



مقاله پژوهشی

تاثیر ماده رنگزای صنعتی BR46 در القا تنش اکسیداتیو و بررسی توانایی پالایش زیستی آن توسط سرخس آبزی *Salvinia natans*

ناهید شریفی^۱، زهرا افتخاری^۱، اکبر نورسته‌نیا^۲، زهرا مسعودیان^{۳*}

تاریخ دریافت: اسفند ۹۸

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۹۹

چکیده

مواد رنگزای آزو مهم‌ترین و پرکاربردترین ترکیبات رنگزای مورد استفاده در صنایع مختلف هستند. این گروه از آلاینده‌ها برای حیات آبزیان تهدید به شمار می‌آیند. در مطالعه حاضر تاثیر سه غلظت مختلف (۲۰، ۱۰، ۰) میلی‌گرم در لیتر) از ماده رنگزای BR46 بر شاخص‌های فیزیولوژیک سرخس آبزی *Salvinia natans* در یک دوره تیماردهی ۷ روزه بررسی شد. همچنین توانایی پالایش زیستی این ماده توسط گیاه *S. natans* ارزیابی شد. بر اساس نتایج به دست آمده مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل بر خلاف کلروفیل b در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد کاهش یافت. غلظت کاروتنوئید کل در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به میزان ۷۲ درصد افزایش یافت. در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نرخ رشد نسبی و شاخص تاثیرپذیری به ترتیب کاهش و افزایش یافت. غلظت گلیکوزید سیانیدین، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت. بیشترین کارایی پالایش زیستی در روز هفتم تیماردهی و در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. به این ترتیب گیاه *S. natans* توانایی حذف ماده رنگزای BR46 از آب‌های آلوده را دارد، ولی حضور هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگ، القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خطر تنش اکسیداتیو را برای گیاه *S. natans* به دنبال دارد.

واژگان کلیدی: *Salvinia natans*، رنگ آزو، تنش اکسیداتیو، پالایش زیستی.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۳- دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: zahramasoodian@yahoo.com

مقدمه

مواد رنگزای مصنوعی به طور وسیعی در تکنولوژی‌های مختلف مانند صنایع نساجی، چرم‌سازی، تولید کاغذ، مواد غذایی، لوازم آرایشی و دارویی استفاده می‌شوند. سالانه بیش از ۱۰,۰۰۰ نوع ماده رنگزا با ظرفیت یک میلیون تن تولید می‌شوند (Tkaczyk et al., 2020). مواد رنگزا از نظر ساختار شیمیایی به انواع اسیدی، بازی، راکتیو، پراکنده، مونوآزو، دی‌آزو، آنتراکوئینون، فلزی، گوگردی، تری‌فنیل‌متان و فتالوسیانین طبقه‌بندی می‌شوند (Mcmullan et al., 2001). ماده رنگزای BR46 از گروه رنگ‌های مونوآزو و از دسته رنگ‌های کاتیونی است که در رنگرزی پشم، ابریشم، اکریلیک و پلی‌استر کاربرد فراوانی دارد (Khataee et al., 2010). بررسی‌ها نشان داده است که پساب‌های صنایع نساجی سالانه تقریباً حاوی ۲۸۰,۰۰۰ تن مواد رنگزا است که وجود حتی مقدار بسیار اندکی از آن‌ها (زیر ۱mg/L) در آب قابل مشاهده است (Maas and Chaudhari, 2005). حضور مواد رنگی شفافیت آب را تغییر می‌دهد و به دلیل جذب و بازتاب نور خورشید، از شدت نفوذ نور به داخل آب کاسته شده در نتیجه فتوسنتز آبزیان و مقدار اکسیژن محلول

در آب کاهش می‌یابد (Tkaczyk et al., 2020). پژوهش‌ها در زمینه تاثیر زنبیوتیک‌ها در گیاهان نشان داده است که بسیاری از آن‌ها ترکیباتی لیپوفیل هستند که به آسانی جذب گیاه می‌شوند و می‌توانند تا حد سمی شدن درون گیاه انباشته شوند، مگر این که روش‌های موثر سمیت‌زدایی وجود داشته باشد. به طور کلی پاسخ‌های گیاه به حضور زنبیوتیک‌ها در محیط، به مرحله‌های 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 (Kvesitadze et al., 2006). بررسی‌ها در زمینه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه *Salvinia* در حضور مواد رنگزا بسیار محدود است، از این رو در ادامه به اثرات سمی این آلاینده بر گیاهان آبی دیگر اشاره می‌شود. مطالعات نشان داده است که ماده رنگزای Basic Red 46 (BR46) موجب کاهش میزان رشد و تعداد گیاه در *Lemna minor* (Movafeghi et al., 2013) و *filiculoides* (Vafaei et al., 2012) و

- (Ahlawat et al., 2020)، نانوذره‌های کروی ZnO (Zafar et al., 2019)، روش‌های فتوکاتالیز اکسایشی به وسیله اکسیدکننده‌هایی مانند پراکسید هیدروژن، ازوناسیون و تجزیه نوری (Fathinia et al., 2010) اشاره کرد. بهره‌گیری از گیاهان برای حذف آلاینده‌ها از محیط‌های آبی روشی ایمن و سازگار با محیط زیست است و یک جایگزین مقرون به صرفه برای روش‌های فیزیوکوشیمیایی در پالایش به حساب می‌آید (Pilon-Smits, 2005).
- سرخس *Salvinia natans* متعلق به خانواده Salviniaceae از جمله سرخس‌های آبزی است که می‌تواند بخش‌های وسیعی از تالاب‌ها و آبراهه‌های آرام را اشغال کند. *Salvinia* در زمره گیاهان شناور آزاد (Free Floating) قرار می‌گیرد که به بستر آبی‌ها متصل نیست، بلکه به حالت شناور بر سطح آب‌ها زیست می‌کند (Singh and Kalamdhad, 2016). این گیاه به دلیل داشتن رشد سریع و قدرت جذب بالا در مطالعات پالایش زیستی متعددی استفاده شده است که از جمله می‌توان به توانایی این گیاه در حذف مواد رنگزا (Fagundes-Klen et al., 2012; Pelosi et al., 2013, 2014; Chandanshive et al., 2016; Neag et al., 2020) استفاده از نانوکامپوزیت‌های کربن‌دار (Torbati et al.,) *Nasturtium officinale* (2014) شده است. کاهش رنگی‌های فتوسنتزی در *Azolla filiculoides* (Vafaei et al., 2012) *Nasturtium officinale* (Torbati et al., 2014) و *Lemna minor* (Movafeghi et al., 2013) در حضور این ماده رنگزا نیز گزارش شده است. همچنین ماده رنگزای BR46 باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (POD) در *Hydrocotyle vulgaris* (Vafaei et al.,) (2013) و کاهش فعالیت CAT در *Lemna minor* (Movafeghi et al., 2013) شد. در مطالعات پیشین افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در *Azolla filiculoides* (Khataee et al.,) (2013) و عدم تغییر آن در *Hydrocotyle vulgaris* (Vafaei et al., 2013) تحت تیمار با ماده رنگزای AB19 و RB46 مشاهده شده است.
- به علت اهمیت این گروه از آلاینده‌ها مطالعات زیادی در زمینه روش‌های حذف آن‌ها از محیط‌های آبی صورت گرفته است که می‌توان به روش‌های فیزیوکوشیمیایی مانند استفاده از دانه‌های کیتوزان - ورمیکولایت (Senol et al.,) (2020)، استفاده از نانوکامپوزیت‌های کربن‌دار

منتقل شدند. محیط کشت هوگلند ۱۰ درصد شامل KNO_3 (۲۵/۲۸ میلی گرم در لیتر)، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (۲۴/۶۴ میلی گرم در لیتر)، KH_2PO_4 (۶/۸ میلی گرم در لیتر)، H_3BO_3 (۰/۲۸ میلی گرم در لیتر)، $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (۰/۰۰۵ میلی گرم در لیتر)، $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (۰/۸۰۱ میلی گرم در لیتر)، ZnCl_2 (۰/۱۰۴ میلی گرم در لیتر)، CuCl_2 (۰/۰۰۵۳ میلی گرم در لیتر)، Fe-EDTA (۱/۵ میلی گرم در لیتر)، $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (۵۹/۰۴ میلی گرم در لیتر) (Nichols et al., 2000) برای کشت *Salvinia natans* مورد استفاده قرار گرفت. گیاهان در شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی: تاریکی ۱۶:۸ ساعت در آزمایشگاه نگهداری شدند و سپس تیماردهی اعمال شد. برای این آزمایش از رنگ صنعتی Basic Red46 ($\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{BrN}$, BR46, C.I.110825، جرم مولکولی ۴۰۱/۳۱ گرم بر مول) (الوان ثابت، ایران) استفاده شد. برای سنجش شاخص‌های فیزیولوژیکی، ۴ گرم از نمونه گیاهی در ظروف پلاستیکی حاوی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محلول غذایی حاوی سه غلظت رنگ (۰، ۱۰، ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۷ و دوره روشنایی: تاریکی ۸:۱۶) نگهداری شد.

(2018; Perez-Morales et al., 2019; Rahman et al., 2008; Dhir and Srivastava, 2011; Sitarska et al., 2016)، نیتروژن و فسفر از پساب‌های شهری (Kumari and Tripathi, 2014) اشاره کرد. هدف از این پژوهش بررسی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه *Salvinia natans* در حضور ماده رنگزای BR46 است. در این راستا محتوای برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت مالون دی‌آلدئید در حضور ماده رنگزای BR46 در گیاه مذکور مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین توانایی این گیاه در حذف BR46 ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

سرخس آبی *Salvinia natans* از تالاب سوستان در لاهیجان (37° و $50^\circ 0' 14'' \text{N}$ و $12' 26'' \text{E}$) جمع‌آوری شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا با آب شهر کاملاً شسته شدند، سپس برای ضد عفونی شدن به مدت دو دقیقه در محلول ۰/۵ درصد NaClO قرار گرفتند و در ادامه با آب شهری و نهایتاً با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به ظروف پلاستیکی با ظرفیت ۵ لیتر حاوی محیط کشت

پس از ۷ روز تیماردهی، نمونه‌ها جمع‌آوری و تا زمان انجام سنجش‌های فیزیولوژیکی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش رشد

به منظور سنجش رشد از نرخ رشد نسبی (RGR) بر پایه وزن تر گیاه استفاده شد. به این منظور در پایان روز بیستم تیماردهی، نمونه‌ها توسط ترازوی دیجیتال (AND-GF300، A&D Company، ژاپن) توزین و وزن نهایی ثبت شد. نهایتاً نرخ رشد نسبی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Radice et al., 2010).

رابطه ۱:

$$RGR (g/day) = (\ln W_f - \ln W_i) / t$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن ثانویه (گرم)؛ t : مدت زمان تیماردهی (روز).

سنجش شاخص تاثیرپذیری

شاخص تاثیرپذیری (EI) گیاه *Salvinia natans* در معرض غلظت‌های مختلف ماده رنگزا با استفاده از رابطه ۲ اندازه‌گیری شد (Forni et al., 2008).

رابطه ۲:

$$EI = 1 - TI$$

TI: شاخص تحمل.

در رابطه ۲ شاخص تحمل (TI) بر پایه تغییرات نرخ رشد نسبی در حضور ماده رنگزا نسبت به شرایط کنترل بر اساس رابطه ۳ محاسبه شد (Forni et al., 2008).

رابطه ۳:

$$TI = RGR_T / RGR_C$$

RGR_T: نرخ رشد نسبی در گیاه تحت تیمار (گرم در روز)؛ RGR_C: نرخ رشد نسبی در شرایط کنترل (گرم در روز).

سنجش رنگی‌های فتوسنتزی

به منظور اندازه‌گیری محتوای رنگی‌های فتوسنتزی (انواع کلروفیل و کاروتنوئید کل)، ۵۰۰ میلی‌گرم بافت تر گیاه در استون ۸۰ درصد هموژنیزه شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Sigma، 1-14، آمریکا) شد. جذب عصاره رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (M501 Single Beam UV/Visible، CamSpec، انگلستان) خوانده شد. در نهایت مقدار رنگی‌ها بر اساس روش Lichtenthaler and Wellburn (۱۹۸۳) با استفاده از رابطه‌های ۷-۴ تعیین و بر حسب میکروگرم در گرم وزن تر گزارش شد.

رابطه ۴:

$\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/g FW}) = 12.25 A_{662} - 2.79 A_{645}$
 A_{662} : جذب در طول موج ۶۶۲ نانومتر؛ A_{645} : جذب در طول موج ۶۴۵ نانومتر.

رابطه ۵:

$\text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/g FW}) = 21.50 A_{645} - 5.1 A_{662}$
 A_{645} : جذب در طول موج ۶۴۵ نانومتر؛ A_{662} : جذب در طول موج ۶۶۲ نانومتر.

رابطه ۶:

$\text{Total Chlorophyll } (\mu\text{g/g FW}) = \text{Chl a} + \text{Chl b}$
 Chl a : کلروفیل a؛ Chl b : کلروفیل b.

رابطه ۷:

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

A_{470} : جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر؛ Chl a : کلروفیل a؛ Chl b : کلروفیل b.

رابطه ۸:

۰/۵ درصد اضافه شد. مخلوط به دست آمده ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس بلافاصله در یخ سرد شد و به مدت ۷ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از جداسازی عصاره رویی 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 $1.55 \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ استفاده شد و در نهایت مقدار MDA برحسب میکرومول در گرم وزن تر بر اساس رابطه ۸ محاسبه شد (Heath and Packer, 1968).

$$C_{\text{MDA}} = A / \epsilon B$$

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

A_{600} : جذب آلدهیدهای غیراختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر؛ A_{532} : جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر؛ B: عرض کووت (۱ سانتی‌متر)؛ ϵ : ضریب خاموشی ($1.55 \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

سنجش غلظت گلیکوزید سیانیدین

برای سنجش گلیکوزید سیانیدین، ۵۰۰ میلی‌گرم وزن تر گیاه در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل متانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) همگن شد. سپس عصاره به

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشا

برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به عنوان محصول پراکسید شدن اسیدهای چرب غشا اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۵۰۰ میلی‌گرم بافت تر گیاه با تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱ درصد هموزنیزه شد. عصاره به دست آمده به مدت ۵ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به آن محلول TCA ۲۰ درصد حاوی تیوباربیتوریک اسید (TBA)

دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰,۰۰۰g سانتیفریوژ شد. جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت گلیکوزید سیانیدین از ضریب خاموشی $33300 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ استفاده شد و در نهایت غلظت گلیکوزید سیانیدین بر حسب $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ بیان شد (Wagner, 1979).

سنجش توانایی پاکسازی رادیکال آزاد

توانایی پاکسازی رادیکال آزاد بر اساس توانایی دهندگی الکترون عصاره در برای پاکسازی رادیکال آزاد (DPPH (۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) ارزیابی شد (Sampath and Vasanthi, 2013). مخلوط واکنش شامل ۳ میلی لیتر عصاره متانولی و یک میلی لیتر محلولی اتانولی DPPH (۱/۰ میکرومولار) بود. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. ابتدا جذب محلول اتانولی بنفش رنگ DPPH فاقد عصاره گیاهی در طول موج ۵۱۷ نانومتر به عنوان محلول شاهد در مقابل متانول ۸۰ درصد به عنوان بلانک سنجش شد و سپس جذب نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. با قرار دادن جذب مربوط به شاهد و نمونه در رابطه ۹، درصد پاکسازی رادیکال آزاد DPPH محاسبه شد.

رابطه ۹:

$$\text{DPPH}_{\text{Sc}} (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 : میزان جذب شاهد؛ A_1 : میزان جذب نمونه.

اندازه‌گیری کارایی پالایش ماده رنگزا

برای سنجش کارایی پالایش، ۴ گرم گیاه *Salvinia natans* در ظروف حاوی ۱۰۰۰ میلی لیتر محلول غذایی و دو غلظت رنگ BR46 (۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) به مدت ۷ روز نگهداری و غلظت رنگ در پایان روز اول، سوم، پنجم و هفتم با استفاده از منحنی استاندارد BR46 اندازه‌گیری شد. به این منظور، ابتدا طیف جذب ماده رنگزا در محدوده طول موج‌های ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری و ماکزیموم جذب در ماده رنگزای BR46 در طول موج ۵۳۰ نانومتر تعیین شد. سپس محلول‌های استاندارد ماده رنگزای BR46 در محدوده ۲۵-۵ میلی گرم در لیتر تهیه شد و جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری و نمودار کالیبراسیون رسم شد. میزان پالایش خالص ماده رنگزا در هر تیمار از تفاضل میزان پالایش در حضور گیاه و شرایط فاقد گیاه محاسبه شد. به منظور محاسبه درصد پالایش ماده رنگزا (BR_{BR46}) از رابطه ۱۰ استفاده شد (Vafaei et al., 2012).

رابطه ۱۰:

$$BR_{BR46}(\%) = [1 - (C_f / C_i)] \times 100$$

C_f : غلظت ماده رنگزا پس از تیماردهی (میلی گرم در لیتر)؛ C_i : غلظت اولیه ماده رنگزا وزن نهایی (میلی گرم در لیتر).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح کاملا 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 پس‌آزمون دانکن انجام شد. انحراف از میانگین داده‌ها به وسیله خطای استاندارد (SE) نشان داده شد. همبستگی بین داده‌ها با استفاده از آزمون همبستگی پیرسون بررسی شد. برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel استفاده شد.

نتایج

اثر رنگ BR46 بر نرخ رشد نسبی و شاخص

تاثیرپذیری

نرخ رشد نسبی (RGR) در گیاه *Salvinia*

natans در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در

لیتر ماده رنگزای BR46 نسبت به نمونه شاهد

کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). همچنین

در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از رنگ

شاخص تاثیرپذیری نسبت به نمونه شاهد

افزایش معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

تاثیر رنگ BR46 بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

غلظت کلروفیل a

تاثیر غلظت‌های مختلف رنگ BR46 بر

غلظت کلروفیل a در شکل ۱- الف نشان داده

شده است. مقدار کلروفیل a تنها در غلظت ۲۰

میلی‌گرم در لیتر از رنگ نسبت به شاهد کاهش

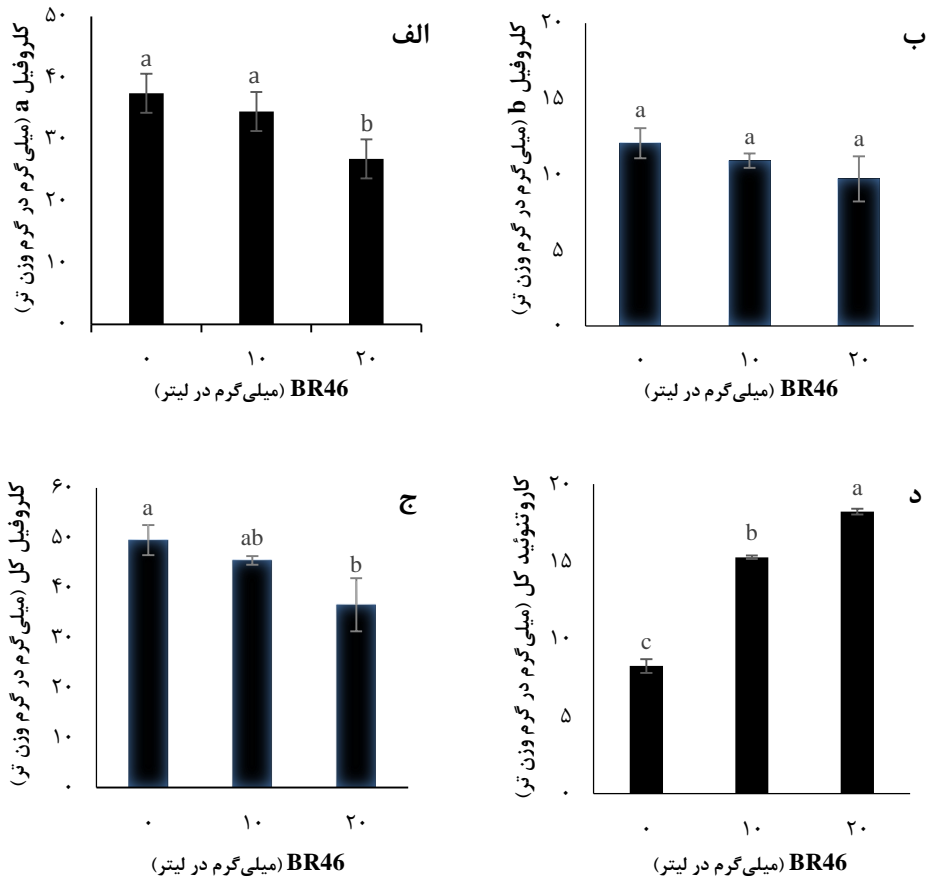
معنی‌داری نشان داد.

جدول ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف ماده رنگزای BR46 بر نرخ رشد نسبی و شاخص تاثیرپذیری در

Salvinia natans (میانگین \pm خطای استاندارد؛ n=۳)

شاخص تاثیرپذیری	نرخ رشد نسبی	غلظت BR46 (mg/L)
. ^c	۰/۰±۷/۰۳ ^a	۰
۰/۰±۵/۰۳ ^b	۰/۰±۵/۰۰۲ ^b	۱۰
۰/۰±۹/۰۵ ^a	۰/۰±۳/۰۰۴ ^c	۲۰

حروف متفاوت در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$).



شکل ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف رنگ BR46 بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *Salvinia natans*. الف) غلظت کلروفیل a، ب) غلظت کلروفیل b، ج) غلظت کلروفیل کل، د) غلظت کاروتنوئید کل (میانگین \pm خطای استاندارد؛ n=3). حروف مختلف نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

غلظت کلروفیل b

اگرچه با افزایش غلظت رنگ مقدار کلروفیل b کاهش یافت ولی تغییرات نسبت به شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۱-ب).

کلروفیل کل

نتایج مربوط به تاثیر غلظت‌های مختلف رنگ BR46 بر کلروفیل کل نشان داد که با افزایش غلظت رنگ میزان کلروفیل کل کاهش یافت. اگرچه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر،

پراکسیداسیون لیپید محاسبه شد. غلظت MDA در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر از رنگ ۱۵ درصد و در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر ۴۷ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$)؛ شکل ۲).

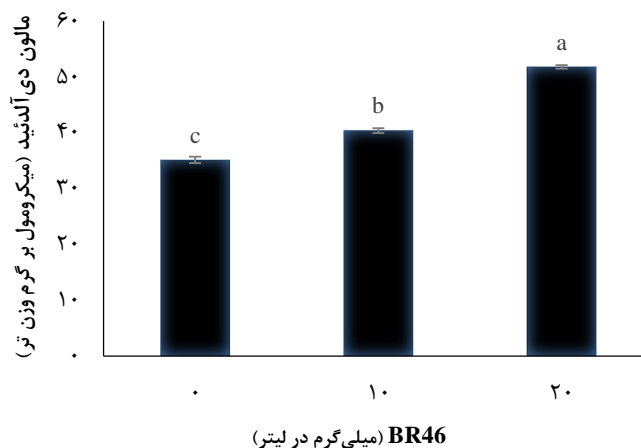
کاهش کلروفیل کل نسبت به شاهد معنی دار نبود ولی در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر، غلظت کلروفیل کل نسبت به شاهد ۳۵/۵ درصد کاهش یافت ($P < 0.05$)؛ شکل ۱-ج).

کاروتنوئید کل

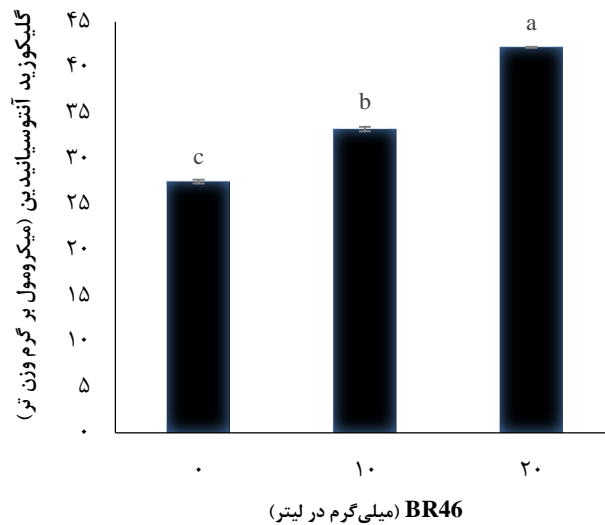
غلظت کاروتنوئید کل در هر دو غلظت به کار رفته از رنگ نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد، این افزایش در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر نسبت به نمونه شاهد به میزان ۱۲۰/۸۴ درصد بود ($P < 0.05$)؛ شکل ۱-د).

تاثیر رنگ BR46 بر غلظت گلیکوزید آنتوسیانیدین با افزایش غلظت رنگ BR46 مقدار گلیکوزید آنتوسیانیدین افزایش یافت. به نحوی که در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر از رنگ مقدار گلیکوزید آنتوسیانیدین ۲۱ درصد و در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر ۵۳ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد ($P < 0.05$)؛ شکل ۳).

تاثیر رنگ BR46 بر پراکسیداسیون لیپید میزان آسیب اکسیداتیو بر پایه غلظت مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان محصول



شکل ۲: تاثیر غلظت های مختلف BR46 بر غلظت MDA گیاه *Salvinia natans* (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف مختلف نشانگر وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).



شکل ۳: تاثیر غلظت‌های مختلف رنگ BR46 بر غلظت گلیکوزید آنتوسیانیدین گیاه *Salvinia natans* (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف مختلف نشانگر وجود اختلاف معنی دار است ($P<0/05$).

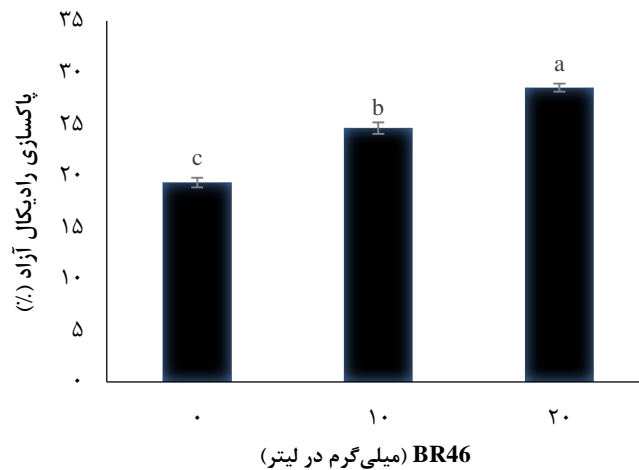
آبزی *Salvinia natans* در جدول ۲ نشان داده شده است. میان شاخص‌های کلروفیل a و کلروفیل b با کلروفیل کل همبستگی مثبت در سطح ۹۵ درصد وجود داشت. همچنین میان کاروتنوئید کل، گلیکوزید آنتوسیانیدین، MDA و توانایی پاکسازی رادیکال آزاد همبستگی مثبت در سطح ۹۵ درصد و میان MDA و کلروفیل a و کل همبستگی منفی و بین MDA با توانایی پاکسازی رادیکال آزاد، کاروتنوئید کل و گلیکوزید آنتوسیانیدین همبستگی مثبت در سطح ۹۹ درصد وجود داشت.

تاثیر رنگ BR46 بر توانایی پاکسازی رادیکال آزاد

با افزایش غلظت رنگ BR46 توانایی پاکسازی رادیکال آزاد گیاه افزایش یافت. به طوری که در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر از رنگ به میزان ۵/۳ درصد و در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر به میزان ۹/۱ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد ($P<0/05$; شکل ۴).

همبستگی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در *Salvinia natans*

نتایج به دست آمده از آزمون همبستگی پیرسون بین شاخص‌های فیزیولوژیکی سرخس



شکل ۴: تاثیر غلظت‌های مختلف BR46 بر توانایی پاکسازی رادیکال آزاد گیاه *Salvinia natans* (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف مختلف نشانگر وجود اختلاف معنی دار است ($P<0.05$).

جدول ۲: همبستگی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در سرخس آبی *Salvinia natans*

پاکسازی رادیکال آزاد	مالون دی‌آلدئید	گلیکوزید آنتوسیانیدین	کاروتنوئید کل	کلروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b	
-۰/۷۷۸*	-۰/۸۳۱**	-۰/۸۱۷**	-۰/۷۵۶*	۰/۹۷۶**	۰/۷۴۸*	۱	کلروفیل a
-۰/۴۱۶	-۰/۳۷۷	-۰/۳۹۷	-۰/۴۲۵	۰/۸۷۴**	۱	۰/۷۴۸*	کلروفیل b
-۰/۷۰۵*	-۰/۷۳۱*	-۰/۷۲۷*	-۰/۶۹۲*	۱	۰/۸۷۴**	۰/۹۷۶**	کلروفیل کل
۰/۹۶۹**	۰/۹۳۸**	۰/۹۳۱**	۱	-۰/۶۹۲*	-۰/۴۲۵	-۰/۷۵۶*	کاروتنوئید کل
۰/۹۵۷**	۰/۹۹۱**	۱	۰/۹۳۱**	-۰/۷۲۷*	-۰/۳۹۷	-۰/۸۱۷**	گلیکوزید آنتوسیانیدین
۰/۹۵۶**	۱	۰/۹۹۱**	۰/۹۳۸**	-۰/۷۳۱*	-۰/۳۷۷	-۰/۸۳۱**	مالون دی‌آلدئید
۱	۰/۹۵۶**	۰/۹۵۷**	۰/۹۶۹**	-۰/۷۰۵*	-۰/۴۱۶	-۰/۷۷۸*	پاکسازی رادیکال آزاد

*: همبستگی در سطح ۹۵ درصد ($P<0.05$); **: همبستگی در سطح ۹۹ درصد ($P<0.01$).

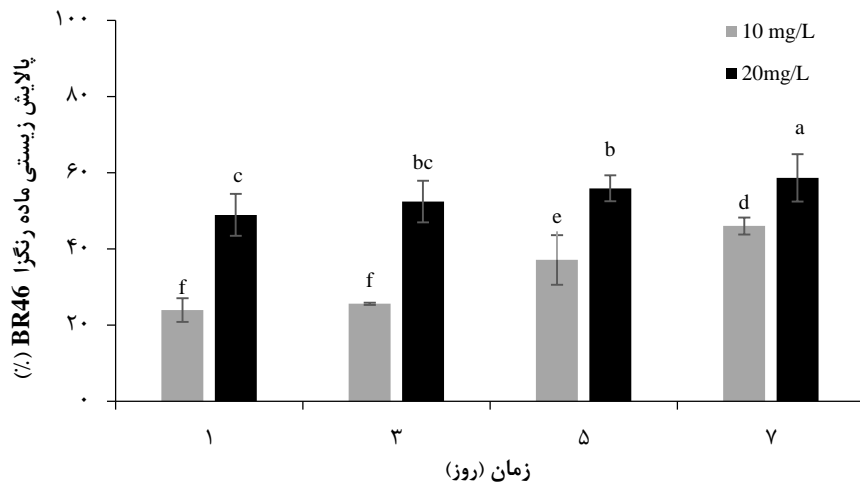
ماده رنگزا کاهش یافت. این امر می‌تواند در نتیجه کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و یا افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن رخ داده باشد. مطالعات پیشین نشان داده است که زنوبیوتیک‌های آلی و معدنی می‌توانند فرآیند پیری را تسریع و مرگ زودرس گیاهان را تحریک کنند. این موضوع می‌تواند یک واکنش دفاعی گیاه به شرایط استرس‌زای مداوم باشد، زیرا در این شرایط عوامل استرس‌زا در اندام‌های پیر ذخیره می‌شود و با جدا شدن این نواحی ترکیبات سمی از قسمت‌های زنده گیاه حذف می‌شوند (Parent et al., 2008). همچنین

بررسی میزان پالایش BR46 توسط گیاه *Salvinia natans*

بر اساس نتایج شکل ۵ میزان پالایش در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مقادیر بالاتری نشان داد و در هر دو غلظت به کار رفته از ماده رنگزا میزان پالایش با گذشت زمان افزایش یافت به طوری که بیشترین درصد پالایش در روز هفتم تیماردهی مشاهده شد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در گیاه *Salvinia natans* نرخ رشد نسبی در حضور



شکل ۵: تاثیر مدت تیماردهی بر درصد پالایش گیاه *Salvinia natans* (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف مختلف نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی به عنوان شاخص تنش‌های غیرزنده شناخته شده است (Hou et al., 2007; Appenroth et al., 2010). در این مطالعه غلظت کلروفیل a نسبت به کلروفیل b بیشتر تحت تاثیر تنش ناشی از حضور رنگ BR46 قرار گرفت. کاهش کلروفیل می‌تواند نتیجه تجزیه اکسیداتیو مستقیم رنگدانه باشد که منجر به از بین رفتن کمپلکس پروتئین-رنگدانه موجود در مراکز واکنش فتوسنتزی می‌شود (Movafeghi et al., 2016). تاثیرپذیری کمتر کلروفیل b نسبت به دیگر رنگیزه‌ها می‌تواند به دلیل اتصال قوی‌تر این رنگیزه با پروتئین‌های اطراف باشد (Ruban et al., 1999). همچنین در این مطالعه، افزایش غلظت کاروتنوئید کل در گیاه *S. natans* در هر دو غلظت رنگ مشاهده شد، مشابه تاثیری که رنگ BR46 بر میزان کاروتنوئید سرخس آبی *Azolla filiculoides* نشان داد (Vafaei et al., 2012). این امر موید نقش کاروتنوئیدها در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد و حفاظت از دستگاه فتوسنتزی در مقابل پراکسیداسیون لیپیدها است (Hegazy et al., 2017). اثر مهاری ماده رنگزای RB46 بر نرخ رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان آبی دیگر از جمله *Lemna*

Azolla minor (Movafeghi et al., 2013)، *filiculoides* (Vafaei et al., 2012)، *Nasturtium officinale* (Torbati et al., 2014) و *Hydrocotyle vulgaris* (Vafaei et al., 2013) گزارش شده است. همچنین کاهش در رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه *S. natans* در معرض مس و سرب قبلا مشاهده شد (Donatus, 2016).

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت رنگ شدت پراکسیداسیون لیپیدی غشاها در گیاه افزایش یافت. این یافته با مطالعات قبلی در زمینه افزایش MDA تحت تاثیر ماده رنگزای Direct Blue 129 (Movafeghi et al., 2016) و ماده رنگزای BR46 در *Azolla filiculoides* (Khataee et al., 2013) و *Hydrocotyle vulgaris* (Vafaei et al., 2013) مطابقت داشت. MDA محصول تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشاها سلولی است و افزایش آن نشان می‌دهد که گیاه تحت تنش اکسیداتیو قرار دارد (Gill and Tuteja, 2010). تجزیه لیپیدها می‌تواند به سیستم‌های فتوسنتز و تنفسی گیاه آسیب برساند و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را القا کند که متعاقبا باعث افزایش فعالیت سیستم

اکسیژن تولید شده با محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاه، استرس اکسیداتیو رخ داده است. مطالعه حاضر نشان داد که گیاه *S. natans* توانایی حذف BR46 از آب‌های آلوده را داشت به طوری که با افزایش غلظت اولیه رنگ BR46 درصد پالایش افزایش یافت. مطالعات پیشین نشان داده است با افزایش غلظت اولیه رنگ احتمال برخورد بین مولکول‌های رنگ و سطح گیاه زیاده‌تر می‌شود و نیروی محرک کافی برای غلبه بر مقاومت انتقال رنگ بین فازهای مایع و جامد ایجاد می‌شود که نهایتاً باعث ورود بیشتر ترکیب به داخل سلول می‌شود (Khataee et al., 2012). در پژوهش‌های پیشین نیز تاثیر مثبت افزایش غلظت مواد رنگزا در کارایی پالایش آن توسط گیاهان آبی گزارش شده است (Khataee et al., 2012; Torbati et al., 2016; Movafeghi et al., 2014). همچنین انتقال مواد آلی به داخل آپوپلاست ریشه در مراحل ابتدایی جذب به شیوه انتشار صورت می‌گیرد که در این صورت نرخ جذب مواد به طور مستقیم به غلظت ترکیبات موجود در محیط کشت بستگی دارد (Movafeghi et al., 2016). توانایی گیاه *S. natans* در پالایش مواد رنگزای مختلف در مطالعات پیشین نیز گزارش شده بود (Fagundes-Klen et al., 2016).

دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه شده که به عنوان یک پاسخ سازگار کننده به تنش به حساب می‌آید (Bhattacharjee, 2012). این وقایع بر اساس نتایج محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش کاروتنوئیدها و گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها تایید شد (شکل‌های ۱ و ۳).

قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط نامساعد محیطی باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود و سلول‌های گیاه و اندامک‌های آن برای محافظت از خود در برابر حدواسطه‌های سمی اکسیژن از سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Blokhina et al., 2003). در این پژوهش، با شدت یافتن تنش و زیاد شدن غلظت مالون دی‌آلدئید، محتوای گلیکوزید آنتوسیانیدین گیاه ارتقا یافت و به دنبال آن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مشاهده شد (شکل ۴). گلیکوزید آنتوسیانیدین‌ها یکی از موثرترین پاک‌کننده‌ها برای بیشتر انواع مولکول‌های اکسید کننده از جمله رادیکال‌های آزاد هستند (Kong et al., 2003). در مجموع این مطالعه نشان داد در حضور هر دو غلظت رنگ، با وجود افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، به دلیل عدم تعادل بین گونه‌های فعال

استراتژی‌های مختلف مانند افزایش محتوای آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (کاروتنوئیدها و گلیکوزید آنتوسیانیدین) برای دفاع در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده بهره گرفت. احتمالاً این متابولیت‌ها را می‌توان به عنوان پاسخ‌های شاخص در برابر تنش ماده رنگزای BR46 در نظر گرفت. همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که گیاه *S. natans* توانایی حذف این آلاینده را دارد و افزایش غلظت اولیه رنگ باعث افزایش کارایی پالایش آن می‌شود.

2012; Pelosi et al., 2013, 2014; Chandanshive et al., 2016; Neag et al., 2018; Perez-Morales et al., 2019).

بر پایه نتایج این مطالعه هر دو غلظت رنگ BR46 به کار رفته در این پژوهش باعث ایجاد اثرات منفی بر شاخص‌های رشدی گیاه *Salvinia natans* شد و از طریق تنش اکسیداتیو باعث ناپایداری غشا آن شد. تنش وارد شده به گیاه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از شدت بالاتری برخوردار بود. سرخس آبی *S. natans* از

منابع

- Ahlawat W., Kataria N., Dilbaghi N., Hassan A.A., Kumar S. and Kim K.H. 2020.** Carbonaceous nanomaterials as effective and efficient platforms for removal of dyes from aqueous systems. *Environmental Research*, 181: 1–44 (108904).
- Appenroth K.J., Krech K., Keresztes A., Fischer W. and Koloczek H. 2010.** Effects of nickel on the chloroplasts of the duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and their possible use in biomonitoring and phytoremediation. *Chemosphere*, 78(3): 216–223.
- Bhattacharjee S. 2012.** The language of reactive oxygen species signaling in plants. *American Journal of Botany*, 2012(1): 1–22.
- Blokhina O., Virolainen E. and Fagerstedt K. 2003.** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *American Journal of Botany*, 91(2): 179–194.
- Chandanshive V.V., Rane N.R., Gholave A.R., Patil S.M., Jeon B.H. and Govindwar S.P. 2016.** Efficient decolorization and detoxification of textile industry effluent by *Salvinia molesta* in lagoon treatment. *Environmental Research*, 150: 88–96.
- Dhir B. and Srivastava S. 2011.** Heavy metal removal from a multi-metal solution and wastewater by *Salvinia natans*. *Ecological Engineering*, 37(6): 893–896.
- Donatus M. 2016.** Removal of heavy metals from Industrial effluent using *Salvinia molesta*. *International Journal of Chemtech Research*, 9(5): 608–613.
- Fagundes-Klen M.R., Cervelin P.C., Veit M.T., Da Cunha Gonçalves G. and Bergamasco R. 2012.** Adsorption kinetics of blue 5G dye from aqueous solution on dead floating aquatic macrophyte: Effect of pH, temperature, and pretreatment. *Water, Air and Soil Pollution*, 223(7): 4369–4381.
- Fathinia M., Khataee A.R., Zarei M. and Aber S. 2010.** Comparative photocatalytic degradation of two dyes on immobilized TiO₂ nanoparticles: Effect of dye molecular structure and response surface approach. *Journal of Molecular Catalysis (A)*, 333(1-2): 73–84.
- Forni C., Giordani F., Pintore M. and Campanella L. 2008.** Effects of sodium dodecyl sulphate on the aquatic macrophytes *Azolla* and *Lemna*. *Plant Biosystems*, 142: 665–668.
- 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(12): 909–930.
- 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(1): 189–198.
- Hegazy A.K., Emam M.H., Lovett-Doust L., Azab E. and El-Khatib A.A. 2017.** Response of duckweed to lead exposure: Phytomining, bioindicators and bioremediation. *Desalination and Water Treatment*, 70: 227–234.
- Hou W.H., Chen X., Song G.L., Wang Q.H. and Chang C.C. 2007.** Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(1): 62–69.
- Khataee A.R. and Kasiri M.B. 2010.** Photocatalytic degradation of organic dyes in the presence of nanostructured titanium dioxide: Influence of the chemical structure of dyes. *Journal of Molecular Catalysis A*, 328(1-2): 8–26.
- Khataee A.R., Movafeghi A., Torbati S., Lisar S.S. and Zarei M. 2012.** Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.) in degradation of CI Acid Blue 92: Artificial neural network modeling. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80: 291–298.
- Khataee A.R., Movafeghi A., Vafaei F., Salehi Lisar S.Y. and 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. and Brouillard R. 2003.** Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5): 923–933.
- Kumari M. and Tripathi B.D. 2014.** Effect of aeration and mixed culture of *Eichhornia crassipes* and *Salvinia natans* on removal of wastewater pollutants. *Ecological Engineering*, 62: 48–53.
- Kvesitadze G., Khatisashvili G., Sadunishvili T. and Ramsden J.J. 2006.** Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: Basis of phytoremediation. Springer, Germany. 245P.
- Lichtenthaler H.K. and 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.

- Maas R. and Chaudhari S. 2005.** Adsorption and biological decolorization of azo dye Reactive Red 2 in semicontinuous anaerobic reactors. *Process Biochemistry*, 40(2): 699–705.
- McMullan G., Meehan C., Conneely A., Kirby N., Robinson T., Nigam P., Banat I., Marchant R. and Smyth W.F. 2001.** Microbial decolorisation and degradation of textile dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(1-2): 81–87.
- Movafeghi A., Khataee A.R., Moradi Z. and 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.
- Movafeghi A., Khataee A.R., Torbati S., Zarei M. and Lisar S.S. 2013.** Bioremoval of CI Basic Red 46 as an azo dye from contaminated water by *Lemna minor* L.: Modeling of key factor by neural network. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 32(4): 1082–1089.
- Neag E., Malschi D. and Maicaneanu A. 2018.** Isotherm and kinetic modelling of toluidine blue (TB) removal from aqueous solution using *Lemna minor*. *International Journal of Phytoremediation*, 20(10): 1049–1054.
- Nichols P.B., Couch J.D. and Al-Hamdani S.H. 2000.** Selected physiological responses of *Salvinia minima* to different chromium concentrations. *Aquatic Botany*, 68(4): 313–319.
- Parent C., Capelli N. and Dat J. 2008.** Reactive oxygen species, stress and cell death in plants. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4): 255–261.
- Pelosi B.T., Lima K.S. and Vieira G.A. 2013.** Acid orange 7 dye biosorption by *Salvinia natans* biomass. *Chemical Engineering*, 2013: 32–39.
- Pelosi B.T., Lima L.K.S. and Vieira M.G.A. 2014.** Removal of the synthetic dye Remazol Brilliant Blue R from textile industry wastewaters by biosorption on the macrophyte *Salvinia natans*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31(4): 1035–1045.
- Perez-Morales J.M., Sanchez-Galvan G. and Olguin E.J. 2019.** Continuous dye adsorption and desorption on an invasive macrophyte (*Salvinia minima*). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(6): 5955–5970.
- Pilon-Smits E. 2005.** Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 15–39.
- Radic S., Babic M. Skobic D., Roje V. and Pevalek-Kozlina B. 2010.** Ecotoxicological effects of

- aluminum and zinc on growth and antioxidants in *Lemna minor* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 336–342.
- Rahman M.A., Hasegawa H., Ueda K., Maki T. and Rahman M.M. 2008.** Influence of phosphate and iron ions in selective uptake of arsenic species by water fern (*Salvinia natans* L.). *Chemical Engineering Journal*, 145(2): 179–184.
- Ruban A.V., Lee P.J., Wentworth M., Young A.J. and Horton P. 1999.** Determination of the stoichiometry and strength of binding of xanthophylls to the photosystem II light harvesting complexes. *Journal of Biological Chemistry*, 274(15): 10458–10465.
- Sampath M. and Vasanthi M. 2013.** Isolation, structural elucidation of flavonoids from *Polyathia longifolia* (Sonn.) thwaites and evaluation of antibacterial, antioxidants, and anticancer potential. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(1): 336–341.
- Senol Z.M., Gursoy N., Simsek S., Ozer A. and Karakus N. 2020.** Removal of food dyes from aqueous solution by chitosan-vermiculite beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148: 635–646.
- Singh W.R. and Kalamdhad A.S. 2016.** Transformation of nutrients and heavy metals during vermicomposting of the invasive green weed *Salvinia natans* using *Eisenia fetida*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 5(3): 205–220.
- Sitarska M., Traczewska T. and Filyarovskaya V. 2016.** Removal of mercury (II) from the aquatic environment by phytoremediation. *Desalination and Water Treatment*, 57(3): 1515–1524.
- Tkaczyk A., Mitrowska K. and Posyniak A. 2020.** Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. *Science of Total Environment*, 137222: 1–57.
- Torbati S., Khataee A.R. and Movafeghi A. 2014.** Application of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) for biotreatment of a textile dye: Investigation of some physiological responses and effects of operational parameters. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(10): 1934–1941.
- Vafaei F., Khataee A.R., Movafeghi A., Lisar S.S. and Zarei M. 2012.** Bioremoval of an azo dye by *Azolla filiculoides*: Study of growth, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes status. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 75: 194–200.

- Vafaei F., Movafeghi A., Khataee A.R., Zarei M. and Lisar S.S. 2013.** Potential of *Hydrocotyle vulgaris* for phytoremediation of a textile dye: Inducing antioxidant response in roots and leaves. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93: 128–134.
- 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.
- Zafar M.N., Dar Q., Nawaz F., Zafar M.N., Iqbal M. and Nazar M.F. 2019.** Effective adsorptive removal of azo dyes over spherical ZnO nanoparticles. *Journal of Materials Research and Technology*, 8(1): 713–725.



Research Paper

Influence of industrial dye- BR46 on induction of oxidative stress and study of its bioremediation potential by aquatic fern *Salvinia natans*

Nahid Sharifi¹, Zahra Eftekhari¹, Akbar Norastehnia², Zahra Masoudian^{3*}

Received: March 2020

Accepted: May 2020

Abstract

Azo dyes are the most important and widely used dyes in various industries. This group of pollutants is a threat to aquatic life. In the present study, the effect of three different concentrations (0, 10, 20mg/L) of the basic red 46, (BR46) on the physiological characteristics of aquatic fern *Salvinia natans* was evaluated at the 7-day treatment period. Also, the ability of *S. natans* for bioremoval of BR46 was evaluated. The results showed that chlorophyll a and total chlorophyll content, despite chlorophyll b, decreased at 20mg/L concentration. At 20 mg/L of BR46, relative growth rate and effect index decreased and increased, respectively. Total carotenoid concentration was increased by 72% at 20mg/L. Cyanidine glycoside concentration, lipid peroxidation and antioxidant activity increased in the presence of 10 and 20 mg/L of BR46. On day 7th, the highest bioremoval efficiency was observed in the presence of 20mg/L BR46. Thus, *S. natans* has the ability to remove BR46 from contaminated water but the presence of both 10 and 20mg/L of dye induced antioxidant activity and the risk of oxidative stress for *S. natans*.

Key words: *Salvinia natans*, Azo Dye, Oxidative Stress, Bioremediation.

1- M.Sc. Student in Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

2- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

3- Ph.D. in Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: zahramasoodian@yahoo.com