

## اثر تنش سولفات روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی کلزا (رقم هیولا)\*

### Effect of zinc sulfate stress and its interaction with ascorbic acid on some physiological parameters in *Brassica napus*

Received: 19.04.2010 / Accepted: 16.06.2010

دریافت: ۱۳۸۹/۱/۳۰ / پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۲۶

**F. Khosheghbalf**: Researcher, Payam-e Noor University, Qeshm, Iran  
(E-mail: khosheghbalf@yahoo.com)

**M. Ghorbanli**: Prof., Islamic Azad University of Gorgan, Iran

**R. Hajhosseini**: Associate Prof., Payam-e Noor University of Tehran, Iran

**فاطمه خوش اقبال**: مربی دانشگاه پیام نور، قشم  
(E-mail: khosheghbalf@yahoo.com)

**مهلقا قربانلی**: استاد دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان

**رضا حاجی حسینی**: دانشیار دانشگاه پیام نور، تهران

#### چکیده

در این پژوهش اثر تنش سولفات روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر شاخص‌های رشد (وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، سطح برگ، طول ساقه و ریشه) و غلظت پرولین، قندهای محلول و نامحلول در کلزا رقم هیولا بررسی شد. گیاهان ۱۴ روز تحت تیمار غلظت‌های متفاوت (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار) سولفات روی و همین غلظت‌ها به همراه اسید آسکوربیک یک میلی‌مولار در محیط غذایی هوگلند قرار گرفتند. براساس نتایج به دست آمده با افزایش غلظت سولفات روی میزان نشاسته، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ساقه و ریشه نسبت به شاهد به طور چشمگیری کاهش و مقدار پرولین و قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه کلزا افزایش معنی‌داری پیدا کرد. در حضور اسید آسکوربیک (۱ میلی‌مولار) کاهش نشاسته و پارامترهای رشد و افزایش پرولین و قندهای محلول به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر شد. در غلظت ۷۰۰ میکرومولار سولفات روی، نشانه‌های سوختگی و خشکی در برگ‌های کلزا مشاهده شد اما در حضور اسید آسکوربیک این نشانه‌ها ظاهر نشد و کلزا توانست غلظت بالای سولفات روی را تحمل کند. به عبارت دیگر، اسید آسکوربیک قادر است سمیت تنش ناشی از سولفات روی را تا حد قابل ملاحظه‌ای کاهش و مقاومت گیاه را افزایش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** پرولین، شاخص‌های رشد، قند محلول، کلزا، نشاسته

#### Abstract

In this investigation, the effect of zinc excess and its interaction with ascorbic acid on some growth parameters (root and shoot, fresh and dry weight, leaf blade area and length of root and stem), proline content, soluble sugars and starch plant were studied on canola. Experimental plants were treated with different concentrations of zinc sulfate ie. 0.7 (control), 50, 100, 250, 500 and 700 mM) and one set with the same zinc concentrations (except control) mixed with 1M of ascorbic acid in Hougland nutrient solution for two weeks. Results indicated that any increase in zinc content leads to considerable decrease in starch level, leaf blade area, stem and root length, but proline and soluble sugars increased significantly in shoot and roots of rape seed. In higher concentrations of zinc sulfate in the presence of 1M ascorbic acid, the above-mentioned effects of zinc sulfate excess on growth parameters were considerably blocked. In the presence of 700 mM of zinc sulfate, chlorosis and necrosis were occurred on the leaves of rape seed, but at the copresence of 1 mM of ascorbic acid, mentioned symptoms was disappeared. It means that at the presence of ascorbic acid the plant could tolerate the toxicity of zinc sulfate excess. In the other word, ascorbic acid could considerably reduce the toxicity of high concentrations of zinc and induce poison durability.

**Keywords:** Growth parameter, proline, soluble sugars, starch

\* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول به راهنمایی دکتر مهلقا قربانلی و دکتر رضا حاجی حسینی ارائه شده به دانشگاه پیام نور

## مقدمه

اسیدهای نوکلئیک را از تخریب به وسیله رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن فعال محافظت نماید.

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 تیره شببو است (Doany 1989). امروزه آلودگی‌های محیطی بویژه آلودگی ناشی از فلزات سنگین بر اثر فعالیت‌های صنعتی و استفاده بی رویه از کودهای آلی و شیمیایی خسارات جبران‌ناپذیری را بر گیاهان زراعی وارد می‌کند. از این رو، بررسی و مطالعه میزان تحمل گیاهان در برابر فلزات سنگین از اهمیت بالایی برخوردار است. در این پژوهش اثر تنش روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر پارامترهای رشد، میزان پرولین، قندهای محلول و نشاسته در گیاه کلزا بررسی شده است. هدف بررسی حاضر، تعیین تحمل کلزا به تنش سولفات روی و بررسی نقش آسکوربیک اسید در کاهش سمیت این نمک بود.

## روش بررسی

بذرهای کلزا رقم هیولا ۴۰۱ از موسسه کشت و توسعه دانه‌های روغنی تهران تهیه گردید و برای سترون شدن ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد قرار داده شد. بذرها چند بار با آب معمولی و سپس آب مقطر شستشو شدند. بذرها سترون شده به ظروف پلاستیکی حاوی لیکا که ماده‌ای است با pH خنثی و فاقد هر گونه مواد معدنی واکنش‌پذیر، منتقل شدند. آبیاری در سه روز اول با آب مقطر و هفت روز با محلول غذایی هوگلند صورت گرفت. پس از ده روز دانه‌رست‌ها از بستر لیکا جداسازی و به محیط هوگلند حاوی غلظت‌های مختلف سولفات روی (شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار) و همین غلظت‌ها به همراه اسید آسکوربیک یک میلی‌مولار در محیط غذایی هوگلند منتقل شدند. در هر ظرف یک لیتر محلول غذایی و هفت گیاه قرار داده شد. دوره تیمار دانه‌رست‌ها ۱۴ روز، طول دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت، دما بین ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس بود و pH محلول‌ها ۶/۸ تنظیم شد.

اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه دانه‌رست‌های کلزا بر حسب سانتی‌متر و سطح برگ بر حسب سانتی‌متر مربع انجام گرفت. وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی بر حسب گرم اندازه‌گیری شد. غلظت قندهای محلول و نشاسته با استفاده از روش فنل-اسید سولفوریک (Kochert 1978) اندازه‌گیری شد. میزان جذب محلول به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و در پایان غلظت قند و نشاسته هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه گردید.

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 آن‌ها می‌گردد. روی تنها عنصری است که در هر شش گروه آنزیمی یعنی اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیپازها، ایزومرازها و لیگازها یافت می‌شود (Broadly et al. 2007). روی در فعالیت آنزیم‌ها، بیوسنتز کلروفیل، اکسین، پروتئین و کربوهیدرات، همچنین متابولیسم لپید، اسید نوکلئیک و استحكام غشا شرکت دارد (Marshner 1995). با این وجود، روی یک فلز سنگین است و همانند سایر فلزات سنگین مقدار زیاد آن در اکثر گیاهان ایجاد مسمومیت می‌کند. یون‌های  $Zn^{2+}$  در غلظت‌های بالا به دلیل تولید بیش از حد انواع اکسیژن فعال یا واکنشگر ROS موجب آسیب اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Chaoui 1997).

سمیت روی در خاک‌های کشاورزی در اثر آبیاری با فاضلاب و مصرف بی رویه کودها، در خاک‌های شهری از راه فعالیت‌های انسانی و در معادن از طریق فعالیت‌های ذوب و استخراج فلزات به وجود می‌آید (Chaney 1993). نشانه‌های سمیت روی در گیاهان شامل کاهش تولید محصول، توقف رشد، زردی برگ‌ها در اثر کمبود آهن، کاهش سنتز کلروفیل، تجزیه کلروپلاست و اختلال در جذب فسفر، منیزیم و منگنز می‌باشد (Boaman & Rasmussen 1971, Carrol & Loneragan 1968, Chaney 1993, Foy et al. 1978).

از طرفی، اسید آسکوربیک یا ویتامین ث یک متابولیت مهم در گیاهان است 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 فعال یا واکنشگر شرکت داشته و گیاهان را در برابر زیان اکسیداتیو ناشی از متابولیسم هوازی، فتوسنتز و انواع آلاینده‌ها محافظت می‌کند. اسید آسکوربیک همچنین به عنوان کوفاکتور آنزیمی در حفاظت نوری، واکنش آسیب‌رسانی 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. اسید آسکوربیک آنتی‌اکسیدان بسیار موثری است. به طوری که حتی در حد میلی‌مولار می‌تواند مولکول‌های ضروری بدن مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و

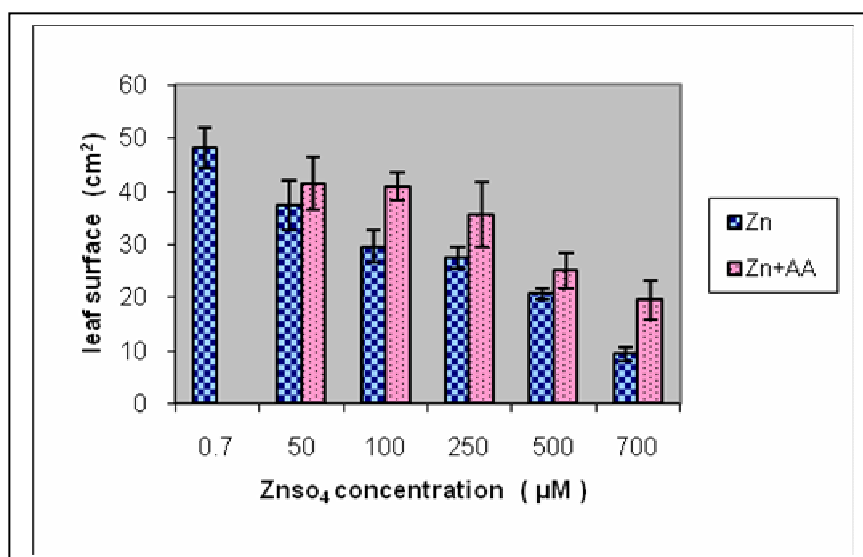
همگام با افزایش غلظت سولفات روی در محلول غذایی، قندهای محلول در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد افزایش (شکل‌های ۷ و ۸) در حالی که مقدار نشاسته کاهش یافت (شکل‌های ۹ و ۱۰) براساس آزمون دانکن افزایش قندهای محلول در ریشه در همه تیمارها به جز ۵۰ میکرومولار و در اندام هوایی در دو تیمار ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). روند کاهش غلظت نشاسته در اندام هوایی تنها در تیمار ۷۰۰ ولی در ریشه در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). همان‌طور که در نمودارهای ۷ تا ۱۰ مشاهده می‌شود در حضور اسید آسکوربیک با افزایش سولفات روی، روند افزایش قندهای محلول و کاهش نشاسته به طور قابل توجهی کاهش یافت.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین در ریشه و اندام هوایی روندی افزایشی را نشان می‌دهد (شکل‌های ۱۱ و ۱۲). براساس آزمون دانکن افزایش پرولین در ریشه در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۰۰ و در اندام هوایی در تیمارهای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ). با افزایش روی و در حضور اسید آسکوربیک افزایش پرولین کاهش چشمگیری یافت.

سنجش پرولین با استفاده از روش بتس (Bates *et al.* 1973) صورت گرفت. مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به دست آمد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌ها به کمک نرم افزار SPSS Ver.13 و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

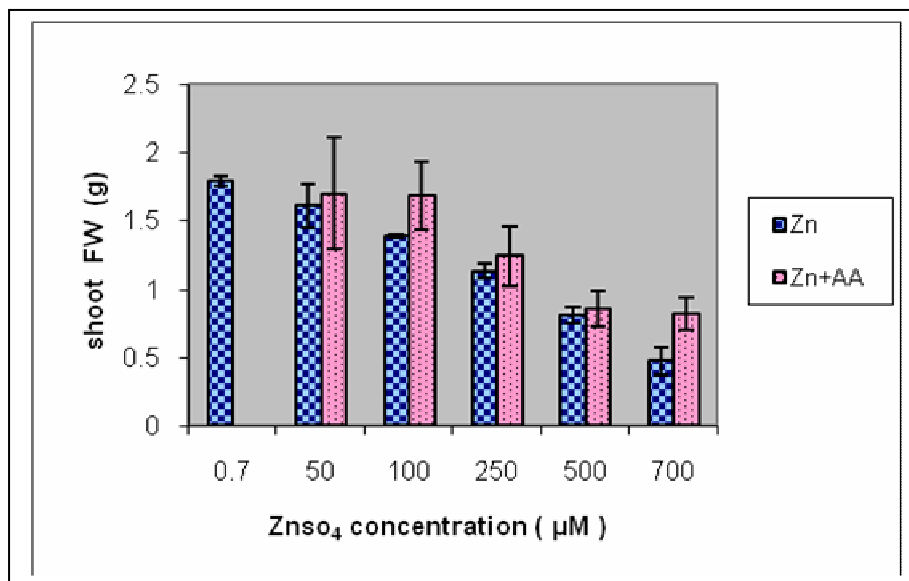
### نتیجه

با افزایش غلظت سولفات روی در محیط غذایی پارامترهای رشد از قبیل سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ساقه و ریشه نسبت به شاهد به طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل‌های ۱ تا ۶). براساس آزمون دانکن کاهش سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در همه تیمارها نسبت به شاهد معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ). کاهش طول ساقه تنها در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار سولفات روی و طول ریشه در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومولار روی معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). همان‌طور که در شکل‌های ۱ تا ۶ مشاهده می‌شود، اسید آسکوربیک اثر منفی تنش سولفات روی بر پارامترهای رشد را تا حد زیادی کاهش داد.



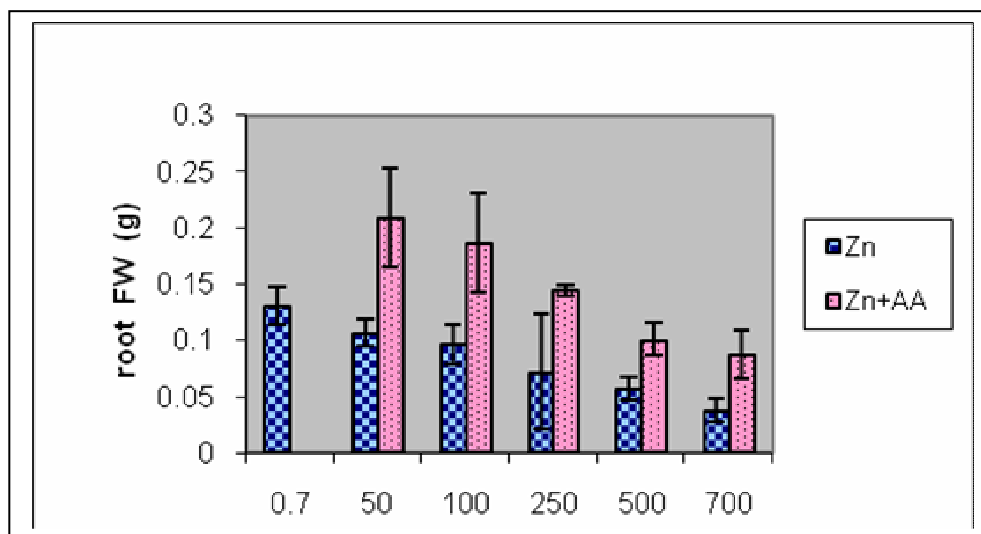
شکل ۱- اثر غلظت‌های متفاوت سولفات روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر سطح برگ کلزا.

Fig. 1. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on the leaf area of *Brassica napus*.



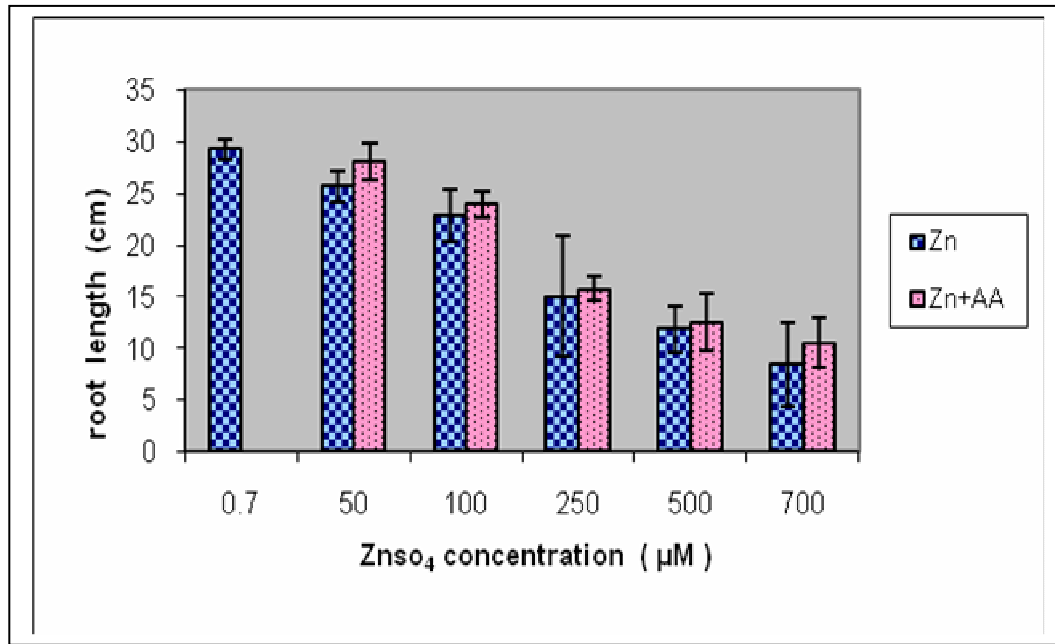
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف سولفات روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر وزن تر اندام هوایی کلزا.

Fig. 2. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on shoot fresh weight of *Brassica napus*.



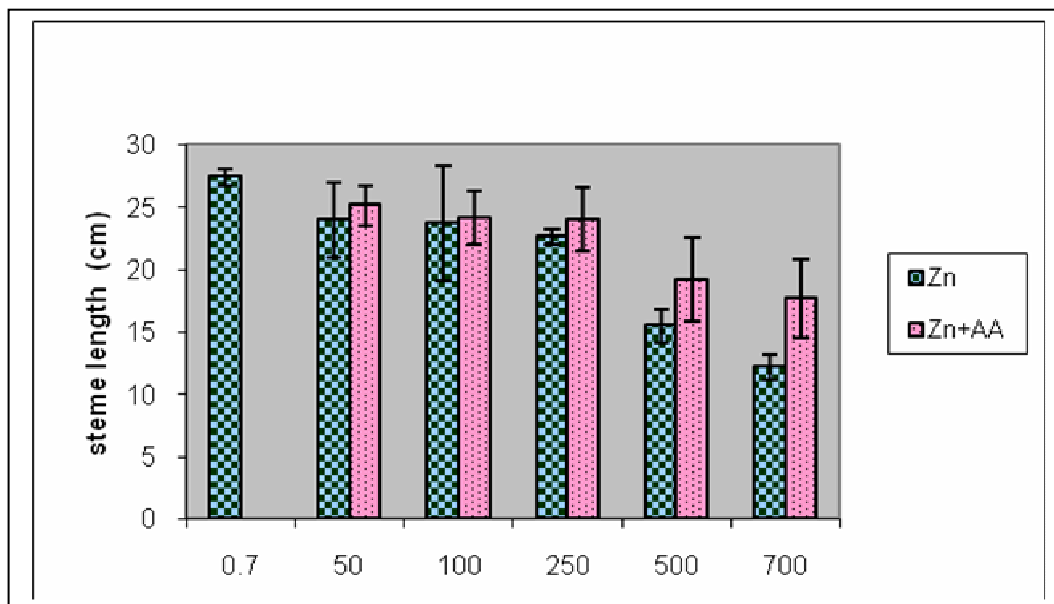
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف سولفات روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر وزن تر ریشه کلزا.

Fig. 3. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on root fresh weight of *Brassica napus*.



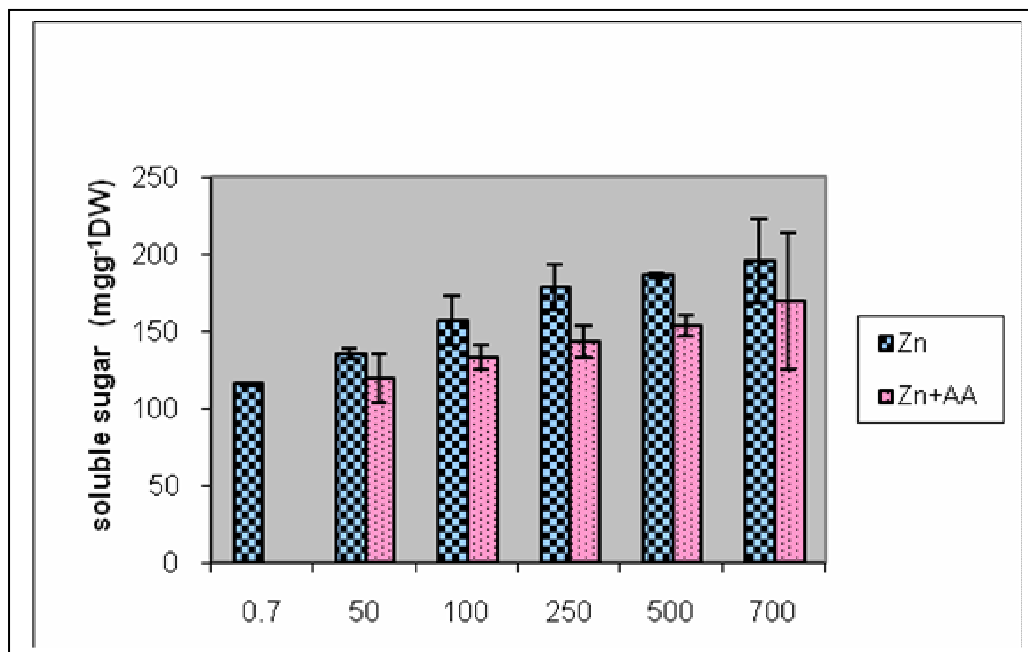
شکل ۴- اثر غلظت‌های زیاد سولفات روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر طول ریشه کلزا.

Fig. 4. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on root length of *Brassica napus*.



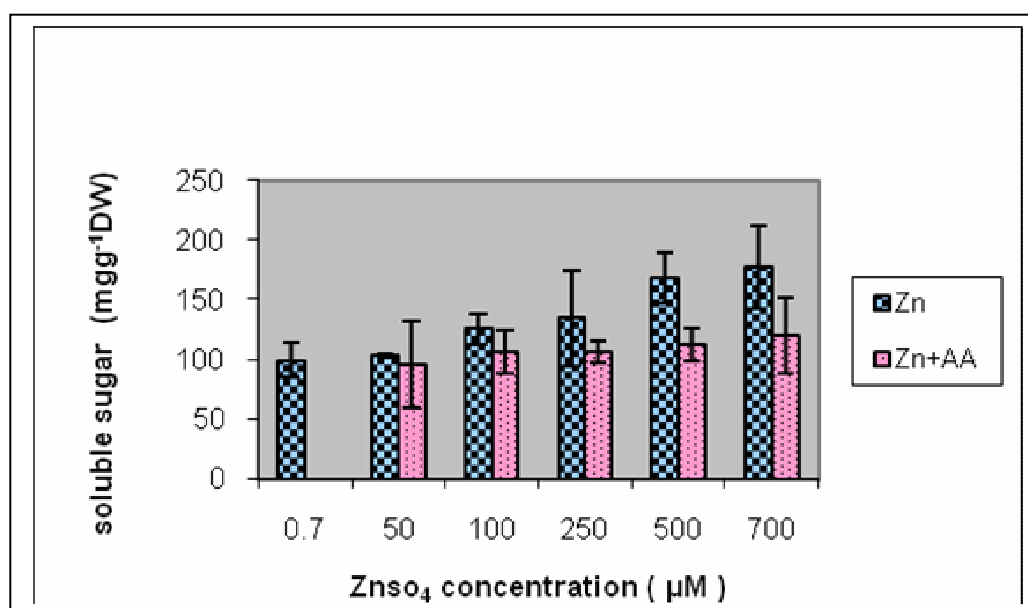
شکل ۵- اثر غلظت‌های زیاد سولفات روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر طول ساقه کلزا.

Fig. 5. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on stem length of *Brassica napus*.



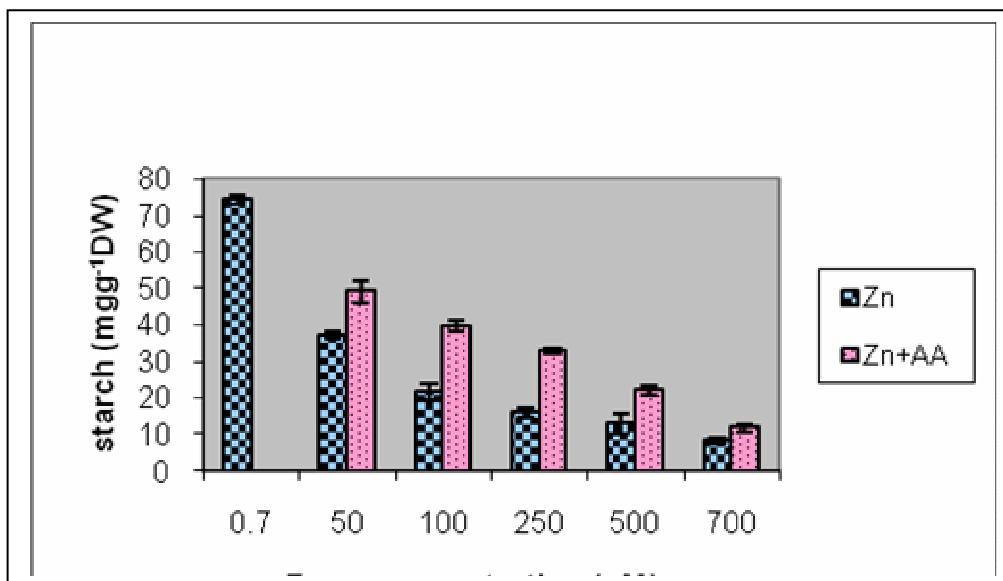
شکل ۶- اثر غلظت‌های زیاد روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر غلظت قند محلول در ریشه کلزا.

Fig. 6. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on soluble sugar contents in root of *Brassica napus*.



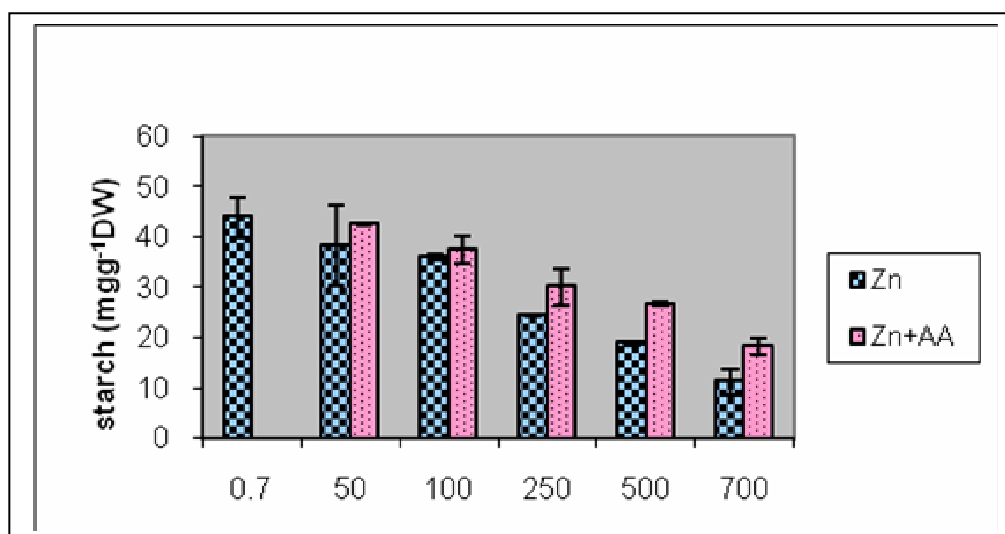
شکل ۷- اثر غلظت‌های زیاد روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر غلظت قند محلول در اندام هوایی کلزا.

Fig. 7. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on soluble sugar contents in shoot of *Brassica napus*.



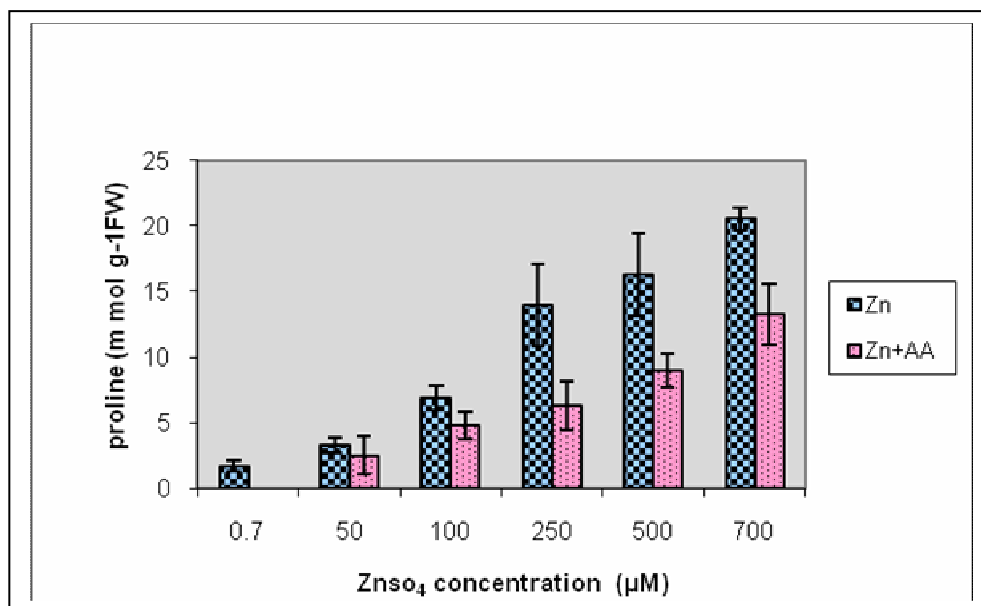
شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف سولفات روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر غلظت نشاسته در اندام هوایی کلزا.

Fig. 8. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on starch contents in shoot of *Brassica napus*.



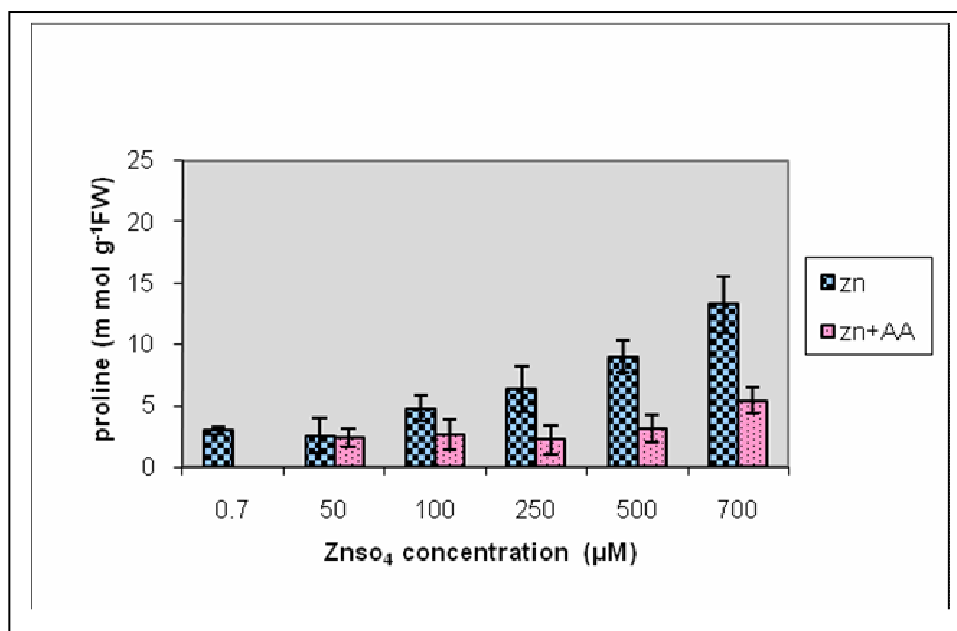
شکل ۹- اثر غلظت‌های زیاد سولفات روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر غلظت نشاسته در ریشه کلزا.

Fig. 9. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1mM) on starch contents in root of *Brassica napus*.



شکل ۱۰- اثر غلظت‌های زیاد سولفات روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر مقدار پرولین اندام هوایی کلزا.

Fig. 10. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on proline contents in shoot of *Brassica napus*.



شکل ۱۱- اثر غلظت‌های زیاد سولفات روی و برهم‌کنش آن با اسید آسکوربیک (1 mM) بر مقدار پرولین ریشه کلزا.

Fig. 11. Effect of different zinc sulfate concentrations and their interaction with ascorbic acid (1 mM) on proline contents in root of *Brassica napus*.



## بحث

در گیاهان، انباشته شدن پرولین آزاد در اثر قرار گرفتن در برابر فلزات سنگین متداول است (Morel & Costa 1994). افزایش پرولین در گیاهان هنگام تنش یک نوع مکانیسم دفاعی است. پرولین با چندین مکانیسم مانند پاک کردن رادیکال‌های هیدروکسیل، تنظیم اسمزی، جلوگیری از دنا توره شدن آنزیم‌ها و حفظ سنتز پروتئین، تحمل گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد (Kuznetsov & Shevaykova 1997). انباشتگی پرولین آزاد در پاسخ به روی، کادمیم و مس در میخک مقاوم و غیرمقاوم مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که غلظت پرولین در برگ‌های اکوتیپ مقاوم در برابر فلزات مزبور، پنج تا شش برابر بیشتر از اکوتیپ غیرمقاوم است (Schat *et al.* 1997). در این پژوهش نیز با افزایش غلظت سولفات روی در محیط غذایی، مقدار پرولین در ریشه و اندام هوایی کلزا افزایش یافت.

کاهش قندهای محلول و پرولین همچنین بهبود رشد کلزا در حضور اسید آسکوربیک می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن باشد که با جارو کردن انواع اکسیژن فعال یا واکنشگر ناشی از غلظت‌های زیاد روی موجب کاهش سمیت روی می‌گردد.

رشد گیاه به دو عامل مهم وابسته است: ۱- افزایش تعداد یاخته، ۲- توسعه یاخته. بررسی‌ها نشان می‌دهد که آسکوریات و آسکورات اکسیداز موجود در دیواره سلولی به طور مستقیم و غیرمستقیم در دو عامل فوق و در نتیجه کنترل رشد دخالت دارند. آسکوریات همچنین در تقسیم سلول و تنظیم آن از طریق انتقال سریع یاخته‌ها از فاز  $G_1$  به فاز S چرخه سلولی شرکت می‌کند (Smirnoff 1996).

در این بررسی، تحمل کلزا در برابر روی تا غلظت ۵۰۰ میکرومولار بود، زیرا در غلظت ۷۰۰ برگ‌های گیاه به شدت زرد و از روز هشتم تیمار نشانه‌های سوختن و خشک شدن در برگ‌ها ظاهر شد. اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان سمیت حاصل از غلظت بالای سولفات روی را تا حد بسیار زیادی کاهش داد به گونه‌ای که در حضور آن حتی در غلظت ۷۰۰ میکرومولار سولفات روی، کلزا قادر به ادامه حیات بود و اثری از سوختگی و خشک‌شدگی در برگ‌ها مشاهده نشد.

در پژوهش حاضر مشاهده شد که با افزایش غلظت سولفات روی، شاخص‌های رشد از قبیل سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ساقه و ریشه نسبت به شاهد در کلزا کاهش پیدا کرد و در غلظت‌های زیاد سولفات روی ولی در حضور اسید آسکوربیک این روند کاهش، کندتر شد. روی در تشکیل هورمون رشد یا اکسین، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها همچنین در متابولیسم لیپید، اسید نوکلئیک و فعالیت آنزیم‌ها شرکت می‌کند و برای بسیاری از فرایندهای متابولیسمی ضروری است ولی مقدار زیاد آن در گیاهان ایجاد مسمومیت نموده و موجب اختلال در فرایندهای مهم متابولیسمی و در نتیجه توقف رشد می‌گردد (Hall 2002).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول و نشاسته در ریشه و اندام هوایی کلزا نشان داد که با افزایش غلظت سولفات روی، میزان قندهای محلول افزایش و مقدار نشاسته کاهش می‌یابد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در شرایط تنش شوری، غرقابی، سرما و فلزات سنگین مقدار قندهای محلول افزایش می‌یابد (Dubey *et al.* 1997, Foyer *et al.* 1998). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش به تنظیم اسمولاریته سلول کمک می‌کند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاءها می‌گردد (Sinnah *et al.* 1998). همچنین گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی، قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد مطلوب نگهدارد (Dubey & Singh 1999). کاهش نشاسته می‌تواند به دلیل تجزیه شدن آن به واحدهای کوچک‌تر و در نتیجه انباشتگی قندهای محلول در سلول باشد (Badr *et al.* 2003). همچنین ممکن است تنش حاصل از فلز غلظت بالای فلز سنگین روی بر فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز نشاسته اثر بازدارندگی داشته و در نتیجه از سنتز نشاسته جلوگیری کند. همچنین تنش حاصل از فلز سنگین روی ممکن است یک اثر منفی و باز دارنده بر فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز نشاسته داشته باشد و با بازدارندگی عمل آن‌ها مانع از سنتز نشاسته در گیاهان گردد (Van Huylenbroeck *et al.* 1996).

## References

- Badr, A.C., Genet, P., Dunand, F.V., Toussaint, M.L., Epron, D. & Badot, P.M. 2003. Effect of copper on growth in cucumber plants and its relationships with carbohydrate accumulation and change in ion contents. *Plant Sci.* 166: 1213–1218.
- Bates, L.S., Waldren, S.P. & Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant & Soil* 39: 205–207.
- Boawn, L.C. & Rasmussen, P.E. 1971. Crop response to excessive zinc fertilization of alkaline soil. *Agronomy Journal* 63: 874–876.
- Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P. & Zlko, I.V. 2007. Zinc in plants. *J. New Phytol.* 173: 677–702.
- Carrol, M.D. & Loneragan, J.F. 1968. Response of plant species to concentration of zinc in solution. I. Growth and zinc content of plants. *Aust. J. Agric. Res.* 19: 859–868.
- Chaney, R.L. 1993. Zinc phytotoxicity. Pp. 135–500. *In: Robson, A.D. (ed.). Zinc in soils and plants.* Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publication.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H. & 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.
- Costa, G. & Morel, J-L. 1994. Water relations gas exchange and amino acid content in Cd-treated Lettuce. *Plant Physiol. & Biochem.* 32: 561–570.
- Downey, R.K. & Robbelen, G. 1989. *Brassica* species. Pp. 339–362. *In: Robbelen, G., Downey, R.K. & Ashri, A. (eds) Oil Crops of the World.* McGraw-Hill, New York.
- Dubey, R.S. 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. Pp. 859–876. *In: M. Pessarakli (ed.). Handbook of photosynthesis.* Marcel Dekker, New York.
- Dubey, R.S. & Singh, A.K. 1999. Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzyme in rice plants. *Biol. Plantar.* 42: 233–239.
- Foy, C.D., Chaney, R.L. & White, M.C. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 511–566.
- Foyer, C.H., Valadier, M.H., Migge, A. & 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.
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 53: 1–11.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. Pp. 96–97. *In: Helebust, J.A. & Craig, J.S. (eds): Handbook of physiological methods.* Cambridge University Press, Cambridge.
- Kuznetsov, V.V. & Shevyakova, N.I. 1997. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity, proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. *Physiol. Plantar.* 100: 320–326.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants, 2nd edn. London, UK: Academic Press.
- Schat, H., Sharma, S.S. & Vooijs, R. 1997. Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plantar.* 101: 477–482.
- Sinnah, V.R. Ellis, R.H. & John, P. 1998. Irrigation and seed quality development in rapid recycling *Brassica*, soluble carbohydrate and heat stable proteins. *Ann. Bot.* 82: 647–655.
- Smirnoff, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot.* 78: 661–669.
- Van Huylbroeck, J.M. & Debergh, P.C. 1996. Impact of sugar concentration in vitro on photosynthesis and carbon metabolism during in vitro acclimatization of *Spathiphyllum* Plantlets. *Physiol. Plantar.* 96: 298–304.