



بررسی اثر زیادی روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در کلزا (رقم هیولا)

مه‌لقا قربانلی^{۱*}، رضا حاجی‌حسینی^۲، فاطمه خوش‌اقبال^۳

چکیده

در این پژوهش اثر غلظت‌های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه کلزا رقم هیولا بررسی شده است. گیاهان به مدت ۱۴ روز تحت تیمار با محلول غذایی هوگلدن (شاهد)، غلظت‌های زیاد روی (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار) و همین غلظت‌ها به اضافه یک میلی مولار اسید آسکوربیک قرار گرفتند. بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش غلظت روی مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کاروتنوئیدها) نسبت به شاهد به طور چشم‌گیری کاهش یافت. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی با افزایش غلظت روی افزایش پیدا کرد. در ریشه تنها فعالیت آنزیم کاتالاز اندکی افزایش پیدا نمود و آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز نسبت به شاهد تغییر قابل توجهی نداشتند. در حضور اسید آسکوربیک میزان کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کم‌تر شد. در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی، نشانه‌های زرد شدن به خصوص در برگ‌های انتهایی گیاه کلزا مشاهده شد و در غلظت ۷۰۰ میکرومولار از روز هشتم تیمار برگ‌های انتهایی شروع به سوختن و خشک شدن نمود ولی در حضور اسید آسکوربیک این نشانه‌ها ظاهر نشد. به عبارت دیگر اسید آسکوربیک توانست سمیت مقدار زیاد روی را تا حد قابل ملاحظه‌ای کاهش داده و مقاومت این گیاه را بالاتر ببرد.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، اسید آسکوربیک، پراکسیداز، روی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، زیادی، کاتالاز و کلزا

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست شناسی، گرگان، ایران. مسئول مکاتبه: ghorbanli@yahoo.com

۲- دانشگاه پیام نور تهران، گروه زیست شناسی، تهران، ایران.

۳- دانشگاه پیام نور قشم، گروه زیست شناسی، قشم، ایران.



مقدمه

روی یک عنصر کم مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می‌شود و در بسیاری از فرایندهای متابولیسمی آن‌ها شرکت می‌کند، ولی مقدار خیلی کم یا زیاد آن موجب اختلال در فرایندهای مهم متابولیسمی و در نتیجه توقف یا کاهش رشد در آن‌ها می‌گردد. روی تنها عنصری است که در هر شش گروه آنزیمی یعنی اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیاها، ایزومرازها و لیگازها یافت می‌شود (Broadly و همکاران ۲۰۰۷). روی در فعالیت آنزیم‌ها، بیوسنتز کلروفیل، اکسین، پروتیین و کربوهیدرات، هم چنین متابولیسم لیپید، اسید نوکلئیک و استحکام غشا شرکت دارد (Marshner، ۱۹۹۵). با این وجود، عنصر روی یک فلز سنگین است و همانند دیگر فلزات سنگین مقدار زیاد آن در اکثر گیاهان ایجاد مسمومیت می‌کند. یون‌های روی در غلظت‌های بالا به دلیل تولید بیش از حد انواع اکسیژن واکنش گر (ROS) موجب آسیب اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Chaoui و همکاران ۱۹۹۷).

سمیت روی در خاک‌های کشاورزی در اثر آبیاری با فاضلاب و مصرف بی‌رویه کودها، در خاک‌های شهری از راه فعالیت‌های انسانی و در معادن از طریق فعالیت‌های ذوب و استخراج فلزات به وجود می‌آید (Chaney، ۱۹۹۳). نشانه‌های سمیت روی در گیاهان شامل کاهش تولید محصول، توقف رشد، زرد شدن برگ‌ها در اثر کمبود آهن، کاهش سنتز کلروفیل، تجزیه کلروپلاست و اختلال در جذب فسفر، منیزیم و منگنز می‌باشد (Boawn و Rasmussen، ۱۹۷۱؛ Carrol و Lonergan، ۱۹۶۸؛ Chaney، ۱۹۹۳؛ Foy و همکاران ۱۹۷۸).

از طرفی اسید آسکوربیک یا ویتامین ث یک متابولیت مهم در گیاهان بوده و در فیزیولوژی تنش و رشد و نمو آن‌ها نقش اساسی دارد. این ویتامین یک آنتی‌اکسیدان است و با دیگر اجزای سیستم آنتی‌اکسیدان همکاری دارد. در سم‌زدایی انواع اکسیژن واکنش گر شرکت داشته و گیاهان را در برابر زیان اکسیداتیو ناشی از متابولیسم هوازی، فتوسنتز و انواع آلاینده‌ها محافظت می‌کند. اسید آسکوربیک هم چنین به

عنوان کوفاکتور آنزیمی در حفاظت نوری، واکنش آسیرسانی و گیاه‌خواری حشرات، توسعه و تقسیم سلول نقش مهم دارد. در تنظیم انتقال الکترون فتوسنتزی موثر است. به علاوه به عنوان یک پیش ماده برای سنتز اگزالات و تارتارات به کار می‌رود. پیشرفت دانش در مورد آسکوربات در گیاهان سبب خواهد شد که از طریق دست‌کاری ژنتیک، امکان افزایش غلظت آسکوربات در گیاهان به وجود آید که در نتیجه برای تغذیه انسان و مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو سودمند خواهد بود (Foyer، ۱۹۹۵؛ Smirnof، ۱۹۹۳). کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی است و پس از سویا و نخل روغنی سومین منبع تولید روغن نباتی در جهان به شمار می‌رود. این گیاه متعلق به خانواده براسیکاسه است (Downey، ۱۹۸۹). در این پژوهش اثر غلظت زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در کلزا (رقم هیولا) بررسی شده است. به عبارت دیگر می‌خواهیم بدانیم که میزان بردباری رقم هیولای کلزا در برابر غلظت زیاد روی چقدر است و آیا اسید آسکوربیک قادر است سمیت روی را کاهش دهد و مقاومت این گیاه را بالا ببرد؟

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه کلزا رقم هیولا ۴۰۱ از موسسه کشت و توسعه دانه‌های روغنی تهران تهیه گردید و برای سترون شدن به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ قرار داده شد. سپس بذرهای چند بار با آب معمولی و سپس آب مقطر شستشو شدند. بذرهای سترون شده به ظروف پلاستیکی حاوی لیکا منتقل شدند. آبیاری در سه روز اول با آب مقطر و به مدت ۷ روز با محلول غذایی هوگلند صورت گرفت. پس از ده روز دانه رست‌ها از بستر لیکا جداسازی و به محیط هوگلند حاوی مقادیر مختلف سولفات روی (شاهد یا ۰/۷، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار) و غلظت‌های بالای سولفات روی (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار) به اضافه یک میلی مولار اسید آسکوربیک منتقل گردید. در هر ظرف یک لیتر محلول غذایی و ۷ گیاه قرار داده شد. مدت زمان تیمار ۱۴

سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با استفاده از روش Mishra و Kar (سال ۱۹۷۶) و آنزیم آسکوربات پراکسیداز با روش Nancano و Asada (سال ۱۹۸۱) انجام گرفت و فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر (اندام هوایی و ریشه) محاسبه گردید. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دانمن‌های دانکن انجام شد.

نتایج

با افزایش غلظت سولفات روی، میزان کلروفیل a و b نسبت به شاهد کاهش یافت. این کاهش بر اساس آزمون دانکن در تیمارهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی معنی‌دار است. میزان کاهش کلروفیل a نسبت به b بیشتر بود. مقدار کاروتنوئیدها نیز با زیاد شدن غلظت روی در محلول غذایی، در دو تیمار ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار Zn کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در حضور اسید آسکوربیک نسبت کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی به طور قابل توجهی کمتر شد (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

با افزایش روی در محلول غذایی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد، در ریشه تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت ولی در اندام هوایی به طور معنی‌داری افزایش پیدا نمود ($P < 0/05$). فعالیت آنزیم کاتالاز با زیاد شدن غلظت روی در محلول غذایی در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد افزایش یافت ($P < 0/05$). افزایش فعالیت کاتالاز در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود. در غلظت‌های زیاد روی ولی در حضور اسید آسکوربیک افزایش فعالیت آنزیم‌های فوق در اندام هوایی کلزا کمتر شد. در ریشه در حضور اسید آسکوربیک از غلظت ۱۰۰ میکرومولار به بالا فعالیت آنزیم پراکسیداز دارای افزایش بود (شکل‌های ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹)

روز، طول دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت، دما بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بوده و pH محلول‌ها در ۶/۸ تنظیم شد.

محاسبه غلظت کاروتنوئیدها و کلروفیل‌های a و b با استفاده از روش (Lichtenthaler و Welburn، ۱۹۹۴) انجام شد. در این روش میزان جذب رنگیزه‌های فتوسنتزی در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UVmini 1240 شرکت SHIMADZU خوانده شد و با استفاده از معادلات Lichtenthaler و Welburn اندازه‌گیری گردید:

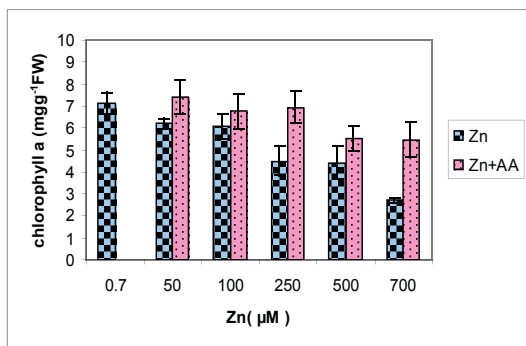
$$\text{Chla} = 12.25A_{663.2} - 2.798A_{646.8}$$

$$\text{Chlb} = 21.50A_{646.8} - 5.10A_{663.2}$$

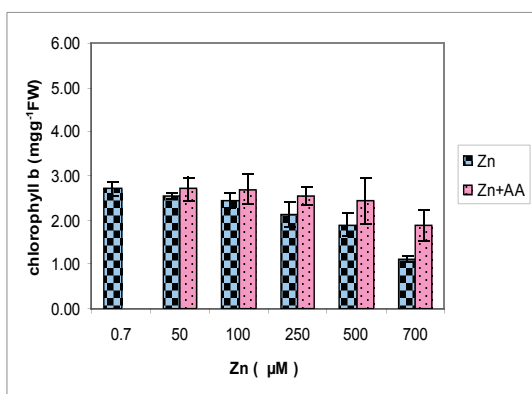
$$\text{Cx} + \text{c} = (1000A_{470} - 1.82\text{Ca} - 85.02\text{Cb}) / 198$$

Chla مقدار کلروفیل a، Chlb مقدار کلروفیل b و cx + c مقدار کل کاروتنوئید می‌باشد. همچنین $A_{663.2}$ ، $A_{646.8}$ و A_{470} به ترتیب میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر است.

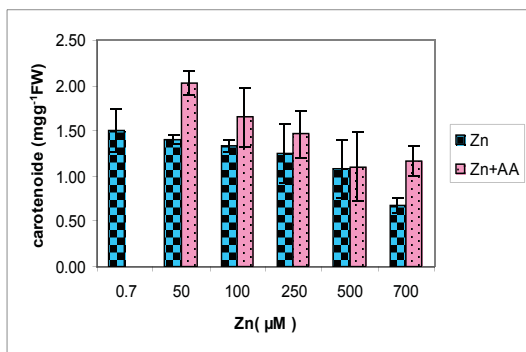
برای سنجش فعالیت آنزیمی، استخراج پروتیین با استفاده از روش Sudhakar و همکاران سال ۲۰۰۱ انجام گرفت. در این روش یک گرم بافت تر ریشه و اندام هوایی هر کدام به طور جداگانه در هاون چینی محتوی ۵ میلی لیتر بافر تریس ۰/۵ مولار با pH ۷/۵ به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ کاملاً ساییده شد. همگنای حاصل به لوله سانتریفوژ منتقل گردید و پس از ۱۰ دقیقه سکون به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار، سانتریفوژ نمونه‌ها انجام گرفت. در پایان مرحله سانتریفوژ، لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی از چند لایه پارچه عبور داده شد و عصاره‌های پروتیینی حاصل برای بررسی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از آن‌جا که این آنزیم در غیاب آسکوربات بسیار ناپایدار می‌باشد، به بافر استخراج فوق ۰/۲ میلی لیتر آسکوربات ۵ میلی مولار اضافه شد و تمامی مراحل همانند سایر آنزیم‌ها به انجام رسید (Benavides و همکاران، ۲۰۰۰).



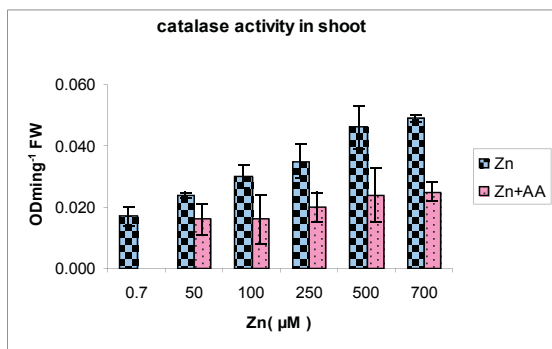
شکل ۱: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر در کلزاهامیزان کلروفیل



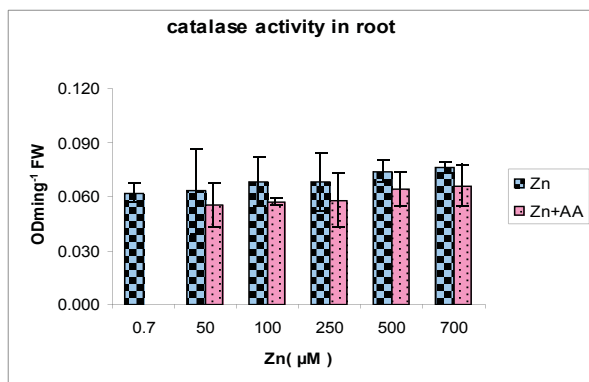
شکل ۲: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر در برگ کلزاهامیزان کلروفیل



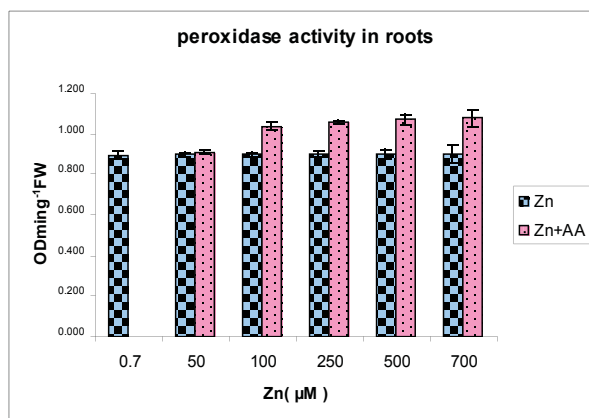
شکل ۳: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کاروتنوئید در برگ کلزا



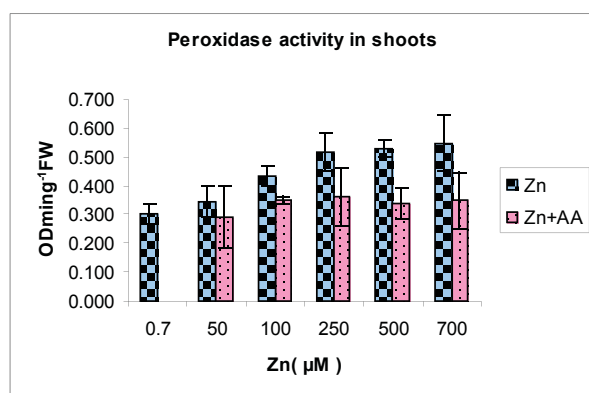
شکل ۴: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت کاتالاز اندام هوایی کلزا



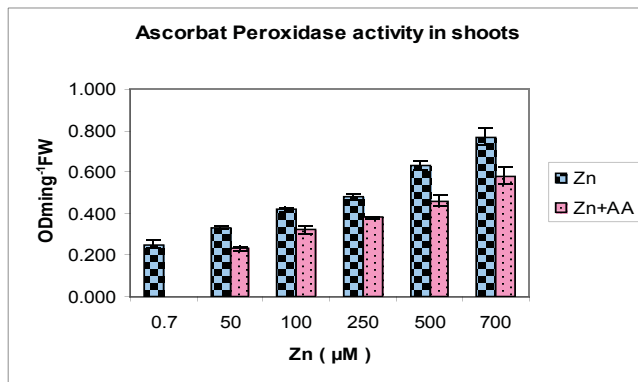
شکل ۵: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت کاتالاز ریشه کلزا



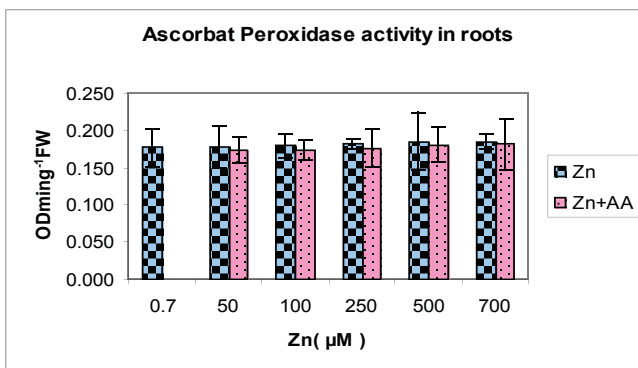
شکل ۶: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت پراکسیداز ریشه کلزا



شکل ۷: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت پراکسیداز اندام هوایی کلزا



شکل ۸: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی کلزا



شکل ۹: اثر غلظت های زیاد روی و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز ریشه کلزا

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر مشاهده نمودیم که با افزایش غلظت روی میزان کاروتنوئیدها، کلروفیل a و کلروفیل b کاهش یافت. در تیمارهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی پس از چند روز زرد شدن در برگ های انتهایی اتفاق افتاد. در تیمار ۷۰۰ تعداد برگ های کلروزه شده بیشتر بود و از روز هشتم یا نهم، سوختن و خشک شدن برگ های انتهایی شروع می شد. مطالعات نشان می دهد که فلزات سنگین بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی تاثیر می گذارند. به عبارت دیگر آن ها از طریق بازدارندگی مستقیم آنزیم های مربوط و القای کمبود مواد غذایی ضروری، در سنتز رنگیزه های فتوسنتزی ایجاد اختلال می کنند (Van Assche و Clijester، ۱۹۹۹). مقدار زیاد فلز سنگین روی با کاهش مقدار آهن، کاهش در سنتز کلروفیل، تجزیه کلروپلاست و اختلال در جذب فسفر،

منیزیم منگنز موجب زرد شدن برگ ها می شود (Boawn و Rasmussen، ۱۹۷۱؛ Carrol و Loneragan، ۱۹۶۸؛ Chaney، ۱۹۹۳؛ Foy و همکاران، ۱۹۷۸). کاهش میزان کاروتنوئیدها می تواند به دلیل فرورسانی غیرفتوشیمیایی کلروفیل های برانگیخته به وسیله کاروتنوئیدها و در نتیجه متلاشی شدن ساختار کاروتنوئید باشد. کاروتنوئیدها در سمیت زدایی کلروفیل برانگیخته سه تایی نقش دارند. واکنش با کلروفیل برانگیخته به منظور جلوگیری از تشکیل رادیکال های فعال اکسیژن است. در حقیقت کاروتنوئیدها به عنوان آنتی-اکسیدان و یک سیستم محافظ در برابر تنش اکسیداتیو، خود قربانی تنش اکسیداتیو القا شده می شوند (Caspri و همکاران، ۲۰۰۰؛ Larson و همکاران، ۱۹۸۸؛ Dicango و همکاران، ۲۰۰۱).

زنجیره‌های رادیکال‌های آزاد را متوقف و با حذف پراکسید هیدروژن از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند (Rukmini و همکاران ۲۰۰۴ ؛ Vichnevestskaia و Roy ۲۰۰۱). کاتالاز با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Gaspar و همکاران ۱۹۹۱). این آنزیم دارای مولکول هم است که به عنوان اکسیدوردوکتاز الکترون اضافی خود را از دست می‌دهد و یا یک الکترون کسب می‌کند (Savoure و همکاران، ۱۹۹۰). با افزایش غلظت روی در جو، کاتالاز که بیش‌تر در پراکسی-زوم‌ها یافت می‌شود و در تنفس نوری شرکت دارد، تغییر قابل ملاحظه‌ای نشان نمی‌دهد (Erdei و همکاران، ۲۰۰۲). بنا بر پژوهش پراساد بر روی خردل هندی، با افزایش غلظت سولفات روی، فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد (Prasad ، ۱۹۹۹). ریو و اسرستی گزارش دادند که با افزایش روی، فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی نخود کبوتری^۳ کاهش می‌یابد (Ruo و Sresty ، ۲۰۰۰).

به طور کلی هنگامی که گیاهان در برابر عوامل تنش‌زا مانند خشکی، دمای بالا، آلاینده‌ها، فلزات سنگین، آفت-کش‌ها و عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرند، رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن واکنش‌گر در سلول‌ها به وجود آمده و موجب آسیب‌های اکسیداتیو در آن‌ها می‌گردد. اکسیژن‌های واکنش‌گر بر روی چربی‌ها، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک اثر گذاشته و در نتیجه موجب کاهش چشم‌گیر در رشد، تولید محصول و سرانجام مرگ گیاه می‌شوند (Foyer و همکاران، ۱۹۹۸).

گیاهان برای کم کردن و بهبود آسیب حاصل از اکسیژن‌های واکنش‌گر، سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای را توسعه داده‌اند. این آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در دفاع سلول در برابر تنش اکسیداتیو دارند (Zhang و Kirkham ، ۱۹۹۴ ؛ Galli و همکاران ۱۹۹۶). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به شمار می‌روند.

افزایش فعالیت این آنزیم‌ها با افزایش غلظت روی، نقش دفاعی آن‌ها را در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از سمیت روی نشان می‌دهد. کمتر شدن فعالیت آنزیم‌های فوق در حضور اسید

1- *Cajanus cajan*

در غلظت‌های بالای روی و در حضور اسید آسکوربیک میزان کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی کمتر شد و حتی در غلظت ۷۰۰ میکرومولار نشانه‌های سوختن و خشک شدن مشاهده نشد. به نظر می‌رسد که اسید آسکوربیک با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود انواع اکسیژن واکنش‌گر را از بین برده و سمیت به وجود آمده در اثر غلظت بالای سولفات روی را تا حد زیادی برطرف نموده است.

در این پژوهش، نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نشان داد که با افزایش روی در محلول غذایی فعالیت آنزیم‌های فوق در اندام هوایی کلزا افزایش می‌یابد. در ریشه تنها فعالیت آنزیم کاتالاز دارای افزایش بود و دو آنزیم دیگر نسبت به شاهد تغییر قابل ملاحظه‌ای را نشان ندادند.

پژوهش‌های زیادی در مورد اثر فلز سنگین روی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز صورت گرفته است: چائویی افزایش غلظت روی را در لوبیا^۱ بررسی کرد و مشاهده نمود که فعالیت این آنزیم با افزایش سولفات روی در اندام هوایی افزایش می‌یابد. هم‌چنین در پژوهش پراساد در گیاه خردل هندی^۲ و اردئی در جو فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی دارای افزایش، اما در ریشه بدون تغییر بود (Prasad ، ۱۹۹۷، Chaoui ، ۱۹۹۹، Erdei و همکاران ۲۰۰۲).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز از ترکیبات کلیدی سیستم حذف پراکسید هیدروژن سیتوزول و کلروپلاست در گیاهان عالی است. اردئی و همکاران اثر افزایش روی بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در جو بررسی نمودند و مشاهده کردند که فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت روی در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد تغییر قابل ملاحظه‌ای ندارد. در مقابل Chaoui در سال ۱۹۹۷ نشان داد که با افزایش غلظت روی در لوبیا، فعالیت آسکوربات پراکسیداز هم در ریشه و هم در اندام هوایی افزایش می‌یابد. در پژوهش پراساد در سال ۱۹۹۹ با افزایش غلظت روی، فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی خردل هندی به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به شاهد بیشتر شد.

کاتالاز یکی از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی است که واکنش‌های

۱ - *Phaseolus vulgaris*

۲- *Brassica juncea*

سولفات روی، از روز نهم نشانه‌های سوختگی و خشک‌شدگی در برگ‌ها ظاهر می‌گردید. اسید آسکوربیک اثر منفی زیادی روی را بر رنگی‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تا حد زیادی کاهش داد چنان که در حضور آن، در غلظت ۷۰۰ میکرومولار روی نشانه‌های خشک‌شدگی و سوختگی در برگ‌های کلزا مشاهده نشد. به عبارت دیگر اسید آسکوربیک توانست سمیت مقدار زیاد روی را تا حد قابل ملاحظه‌ای کاهش داده و مقاومت این گیاه را بالاتر ببرد.

آسکوربیک می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن باشد که توانسته بیشتر رادیکال‌های فعال اکسیژن را از بین ببرد و تنش اکسیداتیو به وجود آمده را تا حد زیادی کاهش دهد. در پژوهش حاضر مشخص شد که عنصر روی با غلظت‌های زیاد به ویژه از غلظت ۱۰۰ به بالا موجب کاهش رنگی‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کلزا می‌شود که نشان می‌دهد غلظت بالای روی با اختلال در فرایندهای متابولیسمی و رشد و نمو باعث ایجاد تنش در این گیاه شده است. در این بررسی، از غلظت ۲۵۰ میکرومولار به بالا برگ‌های گیاه کلزا زرد شده و در غلظت ۷۰۰ میکرومولار

منابع

- Benavides MP , Marconi .P.L, Gallego, SM. Comba. M.E.Tomaro (2000)**relationship between antioxidant defence systems and salt tolerance in solanum tuberosum , Australian Journal of Plant Physiology 327 : 273 – 278.
- Boawn LC, Rasmussen PE.(1971).** Crop response to excessive zinc fertilization of alkaline soil . Agronomy Journal 63 : 874 – 876.
- Broadley ,M R .White, PJ . Hammond , JP. Zlko , IV . (2007).** Zinc in plants . Journal of new phytologist 173 : 677 - 702
- Caspi, V., Droppa, M., Horrath, G., Malkin, S., Marder, J. B and Raskin, V.I. (2000)** The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves. Photosynth Res. 62: 165-174
- Carrol MD , Loneragan JF.(1968).**Response of plant species to concentration of zinc in solution. I. Growth and zinc content of plants . Australian Journal of Agricultural Research 19 :859 - 868
- Chaney, RL. (1993).** Zinc phytotoxicity. In: Robson AD (ed) Zinc in Soils and Plants. Proc Lnt Symp' Zinc in Soils and Plants' Univ W Australia, 27-28 Sept, 1993, pp 135-150. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. ISB N O-7923-2631-8.
- Chaoui A, Mazhoudi S, Ghorbal MH, Elferjani E(1997).** Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effect on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus Vulgaris L.*) Plant Sci. 127:139-147.
- Dicango, R., Guid, R.L, De Gara, L. and Soldatini, G.F. 2001.** Combined cadmium and ozone treatment effect photosynthesis and ascorbate-dependent defences in sunflower. Newphytol.151:622-636.
- Downey, R.K. and Robbelen, G.(1989)** Brassica species. In:Robbelen, G., Downey, R.K. and Ashri, A. (eds) Oil Crops of the World. McGraw-Hill, New York, pp.339-362.
- Erdei, S.Hegedus, A.Hauptmann, G. Szalai, J. Horvath, G. (2002).** Heavy metal induced physiological changes, Antioxidative response system. Proceedings of the 7th Hungarian Congress on plant physiology

Vol 48 (3-4):89-90.

Foy CD, Chaney RL, White MC.(1978). The physiology of metal toxicity in plants. Annual Review of Plant Physiology 29 : 511 – 566.

Foyer ,C.H, Valadier , M .H ., Migge , A . and Becker , T. W .1998. Drought induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and one the coordinate of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves . Plant Physiol . 117:283-292 .

Foyer CH.1993. Ascorbic acid. In: Alscher RG. Hess JL. Eds. Antioxidants in higher plants. Boca Raton:CRC. Press, 31-58.

Galli U, Schiöpp H, and Brunold C.(1996). Thiols in cadmium and copper-treated maize (*Zea mays* L.) planta 198:139-143.

Gaspar , T.H. Penel, C ., Hagega, D. , Greppin, H. 1991. Peroxidase in plant growth, differentiation and development processes . In Lobarzewski , J ., Gneppin , H . Penel , C . , Gaspar , T.H. (eds): Biochemical , molecular and physiological aspects of plant peroxidasees. University de Geneve , Switzerland : 249-250

Kar .M . , Mishra , D. (1976) . Catalase , peroxidase , polyphenol oxidase . activity during rice leaf senescence . Plant Physiology.

Larson ,H.E. , Bornman , J.F. , ASP , H . (1988). Influence of UV-B radiation and Cd²⁺ on chlorophyll fluorescence , growth and nutrient content in *Brassica napus* . Exp.Bot. 49 : 1031-1039 .

Lichtenthaler ,H.K. and Welburn , W.R.(1994). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents . biochem .soc . Tran . 11:591-592 .

Marschner H. (1995). Mineral nutrition of higher plants , 2nd edn . London ,UK: Academic Press.

Nakano Y , Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts . Plant Cell Physiology 22:867-880.

Savoure A., Thorin D . , Davey M . , Hua X.-J. , Mauro S., Van Montagu M., Inze D. & Verbruggen N.(1999) NaCl and CuCo₄ treatments trigger distinct oxidative defence mechanisms in *Nicotiana plumbaginifolia* L . Plant , Cell & Environment 22, 387-396 .

Smirnoff N . 1995 . Antioxidant systems and plant response to the environment . In : Smirnoff N , ed . Environment and plant metabolism . Flexibility and acclimation. Bios Scientific Publishers Oxford . pp 217-243 . ISBN-1-872748-93-7.

Sudhakar , C . , lakshim , A. and Giridara Kumar , S . 2001 . Change in the antioxidant enzyme efficiency in two high yeilding genotype of mulberry (*Morus alba*) under Nad salinity . Plant Sci . 161:613-619 .

Prasad KUSK , Paradha Saradhi P , Sharmila P. 1999. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea* . Environmental and Experimental Botany 42, 1-10.

Rukmini , M.S., Benedicta , D.S. , and Vivan , D.S. (2004). Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malon dialdehyde in Schizophrenic Patients . Indian journal of Clinical Biochemistry 1919 : 114-118 .

- Ruo KVM and Sresty TUS** . 2000 . Antioxidative parameters in the seedling of pigeonpea (*Cajanus Cajan* (L.) Millspough) in response to Zn and Ni stresses . *Plant Science* 157 , 113-128 .
- Van Assche F , Clijsters H** (1999) . Effects of metals on enzyme activity in plants . *Plant Cell Env* 13: 195-206 .
- Vinchnevestkania , K.D. , Roy , D.N.** 2001. Oxidative stress and antioxidative defence with an emphasis on plants antioxidants . *Environmental Review* ., 7:31-51 .
- Zhang J , and Kirkham MB** .1994 . Drought stress induced changes in activities of superoxide in wheat species . *Plant Cell Physiology* 35:785-791 .