

## تأثیر آلومینیوم بر کاهش رشد و تغییر در ترکیبات دیواره سلول‌های توتون

خدیجه شکوهی، فائزه قناتی: دانشگاه تربیت مدرس

### چکیده

آلومینیوم از فراوان‌ترین عناصر پوسته زمین است که میزان آن به ۷ درصد کل عناصر می‌رسد. آلومینیوم یون پیچیده‌ای است که فرم شیمیایی و عمل بیولوژیک پیچیده‌ای دارد و در خاک‌های خنثی یا خاک‌هایی با اسیدیته ضعیف به شکل اکسید یا آلومینوسیلیکات غیر قابل حل وجود دارد. با کاهش PH خاک انحلال‌پذیری این یون افزایش می‌یابد و از طریق ریشه جذب می‌شود و بدین ترتیب بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد. در واقع، آلومینیوم مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد به خصوص رشد ریشه در خاک‌های اسیدی شناخته شده است. تقریباً ۴۰-۳۰ درصد از زمین‌های قابل کشت را خاک‌های اسیدی تشکیل می‌دهند. علاوه بر این اسیدیته خاک به علت مشکلات زیست محیطی نظیر باران‌های اسیدی در حال افزایش است به همین دلیل توجه به سمیت آلومینیوم و تأثیر آن در کاهش بازده تولید محصولات کشاورزی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در بسیاری از تحقیقات گذشته تأثیر آلومینیوم در کوتاه مدت نشان داده شده است. همچنین آزمایش‌های متعددی نشان داده است که آلومینیوم در ابتدا وارد راس ریشه می‌شود و غالباً در آپوپلاست جای می‌گیرد. در واقع آپوپلاست با داشتن ماتریکس پکتینی با شارژ منفی مهم‌ترین محل اتصال آلومینیوم است. این تحقیق به منظور شناسایی هر چه بیشتر تأثیر آلومینیوم بر پلی‌ساکاریدهای دیواره سلول‌های توتون انجام گرفت. بدین منظور سلول‌های توتون موجود در محیط کشت تعلیقی LS با غلظت‌های مختلف آلومینیوم (۳۰ و ۶۰ میکرومولار) تیمار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت سلول‌ها بر داشت شدند و سپس دیواره سلولی جداسازی شد و اجزا مختلف پلی‌ساکاریدی دیواره شامل سلولز، پکتین، همی سلولز A و B استخراج و میزان آن‌ها اندازه گیری شد. همچنین در صد زنده بودن سلول‌ها، میزان جذب آلومینیوم توسط سلول‌ها و میزان رشد آن‌ها بررسی شد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تیمار با آلومینیوم منجر به افزایش همی سلولز A و پکتین در سلول‌های توتون شد. اما اثر کاهشی بر مقدار همی سلولز B مشاهده شد. میزان سلولز نیز در حضور ۳۰ میکرومولار از آلومینیوم کاهش ولی در حضور ۶۰ میکرومولار از آلومینیوم افزایش یافت. همچنین در تیمار با آلومینیوم کاهش رشد و کاهش وزن دیواره مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آلومینیوم، سلول‌های توتون، ماتریکس پلی ساکاریدی دیواره، سلولز، پکتین، همی سلولز A، همی سلولز

پذیرش ۸۶/۹/۱۱

دریافت ۸۵/۰۴/۳

## مقدمه

آلومینیوم از فراوان‌ترین عناصر پوسته زمین است که میزان آن به ۷٪ کل عناصر می‌رسد.  $Al^{3+}$  یون پیچیده‌ای است که فرم شیمیایی و عمل بیولوژیک پیچیده‌ای دارد. با کاهش PH خاک انحلال پذیری  $Al^{3+}$  افزایش می‌یابد و به شکل فیتوتوکسیک خود در می‌آید و از طریق ریشه جذب می‌شود و بر رشد گیاهان تأثیر می‌گذارد. در واقع  $Al^{3+}$  به عنوان مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد به خصوص رشد ریشه، در خاک‌های اسیدی شناخته شده است [۱]. در چنین شرایطی که تقریباً ۳۰ تا ۴۰ درصد از زمین‌های قابل کشت را خاک‌های اسیدی تشکیل می‌دهند و ریزش باران‌های اسیدی حاصل از آلودگی صنایع آن را تشدید می‌کند توجه به بهبود کشاورزی در خاک‌های اسیدی اهمیت ویژه‌ای دارد [۲]، [۳]. با توجه به اهمیت  $Al^{3+}$  تحقیقات وسیعی بر روی این یون و اثرات سمی آن انجام شده است. همچنین به دلیل این‌که  $Al^{3+}$  با تعداد زیادی از ساختارهای خارج سلولی و داخل سلولی برهم‌کنش دارد مکانیسم‌های زیادی برای سمیت و مقاومت به آن فرض شده است؛ اما بعید به نظر می‌رسد که برای همه گیاهان مکانیسم مشترکی وجود داشته باشد. اگر چه علائم سمیت  $Al^{3+}$  بر روی رشد گیاهان زیادی شناخته شده است، مکانیسم سمیت آن هنوز کاملاً شناخته نشده است [۲] با توجه به اهمیت آلومینیوم تحقیقات قابل توجهی بر روی سمیت آن (علائم سمیت، مکانیسم‌های سمیت و مقاومت) به آلومینیوم انجام شده است. با وجود این، هنوز درک روشنی در مورد علت اصلی سمیت آلومینیوم و یا مقاومت به آن به دست نیامده است [۲]، [۴]. تحقیقات متعدد نشان داده است که دیواره یکی از مکان‌های اصلی ایجاد سمیت و سمیت‌زدایی فلزات سنگین است و اولین بخش از سلول گیاهی است که با این فلزات اتصال برقرار می‌کند [۵]، [۶]. اخیراً نیز نتایجی به دست آمده که به اثبات نقش آپوپلاست در بیان سمیت آلومینیوم و مقاومت به آن کمک می‌کند [۷]، [۸]، [۹]. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر آلومینیوم بر روی ترکیبات بیوشیمیایی آپوپلاسم گیاه توتون در محیط کشت تعلیقی است. این کالوس‌ها در محیط کشت تعلیقی رشد داده شدند تا از نظر همگنی جمعیت و دسترسی به  $Al^{3+}$  در شرایط یکسان باشند.

## مواد و روش‌ها

### کشت سلول‌های توتون و تیمار با آلومینیوم

کالوس‌های حاصل از مزوفیل برگ‌های گیاه (*Nicotiana tabacum* L. CV. Burley21) اهدایی از ژاپن در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. این لاین، لاین بسیار خوب و مناسبی برای انجام آزمایش‌های زیستی است و از سرعت تکثیر بسیار زیادی بر خوردار است. سلول‌های توتون در محیط کشت جامد LS از حدود روز چهاردهم تا روز بیست و یکم در فاز لگاریتمی رشد قرار دارند و به طور تصاعدی تقسیم می‌شوند. به همین دلیل بهترین زمان واکشت سلول‌ها و برداشت آن‌ها روزهای چهاردهم تا بیست و یکم پس از هر واکشت بود. از این

کالوس‌ها کشت تعلیقی تهیه شد. در ابتدا از توده سلول به مقدار ۴ گرم به محیط کشت تعلیقی در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت بود، اضافه شد. این ارلن‌ها در شرایط تاریکی در دمای  $20^{\circ}\text{C} \pm$  ۲۷ بر روی شیکر افقی ۱۲۳ rpm نگهداری و به طور هفتگی واگشت شدند. سلول‌ها در فاز لگاریتمی رشد با کمک پمپ و ارلن خلأ بر روی قیف بوخنر و کاغذ صافی فیلتر شده و به میزان مساوی (۳ گرم در ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت) به ارلن‌های مجزای حاوی  $\text{AlCl}_3$  با غلظت‌های ۳۰ میکرومولار و ۶۰ میکرومولار اضافه شدند. سلول‌ها بعد از ۲۴ ساعت برداشت شده و بر روی قیف بوخنر و با نایلون مش ( $42\mu\text{m}$ ) و با استفاده از پمپ خلأ صاف شدند. توده کیک مانند حاصل، بلافاصله با نیتروژن مایع ( $192^{\circ}\text{C}$ ) تثبیت شد.

### تعیین توان زیستی سلول‌ها با استفاده از Evans blue

ابتدا یک قطره از کشت تعلیقی حاوی سلول بر روی لام قرار داده شد. سپس یک قطره از رنگ Evans blue (محلول آبی ۰/۱ درصد) به آن اضافه شد. آنگاه لام روی آن قرار داده شد و پس از گذشت ۲ تا ۳ دقیقه رنگ با آب مقطر شسته شد و در زیر میکروسکوپ نوری مدل (Olympus, BH2, Japan) مشاهده شد. سلول‌هایی که کاملاً به رنگ آبی در آمده‌اند مرده و سلول‌هایی که تنها دیواره آن‌ها رنگ آبی به خود گرفته باشد، سلول‌های زنده در نظر گرفته شد. با شمارش سلول‌های زنده و مرده و محاسبه کل آن‌ها درصد توان زیستی سلول‌ها تعیین شدند [۱۰].

### اندازه گیری رشد سلولی

پس از تیمار ۲۴ ساعته با آلومینیوم سلول‌های هر فلاسک جداگانه در زیر هود با پمپ خلأ صاف شدند. محتوای صاف شده هر فلاسک با محیط LS شسته شد. سلول‌های شسته شده مجدداً به ارلن‌های حاوی محیط منتقل شدند و یک هفته در این محیط ماندند تا اثر تیمار ۲۴ ساعته  $\text{AlCl}_3$  بر رشد آن‌ها آشکار شود. گروه‌های شاهد نیز پس از ۲۴ ساعت مانند سلول‌های تیمار صاف شده و پس از ۳ بار شستشو با محیط کشت، مجدداً به این محیط برگردانده شدند. پس از گذشت یک هفته سلول‌ها صاف شده و به منظور تعیین وزن ثانویه به طور جداگانه وزن شدند [۱۱].

### سنجش میزان جذب $\text{AlCl}_3$ توسط سلول‌ها با استفاده از دستگاه ICP

مقادیر یکسانی از نمونه‌های منجمد از گروه‌های شاهد و تیمار شده با  $\text{AlCl}_3$  در کروزه‌های چینی به مدت ۲ ساعت در دمای  $250^{\circ}\text{C}$  گرفت. پس از آن دمای کوره به  $550^{\circ}\text{C}$  رسانیده شد و اجازه داده شد که نمونه‌ها به مدت ۲ تا ۳ ساعت در این دما بمانند. به خاکستر سفید حاصل پس از سرد شدن ۱ میلی‌لیتر از محلول  $\text{HCl}(12\text{N})$ :  $\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) افزوده شد و در حمام شن  $10^{\circ}\text{C}$  گذاشته شد. پس از خشک شدن کروزه‌ها به هر کدام ۵ میلی‌لیتر  $\text{HCl}$  نرمال افزوده شد. سپس، جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه ICP مدل VIST A- (PRDCCD simultaneous) ساخت کشور استرالیا اندازه‌گیری شد.

### استخراج ماتریس پلی ساکاریدی دیواره

توده‌های سلول‌های فریز شده پس از توزین، درون هاون با استفاده از آب مقطر ساییده شدند. پس از هم‌وزنیزه شدن بر روی نایلون مش صاف شدند. برای حذف چربی‌ها و پروتئین‌های موجود در سلول‌ها، توده حاصل از مرحله قبل یک بار با ۴ حجم اتانول مطلق (V/W) به مدت ۲ دقیقه و بار دیگر با ۱۰ حجم اتانول مطلق و به مدت ۱ ساعت شسته شد و با استفاده از پمپ خلأ بر روی نایلون مش و قیف بوخنر صاف گردید. به توده حاصل ۱۰ حجم استون اضافه شد و به مدت ۱ ساعت به همان حال گذاشته شد. توده‌های موجود در استون، صاف شد و بخش حاصل به مدت یک شب درون محلول کلروفرم: متانول (به نسبت حجمی ۲:۱) قرار گرفت. در نهایت پس از صاف کردن بر روی نایلون مش توده سفیدرنگی به دست آمد که این توده عمدتاً بخش پلی‌ساکاریدی دیواره است و برای خشک کردن این توده از هود به مدت ۳-۴ ساعت استفاده شد. پودر حاصل تا زمان استفاده درون پتری شیشه‌ای و در درون دسیکاتور نگهداری شد [۱۲].

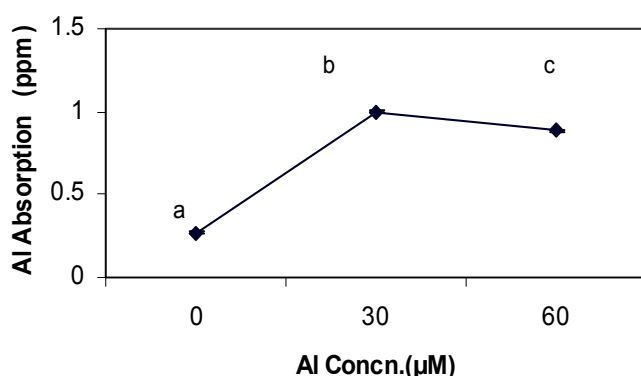
### جداسازی ترکیبات پلی ساکاریدی دیواره

برای استخراج پلی‌ساکاریدهای دیواره از روش (Sakurai, Nevins 1997) استفاده شد به منظور استخراج پکتین موجود در ماتریس پلی ساکاریدی از EDTA داغ (۵۰ میلی مولار EDTA در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار با  $\text{pH}=6/8$  و دمای  $100^\circ\text{C}$ ) استفاده شد. عمل استخراج سه بار تکرار و پس از هر بار بر روی نایلون مش صاف شد. محلول حاصل درون کیسه دیالیز (MWCO ۸۰۰۰) ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت درون ظرفی حاوی دو لیتر آب مقطر و بر روی استیرر قرار گرفت محلول درون کیسه‌های دیالیز درون فالكون‌های پلاستیکی ریخته شد و با ازت مایع منجمد شد و با استفاده از دستگاه (Freeze-drier) مدل (Snijders scientific b.v. Tilburg) ساخت هلند خشک شد. به توده باقی‌مانده از مرحله قبل (پس از استخراج پکتین) محلول قلیایی ۱۷/۵% NaOH حاوی ۰/۰۲%  $\text{NaBH}_4$  اضافه شد و بر روی نایلون مش و قیف بوخنر صاف شد این عمل ۳ بار تکرار شد. محلول به دست آمده با افزودن نیم حجم اسید استیک گلاسیال خنثی شد. همی سلولز B در بخش خنثای محلول و همی سلولز A به صورت رسوب سفید رنگی به حالت کلونیدی درآمد. سپس، با قرار دادن این محلول در کیسه دیالیز به مدت ۲۴ ساعت و چندین بار تعویض آب آن عمل خالص‌سازی انجام گرفت. برای جدا کردن همی سلولز A و B از سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت  $14000\text{ g}$  در دمای  $10^\circ\text{C}$  استفاده شد. پس از سانتریفیوژ همی سلولز A به صورت رسوب سفید رنگ و همی سلولز B به صورت محلول رویی شناور جدا شد. محلول رویی (همی سلولز B) در فالكون‌های پلاستیکی ریخته و در ازت مایع فریز شد و با استفاده از دستگاه Freeze-drier خشک شد. رسوب زیر که همی سلولز A بود درون ظرف‌های پتری کوچک در زیر هود خشک شده و درون دسیکاتور نگهداری و سپس توزین شد. توده باقی‌مانده از مرحله

قبل (پس از استخراج همی سلولز) ۲ بار با مخلوط اتانول:اتر (به نسبت حجمی ۱:۱) شستشو شده و بر روی فیلتر شیشه‌ای صاف شد. توده کدر حاصل سلولز است.

### بحث و نتیجه گیری

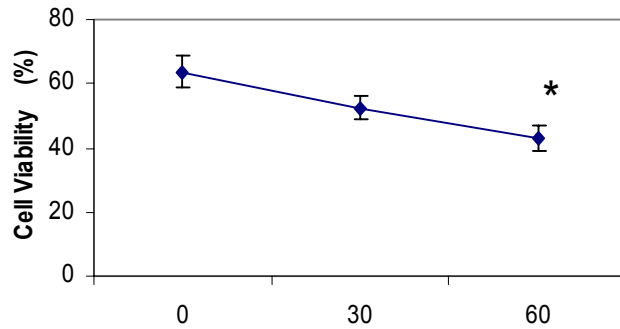
با توجه به تأثیر  $Al^{+3}$  در کوتاه مدت و آزمایش‌های متعددی که در این زمینه انجام شده به نظر می‌رسد که  $Al^{+3}$  در ابتدا وارد راس ریشه می‌شود و غالباً در آپوپلاست جای می‌گیرد. در واقع آپوپلاست با داشتن ماتریکس پکتینی با شارژ منفی مهم‌ترین محل اتصال Al است [۱۳]. بار منفی سطح سلول ریشه نه تنها برای سمیت  $Al^{+3}$  بلکه سمیت کاتیون‌ها و آنیون‌های دیگر نظیر  $La^{3+}$ ،  $H^+$ ،  $Na^+$ ،  $SeO_4^{2-}$  از اهمیت خاصی برخوردار است [۱۴]. از آنجا که یون‌های Al ترجیح می‌دهند با لیگاند‌های الکترون دهنده نظیر عوامل کربوکسیل یا گروه‌های فسفات و سولفات باند‌های الکتروستاتیک برقرار کنند به نظر می‌رسد که پکتین دیواره سلولی و سطح خارجی غشای سلولی هدف‌های اصلی سمیت  $Al^{+3}$  باشند. علاوه بر این، نتایجی به دست آمده است که نشان می‌دهد بیشترین مقدار  $Al^{+3}$  وارد شده به سلول در آپوپلاست انباشته شده است [۷]، [۸]، [۹]، [۷]، [۸]، [۹]. از آنجا که اثر سمیت یون Al در هر بخش از گیاه متفاوت است در این آزمایش از کشت سلول استفاده شد. با توجه به این‌که جمعیت سلول‌ها هموزن بودند، جذب  $Al^{+3}$  به وسیله سلول‌ها تصادفی بود و همه سلول‌ها تحت شرایط یکسانی برای جذب  $Al^{+3}$  قرار داشتند. در تیمار با آلومینیوم مقدار آلومینیوم موجود در سلول‌ها بالا رفت. در مقایسه اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم مشاهده شد که در سلول‌های تیمار شده با ۶۰ میکرومولار از  $Al^{+3}$  از مقدار جذب  $Al^{+3}$  در سلول‌های توتون کاسته شد (شکل ۱).



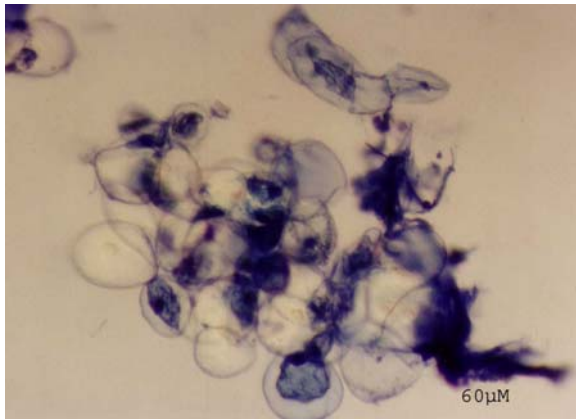
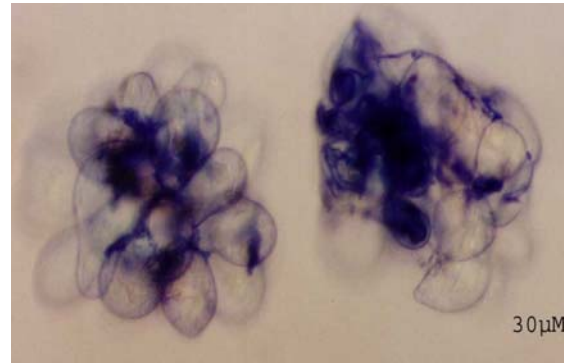
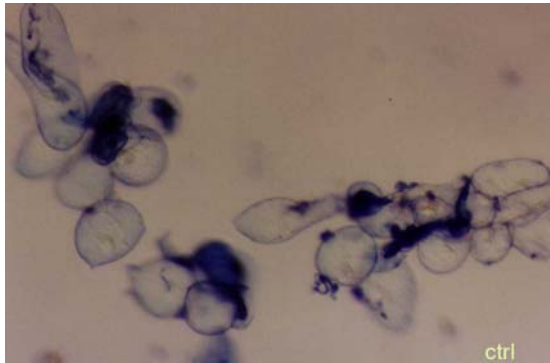
شکل ۱. مقدار جذب آلومینیوم به وسیله سلول‌های توتون در محیط‌های واجد غلظت‌های مختلف  $Al^{+3}$ . حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ( $p \leq 0.001$ ) است. SD به علت کوچک بودن نشان داده نشده است.

این مسئله می‌تواند در ارتباط با درصد زنده بودن سلول و توان جذب آن‌ها باشد؛ زیرا درصد زنده بودن سلول‌های توتون با افزایش غلظت  $Al^{+3}$  کاهش می‌یابد (شکل ۲).

حتی در بعضی از سلول‌های توتون پلاسمولیز کامل مشاهده شد. در واقع، تعداد سلول‌هایی که رنگ Evans blue را پذیرفته بودند و نقش کنترلی خود را از دست داده بودند با افزایش غلظت آلومینیوم بیشتر شدند. شکل ۳ سلول‌های توتون را در زیر میکروسکوپ با رنگ آمیزی Evans blue نشان می‌دهد. در تیمار با ۶۰ میکرومولار از  $Al^{+3}$  پلاسمولیز برخی سلول‌ها به خوبی قابل مشاهده است.

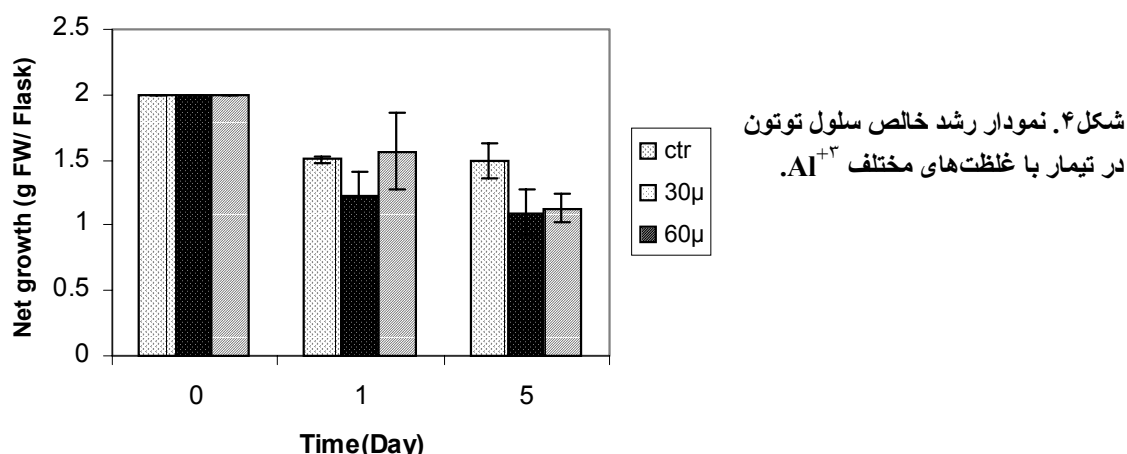


شکل ۲. درصد زنده بودن سلول‌های توتون پس از تیمار ۲۴ ساعته با غلظت‌های مختلف  $Al^{+3}$ . علامت ستاره نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به شاهد در سطح ( $p \leq 0.05$ ) است



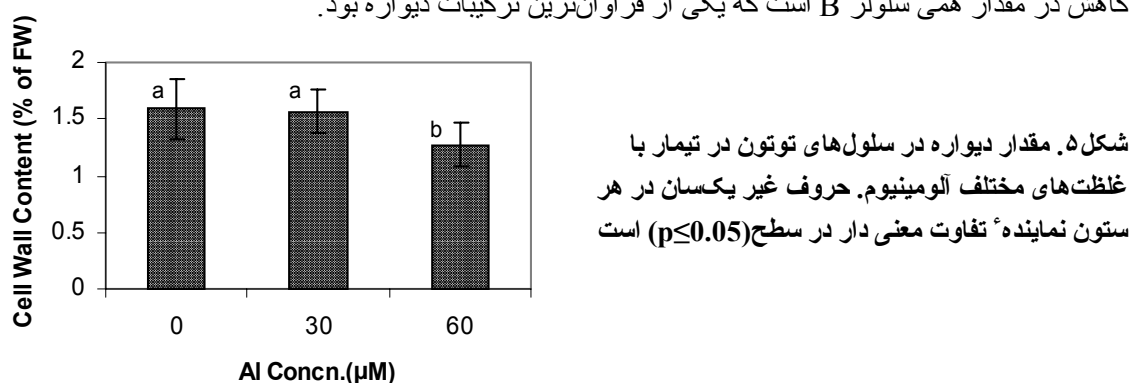
شکل ۳. مقایسه توان زیستی سلول‌های توتون در حضور تیمارهای مختلف آلومینیوم

$Al^{+3}$  علاوه بر این که بر درصد زنده بودن سلول‌ها تأثیر گذاشت بر میزان رشد نیز مؤثر بود. اثر  $Al^{+3}$  بر روی رشد رابطه محکمی با مقدار  $Al^{+3}$  جذب شده دارد، نه با مقدار  $Al^{+3}$  موجود در محیط کشت؛ زیرا همان‌طور که (شکل ۴) نشان می‌دهد، وزن تر سلول‌های توتون پس از ۲۴ ساعت کاهش یافت که این کاهش وزن را می‌توان مربوط به تغییر محیط کشت و شرایط جدید دانست. پس از گذشت ۶ روز و رشد در شرایط عادی وزن سلول‌های تیمار شده توتون در مقایسه با شاهد باز هم کاهش یافت. این کاهش رشد در سلول‌های تیمار شده با ۳۰ میکرومولار از  $Al^{+3}$  در مقایسه با تیمار ۶۰ میکرومولاری بیش‌تر بود. این نتیجه می‌تواند به این دلیل باشد که  $Al^{+3}$  بیش‌تری در تیمار ۳۰ میکرومولاری توسط سلول‌ها جذب شده است. بنا بر این تمام این نتایج رابطه مستقیم میزان جذب  $Al^{+3}$  و مهار رشد را نشان می‌دهد.



اندازمگیری میزان دیواره در حضور آلومینیوم کاهش مقدار دیواره را نشان داد که این کاهش احتمالاً به علت

کاهش در مقدار همی سلولز B است که یکی از فراوان‌ترین ترکیبات دیواره بود.



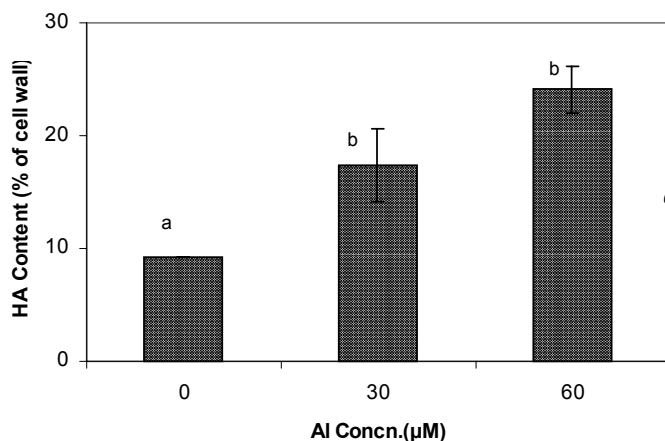
چنان‌که قبلاً هم توضیح داده شد  $Al^{+3}$  غالباً در ماتریکس پکتیکی انباشته می‌شود. این تجمع  $Al^{+3}$  به علت شارژ منفی پکتین است. پکتین از مقدار زیادی یورونیک اسید تشکیل شده است بنا بر این احتمالاً وجود گروه‌های کربوکسیلی فراوان در جذب و اتصال به  $Al^{+3}$  نقش مهمی را ایفا می‌کنند [۲]. چنین گروه‌های کربوکسیلی می‌توانند در ممانعت از ورود  $Al^{+3}$  یا تسریع انتقال آن نقش داشته باشند. در این سلول‌ها مقدار رشد در تیمار با ۶۰ میکرومولار از  $Al^{+3}$  بیش‌تر از تیمار ۳۰ میکرومولاری بود. این افزایش رشد احتمالاً به علت تولید پکتین بیش‌تری توسط این سلول‌هاست؛ بدین صورت که از ورود  $Al^{+3}$  به داخل سیمپلاست جلوگیری می‌کند (شکل ۶).



با توجه به توضیحاتی که قبلاً در رابطه با مقدار جذب  $Al^{+3}$  و میزان رشد داده شد، نقش پکتین پر رنگتر می‌شود. در واقع در تیمار ۶۰ میکرومولار میزان جذب  $Al^{+3}$  کاهش یافت. این کاهش مقدار جذب مرتبط با میزان پکتین است. در تحقیقات دیگر نیز تیمار سلول‌های توتون با پکتولیز در مقدار جذب  $Al^{+3}$  به وسیله سلول‌های توتون کاهش نشان داد [۵]. تیمار با این آنزیم که یک آنزیم تجزیه کننده پکتین است به طور معنی‌داری محتوای پکتین متیله را افزایش داده است. پکتولیز سطح کالوز تولید شده در اثر سمیت  $Al^{+3}$  را کاهش داد [۵]. با توجه به این مطلب که تولید کالوز یکی از مهم‌ترین علائم سمیت  $Al^{+3}$  است می‌توان به این نتیجه رسید که افزایش پکتین متیله در مقاومت به  $Al^{+3}$  یا تعدیل سمیت آن نقش دارد. با توجه به توضیحاتی که در باره رابطه مقدار جذب  $Al^{+3}$  و میزان رشد داده شد، نقش پکتین پر رنگتر می‌گردد. در واقع می‌توان گفت که پکتین در تعدیل سمیت  $Al^{+3}$  نقش دارد. البته یک نکته مهم در این‌جا نباید فراموش شود که این خود میزان پکتین نیست، بلکه شارژ منفی آن است که در اتصال با  $Al^{+3}$  نقش دارد. مقدار زیادی پکتین به صورت استریفیه از سیمپلاست به آپوپلاست ترشح می‌شود. به نظر می‌رسد که پکتین استریفیه در مقاومت به  $Al^{+3}$  مؤثر واقع می‌شود در صورتی‌که پکتین غیر متیله منجر به سمیت آلومینیوم می‌شود. تیمار با پکتین متیل استراز که منجر به دمتیلاسیون پکتین می‌شود نشان داد که این میزان پکتین دمتیله با میزان  $Al^{+3}$  داخل سلول‌ها رابطه مستقیم دارد [۵]. بنا بر این افزایش فعالیت این آنزیم در سمیت  $Al^{+3}$  نقش دارد. پس می‌توان گفت که آپوپلاست هم در سمیت و هم مقاومت به آلومینیوم نقش ایفا می‌کند. البته اتصال  $Al^{+3}$  به ماتریکس پکتیکی و دیگر ترکیبات می‌تواند ویژگی‌های دیواره سلولی و عمل آن‌ها را تغییر دهد. در اثر  $Al^{+3}$  در برخی اعمال سلول نظیر قابلیت کشش، نفوذپذیری، فعالیت‌های آنزیمی و القای آسیب‌های سیمپلاستیک از طریق پیوستار دیواره سلولی-غشای پلاسمایی-اسکلت سلولی تغییراتی ایجاد می‌شود و  $Al^{+3}$  این‌چنین منجر به مهار رشد ریشه می‌شود [۱۵]، [۱۶].

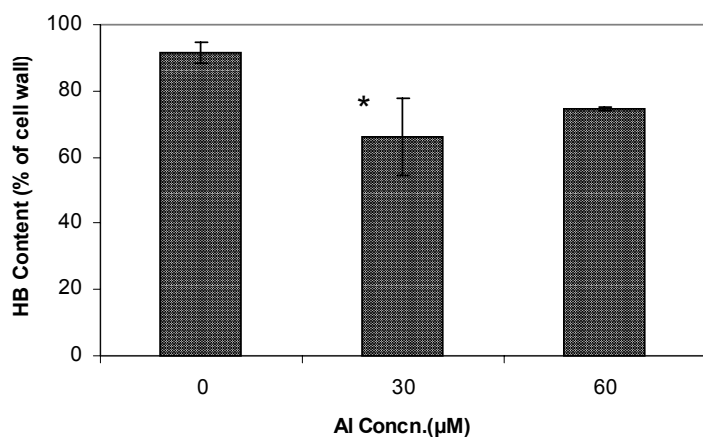
میزان همی‌سلولز A در این سلول‌ها در حضور  $Al^{+3}$  افزایش یافت. شکل ۷ مقدار همی سلولز A را نشان

می‌دهد.



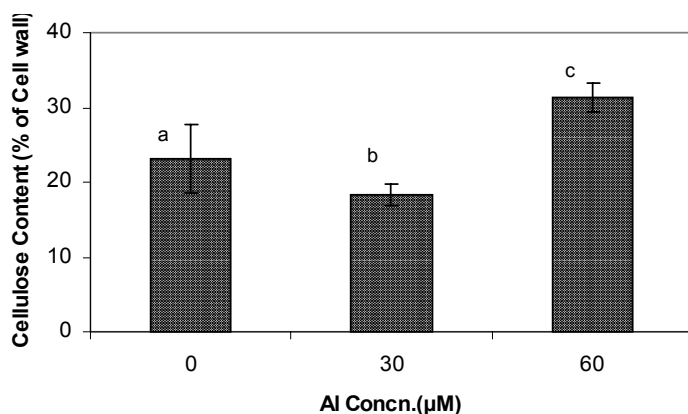
شکل ۷. میزان همی سلولز A دیواره سلول‌های توتون در تیمار با غلظت‌های مختلف  $Al^{+3}$ . حروف غیر یک‌سان در هر ستون نماینده تفاوت معنی‌دار در سطح ( $p \leq 0.05$ ) است

شکل ۸ میزان همی سلولز B سلول‌های توتون را نشان می‌دهد چنان‌که ملاحظه می‌کنید مقدار همی سلولز B سلول‌های توتون در حضور  $Al^{+3}$  کاهش یافته است. این کاهش مقدار همی سلولز B در کاهش رشد نقش مهمی دارد. علت این کاهش رشد با تأثیر زایلوگلوکان در طول شدن سلول توجیه می‌شود. زایلوگلوکان‌ها بر روی اکسین تأثیر می‌گذارند [۱۷]. همچنین واسرشتی فعال پلی ساکاریدهای پکتیکی وابسته به زایلوگلوکان است که واسطه طول شدن سلول‌هاست [۱۸].



شکل ۸. میزان همی سلولز B دیواره سلول‌های توتون در تیمار با غلظت‌های مختلف  $Al^{+3}$ . علامت ستاره نشان دهنده تفاوت معنی دار نسبت به شاهد در سطح ( $p \leq 0.05$ ) است

با دقت در ساختار سلولز و واحدهای تشکیل دهنده آن، به نظر می‌رسد گروه‌های هیدروکسیلی موجود بر روی گلوکز جایگاه‌های جذب  $Al^{+3}$  باشند. یعنی می‌توان گفت که سلولز نیز می‌تواند در سلول‌های حساس به  $Al^{+3}$  مانند پکتین عمل کند.



شکل ۹. مقدار سلولز دیواره سلول‌های توتون در تیمار با غلظت‌های مختلف  $Al^{+3}$ . حروف غیر یکسان در هر ستون نماینده تفاوت معنی‌دار در سطح ( $p \leq 0.05$ ) است

بنا بر این نتایج نشان داد که مهار رشد سلول به وسیله آلومینیوم می‌تواند مربوط به تغییر میزان پلی ساکاریدها است. اما به هر حال مهار طول شدن سلول به وسیله تغییر در ترکیبات دیواره باید بیشتر بررسی می‌شود.

## منابع

1. C. D. Foy, R.L. Chaney and M.C. White, *Plant Physiology*. 29 (1978) 511-566.
2. L.V. Cochlin, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 46 (1995) 237-260.

3. H. Matsumoto, Rev of Cytology. 200 (2000) 1-43
4. H. Matsumoto, E. Hirasawa, H Torikai, and E Takahashi, *Plant Cell Physiol.* 17 (1976) 127-137.
5. N .Schomhl, and W.J Horst, *Plant Cell andnvironment* 23 (2000) 735-742.
6. P.J Harvey, B.F Campanella, P.M.L Castro, *Environ.Sci&pollut Res* (2002) 29-47.
7. F.P.C Blamey, C.J. Asher, D.C Edwards & G.L Kerven, *Journal of Plant Nutrition.* 16 (1993) 555-562.
8. W.J. Horst, a Review. *Zeitschrift fur P flanzenernahrung und Bodenkunde*, 158 (1995) 419-428.
9. Z. Rengel, *New Phytologist.* 134 (1996) 389-406.
- 10 . F . Ghanati, A. Morita, and H. Yokota, *Plant and Soil.* 276 (2005) 133-141.
11. Y. Yamamoto, S. Rikiish, Y. Chang, and K. Ono, *Plant Cell Physiol.* 35 (1994) 575-583.
12. F Ghanati, (2002) *Studies on boron tolerance mechanism of suspension –cultured tobacco cells;Shizouka university*; Ph.D thesis.
13. F.O.C Blamey, D.C Edmeades & D.M Wheeler, *Journal of Plant nutrition*13 (1990) 729-744.
14. TB Kinraid,J .*Exp. Bot.*48 (1994)1115-1124.
15. M. Sivagura, F. Bluska, D. Volkman, H.Felle, WJ.Horst, *Plant Physiol.* 119(1999)1073-1082.
16. W.J. Horst, N. Schmohl, F Baluska, and M. Sivaguru, *Plant Soil.* 215 (1999) 163-174.
17. S. C Fry, *Physiol Plant.*75 (1989) 532-536.
18. H Ikegawa , Y. Yamamoto, H. Matsumoto, *Soil Sci Plant Nutr.*46 (2000) 503-514.