمع ۰/۳۳ ^b	انتقال ۰/۳۲ ^c تجمع ۰/۲۸ ^b
سوم	انتقال ۱/۲ ^b تجمع ۰/۴۸ ^b	انتقال ۱/۴۴ ^a تجمع ۰/۴۴ ^{bc}	انتقال ۰/۸۴ ^b تجمع ۰/۳۹ ^a	انتقال ۰/۴۱ ^a تجمع ۰/۲۷ ^b
چهارم	انتقال ۱/۲ ^b تجمع ۰/۴۹ ^b	انتقال ۱/۲۶ ^b تجمع ۰/۴۵ ^b	انتقال ۰/۵۶ ^d تجمع ۰/۳۹ ^a	انتقال ۰/۳۸ ^b تجمع ۰/۲۹ ^b
پنجم	انتقال ۱/۲ ^b تجمع ۰/۵۱ ^b	انتقال ۱/۴ ^a تجمع ۰/۴۹ ^a	انتقال ۰/۵۵ ^d تجمع ۰/۴۱ ^a	انتقال ۰/۳۸ ^b تجمع ۰/۳۷ ^a
ششم	انتقال ۱/۳۶ ^a تجمع ۰/۵۷ ^a	انتقال ۱/۴۵ ^a تجمع ۰/۵۲ ^a	انتقال ۰/۵۴ ^e تجمع ۰/۴۰ ^a	انتقال ۰/۳۲ ^c تجمع ۰/۳۷ ^a

اعداد با حداقل یک حرف مشابه به ترتیب در هر ستون براساس آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن اختلاف معنی داری با یکدیگر در سطح ۰.۰۵ ندارند.

با توجه به یکسان بودن غلظت Si^{+2} در برگها و ریشه، این یکسانی نشان دهنده عدم رسوب Si^{+2} در داخل ریشه و برگ و یا باندشدن آن یا ترکیباتی از دیواره سلولهای ریشه و برگ که سبب تجمع Si^{+2} باشد. نتایج نشان داد با گذشت زمان در برداشت های آخر توزیع Si^{+2} در ریشه، برگهای پیر، برگهای جوان و ساقه گیاه روندی عکس توزیع Si^{+2} در برداشت های اول دارد، از طرفی تولید فیتوکلات در ریشه، برگهای پیر، برگهای جوان و ساقه گیاه از الگویی توزیع Si^{+2} پیروی کرد و از الگویی توزیع Al^{+3} پیروی نکرد. به نظر می رسد افزایش مقدار فیتوکلات به دلیل افزایش بار مثبت Al^{+3} و Si^{+2} است. از آنجایی که افزایش بیشتر بار مثبت مشکلات متابولیسمی ایجاد می کند، لذا فیتوکلاتها دارای بار منفی زیادی هستند بنابراین می توانند در پاسخ جهت ایجاد تعادل با بار مثبت Al^{+3} و Si^{+2} سنتز شوند. بنابراین دو نوع فیتوکلات وجود دارد فیتوکلات متحرک و غیرمتحرک. فیتوکلات متحرک سرعت انتقال را افزایش می دهد و با عنصر جابجا می شود. فیتوکلاتهایی که از تحرک عناصر جلوگیری می کنند ساکن و غیرمتحرک هستند (Juan and Charlot, 2002).

نتیجه گیری

نتایج نشان داد سرعت جذب و انتقال Si^{+2} بسیار بیشتر

(۲۰۰۲) پیشنهاد می دهند که جذب یونها در شرایط زنده ممکن است با مکانیزم تبادل کاتیون، جذب سطحی و یا مستقیماً یون جذب شود. با مقایسه داده ها در جدول ۸ در رقم شیرودی ملاحظه شد غلظت Al^{+3} آزاد در برگ اول تا هفتم به ترتیب ۲۵، ۲۶، ۲۳، ۱۹، ۳۰، ۳۴ و ۲۰٪ است. در حالی که غلظت Si^{+2} آزاد در برگ اول تا هفتم به ترتیب ۹۶، ۹۵، ۹۵، ۹۶، ۹۶، ۹۶ و ۹۵٪ است. با مقایسه داده ها در جدول ۹ در رقم آوس همین روند با اندک تفاوتی وجود داشت. این نتایج گزارش تحقیقات Okuda و همکاران (۱۹۶۲) که جذب Si^{+2} را در انواع گیاهان زراعی بررسی کرده اند را تأیید می کند. با مقایسه غلظت فیتوکلات، غلظت Si^{+2} و Al^{+3} آزاد و Si^{+2} و Al^{+3} در ترکیب (جدول ۶، ۷، ۸ و ۹) در طول رشد با افزایش سن برگها مقدار فیتوکلات افزایش یافت. با افزایش غلظت Si^{+2} در برگ مقدار فیتوکلات افزایش پیدا کرد و مقدار Si^{+2} در ترکیب با فیتوکلات تقریباً ۰.۵٪ و بیش از ۹۵٪ Si^{+2} به صورت آزاد است. در صورتی که در تیمار Al^{+3} میزان کل فیتوکلات به تدریج از برگ اول پیرترین برگ تا جوان ترین برگ افزایش پیدا کرد و متناسب با آن تقریباً ۷۵٪ Al^{+3} به صورت ترکیب با فیتوکلات بود و تنها ۲۴٪ Al^{+3} به صورت آزاد است.

به محیط شور و Al^{+3} بیشتر از رقم شیرودی است. با مقایسه غلظت Al^{+3} و Si^{+2} در محیط رشد ملاحظه شد که غلظت Al^{+3} در گیاه در طول رشد قسمت‌بندی شده در حالی که برای Si^{+2} در ابتدای رشد ابتدا شیب از پایین به بالا است و در ادامه رشد این شیب بر عکس می‌شود که نشان‌دهنده عدم رسوب و سرعت بالای Si^{+2} از داخل ریشه به برگ و یا باندشدن آن با فیتوکلات و یا ترکیباتی از دیواره سلول‌های برگ است. همچنین نتایج نشان داده سهم Al^{+3} اتصال‌یافته آپوپلاستی در ریشه و برگ‌های پایین گیاه بیش از بالای آن است و مقدار کمی Al^{+3} وارد سیتوپلاست می‌شود.

Al^{+3} است. مقدار Al^{+3} و فیتوکلات به تدریج با گذشت زمان یا پیرشدن برگ‌ها افزایش یافت. مقدار Si^{+2} ابتدا در ریشه اصلی افزایش یافت و سپس کاهش یافت که میزان این کاهش متناسب با افزایش مقدار آن در برگ‌ها است. علت کاهش غلظت Si^{+2} در برگ سوم و چهارم در دو رقم شاید به دلیل انتقال Si^{+2} از برگ‌های نزدیک به خوشه هنگام کشیدگی ساقه به قسمت‌های در حال رشد باشد که دلیلی بر این است که Si^{+2} ممکن است در آوند آبکش انتقال پیدا کند. مقدار بیشتر Al^{+3} در ریشه و برگ‌های هر دو رقم به خصوص رقم آوس در ترکیب با فیتوکلات است و مقدار کمتری Al^{+3} در ریشه و برگ‌ها به صورت آزاد است. به همین دلیل میزان مقاومت رقم آوس نسبت

منابع

فلاح، الف. (۱۳۸۳) بررسی اثرات مصرف سیلیس بر روی رشد و عملکرد برنج. معاونت مؤسسه تحقیقات برنج کشور در مازندران، آمل.

- Brown, S., Chaney, R., Hallfrisch, J., Ryan, J. A. and Berti, W. R. (2004) In situ soil treatments to reduce the phyto- and bioavailability of lead, zinc, and cadmium. *Journal of Environmental Quality* 33: 522-531.
- Bonanno, G. and Giudice, R. L. (2010) Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. *Ecological Indicators* 10: 639-645.
- Chaffai, R. and Marzouk, B. (2009) The role of organic acids in the short- and long-term aluminum tolerance in maize seedlings (*Zea mays* L.). *Acta Physiologiae Plantarum* 31: 805-814.
- Chen, J. J., Zhou, J. M. and Goldsbrough, P. B. (1997) Characterization of phytochelatin synthase from tomato. *Physiologia Plantarum* 101: 165-172.
- Collet, L., De-Leon, C., Kollmeier, M., Schmohl, N. and Horst, W. J. (2002) Assessment of aluminum sensitivity of maize cultivars using roots of intact plants and excised root tips. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 357-365.
- De Vos, V., Onk, M. J., Vooijs, R. and Schat, H. (1992) Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*. *Plant Physiology* 98: 853-858.
- Epstein, E. (1999) Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 641-66.
- Juan, B. and Charlotte, P. (2002) Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to mechanisms of aluminum toxicity and resistance. *Experimental Botany* 48: 75-92.
- Leopold, I., Gunther, D., Schmidt, J. and Neumann, D. (1999) Phytochelatin and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 50: 1323-1328.
- Lidon, F. C. and Henriques, F. S. (1998) Role of rice shoot vacuoles in copper toxicity regulation. *Environmental and Experimental Botany* 93: 197-202.
- Ma, J. F. (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science and Plant Nutrition* 50: 11-18.
- Ma, J. F. (2000) Role of organic acids in detoxification of Al in higher plants. *Plant and Cell Physiology* 41: 383-390.
- Ma, J. F. (2003) Functions of silicon in higher plants. In: *Silicon Biomineralization* (ed. Muller, W.) Pp. 127-147. Springer Verlag, Berlin.
- Miyasaka, S. C. and Hawes, M. C. (2001) Possible role of root border cells in detection and avoidance of aluminum toxicity. *Plant Physiology* 125: 1978-1987.
- Okuda, A. and Takahashi, E. (1962) Studies on the physiological role of silicon in crop plants, Part 9. Effect of various metabolic inhibitors on the silicon uptake by rice plant. *Japanese Journal of Soil Science and Manure* 33: 453-455.
- Sema, B. and Seref, G. (2005) Selective determination of aluminum bound with tannin in tea infusion. *The Japan Society for Analytical chemistry. Analytical Sciences* 21: 1005-10100.

Richmond, R. E. and Sussman, M. (2003) Got silicon the non-essential beneficial plant nutrient, *Current Opinion in Plant Biology* 6: 268-272.

The relationship between the amount of total phytochlate, the phytochlate bounded with Al^{+3} and Si^{+2} and the distribution Al^{+3} , Si^{+2} ions in the roots and leaves of two Iranian rice cultivars (*Oryza sativa* L)

Heidar Ali Malmir* and Allahyar Fallah

Department of Biology, BU-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

(Received: 02/07/2019, Accepted: 15/01/2020)

Abstract

The phytochlates are the charged compounds that bonds with elements. For this purpose, in 1391, in the greenhouse of Bo Ali Sina University, the effect of Al^{+3} and Si^{+2} on the amount of total phytochlate, the Phytochlate bounded with Al^{+3} and Si^{+2} and the distribution of Al^{+3} and Si^{+2} ions in leaves and roots of two rice cultivars differing in salt tolerance were investigated. In this study, 30-day-old rice seedlings (Shirudi, Aus) were treated in sand culture with solutions of containing Al^{+3} and Si^{+2} in a split plot design were investigated, and samplings were done every three days. The results showed that there was a significant difference between the two rice cultivars in terms of distribution of Al^{+3} and Si^{+2} ions in roots and leaves ($P \leq 0.05$). By comparing the concentrations of Al^{+3} and Si^{+2} in the roots and different of leaves, it was observed that the concentrations of Al^{+3} in the plant were partitioned. The absorption process of Si^{+2} was the first from the bottom to the top and then were reversed of the plant. In the process of absorption of Al^{+3} , the concentration gradient from the bottom to the top of the plant was intensified. The amount of Al^{+3} bounded with the phytochlate were higher than free Al^{+3} . Meanwhile, the amount of Si^{+2} bounded with the phytochlate were less than free Si^{+2} . Therefore, the results showed that the phytochlates were compounds that might be mobile or non-mobile and play an important role in charge balance and cation transport in plant leaves and roots. The higher resistance of Aus cultivar to Al^{+3} was due to the increase of immobile phytochlates in combination with Al^{+3} in the roots.

Keywords: Distribution of Al^{+3} and Si^{+2} , Types of phytochlates, Compartmentation

Corresponding author, Email: Malmir1970@gmail.com