فصلنامه علوم محیطی، دوره پانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶

۱۲۲-۱۰۹

تأثیرسدیم نیتروپروساید بر افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی عنصر روی به‌وسیله ریشه گلرنگ

شهرام نام جویان[۱*]، حسین کرمانیان[۲]، علی ابوالحسنی سورکی[۳]، صدیقه مدرس طباطبایی[۴] و نازلی الیاسی[۵]

[۱] گروه زیست‌شناسی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲] گروه پالایش زیستی، دانشکده مهندسی انرژی و فناوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[۳] گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم پایه کاربردی، جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران.

[۴] سازمان حفاظت محیط‌زیست، تهران، ایران

[۵] گروه آمار، سازمان توسعه تجارت، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۳

نام جویان، ش.، ح. کرمانیان، ع. ابوالحسنی سورکی، ص. مدرس طباطبایی و ن. الیاسی. ۱۳۹۶. تأثیرسدیم نیتروپروساید بر افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی عنصر روی به‌وسیله ریشه گلرنگ. فصلنامه علوم محیطی. ۱۵(۳): ۱۲۲-۱۰۹.

سابقه و هدف: استفاده از مولکول‌های سیگنال نظیر سدیم نیتروپروساید، به‌عنوان دهنده نیتریک اکساید، افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی را در برخی از گونه‌های گیاهی افزایش می‌دهد. بنابراین مطالعه پیش رو با هدف بررسی نقش سدیم نیتروپروساید در افزایش پتانسیل گیاه‌پالایی و پاسخ های فیزیولوژیک ریشه گیاه گلرنگ تحت تنش عنصر روی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تیمارها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار اعمال گردیدند. پس از ۱۰ روز، سطح نشانگرهای تنش اکسیداتیو (نظیر پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید) و مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانت (نظیر گلوتاتیون، آسکوربات و فیتوکلاتین)، مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث: به‌کارگیری سدیم نیتروپروساید منجر به تخفیف ممانعت از رشد ناشی از زیادی عنصر روی در ریشه گیاهان گردید که این امر احتمالاًبه واسطه القاء برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانت می‌باشد. در قیاس با گیاهانی که تنها در معرض عنصر روی قرار گرفته بودند، استفاده از سدیم نیتروپروساید منجر به کاهش مقدار نشانگرهای تنش اکسیداتیو و همچنین فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز شد. هیچ‌گونه ارتباط آماری معنی‌داری بین استفاده از سدیم نیتروپروساید و مقدار آسکوربات و گلوتاتیون مشاهده نشد درحالی‌که تحت به‌کارگیری سدیم نیتروپروساید، میزان فیتوکلاتین‌ها به‌طورمعنی‌داری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان می‌دهند که به‌کارگیری سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش مقاومت نسبت به سمیت ناشی از عنصر روی می‌شود که این امراحتمالاً به‌واسطه کلات شدن بیشتر روی از طریق تحریک تولید فیتوکلاتین انجام می‌شود.

واژه‌های کلیدی: گلرنگ، فلزات سنگین، نیتریک اکساید، تنش اکسیداتیو.

* Corresponding Author. *E-mail Address*: shahram_biotech@yahoo.com

مقدمه

امروزه به‌واسطه عواملی نظیر توسعه شهرنشینی و به دنبال آن افزایش تولید فاضلاب‌های شهری، استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی و همچنین توسعه صنایع گوناگون، آلودگی منابع آبی و خاکی توسط آلاینده‌های زیست محیطی ازجمله فلزات سنگین به موضوعی مهم تبدیل شده است. در میان فلزات سنگین، عنصر روی (Zn) ازجمله عناصری محسوب می‌شود که در مقادیر بسیار کم، نه‌تنها برای گیاه مضر نبوده بلکه نقش مهمی در فرآیند تغذیه گیاه ایفا می‌نماید. بااین‌حال گزارش شده است که مقادیر زیاد عنصر مذکور در محیط رشد گیاه می‌تواند صدمات جبران‌ناپذیری را بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاهان مختلف وارد آورد (Li *et al.*, 2013). تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که میزان روی موجود در خاک بنا به دلایل مختلفی ازجمله فعالیت‌های کشاورزی مدرن، توسعه سریع شهرنشینی و گسترش فعالیت‌های صنعتی به طور فزاینده رو به افزایش می‌باشد. تجمع عنصر روی در بافت های گیاهی می‌تواند به بروز علائم مسمومیت منجر شود که از نمونه‌این علائم می‌توان به کلروزیس برگی، کاهش تولید زیتوده گیاهی، کاهش تولید محصول و نهایتاً مرگ سلول گیاهی اشاره نمود. مقادیر زیاد عنصر روی باعث القاء استرس اکسیداتیو از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از قبیل رادیکال‌های سوپراکساید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌شود. این ترکیبات به نوبه خود منجر به آسیب‌های اکسیداتیو شدید به ترکیبات ضروری سلولی از قبیل لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها، رنگیزه‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند که همه این ها در نهایت باعث کاهش رشد و توسعه گیاه می‌شود (Li et *al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

با این وصف، لزوم استفاده از تکنیک‌های کم هزینه و کم خطر برای محیط زیست جهت پالایش خاک از مقادیر زیاد فلزات سنگین، ازجمله عنصر روی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این میان استفاده از گونه‌های گیاهی بیش انباشته کننده (Hyperaccumulator) فلزات سنگین که علاوه بر پراکنش جغرافیایی وسیع، کشت و برداشت آن ها نیز ساده باشد به عنوان گزینه‌هایی سودمند جهت پالایش منابع آب و خاک از فلزات سنگین مطرح گردیده است. گیاهان بیش انباشته کننده فلزات سنگین دارای طیف وسیعی از مکانیسم‌های مختلف می‌باشند که از طریق آن ها می‌توانند به نحوی مؤثر اثرات زیانبار مسمومیت ناشی از فلزات سنگین را تخفیف دهند. از نمونه این مکانیسم ها می‌توان به افزایش سنتز برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانت آنزیمی و غیرآنزیمی نظیر آسکوربیک اسید (ASC) و گلوتاتیون (GSH) اشاره نمود.گیاهان مذکور همچنین قادرند به‌واسطه‌ی محدود کردن ورود فلزات سنگین از طریق غشاء پلاسمایی، دفع یون‌های فلزی از طریق پمپاژ کردن آن‌ها به خارج از محیط سلول، و یا به‌وسیله بخش بندی کردن این عناصر در بخش‌های مختلف سلول به کمک پپتیدهای متصل به برخی از این یون های فلزی یا همان فیتوکلاتین‌ها (Phytochelatines) منجر به کاهش اثرات مخرب ناشی از تنش فلزات سنگین شوند (Gill and Tuteja, 2010).

فیتوکلاتین‌ها کلات کننده‌های بیولوژیکی فلزات سنگین هستند که وجود آن‌ها در گیاهان و بعضی موجودات دیگر (مخمرها و نوعی نماتد) اثبات شده است. این ترکیبات، پپتیدهای غنی از سیستئین هستند که در پاسخ به تنش فلزات سنگین ساخته می‌شوند. آنزیم دخالت کننده در سنتز آن‌ها، فیتوکلاتین سنتتاز است که این پپتید را از گلوتاتیون می‌سازد (Srivastava *et al.*, 2004).گلوتاتیون به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت غیر آنزیمی منبع اصلی تیول‌های غیرپروتئینی در بیشتر سلول‌های گیاهی بوده و نقش دهنده و پذیرنده الکترون را در بسیاری واکنش‌های بیولوژیکی ایفا می‌کند (Gill and Tuteja, 2010).

با توجه به اینکه همه گیاهان دارای قابلیت تجمع فلزات سنگین در پیکره خود نمی‌باشند لیکن انتخاب گیاهان دارای این ویژگی از اهمیت فراوانی برخوردار است. از سوی دیگر تحریک گونه‌های مذکور به انباشته نمودن هرچه بیشتر این آلاینده‌ها، بدون بروز علائم مسمومیت، می‌تواند نقشی اساسی در فرآیند پالایش آب و خاک داشته باشد. لذا می‌توان در مقاطع مختلف زندگی گیاهان با تحریک آن‌ها به‌واسطه برخی عوامل زیستی و شیمیایی، گیاهان مذکور را به تجمع هرچه بیشتر آلاینده‌های زیستی بدون و یا با حداقل بروز علائم مسمومیت وادار نمود. در این میان استفاده از برخی از مولکول‌های سیگنال گیاهی ازجمله سالیسیلیک اسید می‌تواند بعنوان روشی مؤثر در این امر مطرح باشد (Wang *et al.*, 2013).

مولکول گازی شکل نیتریک اکساید (NO)، نمونه‌ای ازمولکول‌های سیگنال مهم در عالم گیاهی است که نقش حیاتی آن در القای تحمل نسبت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در سلول‌های گیاهی به اثبات رسیده است (Dong *et al.*, 2015). گزارش‌های متعددی وجود دارند که نشان می‌دهند ترکیباتی نظیر سدیم نیتروپروساید (SNP)، که نقش دهنده مولکول نیتریک اکساید را ایفا می‌نمایند، قادرند به نحو قابل‌توجهی اثرات مخرب ناشی از تنش فلزات سنگین در سلول‌های گیاهی را کاهش دهند (Kazemi *et al.*, 2010; Dong *et al.*, 2015). این مولکول، هم‌چنین نقشی مهم در تنظیم برخی از فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان ازجمله تأثیر بر رشد و توسعه جذب و انتقال یون‌ها از خلال غشاء سلولی ایفا می‌نماید. مشخص شده است که نیتریک اکساید قادر است هم بعنوان یک عامل تنش‌زا عمل نموده و هم درعین‌حال بعنوان یک فاکتور تنش‌زدا از طریق زدودن گونه‌های فعال اکسیژن وارد عمل شود که این امر کاملاً بستگی به غلظت و زمان استفاده از این ماده دارد (Wang *et al.*, 2013).

در میان گونه‌های گیاهی مورد استفاده در فرآیند گیاه‌پالایی، گیاه گلرنگ (*Carthamustinctorius* L.) با توجه به پراکنش وسیع و نیز کشت نسبتاً ساده آن از جمله موارد مناسب در مقوله گیاه‌پالایی می‌باشد. گلرنگ، گیاهی زراعی متعلق به خانواده گل آفتابگردان (Asteraceae) بوده که دارای پراکنش جغرافیایی وسیعی است. گیاه مذکور ویژگی‌های جالبی را در خصوص تجمع فلزات سنگین در پیکره خود بروز داده است به طوری‌که این گیاه قادر به انباشته نمودن مقادیر زیادی از عناصر کادمیوم و روی در ریشه‌ها و برگ‌های خود می‌باشد بدون آنکه علائم ناشی از مسمومیت فلزات سنگین مذکور را بروز دهد. در تحقیقات پیشین نشان داده شده است که گیاه گلرنگ دارای مقاومت قابل‌توجهی نسبت به حضور فلزات سنگین در محیط غذایی خود بوده و قادر به تجمع مقادیر قابل‌توجهی از این عناصر خصوصاً در ریشه‌های خود می‌باشد (Madaan and Mudgal, 2009; Namdjoyan *et al.*, 2011; Namdjoyan *et al.*, 2012; Namdjoyan *et al.*, 2017).

در ارتباط با نقش مولکول‌های سیگنال گیاهی ازجمله نیتریک اکساید، و برهم‌کنش آن‌ها در فرآیند جذب و انتقال برخی از عناصر، تحقیقات متعددی وجود دارد (Gilvanova *et al*, 2012; Hasanuzzaman and Fujita, 2013; Mostofa *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2015). در آخرین تحقیق انجام شده توسط نگارندگان مقاله پیش رو، مشخص گردید که گیاه گلرنگ دارای توانایی فوق‌العاده‌ای در جذب و انباشته نمودن عنصر روی بخصوص در ناحیه ریشه گیاه مذکور می‌باشد (Namdjoyan *et al.*, 2017). با توجه به اینکه در مورد تأثیر مولکول‌های سیگنال نظیر نیتریک اکساید بر مکانیسم‌های مقابله با سمیت ناشی از انباشتگی عنصر روی در ریشه گیاه گلرنگ هیچ موردی ثبت نگردیده است لذا در این تحقیق مکانیسم‌های مداخله کننده در بالا بردن رادمان جذب و تجمع فلز روی در بخش ریشه‌ای گیاه گلرنگ و همچنین افزایش مقاومت نسبت به سمیت

ناشی از تجمع فلز روی در بخش زیرزمینی گیاه گلرنگ با یا بدون حضور سدیم نیتروپروساید، به‌عنوان دهنده نیتریک اکساید، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و وضعیت‌های رویشی

آزمایش‌ها به صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با دو فاکتور روی در دو سطح و سالیسیلیک اسید در دو سطح با حداقل پنج تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بذرهای گیاه گلرنگ، واریته اراک ۲۸۱۱، ابتدا در پتری‌دیش‌هایی تحت شرایط کاملاً استریل و در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گرادبه مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده و پس از جوانه‌زنی به گلدان‌های (۲۰ cm × ۳۰ cm) حاوی مخلوطی از پرلیت و ماسه (۱:۱ v/v) منتقل گردیده و با محلول غذایی آرنون- هوگلند به مدت ۲۱ روز آبیاری گردیدند (Arnon and Hoagland, 1940). دانه‌رست‌های حاصله سپس به مدت ۱۰ روز تحت تأثیر تیمارهای مختلف، در اتاقک رشد با دمای ۲ ± ۲۵ $^{\circ}C$ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی تحت نور مهتابی رشد داده شدند. وزن تر هر یک از نمونه‌ها بر حسب گرم با ترازوی (Sartorius مدل BPSIID) با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید

این پارامتر با توجه به تولید مالون‌دآلدئید و واکنش آن با تیوباربیتوریک اسید TBARS و تشکیل کمپلکس رنگیTBARS – MDA است که می‌توان با کمک اسپکتروفتومتری غلظت آن را اندازه‌گیری نمود. مطابق این روش، ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های گیاهی مورد آزمایش، در ۵ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۱ درصد W/V هموژنیزه شده و سپس مواد حاصله با دستگاه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد تری‌کلرواستیک اسید TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید، اضافه شد. مخلوط حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بلافاصله در یخ، سرد شد. سپس نمونه‌ها مجدداً در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. برای حذف اثر ترکیبات مزاحم، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر از جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر کسر شد (Heath and Packer, 1968).

سنجش مقدار آسکوربیک اسید بافت‌های گیاهی

مقدار آسکوربیک اسید (ASA)، بر اساس روش (Singh *et al.*, 2006) تعیین گردید. برای این منظور از ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی تازه که در ۱۰ میلی‌لیتر اسید متافسفریک ۵ درصد، سائیده شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده بود استفاده گردید. برای رسم منحنی استاندارد، غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آسکوربیک اسید خالص تهیه شد. از هر یک از غلظت‌های مذکور، ۳۰۰ میکرولیتر در لوله آزمایش تمیز ریخته شد و بقیه مراحل شبیه نمونه‌های مجهول انجام گرفت. درنهایت منحنی جذب بر حسب غلظت برای آسکوربیک اسید به کمک نرم‌افزار Excell رسم گردید.

سنجش مقدار گلوتاتیون بافت‌های گیاهی

۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های ریشه‌ای تازه گیاه در متافسفریک اسید ۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. به‌این ترتیب یک مخلوط فرآیند از ۰/۵ میلی‌لیتر سوپرناتانت حاصل‌شده از مرحله قبل، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۵۰ میلی مولار دارای pH= ۷/۴ حاوی ۰/۵ میلی مولار اتیلن‌دی‌آمیدتترااستیک‌اسید EDTA و ۰/۵ میلی‌لیتر ۲-نیتروبنزوییک‌اسید ۶ میلی

مولار تهیه گردید. پس‌از آنکه این محلول به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد، تغییرات جذبی رنگ تولیدشده در nm ۴۱۲ و به کمک یک منحنی استاندارد حاصل از گلوتاتیون احیاء شده در دامنه ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید (Hissin and Hilf, 1976).

سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت‌های گیاهی

فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز با استفاده از روش (Beauchamp and Fridovich, 1971) ارزیابی شد که در طی آن ارزیابی فعالیت آنزیم مذکور با مطالعه میزان جلوگیری از احیاء فوتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم‌کلراید (NBT)توسط آنزیم صورت می‌گیرد. برای این منظور ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های گیاهان رویش یافته در حضور تیمارهای مختلف، پس از برداشت، توسط یک هاون چینی در ۱۰۰ میلی مولار بافر سرد دارای pH= ۷ حاوی ۰/۱ میلی مولار EDTA، ۱ درصد (W/V) پلی‌وینیل - پلی پیرولیدون PVP، در دمای $^{\circ}C$ ۴ همگن شدند. پس از همگن شدن در بافر فسفات سرد، محصول در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه در دمای $^{\circ}C$ ۴ جهت رفع مواد زائد، سانتریفیوژ گردید و سوپرناتانت حاصله جهت ارزیابی فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه مخلوط واکنش، ترکیبات EDTA ۰/۱ مولار، NBT ۰/۰۶ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار و ریبوفلاوین ۰/۰۰۱ میلی مولار به ترتیب اضافه شدند. پس از افزودن ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر، لوله‌ها تحت روشنایی لامپ فلورسنت قرار داده شدند تا واکنش آغاز شود. پس از ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

استخراج و ارزیابی فیتوکلاتین‌ها

برای محاسبه مقادیر فیتوکلاتین کل از روش (Molina *et al.*, 2008) استفاده شد. این روش در حقیقت روشی نظری برای محاسبه فیتوکلاتین محسوب شده و ضمن دقت بالا نیازی به استفاده از دستگاه‌های پیشرفته محاسبه مقادیر فیتوکلاتین نظیر HPLC ندارد. بر طبق این روش پس از تعیین مقادیر گلوتاتیون و تیول‌های غیر پروتئینی می‌توان با محاسبه تفاوت بین مقادیر گلوتاتیون و تیول‌های غیر پروتئینی مقدار حاصله را به‌عنوان فیتوکلاتین کل در نظر گرفت.

تجزیه وتحلیل داده‌ها

نتایج آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 17و SAS ver 9.2 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. گروه بندی میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ٪۵ $= \alpha$ انجام شد.

نتایج و بحث

بکار گیری تیمار فلز روی باعث ایجاد علائم مسمومیت در گیاهان گلرنگ گردید که از نمونه علائم قابل مشاهده می‌توان به تأخیر رشد گیاهی و نیز شکل غیر نرمال، کوچک و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها اشاره نمود. درهرحال به‌کارگیری تیمار سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان دهنده نیتریک اکساید)، علائم مسمومیت فلز روی در گیاهان مورد بررسی را به نحو قابل ملاحظه‌ای کاهش داده و منجر به افزایش رشد گیاهان و رویش طبیعی ریشه‌ها گردید (شکل ۱).

در آزمایش‌های قبلی انجام‌گرفته بر روی گیاه گلرنگ نشان داده شد که تیمار عنصر روی به نحو قابل ملاحظه‌ای منجر به کاهش زیتوده در گیاه مذکور گردیده و رشد غیرطبیعی اندام‌های گیاهی ازجمله ریشه‌ها را در پی دارد (Namdjoyan *et al.*, 2017). اثرات سمی عنصر روی بر فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گلرنگ، اصلی‌ترین دلیل جهت توجیه کاهش زیتوده و رشد غیرطبیعی ریشه‌ها در گیاهان گلرنگ تحت تنش عنصر مذکور می‌باشد. ریشه‌ها اولین بخش از گیاه هستند

که در معرض تنش ناشی از سمیت فلزات سنگین قرار می‌گیرند بنابراین طبیعی است چنانچه زیتوده و مورفولوژی ریشه با شدت بیشتری تحت تأثیر آثار مخرب سمیت فلزات سنگین نظیر روی قرار بگیرد. همان‌گونه که از شکل ۱ پیداست، به‌کارگیری سدیم نیتروپروساید، منجر به رویش طبیعی ریشه گیاهان تیمار شده با عنصر روی گردید. سابقاً گزارش گردیده است که مولکول سدیم نیتروپروساید دارای اثر تخفیف دهنده بر سمیت ناشی از فلزات سنگین بر رشد گیاهان می‌باشد (Hasanuzzaman and Fujita, 2013; Mostofa *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2015). این ماده احتمالاًبه نحوی مؤثر سطح تولید ROS را در طی تنش، کاهش داده و قادر به تحریک دستگاه فتوسنتزی گیاه می‌باشد. ماده مذکور می‌تواند اثر ممانعت کننده ROS بر فرآیند رشد گیاه که در طی تنش ناشی از فلزات سنگین ایجاد می‌شود را کاهش دهد (Kazemi *et al.*, 2010).

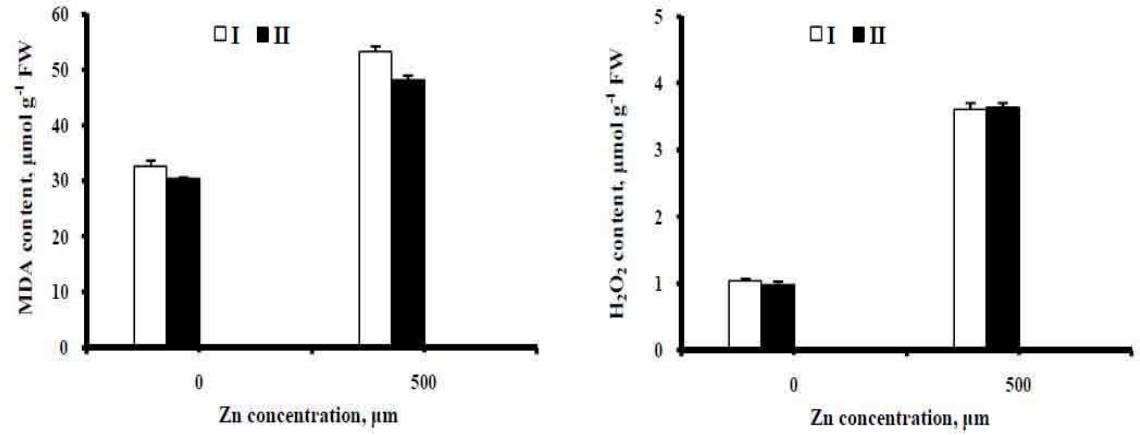
شکل ۱- تأثیر تیمار عنصر روی به‌تنهایی و یا در ترکیب با سدیم نیتروپروساید بر رشد ریشه گیاه گلرنگ
Fig. 1- Effect of Zn singly and in combination with SNP on root morphology of safflower

در پژوهش حاضرمشخص شد که در گیاهان گلرنگ در معرض تیمار عنصر روی میزان نشانگرهای تنش اکسیداتیو از جمله مالون‌دآلدئید و پراکسید هیدروژن در ریشه گیاهان به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد (شکل ۲). درهرحال با افزودن سدیم نیتروپروساید به محیط کشت نمونه‌های تحت تنش عنصر روی، محتوی مالون‌دآلدئیدکاهش یافت که این کاهش در قیاس با نمونه‌هایی که تنها به‌وسیله عنصر روی تیمار شده بودند به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در خصوص مقدار پراکسید هیدروژن نیز همان‌گونه که از شکل ۲ مشخص است، مقدار پراکسید هیدروژن نمونه‌های تحت تنش عنصر روی که هم‌زمان با سدیم نیتروپروساید نیز تیمار شده بودند به میزان ناچیزی افزایش یافت.

تحقیقات متعددی وجود دارند که نشان می‌دهند محتوی نشانگرهای تنش اکسیداتیو ازجمله مالون‌دآلدئید و پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت انواع تنش‌های زیست‌محیطی ازجمله تنش ناشی از فلزات سنگین، افزایش می‌یابد. مشابه با نتایج تحقیق

حاضر، مقادیر افزایش‌یافته مالون دآلدئید و پراکسید هیدروژن در پاسخ به تنش فلزات سنگین در سایر گونه‌های گیاهی هم گزارش شده است (Saxena and Shekhawat, 2013; Wang *et al.*, 2013). در بررسی پیش‌رو نیز به نظرمی‌رسد که تغییرات ایجاد شده در مقدار و فعالیت موارد مذکور نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو ناشی از عنصر روی در گیاهان گلرنگ باشد. افزایش مقدار مالون‌دآلدئید و پراکسید هیدروژن در گیاهان تحت تنش عنصر روی را می‌توان به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تنش اکسیداتیو ناشی از فزونی گونه‌های فعال اکسیژن دانست.

افزودن سدیم نیتروپروساید به گیاهان گلرنگ تحت تنش عنصر روی، مقادیر مالون‌دآلدئیدریشه‌ها را تا حدودی کاهش داد که این امر نشان‌دهنده آن است که این مولکول سیگنال احتمالاً قادر است از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را ممانعت نموده و به‌این‌ترتیب از میزان آسیب ناشی از تولید این مواد به سیستم غشایی سلول‌ها بکاهد. پیش‌تر Wang *et al.* (2013) گزارش نمودند که نیتریک اکساید قادر است به‌طورغیرمستقیم میزان تجمع ROS را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کاهش دهد. علاوه بر این، نیتریک اکساید توانایی حفاظت از تمامیت غشاء از طریق ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها به‌وسیله از بین بردن رادیکال‌های پروکسیل را نیز داراست.



شکل ۲- اثر تنش ناشی از عنصر روی بر میزان مالون‌دآلدئید (MDA) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در ریشه گیاه گلرنگ. (I) بدون سدیم نیتروپروساید و در حضور (II) ۱۰۰ میکرومول سدیم نیتروپروساید.داده‌ها میانگینی حاصل از سه آزمایش با ۵ تکرار می‌باشند. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال *0.05P* ≤مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

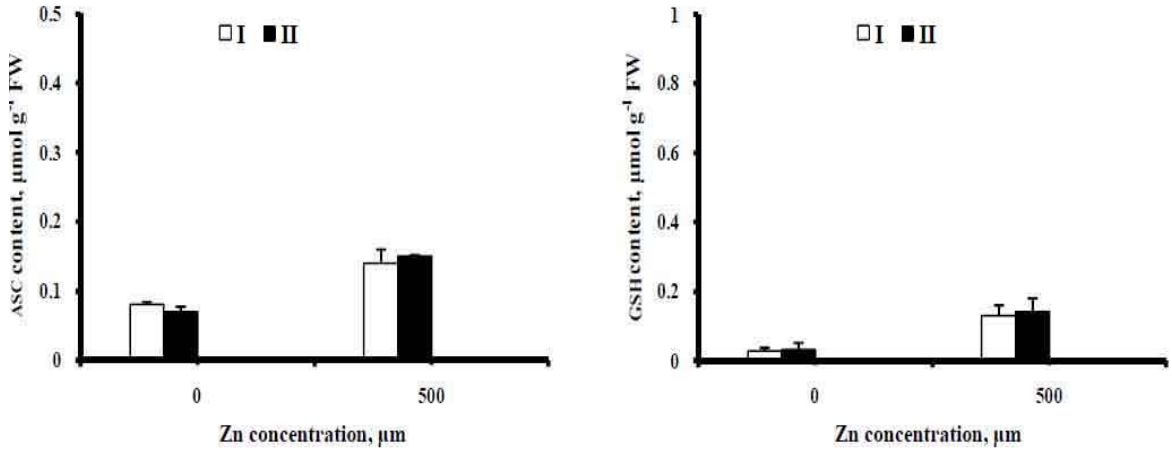
Fig. 2- Effects of Zn singly and in combination with SNP on malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) content in safflower root. (I) Without SNP and (II) in combination with 100 µM SNP. Values represent mean ± SE of three experiments with the five replicates. Different letters indicate significant difference between treatments at $P \leq 0.05$, according to Duncan's multiple range test

در بررسی پیش رو با به‌کارگیری عنصر روی، میزان آسکوربات موجود در بخش‌های ریشه‌ای گیاهان گلرنگ به شکل معنی‌داری افزایش یافت. با این‌حال به‌کارگیری سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش بیش‌ازپیش محتوی آسکوربات در ریشه گیاهان در معرض تنش عنصر روی گردید (شکل۳). آسکوربیک اسید، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت قدرتمند محلول در آب دارای نقشی حیاتی در سمیت‌زدایی از ROS به‌طور مستقیم و یا به‌واسطه تحریک فعالیت آنزیم‌های محدودکننده تنش اکسیداتیو می‌باشد. در این تحقیق، افزایش معنی‌دار سطح آسکوربات در گیاهان گلرنگ تحت تنش عنصر روی نشان‌دهنده نقش دفاعی احتمالی

آسکوربات در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت عنصر روی می‌باشد. این نتایج در توافق با مطالعات انجام یافته بر روی گیاهان نارنگی است که در معرض تنش عنصر روی قرار گرفته بودند (Subba *et al.*, 2014). مقادیر فزونی یافته آسکوربات را می‌توان به‌وسیله تولید افزایش‌یافته ROS و به دنبال آن فعالیت هرچه بیشتر آنزیم‌های تجزیه‌کننده پراکسید هیدروژن موجود در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون، توجیه نمود. درهرحال، محتوی آسکوربات با به‌کارگیری تیمار سدیم نیتروپروساید، در بخش‌های هوایی گیاهان تحت تنش عنصر روی، افزایش بیشتری را نشان داد که این امر دلالت بر نقش احتمالی این مولکول سیگنال در سمیت‌زدایی کارآمدتر از عنصر روی در گیاهان در معرض تنش عنصر مذکور دارد. به نظرمی‌رسد که سدیم نیتروپروساید به‌واسطه افزایش سنتز آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل آسکوربات قادر به تخفیف اثرات زیانبار ناشی از سمیت عنصر روی می‌باشد.

همان‌گونه که در شکل ۳ نشان داده شده است، در قیاس با نمونه‌های کنترل، در گیاهان تحت تنش عنصر روی، مقدار گلوتاتیون احیاء شده ریشه‌ها به صورت تدریجی افزایش می‌یابد. به‌کارگیری سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش بیشتری در محتوی گلوتاتیون ریشه گیاهان گلرنگ تحت تنش عنصر روی گردید که البته این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

مطالعات قبلی (Gill and Tuteja, 2010) نشان داده‌اند که در پاسخ به تنش ناشی از فلزات سنگین، مقادیر گلوتاتیون در گیاهان تحت تنش، افزایش می‌یابد که این موضوع کاملاً با نتایج حاصل از پژوهش حاضر که در آن محتوی گلوتاتیون در ریشه گیاهان تحت تنش عنصر روی افزایش یافت، در توافق می‌باشد. مقادیر افزایش‌یافته گلوتاتیون در گیاهان تحت تنش عنصر روی احتمالاً در ارتباط با نقش فعال این ترکیب در سمیت‌زدایی از ROS می‌باشد. همچنین پیشنهاد شده است که سطوح فزونی یافته گلوتاتیون در طی تنش ناشی از فلزات سنگین احتمالاً تا حدی در ارتباط با القاء نسخه‌برداری از ژن‌های مسئول در بیوسنتز گلوتاتیون، نظیر گلوتاتیون سنتتاز و گلوتاتیون ردوکتاز می‌باشد (Mishra *et al.*, 2011).



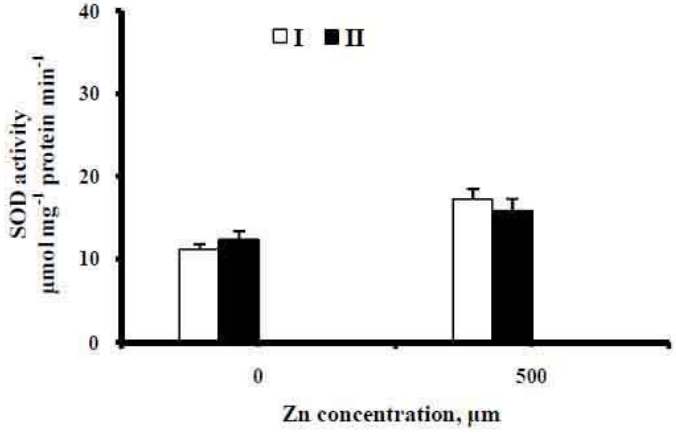
شکل ۳- اثر تنش ناشی از عنصر روی بر میزان آسکوربات (ASC) و گلوتاتیون (GSH) در ریشه گیاه گلرنگ. (I) بدون سدیم نیتروپروساید و در حضور (II) ۱۰۰ میکرومول سدیم نیتروپروساید.داده‌ها میانگینی حاصل از سه آزمایش با ۵ تکرار می‌باشند. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال $P \leq 0.05$ مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

Fig. 3- Effects of Zn singly and in combination with SNP on ascorbate (ASC) and glutathione (GSH) content in safflower root. (I) Without SNP and (II) in combination with 100 µM SNP. Values represent mean ± SE of three experiments with the five replicates. Different letters indicate significant difference between treatments at $P \leq 0.05$, according to Duncan's multiple range test.

گزارش شده است که سدیم نیتروپروساید قادر به تحریک تولید گلوتاتیون و نیز افزایش نسبت گلوتاتیون احیاء شده به نوع اکسیدشده آن در گیاهان در معرض تنش فلزات می‌باشد (Hasanuzzaman and Fujita, 2013). مقادیرافزایش‌یافته گلوتاتیون در گیاهان تحت تنش عنصر روی که با سدیم نیتروپروساید تیمار شده‌اند بازتاب دهنده نقش حیاتی این قبیل مولکول‌های سیگنال در سنتز گلوتاتیون و نیز نقش مهم آن‌ها در فرآیند متعادل نگه‌داشتن و تنظیم پتانسیل ردوکس سلول‌ها می‌باشد.

تیمار عنصر روی، افزایش معنی‌داری را در فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز در بخش ریشه‌ای گیاهان گلرنگ در قیاس با نمونه‌های کنترل باعث گردید (شکل ۴). درهرحال با افزودن سدیم نیتروپروساید، فعالیت آنزیم فوق در قیاس با نمونه‌هایی که تنها در معرض تنش عنصر روی قرار گرفته بودند، کاهشی تدریجی را بروز داد (شکل ۴). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز در پاسخ به تیمارهای متنوع فلزات سنگین سابـقاً نیز گزارش شده است (Gill and Tuteja, 2010). آنزیم مذکور به‌عنوان یک فاکتور کلیدی محافظت‌کننده سلول‌ها برعلیه تنش‌های اکسیداتیو قادر به تبدیل رادیکال آزاد اکسیژن به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌باشد. به نظرمی‌رسد که تجمع پراکسید هیدروژن القاء شده به‌وسیله تنش عنصر روی در گیاهان، احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز باشد.

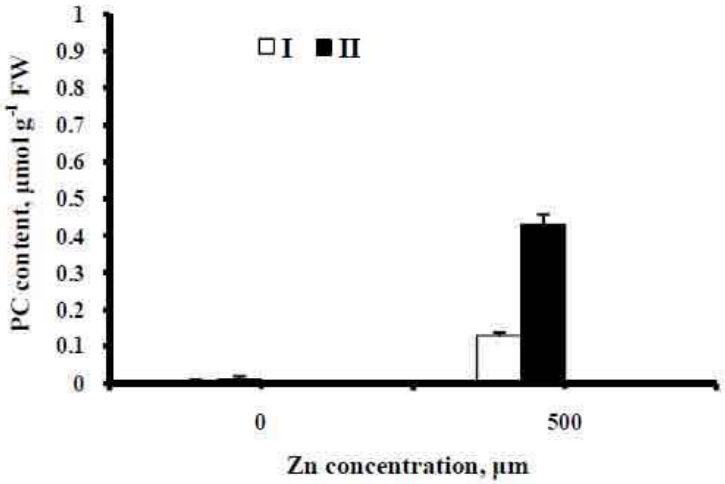
فعالیت آنزیم مذکور همچنین تا حدودی در ارتباط با افزایش تولید ROS و نیز افزایش بیان ژن‌های کد کننده این آنزیم است. درهرحال در گیاهان تیمار شده با سدیم نیتروپروساید، فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز کاهش یافت که این نتیجه حاکی از نقش فرونشاننده این مولکول‌ها بر روی ROS می‌باشد. فعالیت تقلیل یافته SOD در گیاهان تحت تنش روی تیمار شده با سدیم نیتروپروساید، نشان‌دهنده نقش کاهش‌دهنده سمیت روی و در نتیجه محافظت از زیان اکسیداتیو این عنصر توسط مولکول‌های سینگال نظیر نیتریک اکساید می‌باشد. کاهش فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز توسط نیتریک اکساید همچنین می‌تواند ناشی از خاصیت از بین برندگی مستقیم رادیکال‌های سوپراکساید توسط نیتریک اکساید نیز باشد (Bavita *et al.*, 2012).



شکل ۴- اثر تنش ناشی از عنصر روی بر فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD) در ریشه گیاه گلرنگ. (I) بدون سدیم نیتروپروساید و در حضور (II) ۱۰۰ میکرومول سدیم نیتروپروساید.داده‌ها میانگینی حاصل از سه آزمایش با ۵ تکرار می‌باشند. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال $P \leq 0.05$ مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

Fig. 4- Effects of Zn singly and in combination with SNP on superoxide dismutase (SOD) activity in safflower root. (I) Without SNP and (II) in combination with 100 μM SNP. Values represent mean ± SE of three experiments with the five replicates. Different letters indicate significant difference between treatments at $P \leq 0.05$, according to Duncan's multiple range test.

همان‌گونه که از شکل ۵ پیداست، محتوی فیتوکلاتین ریشه‌های نمونه‌های تیمار شده با عنصر روی در قیاس با نمونه‌های کنترل، به‌طور چشمگیری افزایش یافت. درهرحال تیمار با سدیم نیتروپروساید، منتج به افزایش بیشتر محتوی فیتوکلاتین ریشه در قیاس با نمونه‌هایی گردید که تنها در حضور عنصر روی قرار گرفته بودند (شکل ۵). یکی از مکانیسم‌های مهم برای سمیت‌زدایی از فلزات سنگین و افزایش مقاومت گیاهان در برابر این عناصر، کلات شدن یون‌های فلزی به‌وسیله لیگاندها می‌باشد. نقش فیتوکلاتین‌ها در کلات کردن یون‌های فلزی و نگه‌داشتن این یون‌های کلات شده در ریشه‌هاکاملاً به اثبات رسیده است. پیشنهاد شده است که کمپلکس‌های فلز سنگین- فیتوکلاتین، در واکوئل‌ها ذخیره شده و به‌این‌ترتیب از میزان مسمومیت ناشی از این عناصر کاسته می‌شود. مشابه با نتایج حاصل از این پژوهش، بیوسنتز فیتوکلاتین و کمپلکس عنصر روی- فیتوکلاتین در گیاه *Arabidopsis thaliana* نیز سابقاً گزارش گردیده است (Kühnlenz *et al.*, 2016). افزایش مقادیر فیتوکلاتین در گیاهان گلرنگ تحت تنش عنصر روی ممکن است درنتیجه القاء ژن فیتوکلاتین سنتتاز باشد.



شکل ۵-اثر تنش ناشی از عنصر روی بر میزان فیتوکلاتین (PC)ریشه گیاه گلرنگ. (I) بدون سدیم نیتروپروساید و در حضور (II) ۱۰۰ میکرومول سدیم نیتروپروساید.داده‌ها میانگینی حاصل از سه آزمایش با ۵ تکرار می‌باشند. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال $P \leq 0.05$ مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

Fig. 5- Effects of Zn singly and in combination with SNP on phytochelatin (PC) content in safflower root. (I) Without SNP and (II) in combination with 100 µM SNP. Values represent mean ± SE of three experiments with the five replicates. Different letters indicate significant difference between treatments at $P \leq 0.05$, according to Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن سدیم نیتروپروساید به گیاهان تیمار شده با عنصر روی افزایش معنی‌داری را در محتوی فیتوکلاتین ریشه‌ها سبب می‌شود. افزایش مقادیر فیتوکلاتین سابقاً در دانه‌رست‌های گیاه برنج تحت تنش عنصر مس تیمار شده با سدیم نیتروپروساید نیز گزارش شده است (Mostofa *et al.*, 2014). این نتایج نقش فعال سدیم نیتروپروساید در سمیت‌زدایی از فلزات سنگین از طریق القاء بیوسنتز فیتوکلاتین را پیشنهاد می‌دهد.

پژوهش حاضر نشان داد که مقادیر زیاد عنصر روی می‌تواند منجر به وارد آمدن صدمات شدیدی به ساختار مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه مذکور شود. میزان خسارت ناشی از مقادیر انبوه عنصر روی به گیاه گلرنگ را می‌توان از روی شدت علائمی نظیر کاهش قابل‌توجه زیتوده و رشد ریشه گیاهی مشخص نمود. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که به‌کارگیری نیتریک اکساید

می‌تواند به نحوی قابل‌توجه از اثرات مخرب سمیت ناشی از فزونی عنصر روی بر رشد ریشه گیاه بکاهد. بر پایه نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، افزایش غلظت عنصر روی می‌تواند منجر به بروز تنش اکسیداتیو شود که این امر را می‌توان به خوبی از روی افزایش مقادیر و فعالیت نشانگرهای تنش اکسیداتیو مشخص نمود. داده‌های حاصل از این تحقیق، نشان می‌دهند که مولکول سیگنال سدیم نیتروپروساید، حداقل تا حدودی، قادر به تخفیف اثرات زیانبار ناشی از سمیت عنصر روی می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، ظاهراً استراتژی مقاومت علیه سمیت عنصر روی در گیاهان تیمار شده با سدیم نیتروپروساید وابسته به القاء همزمان سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانت و تولید هرچه بیشتر ترکیبات کلات کننده عنصر روی یعنی فیتوکلاتین‌ها در ریشه‌ها می‌باشد. افزایش محتوی فیتوکلاتین در ریشه گیاه گلرنگ همراه با ممانعت از انتقال عنصر روی از ریشه‌ها به بخش‌های هوایی گیاه مذکور می‌تواند استراتژی مهمی جهت افزایش پتانسیل پالایش خاک از عنصر روی به‌وسیله گیاه گلرنگ و نیز خنثی‌سازی سمیت عنصر روی در گیاهان تحت تنش این عنصر به‌وسیله افزودن سدیم نیتروپروساید باشد. درمجموع نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که با توجه به نقش اساسی سدیم نیتروپروساید در افزایش مقاومت ریشه گیاه به اثرات ناشی از سمیت عنصر روی شاید بتوان پتانسیل گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به عنصر روی را از طریق به‌کارگیری مولکول‌های سیگنال از قبیل سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان دهنده نیتریک اکساید) به نحو چشم‌گیری افزایش داد.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس برای فراهم نمودن هزینه پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع

Arnon, D. and Hoagland, D., 1940. Crop production in artificial culture solutions and in soils with special reference to factors influencing yields and absorption of inorganic nutrients. Soil Science. 50, 463-485.

Bavita, A., Shashi, B. and Navtej, S., 2012. Nitric oxide alleviates oxidative damage induced by high temperature stress in wheat. Indian Journal of Experimental Biology. 50, 372-378.

Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical biochemistry. 44, 276-287.

Dong, Y., Wang, Z., Zhang, J., Liu, S., He, Z. and He, M., 2015. Interaction effects of nitric oxideand salicylic acid in alleviating salt stress of Gossypium hirsutum L. Journal of soil science and plant nutrition. 15, 561-573.

Gilvanova, I., Enikeev, A., Stepanov, S.Y. and Rakhmankulova, Z., 2012. Involvement of salicylic acid and nitric oxide in protective reactions of wheat under the influence of heavy metals. Applied biochemistry and microbiology. 48, 90-94.

Gill, S.S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant physiology and biochemistry. 48, 909-930.

Hasanuzzaman, M. and Fujita, M., 2013. Exogenous sodium nitroprusside alleviates arsenic-induced oxidative stress in wheat (Triticum aestivum L.) seedlings by enhancing antioxidant defense and glyoxalase system. Ecotoxicology. 22, 584-596.

Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics. 125, 189-198.

Hissin, P.J. and Hilf, R., 1976. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. Analytical biochemistry. 74, 214-226.

Kazemi, N., Khavari-Nejad, R.A., Fahimi, H., Saadatmand, S. and Nejad-Sattari, T., 2010. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of Brassica napus L. under nickel stress. Scientia Horticulturae. 126, 402-407.

Kühnlenz, T., Hofmann, C., Uraguchi, S., Schmidt, H., Schempp, S., Weber, M., Lahner, B., Salt, D.E. and Clemens, S., 2016. Phytochelatin synthesis promotes leaf Zn accumulation of Arabidopsis thaliana plants grown in soil with adequate Zn supply and is essential for survival on Zn-contaminated soil. Plant and Cell Physiology. 57, 2342-2352.

Li, X., Yang, Y., Jia, L., Chen, H. and Wei, X., 2013 .Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. Ecotoxicology and environmental safety. 89, 150-157.

Madaan, N. and Mudgal, V., 2009. Differential tolerance behaviour of safflower accessions to some heavy metals. International Journal of Applied Environmental Sciences. 4: 413-420.

Mishra, S., Jha, A. and Dubey, R., 2011. Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings. Protoplasma. 248, 565-577.

Molina, A.S., Nievas, C., Chaca, M.V.P., Garibotto, F., González, U., Marsá, S.M., Luna, C., Giménez, M.S. and Zirulnik, F., 2008. Cadmium-induced oxidative damage and antioxidative defense mechanisms in Vigna mungo L. Plant growth regulation. 56, 285.

Mostofa, M.G., Seraj, Z.I. and Fujita, M., 2014. Exogenous sodium nitroprusside and glutathione alleviate copper toxicity by reducing copper uptake and oxidative damage in rice (Oryza sativa L.) seedlings. Protoplasma. 251, 1373-1386.

Namdjoyan, S., Namdjoyan, S. and Kermanian, H., 2012. Induction of phytochelatin and responses of antioxidants under cadmium stress in safflower (Carthamus tinctorius) seedlings. Turkish Journal of Botany. 36, 495-502.

Namdjoyan, S., Khavari-Nejad, R., Bernard, F., Nejadsattari, T. and Shaker, H., 2011. Antioxidant defense mechanisms in response to cadmium treatments in two safflower cultivars. Russian Journal of Plant Physiology. 58, 467-477.

Namdjoyan, S., Kermanian, H., Soorki, A.A., Tabatabaei, S.M. and Elyasi, N., 2017. Interactive effects of Salicylic acid and nitric oxide in alleviating zinc toxicity of Safflower (Carthamus tinctorius L.). Ecotoxicology. 26, 752-761.

Saxena, I. and Shekhawat, G., 2013. Nitric oxide (NO) in alleviation of heavy metal induced phytotoxicity and its role in protein nitration. Nitric Oxide. 32, 13-20.

Singh, N., Ma, L.Q., Srivastava, M. and Rathinasabapathi, B., 2006. Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in Pterisvittata L and Pterisensiformis L. Plant Science. 170, 274-282.

Srivastava, S., Tripathi, R.D. and Dwivedi, U.N., 2004. Synthesis of phytochelatins and modulation

of antioxidants in response to cadmium stress in Cuscuta reflexa–an angiospermic parasite. Journal of plant physiology. 161, 665-674.

Subba, P., Mukhopadhyay, M., Mahato, S.K., Bhutia, K.D., Mondal, T.K. and Ghosh, S.K., 2014. Zinc stress induces physiological, ultra-structural and biochemical changes in mandarin orange (Citrus reticulata Blanco) seedlings. Physiology and Molecular Biology of Plants. 20, 461-473.

Wang, Q., Liang, X., Dong, Y., Xu, L., Zhang, X., Kong, J. and Liu, S., 2013. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on physiological characteristics of perennial ryegrass under cadmium stress. Journal of plant growth regulation. 32, 721-731.

Zhang, S., Liu, K., Lv, X., Wang, P., Wang, C., Zhang, W. and He, Z., 2014. Effects of nitric oxide on zinc tolerance of the submerged macrophyte Hydrilla verticillata. Aquatic Biology. 23, 61-69.

Environmental Sciences Vol.15 / No.3 / Autumn 2017

109-122

Sodium nitroprusside elevation of the zinc phytoremediation potential in safflower roots

Shahram Namdjoyan[1*], Hossein Kermanian[2], Ali Abolhasani Soorki[3], Sedigheh Modarres Tabatabaei[4] and Nazli Elyasi[5]

[1] Department of Biology, Shahre Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Pulp and Paper, Energy and New Technology Faculty, Zirab Rachis, Shahid Beheshti University, Iran.
[3] ACECR-Research Institute of Applied Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[4] Department of Environment, Faculty of Natural Environment, Tehran, Iran
[5] Department of Statistic, Trade Planing Office, Trade Promotion Organization, Tehran, Iran

Received: 2017.09.03 **Accepted:** 2017.10.25

Namdjoyan, Sh., Kermanian, H., Abolhasani Sooraki, A., Modarres Tabatabaei, S. and Elyasi, N., 2017. Sodium nitroprusside elevation of the zinc phytoremediation potential in safflower roots. Environmental Sciences. 15(3): 109-122.

Introduction: It was shown that the use of signaling molecules such as nitric oxide donor sodium nitroprusside (SNP) can elevate the phytoremediation potential of some plant species. The aim of the study is to reveal the effect of SNP on the enhancement of the phytoremediation potential and physiological responses of zinc-stressed safflower roots.

Material and methods: The treatments were arranged in a completely randomized design with five replicates. After 10 days, the levels of oxidative markers (e.g., H_2O_2 and lipid peroxidation) and antioxidant compounds (such as glutathione, ascorbate and phytochelatins) of plants were analyzed.

Results and discussion: SNP application alleviated Zn-induced growth inhibition of roots probably through the induction of some antioxidative compounds. Application of SNP resulted in a decrease in oxidative markers and the activity of SOD compared with that found in the plants treated with Zn only. No relationship was found between SNP supplementation and glutathione and ascorbate levels while, upon application of SNP, the level of PCs increased significantly.

Conclusion: The results suggest that the application of SNP renders safflower roots more tolerant to zinc toxicity, possibly through zinc chelation by the stimulation of phytochelatin production.

Keywords: *Carthamustinctorius*, Heavy metals, Nitric oxide, Oxidative stress.

[*] Corresponding Author. *E-mail Address*: shahram_biotech@yahoo.com