Archive of SID

اثر مثبت آلومینیوم در کاهش سمیت مس بر فعالیت نیترات ردوکتاز و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کلرلاولگاریس (*Chlorella vulgaris* Beijernick)

آرین ساطعی، شادمان شکروی، *نرگس ناطقی

گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

چکیده

کلرلا ولگاریس در محیط کشت BG -11 با ۵ غلظت مس (۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰ میکرومولار) بدون آلومینیوم و با آلومینیوم (۳۰۰میکرومولار) و pH ۷/۱ به مدت ۱۰ روز در ۲۰ ساعت روشنایی و ٤ ساعت تاریکی رشد داده شد. در این تحقیق اثرتیمارهای مختلف روی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز،آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز، نیترات ردوکتاز مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش غلظت مس باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردید. در حضور آلومینیوم فعالیت کاتالاز در تمامی تیمارهای مس نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، اما فعالیت پراکسیداز وآسکوربات پراکسیداز در تیمار ۲۰ میکرومولارکاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. همچنین کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز وآسکوربات پراکسیداز در ۲۰ میکرومولارمس با آلومینیوم نسبت به تیمار ۲۰ میکرومولار مس بدون آلومینیوم مشاهده گردید. نتایج نشان داد اثرغلظتهای مختلف مس بدون آلومینیوم برفعالیت نیترات ردوکتاز معنی‌دار نمی‌باشد. در تیمارهای مس وآلومینیوم بیشترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در غلظت ٤۰ میکرومولار مشاهده گردید که این افزایش نسبت به تیمار ۲۰ میکرومولار معنی‌دار و نسبت به سایر تیمارها و شاهد معنی‌دار نمی‌باشد. افزایش بعضی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در حضور آلومینیوم منجر به کاهش سمیت مس و افزایش رشد جلبک گردید.

کلمات کلیدی: آلومینیوم،آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، کلرلا ولگاریس، سمیت مس، نیترات ردوکتاز

مقدمه

مهمترین فلزات سنگین از نظر آلودگی آب، روی، مس، سرب، کادمیوم، جیوه، نیکل، کبالت وکروم هستند (Vymazal, 1995). مس یک عنصر کم مصرف ضروری برای نمو گونه‌های فتوسنتزی است، هر چند در غلظت‌های بالا این فلز برای رشد ریز جلبک سمی است (Baos et al., 2002; Yan and Pan., 2002). در سال‌های اخیر فلزات سنگین آلاینده‌های اصلی ناشی از صنعتی شدن و شهرنشینی می‌باشند و دریاچه‌های زیادی با فلزات سنگین از جمله مس آلوده شده‌اند. گزارشات زیادی حاکی از اثرات غلظت‌های سمی مس روی ریز جلبک‌ها است و مشخص گردیده، کاتیون آزاد Cu^{2+} اثرات سمی را ایفا می‌کند (Rai et al., 1981; Lobban and Harrison, 1994; Gledhill et al., 1997; Pinto, 2003). ریزجلبک‌هایی از جنس *Chlorella*، ساکنان عمومی آب

*email: nateghi.narges@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

شیرین و اکوسیستم‌های نزدیک دریا هستند و مس که یک کوفاکتور برای آنزیمهای گوناگون محسوب می‌شود، بسته به غلظت می‌تواند سبب اثرات نامطلوبی در تقسیم سلولی، رشد و مراحل فتوسنتز در گونه‌های *Chlorella* شود (Hassal, 1963; McBrien and Hassal, 1967; Gadd and Griffiths, 1978; Stauber and Florence, 1987).

مکانیزم سمیت مس شامل تولید گونه‌های اکسیژنی واکنش گر(ROS) توسط مداخله مس در واکنش فنتون می‌باشد (Okamoto et al., 2001; Rijstenbil and Gerringa, 2002). افزایش یافتن سطح ROS سبب آسیب اکسیداتیو در ماکرومولکولهایی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها شده و سرانجام منجر به آسیب به اندامک‌های مختلف سلولی می‌گردد. کلروپلاست‌های جلبک با یک سیستم پیچیده غشا یی غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده، هدف بالقوه پراکسیداسیون محسوب می‌شود (Halliwell and Gutteridge, 1999). پاسخ‌های سازگارکننده‌ای به منظورکاهش آسیب ماکرومولکولی ایجاد شده بوسیله استرس اکسیداتیو در جلبک‌ها توسعه یافته که از جمله این پاسخها رفع سمیت فلز و مکانیسم‌های دفاعی برای رفع ROS، قبل از اینکه بتوانند یک آسیب برگشت‌ناپذیر ایجاد کنند (Pinto et al., 2003). سمیت یونی مس در محیط رشد *Nitzschia closterium*، توسط یونهای فلزی سه ظرفیتی (Cr, Co, Al, Fe ,Mn) بهبود می‌یابد، ایجاد یک لایه هیدروکسید فلزی III در اطراف سلول جلبک، مس را جذب نموده و از نفوذ آن به داخل سلول می‌کاهد (Stauber and Florence, 1987). فلزات سنگین و نیترات هردو آلاینده‌های مضر می‌باشند و اغلب با هم ایجاد می‌شوند. نیترات ردوکتاز ثابت شده که در جلبک برای درمان آلودگی غذایی استفاده می‌شود، شناخت اثر فلزات سنگین روی فعالیت آنزیم بسیار ضروری است. Awasthi در سال ۲۰۰۵ بیان داشت افزایش غلظت نیکل و کادمیوم و روی در کلرلا ولگاریس و جلبک سبز – آبی *Anacystis nidulans* باعث کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز می‌گردد. بررسی‌ها نشان داده که سطح فعالیت نیترات ردوکتاز بوسیله افزایش نیترات، افزایش می‌یابد و بوسیله افزایش آمونیم در کشت‌های کلرلا کاهش می‌یابد (Morris and Syrett, 1963).

هدف این تحقیق کاهش سمیت مس و افزایش رشد جلبک *Chlorella vulgaris* beijernick می‌باشد و بدین منظور جلبک در تیمارهای مختلف مس بدون آلومینیوم و با آلومینیوم (۳۰۰ میکرومولار) رشد داده شد ومیزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و نیترات ردوکتازی تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

جلبک *Chlorella vulgaris* Beijernick به طور خالص از کلکسیون ریز جلبک پژوهشکده علوم کاربردی دانشگاه شهید بهشتی تهیه و سپس در محیط کشت BG-11 با ۵ غلظت مس (۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۵۰ میکرومولار) بدون آلومینیوم و درهمان محیط کشت با ٤ غلظت مس (۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤٠) با آلومینیوم (غلظت ۳۰۰ میکرومولار) در ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری (با سه تکرار) تلقیح و کشت گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ روز در اتاقک کشت جلبک (دانشگاه آزاد اسلامی گرگان) با روشنایی ۱۵۰۰ لوکس و دمای ۲۲°C– ۲۵ و تناوب نوری ۲۰ ساعت روشنایی و ٤ ساعت تاریکی رشد نمودند (بدون هوادهی و شیکر).

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

ابتدا ۱۰ میلی لیتر از هر سوسپانسیون جلبکی برداشته، بعد از سانتریفوژ نمونه، محلول رویی دور ریخته شد و رسوب جلبکی توزین گردید (لوله‌ها قبل از اضافه شدن نمونه و همراه با رسوب جلبکی وزن گردیدند و وزن رسوب جلبکی محاسبه شد). ٤ میلی لیتر محلول عصاره‌گیری شامل۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۲گرم $EDTANa_2$ و۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ به رسوب جلبکی اضافه شد و در حجم۱۰۰ میلی لیتر همگن گردید. سپس محلول‌های تهیه شده به مدت ۲٤ ساعت در یخچال نگهداری شدند. بعد از ۲٤ ساعت هرکدام از محلولها در دور ٤۰۰g به مدت نیم ساعت سانتریفوژ گردیدند. محلول بالایی که بسیار شفاف بود برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرارگرفت. سپس میزان جذب توسط دستگاه

www.SID.ir

Archive of SID

اسپکتروفتومتر (LABOMED, INC U.S.A) جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی خوانده شد. فعالیت پراکسیداز به روش(Koroi, 1989)، فعالیت آسکوربات پراکسیداز به روش (Arrigoni, 1992). فعالیت کاتالاز به روش (Chance and Maehly, 1995)و برحسب واحد $OD.g^{-1}.FW.10min^{-1}$ و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به روش (Giannotolitis and Rice, 1977) برحسب واحد $OD.g^{-1}.FW.20min^{-1}$ مورد سنجش قرارگرفت.

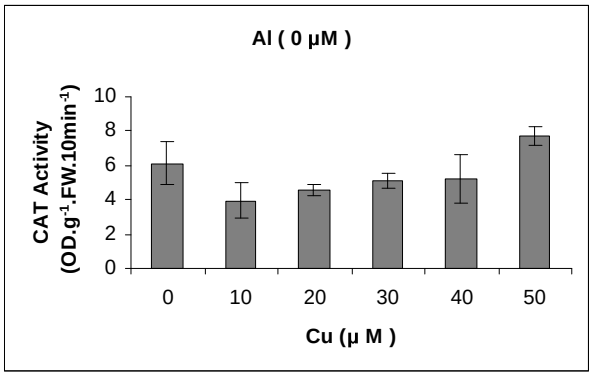
سنجش فعالیت نیترات ردوکتاز (Sym, 1984): رسوب جلبکی بدست آمده (مشابه روش بالا) با کمک محلول انکوباسیون (نیترات پتاسیم، پروپانول، تامپون فسفات) ساییده و بعد از سانتریفوژ، ۲ میلی لیتر از عصاره بدست آمده را با ۱ میلی لیتر گریس I، ۱ میلی لیتر گریس II مخلوط و جذب آن را در طول موج ۵۲۰ nm خوانده شد. آنالیزهای آماری با استفاده از واریانس ANOVA و نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Tukey وDuncan ($P<0.05$) و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج

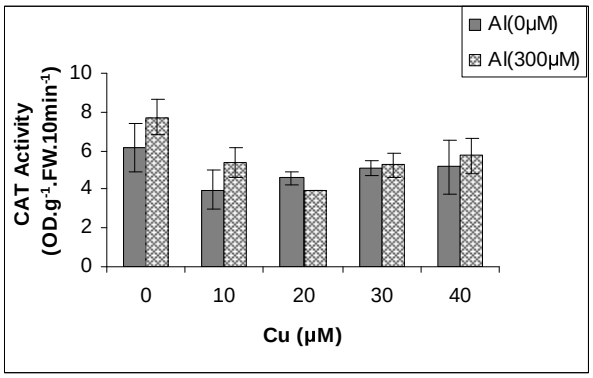
اثر تیمارهای مختلف مس بدون آلومینیوم و با آلومینیوم بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی

کاتالاز: اثر کلی مس بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار است ($P<0.05$) بیشترین فعالیت کاتالازی در ۵۰ میکرومولار مس مشاهده گردید که اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار و نسبت به شاهد و تیمار٤٠ میکرومولار معنی‌دار نمی‌باشد (شکل ۱).

فعالیت کاتالاز در تیمارهای مختلف مس با آلومینیوم (۳۰۰میکرومولار) کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد، اما بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۲). فعالیت کاتالاز در شاهد وغلظت ۱۰ میکرومولار مس با آلومینیوم نسبت به تیمار ۱۰ میکرومولار مس و شاهد بدون آلومینیوم افزایش نشان داد (معنی‌دار نبود). فعالیت کاتالازدر تیمار ۲۰ میکرومولارمس با آلومینیوم نسبت به ۲۰میکرومولار مس بدون آلومینیوم کاهش معنی داری ($P<0.05$) نشان داد (شکل ۲).



شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم برفعالیت آنزیم کاتالاز در *Chlorella vulgaris* beijernick



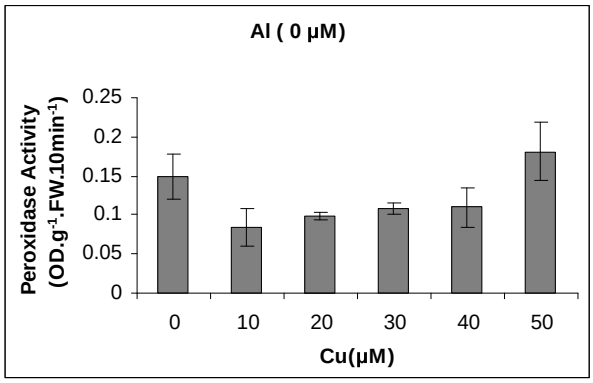
شکل ۲: مقایسه اثرغلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم و با آلومینیوم برفعالیت آنزیم کاتالاز در *Chlorella vulgaris* beijernick

پراکسیداز: اثر مس بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار است ($P<0.05$). افزایش فعالیت پراکسیدازی در غلظت ۵۰ میکرومولار مس بدون آلومینیوم نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار و نسبت به شاهد معنی‌دار نمی‌باشد (شکل ۳). در تیمارهای مختلف مس با آلومینیوم (۳۰۰میکرومولار) فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار ۲۰ میکرومولار نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. بین سایر تیمارها با شاهد و تیمار ۲۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل٤). فعالیت پراکسیداز در تیمار ۲۰ میکرومولار مس با آلومینیوم نسبت به تیمار ۲۰ میکرومولار مس بدون آلومینیوم کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ٤). با حضور آلومینیوم از شاهد تاغلظت ۲۰

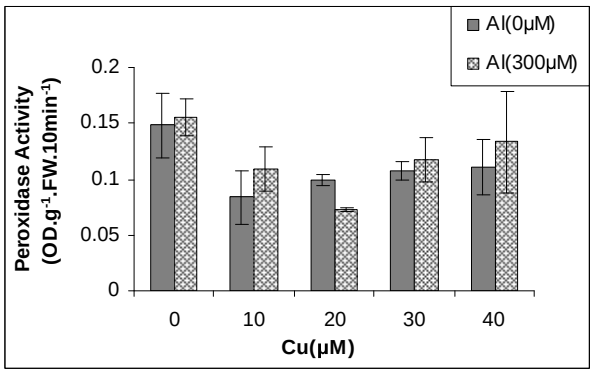
www.SID.ir

Archive of SID

میکرومولارمس کاهش فعالیت پراکسیدازی و با افزایش غلظت مس افزایش فعالیت پراکسیدازی مشاهده گردید.

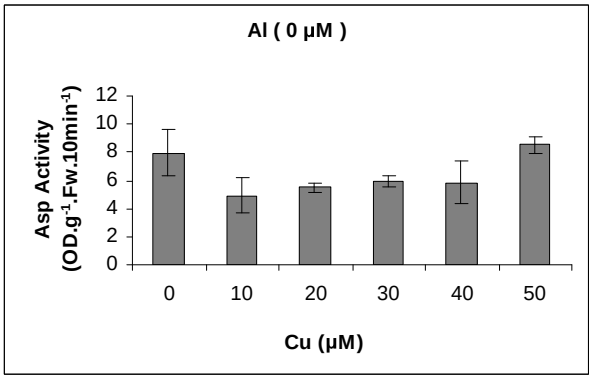


شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در *Chlorella vulgaris* beijernick

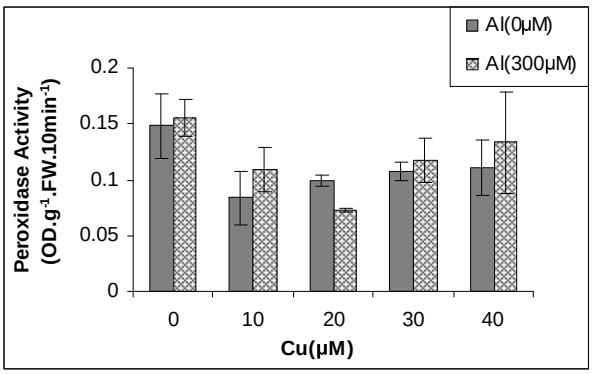


شکل ٤: مقایسه اثرغلظت‌های مختلف مس با و بدون آلومینیوم برفعالیت آنزیم پراکسیداز در *Chlorella vulgaris* beijernick

آسکوربات پراکسیداز: اثر مس بدون آلومینیوم بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار است($P<0.05$). کاهش فعالیت آنزیم در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میکرومولار مس بدون آلومینیوم نسبت به تیمار ۵۰ میکرومولار معنی‌دار می‌باشد و این کاهش نسبت به شاهد و تیمارهای ۳۰ و٤٠ میکرومولار معنی‌دار نمی‌باشد (شکل۵). در تیمارهای مختلف مس با آلومینیوم کمترین فعالیت آنزیم درتیمار ۲۰ میکرومولارمس با آلومینیوم و بیشترین فعالیت در شاهد مشاهده گردید. افزایش فعالیت آنزیم در تیمار٤٠ میکرومولار و شاهد نسبت به تیمار ۲۰ میکرومولار معنی‌دار است ($P<0.05$). باتوجه به شکل ٦ مشاهده گردید در حضور آلومینیوم فعالیت آنزیم از شاهد تا غلظت ۲۰ میکرومولارمس کاهش و در غلظت‌های بالاتراز آن افزایش نشان داده است. کاهش فعالیت آنزیم در تیمار ۲۰میکرومولار مس با آلومینیوم نسبت به ۲۰ میکرومولار مس بدون آلومینیوم معنی‌دار می‌باشد (شکل ٦).



شکل ٥: اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در *Chlorella vulgaris* beijernick

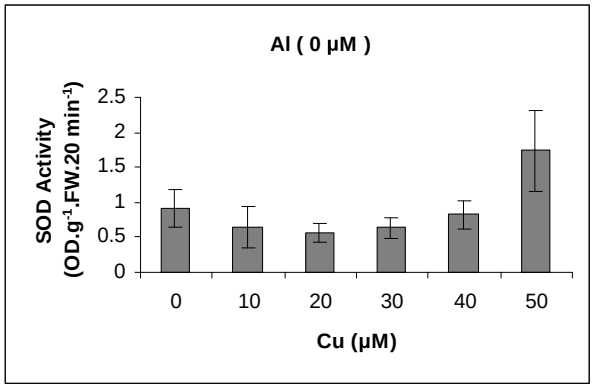


شکل ٦: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف مس با و بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در *Chlorella vulgaris* beijernick

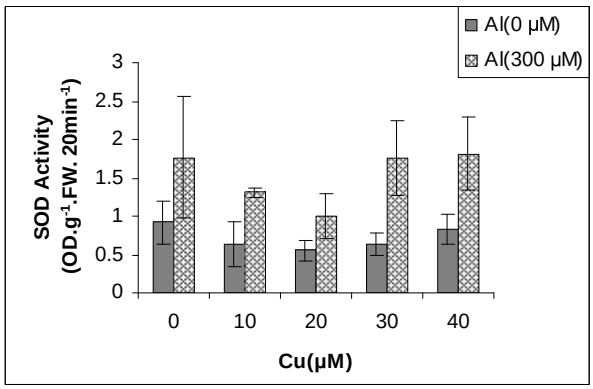
سوپراکسید دیسموتاز: اثر مس بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار است ($P<0.05$). فعالیت آنزیم در غلظت ۵۰ میکرومولار مس نسبت به سایر تیمارهای مس افزایش معنی‌داری نشان داد. البته این افزایش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد معنی‌دار نمی‌باشد (شکل۷). در حضور آلومینیوم (۳۰۰ میکرومولار) فعالیت سوپراکسیددیسموتازی در تیمار ۲۰ میکرومولار کاهش نشان داد، این کاهش نسبت به شاهد و سایر تیمارها معنی‌دار نمی‌باشد (شکل ۸). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تمام تیمارهای مس با آلومینیوم نسبت به تیمارهای مس بدون آلومینیوم افزایش نشان داد (شکل۸).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷: اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم برفعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتازدر *Chlorella vulgaris* beijernick

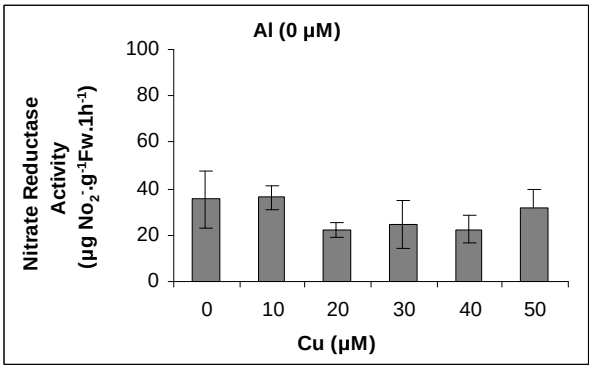


شکل ۸: مقایسه اثرغلظت‌های مختلف مس با و بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتازدر *Chlorella vulgaris* beijernick

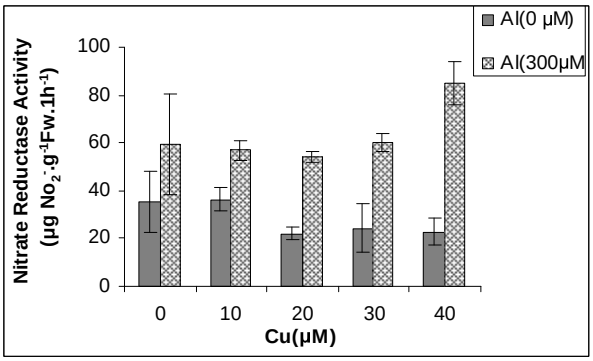
اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم و با آلومینیوم (۳۰۰ میکرومولار) برفعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

اثرغلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز معنی‌دار نمی‌باشد ($P<0.05$). فعالیت آنزیم در تیمار ۲۰ میکرومولار مس کاهش نشان داد که این کاهش نسبت به شاهد و سایر تیمارها معنی‌دار نیست (شکل ۹).

اثر غلظت‌های مختلف مس با آلومینیوم (۳۰۰ میکرومولار) برفعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز معنی‌دار است. کمترین فعالیت آنزیم در تیمار ۲۰ میکرومولار مشاهده گردیدکه این کاهش فعالیت آنزیم نسبت به تیمار ٤٠ میکرومولار معنی‌دار و نسبت به شاهد و تیمارهای ۱۰ و۳۰ میکرومولار معنی‌دار نمی‌باشد (شکل۱۰). فعالیت نیترات ردوکتازی در تیمارهای مس با آلومینیوم افزایش معنی‌داری نسبت به تیمارهای مس بدون آلومینیوم نشان داد ($P<0.05$).



شکل ۹: اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم برفعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در *Chlorella vulgaris* beijernick



شکل ۱۰: مقایسه اثرغلظت‌های مختلف مس با و بدون آلومینیوم بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در *Chlorella vulgaris* beijernick

بحث

نتایج نشان داد، بیشترین فعالیت کاتالازی، پراکسیدازی، آسکوربات پراکسیدازی و سوپراکسیددیسموتازی در غلظت ۵۰ میکرومولار مس است که این افزایش فعالیت آنزیمی در این تیمار نسبت به شاهد معنی‌دار نمی‌باشد. De Vos و همکاران وی (۱۹۹۱) بیان داشتند ظرفیت کاتالاز با غلظت‌های سمی مس در ریشه‌های *Silene cucubalus* افزایش می‌یابد که با نتایج ما همخوانی دارد. افزایش مس در محیط *Scenedesmus vacuolatus* باعث استرس اکسیداتیو می‌شود و دفاع آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد. یک افزایش معنی‌داری در فعالیت کاتالاز در ۲۱۰ و٤١٤ میکرومولار مس و یک افزایش معنی‌داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و

www.SID.ir

Archive of SID

محتوای GSH تنها در ٤١٤ میکرومولار مشاهده گردید به عکس در *Chlorella kessleri* اختلاف معنی‌داری در این پارامترها بین ٦/٢ و ١٠٨ میکرومولار مشاهده نشد (Sabatini et al., 2009). پدیده عملکرد مس، تولید ROS است که استرس اکسیداتیو بیان می‌شود (Luna et al., 1994). به نظر می‌رسد افزایش غلظت مس منجر به افزایش سطح ROS و نهایتاً افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی می‌گردد. Malick در سال ٢٠٠٤ طی بررسی پاسخهای آنتی اکسیدانی جلبک کلرلا ولگاریس تحت استرس مس، بیان نمود با افزایش غلظت مس فعالیت سوپراکسیددیسموتازی افزایش نشان داده و فعالیت کاتالازی و آسکوربات پراکسیدازی کاهش می‌یابد که از بعضی جنبه‌ها با نتایج ما همخوانی و از جنبه هایی دیگر مغایرت دارد.

در تیمارهای مس با آلومینیوم، کاهش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در تیمار٢٠ میکرومولار نسبت به شاهد معنی‌دار است و نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار نمی‌باشد. کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در تیمار ٢٠ میکرومولار نسبت به شاهد و تیمار ٤٠ میکرومولار معنی‌دار و نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار نمی‌باشد و بین فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی تیمارهای مختلف مس با آلومینیوم و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در تیمار٢٠ میکرومولار مس با آلومینیوم فعالیت کاتالازی، پراکسیدازی و آسکوربات پراکسیدازی نسبت به تیمار٢٠ میکرومولار مس بدون آلومینیوم کاهش نشان داد. میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی در تمام تیمارهای مس با آلومینیوم نسبت به تیمارهای مس بدون آلومینیوم افزایش نشان داد. Jusu و همکاران (٢٠٠٤) بیان داشتند افزایش غلظت آلومینیوم در محیط اسیدی باعث افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتازی و پراکسیدازی در *Scenedesmus obliqus* می‌گردد. تحقیقات ساطعی و سروش نسب (١٣٨٧) نشان داد آلومینیوم در غلظت٣٠٠ میکرومولار باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به شاهد، تیمارهای١٠٠ و ٢٠٠ میکرومولار در جلبک کلرلاولگاریس می‌گردد که تاحدودی با نتایج ما مطابقت دارند. Okamoto و Colepicolo (١٩٩٨) نیز بیان داشتند به کارگیری مخلوطی از فلزات (Hg, Cd, Pb, Cu) فعالیت SOD را در *Gonyaulax polyedra* تحریک می‌کند که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

نتایج نشان داد اثر غلظت‌های مختلف مس بدون آلومینیوم بر فعالیت نیترات ردوکتاز بی‌معنی است. Awasthi در سال ٢٠٠٥ بیان داشت افزایش غلظت فلزات نیکل، روی و کادمیوم بر جلبک سبز- آبی *Anacystis nidulans* و جلبک سبز *Chlorella vulgaris* منجر به کاهش فعالیت نیترات ردوکتاز می‌گردد که با نتایج ما مطابقت ندارد. در تیمارهای مس با آلومینیوم بیشترین فعالیت نیترات ردوکتازی در غلظت ٤٠ میکرومولار مشاهده گردید که نسبت به تیمار ٢٠ میکرومولار معنی‌دار و نسبت به شاهد و سایر تیمارها معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین مشاهده گردید در تمامی تیمارهای مس با آلومینیوم افزایش میزان فعالیت نیترات ردوکتاز نسبت به تیمارهای مس بدون آلومینیوم معنی‌دار است. ساطعی و سروش نسب(١٣٨٧) بیان داشتند، فعالیت نیترات ردوکتاز درجلبک *Chlorella vulgaris* درغلظتهای٣٠٠ و٤٠٠ میکرومولار آلومینیوم افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد، ١٠٠و ٢٠٠ میکرومولار نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل افزایش جذب نیترات همراه با افزایش کاتیون آلومینیوم باشد که تاحدودی با نتایج ما همخوانی دارد. تحقیقات Stauberو Florence (١٩٨٧) نشان داد سمیت یونی مس در محیط رشد *Nitzschia closterium*، توسط یونهای فلزی سه ظرفیتی (Cr, Co, Al, Fe, Mn) بهبود می‌یابد، ایجاد یک لایه هیدروکسید فلزی III در اطراف سلول جلبک، مس را جذب نموده و از نفوذ آن به داخل سلول می‌کاهد و باعث کاهش سمیت مس می‌گردد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

در غلظت‌های بالای مس فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی افزایش نشان می‌دهند، حضور آلومینیوم باعث افزایش بیشتری در بعضی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گردیده که تا حدودی از

www.SID.ir

Archive of SID

سمیت مس می‌کاهد. کاهش فعالیت اکثر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تیمار۲۰ میکرومولار مس مشاهده گردید که به نظر می‌رسد در آن غلظت، آلومینیوم نمی‌تواند سمیت مس را کاهش دهد همچنین می‌توان بیان داشت علاوه برمقدار مطلق مس و آلومینیوم، مقدار نسبی آنها در پاسخ جلبک مؤثر است و به این دلیل جلبک رفتارهای دوگانه‌ای را از خود نشان داده است. افزایش فعالیت نیترات ردوکتازی در حضور آلومینیوم می‌تواند دلیلی بر افزایش جذب نیترات و افزایش رشد جلبک باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه افرادی که در طول انجام این تحقیق، راهنمای اینجانب بوده‌اند و سرکار خانم کیایی (مسئول محترم آزمایشگاه تحقیقات)، سرکار خانم رسایی(مسئول محترم آزمایشگاه شیمی) نهایت قدردانی و تشکر را می‌نمایم.

منابع

ساطعی، آ.، و سروش نسب، ل. (۱۳۸۷). بررسی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژی جلبک کلرلاولگاریس به اضافه کردن آلومینیوم در محیط کشت. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

Arrigoni, O. (1992). Ascorbate system in plant development.J. Biomember, 26: 407-419.

Awasthi, M. (2005). Nitrate reductase activity: A solution to nitrate problems tested in free and Immobilized algal cells in presence of heavy metals. J. Environ, Vol. 2, No. 3, pp. 201-206

Baos, R., Garcı´a-Villada, L., Agrelo, M., Lopez Rodas, V., Hiraldo, F, Costas, E. (2002). Short-term adaptation of microalgae inhighly stressful environments: an experimental model analyzing there sistance of *Scenedesmus intermedius* (Chlorophyceae) to the heavy metal smixture from the Aznalcollarmine spill. Eur.J.Phycol. 37, 593–600.

Chance, B. and Maehly, C. (1995). Assay catalase and peroxidase methods enzymol. 11: 764-775

De Vos, C.H.R, H. Schat, M.A.M. De Waal, R. Vooijs, and W.H.O. Ernst. (1991). Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. Physiol. Plant. 82: 523-528

Gadd, G.M., Griffiths, A.J. (1978). Microorganisms and heavy metal toxicity. Microb Ecol 4:303–317

Ginnopolitis, N.C. and Ries, S.K. (1977). Superoxide dismutase occurrence in higher plants. Plant Phys.,59: 309-314.

Gledhill, M., Nimmo, M., Hill, S.J., Brown, M.T. (1997). The toxicity of copper (II) species to marine algae, with particular reference to macroalgae. J. Phycol. 33 (1), 2–11.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.(1999). Free Radicals in Biology and Medicine, third ed. Oxford University Press, New York

Hassal, K. (1963). Uptake of copper and its physiological effects on *Chlorella vulgaris.* Physiol Plant 16:323–332

Jusu,S.A, Kong,F.X, Qing,B.G, Tan,J.K, Han., X.B, (2004). The course biochemical response of green algae *Scenedesmus obliqus* PH. Environ Contam. Toxicol.73:1001-1008

Koroi, A. (1989). Gel electrophores tisch and spectrophotometris echoe unter unchangen zomeinfiuss der temperature auf straktur and aktritat der amylase and peroxidase isoenzyme, Physiol Veg.20:15-23

Lobban, C.S., Harrison, P.J. (1994). Seaweed Ecology and Physiology.Cambridge University Press, NewYork.

Luna, C.M., Gonzalez, C.A. and Trippi, V.S. (1994). Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. Plant Cell Physiol. 35: 11-15.

Mallick,N.(2004). Copper-induced oxidative stress in the chlorophyce an microalga *Chlorella vulgaris:* response of the antioxidant system. J. Plant Physiol.161, 591–597.

McBrien, D.C., Hassal, K. (1967). The effect of toxic doses of copper upon respiration, photosynthesis, and growth of *Chlorella vulgaris.* Physiol Plant 20:113–117

Morris, I. and Syrett, P.J. (1963). The development of nitrate reductase in Chlorella and its repression by ammonium. Arch. Mikrobiol. 47: 32-41.

Okamoto, O.K., Colepicolo, P. (1998). Response of superoxide dismutase to pollutant metal stress in the marine dinoflagellate *Gonyaulax polyedra*.

www.SID.ir

Archive of SID

Sabatini, S.E.,Juarez, A.B., Eppis,M.R., Bianchi , L., Luquet, C.M., Molina, M.C.R.,(2009). Oxidative stress and antioxidant defenses in two green microalgae exposed to Copper. Ecotoxicology and Environmental Safety.doi: 10.1016.

Stauber, J.L. and Florence, T.M. (1987). Mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae. Marine Biology. 94: 511- 519

Sym, G.L. (1984). Optimisation of the invivo assay conditions for nitrate reductase in barly. J. Sci. Food. Agri, 35: 725-730.

Vymazal, J. (1995). Algae and element cycling in wetlands. Lewis Publ., Boca Raton

Yan, H., Pan, G. (2002). Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species. Chemosphere 49, 471–476.

Comp Biochem pHysiol C pHarmacol Toxicol endocrinol. 119:67-73.

Okamoto, O.K., Pinto, E., Latorre, L.R., Bechara, E.J.H., Colepicolo, P.(2001). Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress in algal chloroplasts. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40, 18–24

Pinto, E., Sigaud-Kutner, T.C.S., Leitao, M.A.S., Okamoto, O.K., Morse, D., Colepicolo, P.(2003). Heavy metal-induced oxidative stress in algae. J. Phycol. 39, 1008–1018

Rai, L., Gaur, J.P., Kumar, H.D.(1981). Phycology and heavy metal pollution. Biol. Rev. 56, 99–151

Rijstenbil, J.W., Gerringa,L.J.A.(2002). Interactions of algalligands,metal complexation and availability ,and cell responses of the diatom *Ditylum brightwellii* with agradual increase in copper.Aquat. Toxicol. 56, 115–131

www.SID.ir

Journal on Plant Science Researches, Serial 16, Fourth year, Number 4, Winter 2010
Archive of SID

Aluminum positive influences in reduction of copper toxic effects on nitrate reductase and antioxidant enzymes activities of *Chlorella vulgaris* Beijernick

Sateei, A., Shokravi, S., *Nateghi, N.
Department of biology, Islamic Azad University - Gorgan Branch

Abstract

Chlorella vulgaris beijernick was grown in medium BG-11 with 5 concentrations of copper (10, 20, 30, 40, 50μM) without aluminum or with aluminum (300μM) and pH 7.1 for 10 days in 20 hours light and 4 hours darkness. In this study, the effect of different treatments on the activity of peroxidase, catalase, Ascorbat peroxidase and superoxid dismotase and nitrate reductase, in vivo, was evaluated. Increase of copper concentration caused increase in activity of antioxidant enzymes. Catalase activity in the presence of aluminum in all copper treatments showed a significant reduction, but peroxidase and Ascorbat peroxidase activities in 20μM treatments decreased significantly when compared with control. The significant decrease in the activity of catalase, peroxidase and Ascorbat peroxidase activity, in 20μM copper with aluminum comparing with 20 μM copper without aluminum was also observed. Results also showed that the effect of different concentrations of copper without aluminum on nitrate reductase activity was not significant and most nitrate reductase activity in treatments with copper and aluminum was observed in 40μM that was significant when compared with 20μM treatment and was not significant when compared with other treatments or control. It is concluded that the presence of aluminum, by increasing some of antioxidant enzymes activities, lead to reduce of copper toxicity and algae growth increases.

Key Words: Aluminum, Antioxidant enzymes, *Chlorella vulgaris*, Copper toxicity, Nitrate reductase

*email:nateghi.narges@yahoo.com

www.SID.ir