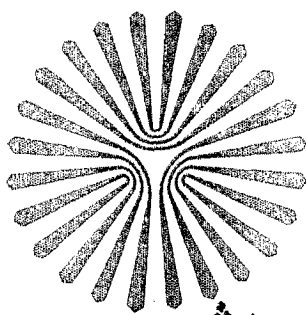


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه سیام نور

دانشکده: علوم

گروه: زیست شناسی - علوم گیاهی

عنوان پایان نامه:

بررسی اثر کمبود و زیادی عنصر روی و بر هم کنش آن
با اسید آسکوربیک بر برخی ترکیبات و آنزیم‌های
آنتی اکسیدان در گیاه کلزا (رقم هیولا)

پایان نامه (یا رساله):

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی - علوم گیاهی

مؤلف:

فاطمه خوش اقبال قرابایی

اساتید راهنما:

سرکار خانم دکتر مه لقا قربانلی و جناب آقای دکتر رضا حاجی حسینی

ماه و سال انتشار

آذر ۱۳۸۶

۹۵۸۱۷

۱۳۸۷ / ۲ / ۱۱

تقدیم به :

پدر و مادر بزرگوار و برادر عزیزم

که همواره مشوق من در کسب علم بوده اند .

سپاسگزاری

خداوند متعال را به خاطر همه‌ی نعمتهای بی‌شمارش و توفیق در تحصیل علم شکر و سپاس می‌گویم. از اساتید گرامی سرکار خانم دکتر قربانلی و جناب آقای دکتر حاجی حسینی که راهنمایی این پایان‌نامه را برعهده داشتند و با شکیبایی و دانش خود این‌جانب را یاری نمودند بسیار سپاسگزارم.

همچنین از خانم دکتر مظفری، خانم جمشیدی، خانم گوران، خانم اردو‌خانیان، آقای صبحی، آقای محسن صفایی و کارشناسان محترم آزمایشگاه خانم‌ها: مظفری، فرهادی، فاضلی، ترابی، آقای حسین‌زاده و دوست عزیزم خانم افتخار و همه کسانی که در این پایان‌نامه مرا یاری نموده و امکان استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی را برای این‌جانب فراهم نمودند، ممنون و سپاسگزارم و از درگاه خداوند مهربان برایشان سلامتی و موفقیت خواستارم.

چکیده

روی یکی از عناصر کم مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می شود ولی مقدار خیلی کم یا زیاد آن در گیاهان موجب ایجاد تنش شده و اختلالاتی را در فرآیندهای مهم متابولیکی و در نتیجه در رشد و نمو به وجود می آورد. از طرف دیگر اسید آسکوربیک یک آنتی اکسیدان و متابولیت مهم در گیاهان بوده و در فیزیولوژی تنش و رشد و نمو آنها نقش اساسی دارد. در این پژوهش اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه کلزا *Brassica napus* L. مورد بررسی قرار گرفت.

برای کاشت بذرهای کلزا از بستر لیکا استفاده شد و آبیاری در ۳ روز اول با آب مقطر و ۷ روز بعدی با محلول غذایی هوگلند انجام گرفت. پس از این مدت (۱۰ روز) گیاهان به مدت ۱۴ روز تحت تیمارهای مختلف روی (۰، ۷، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۰۰ میکرو مولار) و نیز غلظت های زیاد روی (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۰۰ میکرو مولار روی) به اضافه یک میلی مولار اسید آسکوربیک قرار گرفتند. پس از آن آزمایش های لازم بر روی آنها انجام گرفت این کار در قالب یک طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار انجام شد و داده های حاصل با استفاده از نرم افزار **SPSS 13**، روش آنالیز واریانس یک طرفه (**ANOVA**) و آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس نتایج به دست آمده پارامترهای رشد از قبیل سطح برگ، وزن تر ریشه و اندام هوایی، طول ساقه و ریشه، همچنین مقدار رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل **a**، **b**، کاروتنوئیدها، کلروفیل کل) با افزایش روی و نیز فقدان آن نسبت به شاهد به طور چشمگیری کاهش یافت. در حضور اسید آسکوربیک نسبت کاهش پارامترهای رشد و رنگیزه های فتوسنتزی نسبت به شاهد کمتر شد. با افزایش غلظت روی مقدار قندهای محلول و پرولین در اندام هوایی و ریشه افزایش ولی مقدار نشاسته به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت. در حضور اسید آسکوربیک میزان افزایش پرولین و قندهای محلول نسبت به شاهد کمتر گردید. در تیمار صفر یا فقدان روی در ریشه و اندام هوایی مقدار پرولین افزایش ولی مقدار قندهای محلول و نشاسته کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی با

افزایش غلظت روی افزایش یافت. در ریشه تنها فعالیت آنزیم کاتالاز اندکی افزایش پیدا نمود و آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز نسبت به شاهد تغییر قابل توجهی نداشتند. اسید آسکوربیک فعالیت آنزیم های مذکور را نسبت به تیمار های فاقد آن کمتر نمود. در غلظت صفر یا فقدان روی فعالیت آنزیم های فوق در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد دارای کاهش بود. با افزایش غلظت روی در محلول غذایی، مقدار جذب و تجمع عنصر روی در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت. اسید آسکوربیک مقدار جذب و تجمع این عنصر را در اندام هوایی کمتر نمود ولی در ریشه نسبت به تیمارهای فاقد این ویتامین تا تیمار ۲۵۰ میکرو مولار روی افزایش و پس از آن (۵۰۰، ۷۰۰ میکرو مولار) کاهش داد. مقدار جذب و تجمع آهن در ریشه و اندام هوایی در غیاب روی نسبت به شاهد تغییری نداشت ولی در غلظت های زیاد روی کاهش پیدا کرد. در ریشه مقدار کلسیم در غیاب روی نسبت به شاهد تغییر قابل ملاحظه ای نکرد ولی با افزایش روی مقدار آن کاهش یافت. در اندام هوایی مقدار این عنصر در همه تیمارها دارای افزایش بود ولی در تیمارهای دارای اسید آسکوربیک مقدار آن کمتر شد. مقدار پتاسیم در هیچ یک از تیمارها در اندام هوایی نسبت به شاهد تغییر قابل ملاحظه نداشت ولی در ریشه افزایش یافت، در تیمارهای دارای اسید آسکوربیک مقدار آن نسبت به تیمارهای فاقد این ویتامین کمتر بود.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول : کلیات و پیشینه
۲	اهداف پژوهش
۳	مقدمه
۴	۱-۱ معرفی کلزا
۴	۱-۱-۱ تاریخچه
۵	۱-۱-۲ جایگاه سیستماتیک گیاه کلزا
۶	۱-۱-۳ خاستگاه و انواع گونه های کلزا
۷	۱-۱-۴ اهمیت روغن کلزا
۷	۲-۱ عنصر روی
۷	۱-۲-۱ خواص فیزیکی و شیمیایی روی
۸	۲-۲-۱ ویژگی های بیوشیمیایی روی
۹	۳-۲-۱ روی در تغذیه انسان
۱۰	۴-۲-۱ روی در تغذیه گیاه
۱۰	۵-۲-۱ کمبود روی در گیاهان
۱۱	۶-۲-۱ زیادتی روی در گیاهان
۱۳	۳-۱ اسید آسکوربیک
۱۴	۱-۳-۱ ویژگی های شیمیایی و بیوشیمیایی آسکورات
۱۵	۲-۳-۱ نقش آسکورات در فتوسنتز
۱۶	۳-۳-۱ دفاع در برابر تنش اکسیداتیو
	فصل دوم : مواد و روش ها
۱۹	۱-۲ گیاه مورد آزمایش
۱۹	۲-۲ سترون کردن سطحی دانه ها به منظور انجام تیمارهای گوناگون
۱۹	۳-۲ کاشت گلدانی گیاه کلزا در ظروف پلاستیکی
۱۹	۴-۲ طرز تهیه محلول غذایی
۲۰	۵-۲ طرز تهیه محلول کلیت آهن
۲۱	۶-۲ طرز تهیه محلول های غذایی هوگلند با غلظت های مختلف
۲۱	۷-۲ نحوه انتقال گیاهان از ظروف پلاستیکی به محیط غذایی هوگلند
۲۱	۸-۲ آزمایش های انجام شده بر روی گیاه کلزا پس از ۱۴ روز تیمار
۲۱	۱-۸-۲ اندازه گیری پارامترهای رشد

- ۲-۸-۲ تعیین سطح برگ ۲۲
- ۳-۸-۲ سنجش رنگیزه های فتوستتزی ۲۲
- ۴-۸-۲ سنجش کربوهیدرات ها ۲۳
- ۱-۴-۸-۲ اندازه گیری قندهای محلول ۲۳
- ۲-۴-۸-۲ اندازه گیری قندهای نامحلول ۲۵
- ۵-۸-۲ سنجش پرولین ۲۶
- سنجش آنزیم ها ۲۸
- ۶-۸-۲ استخراج پروتئین ۲۸
- ۷-۸-۲ روش سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز ۲۸
- ۸-۸-۲ سنجش آنزیم کاتالاز ۲۸
- ۹-۸-۲ سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۲۹
- ۱۰-۸-۲ اندازه گیری عناصر فلزی روی ، آهن ، کلسیم ، پتاسیم ۲۹
- ۹-۲ بررسی های آماری ۳۰

فصل سوم : نتایج

۱-۳ نتایج حاصل از اثر تیمارهای مختلف روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر پارامترهای رشد

- ۳۲
- ۱-۱-۳ تغییرات سطح برگ ۳۲
- ۲-۱-۳ تغییرات وزن تر ۳۲
- ۳-۱-۳ تغییرات وزن خشک ۳۳
- ۴-۱-۳ تغییرات مربوط به طول ریشه و ساقه ۳۴
- ۲-۳ نتایج حاصل از تیمارهای مختلف روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر رنگیزه های
- فتوستتزی ۳۴
- ۱-۲-۳ تغییرات کلروفیل a ۳۴
- ۲-۲-۳ تغییرات کلروفیل b ۳۴
- ۳-۲-۳ تغییرات مربوط به کلروفیل کل ۳۴
- ۴-۲-۳ نتایج مربوط به کاروتنوئیدها ۳۵
- ۳-۳ نتایج مربوط به قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه گیاه کلزا ۳۶
- ۴-۳ نتایج مربوط به میزان نشاسته در اندام هوایی و ریشه گیاه کلزا ۳۶
- ۵-۳ نتایج مربوط به میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی ۳۷
- ۶-۳ نتایج مربوط به آنزیم پراکسیداز ۳۷
- ۷-۳ نتایج مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز ۳۷
- ۸-۳ نتایج مربوط به آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۳۸

۳۸.....	۹-۳ نتایج مربوط به میزان جذب و تجمع عنصر روی
۳۹.....	۱۰-۳ نتایج مربوط به میزان جذب و تجمع آهن
۴۰.....	۱۱-۳ نتایج مربوط به میزان جذب عنصر کلسیم
۴۰.....	۱۲-۳ نتایج مربوط به میزان جذب عنصر پتاسیم
	فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری
۶۱.....	۱-۴ اثر روی بر پارامترهای رشد
۶۲.....	۲-۴ اثر روی بر رنگیزه های فتوسنتزی
۶۳.....	۳-۴ اثر روی بر میزان قندهای محلول و نشاسته
۶۴.....	۴-۴ اثر روی بر میزان پرولین در گیاه کلزا
۶۵.....	۵-۴ اثر فلز روی بر آنزیم های آنتی اکسیدان پراکسیداز ، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز
۶۸.....	۶-۴ اثر روی بر میزان جذب و تجمع عناصر فلزی
۷۰.....	۷-۴ نتیجه گیری کلی
۷۱.....	۸-۴ پیشنهادها

فهرست جداول

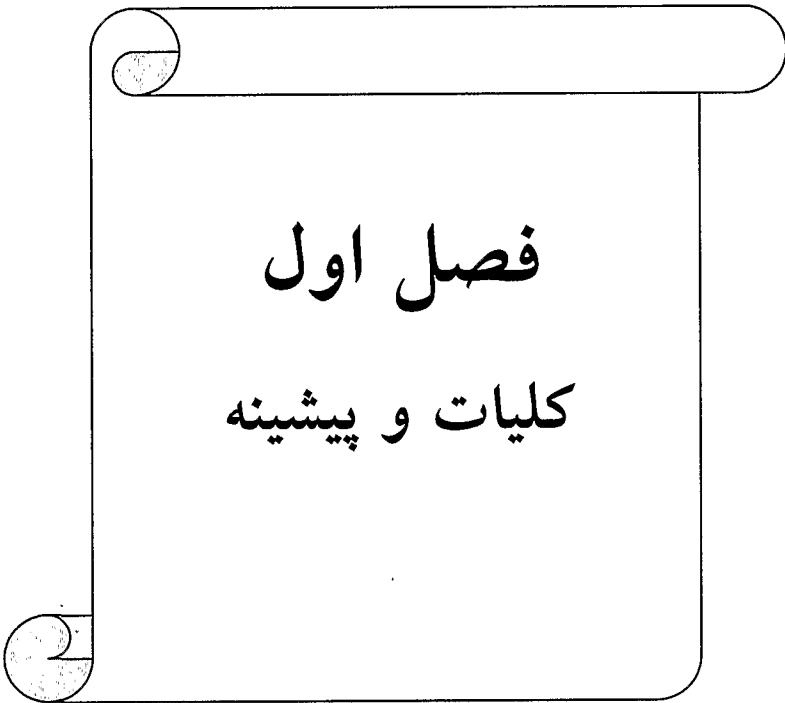
۲۰.....	جدول ۱-۲ ترکیب محلول غذایی هوگلند
۲۴.....	جدول ۲-۲ جذب های خوانده شده برای تهیه منحنی استاندارد قندهای محلول
۲۶.....	جدول ۳-۲ جذب های خوانده شده برای تهیه منحنی استاندارد پرولین

فهرست اشکال و نمودارها

۲۳.....	شکل ۱-۲ تصویر دستگاه اسپکتروفتومتر
۲۵.....	نمودار ۱-۲ منحنی استاندارد گلوکز
۲۷.....	نمودار ۲-۲ منحنی استاندارد پرولین
۴۱.....	نمودار ۱-۳ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر سطح برگ کلزا
۴۲.....	نمودار ۲-۳ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر وزن تر ریشه کلزا
۴۲.....	نمودار ۳-۳ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر وزن تر اندام هوایی کلزا
۴۳.....	نمودار ۴-۳ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر وزن خشک ریشه کلزا
۴۳.....	نمودار ۵-۳ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر وزن خشک اندام هوایی
۴۴.....	نمودار ۶-۳ اثر کمبود و زیادی روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر طول ریشه در گیاه کلزا
۴۴.....	نمودار ۷-۳ اثر کمبود و زیادی روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر طول ساقه در گیاه کلزا

- نمودار ۳-۸ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل a در برگ کلزا
 ۴۵
- نمودار ۳-۹ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل b در برگ
 کلزا ۴۵
- نمودار ۳-۱۰ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل کل در برگ
 کلزا ۴۶
- نمودار ۳-۱۱ اثر کمبود و زیادی روی و نیز بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کاروتنوئید در برگ
 کلزا ۴۶
- نمودار ۳-۱۲ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان قندهای محلول در
 ریشه کلزا ۴۷
- نمودار ۳-۱۳ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان قندهای محلول در
 اندام هوایی کلزا ۴۷
- نمودار ۳-۱۴ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان نشاسته ریشه در گیاه
 کلزا ۴۸
- نمودار ۳-۱۵ اثر کمبود و زیادی روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان نشاسته در اندام هوایی
 کلزا ۴۸
- نمودار ۳-۱۶ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان پرولین اندام هوایی
 در کلزا ۴۹
- نمودار ۳-۱۷ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان پرولین ریشه در کلزا
 ۴۹
- نمودار ۳-۱۸ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز
 ریشه کلزا ۵۰
- نمودار ۳-۱۹ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام
 هوایی کلزا ۵۰
- نمودار ۳-۲۰ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت کاتالاز اندام هوایی
 کلزا ۵۱
- نمودار ۳-۲۱ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه
 کلزا ۵۱
- نمودار ۳-۲۲ اثر کمبود و زیادی روی و نیز بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات
 پراکسیداز اندام هوایی کلزا ۵۲
- نمودار ۳-۲۳ اثر زیادی و کمبود روی و بر هم کنش آن با اسید آسکوربیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات
 پراکسیداز در ریشه کلزا ۵۲

- نمودار ۳-۲۴ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان روی در ریشه کلزا ۵۳
نمودار ۳-۲۵ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان روی در اندام هوایی
کلزا ۵۳
- نمودار ۳-۲۶ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان آهن در ریشه کلزا ۵۴
نمودار ۳-۲۷ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان آهن در اندام هوایی
کلزا ۵۴
- نمودار ۳-۲۸ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کلسیم ریشه کلزا ۵۵
نمودار ۳-۲۹ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان کلسیم در اندام هوایی
کلزا ۵۵
- نمودار ۳-۳۰ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان پتاسیم در ریشه کلزا ۵۶
نمودار ۳-۳۱ اثر زیادی و کمبود روی و برهم کنش آن با اسید آسکوربیک بر میزان پتاسیم در اندام هوایی
کلزا ۵۶
- شکل ۳-۱ تصویری از گیاهان کلز پس از چهارده روز تیمار در محیط آزمایشگاه ۵۷
شکل ۳-۲ تصویری از گیاه کلزا پس از ۱۴ روز کشت در محلول هوگلند با غلظت ۷۰۰ میکرو مولار روی
..... ۵۸
- شکل ۳-۳ تصویری از سه گیاه کلزا پس از ۱۴ روز تیمار ۵۹



فصل اول

کلیات و پیشینه

اهداف پژوهش

کلزا یکی از مهمترین گیاهان روغنی در سطح جهان می باشد. آخرین ارقام منتشر شده از سوی سازمان خوار و بار کشاورزی جهان (FAO) در سال ۱۹۹۹ نشان می دهد که کلزا پس از سویا و نخل روغنی، سومین منبع تولید روغن نباتی جهان به شمار می رود. در صورتی که نیاز غذایی کلزا در طول کشت تامین شود، کشت آن از لحاظ اقتصادی سود فراوانی عاید کشاورزان و صاحبان صنایع غذایی و بخش صنعت خواهد نمود. متأسفانه نیاز بالای کلزا به عناصر غذایی در بسیاری از خاکها تامین نمی گردد. شناخت نیاز غذایی کلزا و زمان مناسب مصرف عناصر غذایی موجب استفاده درست از کودهای شیمیایی می شود. در نتیجه شاهد اثرات نامطلوبی همچون آلودگی شیمیایی منابع محیط زیست، به هم خوردن تعادل اکوسیستمهای کشاورزی، آلودگی آبهای زیر زمینی، سفت شدن خاکهای زراعی و بالاخره کاهش بهره وری نخواهیم بود.

در این پژوهش یکی از عناصر غذایی کم مصرف یعنی روی در گیاه کلزا مورد بررسی قرار می گیرد. در واقع هدف از اجرای این پژوهش بررسی تاثیر زیادی و کمبود روی و نیز برهمکنش اسید آسکوربیک و زیادی روی در گیاه کلزا رقم هیولا می باشد. به عبارت دیگر اهداف کلی این پژوهش عبارتند از: تعیین درجه بردباری رقم هیولای کلزا نسبت به کمبود و زیادی روی و تاثیر اسید آسکوربیک در بردباری این رقم و نیز بررسی تاثیر غلظتهای مختلف روی بر این گیاه و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک در ارتباط با برخی پدیده های فیزیولوژی و بیوشیمیایی از قبیل: سنجش پارامترهای مربوط به رشد، رنگیزه ها، پرولین، قندهای محلول و نامحلول، جذب برخی یونها. و در نهایت سنجش فعالیت برخی از آنزیمهای آنتی اکسیدان مانند پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و این که آیا اسید آسکوربیک قادر خواهد بود مسمومیت حاصل از زیادی روی را برطرف کند یا نه؟

مقدمه

روی یکی از عناصر کم مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می شود و در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه شرکت دارد. این عنصر به صورت کاتیون دو ظرفیتی در سیستم متابولیکی گیاه عمل می کند و تنها عنصری است که در هر شش گروه آنزیمی یعنی اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیازها، ایزومرازها و لیگازها یافت می شود. این عنصر آنزیمها را فعال ساخته و در ساخت اکسین، پروتئین، کربوهیدرات و نیز در متابولیسم لیپید و اسید نوکلئیک شرکت دارد. همچنین یکی از فلزات سنگین بوده و در اکثر گیاهان مقدار زیاد آن ایجاد مسمومیت می کند و اختلالاتی را در فرآیندهای مهم رشد مانند فتوسنتز، بیوسنتز کلروفیل و استحکام غشاء به وجود می آورد. روی چون یکی از مواد غذایی ضروری است، کمبود آن موجب اختلال در رشد، نمو و فرآیندهای مهم متابولیکی می گردد. بنابراین کمبود و زیادی روی موجب ایجاد تنش در گیاه شده و منجر به تولید بیش از حد گونه های اکسیژن فعال یا واکنشگر (ROS) می شود.

از طرفی اسید آسکوربیک یا ویتامین C یک متابولیت مهم در گیاهان بوده و در فیزیولوژی تنش و رشد و نمو آنها نقش اساسی دارد. این ویتامین یک آنتی اکسیدان است و با دیگر اجزای سیستم آنتی اکسیدان همکاری دارد. در سم زدایی گونه های اکسیژن فعال یا واکنشگر شرکت داشته و گیاهان را در برابر زیان اکسیداتیو ناشی از متابولیسم هوازی، فتوسنتز و انواع آلاینده ها محافظت می کند. اسید آسکوربیک همچنین به عنوان کوفاکتور آنزیمی در حفاظت نوری، واکنش آسیب رسانی و گیاهخواری حشرات و نیز 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 می رود. اسید آسکوربیک یک آنتی اکسیدان بسیار موثر است. به طوری که حتی در حد میلی مولار می تواند مولکولهای ضروری بدن مانند پروتئینها، لیپیدها، کربوهیدراتها و اسیدهای نوکلئیک را از تخریب به وسیله رادیکالهای آزاد و گونه های اکسیژن واکنشگر محافظت نماید. در این پژوهش اثر زیادی و کمبود روی و برهمکنش روی و اسید آسکوربیک در گیاه کلزا بررسی می گردد.

۱-۱ معرفی کلزا

۱-۱-۱ تاریخچه

گونه‌های روغنی کلزا ارتباط نزدیکی با خردلهایی که به صورت سبزی و چاشنی مصرف می‌شوند، دارند و از دیرباز به دلیل مزه تند و ترش و خصوصیات دارویی مورد توجه بشر بوده اند (Cris ، ۱۹۷۶). در نوشته‌های سانسکریت هند که به ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح باز می‌گردد (Prakash ، ۱۹۸۰) و در نوشته‌های چینی مربوط به ۱۱۲۲ تا ۲۴۷ سال قبل از میلاد (Li ، ۱۹۸۰) به خردلها اشاره شده است.

اعتقاد بر این است که کشت و کار گونه‌های کلزا در اروپا در اوایل سده‌های میانی رواج یافته است. پیش از ورود سیب زمینی در قرن ۱۸، کلزا تنها سبزی موجود در جیره غذایی دهقانان اروپایی بود و بدون تردید موجب کاهش وقوع نارساییهای مرتبط با ویتامینها می‌گردید. در قرن هیجدهم جیمز کوک کاشف انگلیسی اثرات مفید ترشی کلم بر بیماری اسکوروی را کشف کرد و همین کشف عامل اصلی موفقیت او بود زیرا موجب سلامت ملوانان او می‌گردید.

در مورد زمان شروع استفاده از گونه‌های *Brassica* به عنوان یک منبع روغنی اختلافهایی وجود دارد. اپلکویست در سال ۱۹۷۲ بیان کرد که *B.napus* اولین بار در هلند و در قرن ۱۷ به عنوان یک گیاه روغنی کشف شد و سپس کشت آن به سایر بخشهای اروپا گسترش یافت. البته در اواسط قرن ۱۷ گفته شد که خردل یا کلم را می‌توان به عنوان منبع مناسبی از روغن مورد استفاده قرار داد (Appelquist ، ۱۹۷۲). نخستین نوشته‌ها درباره کشت و کار کلزا در اروپا به سال ۱۵۷۰ بر می‌گردد که هرسباخ به کشت کلزای زمستانه در منطقه رینلند آلمان به عنوان منبع روغن چراغ و جایگزینی برای روغن زیتون و به عنوان روغن پخت و پز مردم فقیر اشاره کرده است (Heresbach ، ۱۵۷۰).

در اواخر سده های میانی در اروپا از روغن کلزا بیشتر برای ساختن صابون و روشنایی استفاده می‌شد (Appelquist ، ۱۹۷۲). در اواسط قرن ۱۹ از روغن کلزا به طور گسترده در راه آهن استفاده می‌گردید و هنوز نیز در چراغ محراب برخی کلیساها استفاده می‌شود ، زیرا روغن کلزا به کندی می‌سوزد و نسبتا بی بو است . مصارف مذکور روغن کلزا در نیمه دوم قرن ۱۹ با ورود روغنهای ارزان قیمت معدنی پایان یافت. با ورود ماشین بخار از روغن کلزا که به طور طبیعی حاوی مقادیر زیادی اسیداروسیک بود برای روغن کاری ماشین استفاده می‌شد و این استفاده تا بعد از جنگ جهانی دوم همچنان ادامه داشت . در سال ۱۹۴۳ کلزا به همین منظور در کانادا کشت شد

(National Research Council of Canada, ۱۹۹۲).

به رغم این که قرن‌ها از روغن کلزا برای مصارف خوراکی در آسیا، شبه قاره هند و توسط مردم فقیر اروپا استفاده می‌شد ولی استفاده گسترده از آن برای این منظور فقط بعد از جنگ جهانی دوم رواج یافت. علت این امر بهبود روشهای زراعی در مزرعه و فنون فرآوری در کارخانه‌ها بود. پیشرفتهای بعدی در اصلاح کیفیت روغن و کنجاله کلزا موجب افزایش بیش از پیش آن برای مصارف خوراکی شد، طوری که امروزه مصرف خوراکی آن بیشتر از سایر موارد مصرف می‌باشد. البته مصارف صنعتی روغن کلزا زیاد است و ممکن است اهمیت بیشتری نیز پیدا کند.

۱-۱-۲ جایگاه سیستماتیکی گیاه کلزا

کلزا با نام علمی *Brassica napus* از تیره شب بو (براسیکاسه) است که برخی از ویژگیهای آن به شرح زیر می‌باشد. (احمدی، ۱۳۸۲)

Division :Spermatophyta

Subdivision: Angiosperm

Class: Dicotyledones

Order: Parietales

Family: Cruciferae (Bassicaceae)

Genus: *Brassica*

Species: *Brassica napus* L.

کلزا یک گیاه علفی است که تولید دانه‌های کوچک، کروی با رنگهای سیاه، قهوه‌ای یا زرد می‌کند. این گیاه در زبان انگلیسی به *Rapeseed* و در زبان فرانسه به کلزا معروف است. اصطلاح کانولا به بذرها یا فرآورده‌های بذوری گفته می‌شود که حاوی کمتر از ۲٪ اسیداروسیک در روغن یا کمتر از ۳۰ میکرومول برگرم، گلوکوزینولاتهای آلیفاتیک در کنجاله خود باشند. این گیاه متعلق به خانواده کروسیفره (براسیکاسه) است. این خانواده در حدود ۳۷۵ جنس و ۳۲۰۰ گونه دارد و کلم، گل کلم، کلم براکلی، کلم بروکسل، سلنم، خردلهای متفاوت و علفهای هرز را در بر می‌گیرد. نام کروسیفر براساس آرایش یا ردیف گلبرگهای گل است که به طور ضربدری رو به روی هم و به شکل صلیب

قرار گرفته‌اند. خانواده براسیکاسه همچنین گروه بزرگی از گونه‌های علفهای هرز را در بر می‌گیرد که به دلیل رابطه ژنتیکی نزدیکی، کنترل آنها در مزارع کلزا به وسیله علف کشها دشوار است (Thomas, 2000).

با کشف ویژگیهای غذایی مفید در روغن کلزا، وضعیت آن در سالهای اخیر بهبود یافته است. همچنین با مشاهده اثرات مفید آن برای محیط زیست، ارزش روغن کلزا برای مصارف صنعتی و به عنوان سوخت رو به افزایش است. اگرچه در برخی کشورهای آسیا هنوز از کنجاله کلزا به عنوان یک کود استفاده می‌شود ولی ارزش این گیاه زراعی به عنوان یک ماده غذایی غنی از پروتئین برای دامها بیشتر افزایش یافته است.

این گیاه دارای دو رقم بهاره و پاییزه است که رقم پاییزه نسبت به بهاره، پرمحصول تر، قد بلندتر و مقاومتر می‌باشد (Bbelen, 1998).

۱-۳-۱ خاستگاه و انواع گونه‌های کلزا

Brassica napus L. می‌بایست از تلاقی بین یک نوع شلغم به نام *B. rapa* (که در گذشته به *B. campestris* معروف بود) و یک نوع کلم به نام *B. oleracea* به وجود آمده باشد. چون منشا گونه ی اخیر از منطقه مدیترانه است، اعتقاد بر این است که *B. napus* از جنوب اروپا منشا گرفته و از آنجا در اوایل قرن ۱۸ به آسیا وارد شده است (Downey و Robblen, 1989).

سه گونه کلزا *Brassica napus*، شلغم روغنی *B. campestris* و خردل هندی *B. juncea* در بازرگانی جهانی به نام فرانسوی کلزا و یا نام انگلیسی *Rapeseed* شناخته می‌شوند. گونه های کلزا در مجموع پس از سویا و نخل روغنی سومین مقام را از نظر اهمیت تولید روغن گیاهی در جهان دارا هستند و از مهمترین گیاهان روغنی مناطق معتدل دنیا محسوب می‌گردند. دانه‌های کوچک و کروی شکل کلزا حاوی بیش از ۴۰٪ روغن بوده و بقایای حاصل از روغن کشی کنجاله دارای ۳۶ تا ۴۴٪ پروتئین است.

دو گونه ی کلزا و شلغم روغنی در مجموع با آب و هوای خنک و نسبتاً مرطوب سازگارترند و گونه خردل هندی با آب و هوای خشک سازگاری دارد. از میان این سه گونه‌ی زراعی جنس براسیکا: کلزا، شلغم روغنی و خردل هندی به ترتیب از اهمیت زراعی و سطح کشت بیشتری برخوردارند (Huang و همکاران ۱۹۹۸).

۱-۱-۴ اهمیت روغن کلزا

روغن کلزا در مقام مقایسه با روغنهای حاصل از دانه‌های روغنی ممتاز آفتابگردان، ذرت و سویا به دلیل حضور اسیدهای چرب اشباع نشده وعدم وجود کلسترول از مهمترین انواع روغنهای نباتی برای حفظ سلامتی و پیشگیری از بروز بیماریهای قلبی است. این روغن نسبت به روغنهای دیگر دارای اسیدهای چرب اشباع شده بسیار پایین‌تری است. روغن کلزا پس از روغن زیتون دارای بیشترین میزان اولئیک اسید بوده که این ماده میزان کلسترول کل و نیز LDL را کاهش می‌دهد ولی هیچ‌گونه اثری بر HDL ندارد، همچنین حاوی مقدار متوسطی از لینولئیک اسید (۲۱٪) است که آلفالینولئیک اسید سبب کاهش غلظت تری‌گلیسرید خون می‌شود. این روغن حاوی ویتامین A و مقدار زیادی ویتامین E می‌باشد و نیز تنها روغن مایعی است که نقطه جوش آن ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد است که بالاتر از نقطه جوش لازم برای سرخ کردن می‌باشد. بنابراین دیرتر می‌سوزد و اکسیده نمی‌شود و همراه با صرغه جویی در مصرف کیفیت غذا را کاهش نمی‌دهد. افرادی که در رژیم غذایی خود از روغن کانولا استفاده کردند، ۳/۶ برابر کمتر از افرادی که از این روغن استفاده نکردند (به جای آن روغنهای نباتی حاوی چربیهای اشباع شده را مصرف نمودند) در معرض سرطان قرار گرفتند (Vogel و همکاران ۱۹۶۷).

۱-۲-۱ عنصر روی

۱-۲-۱-۱ خواص فیزیکی و شیمیایی روی

روی عنصری با عدد اتمی ۳۰ می‌باشد و بیست و سومین عنصر فراوان در کره زمین است. این عنصر پنج ایزوتوپ پایدار دارد: ^{64}Zn ، ^{66}Zn ، ^{67}Zn ، ^{68}Zn ، ^{70}Zn . غنی‌سازیهایی از ایزوتوپهای سنگین و سبک به ترتیب از بخشهای روی ریشه و اندام هوایی در گیاهان گزارش شده است (Weiss و همکاران ۲۰۰۵). تقریباً ۳۰ رادیو ایزوتوپ ناپایدار روی در محدوده جرم اتمی ۵۴-۸۳ قرار دارند و پایدارترین (^{65}Zn) آنها اغلب در گیاهان به عنوان ردیاب روی به کار برده می‌شود. در محلول، روی به صورت اکسید شده Zn^{2+} موجود است و بر خلاف Fe^{2+} و Cu^{2+} در شرایط فیزیولوژیک به خاطر تکمیل الکترونهاي پوسته d حالت احیاء پایدار دارد (Auld, ۲۰۰۱). علاوه بر این، Zn^{2+} به دلیل نسبت کوچک شعاع به بار الکتریکی، ویژگیهای اسید لوئیس را داراست و بنابراین تشکیل پیوندهای قوی کووالانس با S، N و دهنده‌های اکسیژن می‌دهد (Bark و

Helmk (۱۹۹۳). عنصر روی نمکهای محلول بی شماری تشکیل می‌دهد از جمله: هالیدها، سولفاتها، نتراتها، فرماتها، استاتها، تیوسیاناتها، پرکلراتها، فلوسیلیکاتها، سیانیدها، زینکاتهای فلزی بازی و نمکهای آمونیاک روی و به میزان کم ترکیبات محلول شامل فسفات آمونیوم روی، هیدروکسید روی، کربنات روی و یک سری کمپلکسهای آلی محلول و نامحلول (Lindsay، ۱۹۷۹، Helmک و Bark، ۱۹۹۳).

۱-۲-۲ ویژگیهای بیوشیمیایی روی

روی معمولاً بعد از آهن دومین عنصر ناپایدار فراوان در موجودات زنده است و تنها عنصری است که در هر شش گروه آنزیمی وجود دارد (اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیاها، ایزومرازها و لیگازها). فعالیت و عملکرد آنزیم با ویژگیهای پیوندی و هندسی کمپلکسهای روی معین می‌شود و سه جایگاه اصلی اتصال لیگاند- روی شناسایی شده است: ساختمانی، کاتالیزوری و کوکاتالیزوری (Auld، ۲۰۰۱؛ Maret، ۲۰۰۵). جایگاههای ساختاری روی که در آن، روی موجب تا خوردگی مناسب پروتئین می‌شود (مانند الکل دهیدروژنازها، پروتئین کینازها) معمولاً متشکل از چهار لیگاند سیستمین بدون پیوند با مولکول آب می‌باشد. در جایگاههای کاتالیزوری، روی به طور مستقیم در عمل کاتالیزوری آنزیم شرکت می‌کند (مانند کربنیک انهدرازها)؛ اسید آمینه اصلی، هیستیدین است و روی با آب و همه ی دهندگان اکسیژن یا نیتروژن و گوگرد کمپلکس تشکیل می‌دهد. در جایگاههای کاتالیزوری، Zn^{2+} می‌تواند برای عملکردهای ساختاری، تنظیمی و کاتالیزوری به کار رود (مانند سوپر اکسید دیسموتازها و اسید فسفاتازهای ارغوانی). در این جایگاهها، دو یا سه Zn^{2+} کاملاً نزدیک هم قرار می‌گیرند و توسط باقیمانده های اسید آمینه، بیشتر اسید آسپارتیک (ASP) یا اسید گلوتامیک (GLU) همچنین هیستیدین و یک مولکول آب به جز سیستمین متصل می‌شوند. نوع چهارم از اتصال لیگاند- روی یا جایگاه تماس پروتئین می‌تواند به عنوان یک جایگاه ساختاری یا کاتالیزوری عمل کند. این هنگامی اتفاق می‌افتد که لیگاندها از سطح دو مولکول پروتئین به یک اتم روی منفرد متصل گردند (به عنوان مثال نیتریک اکسید سنتازها). جایگاههای اتصال روی همچنین در ردیف گسترده ای از سایر پروتئینها، لیپیدها ی غشا و مولکولهای RNA یا DNA قرار دارد. بزرگترین گروه پروتئینهای متصل شونده به روی در موجودات زنده، پروتئینهای دارای قلمروی انگشتی روی می‌باشند که در آنها رونویسی به طور مستقیم از طریق اثر بر روی جایگاه اتصال RNA یا DNA و نیز از راه پیرایش جایگاه خاص،

تنظیم ساختار کروماتین، متابولیسم RNA و DNA و نیز از راه پیرایش جایگاه خاص، تنظیم ساختار کروماتین، متابولیسم RNA و بر همکنش پروتئین - پروتئین تنظیم می‌گردد (Klug، ۱۹۹۹؛ Englbreecht و همکاران ۲۰۰۴).

روی نقش متابولیکی را در گیاه ایفاء می‌کند که قابل توجه ترین آنها به صورت جزیی از ساختمان بسیاری از آنزیمها مانند (هیدروژنازاها، پروتئینازها، پپتیدازها و فسفوهیدرولازها می‌باشد. بنابراین روی می‌تواند در واکنشهای انتقال الکترون در چرخه کربس تاثیر گذاشته و در نتیجه در تولید انرژی گیاه نقش داشته است (Broadley و همکاران ۲۰۰۷).

۱-۲-۳ روی در تغذیه انسان

روی یک عنصر ضروری در رژیم انسان است ولی مقدار خیلی کم یا بسیار زیاد آن می‌تواند مضر باشد. کمبود روی در رژیم غذایی انسان موجب کاهش اشتها، کم شدن حس چشایی و بویایی، ضعف سیستم ایمنی، دیر خوب شدن زخمها و خشکی پوست می‌گردد. کمبود شدید روی همچنین می‌تواند منجر به توقف رشد در مردان جوان و کاهش رشد اندامهای جنسی گردد. کمبود روی در زنان باردار موجب کندی رشد در جنین می‌شود. مقادیر زیاد روی می‌تواند موجب دردهای معده، حالت تهوع و استفراغ گردد. مقادیر زیاد روی در دراز مدت موجب کم خونی، آسیب دیدن پانکراس و کم شدن میزان کلسترول خوب خون (HDL) می‌شود.

به طور کلی در سیستمهای زیستی Zn در فعالیت بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم شرکت می‌کند. در این آنزیمها روی نقش ساختاری، کاتالیزوری یا کوکاتالیزوری دارد. عنصر روی همچنین دارای نقش بسیار مهمی در سنتز پروتئینها و متابولیسم RNA و DNA است. بنابر شواهد و مدارک بسیار، برخی از پروتئینهایی که دارای Zn هستند، بیان ژن را به طور مستقیم تحت تاثیر قرار می‌دهند (Singh و همکاران، ۲۰۰۵).

۱-۲-۴ روی در تغذیه گیاه

در گیاهان روی یک عنصر غذایی کم مصرف مهم بوده و برای رشد و نمو طبیعی آنها ضروری است. واکنش گیاه در برابر کمبود روی به صورت کاهش استحکام غشاء، آسیب پذیری در برابر تنش گرما، کاهش سنتز کربوهیدراتها، نوکلئوتیدها، سیتوکرومها، اکسین و کلروفیل می‌باشد. علاوه بر این آنزیمهایی که در ساختمان خود Zn دارند یعنی الکل دهیدروژناز، کربنیک انهدراز،