# اثر آلومینیوم بر رشد، pH، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، اسمولیت‌ها و تجمع آن در جلبک کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*)

**سیدمهرداد کسایی*[۱]، لادن سروش نسب[۲]، آرین ساطعی[۳]**

۱. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

۲. کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

۳. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

**تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۷/۲٤** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۰۳**

**چکیده**

جلبک کلرلا ولگاریس در محیط کشت BG11 و در دمای ۲±۲۲ و به مدت ۲۰ ساعت روشنایی و ٤ ساعت تاریکی و میزان نور ۱۵۰۰ لوکس رشد داده شد. در پژوهش حاضر اثر $AlCl_3$ با غلظت‌های مختلف (۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ٤۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) در pH 5 بر رشد، pH، فعالیت کاتالازی، پراکسیدازی، آسکوربات پراکسیدازی، سوپراکسید دیسموتازی، محتوای گلایسین بتائین، پرولین و میزان انباشتگی آلومینیوم در جلبک کلرلا ولگاریس مورد بررسی قرار گرفت. کلرلا در غلظت‌های مختلف بین ۰ تا ٤۰۰ میکرومولار به دلیل توانایی در قلیایی کردن محیط کشت و کاهش اثر سمیت به رشد خود ادامه داد، ولی در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰میکرومولار به دلیل عدم توانایی در قلیایی کردن محیط کشت به ترتیب پس از چهار و دو روز انتقال به محیط کشت از بین رفتند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت آلومینیوم میزان رشد، pH، فعالیت کاتالازی، پراکسیدازی، آسکوربات پراکسیدازی، سوپر اکسید دیسموتازی و محتوای گلایسین بتائین در روز سیزدهم (انتهای مرحله لگاریتمی و ابتدای مرحله ثابت) افزایش معنی‌داری نشان دادند، ولی سبب تغییر معنی‌داری در محتوای پرولین نشد. همبستگی ما بین رشد، pH و میزان انباشتگی Al وجود دارد. از جمله مکانیسم‌های دفاعی کلرلا در این پژوهش افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، افزایش گلایسین بتائین و افزایش تقسیم سلولی می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** آلومینیوم، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرولین، رشد، کلرلا، گلیسین بتایین، pH

**مقدمه**

سمیت آلومینیوم فاکتور محدود کننده رشد برای گیاهان در خاک‌های اسیدی با pH زیر ۵تا ۵/۵ می‌باشد (Alam and Adams, 1979). خاکهای اسیدی منجر به افزایش انحلال آلومینیوم می‌شوند و به نظر می‌رسد اشکا ل محلول قادرند سیستمهای بیولوژیکی را تحت تاثیر قرار دهند. در بسیاری از کشورها، خاک‌های اسیدی به طور کلی٤۰٪ خاک‌های قابل کشت جهان را تشکیل می‌دهند (Lenoble et al., 1996). سمیت آلومینیوم به عنوان مشکل بزرگ کشت، به میزان زیادی در سیستم گیاهی مطالعه می‌شود.



*Email:seyedmehrdadkassaee@yahoo.com*

مقاومت به آلومینیوم در سورگوم، گندم، سویا، برنج و بسیاری از حبوبات و تاج خروس گزارش شده است، همچنین تقریباً چهارصد گونه از گیاهان خشکی که متعلق به چهل و پنج خانواده هستند، به عنوان جمع کننده بالای یون‌های سمی فلزی شناخته شده اند (Baker et al., 2000).

سطوح بالای فلزات سنگین سلول‌های جلبک را تخریب می‌کند. همچنین در برخی از مواقع بازدارندگی فتوسنتزی توسط Cd در دیاتومه دریایی *Phaeodactylum tricornutum* دیده می‌شود. در سطوح پایین‌تر جلبک‌ها می‌توانند فلزات را جمع کنند. فلزات سنگین، اثرات زیان‌آور اکسیژن های واکنش‌گر را به طور مستقیم با افزایش غلظت سلولی آنها افزایش داده و در عین حال باعث افزایش گنجایش آنتی اکسیدان سلولی می‌شوند. بسیاری از فاکتورهای محیطی می‌توانند استرس اکسیداتیو را در سلول‌ها با تولید آنیون سوپراکسید القاء کنند. بنابراین تعدیل سطوح آنتی اکسیدان برای پاسخ به این شرایط مهم است. گنجایش بالای آنتی اکسیدان سلولی با افزایش مقاومت در برابر انواع مختلف استرس‌های محیطی مرتبط می‌باشد. فلزات سنگین استرس اکسیداتیو را القاء می‌کنند. همچنین با گسیختن زنجیره انتقال الکترون منجر به تولید آنیون سوپراکسید می‌شوند (Teresa, 2003).

اثر فلزات سنگین بر روی متابولیسم اکسیژن‌های واکنشگر در جلبک‌ها متفاوت است، در دینوفلاژلیت دریایی، فلزات سنگین موجب افزایش اکسیداسیون پروتئین‌ها، لیپیدها، افزایش سطوح سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و ß-کاروتن می‌شود و محتوای گلوتاتیون کاهش می‌یابد. تیمار با فلزات آلاینده در موجودات، ایزوفرم‌های Mn-SOD,Fe-SOD را القاء می‌کند، در حالی که فعالیت ایزوفرم CuZn-SOD در سیتوزول به طور معنی‌داری تغییر نمی‌کند (Jusu et al., 2004). این پاسخ‌های رونویسی ممکن است مکانیسم‌های دفاعی را در برگیرد، زیرا با در معرض قرار دادن دینوفلاژلیت با فلزات سنگین، سطوح mRNA مربوط به FeSOD افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در *Tetraselmis gracilis* و *Ditylum brightwellii* دیده شده است، اما پاسخ‌های سلولی می‌توانند در دیگر جلبک‌ها متفاوت باشند. در جلبک سبز تک سلولی *Selenastrum capricornum* افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیدازمشاهده شده است و در جلبک سبز *Entermorpha prolifera* کاهش نسبت گلوتاتیون احیا شده نیز دیده شد. افزایش در فعالیت آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز در *Scenedesmu sbijugatus* که در معرض غلظت های مختلف مس بین (۰ تا ۱۰۰µm) قرار گرفته است، مشاهده شده است. تجمع Cd به وسیله جلبک قرمز *Porphyra umbilicalis* ثابت شده است (Teresa et al., 2003).

با عنایت به کمبود پژوهش‌های انجام شده در سطح جهانی و به ویژه ایران در مورد آثار آلومینیوم بر جلبک‌ها، پژوهش حاضر به بررسی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی ریزجلبک خاکزی و استراتژیک کلرلا به آلومینیوم به ویژه توان آن در تحمل و انباشتن آلومینیوم پرداخته است.

**مواد و روش‌ها**

نمونه‌های جلبک کلرلا وولگاریس از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی شهید بهشتی تهیه و در محیط کشت BG11 و در دمای ۲±۲۲ و در غلظت‌های مختلف آلومینیوم (۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ٤۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) و pH5 و در شرایط نوری ۱۵۰۰ لوکس به مدت ١٤ روز رشد داده شدند. سپس رشد روزانه به روش کدورت سنجی (OD750) از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر، pH از طریق pH متر، سنجش آلومینیوم از طریق Absorbtion atomic پس از تهیه عصاره اسیدی و محلول‌های استاندارد انجام گرفت آسکوربات پراکسیداز به روش Arrigoni (۱۹۹۲)، کاتالاز به روش Chance and Maehly (۱۹۹۵)، پراکسیداز به روش Koroi (۱۹۸۹)، سوپراکسید دیسموتاز به روش Ginannoto and Ries (۱۹۷۷)، گلایسین بتائین به روش Sairam (۲۰۰۲) و پرولین به روش Bates (۱۹۷۳) انجام گرفت.

**اندازه گیری فعالیت پراکسیدازی**

**الف) تهیه محلول عصاره گیری**

– مخلوط کردن ۱.۲g تریس و ۲ گرم اسید اسکوربیک و ۳.۸ گرم بوراکس (*Disodiom tetraborate*) و ۲ گرم Na2EDTA و ۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ و رساندن حجم با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر ( pH7 و نگهداری در یخچال)

**ب) استخراج عصاره آنزیمی**

ساییدن وزن مشخصی از جلبک با چهار یتر محلول عصاره‌گیری به مدت نیم ساعت، قرار دادن محلول به مدت ۲٤ ساعت در یخچال (دمای ٤ درجه سانتی‌گراد)، سانتریفوژ محلول به مدت سی دقیقه در ٤۰۰g، نگهداری محلول رویی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، مخلوط کردن یک میلی لیتر تامپون استات (pH5)M ۰/۱با ml ۰/٤ آب اکسیژنه ۳ درصد و ml ۰/۲ بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه، اضافه کردن ml ۰/۱ عصاره آنزیمی به مخلوط و خواندن جذب در طول موج nm ۵۳۰ (Koroi, 1989).

**اندازه گیری فعالیت اسکوربات پراکسیدازی**

در این سنجش ml ۲ بافر فسفات (pH٦/۵) M ۰/۰۵ را با ml ۲ آب اکسیژنه ۳ درصد و ml ۰/۲ آسکوربات ۵۰ میکرومولار در حمام یخ مخلوط نموده و بلافاصله ml ۰/۱ عصاره آنزیمی به آن اضافه می‌کنیم. سپس تغییرات جذب در ٦۲۵nm را می‌خوانیم (Arrigoni et al., 1992).

**اندازه گیری فعالیت کاتالازی**

جهت بررسی فعالیت این آنزیم از عصاره آنزیمی آنزیم پراکسیداز استفاده می‌شود. در این سنجش ml ۲/۵ بافر فسفات (pH7) M ۰/۵را و ml ۰/۲ آب اکسیژنه ۳ درصد را با هم در یخ مخلوط نموده و سپس ml ۲ /۰ عصاره آنزیمی تازه استخراج شده به آن اضافه می‌کنیم. سپس تغییرات جذب در ۲٤۰nm را می‌خوانیم (Chence and Maehly, 1995).

**اندازه گیری فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی**

محلول واکنش برای اندازه گیری فعالیت آنزیم: بافر فسفات (pH۷/۵) ،۵۰mM NBT(۷۵μM) (نیترو بلوتترا زولیوم)، (۰/۱ mM) EDTA ریبو فلاوین (۲ μM) می‌باشد که در تاریکی کامل نگهداری می‌شود. بلافاصله پس از اضافه کردن ریبو فلاوین، ml ۳ از آن را در یک لوله آزمایش ریخته و به هر یک ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. در ۳۰ سانتیمتری لامپ‌ها قرار داده و هر دو دقیقه یک بار تا ۳۰ دقیقه جذب آن در طول موج ۵٦۰ نانو متر خوانده می‌شود. جذب محلول تاریک نیز به عنوان شاهد، خوانده می‌شود (Gianannto and Ries, 1977).

**اندازه‌گیری گلیسین بتائین**

حجمی از محیط موردنظر واجد جلبک در لوله‌های توزین شده در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و با محاسبه وزن جلبک، رسوب جلبکی را در۲۰ میلی لیترآب مقطر ساییده و دوباره در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ می‌کنیم محلول رویی را به نسبت یک به یک با اسید سولفوریک ۲ نرمال رقیق می‌کنیم. سپس ۰/۸ میلی‌لیتر معرف ید یدین سرد اضافه و به آهستگی هم می‌زنیم. محلول‌ها ۱٦ ساعت در دمای صفر نگهداری می‌شوند. سپس در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و یک میلی‌لیتر از محلول فوقاتی جدا شده و با ۹ میلی لیتر ۱و۲ دی کلرو اتان مخلوط و شدیداً ورتکس می‌شود. پس از ۳ ساعت جذب محلول تحتانی در طول موج ۳٦۵ نانومتر سنجش می‌گردد. پس از رسم منحنی استاندارد مقدار گلیسین بتایین قابل محاسبه است (Sairam, 2002).

**روش سنجش پرولین**

۱۰ سی سی از محیط کشت مورد نظر واجد جلبک در لوله‌های توزین شده در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و با محاسبه وزن جلبک، رسوب جلبکی را در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالسیلیک می‌ساییم. سپس مخلوط را دوباره در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ نموده و ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی را به لوله دیگری منتقل می‌کنیم و به آن ۳ میلی لیتر اسید نینهیدرین و ۳ میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه می‌کنیم. لوله‌ها را به مدت یک ساعت در بن ماری جوش و پس از آن نیم ساعت در حمام یخ قرار می‌دهیم. سپس ٤ میلی لیتر تولوئن به هر لوله اضافه کرده، کمی هم

می‌زنیم. پس از ثابت شدن و تشکیل دو لایه رنگی مجزا، جذب لایه رنگی فوقانی را در طول موج ۵۲۰ نانومتر می‌خوانیم. مقدار پرولین با رسم منحنی استاندارد قابل محاسبه است (Bates, 1973).

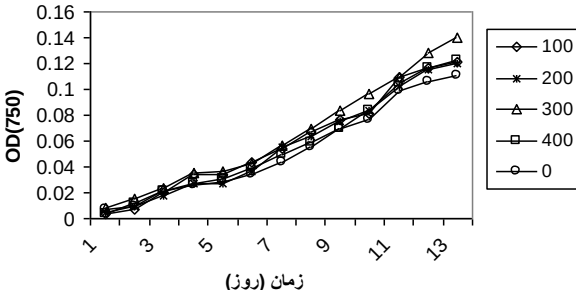
### محاسبات آماری

نتایج با لحاظ ٤ تکرار در مورد هر سنجش گزارش شده است و نمودارها پس از محاسبه میانگین و انحراف معیار ارائه شده‌اند. برای تعیین اختلاف یا عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون ANOVA و نرم افزار SPSS version11 استفاده شده است. نمودارها با استفاده از نرم افزار excel ترسیم شده‌اند. همچنین حروف مشترک در بالای هیستوگرام‌ها نشانگر نبود اختلاف معنی دار بین تیمارها در مورد کمیت مورد سنجش است.

## نتایج

### اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر روی رشد در طول مدت فاز لگاریتمی

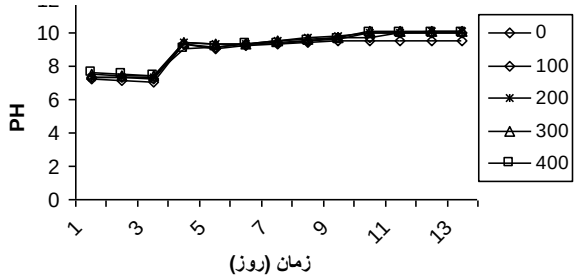
در کل اثر تیمار بر رشد به غیر از روزهای اول، سوم، چهارم و پنجم در بقیه روزها معنی دار بوده است. تیمارها در پایان فاز لگاریتمی و ابتدای فاز ثابت (روز سزدهم) نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان دادند (شکل ۱).




**شکل ۱:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم (برحسب میکرومولار) بر رشد نمونه‌های کلرلا ولگاریس در طی یک دوره ۱۳ روزه

### اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم روی pH

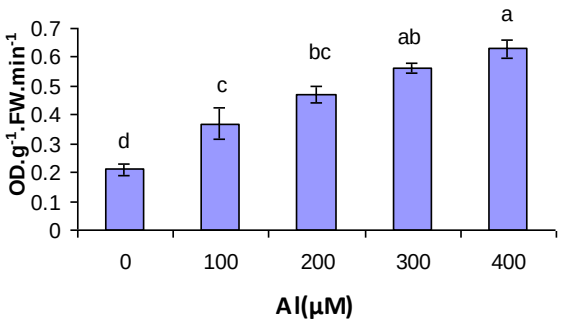
افزایش pH با افزایش غلظت آلومینیوم به غیر از روزهای چهارم و پنجم در تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته است (شکل ۲).




**شکل۲:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم (برحسب میکرومولار) بر pH محیط کشت نمونه‌های کلرلا ولگاریس در طی یک دوره ۱۳ روزه

### اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت پراکسیدازی

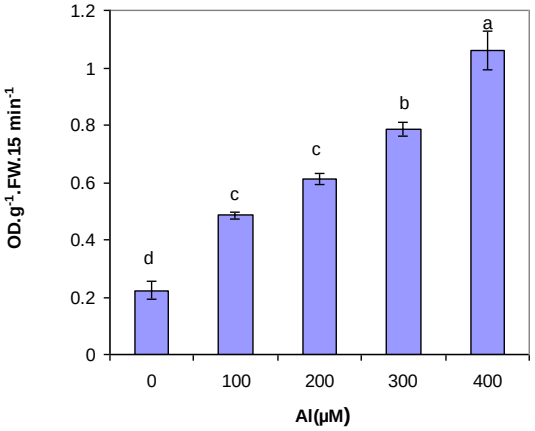
افزایش فعالیت پراکسیدازی معنی دار می‌باشد. با افزایش غلظت آلومینیوم، در تمامی تیمارها، فعالیت این آنزیم افزایش معنی‌داری داشته است. تیمارهای ۳۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار آلومینیوم نسبت به ۱۰۰میکرومولار و همین‌طور در تیمار ٤۰۰ میکرومولار نسبت به ۲۰۰ میکرومولار افزایش معنی‌داری مشاهده گردید (شکل ۳).




**شکل۳:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم (برحسب میکرومولار) بر فعالیت پراکسیدازی نمونه‌های کلرلا ولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

### اثرغلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی

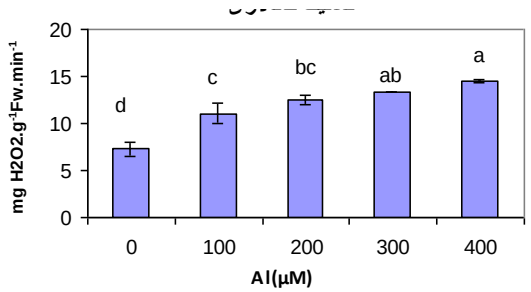
مطابق شکل ٤، افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتازی معنی‌دار می‌باشد. افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتازی تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان دادند. تیمار ۲۰۰ میکرومولار نسبت به ۱۰۰ میکرومولار اختلاف معنی داری نداشته است، ولی تیمارهای ۳۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار نسبت به ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار افزایش معنی‌داری نشان دادند ($p< ۰/۰۵$).




**شکل ٤:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت سوپراکسید دیسموتازی نمونه‌های کلرلا ولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

**اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت کاتالازی**

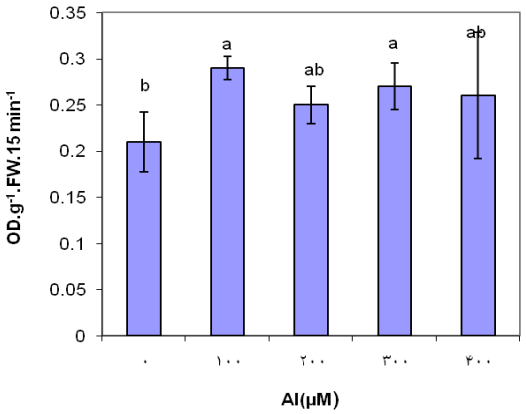
مطابق شکل ٥، افزایش فعالیت کاتالازی معنی‌دار می‌باشد. تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان دادند. تیمارهای ۳۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار نسبت به تیمار ۱۰۰ میکرومولار و تیمار ٤۰۰ نسبت به ۲۰۰ میکرومولار افزایش معنی‌داری داشته است ( $p<۰/۰۵$).




**شکل٥:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت کاتالازی نمونه‌های کلرلا وولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

**اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت آسکوربات پراکسیدازی**

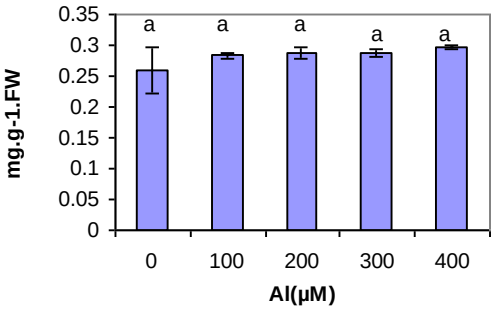
افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیدازی معنی‌دار می‌باشد. تیمارهای ۱۰۰و ۳۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته است (شکل ٦).




**شکل ٦:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت آسکوربات پراکسیدازی نمونه‌های کلرلا ولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

**اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم برمحتوای پرولین**

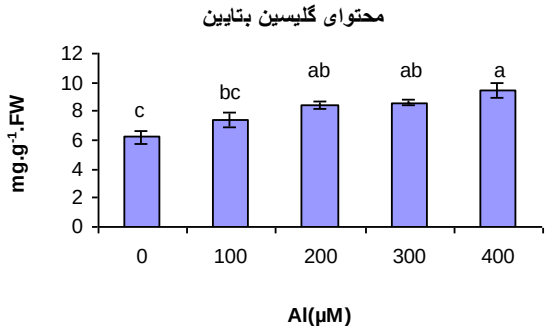
مطابق شکل ۷، میزان پرولین افزایش معنی‌داری نداشته است. تمامی تیمارها نسبت به شاهد و نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($p< ۰/۰۵$).




**شکل ۷:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر محتوای پرولین نمونه‌های کلرلا وولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

**اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر محتوای گلایسین بتائین**

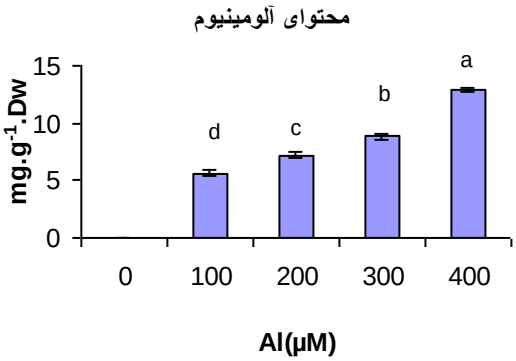
افزایش گلایسین بتائین معنی دار می‌باشد. تیمارهای ۲۰۰، ۳۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار آلومینیوم نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته و همچنین گلایسین بتائین در تیمار ٤۰۰ میکرومولار نسبت به ۱۰۰ میکرومولار افزایش معنی‌داری داشته است (شکل۸).




**شکل ۸:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر محتوای گلیسین بتایین نمونه‌های کلرلا وولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

### میزان تجمع آلومینیوم

با افزایش غلظت آلومینیوم، میزان تجمع این فلز در جلبک افزایش معنی داری نشان داده است. تمامی تیمارها نسبت به یکدیگر و نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داده است (شکل ۹).




**شکل ۹:** اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر محتوای آلومینیوم نمونه‌های کلرلا و ولگاریس در فاز لگاریتمی رشد

### بحث

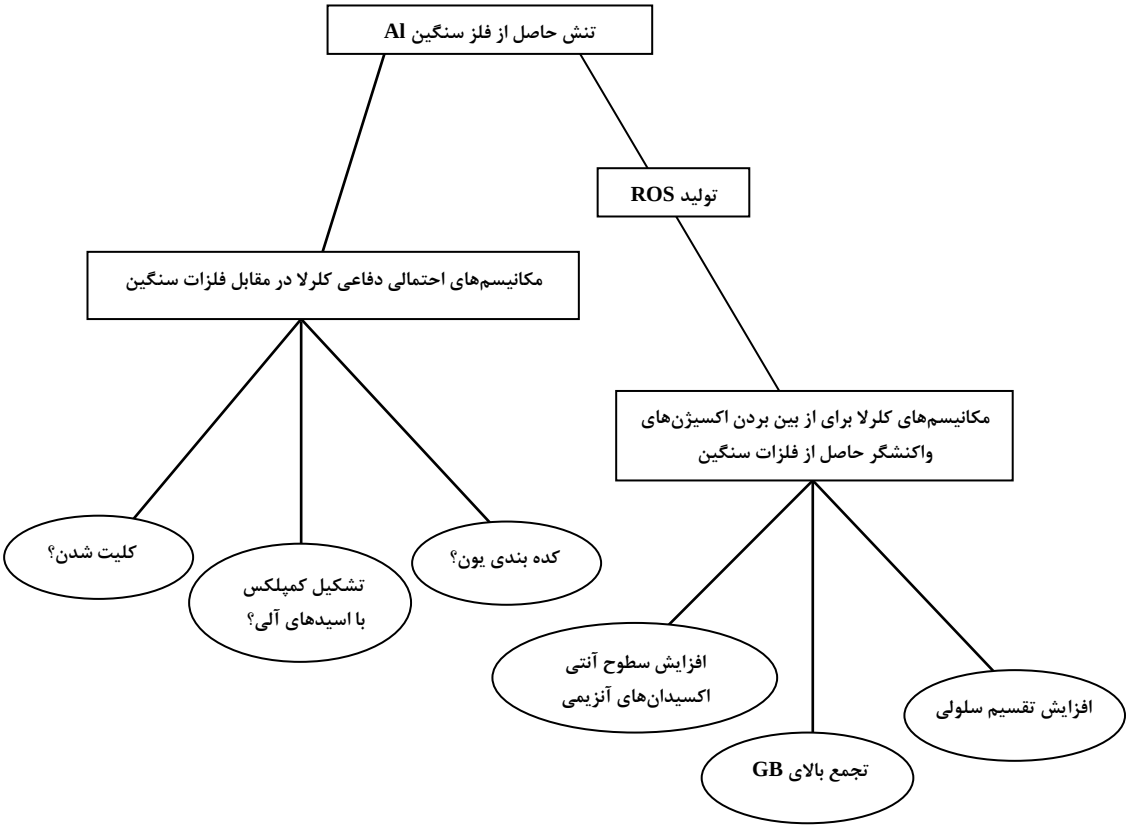
نتایج این تحقیق نشان داد رشد کلرلا وولگاریس در تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته است. این افزایش در روز سیزدهم (انتهای فاز لگاریتمی و ابتدای فاز ثابت) در تیمار ۳۰۰م یکرومولار، بیشترین رشد و در سایر تیمارها نسبت به یکدیگر اختلاف معنی داری وجود نداشت. افزایش رشد ممکن است به دلیل افزایش pH محیط کشت و کاهش احتمال انحلال، ورود و سمیت Al یا به علت افزایش احتمال در دسترس قرار دادن برخی از یون‌های دو ظرفیتی محرک رشد از جمله Mg توسط Al از طریق تشکیل کمپلکس‌های شیمیایی باشد محرک رشد گیاه است باشد. این نتیجه (افزایش رشد در غلظت‌های پایین آلومینیوم) قبلاً در مورد گیاه کدو نیز مشاهده شده است (Lazaros et al., 2004). از طرفی با افزایش غلظت آلومینیوم به دلیل کاهش غلظت آلومینیوم درون سلولی، تقسیم سلولی افزایش می‌یابد pH نیز به غیر از روزهای چهارم، پنجم و ششم، در بقیه روزها نسبت به شاهد با افزایش غلظت آلومینیوم افزایش معنی داری نشان داد، در غلظت‌های بالاتر آلومینیوم در حدود ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار به ترتیب جلبک پس از ۲و٤ روز از بین رفت. مشخص گردید که در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار، جلبک‌ها توانایی تغییر pH اسیدی را نداشتند. افزایش pH اثر سمیت را کاهش می‌دهد. در واقع در محیط‌های اسیدی اثر سمیت آلومینیوم تشدید می‌شود. مطابق با نتایج Rout و همکاران (۲۰۰۰) گرچه کلرلا قابلیت سم‌زدایی داشته و جمع کننده فلزات سنگین می‌باشد، ولی این نقش را تاحدی که از گنجایش سلولی فراتر نباشد، می‌تواند ایفا کند. با افزایش سمیت آلومینیوم و افزایش تولید اکسیژن‌های واکنش‌گر، آنتی اکسیدان‌های آنزیمی از جمله فعالیت کاتالازی، پراکسیدازی، آسکوربات پراکسیدازی و سوپراکسید دیسموتازی افزایش معنی‌دار نشان دادند. فعالیت پراکسیدازی در تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است و این افزایش در تیمارهای ۳۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار نسبت به تیمار ۱۰۰میکرومولار نیز معنی دار بوده است، ولی در سایر تیمارها نسبت به یکدیگرافزایش معنی‌داری مشاهده نشد. فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی به علت افزایش میزان پراکسید هیدروژن و برای مقابله با افزایش سمیت پراکسیدهیدروژن نیز در تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است و این افزایش در تمامی تیمارها نسبت به یکدیگر به غیر از تیمار ۲۰۰ میکرومولار نسبت به تیمار ۱۰۰ میکرومولار معنی داربوده است که این نتایج مطابق با نظریه Singha و Panda (۲۰۰۳) می‌باشد که افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز با افزایش سمیت آلومینیوم در گیاه *Green gram* را گزارش کردند.

همچنین مطابق با نتایج Jusu و همکاران (۲۰۰٤) می‌باشد که اعلام کردند با افزایش غلظت آلومینیوم در محیط‌های اسیدی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سندسموس افزایش یافت. آب اکسیژنه اثرات مضر اکسیداتیو در متابولیسم گیاه دارد که توسط آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از بین می‌رود. کاتالاز نقش مهمی در افزایش مقاومت به استرس اکسیداتیو در شرایط نرمال برعهده دارد (Ames et al., 1993). آنزیم کاتالاز از آنزیم‌های موثر در مقابله با اکسیژن‌های فعال محسوب می‌شود و در شرایط تنش و در گیاهان مختلف افزایش تولید آن ثابت شده است. افزایش فعالیت کاتالازی نیز در تمامی تیمارها نسبت به شاهد معنی‌دار بوده و در تیمار٤۰۰ میکرومولار نسبت به تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار میزان کاتالاز افزایش معنی داری داشته است که این نتایج با نظریه Singha و Panda (۲۰۰۳) مغایر می‌باشد که کاهش فعالیت کاتالاز را در ارتباط با افزایش آلومینیوم در گیاه *Green gram* نشان دادند. افزایش این آنزیم در تیمارها مرتبط با از بین اکسیژن‌های فعال تولید شده می‌باشد. میزان آسکوربات پراکسیداز تنها در تیمارهای ۳۰۰ و ۱۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد افزایش نشان داد. برخی از محققین معتقدند که تجمع پرولین ممکن است یک سیستم حفاظتی نباشد، بلکه یک ترکیب ذخیره‌ای برای ازت و یا یک منبع انرژی باشد (Palleg and Aspinall, 1981). پرولین در زمان رفع تنش به عنوان منبع سریع قابل دسترس نیتروژن و کربن به کار می‌رود (Bussis and Heineke, 1998). منطقی است که ساخته شدن چنین ترکیباتی برای گیاه هزینه‌ساز بوده و روی رشد گیاه اثر می‌گذارد. مقدار پرولین در تیمارها در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نداشت.

در برخی از گونه‌ها در اثر مواجه شدن با استرس برای تنظیم اسمزی هر دو اسمولیت (پرولین و گلیسین بتائین) افزایش می‌یابد، ولی در برخی تنها پاسخ از طریق افزایش یکی از این اسمولیت‌ها می‌باشد. در این آزمایش جلبک کلرلا در رویایی با استرس تنها از طریق افزایش محتوای گلایسین بتائین عمل نموده است و از این طریق سبب تعدیل هموستازی گیاه شده است و احتمالاً پرولین اسمولیت موثر بر کلرلا نمی‌باشد. با توجه به اینکه گلیسین بتائین در حفظ و تنظیم اسمزی در یوکاریوت‌های گیاهی (Larher et al., 1996)، حفظ و تمامیت غشاء پلاسمایی و حفظ ساختمان چهارم پروتئین‌ها، افزایش تحمل دستگاه فتوسنتزی از طریق افزایش تجمع کلروفیل‌ها (William et al., 1992) نقش دارد و همچنین در تسهیل انتقال الکترون ومحافظت از فعالیت پروتئین‌ها و چربی غشاء تیلاکوئیدی در فتوسیستم ۲ حفاظت از دستگاه‌های نسخه‌برداری و کاهش دمای ذوب DNA مضاعف، تسهیل همانند سازی (Norio and Atsushi, 2001) مفید است. در واقع گلایسین بتائین باعث محافظت از آنزیم‌های سنتز قند و اسیدآمینه می‌شود (Quan et al., 2004). میزان گلایسین بتائین در تیمارهای ۲۰۰، ۳۰۰ و ٤۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته است که خود سبب حفظ ساختار فضایی آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در برابر استرس ناشی از سمیت آلومینیوم می‌شود. میزان انباشتگی آلومینیوم در شاهد صفر می‌باشد که با افزایش غلظت آلومینیوم افزایش می‌یابد. جلبک برای کاهش غلظت آلومینیوم دون سلول تقسیم سلولی را افزایش می‌دهد. همبستگی بین رشد و انباشتگی آلومینیوم وجود دارد.

## نتیجه گیری نهایی

در طرح زیر نتجه حاصل از تحقیق حاضر آورده شده است




**شکل ۱۰:** مدل پیشنهادی چگونگی پاسخ کلرلا به آلومینیوم محیط بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر

## سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند، از کلیه افرادی که در طول انجام این پژوهش، کمال همکاری را داشته اند، صمیمانه سپاسگزاری نمایند. سپاسگزاری خاص از سرکار خانم کیایی (کارشناس آزمایشگاه تحقیقات)، سرکارخانم رسایی (کارشناس آزمایشگاه ژنتیک)، سرکارخانم میرکریمی (کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی)، سرکارخانم گران (کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی) و همچنین آقایان آیینه و بیک‌نژاد (کارشناسان آزمایشگاه شیمی) به ویژه ضروری است.

### References

**Alam S.M. and Adams, W.A. (1979).** Effects of Aluminium on nutrient composition and yield of roots, Journal of Plant Nutrition.1: 365-375

**Ames, B.N., Shingena, M.K. and Hegen, T.M. (1993).** Oxidants, antioxidants and the degenerative sidease of aging. Protocol.of National Academy of Sciences. USA.90:7915-7922

**Arrigoni, O, (1992).** Ascorbate system in plany development. Journal of Bionergy and Biomemberane, 26:407- 409

**Atsushi, S., and Norio, M. (2001)**. The use of Bacterial choline Oxidase ,A Glycine betaine synthesizining Enzyme, to Create stress – Resistance Transgenic plants. Planta, 125:180-185.

**Baker, A.J.M., Megrath, S.P., Reeves, R.D. and Smith, J.A.C. (2000)**. Metal hyperaccumulator plants: Areview of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils ;in Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. pp.85-107

**Bates, I.S., Walderen, R.P., and Treaer, I.D. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

**Buissis, D. and Heninke, D. (1998).** Acclimation of potato plants to polyethylene glycol-induces water defieits. Plant Physiology.79: 14-21.

**Chance B. and Maehly, C.(1995).** Assay of catalase and peroxidase, Methods in Enzymology, 11: 764-775.

**Furlan, R.R. and Clark, R.B. (1987).** Screening sorghom for aluminium tolerance in nutrient solution Agronomy Journal, 73: 578-594.

**Giannoto, C.N. and Ries, S.K. (1977).** Superoxid dismutase: ll. purification and quatitative relationship with water–soluble protein in seedlings. Plant Physiology, 95: 315-318.

**Jusu, S.A., Kong, F.X., Qing, B.G., Tan, J.K. and Han., X.B. (2004).** The course biochemical response of green algae scenedesmus obliqus to Aluminium and low pH. Environment Contamination Toxicoogyl, 73: 1001-1008.

**Koroi, S.A.A. (1989).** Gel elektropheres tisch and spephotometris echoe unter.uchangen zomeinfiuss der temperature auf straktur and aktritat der amylase and peroxidase isoenzyme. Physiology Vegetale, 20: 15-23

**Larher, F., Rival-Garnier, N., Lemesle, P., Plasmman, M. and Bouchereau, A. (1996).** The glycinebetaine inhibitory effect on the osmoinduced praline response of rape leaf discs. Plant Science, 113: 21-31.

**Lazaros, S., Mohamad M, Abou A., and Traianos Y. (2004).** Aluminium toxicity effects on cucumis melo and response of diphosphonucleoide kinase. Biology, Bratislava, 59(1): 133-130.

**Lenoble, M.E., Blevins, D.G., Sharp, R.E. and Cumbie, B.G. (1996).** Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron.I.Maintenance of root elongation and cellular structure. Plant Cell Environment, 19: 1132-1142.

**Ligterink, W. and Hirt, H. (2001).** Mitogen-activated protein (MAP) kinase path ways in plants:versatile signaling tools. Reviews in Cytology, 201: 209-275.

**Panada, S.K, Singha, L.B. and Khan., M.H. (2003).** Dose alminium phytotoxicity induce oxidative stress in green gram(vigna radita)? Plant Biochemistry laboratory, published by School of Sciences, Assam (central) University.

**Palleg, L.G. and Aspinall., D. (1981).** The physiology and biochemistry of drought resistance in plant. Academic Press, New York, 221-243.

**Quan, R., Shang, M., Zhang, H., Zhao, Y. and Zhang, J. (2004).** Engineering of enhanced Glycin betaine synthesis improve drought tolerance in mize. Plant Biotechnology Journal, 2: 477-486.

**Rout, G.R., Samantaray, S., Das, P. (2001)**, Aluminium toxicity in plant:review.Plant physiology and biochemistry laboratory, published by Regional Plant Resource Center, Bhubaneswar-751 015.

**Sairam, R.L., Rao, K.V., and Srivastava, G.C. (2002).** Defferential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte consentration. Plant Science, 163:1037-1049

**Teresa, S., Kutner-Sigaud, Maria, A.S. and Leitao Oswaldo, K. (2003).** Heavy metal –Induced oxidative stress in Algae. Journal of phycology. 39: 1008-1018.

**William, W.P., Brain, A.P.R. and Dominy, P.J. (1992)**. Induction of non- bilayer Lipid phase separation in chloroplast thylakoid membranes by compatible solutes and its relation to the thermal stability of photosystem II ,Biochemistry and Biophysics Acta. 1099: 137-141.