مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

ارزیابی خطر ماده رنگ‌زای صنعتی بر حیات گیاه آبزی

Ceratophyllum demersum

زهرا افتخاری، ناهید شریفی، اکبر نورسته‌نیا*، زهرا مسعودیان

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۹/۰۲/۳۰
اصلاح: ۹۹/۰۵/۰۵
پذیرش: ۹۹/۰۶/۱۵

کلمات کلیدی:
آنتی‌اکسیدان
پساب
تنش اکسیداتیو
رنگ آزو
Ceratophyllum

چکیده

مواد رنگ‌زای گروه آزو مهم‌ترین گروه از مواد رنگ‌زای تجاری و پرکاربردترین ترکیبات رنگ‌زای مورد استفاده در صنایع مختلف هستند. آزادسازی پساب‌های حاوی این ترکیبات در محیط زیست منجر به مشکلات متعددی نظیر کاهش فتوسنتز و رشد گیاهان و کاهش کیفیت آب می‌شود. در مطالعه حاضر تأثیر سه غلظت مختلف (۰،۱۰،۲۰ میلی‌گرم در لیتر) ماده رنگ‌زای آبی اسیدی ۹۲ (AB92) بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه آبزی *Ceratophyllum demersum* نظیر رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت گلیکوزید سیانیدین، توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد و پراکسیداسیون لیپید در یک دوره تیماردهی ۷ روزه بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید کل در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۱۵/۳۸، ۱۸، ۱۶/۸۸ و ۴۵ درصد کاهش یافت. غلظت گلیکوزید سیانیدین، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت به‌طوری که در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر این پارامترها به ترتیب به میزان ۸۱/۸، ۶۹/۵ و ۱۴/۲۹درصد نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد. به این ترتیب حضور هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر از ماده رنگ‌زای آبی اسیدی۹۲ موجب القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بروز خطر تنش اکسیداتیو برای گیاه سراتوفیلوم گردید.

مقدمــه

امروزه پیشرفت تمدن، توسعه فن‌آوری و ازدیاد روزافزون جمعیت منجر به آلودگی محیط زیست شده است. بررسی‌ها نشان داده است که صنایع نساجی به‌تنهایی سالانه ۲۰۰ میلیارد لیتر پساب رنگی تولید می‌کنند (Croce *et al*., 2017) که حدود ۵۰ درصد این مواد مستقیم وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند (Kant, 2012). تخلیه پساب‌های رنگی به محیط زیست و اکوسیستم‌های آبی علاوه بر آسیب رساندن به مناظر زیبای طبیعی، از نفوذ نور به داخل اعماق آب جلوگیری می‌کند و باعث مختل شدن فرایند فتوسنتز و از بین رفتن گیاهان آبزی می‌شود (Ali, 2010, Ogugbue and Sawidis, 2011, Vaiano *et al*., 2015). بسیاری از زنوبیوتیک‌ها، ترکیباتی لیپوفیل هستند که به آسانی جذب گیاه می‌شوند و می‌توانند تا حد سمی شدن درون گیاه انباشته شوند؛ مگر اینکه روش‌های مؤثر سمیتزدایی وجود داشته باشد. به طور کلی پاسخ‌های گیاه به حضور

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: norasteh@guilan.ac.ir

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

زنوبیوتیک‌ها در محیط به مرحله نموی، سن و وضعیت تغذیه‌ای گیاه وابسته است. تغییرات در پاسخ‌های روزنه‌ای، سطوح کلروفیل، فتوسنتز و محتوی متابولیت‌ها نیز ممکن است در نتیجه مواجهه با آلاینده‌ها رخ دهد. بنابراین پس از نفوذ آلاینده‌های محیطی به سلول گیاه، تغییرات ساختاری و عملکردی مشخصی در آن رخ خواهد داد (Kvesitadze *et al*., 2006).

ماده رنگ‌زای "آبی اسیدی۹۲" از گروه رنگ‌های مونوآزو و از دسته رنگ‌های آنیونی است که در رنگرزی ابریشم، پشم، کاغذ و چرم کاربرد دارد و در ایران نیز جزء مواد رنگ‌زای پرمصرف می‌باشد. مواد رنگ‌زای آزو از مشتقات هیدروکربن‌های آروماتیک، بنزن، تولوئن، نفتالن، فنل و آنیلین هستند (Puvaneswari *et al*., 2006). این گروه از زنوبیوتیک‌ها به دلیل وجود پیوند آزو (-N=N-) در برابر گرما، نور و عوامل اکسیدکننده پایدار بوده و تجزیه آن‌ها به سختی صورت می‌گیرد.

گیاه *Ceratophyllum demersum* از خانواده *Ceratophyllaceae* گیاهی دولپه‌ای، چندساله، غوطه‌ور با ساقه‌های معلق است که ساقه‌های منشعب آن واجد برگ‌های سبز زیتونی چند شاخه با آرایش فراهم هستند. گیاه سراتوفیلوم اصولاً فاقد ریشه است و به صورت آزادانه در زیر سطح آب غوطه‌ور می‌باشد. گل‌ها به صورت غوطه‌ور در پایه برگ‌ها ظاهر می‌شوند، به‌طوری‌که مشاهده آن‌ها نسبتاً دشوار است. در این گیاه میوه به‌ندرت تولید می‌شود. میوه کوچک به طول ۴ تا ۷ میلی‌متر، سخت، تخم‌مرغی شکل و دارای ۳ رشته به طول ۱۲ میلی‌متر می‌باشد (Aravind and Prasad, 2005).

تاکنون درباره تأثیر مواد رنگ‌زا بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه *سراتوفیلوم* مطالعه‌ای صورت نگرفته است و تنها محدود به توانایی این گیاه در پالایش مواد رنگ‌زای Congo Red (Halbus, 2017) و Basic Blue 41 (Keskinkan and Goksu, 2007) می‌باشد. حتی بررسی‌ها در زمینه سمیت مواد رنگ‌زا بر گیاهان آبزی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گروه از گیاهان نیز محدود می‌باشد. اثرات مضر ماده رنگ‌زای آبی اسیدی۹۲ بر گیاهان آبزی موارد متعددی از جمله کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در *Nasturtium officinale* (Torbati et al., 2015)، *Azolla filiculoides* (Khataee *et al*., 2013) و *Hydrocotyle vulgaris* (Vafaei *et al*., 2013)، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان آبزی *Hydrilla verticilla* تحت تاثیر رنگ *Basic Violet14* و گیاه *Elodea canadensis* در معرض رنگ *Crystal Violet* (Torok *et al*., 2017) و همچنین مهار رشد و تغییر در ساختار جلبک *Selenastrum capricornutum* (Novotný *et al*., 2006) مشاهده شده است.

هدف از این پژوهش بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه *Ceratophyllum demersum* در حضور ماده رنگ‌زای آبی اسیدی۹۲ است. در این راستا محتوای برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر پایه درصد پاک‌سازی رادیکال آزاد DPPH و شدت تنش اکسیداتیو وارد شده بر اساس غلظت مالون دی آلدِئید در حضور ۳ غلظت از آبی اسیدی۹۲ و در یک دوره تیماردهی ۷ روزه در گیاه مذکور مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاه آبزی *سراتوفیلوم* از تالاب سوستان در لاهیجان (N, 50º 0' 14" E, 37º 12' 26") جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها پس از شستشو و ضدعفونی با محلول NaClO ۰/۵ درصد، به ظروف پلاستیکی حاوی محیط کشت هوگلند ۱۰ درصد (Nichols *et al*., 2000) انتقال داده شدند. گیاهان در شرایط دمایی ^{o}C ۲ ± ۲۵ و دوره روشنایی- تاریکی ۸/۱۶ ساعت در آزمایشگاه نگهداری شدند و پس از یک هفته تیماردهی اعمال گردید (Movafeghi *et al*., 2016). رنگ صنعتی آبی اسیدی۹۲ ($C_{26}H_{16}N_3Na_3O_{10}S_3$) ، جرم مولکولی ۶۹۵/۵۹) از شرکت الوان ثابت (ایران) خریداری شد. جهت آنالیز شاخص‌های فیزیولوژیکی ۴ گرم از نمونه گیاهی در ظروف پلاستیکی حاوی ۱۰۰۰ میلی لیتر محلول غذایی حاوی سه غلظت رنگ آبی اسیدی ۹۲ (۰، ۱۰، ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) نگهداری شد (شکل ۱). پس از ۷ روز تیماردهی، نمونه‌ها جمع‌آوری گردید و تا زمان انجام آنالیزهای فیزیولوژیکی در دمای ^{o}C ۷۰- نگهداری شد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

شکل ۱. گیاه *سراتوفیلوم* تحت تیمار با رنگ آبی اسیدی۹۲

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (انواع کلروفیل و کاروتنوئید کل)، ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تر گیاه در استون۸۰ درصد هموژنیزه شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ °C قرار گرفتند و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۵۰۰ rpm سانتریفیوژ (Sigma 1-14، ساخت آمریکا) شدند. جذب روشناور در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و۶۶۲ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (مدلCamSpec M501 Single Beam UV/Visible، ساخت انگلستان) خوانده شد. مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر مبنای روش Lichtenthaler (۱۹۸۳) تعیین و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

$$\text{Chlorophylla} = (12.25\ A_{662} - 2.79\ A_{645})$$

$$\text{Chlorophyll.b} = (21.50\ A_{645} - 5.1\ A_{662})$$

$$\text{TotalChlorophyll} = \text{Chl.a} + \text{Chl.b}$$

$$\text{Total Carotenoid} = (1000\ A_{470} - 1.82\ \text{Chl.a} - 85.02\ \text{Chl.b}) / 198$$

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشا

میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، بر اساس غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) اندازه‌گیری شد. به همین منظور ۵۰۰ میلی‌گرم بافت تر گیاه با تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱ درصد هموژنیزه شد. عصاره به‌دست آمده به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۵۰۰rpm سانتریفیوژ شد. سپس به آن محلول TCA ۲۰ درصد حاوی تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵درصد اضافه شد. مخلوط حاصل ابتدا در حمام آب با دمای ۱۰۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد و سپس بلافاصله بر روی یخ سرد گردید. پس از سانتریفیوژ در ۴۵۰۰ rpm به مدت ۷ دقیقه و جداسازی روشناور، جذب کمپلکس MDA+TBA موجود در آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی $mmol^{-1}cm^{-1}$ ۱۵۵ استفاده شد و در نهایت مقدار MDA برحسب میکرو مول در گرم وزن تر محاسبه شد (Heath and Packer, 1968).

$$C_{MDA\ (\mu mol/gFW)} = A / \varepsilon B$$

$$A = A_{600} - A_{532}$$

C: غلظت مالون دی‌آلدئید، A_{600}: جذب آلدئیدهای غیراختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر، A_{532}: جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر، B: عرض کووت (۱ سانتی‌متر)، ε : ضریب خاموشی ($Cm^{-1}mmol^{-1}$ ۱۵۵).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

سنجش غلظت گلیکوزید سیانیدین

برای سنجش گلیکوزید سیانیدین، ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از وزن تر گیاه در متانول اسیدی (شامل متانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) هموژنیزه شد. پس از آن عصاره‌ی حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و جذب روشناور در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت گلیکوزید سیانیدین از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ $cm^{-1}mol^{-1}$ استفاده شد. غلظت گلیکوزید سیانیدین بر حسب میکرومول در گرم وزن تر و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Wagner, 1979).

$$C_{(\mu mol/gFW)} = A / \varepsilon B$$

C: غلظت گلیکوزید سیانیدین، A: جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر، B: عرض کووت (۱ سانتی‌متر) ، ε : ضریب خاموشی ($Cm^{-1}mmol^{-1}$ ۳۳۰۰۰)

سنجش توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد

توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد بر اساس توانایی دهندگی الکترون عصاره در جهت پاک‌سازی رادیکال آزاد DPPH (۲ و۲-دی‌فنیل-۱- پیکریل‌هیدرازیل) اندازه‌گیری شد (Sampath and Vasathi, 2013). مخلوط واکنش شامل عصاره‌ی متانولی و محلولی اتانولی DPPH (۰/۱میکرومولار) بود. پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، جذب محلول اتانولی بنفش رنگ DPPH فاقد عصاره گیاهی در طول موج ۵۱۷ نانومتر به‌عنوان محلول کنترل در مقابل متانول ۸۰ درصد به‌عنوان بلانک سنجش شد. با استفاده از رابطه‌ی زیر، درصد پاک‌سازی رادیکال آزاد DPPH محاسبه گردید.

$$DPPHsc\% = \frac{(A0 - A1)}{A0} \times 100$$

A_0: میزان جذب کنترل، A_1: میزان جذب نمونه

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پسا آزمون دانکن انجام شد. انحراف از میانگین داده‌ها به وسیله خطای استاندارد (SE) نشان داده شد. برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزارSPSS (نسخه ۲۱) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel استفاده شد.

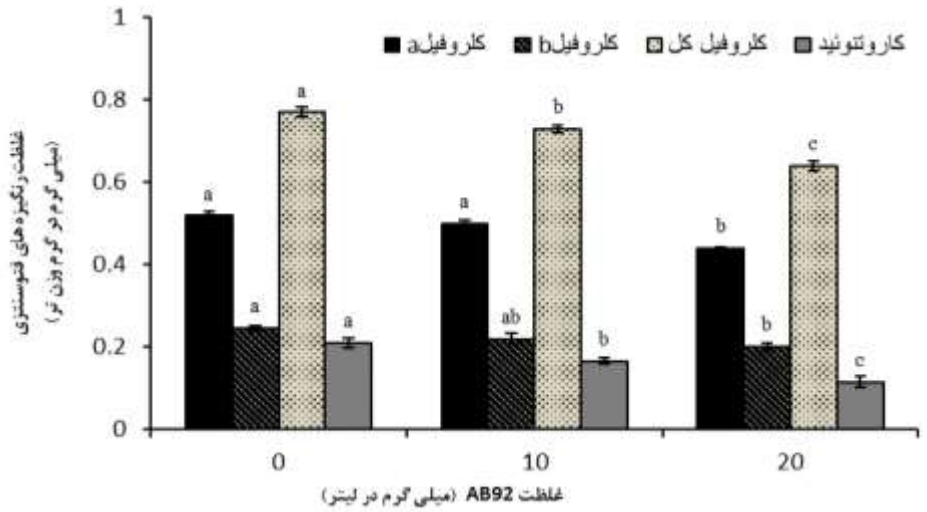
نتایــج

تأثیر رنگ آبی اسیدی ۹۲ بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی

تأثیر غلظت‌های مختلف رنگ آبی اسیدی۹۲ بر غلظت کلروفیل a در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار کلروفیل a تنها در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگ نسبت به شاهد، ۱۵/۳۸ درصد کاهش نشان داد (شکل ۲). با افزایش غلظت رنگ مقدار کلروفیل b کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین کاهش به میزان ۱۸ درصد در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۲). نتایج مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف رنگ آبی اسیدی ۹۲ بر کلروفیل کل نشان داد که با افزایش غلظت رنگ، غلظت کلروفیل کل به صورت معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، غلظت کلروفیل کل به مقدار ۵/۱۹ درصد و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، ۱۶/۸۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲). با افزایش غلظت رنگ، غلظت کاروتنوئید کل کاهش معنی‌داری یافت. به‌طوری‌که در غلظت ۱۰میلی‌گرم در لیتر، غلظت کاروتنوئید کل به میزان ۲۱/۴ درصد و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، ۴۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

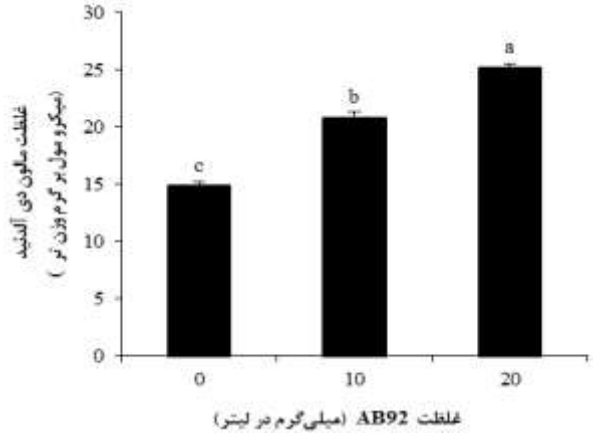
[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]



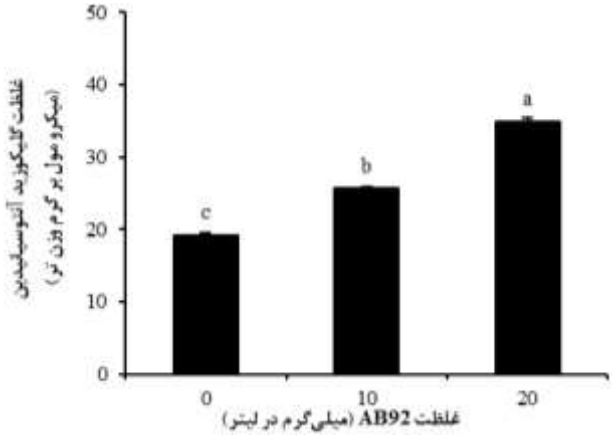
شکل ۲. غلظت کلروفیل a ،کلروفیل b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید کل در گیاه *C. demersum* تیمارشده با غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر رنگ آبی اسیدی ۹۲ به مدت ۷ روز (میانگین ± خطای استاندارد؛ n = ۳). مقایسه میانگین بین داده‌های هر پارامتر به‌صورت جداگانه انجام شده است. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p \leq ۰/۰۵$).

تأثیر رنگ آبی اسیدی۹۲ بر پراکسیداسیون لیپید

میزان آسیب اکسیداتیو بر پایه غلظت مالون دی آلدئید(MDA) به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپید محاسبه گردید. غلظت MDA در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگ به میزان ۳۹/۹ درصد و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۹/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳).



شکل ۳. غلظت مالون دی آلدئید در گیاه *C. demersum* تیمارشده با غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر رنگ آبی اسیدی۹۲ به مدت ۷ روز (میانگین ± خطای استاندارد؛ n = ۳).حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p \leq ۰/۰۵$).



شکل ۴. غلظت گلیکوزید آنتوسیانیدین در گیاه *C. demersum* تیمارشده با غلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر رنگ آبی اسیدی۹۲ به مدت ۷ روز (میانگین ± خطای استاندارد؛ n = ۳). حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p \leq ۰/۰۵$).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

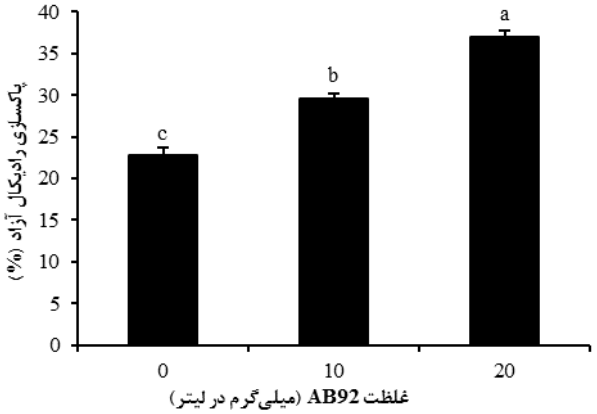
[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

تأثیر رنگ آبی اسیدی۹۲ بر غلظت گلیکوزید آنتوسیانیدین

با افزایش غلظت رنگ آبی اسیدی۹۲ مقدار گلیکوزید آنتوسیانیدین افزایش یافت. به نحوی‌که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگ مقدار گلیکوزید آنتوسیانیدین ۳۳/۶ درصد و در غلظت۲۰ میلی‌گرم در لیتر، ۸۱/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (شکل ۴).

تأثیر رنگ آبی اسیدی۹۲ بر توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد

با افزایش غلظت رنگ، توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد گیاه افزایش یافت. به‌طوری‌که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگ به میزان ۶/۸۸ درصد و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به میزان ۱۴/۲۹درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (شکل ۵).



شکل ۵. توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد در گیاه *C. demersum* تیمارشده با غلظت‌های۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر رنگ آبی اسیدی۹۲ به مدت ۷ روز (میانگین ± خطای استاندارد؛ n = ۳). حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p \leq ۰/۰۵$).

جدول ۱. همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده در گیاه آبزی *Ceratophyllum demersum*

	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	MDA	گلیکوزید آنتوسیانیدین	پاک‌سازی رادیکال آزاد
کلروفیل a	۱	۰/۶۸۸*	۰/۹۵۱**	۰/۸۳۷**	-۰/۸۸۰**	-۰/۹۴۳**	-۰/۹۱۷**
کلروفیل b	۰/۶۸۸*	۱	۰/۸۶۶**	۰/۵۵۱	-۰/۷۷۳*	-۰/۷۸۱*	-۰/۶۷۱*
کلروفیل کل	۰/۹۵۱**	۰/۸۶۶**	۱	۰/۷۹۲*	-۰/۹۱۳**	-۰/۹۶۰**	-۰/۸۹۶**
کاروتنوئید کل	۰/۸۳۷**	۰/۵۵۱	۰/۷۹۲*	۱	-۰/۸۹۷**	-۰/۹۲۷**	-۰/۹۴۲**
MDA	-۰/۸۸۰**	-۰/۷۷۳*	-۰/۹۱۳**	-۰/۸۹۷**	۱	۰/۹۶۹**	۰/۹۷۴**
گلیکوزید آنتوسیانیدین	-۰/۹۴۳**	-۰/۷۸۱*	-۰/۹۶۰**	-۰/۹۲۷**	۰/۹۶۹**	۱	۰/۹۷۳**
پاک‌سازی رادیکال آزاد	-۰/۹۱۷**	-۰/۶۷۱*	-۰/۸۹۶**	-۰/۹۴۲**	۰/۹۷۴**	۰/۹۷۳**	۱

**همبستگی در سطح ۰/۰۱، * همبستگی در سطح ۰/۰۵

همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده *Ceratophyllum demersum*

نتایج حاصل از همبستگی بین پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه آبزی *Ceratophyllum demersum* در جدول ۱ نشان داده شده است. بین کلروفیل a با کلروفیل کل و کاروتنوئید کل همبستگی مثبت در سطح ۱ درصد و با کلروفیل b همبستگی مثبت در

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

سطح ۵ درصد وجود داشت. میان پراکسیداسیون لیپید با گلیکوزید آنتوسیانیدین و پاک‌سازی رادیکال آزاد همبستگی مثبت در سطح ۱ درصد و با کلروفیل a و کلروفیل کل و کاروتنوئید کل همبستگی منفی در سطح ۱ درصد مشاهده شد. میان محتوای کلروفیلb با غلظت MDA،گلیکوزید آنتوسیانیدین و پاک‌سازی رادیکال آزاد همبستگی منفی در سطح ۵ درصد وجود داشت.

بحث

بر اساس نتایج این مطالعه غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ماده رنگ‌زای آبی اسیدی۹۲ موجب کاهش کلروفیل a، کلروفیلb و کلروفیل کل در گیاه *سراتوفیلوم* شد، ولی غلظت پایین ماده رنگ‌زای آبی اسیدی۹۲ تغییر معنی‌داری در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی ایجاد نکرد. این احتمال وجود دارد که غلظت۲۰ میلی‌گرم در لیتر رنگ آبی اسیدی۹۲، با تولید و تجمع بیشتر رادیکال‌های آزاد، آسیب بیشتری به دستگاه فتوسنتزی رسانده و در نتیجه موجب کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است، البته این موضوع می‌تواند یک پاسخ حفاظتی به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در کلروپلاست نیز باشد (Santabarbara *et al*., 2013). همچنین با افزایش غلظت رنگ، میزان کاروتنوئید کل نیز کاهش یافت. مطالعات پیشین نشان داده است که کلروفیل‌ها ناپایدارتر از کاروتنوئیدها می‌باشند و به راحتی توسط اکسیژن یکتایی حاصل از فتوسنتز مورد تجزیه اکسیداتیو قرار می‌گیرند (Weinberg *et al*., 2003). با شدت یافتن تنش و کاهش کاروتنوئید کل، کاهش کلروفیل مشاهده شد و بین این دو پارامتر همبستگی مثبت مشاهده شد. بنابراین می‌توان اظهار داشت که احتمالاً در چنین شرایطی *سراتوفیلوم* امکان استفاده از این آنتی‌اکسیدان را در حفاظت از متابولیسم و به ویژه تجهیزات فتوسنتزی در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن از دست می‌دهد. کاروتنوئیدها می‌توانند به سرعت انرژی حاصل از برانگیختگی کلروفیل تریپلت را دریافت کرده و در نتیجه مانع از تشکیل اکسیژن یکتایی شده و از کلروفیل در برابر تجزیه اکسیداتیو محافظت کنند (Ogawa *et al*., 2015; BoÈger, 1996). افزایش رنگ آبی اسیدی۹۲ اثر مشابهی بر غلظت کاروتنوئید گیاهان آبزی *Nasturtium officinale* (Torbati *et al*., 2015) و *Azolla filiculoides* (Khataee *et al*., 2013) نشان داد. کاهش کاروتنوئید در گیاه *سراتوفیلوم* تحت تیمار flurochloridoneقبلاً گزارش شده است (Zhou *et al*., 2020).

همچنین با افزایش غلظت رنگ، شدت پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه افزایش یافت و بین غلظت MDA با غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئید کل، همبستگی منفی در سطح یک درصد به ترتیب به میزان R= 0.913 و R= 0897 مشاهده شد. اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه مستعد حملات گونه‌های فعال اکسیژن هستند که حاصل آن تولید قطعات هیدروکربنی کوچک مانند کتون‌ها و مالون‌دی‌آلدئید است به همین دلیل مالون دی‌آلدئید شاخص پراکسیداسیون لیپیدها به‌حساب می‌آید. پراکسیداسیون لیپیدها با کاهش سیالیت غشا و افزایش نشت مواد، به سلول آسیب وارد می‌کند (Gill and Tuteja, 2010). تحقیقات نشان داده است که پراکسیداسیون لیپیدها باعث تغییر در دستگاه فتوسنتزی و تنفسی گیاه می‌شود (Bhattacharjee, 2012) که کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در این پژوهش نیز این موضوع را تأیید کرد. نتایج مشابه در تیمار گیاهان آبزی *Azolla filiculoides* (Khataee *et al*., 2013) و گیاه *Nasturtium officinalle* (Torbati *et al*., 2015) در معرض رنگ آبی اسیدی۹۲ و در گیاه *Spirodela polyrrhiza* در معرض ماده رنگ‌زای Direct Blue92 مشاهده شد (Movafeghi *et al*., 2016). همچنین افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در تیمار گیاه *سراتوفیلوم* با فلزات سنگین کادمیوم، سرب و روی نیز مشاهده شده است (Mishra *et al*., 2006, 2008; Hak *et al*., 2020).

در این پژوهش، بررسی روند تغییرات گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها در گیاه *سراتوفیلوم* نشان داد که با افزایش شدت تنش و افزایش غلظت مالون دی آلدئید، محتوای گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها ارتقا یافت، به طوری که بین این آنتی‌اکسیدان و غلظت مالون دی آلدئید همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح یک درصد (R=۰/969) مشاهده شد. گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها یکی از مؤثرترین پاک‌کننده‌ها برای بیشتر انواع مولکول‌های اکسیدکننده از جمله رادیکال‌های آزاد می‌باشند (Kong *et al*., 2003).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

مطالعات پیشین نشان داده است که گلیکوزید آنتوسیانیدین‌های تولید شده در گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آلفاتوکوفرول دارند (El-Alfy *et al*., 2005).

در مطالعه حاضر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد مشاهده شد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها رخ داده باشد. بین توانایی پاک‌سازی رادیکال آزاد با غلظت گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح یک درصد (R=0/973) مشاهده شد. به نظر می‌رسد حضور رنگ آبی اسیدی ۹۲ در محیط کشت گیاه باعث بروز تنش اکسیداتیو گردیده است و گیاه مذکور با بالا بردن سیستم دفاع اکسیدانی سعی در تخفیف تنش وارد شده داشته است و افزایش فعالیت پاک‌کنندگی رادیکال آزاد مؤید این موضوع است.

بر پایه نتایج این مطالعه هر دو غلظت به‌کار رفته در این پژوهش باعث ایجاد اثرات منفی بر پارامترهای رشدی گیاه گشته و از طریق تنش اکسیداتیو باعث ناپایداری غشای گیاه آبزی *Ceratophyllum demersum* شده است اما شدت آسیب‌ها در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بسیار بیشتر بوده و نشان می‌دهد که این گیاه توانایی تحمل شرایط تنش در غلظت‌های بالای رنگ آبی اسیدی ۹۲ را ندارد.

منابــع

Ali, H. 2010. Biodegradation of synthetic dyes—a review. Water, Air, & Soil Pollution. 213(1-4): 251-273.

Aravind, P., Prasad, M.N.V. 2005. Cadmium-zinc interactions in a hydroponic system using *Ceratophyllum demersum L.*: adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17(1): 3-20.

Bhattacharjee, S. 2012. The language of reactive oxygen species signaling in plants. Journal of Botany. 2012: 985298.

BoÈger, P. 1996. Mode of action of herbicides affecting carotenogenesis. Journal of Pesticide Science. 21: 473-478.

Croce, R., Cinà, F., Lombardo, A., Crispeyn, G., Cappelli, C.I., Vian, M., Baderna, D. 2017. Aquatic toxicity of several textile dye formulations: acute and chronic assays with *Daphnia magna* and *Raphidocelissu bcapitata*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 144: 79-87.

El-Alfy, A.T., Ahmed, A.A., Fatani, A.J. 2005. Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. Pharmacological Research. 52(3): 264-270.

Gill, S.S., Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48(12): 909-930.

Hak, K., Ritchie, R.J., Dummee, V. 2020. Bioaccumulation and physiological responses of the Coontail, *Ceratophyllum demersum* exposed to copper, zinc and in combination. Ecotoxicology and Environmental Safety. 189: 110049.

Halbus, A.F., Salman, J.M., Lafta, A.J., Athab, Z.H., Hasan, F.M., Kamil, A.M., Hussein, F.H. 2017. Equilibrium, isotherms and thermodynamic studies of Congo red adsorption onto *Ceratophyllum demersum*. Indian Journal of Chemical Technology. 24: 82-87.

Heath, R.L., Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125(1): 189-198.

Kant, R. 2012. Textile Dyeing Industry an Environmental Hazard. Natural Science. 4(1): 22-26.

Keskinkan, O., LugalGöksu, M.Z. 2007. Assessment of the dye removal capability of submersed aquatic plants in a laboratory-scale wetland system using ANOVA. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 24(2): 193-202.

Khataee, A.R., Movafeghi, A., Vafaei, F., SalehiLisar, S.Y., Zarei, M. 2013. Potential of the aquatic fern *Azolla filiculoides* in biodegradation of an azo dye: modeling of experimental results by artificial neural networks. International Journal of Phytoremediation. 15(8): 729-742.

Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry. 64(5): 923-933.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]

Kvesitadze, G., Khatisashvili, G., Sadunishvili, T., Ramsden, J.J. 2006. Biochemical Mechanisms of Detoxification in Higher Plants: Basis of Phytoremediation. Springer Science & Business Media. 245 p.

Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions. 11: 591-592.

Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Dwivedi, S., Shukla, M.K. 2008. Response of antioxidant enzymes in coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) plants under cadmium stress. Environmental Toxicology: An International Journal. 23(3): 294-301.

Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S., Gupta, D.K. 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum L.*) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. Chemosphere. 65(6): 1027-1039.

Movafeghi, A., Khataee, A.R., Moradi, Z., Vafaei, F. 2016. Biodegradation of direct blue 129 diazo dye by *Spirodela polyrrhiza*: an artificial neural networks modeling. International Journal of Phytoremediation. 18(4): 337-347.

Novotný, Č., Dias, N., Kapanen, A., Malachová, K., Vándrovcová, M., Itävaara, M., Lima, N. 2006. Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo-and anthraquinone dyes. Chemosphere. 63(9): 1436-1442.

Nichols, P.B., Couch, J.D., Al-Hamdani, S.H. 2000. Selected physiological responses of *Salvinia minima* to different chromium concentrations. Aquatic Botany. 68(4): .313-319.

Ogawa, H., Yamada, I., Arai, K., Hirase, K., Moriyasu, K., Schneider, C., Sandmann, G., Böger, P., Wakabayashi, K. 2015. Mode of bleaching phytotoxicity of herbicidal diphenylpyrrolidinones. Pest Management Science. 57(1): 33-40.

Ogugbue, C.J., Sawidis, T. 2011. Bioremediation and detoxification of synthetic wastewater containing Triarylmethane dyes by *Aeromona shydrophila* isolated from industrial effluent. Biotechnology Research International. 2011: 967925.

Puvaneswari, N., Muthukrishnan, J., Gunasekaran, P. 2006. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. Indian Journal of Experimental Biology. 44(08): 618-626.

Sampath, M., Vasanthi, M. 2013. Isolation, structural elucidation of flavonoids from *Polyathia longifolia* (Sonn.) thawaites and evaluation of antibacterial, antioxidants, and anticancer potential. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 5(1): 336-341.

Santabarbara, S., Casazza, A.P., Ali, K., Economou, C.K., Wannathong, T., Zito, F., Purton, S. 2013. The requirement for carotenoids in the assembly and function of the photosynthetic complexes in *Chlamydomonas reinhardtii*. Plant Physiology. 161(1): 535-546.

Torbati, S., Movafeghi, A., Khataee, A.R. 2015. Biodegradation of CI Acid Blue 92 by *Nasturtium officinale*: study of some physiological responses and metabolic fate of dye. International Journal of Phytoremediation. 17(4): 322-329.

Torok, A., Nagy, B., Tonk, S., Buta, E., Szep, R., Majdik, C., Niculae, A.G. 2017. Crystal Violet Dye Removal from Aqueous Solutions Using *Elodea canadensis* as Biofilter. Revista de Chimie. 68(10): 2270-2275.

Vafaei, F., Movafeghi, A., Khataee, A. 2013. Evaluation of antioxidant enzymes activities and identification of intermediate products during phytoremediation of an anionic dye (CI Acid Blue 92) by pennywort (*Hydrocotyle vulgaris*). Journal of Environmental Sciences. 25(11): 2214-2222.

Vaiano, V., Iervolino, G., Sannino, D., Rizzo, L., Sarno, G., Ciambelli, P., Isupova, L.A. 2015. Food azo-dyes removal from water by heterogeneous photo-Fenton with LaFeO 3 supported on honeycomb *Corundum monoliths*. Journal of Environmental Engineering. 141(12): 40-53.

Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology. 64(1): 88-93.

Weinberg, T., Lalazar, A., Rubin, B. 2003. Effects of bleaching herbicides on field dodder (*Cuscutac ampestris*). Weed Science. 51(5): 663-670.

Zhou, J., Wu, Z., Yu, D., Yang, L. 2020. Toxicity of the herbicide flurochloridone to the aquatic plants *Ceratophyllum demersum* and *Lemna minor*. Environmental Science and Pollution Research. 27(4): 3923-3932.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2025-07-10]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1399.10.3.6.6]