Physiological and biochemical responses of basil (*Ocimum basilicum*) seedlings to different concentrations of zinc

Omid Azizian-Shermeh, Alireza Einali *, Jafar Valizadeh
Department of Biology, Faculty of sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

SID

Abstract
Zinc (Zn^{2+}) is one of the essential micronutrient elements for plant growth. In the present study, effect of different concentrations of zinc on some physiological and biochemical properties of basil (*Ocimum basilicum*) was investigated. Basil seedlings were exposed to six zinc ($ZnSO_4$) levels (0, 50, 100, 200, 400, and 800 mg/L) in 3 days' intervals for a period of 30 days. The root and shoot growth, leaf number and area, photosynthetic pigments content, total soluble sugars and proteins, phenolic compounds, antioxidant power and mineral elements contents including zinc and potassium were significantly increased in effect of zinc levels up to 200 mg/L. Inversely, ferrous and calcium contents was drastically decreased concomitant with increasing zinc concentration but magnesium content remained unchanged. Our results indicated a dual role of zinc with optimum concentration of 200 mg/L, and a decrease in the root and shoot growth, pigment and phenolic contents under and over optimum concentration, whereas sugars and protein accumulation were occurred concomitantly with increasing zinc in the medium. However, the decrease of these parameters at the highest zinc concentration did not reach the level of control plants, which means that this species has a high resistance against zinc metal stress and because of the relative accumulation of zinc in polluted areas may has an important role for human nutrition. In general, the results point to important role of zinc in maintaining and protecting of basil seedlings against radical oxygen species.

Keywords: Basil, Chlorophyll, Phenolic compounds, Soluble sugars, Zinc

* Corresponding Author: aeinali@science.usb.ac.ir

Copyright©2018, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

www.SID.ir

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال دهم، شمارهٔ سی و ششم، تابستان ۱۳۹۷، صفحهٔ ۵۶-۳۵
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۵/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۰۳/۱۱
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۴/۲۳

پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) بر اثر غلظت‌های مختلف عنصر روی

امید عزیزیان شرمه، علیرضا عینعلی *، جعفر ولیزاده
گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

چکیده
عنصر روی (Zn^{2+}) یکی از عناصر کم‌مصرف ضروری برای رشد گیاهان است. در پژوهش حاضر، اثر غلظت‌های مختلف روی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) بررسی شد. گیاهچه‌های ریحان در فواصل زمانی ۳ روزه و برای مدت ۳۰ روز در معرض غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی قرار گرفتند. میزان رشد ریشه و بخش‌های هوایی، تعداد برگ در هر بوته، سطح برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و پروتئین‌های محلول کل، ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و محتوای عناصر معدنی روی و پتاسیم بر اثر تیمار تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی به‌طور معنی‌دار افزایش یافتند. محتوای آهن و کلسیم گیاه متناسب با افزایش غلظت روی به‌شدت کاهش یافت؛ ولی میزان منیزیم تغییر نکرد. نتایج بیان‌کنندهٔ نقش دوگانهٔ روی با غلظت بهینهٔ ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بودند و در غلظت‌های بیشتر یا کمتر میزان رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان ترکیبات فنلی کاهش یافتند؛ درحالی‌که تجمع قندها و پروتئین‌های محلول کل همگام با افزایش غلظت روی رخ داد. به‌هرحال کاهش این مقادیر در بیشترین غلظت روی به مقدار شاهد نرسید و بیشتر از آن بود که نشان می‌دهد گیاه ریحان مقاومت بسیار زیاد نسبت به تنش فلز روی دارد و با تجمع نسبی روی در خود با رشد در نواحی آلوده به این عنصر نقش مؤثری در تغذیهٔ روی در انسان دارد. نتایج حاصل نشان‌دهندهٔ نقش مهم روی در محافظت از گیاه ریحان در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، روی، ریحان، قندهای محلول، کلروفیل

* نگارندهٔ مسئول: نشانی پست الکترونیک: aeinali@science.usb.ac.ir، شمارهٔ تماس: ۰۵۴۳۱۱۳۶۳۳۸

Copyright©2018, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بـه‌تازگی نگرانی‌هـا دربـارهٔ افـزایش غلظـت فلزهای سنگین در خاک و آب رو به افزایش است (Zarcinas *et al.*, 2004). آلودگی فلزهای سنگین ممکن است از فعالیت‌هـای طبیعـی و انسـانی ماننـد معـادن، فراینـدهای صـنعتی و همچنـین اسـتفاده از کودهای حاوی فلزهای سنگین در کشاورزی ناشی شود (Dudka *et al.*, 1996). روی (Zn^{2+}) یکی از عناصـر کم‌مصـرف ضـروری بـرای رشـد گیاهـان است. این عنصـر نقـش بسیار مهمـی در متابولیسـم گیاهان بـا متـأثرکردن فعالیـت آنزیم‌هـای مختلـف ازجمله هیـدروژناز و کربنیـک انهیـدراز، پایـداری عملکرد ریبـوزومی و سـنتز سیتوکروم‌ها بـر عهـده دارد (Broadley *et al.*, 2007). آنزیم‌های گیـاهی کـه بـا روی فعـال می‌شـوند، بیشـتر در متابولیسـم کربوهیدرات‌ها، نیتروژن، لیپیـد و نوکلئیـک اسـید، حفـظ یکپـارچگی غشـاهای سـلولی، سـنتز پروتئین‌هـای دخیـل در فراینـدهای متابولیـک، فتوسنتز، تنظیم سـنتز اکسـین و تشـکیل دانـهٔ گـرده نقش دارند (Marschner, 1995). ایـن عنصـر تنهـا فلـز موجـود در هـر شـش گـروه آنزیمـی اسـت (Broadley *et al.*, 2007). روی در غلظت‌هـای مناسـب، رشـدونمو میوه‌هـا و بهـره‌وری گیاهـان را افزایش می‌دهـد (Vaillant *et al.*, 2005). کمبـود روی توسـعهٔ بسـیاری از ناهنجاری‌هـا را در رشـد گیاهان مانند کلروزه‌شدن و کوچک‌ماندن برگ‌ها، کوتاه‌قدی و ایجاد حالت روزت در گیاهـان سـبب می‌شـود. کمبـود ایـن عنصـر همچنـین بـر کیفیـت محصـولات جمع‌آوری‌شـده تـأثیر می‌گـذارد (Marschner, 1995). باوجود ضروری‌بودن عنصر روی برای گیاهان مقادیر بیش از حد آن بسیار مضر است. این عنصر در مقـادیر بیشـتر از نیـاز تغذیـه‌ای به‌سادگی، جذب گیاهان و سپس آسیمیله می‌شـود. گیاهانی که در معرض غلظت‌هـای زیـاد روی قـرار می‌گیرند، علائم مسموم‌شدن مشابه با سایر فلزهـای سنگین را از خود نشـان می‌دهنـد. ایـن آثـار شـامل کلروزه‌شدن برگ‌ها، ممانعت از جوانه‌زنی، کاهش رشد، کاهش تعداد و سطح برگ، کاهش عملکـرد و کاهش تولید گل هستند. علاوه بـر ایـن، کـاهش فتوسـنتز، نقـص در عملکـرد آنزیم‌هـا، اخـتلال در جذب عناصر غذایی، پژمردگـی و تغییـر در روابـط آبـی گیـاه نیـز مشـاهده می‌شـود (Prasad, 2004; Deng *et al.*, 2006; Dhir *et al.*, 2008; Borowiak *et al.*, 2015). روی اضـافی در عملکرد تعرقی، فتوسنتز و بیوسنتز کلروفیل اخـتلال ایجـاد می‌کنـد (Richardson *et al.*, 1993; Borowiak *et al.*, 2015) که ممکن است با تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد و بر فعالیـت فتوسـنتزی و همچنـین رشـد گیاهـان اثـر بگـذارد (Cuypers *et al.*, 2001; Mukhopadhyay *et al.*, 2013). سـبزیجات و سـایر گیاهـان زراعـی بـه مقـادیر مختلـف روی حساسـیت نشـان می‌دهنـد. به‌هرحال مسموم‌شدن با روی ممکن است بر جذب عناصـر دیگـر نیـز اثـر بگـذارد (Samreen *et al.*, 2017).

گیـاه ریحـان (*Ocimum basilicum* L.) از خـانوادهٔ نعناعیـان (Lamiaceae) اسـت. ایـن گیـاه علاوه‌بر اسـتفادهٔ غـذایی، بـه‌دلیل داشـتن ترکیبـات معطر و روغن‌های ضروری در صـنایع دارویـی نیـز کـاربرد دارد. ترکیبـات استخراج‌شـده از ایـن گیـاه علاوه‌بر استفادهٔ خام، پس از تعدیلات شیمیایی نیـز اسـتفاده می‌شـوند (Ramawat and Merillon,

Archive of SID

www.SID.ir

(2008. این گیاه در پزشکی سنتی کاربرد فراوان دارد. روغن‌های ضروری *O. basilicum* خاصیت ضدمیکروبی بسیار زیادی دارند (Kashyap *et al.*, 2011; Shafique *et al.*, 2011; Hanif *et al.*, 2011). این گیاه سالیان متمادی برای درمان ناهنجاری‌های گوارشی و عصبی کاربرد فراوان داشته است (Bunrathep *et al.*, 2007). برگ‌ها و گل‌های این گیاه خواص دارویی مختلفی دارند ازجمله ضد اسپاسم، ضد نفخ، هاضم، اشتهاآور و نیروبخش هستند (Marwat *et al.*, 2011). باوجود بررسی‌های متعدد بر ترکیب عنصری و دارویی این گیاه، تاکنون پژوهشی دربارهٔ تأثیر عناصر معدنی بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک این گیاه انجام نشده است؛ بنابراین، تصور می‌شود تغییر در میزان غلظت عناصر معدنی ممکن است خواص آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی گیاهان را تغییر دهد؛ بنابراین در پژوهش حاضر کوشش می‌شود ارتباط غلظت روی با برخی جنبه‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان مشخص شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمار روی: بذر گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از مرکز تحقیقات کشاورزی استان سیستان و بلوچستان تهیه و در سینی‌های حاوی کوکوپیت به‌صورت خزانه در گلخانه کشت شد. پس از سه هفته از کاشت، گیاهچه‌های دارای دو یا سه برگ، همسان شدند و به گلدان‌های پلاستیکی یک‌لیتری دارای مقادیر برابر کوکوپیت (یک کیلوگرم) منتقل شدند و در شرایط دمایی ۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد (روز) و ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد (شب) و شدت نور ۲۵۰ تا ۳۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه قرار گرفتند. گیاهچه‌ها تا روز ۳۰ پس از کاشت، با محلول غذایی هوگلند معمولی به‌طور مرتب آبیاری شدند. تیمار روی بر گیاهان در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با شش تکرار برای هر تیمار با اضافه‌کردن غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی سولفات ($ZnSO_4$) به محلول غذایی هوگلند هر سه‌روز یکبار، به‌ازای هر گلدان ۳۰ میلی‌لیتر و به‌مدت ۳۰ روز اعمال شد. گیاهانی که محلول هوگلند را با غلظت صفر روی دریافت کرده بودند، شاهد در نظر گرفته شدند. پس از این مدت، گیاهان برای بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی به غلظت‌های مختلف روی، جمع‌آوری و آزمایش شدند. نیمی از نمونه‌های گیاهی برای انجام بررسی‌های فیزیولوژیک شامل تعیین وزن تر و خشک، ارتفاع ریشه‌ها و بخش هوایی، سطح برگ، تعداد برگ و نسبت طول به پهنای برگ و برگ‌های نیم دیگر نمونه‌ها برای انجام آنالیزهای بیوشیمیایی استفاده شدند.

استخراج و اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای استخراج کلروفیل‌ها و کاروتنوئید کل، مقدار ۱ گرم از بافت چهارمین برگ جوان گیاه ریحان در هاون سرد با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول صاف‌شده برای اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌ها به کار رفت. بقایای حاصل از استخراج رنگیزه‌ها پس از خشک‌شدن برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌ها استفاده شدند. میزان کلروفیل با روش

Archive of SID

www.SID.ir

اسپکتروفوتومتری و با رابطه‌های ۱ تا ۳ اندازه‌گیری شد (Arnon, 1949).

رابطهٔ ۱

$$\text{Chl a (mg ml}^{-1}) = 0.0127\ A_{663} - 0.00269\ A_{645}$$

رابطهٔ ۲

$$\text{Chl b (mg ml}^{-1}) = 0.0229\ A_{645} - 0.00468\ A_{663}$$

رابطهٔ ۳

$$\text{Total Chl (mg ml}^{-1}) = A_{652}/34.5$$

میزان کاروتنوئید کل نیز با روش Lichtenthaler و Buschmann (۲۰۰۱) در طول موج ۴۷۰ نانومتر و با رابطهٔ ۴ اندازه‌گیری شد.

رابطهٔ ۴

$$\text{Total Car (}\mu\text{g ml}^{-1}) = (1000A_{470} - 1.82\text{Chl a} - 85.02\text{Chl b})/198$$

استخراج و اندازه‌گیری قندهای محلول کل: استخراج قندهای محلول کل با روش Omokolo و همکاران (۱۹۹۶) انجام شد. بدین منظور، به ۴۰ میلی‌گرم از بقایای بافتی عاری از رنگیزه‌های فتوسنتزی ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (مدل WBN 29، شرکت Memmert، آلمان) با دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. فاز رویی جدا شد. عمل استخراج با اتانول ۸۰ درصد چهار مرتبهٔ دیگر تکرار شد. عصاره‌های حاصل، با تبخیر اتانول تغلیظ شدند و به حجم مشخصی کاهش یافتند. این عصاره‌ها پس از سانتریفیوژ (مدل Universal 320، شرکت Hettich، آلمان) در g ۵۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل استفاده شدند.

قندهای محلول کل با روش آنترون ارزیابی شدند (McCready *et al.*, 1950). برای اندازه‌گیری قند کل ۰/۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ تغلیظ‌شده با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون در ۱۰۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۱۳ مولار) مخلوط شدند و به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. میزان جذب نور هریک از نمونه‌ها پس از سردشدن، در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان قندهای محلول کل با نمودار استاندارد گلوکز محاسبه شد.

استخراج و اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول کل: استخراج پروتئین‌های محلول کل با بافر استخراج با ترکیب بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) ۱۰۰ میلی‌مولار، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار، پتاسیم کلرید (KCl) ۱۰ میلی‌مولار، منیزیم سولفات ($MgSO_4$) ۱ میلی‌مولار، گلیسرول ۱۰ درصد، پلی وینیل پلی پیرولیدون ۱ درصد، تریتون X-100 ۰/۱ درصد و بتا ۲- مرکاپتواتانول ۵۰ میلی‌مولار انجام شد (Einali and Valizadeh, 2015). میزان پروتئین با نمودار استاندارد آلبومین تعیین شد (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی کل و تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه: برای تعیین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی از پودر خشک گیاه استفاده شد. میزان ترکیبات فنلی کل موجود در برگ‌های گیاه ریحان با معرف فولین اندازه‌گیری شد (Singleton *et al.*, 1999). مقدار ۰/۰۵ گرم از پودر خشک برگ‌های گیاه پودرشده با آسیاب برقی (مدل AR10، شرکت Moulinex، فرانسه) و به دور از نور مستقیم خورشید، با یک میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد استخراج شد و پس از سانتریفیوژ در g ۵۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۱۰ درصد مخلوط شد؛ سپس ۵ دقیقه در

Archive of SID

www.SID.ir

درجه‌حرارت اتاق قرار گرفت و ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم بیکربنات (Na_2CO_3) ۵ درصد به آن افزوده شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در درجه‌حرارت اتاق و تاریکی نگهداری و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. میزان ترکیبات فنلی با نمودار استاندارد گالیک اسید محاسبه و براساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بیان شد.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی برگ گیاه ریحان با خنثی کردن رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل با روش Kukic و همکاران (۲۰۰۸) با تغییرات جزئی اندازه‌گیری شد. مقادیری از عصاره‌های با غلظت‌های مختلف از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار دی فنیل پیکریل هیدرازیل مخلوط شدند و حجم نهایی آنها با متانول به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول تعیین شد. مخلوطی بدون عصاره متشکل از ۱ میلی‌لیتر محلول رقیق‌شدهٔ دی فنیل پیکریل هیدرازیل در ۲ میلی‌لیتر متانول برای کنترل استفاده شد. میزان خنثی کردن رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (درصد ممانعت) در حضور غلظت‌های مختلف عصاره با رابطهٔ ۵ محاسبه شد.

رابطهٔ ۵

$$S\ (\%) = (A_C - A_S) / A_C \times 100$$

در این رابطه، A_C میزان جذب کنترل (محلول دی فنیل پیکریل هیدرازیل رقیق‌شده و بدون عصاره) و A_S میزان جذب نمونهٔ آزمایش‌شده است. درنهایت، نمودار درصد ممانعت دربرابر غلظت‌های مختلف عصاره برحسب میلی‌گرم بر لیتر رسم شد و مقدار IC_{50} که بیان‌کنندهٔ غلظتی از عصاره است که در آن نیمی از رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل خنثی می‌شوند؛ یعنی نصف درصد ممانعت به‌دست‌آمده از رابطهٔ ۵، از این نمودار به دست آمد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در نظر گرفته شد. برای کنترل مثبت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند آسکوربیک اسید استفاده شد.

تعیین میزان عناصر معدنی: برای آزادشدن و اندازه‌گیری عناصر معدنی از روش هضم توسط اسید و میکروویو (مدل MG40، شرکت Samsung، کرهٔ جنوبی) استفاده شد (Ravandeh *et al.*, 2011). بدین منظور، مقدار ۰/۵ گرم از بافت برگ خشک‌شده در معرض هوا با ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید مخلوط شد و ۱۰ دقیقه در میکروویو قرار گرفت. میزان ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ (۱۲ نرمال) به مخلوط یادشده اضافه و به‌مدت ۵ دقیقهٔ دیگر در میکروویو گذاشته شد. پس از هضم، مخلوط حاصل با کاغذ صافی واتمن شمارهٔ ۱ صاف شد و حجم نهایی آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت هریک از عناصر روی، آهن، پتاسیم، کلسیم و منیزیم با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (مدل PU9100X، شرکت Philips، هلند) تعیین شد.

تحلیل آماری: نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار (Standard deviation) برای هر تیمار بیان شدند. وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌های شاهد و تیمارشده با غلظت‌های مختلف روی با تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ ($P < 0.05$) تعیین شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

اثر غلظت‌های مختلف روی بر رشد گیاه و

سطح برگ: افزایش غلظت روی تا میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در گیاه ریحان افزایش رشد این گیاهان را سبب شد؛ به‌طوری‌که همگام با افزایش غلظت روی، میزان وزن تر و خشک بخش‌های هوایی و ریشه، ارتفاع بخش‌های هوایی و ریشه و تعداد برگ در هر بوته در مقایسه با گیاهان شاهد به‌طور معنی‌دار افزایش یافت (جدول ۱). باوجود کاهش شدید شاخص‌های رشد در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی، میزان این کاهش در برخی از شاخص‌ها در گیاهان تیمارشده با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی به‌اندازهٔ شاهد نبود. نسبت طول به پهنای برگ در غلظت‌های مختلف روی ازنظر آماری تغییری نکرد که نشان می‌دهد طول و پهنای برگ متناسب با غلظت روی تغییر پیدا نمی‌کنند. سطح برگ گیاه ریحان نیز متناسب با افزایش غلظت روی زیاد شد و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بیشترین میزان خود رسید (شکل ۱). افزایش غلظت روی به ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش سطح برگ گیاه را سبب شد؛ به‌طوری‌که در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، سطح برگ کمتر از شاهد بود. وزن تر و خشک، طول ریشه‌ها و بخش‌های هوایی و همچنین سطح برگ، متغیرهای مفیدی در تعیین میزان رشد گیاهان به شمار می‌روند. غلظت بهینهٔ روی برای رشد گیاه ریحان در شرایط معمولی، ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شد به‌دلیل بیشترین میزان رشد ریحان در این غلظت. به‌هرحال غلظت‌های بیشتر که رشد را کاهش دادند نشان‌دهندهٔ مسموم‌شدن گیاه با این عنصر هستند؛ ولی این کاهش در بسیاری از شاخص‌ها در مقایسه با شاهد بسیار کمتر بود که نشان‌دهندهٔ مقاومت بسیار زیاد این گیاه دربرابر تنش ناشی از فلز روی است. کاهش رشد گیاه درنتیجهٔ غلظت‌های زیاد روی ممکن است از تأثیر روی اضافی بر فتوسنتز و همچنین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی شود. کاهش رشد بخش‌های مختلف گیاه ناشی از سمی‌بودن روی، در گیاهان مختلف گزارش شده است (White *et al.*, 1974; Baker, 1978; Symeonidis *et al.*, 1985; Bert *et al.*, 2000). غلظت‌های ۲۰۰ میکرومولار و بالاتر روی در لوبیا کاهش وزن تر، سطح برگ و سایر شاخص‌های رشد را سبب شده است (Vassilev *et al.*, 2011). در تأیید نتایج به‌دست‌آمده، بررسی تأثیر روی بر رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی دو گیاه *Abelmoschus esculentus* و *Cyamopsis tetragonolobus* نشان داد روی تا غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌صورت مادهٔ غذایی عمل و رشد را تحریک می‌کند؛ ولی در غلظت‌های بیشتر به‌صورت معکوس عمل می‌کند و رشد را کاهش می‌دهد (Mangal *et al.*, 2013).

اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان

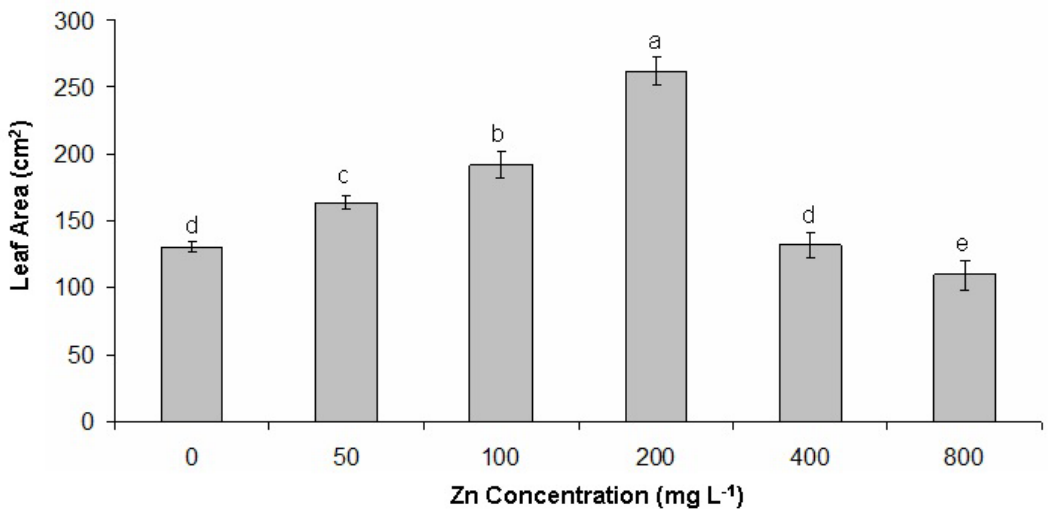
رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ‌ها: میزان کلروفیل a و کل بلافاصله با اضافه‌کردن روی به محیط‌کشت در همهٔ غلظت‌ها در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بیشترین میزان خود رسید (شکل‌های ۲-A و C). غلظت کلروفیل b نیز در پاسخ به افزایش غلظت روی زیاد شد؛ ولی بین میزان کلروفیل b در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۲-B). به‌هرحال

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- ویژگی‌های رشد گیاهچه‌های ریحان در پاسخ به غلظت‌های مختلف روی- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند. nd نشان‌دهندهٔ نبود تفاوت معنی‌دار است.

غلظت روی ($mg.L^{-1}$)	وزن تر (گرم)		وزن خشک (گرم)		ارتفاع (سانتی‌متر)		تعداد برگ در هر بوته	نسبت طول به پهنای برگ
	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه		
0	3.80 ± 0.24^{b}	1.36 ± 0.21^{b}	0.93 ± 0.04^{b}	0.22 ± 0.01^{a}	30.57 ± 1.00^{a}	7.57 ± 0.72^{a}	31.33 ± 1.53^{ab}	2.32 ± 0.31^{nd}
50	4.85 ± 0.58^{c}	2.04 ± 0.13^{c}	1.08 ± 0.04^{c}	0.43 ± 0.03^{c}	35.93 ± 1.25^{b}	13.10 ± 1.91^{b}	42.67 ± 2.52^{c}	2.03 ± 0.41^{nd}
100	6.49 ± 0.37^{d}	2.35 ± 0.41^{c}	1.19 ± 0.03^{d}	0.62 ± 0.05^{d}	43.40 ± 2.48^{c}	20.37 ± 3.01^{c}	49.33 ± 3.21^{d}	1.76 ± 0.16^{nd}
200	9.33 ± 0.11^{e}	5.09 ± 0.09^{d}	1.52 ± 0.09^{e}	0.84 ± 0.02^{e}	52.87 ± 2.80^{d}	23.43 ± 3.10^{c}	57.33 ± 2.08^{e}	1.84 ± 0.18^{nd}
400	5.45 ± 0.45^{c}	0.85 ± 0.03^{a}	0.79 ± 0.06^{a}	0.34 ± 0.02^{b}	41.27 ± 0.67^{c}	15.80 ± 1.48^{b}	34.67 ± 1.53^{b}	2.05 ± 0.10^{nd}
800	2.81 ± 0.25^{a}	0.83 ± 0.02^{a}	0.71 ± 0.04^{a}	0.21 ± 0.01^{a}	28.17 ± 2.11^{a}	6.67 ± 0.47^{a}	27.67 ± 2.52^{a}	2.60 ± 0.77^{nd}



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف عنصر روی بر سطح برگ گیاه ریحان- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

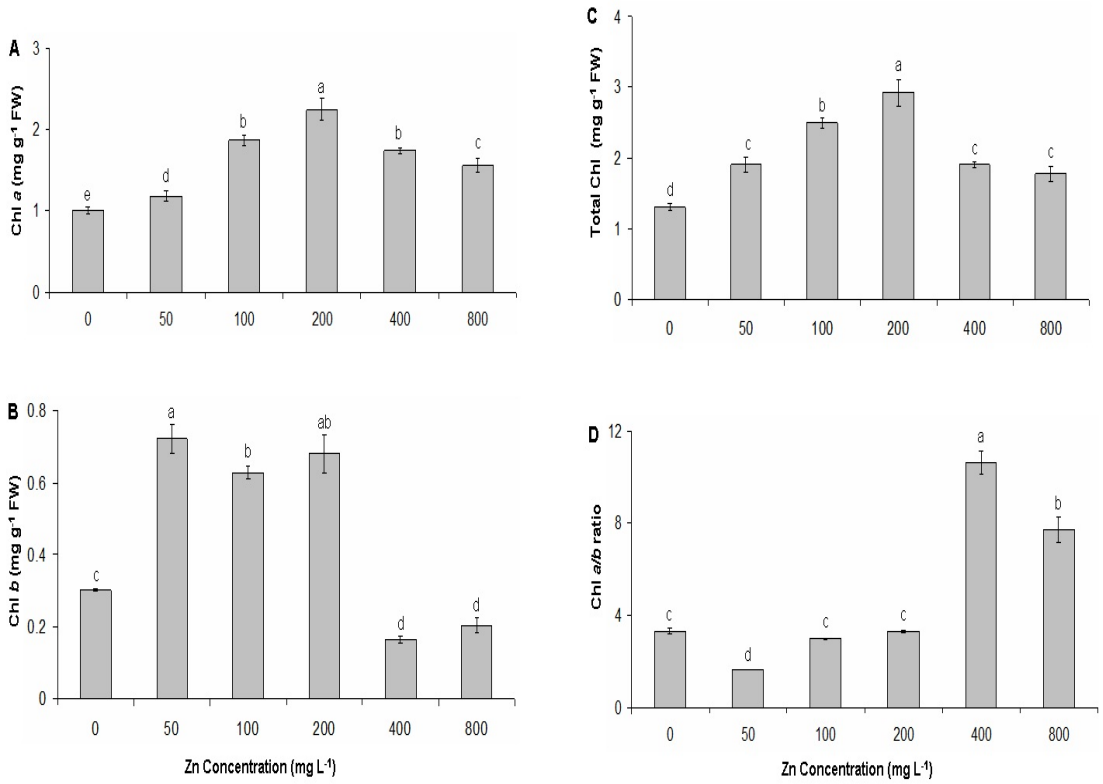
افزایش غلظت روی به ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش شدید میزان کلروفیل‌ها را سبب شد؛ با وجود این، میزان کلروفیل a و کل در این غلظت‌ها در مقایسه با شاهد همچنان بیشتر بود؛ درحالی‌که میزان کلروفیل b نسبت به شاهد بسیار کمتر بود. میزان رنگیزه‌ها در گیاهان، یکی از مشخصه‌های هر گونه است. پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، بازتابی از حساسیت گیاه به شرایط تنشی مانند فلزهای سنگین است (Borowiak *et al.*, 2015). بررسی‌های مختلف نشان‌دهندهٔ کاهش میزان کلروفیل در گونه‌های مختلف گیاهی در معرض تنش فلزهای سنگین

www.SID.ir

هستند (Prasad and Strzalka, 1999; Mishra and Dubey, 2005; Aggarwal *et al.*, 2012). این کاهش به‌علت تداخل یون‌های فلزهای سنگین با بیوسنتز کلروفیل با جانشینی آنها با یون منیزیم یا ممانعت مستقیم مراحل آنزیمی دخیل در بیوسنتز کلروفیل رخ می‌دهد (Cenkci *et al.*, 2010; Pourraut *et al.*, 2011)؛ برعکس، گیاهان ریحان تیمارشده با غلظت‌های مختلف روی، میزان بیشتری از کلروفیل‌ها را به‌ویژه کلروفیل a و کل در مقایسه با شاهد نشان دادند. این افزایش میزان کلروفیل‌ها سازوکاری دفاعی در برابر مسموم‌شدن ناشی از این فلز تلقی می‌شود؛ بنابراین، متابولیسم اولیه بر اثر سمی‌بودن روی دستخوش تغییر نمی‌شود؛ بلکه احتمالاً سمی‌بودن این فلز با سازوکارهای منتج به تجمع کلات‌های فلزی در واکوئل برطرف می‌شود (Borowiak *et al.*, 2015). تجمع کلروفیل در گیاهانی که با روی تیمار شده‌اند به تحمل آن گیاه نسبت به مسموم‌شدن با روی بستگی دارد. به‌هرحال گزارش‌هایی مبنی بر افزایش غلظت رنگیزه‌ها پس از قرار گرفتن در معرض فلزها وجود دارند (Stiborova *et al.*, 1986; Mishra and Dubey, 2005; Borowiak *et al.*, 2015). نسبت کلروفیل a/b که شاخص تنش در نظر گرفته می‌شود معمولاً در گیاهانی که در معرض غلظت‌های زیاد فلزها قرار دارند کاهش می‌یابد (Borowiak *et al.*, 2015). در بررسی حاضر این نسبت در همهٔ غلظت‌های کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت و حتی در مقایسه با غلظت‌های بیشتر از این مقدار، بسیار کمتر بود که بیان‌کنندهٔ افزایش کمتر کلروفیل a در برابر کلروفیل b در غلظت‌های کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی است (شکل ۲-D). این افزایش بیشتر، در میزان کلروفیل b نشان می‌دهد کلروفیل برای شکل‌گیری صحیح کمپلکس‌های جمع‌آوری‌کنندهٔ نور در کلروپلاست‌های گیاهان عالی و جلبک‌های سبز ضروری است (Eggink *et al.*, 2001; Eggink *et al.*, 2004; Biswal *et al.*, 2012). علاوه بر این، کلروفیل b بیان یک‌سری از پروتئین‌های ویژهٔ غشای تیلاکوئیدی را تنظیم می‌کند و بدین‌ترتیب افزایش اندازهٔ کمپلکس‌های آنتنی و درنتیجه افزایش میزان انتقال الکترون را سبب می‌شود (Tanaka *et al.*, 2001; Biswal *et al.*, 2012). افزایش شدید این نسبت در غلظت‌های بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی نشان‌دهندهٔ کاهش کمتر کلروفیل a در برابر کلروفیل b است. درحقیقت کاهش شدید میزان کلروفیل b در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی در مقایسه با شاهد دلیل افزایش نسبت کلروفیل a/b در این غلظت‌ها است. افزایش این نسبت در گونه‌های مختلف بید (*Salix* spp.) در معرض غلظت‌های مختلف روی (Borowiak *et al.*, 2015)، گیاهچه‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در معرض غلظت‌های مختلف کادمیوم، مس و سرب (Zengin and Munzuroglu, 2005) و برگ‌های گیاه سنگروی سیاه (*Empetrum nigrum*) در معرض غلظت‌های مختلف مس و نیکل (Monni *et al.*, 2001) نیز گزارش شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

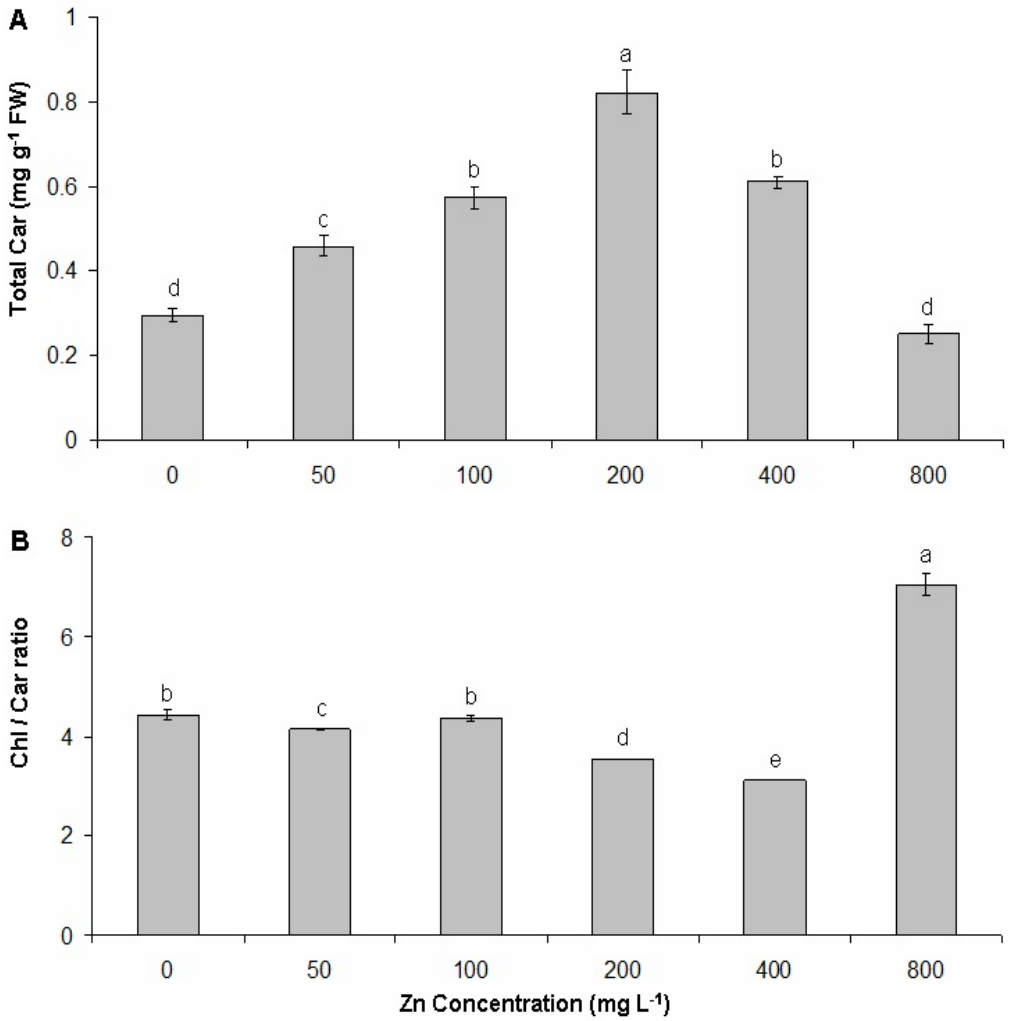


شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و نسبت کلروفیل a/b (D)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

روندی مشابه با کلروفیل a دربارهٔ تأثیر غلظت‌های مختلف روی بر میزان کاروتنوئیدهای کل نیز مشاهده می‌شود که نشان‌دهندهٔ محافظت سلول‌ها دربرابر تغییرات اکسیداتیو است (شکل ۳-A). در پژوهش‌های پیشین بر سایر گونه‌ها نیز نتایج مشابهی به دست آمده‌اند (Tewari *et al.*, 2002; Borowiak *et al.*, 2015). کاروتنوئیدها در بسیاری از جنبه‌های فتوسنتز دخیل هستند. این رنگیزه‌ها علاوه‌بر عملکردشان به‌صورت رنگیزه‌های کمکی در جذب نور، عملکرد آنتی‌اکسیدانی نیز دارند و با فروکش‌کردن کلروفیل برانگیخته از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط تنش جلوگیری و بدین‌ترتیب ساختارهای فتوسنتزی را دربرابر آسیب‌های اکسیداسیون نوری محافظت می‌کنند (Kenneth *et al.*, 2000; Hou *et al.*, 2007; Sengar *et al.*, 2008)؛ با وجود این، کاهش نسبت کلروفیل به کاروتنوئید (شکل ۳-B) در همهٔ غلظت‌ها بجز غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی بیان‌کنندهٔ تجمع بیشتر کاروتنوئیدها دربرابر کلروفیل‌ها در این غلظت‌ها است. این نسبت، شاخص اختصاصی برهم‌کنش فلزها با رنگیزه‌ها در نظر گرفته می‌شود و مقدار آن به نوع فلز و مرحلهٔ رشد گیاه استفاده‌شده بستگی دارد (Mysliwa-Kurdziel and Strzalka, 2002). افزایش این نسبت در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز از کاهش بیشتر کاروتنوئیدها در مقایسه با کلروفیل‌ها در این غلظت ناشی می‌شود. کاهش

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان کاروتنوئید کل (A) و نسبت کلروفیل به کاروتنوئید (B)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

تجمع کاروتنوئیدها در پاسخ به غلظت‌های زیاد روی (Mangal *et al.*, 2013) و سایر فلزهای سنگین (Baszynski *et al.*, 1988) پیش‌تر نیز گزارش شده است.

اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان قندها و پروتئین‌های محلول کل: میزان قندهای محلول با افزایش غلظت روی در محیط کشت افزایش یافت و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بیشترین میزان خود رسید (شکل ۴-A). میزان قندهای محلول در گیاهان تیمارشده با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی کاهش یافت؛ ولی این کاهش در مقایسه با شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بسیار اندک بود؛ بنابراین، میزان قندهای محلول در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با این غلظت‌ها بسیار بیشتر بود. بررسی بر گونه‌های مختلف گیاه بید (*Salix* spp.) نیز نشان داده است تنش فلز روی افزایش قندهای محلول را در این گیاه سبب شده است (Borowiak *et al.*, 2015). در متابولیسم گیاهی، محصولات فتوسنتزی در برگ‌ها تولید و پس از انتقال به بافت‌های مختلف،

Archive of SID

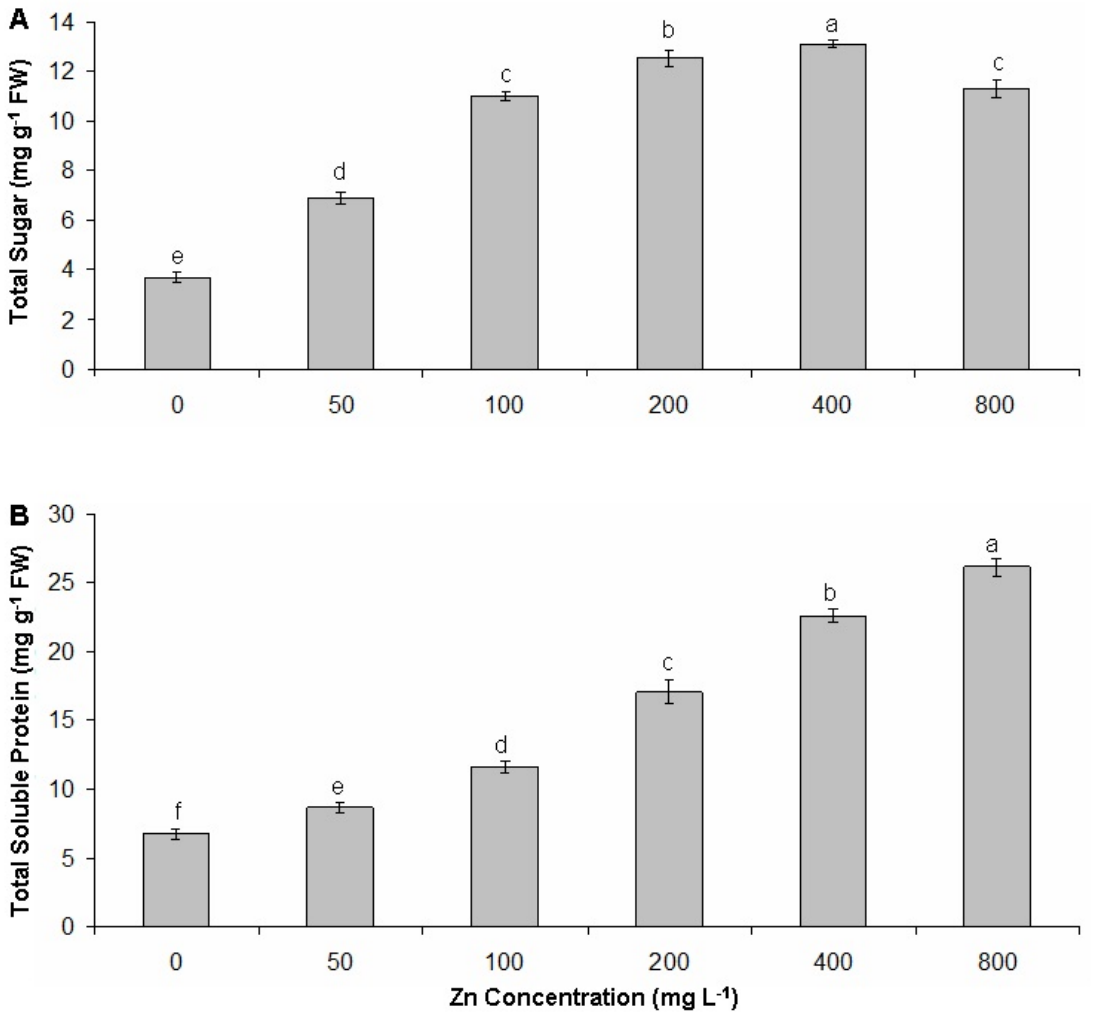
www.SID.ir

در پاسخ به ارتباطات منبع - مخزن تنظیم‌شده با بخش‌بندی کربن در مسیرهای بیوسنتزی سوکروز و نشاسته ذخیره می‌شوند (Taiz and Zeiger, 2006). معمولاً تنش فلزها تغییر در غلظت کربوهیدرات‌ها را در برگ‌های گیاهان سبب می‌شود. نتایج به‌دست‌آمده نشان دادند فلزهای سنگین مانند نیکل و مس بر تجمع قندهای محلول در برگ‌ها تأثیر می‌گذارند (Drzewiecka *et al.*, 2012; Gasecka *et al.*, 2012). در برگ‌های *Camellia sinensis*، مقادیر اضافی روی، افت قندهای محلول و احیاکننده را سبب شده‌اند (Mukhopadhyay *et al.*, 2013). علاوه بر این مشخص شده است سایر فلزها مانند نیکل و مس تجمع قندها را در برگ‌های گونه‌های مختلف بید (*Salix* spp.) و نوعی کاج (*Pinus sylvestris*) تحریک می‌کنند (Roitto *et al.*, 2005; Drzewiecka *et al.*, 2017). افزایش غلظت قند در برگ‌ها احتمالاً درنتیجهٔ اختلال در هیدرولیز نشاسته رخ می‌دهد (Taiz and Zeiger, 2006; Drzewiecka *et al.*, 2012). سایر پژوهش‌ها نشان داده‌اند نتیجهٔ تجمع ترکیبات فتوسنتزی، تغییر در میزان فتوسنتز و همچنین بروز اختلال در تعادل منبع - مخزن در گیاه است که درنهایت به پیری زودرس منجر می‌شود (Wingler *et al.*, 2006; Tholen *et al.*, 2007). در سایر پژوهش‌ها بیان شده است قندها مولکول‌های سیگنال کنترل‌کنندهٔ بیان ژن‌ها و فرایندهای تکوینی در گیاهان هستند (Morkunas *et al.*, 2005; Hanson and Smeekens, 2009). میزان پروتئین‌های محلول کل همگام با افزایش غلظت روی در محیط‌کشت به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۴-B). بیشترین میزان پروتئین در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی مشاهده شد. وجود همبستگی مثبت بین غلظت روی و میزان پروتئین‌های محلول بیان‌کنندهٔ دخالت این عنصر در سنتز پروتئین‌ها یا افزایش انحلال پروتئین‌ها است. این همبستگی مثبت در گیاهان خردل (Samreen *et al.*, 2017) و ذرت (Hisamitsu *et al.*, 2001) نیز مشاهده شده است. اثر مثبت تیمار روی بر میزان پروتئین‌های دانه‌های خردل نیز گزارش شده است (Krishna, 1995). عنصر روی، جزء ساختاری و کاتالیتیک پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و درنتیجه برای رشدونمو معمول گیاهان ضروری است (Broadley *et al.*, 2007). به‌هرحال وجود همبستگی بین غلظت روی و میزان ازت در گیاه چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) رشدیافته در شرایط کشت هیدروپونیک نیز گزارش شده است (Sagardoy *et al.*, 2009).

اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان فنل کل و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه: میزان فنل کل همگام با افزایش غلظت روی در محیط‌کشت افزایش یافت و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بیشترین میزان خود رسید (شکل ۵-A). با افزایش غلظت روی به ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان فنل کل کاهش پیدا کرد؛ با وجود این، میزان فنل‌ها در این غلظت‌ها در مقایسه با شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر همچنان بیشتر بود. افزایش میزان فنل‌ها بر اثر روی نشان‌دهندهٔ نقش مهم این ترکیبات در پاسخ گیاه ریحان به تنش ناشی از عنصر روی برای انجام سازوکارهای سم‌زدایی است. تجمع ترکیبات فنلی ناشی از تنش عنصر روی، در

Archive of SID

www.SID.ir

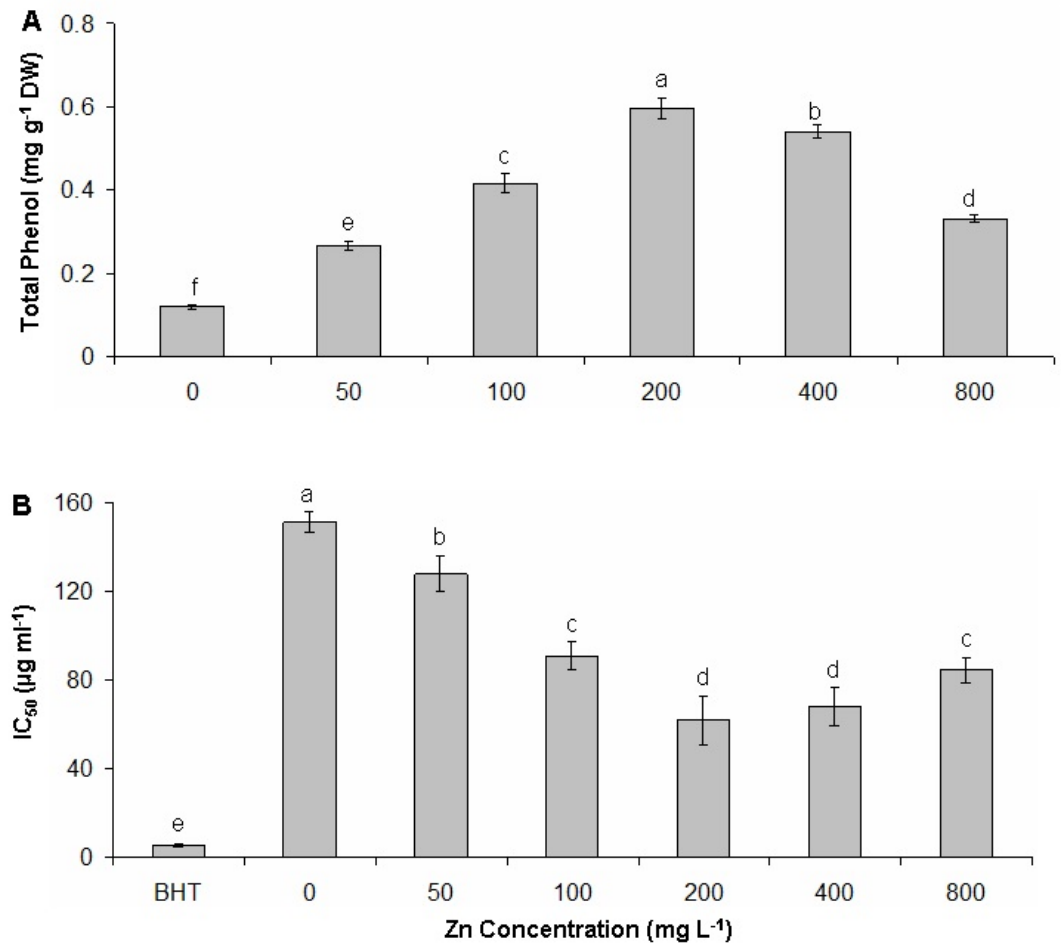


شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان قندهای محلول کل (A) و پروتئین‌های محلول کل (B) برگ‌های گیاه ریحان- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

برگ‌های گونه‌های مختلف بید (*Salix* spp.) و گیاه *Camellia sinensis* نیز مشاهده شده است (Mukhopadhyay *et al.*, 2013; Borowiak *et al.*, 2015). علاوه بر این، افزایش میزان فنل‌ها در برگ‌های نوعی بید (*Salix viminalis*) در معرض غلظت‌های مختلف مس و نیکل (Drzewiecka *et al.*, 2012; Gasecka *et al.*, 2012) و گیاه *Vaccinium myrtillus* بر اثر غلظت‌های مختلف روی و سرب (Bialonska *et al.*, 2007) نیز گزارش شده است. بررسی ظرفیت خنثی کردن رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل با عصاره‌های برگی ریحان تیمارشده با غلظت‌های مختلف روی نشان داد میزان شاخص IC_{50}، غلظتی از عصاره که در آن نیمی از رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل خنثی می‌شوند، متناسب با افزایش غلظت روی در محیط کشت کاهش یافت و در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی به کمترین میزان خود رسید (شکل ۵-B). باوجود افزایش این شاخص در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، این میزان در مقایسه با شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر روی بسیار کمتر بود. کمتربودن شاخص IC_{50}

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف روی بر میزان فنل کل (A) و قدرت آنتی‌اکسیدانی (B) برگ‌های گیاه ریحان- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

نشان‌دهندهٔ بیشتربودن ظرفیت خنثی‌کردن رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل و درنتیجه بیشتربودن قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ برگی است. مقایسهٔ بین میزان ترکیبات فنلی و ظرفیت خنثی‌کردن رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل (شکل‌های ۵- A تا B) نشان‌دهندهٔ وجود همبستگی مثبت بین افزایش میزان فنل‌ها با کاهش شاخص IC_{50} و درنتیجه افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه است. گیاهان، منبع مهم تغذیه‌ای و دارویی به شمار می‌روند. ارزش دارویی گیاهان بیشتر از میزان متابولیت‌های ثانویه و ترکیب عنصری آنها ناشی می‌شود (Valdez-Solana *et al.*, 2015). نقش گیاهان دارویی در ممانعت از بیماری‌ها یا تنظیم آنها به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن گیاهان مربوط می‌شود که به میزان پلی‌فنل‌های موجود در آنها بستگی دارد (Demiray *et al.*, 2009). ترکیبات فنلی، یک یا چند حلقهٔ آروماتیک یا چندین گروه هیدروکسیل دارند (Rice-Evans *et al.*, 1995) این ترکیبات، ازنظر زیستی فعال و به‌دلیل داشتن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی در فرایندهای دفاع دخیل هستند (Lee *et al.*, 2004; Fresco *et al.*, 2006). ویژگی

Archive

www.SID.ir

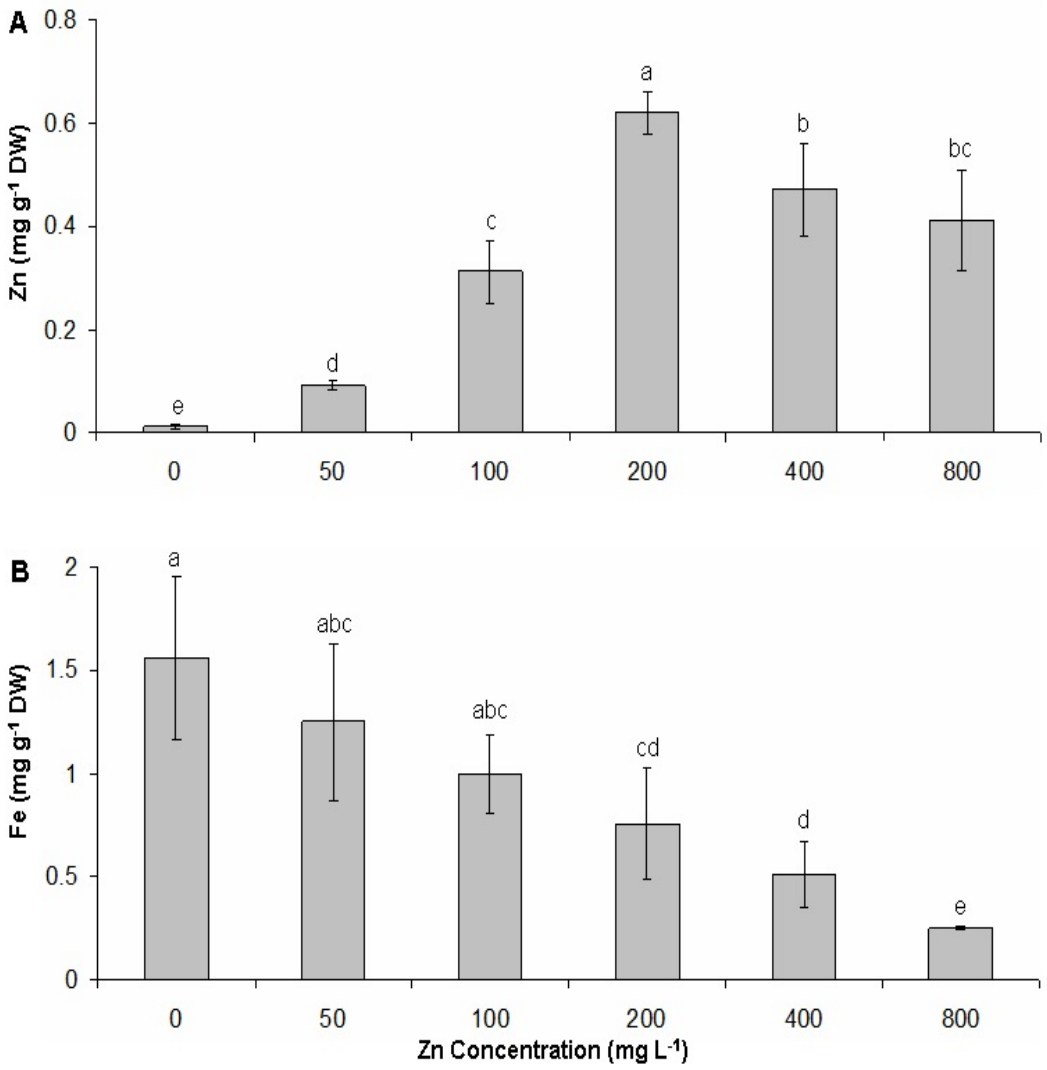
آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی بیشتر به‌دلیل فعالیت‌های اکسید و احیای آنها، توانایی زیاد برای جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کلات‌کردن یون‌های فلزی است (Rice-Evans *et al.*, 1995; Rice-Evans *et al.*, 1997; Fresco *et al.*, 2006). به همین دلیل، میزان ترکیبات فنلی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرتبط است. این نتایج نشان می‌دهند فعالیت دارویی گیاهان که بیشتر به ترکیبات فعال موجود در گیاهان وابسته است، به محل رشد و عوامل اقلیمی و تغذیه‌ای بستگی دارد؛ بنابراین، ترکیب عناصر معدنی و غلظت آنها در محلول خاک بر میزان متابولیت‌های ثانویه و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و تغذیه‌ای گیاه مؤثر است.

اثر غلظت‌های مختلف روی بر محتوای روی و آهن برگ‌ها: اندازه‌گیری محتوای عنصر روی برگ‌های گیاه ریحان در معرض غلظت‌های مختلف روی نشان داد با افزایش غلظت روی در محیط‌کشت گیاه، محتوای روی برگ‌ها به‌طور معنی‌دار افزایش یافت و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بیشترین مقدار خود رسید (شکل ۶-A). باوجود کاهش محتوای روی در گیاهان تیمارشده با غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان این عنصر در غلظت ۴۰۰ نسبت به شاهد و غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی و در غلظت ۸۰۰ نسبت به شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر روی بیشتر بود. کاهش جذب روی در غلظت‌های بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ممکن است از اشباع نسبی جایگاه‌های جذب این عنصر در ریشه ناشی شود. به‌هرحال بیشتربودن محتوای روی در این غلظت‌ها در مقایسه با گیاهان شاهد و تیمارشده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر روی (شکل ۶-A) نشان‌دهندهٔ توانایی زیاد این گیاه در انباشتن فلز روی در برگ‌ها در مناطق آلوده به این عنصر است. تأثیر مثبت غلظت‌های مختلف عنصر روی بر محتوای روی گیاه خردل نیز مشاهده شده است (Samreen *et al.*, 2017). بررسی‌های انجام‌شده دربارهٔ ارتباط بین عنصر روی و فسفر در گیاه *Thlaspi caerulescens* نشان دادند محتوای کل روی در بخش‌های هوایی با اضافه‌کردن روی به محیط کشت گیاه افزایش می‌یابد (Zhao *et al.*, 1998).

عنصر روی اثر منفی بر میزان آهن و جذب آن در گیاه ریحان دارد؛ به‌طوری‌که همگام با افزایش غلظت روی، میزان آهن گیاه کاهش می‌یابد (شکل ۶-B). میزان آهن گیاهان تیمارشده با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی در مقایسه با شاهد ۸۴ درصد کاهش یافت. تأثیر منفی افزایش غلظت روی بر جذب آهن در گیاهان ماش (Samreen *et al.*, 2017) و لیموترش (Rajaie *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند استفاده از عنصر روی اثر منفی بر غلظت آهن در بافت‌های گیاهی دارد (Mousavi *et al.*, 2012). گیاهان دچار کمبود روی، در بخش هوایی خود مقادیر بیشتر آهن را در مقایسه با گیاهان رشدیافته در مقادیر کافی این عنصر دارند (Imtiaz *et al.*, 2003). مشخص شده است عنصر روی بر عملکرد متابولیک آهن به‌شدت تأثیر می‌گذارد. در حقیقت حضور بیش از حد یکی از این دو عنصر در جذب عنصر دیگر اختلال ایجاد می‌کند (Francois and Goodin, 1972). کاهش آهن ممکن است

Archive of SID

www.SID.ir

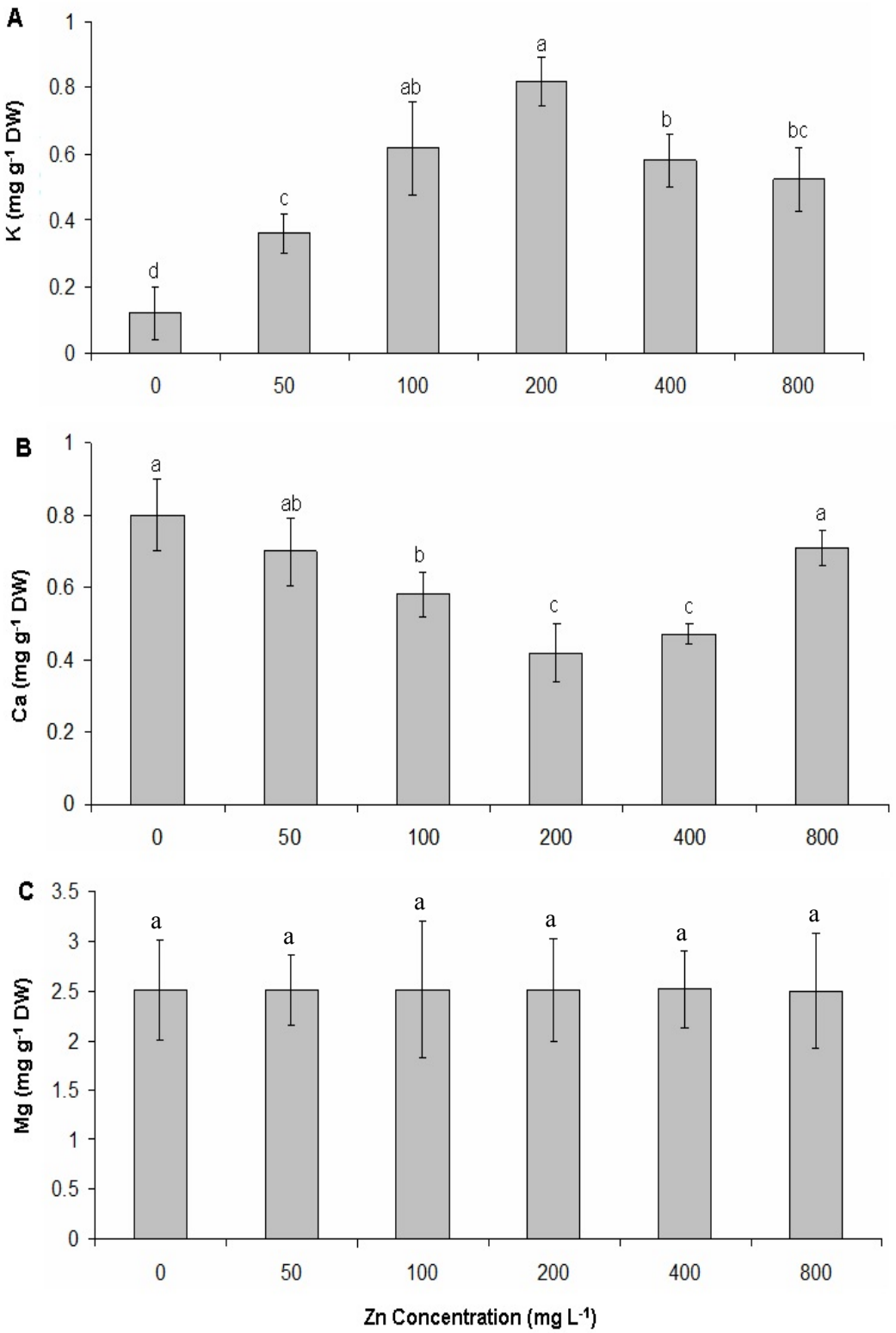


شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف روی بر محتوای روی (A) و آهن (B) برگ‌های گیاه ریحان- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

به‌دلیل برهم‌کنش‌های رقابتی با عنصر روی در جایگاه‌های جذب موجود در ریشه‌های گیاه باشد. احتمالاً کمبود روی، تنظیم جذب یون‌های غذایی مختلف را ازجمله آهن مختل می‌کند و تجمع این یون‌ها را در بافت‌های گیاهی سبب می‌شود (Lonergan *et al.*, 1982)؛ بنابراین روی، نقش اساسی در کارایی غشای سلول‌های ریشه دارد (Graham *et al.*, 1987). به همین دلیل، در پژوهش حاضر افزایش غلظت روی، میزان آهن را در بافت برگ گیاه ریحان کاهش داد.

اثر غلظت‌های مختلف روی بر محتوای پتاسیم، منیزیم و کلسیم برگ‌ها: محتوای پتاسیم برگ‌های گیاه ریحان با افزایش غلظت روی در محیط‌کشت افزایش یافت؛ در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به بیشترین مقدار خود رسید و در غلظت‌های بیشتر روی کاهش یافت (شکل ۷-A).

www.SID.ir



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف روی بر محتوای پتاسیم (A)، کلسیم (B) و منیزیم (C) برگ‌های گیاه ریحان- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با آزمون LSD هستند.

www.SID.ir

باوجود این کاهش، میزان پتاسیم در گیاهان تیمارشده با غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی نسبت به شاهد و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر روی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود؛ برعکس، تأثیر غلظت‌های مختلف روی بر میزان کلسیم برگ‌های گیاه ریحان مانند تأثیر این عنصر بر محتوای آهن، منفی بود و با افزایش غلظت روی در محیط‌کشت، محتوای کلسیم برگ‌ها کاهش یافت و در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی به کمترین مقدار خود رسید (شکل ۷–B)؛ درنتیجه ممکن است هردو عنصر روی و کلسیم با سازوکار مشابهی جذب شوند و بنابراین، مقادیر اضافی یک عنصر از جذب عنصر دیگر ممانعت کند. برخلاف تأثیر مثبت غلظت‌های زیاد روی بر جذب عنصر منیزیم در گیاه خردل (Samreen *et al.*, 2017)، در برگ‌های ریحان تیمار با غلظت‌های مختلف روی، تأثیر معنی‌داری بر جذب منیزیم در این گیاه نداشت (شکل ۷–C).

جمع‌بندی

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نقش دوگانهٔ روی را نشان می‌دهند؛ به‌طوری‌که تیمار گیاه ریحان با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این عنصر افزایش معنی‌دار رشد، سطح برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها، پروتئین‌های محلول کل، ترکیبات فنلی، قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه و محتوای عناصری مانند روی و پتاسیم را سبب شد؛ درحالی‌که غلظت‌های بیشتر و کمتر روی، عوامل یادشده را کاهش دادند. محتوای آهن و کلسیم گیاه متناسب با افزایش غلظت روی به‌شدت کاهش یافت؛ ولی میزان منیزیم هیچ تغییری نکرد. در غلظت‌های زیاد روی، کاهش رشد، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی مشاهده شد؛ ولی میزان آنها به مقدار شاهد نرسید و بیشتر از آن بود که نشان می‌دهد گیاه ریحان مقاومت بسیار زیادی نسبت به تنش فلز روی دارد و با رشد در نواحی آلوده به این عنصر نقش مؤثری در تغذیهٔ روی در انسان ایفا می‌کند. تجمع قندها و پروتئین‌های محلول کل به‌صورت پیوسته همگام با افزایش غلظت روی اتفاق افتاد. به‌طورکلی نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهندهٔ نقش مهم روی در پایداری و محافظت از گیاه ریحان دربرابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند.

سپاسگزاری

در اینجا از معاونت پژوهشی دانشگاه سیستان و بلوچستان بابت حمایت مالی از مقالهٔ حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

Aggarwal, A., Sharma, I., Tripathi, B. N., Munjal, A. K., Baunthiyal, M. and Sharma, V. (2012) Metal toxicity and photosynthesis. In: photosynthesis: overviews on recent progress and future perspectives (Eds. Itoh, S., Mohanty, P. and Guruprasad, K. N.) 229-236. IK International Publishing House (Pvt) Limited, New Delhi.

Arnon, D. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.

Baker, A. J. M. (1978) Ecophysiological aspects of zinc tolerance in *Silene maritime*. New Phytologist 80: 635-642.

Archive of SID

www.SID.ir

Baszynski, T., Tukendorf, A., Ruszkowska, M., Sko´rzynska, E. and Maksymiec, W. (1988) Characteristics of the photosynthetic apparatus of copper non-tolerant spinach exposed to excess copper. Journal of Plant Physiology 132: 708-713.

Bert, V., MacNair, M. R., De Laguerie, P., Saumitou-laprade, P. and Petit, D. (2000) Zinc tolerance and accumulation in metallicolous and nonmetallicolous populations of *Arabidopsis halleri* (Brassicaceae). New Phytologist 146: 225-233.

Bialonska, D., Zobel, A. M., Kuras, M., Tykarska, T. and Sawicka-Kapusta, K. (2007) Phenolic compounds and cell structure in bilberry leaves affected by emissions from a Zn–Pb smelter. Water, Air and Soil Pollution 181: 123-133.

Biswal, A. K., Pattanayak, G. K., Pandey, S. S., Leelavathi, S., Reddy, V. S., Govindjee, and Tripathy, B. C. (2012) Light intensity-dependent modulation of chlorophyll b biosynthesis and photosynthesis by overexpression of chlorophyllide a oxygenase in tobacco. Plant Physiology 159: 433-449.

Borowiak, K., Gasecka, M., Mleczek, M., Dabrowski, J., Chadzinikolau, T., Magdziak, Z., Golinski, P., Rutkowski, P. and Kozubik, T. (2015) Photosynthetic activity in relation to chlorophylls, carbohydrates, phenolics and growth of a hybrid *Salix purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 at various Zn concentrations. Acta Physiologiae Plantarum 37: 155.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I. and Lux, A. (2007) Zinc in plants. New Phytologist 173: 677-702.

Bunrathep, S., Palanuvej, C. and Ruangrungsi, N. (2007) Chemical compositions and antioxidative activities of essential oils from four *Ocimum* species endemic to Thailand. Journal of Health Research 3: 201-206.

Cenkci, S., Cigerci, I. H., Yildiz, M., Ozay, C., Bozdag, A. and Terzi, H. (2010) Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genome template stability in *Brassica rapa* L. Environmental and Experimental Botany 67: 467-473.

Cuypers, A., Vangronsve, J. and Clijsters, H. (2001) The redox status of plant cells (AsA and GSH) is sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiology and Biochemistry 39: 657-664.

Demiray, S., Pintado, M. E. and Castro, P. M. L. (2009) Evaluation of phenolic profiles and antioxidant activities of Turkish medicinal plant: *Tilia argentea*, *Crataegi folium* leaves and *Polygonum bistorta* roots. World Academy of Science, Engineering and Technology 54: 312-317.

Deng, H., Ye, Z. H. and Wong, M. H. (2006) Lead and zinc accumulation and tolerance in populations of six wetland plants. Environmental Pollution 141: 69-80.

Dhir, B., Sharmila, P. and Pardha Saradhi, P. (2008) Photosynthetic performance of *Salvinia natans* exposed to chromium and zinc rich wastewater. Brazilian Journal of Plant Physiology 20: 61-70.

Drzewiecka, K., Mleczek, M., Gąsecka, M., Magdziak, Z., Budka, A., Chadzinikolau, T., Kaczmarek, Z. and Goliński, P. (2017) Copper and nickel co-treatment alters metal uptake and stress parameters of *Salix purpurea* × *viminalis*. Journal of Plant Physiology 216: 125-134.

Drzewiecka, K., Mleczek, M., Gasecka, M., Magdziak, Z. and Golinski, P. (2012) Changes in *Salix viminalis* L. cv. '*Cannabina*' morphology and physiology in response to nickel ions-

Archive of SID

www.SID.ir

hydroponic investigations. Journal of Hazardous Materials 217-218: 429-438.

Dudka, S., Piotrowska, M. and Terelak, H. (1996) Transfer of cadmium, lead and zinc from industrially contaminated soil to crop: a field study. Environmental Pollution 994: 181-188.

Eggink, L. L., LoBrutto, R., Brune, D. C., Brusslan, J., Yamasato, A., Tanaka, A. and Hoober, J. K. (2004) Synthesis of chlorophyll b: localization of chlorophyllide a oxygenase and discovery of a stable radical in the catalytic subunit. BMC Plant Biology 4: 5-21.

Eggink, L. L., Park, H. and Hoober, J. K. (2001) The role of chlorophyll b in photosynthesis: hypothesis. BMC Plant Biology 1: 2-9.

Einali, A. and Valizadeh, J. (2015) Propyl gallate promotes salt stress tolerance in green microalga *Dunaliella salina* by reducing free radical oxidants and enhancing b-carotene production. Acta Physiologiae Plantarum 37: 83.

Francois, L. E. and Goodin, J. R. (1972) Interaction of temperature and salinity on sugar beet germination. Agronomy Journal 64: 272-273.

Fresco, P., Borges, F., Diniz, C. and Marques, M. P. M. (2006) New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. Medicinal Research Reviews 26: 747-766.

Gasecka, M., Mleczek, M., Drzewiecka, K., Magdziak, Z., Rissmann, I., Hadzinikolau, T. and Golinski, P. (2012) Physiological and morphological changes in *Salix viminalis* L. as a result of plant exposure to copper. Journal of Environmental Science and Health A 47: 548-557.

Graham, R. D., Welch, R. M., Grunes, D. L., Cary, E. E. and Norvell, A. A. (1987) Effect of zinc deficiency on the accumulation of boron and other mineral nutrients in barley. Soil Science Society of America Journal 51: 652-657.

Hanif, A. M., Al-Maskari, Y. M., Al-Maskari, A., Al-Shukaili, A., Al-Maskari, Y. A. and Al-Sabahi, N. J. (2011) Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of unexplored Omani basil. Journal of Medicinal Plants Research 5: 751-757.

Hanson, J. and Smeekens, S. (2009) Sugars perception and signaling-an update. Current Opinion Plant Biology 12: 562-567.

Hisamitsu, T. O., Ryuichi, O. and Hidenobu, Y. (2001) Effect of zinc concentration in the solution culture on the growth and content of chlorophyll, zinc and nitrogen in corn plants (*Zea mays* L.). Journal of Tropical Agriculture 36: 58-66.

Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q. and Chang, C. (2007) Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). Plant Physiology and Biochemistry 45: 62-69.

Imtiaz, M., Alloway, B. J., Shah, K. H., Siddiqui, S. H., Memon, M. Y., Aslam, M. and Khan, P. (2003) Zinc Nutrition of Wheat: II: Interaction of Zinc with other trace elements. Asian Journal of Plant Sciences 2: 156-160.

Kashyap, C. P., Ranjeet, K., Vikrant, A. and Vipin, K. (2011) Therapeutic Potency of *Ocimum Kilimandscharicum* Guerke - A Review. Global Journal of Pharmacology 5: 191-200.

Kenneth, K., Pallett, K. E. and Young, A. J. (2000) Carotenoids. In: Antioxidants in higher plants (Eds. Ruth, G. A. and Hess, J. L.) 59-91. CRC Press, Boca Raton.

Krishna, S. (1995) Effect of sulphur and zinc application on yield, S and Zn uptake and protein content of mung (green gram). Legume Research 18: 89-92.

Kukic, J., Popovic, V., Petrovic, S., Mucaji, P., Ciric, A., Stojkovic, D. and Sokovic, M. (2008) Antioxidant and antimicrobial

Archive of SID

www.SID.ir

activity of *Cynara cardunculus* extracts. Food Chemistry 107: 861-868.

Lee, J. Y., Hwang, W. I. and Lim, S. T. (2004) Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. Journal of Ethnopharmacology 93:409-415.

Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F4.3.1-F4.3.8.

Mangal, M., Agarwal, M. and Bhargava, D. (2013) Effect of cadmium and zinc on growth and biochemical parameters of selected vegetables. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2: 106-114.

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

Marwat, S. K., Rehman, F., Khan, M. S., Ghulam, S., Anwar, S., Mustafa, G. and Usman, K. (2011) Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Sweet Basil-*Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Asian Journal of Chemistry 23: 3773-3782.

McCready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H. S. (1950) Determination of starch and amylose in vegetables. Analytical Chemistry 22: 1156-1158.

Mishra, S. and Dubey, R. S. (2005) Heavy metal toxicity induced alterations in photosynthetic metabolism in plants. In: Handbook of photosynthesis (Ed. Pessarakli, M.) 845–863. 2nd edition. CRC Press, Taylor and Francis Publishing Company, Florida.

Monni, S., Uhlig, C., Hansen, E. and Magel, E. (2001) Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metals pollution. Environmental Pollution 112: 121-129.

Morkunas, I., Marczak, L., Stachowiak, J. and Stobiecki, M. (2005) Sucrose induced lupine defense against *Fusarium oxysporum*: sucrose stimulated accumulation of isoflavonoids as a defense response of lupine to *Fusarium oxysporum*. Plant Physiology and Biochemistry 43: 363-373.

Mousavi, S. R., Galavi, M. and Rezaei, M. (2012) The interaction of zinc with other elements in plants: a review. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4: 1881-1884.

Mukhopadhyay, M. S., Das, A., Subba, P., Bantawa, P., Sarkar, B., Ghosh, P. and Mondal, T. K. (2013) Structural, physiological, and biochemical profiling of tea plants under zinc stress. Biologia Plantarum 57: 474-480.

Mysliwa-Kurdziel, B. and Strzalka, K. (2002) Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments. In: Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants (Eds. Prasad, M. N. V. and Strzalka, K.) 201-227. Springer, Amsterdam.

Omokolo, N. D., Tsala, N. G. and Djocgoue, P. F. (1996) Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. Annals of Botany 77: 153-158.

Pourraut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli, E. (2011) Lead uptake, toxicity and detoxification in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 213: 113-136.

Prasad, M. N. V. (2004) Heavy metal stress in plants. From biomolecules to ecosystems. Springer, Berlin.

Prasad, M. N. V. and Strzalka, K. (1999) Impact of heavy metals on photosynthesis. In: Heavy metal stress in plants (Eds. Prasad, M. N. V. and Hagemeyer, J.) 117-138. Springer Verlag, Berlin.

Rajaie, M., Ejraie, A. K., Owliaie, H. R. and Tavakoli, A. R. (2009) Effect of

Archive of SID

www.SID.ir

zinc and boron interaction on growth and mineral composition of lemon seedlings in a calcareous soil. International Journal of Plant Production 2: 39- 50.

Ramawat, K. G. and Merillon, J. M. (2008) Bioactive molecules and medicinal plants. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.

Ravandeh, M., Valizadeh, J., Noroozifar, M. and Khorasani-Motlagh, M. (2011) Screening of chemical composition of essential oil, mineral elements and antioxidant activity in *Pulicaria Undulata* L. C. A. Mey from Iran. Journal of Medicinal Plants Research 5: 2035-2040.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2: 152-159.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. and Pridham, J. B. (1995) The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research 23: 375-383.

Richardson, M. D., Hoveland, C. S. and Bacon, C. W. (1993) Photosynthesis and stomatal conductance of symbiotic and nonsymbiotic tall fescue. Crop Science 33: 145-149.

Roitto, M., Rautio, P., Julkunen-Tiitto, R., Kukkola, E. and Huttunen, S. (2005) Changes in the concentrations of phenolics and photosynthates in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings exposed to nickel and copper. Environmental Pollution 137: 603-609.

Sagardoy, R., Morales, F., Lopez-Millan, A. F., Abadia, A. and Abadia, J. (2009) Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. Plant Biology (Stuttgart) 11: 339-350.

Samreen, T., Shah, H. U., Ullah, S. and Javid, M. (2017) Zinc effect on growth rate, chlorophyll, protein and mineral contents of hydroponically grown mung beans plant (*Vigna radiata*). Arabian Journal of Chemistry 7: 145-152.

Sengar, R. K., Gautam, M., Sengar, R. K., Grag, S. K., Sengar, K. and Chaudhary, R. (2008) Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 196: 73-93.

Shafique, M., Khan, J. S. and Khan, H. N. (2011) Study of antioxidant and antimicrobial activity of sweet basil (*Ocimum basilicum*) essential oil. Pharmacolagy Online 1: 105-111.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. Methods in Enzymology 299: 152-178.

Stiborova, M., Doubravova, M., Brezinova, A. and Friedrich, A. (1986) Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley. Photosynthetica 20: 418-425.

Symeonidis, L., McNeilly, T. and Bradshaw, A. D. (1985) Differential tolerance of three cultivars of *Agrostis capillaris* L. to Cd, Cu, Pb, Ni and Zinc. New Phytologist 101: 309-315.

Taiz, R. L. and Zeiger, E. (2006) Plant Physiology. 4th edition, Sinauer Associates, Inc., Sunderland.

Tanaka, R., Koshino, Y., Sawa, S., Ishiguro, S., Okada, K. and Tanaka, A. (2001) Overexpression of chlorophyllide a oxygenase (CAO) enlarges the antenna size of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal 26: 365-373.

Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, P. N. and Bisht, S. S. (2002) Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. Plant Science 162: 381-388.

Tholen, D., Pons, T., Voesenek, L. and Poorter, H. (2007) Ethylene insensitivity results in down-regulation of Rubisco

Archive of SID

www.SID.ir

expression and photosynthetic capacity in tobacco. Plant Physiology 144: 1305-1315.

Vaillant, N., Monnet, F., Hitmi, A., Sallanon, H. and Coudret, A. (2005) Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. Chemosphere 59: 1005-1013.

Valdez-Solana, M. A., Mejia-Garcia, V. Y., Tellez-Valencia, A., Garcia-Arenas, G., Salas-Pacheco, J., Alba-Romero, J. J. and Sierra-Campos, E. (2015) Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of *Moringa oleifera* grown in Mexico. Journal of Chemistry 2015: ID860381.

Vassilev, A., Nikolova, A., Koleva, L. and Lidon, F. (2011) Effect of excess zinc on growth and photosynthetic performance of young bean plants. Journal of Physiology 3: 58-62.

White, M. C., Chaney, R. L. and Decker, A. M. (1974) Differential varietal tolerance in soybean to toxic levels of zinc in sassafras sandy loam. Agronomy Abstracts 1: 144–145.

Wingler, A., Purdy, S., MacLean, A. and Pourtau, N. (2006) The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. Journal of Experimental Botany 57: 391-399.

Zarcinas, B. A., Pongsakul, P., Mc Laughlin, M. J. and Cozens, G. (2004) Heavy metals in soils and crops in Southeast Asia 2, Thailand. Environmental Geochemistry and Health 26: 359-371.

Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. (2005) Effect of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47: 157-164.

Zhao, F. J., Shen, Z. G. and McGrath, S. P. (1998) Solubility of zinc and interactions between zinc and phosphorus in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Plant Cell and Environment 21: 108-114.

Archive of SID

www.SID.ir