

اثر آلومینیوم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فعالیت نترات ردوکتاز، میزان اسمولیت‌ها و برون ریزش آمونیوم در *Dunaliella salina teodoresco*

آرین ساطعی^{۱*}، مه لقا قربانلی^۲ و فاطمه یدالهی^۳

۱- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، استاد راهنما

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، مشاور

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

تاریخ پذیرش: ۸۸/۹/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۲۸

چکیده

اثر آلومینیوم با غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نترات ردوکتاز، محتوای اسمولیت‌ها و برون ریزش آمونیوم بر روی جلبک *Dunaliella salina Teodoresco* مورد بررسی قرار گرفت. اثر آلومینیوم بر فعالیت پراکسیدازی، نترات ردوکتازی، برون ریزش آمونیوم و محتوای گلوسین بتائین معنی‌دار نبود اما این عنصر باعث کاهش فعالیت کاتالازی، سوپر اکسید دیسموتازی (در غلظت ۳۰۰ میکرومولار) و افزایش فعالیت اسکوربات پراکسیدازی شد. همچنین آلومینیوم باعث کاهش محتوای پرولین در این جلبک شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که جلبک *Dunaliella salina Teodoresco* از طریق افزایش فعالیت اسکوربات پراکسیدازی قادر به تحمل تنش فلز آلومینیوم می‌باشد.

واژگان کلیدی

Dunaliella salina Teodoresco، آلومینیوم، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز.

Effect of Al antioxidant enzymes activity, nitratereductase activity, amount of osmolite and release of ammonium in *Dunaliella salina teodoresco*.

Sateei, A. Ghorbani, M. Yadollahi, F.

Abstract

Aluminum effect with 0, 100, 200, 300, 400, 500 and 1000 μ molar concentrations was considered during ten days on *Dunaliella salina Teodoresco* antioxidant enzymes, osmolite contents, nitrate reductase activity and ammonium release on were measured. The results showed that ammonium release, peroxidase, nitrate reductase activity and glycine betaine content had not any significant differences but catalase, superoxide dismutase (300 μ molar concentration) activities, and proline content decreased and ascorbate peroxidase activity increased significantly. Based on the results of this study, the green alga *Dunaliella salina Teodoresco* green alga can tolerate Al stress by ascorbate peroxidase activity increase.

Keywords: *Dunaliella salina Teodoresco*, Al, catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase

مقدمه

آلومینیوم یک عنصر شیمیایی با علامت Al و عدد اتمی ۱۳ است. عنصری نقره ای رنگ و انعطاف پذیر است. عمدتاً به صورت سنگ معدن بوکسیت یافت می شود و از نظر مقاومتی که در برابر اکسیداسیون دارد، همچنین وزن و قدرت آن قابل توجه است. آلومینیوم دارای ۹ ایزوتوپ است که عمده ترین آنها بین ۲۳ تا ۳۰ مرتب شده اند. تنها Al-27 (ایزوتوپ پایدار) و Al-26 (ایزوتوپ رادیواکتیو) به طور طبیعی وجود دارند. آلومینیوم به صورت کاتیون سه ظرفیتی محلول است که در غلظت میلی مولار باعث سمیت در گیاهان می شود. اطلاعات بیولوژیکی اثرات آلومینیوم در جانوران، گیاهان و جلبک ها حاکی اثرات منفی و بازدارنده آن است که معمولاً نیز با تغییر pH انجام می گیرد. در میان میکروارگانیسم ها بیشترین مقاومت اسیدی به آلومینیوم مربوط به مخمرها و قارچ هاست. سمیت آلومینیوم فاکتور محدود کننده رشد برای گیاهان در خاک های اسیدی با pH زیر ۵ تا ۵/۵ می باشد (Adams, 1979 & Alam). پاسخ به استرس آلومینیوم با تولید اکسیژن های واکنشگر مانند رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، رادیکال اکسیژن، اکسیژن یکتایی و مولکول های سمی پراکسید هیدروژن همراه است (Teresa et al., 2003). اکسیژن های واکنشگری که در سلول تولید میشوند به وسیله دو سیستم آنتی اکسیداتیو آنزیمی و غیر آنزیمی سم زدایی میشوند در صورت عدم سم زدایی موجب آسیب جدی به پروتئین ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک میشوند. به طور کلی فلزات سنگین استرس اکسیداتیو را القاء می کنند. و نیز با گسیختن زنجیره انتقال الکترون منجر به تولید آنیون سوپر اکسید می شوند (Asadi and Takahashi, 1987). موجودات زنده مکانیسم های دفاعی متفاوتی را در مقابل آلومینیوم به کار می گیرند، که شامل عدم فرایند انتقال یون های سه ظرفیتی می باشد. به نظر میرسد ترکیباتی که با آلومینیوم کمپلکس پایدار اسیدهای آلی تشکیل میدهند، مانند اگزالات، اثر سمی آلومینیوم را تخفیف می دهند. تاثیرات مهم آلومینیوم بر سلول های جلبک شامل لیز شدن و زوال تدریجی غشاهای سلول ها است. به نظر می رسد که آلومینیوم به صورت سینرژیکی روی غشای سلولها اثر گذاشته و آنها را به سمت زوال و نابودی می کشاند (et al., 2007). همچنین فلزات دیگر نیز میتوانند بر روی جلبک ها تاثیر بگذارند، از جمله این فلزات میتوان به سیلیکون اشاره کرد که در حضور آلومینیوم رشد را در جلبک *Dunaliella salina* Teodoresco تحریک میکند. این در حالی است که در جلبت کلرلا وولگاریس این مسئله در عدم حضور سیلیکون اتفاق می افتد (Exley et al., 1993). همچنین کادمیوم نیز بر فتوسنتز جلبک *Dunaliella salina* Teodoresco از طریق کم کردن میزان کلروپلاست تاثیر گذار است، علاوه بر این کادمیوم باعث افزایش میزان لیپید و کاهش حجم پیرونیوئید نیز میشود (Visviki & Rachlin, 1993). به طور کلی هدف از این تحقیق بررسی اثر غلظت های مختلف آلومینیوم بر فعالیت آنتی اکسیدان ها، اسمولیتها، نیترات ردوکتاز و برون ریزش آمونیوم با توجه به نقش حساس آنها در نمو *D. salina* بوده است.

مواد و روشها

جلبک دونالیلا سالینا در محیط کشت جانسون دارای $AlCl_3$ با غلظت های مختلف ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار، pH 7/5 با دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد و شدت نور ۱۵۰۰ لوکس با تناوب ۲۰ ساعت روشنایی و ۴ ساعت تاریکی در طی ده روز رشد داده شد، همچنین هوادهی به کمک پمپ هوادهی در هر روز انجام شد. نتایج حاصل از سنجش مقادیر مختلف با در نظر گرفتن ۳ تکرار برای هر مورد محاسبه و به صورت میانگین و انحراف معیار معرفی شده اند. آزمون آنالیز واریانس (Anova) با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح ۰/05 انجام شدند و برای رسم نمودارها از نرم افزارها Excel استفاده شد.

سنجش فعالیت پراکسیداز (Koroi, 1989)

جهت بررسی اثر آلومینیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در جلبک مراحل زیر انجام شد.

الف) تهیه محلول عصاره‌گیری

1/2 گرم تریس با ۲ گرم اسید اسکوربیک، 3/8 گرم بوراکس، ۲ گرم EDTA Na₂ و ۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ مخلوط و توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانیده شد و رساندن حجم به ۱۰۰ میلی لیتر با آب مقطر.

ب) استخراج عصاره آنزیمی

سائیدن جلبک با چهار میلی لیتر محلول عصاره‌گیری، سانتریفوژ محلول به مدت نیم ساعت با ۴۰۰۰ دور، نگهداری محلول رویی در دمای ۴۰۰ درجه سانتیگراد.

ج) سنجش فعالیت آنزیم

مخلوط کردن ۱ میلی لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار با ۰/۴ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه و ۰/۱ مولار، اضافه کردن ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به مخلوط و خواندن جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر و محاسبه فعالیت آنزیم.

سنجش فعالیت کاتالازی (Chance and Maehly, 1995)

۵ میلی لیتر مخلوط اندازه‌گیری فعالیت آنزیم شامل ۳۰۰ میکرومول بافر فسفات با pH 6.8، ۱۰۰۰ میکرومول آب اکسیژنه تهیه شده و ۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی دوباره رقیق شده، قرار دادن مخلوط به مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته و ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۲ درصد (به نسبت حجمی) به مخلوط جهت توقف فعالیت آنزیم اضافه شد. مخلوط حاصل با پرمنگنات پتاسیم ۰/۱ نرمال تا تشکیل رنگ صورتی کم‌رنگ تیترا شد. فعالیت آنزیم بر حسب تجزیه یک میکرومول آب اکسیژنه در یک دقیقه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیدازی (Arrigoni et al, 1994)

جهت بررسی فعالیت این آنزیم از عصاره آنزیمی پراکسیداز استفاده می‌شود. در این سنجش ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۵ مولار را با ۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر اسکوربات ۵۰ میکرو مولار در حمام یخ مخلوط نموده و بلافاصله ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه کرده سپس تغییرات جذب در ۶۲۵ نانومتر خوانده شد.

سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی (Gianantolis & Ries, 1977)

پس از تهیه عصاره آنزیمی فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی با اندازه‌گیری قابلیت هر عصاره در بازداشت واکنش احیای فتوشیمیایی نیترو بلوتترازولیم تعیین شد. سپس خواندن جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر، توسط محلول دارای عصاره آنزیمی بدون روشنایی به عنوان شاهد تنظیم گردید. سپس فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتازی بر اساس واحد آنزیمی برای تمام نمونه‌ها در مدت ۱۶ دقیقه محاسبه شد.

سنجش گلیسین بتائین (Sairam & Srivaatava, 2002)

ده میلی لیتر جلبک در لوله‌های توزین شده در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ شده، رسوب جلبکی را در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر ساییده دوباره سانتریفوژ کرده، محلول رویی به نسبت یک به یک با اسید سولفوریک ۲ نرمال رقیق کرده، ۰/۸

میلی لیتر یدیدین اضافه کرده و هم زده شد. محلول ۱۶ ساعت در دمای صفر درجه نگهداری شد، سپس در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ گردیده و یک میلی لیتر از محلول رویی جدا و با ۹ میلی لیتر ۱ و ۲ دیکلرواتان مخلوط و هم زده شد. پس از ۳ ساعت جذب محلول تحتانی در طول موج ۳۶۵ نانومتر خوانده شد.

سنجش پرولین (Bates et al., 1973)

پس از تهیه معرفها (اسید نینهیدرین، اسید استیک خالص و تولوئن) ۱۰ میلی لیتر جلبک در لوله‌ها توزین شده، در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ شده، در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالسیلیک سائیده شد. سپس در ۱۰۰۰ دور سانتریفوژ و ۲ میلی لیتر محلول رویی را به لوله دیگر منتقل کرده، ۳ میلی لیتر اسید نینهیدرین و ۳ میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه کرده سپس ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شد. پس از ثابت شدن و تشکیل دو لایه رنگی مجزا، جذب لایه فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش فعالیت نیترات ردوکتاز (Sym, 1984)

جهت بررسی فعالیت نیترات ردوکتاز در ابتدا جلبک توزین و به مدت یک ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در تامپون فسفات نگهداری شد. بعد از گذشت مدت زمان لازم ۲ میلی لیتر از محلول، یک میلی لیتر گریس یک و دو افزوده و جذب نوری آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. جهت یافتن غلظت نیتريت حاصل از احیای نیترات تحت تاثیر انزیم نیترات ردوکتاز از منحنی استاندارد نیتريت سدیم در غلظت‌های مختلف استفاده شد و به ازای مقدار نیتريت تولید شده در گرم ماده تر فعالیت آنزیم محاسبه شد.

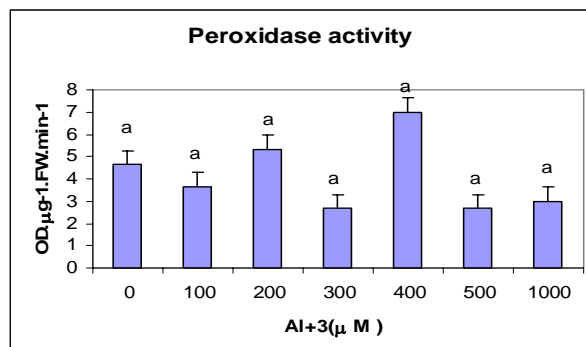
سنجش آمونیوم (Solorzano, 1969)

برون ریزش آمونیوم از روش فنات انجام شد به این ترتیب که ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون جلبکی را سانتریفوژ کرده ابتدا یک قطره (۰/۰۵ml) محلول $MnSO_4$ به سوپر ناتانت افزوده و مخلوط را با همزن مغناطیسی هم می‌زنیم و سپس به آن ۰/۵ml اسید هیپو کلروس اضافه می‌کنیم. بلافاصله یک قطره (۰/۶ml) معرف فنات افزوده شد. سپس دستگاه اسپکترو فتومتر را با شاهد صفر کرده و جذب‌های مربوطه در طول موج $\lambda = 630nm$ خوانده شد.

نتایج

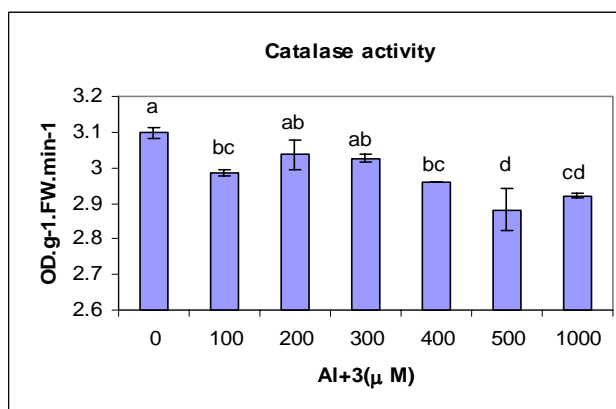
اثر آلومینیوم بر آنتی اکسیدان‌ها

- اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت پراکسیدازی با توجه به شکل ۱ معنی دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). تمامی تیمارها نسبت به شاهد و یکدیگر اختلاف معنی داری نشان ندادند. حروف یکسان نشان دهنده این است که اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود ندارد.



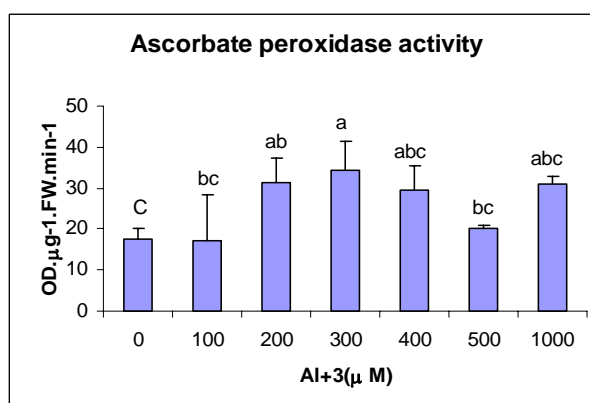
شکل ۱- فعالیت پراکسیدازی جلبک *D.salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب ($\mu g^{-1}.FW$)

- اثر آلومینیوم بر کاهش فعالیت کاتالاز با توجه به شکل ۲ معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$). کاهش فعالیت در تیمارهای ۱۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو مولار آلومینیوم نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بوده است. حروف متفاوت نشان دهنده این است که اختلاف معنی‌دار بین تیمارها وجود دارد.



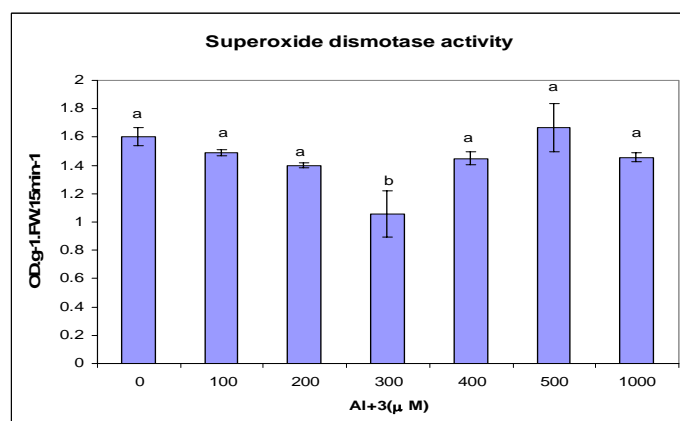
شکل ۲- فعالیت کاتالازی جلبک *D. salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب (g⁻¹.FW)

- اثر آلومینیوم بر افزایش فعالیت اسکوربات پراکسیداز با توجه به شکل ۳ معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$). افزایش فعالیت در تیمارهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرو مولار نسبت به تیمار شاهد مشاهده شده است.



شکل ۳- فعالیت اسکوربات پراکسیدازی جلبک *D. salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب (μg⁻¹.FW)

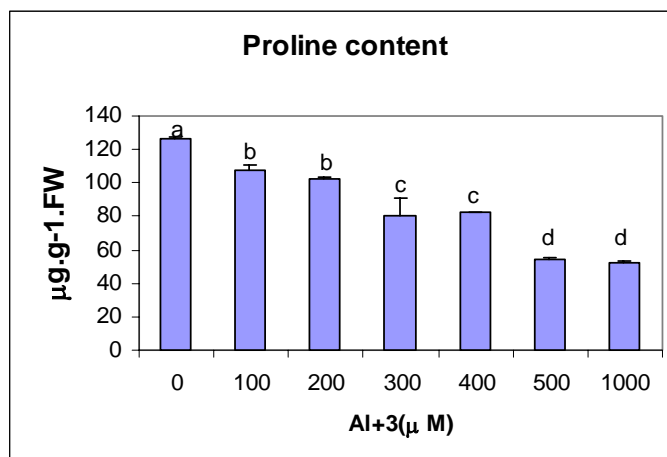
- اثر آلومینیوم بر کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بوده است ($P > 0.05$). با توجه به شکل (۴) در غلظت ۳۰۰ میکرو مولار کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و سایر غلظت‌ها مشاهده شده است.



شکل ۴- فعالیت سوپراکسید دیسموتازی جلبک *D. salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب (g⁻¹.FW)

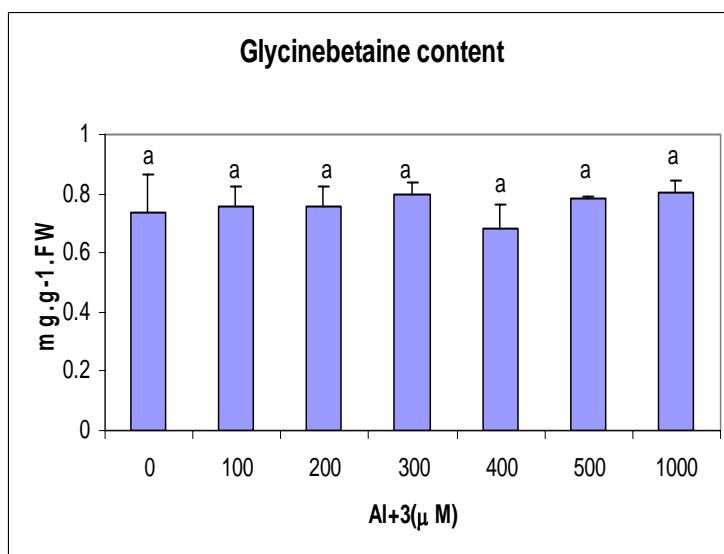
اثر آلومینیوم بر محتوای اسمولیت‌ها

- اثر آلومینیوم بر میزان پرولین با توجه به شکل ۵ معنی‌دار بوده است ($P > 0.05$). تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد اختلاف (کاهش) معنی‌داری را نشان داده‌اند



شکل ۵- محتوای پرولین جلبک *D. salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب ($\mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$)

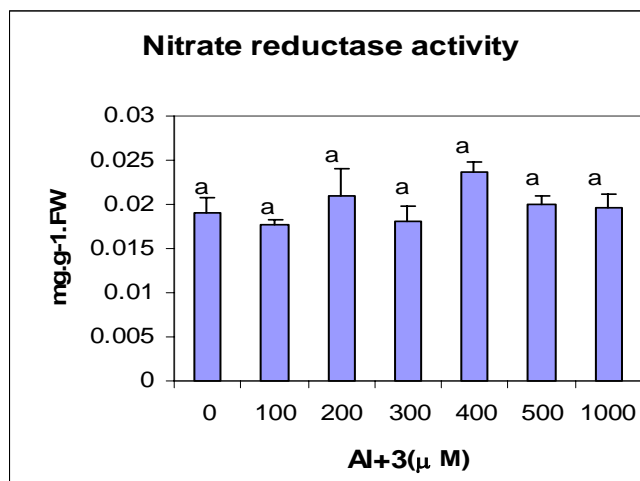
- اثر آلومینیوم بر افزایش گلیاسین بتائین معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد با توجه به شکل (۶) افزایش معنی‌داری نشان ندادند.



شکل ۶- محتوای گلیاسین بتائین جلبک *D. salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب ($\text{mg.g}^{-1}.\text{FW}$)

اثر آلومینیوم بر فعالیت نترات ردوکتاز

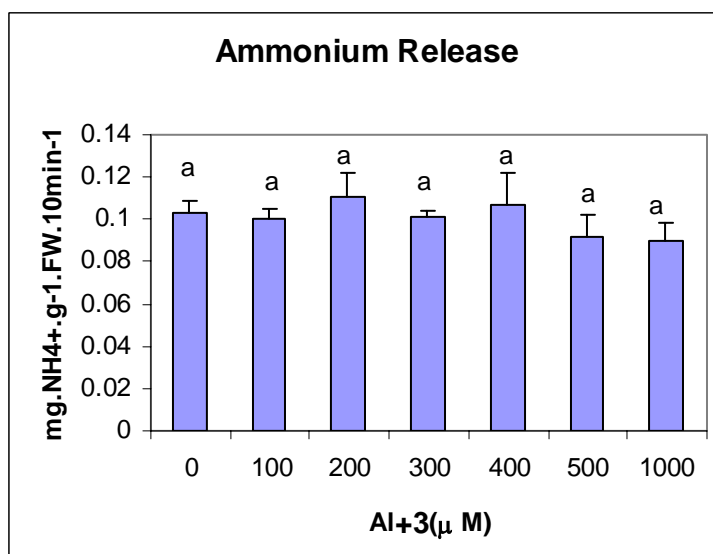
اثر آلومینیوم بر فعالیت نترات ردوکتاز با توجه به شکل ۷ معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان ندادند.



شکل ۷- فعالیت نیترات ردوکتازی جلبک *D.salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب (mg.g⁻¹.FW)

اثر آلومینیوم بر برون ریزش آمونیوم

اثر آلومینیوم بر برون ریزش آمونیوم با توجه به شکل ۸ معنی‌دار نمی‌باشد. ($P > 0.05$) تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان ندادند.



شکل ۸- برون ریزش آمونیوم جلبک *D.salina* در غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر حسب (mg.g⁻¹.FW)

بحث و نتیجه‌گیری

موجودات زنده مکانیسم‌های دفاعی متفاوتی را در مقابل آلومینیوم به کار می‌گیرند که شامل عدم فرایند انتقال یونهای سه ظرفیتی می‌باشد. به نظر میرسد ترکیباتی که با آلومینیوم کمپکس پایدار اسیدهای آلی تشکیل می‌دهند، مانند اگزالات، اثرات سمی آلومینیوم را کاهش می‌دهند. در استرس‌های مختلف اکسیدان‌هایی نظیر انواع اکسیژن‌های واکنشگر تولید می‌شود که به ساختار غشا در گیاه آسیب می‌رساند. دیده شده است که در بین آنتی‌اکسیدان‌ها

آسکوربات دارای نقش حیاتی در سلول‌های زنده است و سبب از بین رفتن اکسیژن‌های واکنشگر می‌شود (Smirnoff *et al.*, 2001)

همچنین آب اکسیژنه اثرات مضر اکسیداتیو در متابولیسم گیاه دارد که توسط آنزیم‌های کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز از بین می‌رود. کاتالاز نقش مهمی در افزایش مقاومت به استرس اکسیداتیو در شرایط نرمال بر عهده 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 به اثبات رسیده است. طبق نتایج Panada و همکاران (۲۰۰۳) که کاهش فعالیت کاتالاز را در ارتباط با افزایش آلومینیوم در گیاه *Gree gram* (*Vinga radiata*) نشان دادند در این پژوهش نیز کاهش فعالیت کاتالازی در تیمارهای ۱۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو مولار نسبت به شاهد معنی‌دار بود. همچنین بر طبق نظر Meenakshi (۲۰۰۷) فعالیت کاتالازی در حضور مس در جلبک کلرلا وولگاریس نیز کاهش پیدا می‌کند. میزان آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش معنی‌داری در تیمارهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرو مولار نسبت به شاهد نشان داد، اما فعالیت پراکسیدازی افزایش معنی‌داری نداشت. فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز نیز نسبت به شاهد اختلاف (کاهش) معنی‌داری در غلظت ۳۰۰ میکرومولار آلومینیوم نشان داد. Junsu و همکاران (۲۰۰۴). طی تحقیقاتی اعلام داشتند که افزایش غلظت آلومینیوم در محیط‌های اسیدی افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز را در سندسمدس به همراه داشته است. که این نتایج مغایر با نتایج بدست آمده در مورد جلبک *Dunaliella salina* Teodoresco می‌باشد. همچنین بر طبق نظر Nikookaar و همکاران (۲۰۰۵) در حضور مس فعالیت آسکوربات پراکسیدازی در این جلبک افزایش پیدا می‌کند.

در تنش‌های مختلف پرولین و گلیسین بتائین به طور گسترده در گیاهان عالی در مقادیر بالاتری نسبت به اسیدهای آمینه دیگر تجمع پیدا می‌کنند. برخی محققین معتقدند که تجمع پرولین ممکن است یک سیستم حفاظتی نبوده، بلکه یک ترکیب ذخیره‌ای برای ازت و یا یک منبع انرژی باشد (Palleg & Apinall, 1981). پرولین در زمان رفع تنش به عنوان منبع سریع قابل دسترس نیتروژن و کربن نیز به کار می‌رود (Bussis & Henink, 1998). در این تحقیق میزان گلیسین بتائین افزایش معنی‌داری نداشته است، اما میزان پرولین در تمامی تیمارها کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد پیدا کرده است. Meenakshi (۲۰۰۷) پس از بررسی‌های خود بر روی جلبک کلرلا وولگاریس بیان کرد که در حضور مس میزان پرولین و گلیسین بتائین افزایش می‌یابد که این نتایج مغایر با نتایج بدست آمده در این پژوهش است.

کلروفیتا می‌توانند از اشکال مختلف نیتروژن استفاده کنند (Richmond, 1988). چنانچه می‌دانیم در طی فرایند اسیمیلاسیون، ریز جلبک‌ها نیترات را جذب کرده، با مصرف انرژی به نیتريت و سپس آمونیوم تبدیل می‌کنند. آمونیوم وارد سیکل‌های اسیمیلاسیون (گلوتامین/گلوتامات) شده، سبب تولید اسید آمینه‌های مختلف می‌گردد. مقدار برون ریزش آمونیوم و همچنین میزان نیترات ردوکتاز در طی این تحقیق همان طوری که قبلاً گفته شد در تمامی تیمارها افزایش معنی‌داری پیدا نکرده است که این نتیجه با نتایج ساطعی و سروش نسب (۱۳۸۷) که اثر آلومینیوم را بر روی جلبک کلرلا وولگاریس مورد بررسی قرار دادند، مطابقت می‌کند. همچنین Mamta (۲۰۰۴) که اثر نیکل را بر روی جلبک کلرلا وولگاریس بررسی کرده بود، کاهش فعالیت نیترات ردوکتاز را در این جلبک گزارش کرد. نتایج این تحقیق نشان داده است که اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر فعالیت پراکسیدازی، نیترات ردوکتاز و برون ریزش آمونیوم معنی‌دار نبوده است اما بر فعالیت کاتالازی، آسکوربات پراکسیدازی و سوپراکسید دیسموتازی

معنی‌دار بوده است. همچنین دیده شده که آلومینیوم بر محتوای گلیسین بتائین بی تاثیر بوده، ولی میزان پرولین را کاهش می‌دهد.

فهرست منابع

- ساطعی، آ.رین و سروش نسب. لادن. ۱۳۸۷. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.
- Alam S. M. & Adams, W. A. 1979. Effects of Aluminum on nutrient composition and yield of roots, J. Plant Nutr. 1: 365-375
- Ames, B.N; Shingena, M. K. & Hegen, T. M. 1993. Oxidant, antioxidants and the degenerative sidease off aging. Proc. Nat. Acad. Sci., 90: 7915-7922.
- Arrigoni, O. 1994. Ascorbate system in plant development. Journal of Bioenergy, 26: 407- 419.
- Asada, K. & Takchashi, M. 1987. Production and scavenging of active oxygens and dissip - ation of excess photons. Annu. Rev. Plant physiol. plant Mol. Biol., 50:601-39.
- Bates, I.S; Walderen, R.P & Trear, I. D. 1973. Rapid determination of free proline in water stress studies Plant of Soil., 34: 205-207.
- Bussis, D. & Henink, D. 1998. Acclimation of potato plants to polyethylene glycol induces water deficits. Plant Physiol., 79: 415-419.
- Chance, B., & Maehly, C. 1995. Assay catalase and peroxidase. Methods Enzymology, 11: 764-775.
- Exley, C. ; Tollervey, A. ; Gray, G. ; Roberts, S. & Birchall, J. D. 1993. Silicon; Aluminium and the Biological Availability of Phosphorus in Algae. Biological Sciences, 253: 93-99.
- Ginannoto, C.N & Ries, S.K. 1977. Superoxid dismutase; II. purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. Plant Physiol., 95: 315-318.
- Jusu.S.A.; Kong,F.X.; Qing, B.G.; Tan, J.K. & Han, X.B. 2004. The course biochemical response of green algae *Senedesmus oblicus* PH. Environ. Contam. Toxicol., 73: 1001-1008.
- Koroi, S.A. 1989. Gel electrophoresis and spectrophotometric changes under unchanging zone in river temperature on structure and peroxidase isoenzymes. Physiology Veg., 20: 15-23.
- Mamta, A. 2004. Heavy metal toxicity on nitrate reductase activity of free and immobilized alga cell. Plant Physiol., 791:106.
- Meenakshi, F.C.; Mohamed, A.K.; Sunaina, Z & Tashneem, F. 2007. Effect of heavy metal on Proline, Malondialdehyde and Superoxide dismutase activity in the micro alga *Chlorella vulgaris*. , Journal of Plant Physiol., 161:591-597.
- Nikookar, K.; Moradshahi, A. & Hosseini, L. 2005. Physiological responses of *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta* to copper toxicity. Department of Biology, College of Sciences., Shiraz University. J. phycol., 4:6-141.
- Palleg L.G., & Aspinall, D. 1981 The physiology and biochemistry of drought resistance in plant. Academic Press. Plant Physiol. 24: 789-984.

- Panada.S.K; Singha,L.B.& Khan,M. H. 2003. Dose Aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in green gram (*Vigna radita*) Plant Biochemistry Laboratory, School of Sciences, Assam (Central) University, Silchar. Plant Physiol., 78:1011-1022.
- Richmond, A.1988.Handbook of microalga mass culture. CRC Press. INC.
- Sacan, M.; Fu Sun O.& Sehnaz, B . 2007. Exposure of *Dunaliella tertiolecta* to lead and Aluminium toxicity and effect on ultrastructure. Biological Trace Element Research .,120:64-72.
- Sairam, R. K. & Srivastava, G. C. 2002. Change in antioxidant activity in subcellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Journal of Experimental Botany., 182:897-904.
- Smirnoff, N.; Conklin PL. & Loewus, F.A. 2001. Biosynthesis of ascorbic acid in plants; a renaissance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology., 25: 437-467.
- Solorzano, I. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol hypochlorite method. Limnology Oceanography, 14: 799-801.
- Sym, G.L. 1984 .Optimization of the in vivo assay condition for nitrate reductase in barley. J.Science.Food.Agriculture, 35:725-730.
- Teresa. S.; Kutner–Sigaud, M.; Leitao, A. S. & Oswaldo, K. 2003. Heavy metal–Induce oxidative stress in Algae, J. Phycol. 39:1008 – 1018.
- Visviki, I. & Rachlin, J. W. 1993. Aluminum and the biological availability of phosphorus in algae. Biological Trace Element Research,160:146-153.