اثر ترکیبی توفوردی با کینتین، بنزیل امینو پورین و اسید سالیسیلیک بر رشد و محتوای متابولیت-های جلبک *Chlorella sorokiniana*

چکیده

کلرلا جلبک سبز تک‌سلولی است که در صنعت غذایی و دارویی مورداستفاده قرار می‌گیرد. ازآنجایی‌که وجود و اثر برخی هورمون‌های گیاهی بر رشد جلبک‌ها ثابت‌شده است، یکی از راه‌های افزایش بیوماس جلبک استفاده از هورمون‌های گیاهی است. در این پژوهش که درسال ۱۳۹۵ انجام پذیرفت، سلول‌های جلبک *Chlorella sorokiniana* در محیط کشت پایه بولد (Bold) اصلاح‌شده کشت شد، سپس به محیط کشت ۵ گرم در لیتر گلوکز منو هیدرات و نسبت‌های مختلف هورمون‌های توفوردی (2,4-D) توأم با کینتین (Kin)، بنزیل امینو پورین (BAP) و سالیسیلیک اسید (SA) افزوده شد. بر اساس آنالیز واریانس یک‌طرفه با $P\leq ۰/۰۵$ ، مناسب‌ترین تیمار برای افزایش بیوماس و محتوای رنگیزه‌های این جلبک استفاده از هورمون-های 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) بود. در این تیمار و شاهد به ترتیب، وزن خشک (۹۰/۶ و ۶۴/۹ میلی‌گرم)، تعداد سلول‌ها دریک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک ($۱۸/۳\times۱۰^{۷}$ و ۱۱×۱۰^{۷})، محتوای کلروفیل a (۷ و ۶/۴)، کلروفیل b (۴ و ۲/۵) و کاروتنوئید (۳/۶ و ۲/۲) میکروگرم در میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک بود که همه‌ی صفات به‌استثنای تعداد سلول و محتوای کلروفیل b افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند. در این تیمار درصد پروتئین ۹/۹ بود که نسبت به شاهد (۱۱درصد) کاهش معنی‌داری را نشان داد. افزودن سالیسیلیک اسید (۰/۱۳۸، ۱/۳۸، ۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) به تیمار 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) ، سبب افزایش معنی‌دار پروتئین و کاهش معنی‌دار وزن خشک نسبت به این تیمار گردید ولی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. نتایج نشان داد که افزودن ترکیب هورمون‌های2,4-D (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) +Kin (۱ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت سبب افزایش بیوماس و کلروفیل a جلبک *Chlorella sorokiniana* گردید.

واژگان کلیدی: پروتئین، کلروفیل a و b ، *Chlorella sorokiniana*، هورمون‌های گیاهی.

آمنه جمشیدی[۱]*

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور ، تهران، ایران

***مسئول مکاتبات:**

ameneh.jamshidi@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۸۰۲۰۶۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

مقدمه

جلبک کلرلا گونه‌های متعددی دارد که حاوی متابولیت‌های ارزشمندی مانند پروتئین‌ها، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، لیپیدها و مواد معدنی هستند (جمشیدی و همکاران، ۱۳۹۷) که در صنایع غذایی (غذای آبزیان و غذای دام و طیور) و صنایع دارویی (مکمل و پایین آورنده کلسترول) و بسیاری موارد دیگر، مورداستفاده قرار می‌گیرند (Tate *et al*., 2013; Zabochnicka-Swiatek, 2010). اخیراً خواص ضد سرطانی *C. sorokiniana* نیز موردبررسی قرارگرفته است (Reyna-Martinez *et al*., 2018). توفوردی، کینتین،بنزیل امینوپورین و اسید سالیسیلیک تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند. توفوردی علف‌کش اکسینی است و در مقادیر بسیار ضعیف (در حد میلی‌گرم) اثر اکسینی دارد. هورمون‌های کینتین و بنزیل امینوپورین اثر سیتوکینینی دارند و اسید سالیسیلیک هورمون مقاومت در برابر تنش است. هورمون‌های گیاهی در

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

جلبک‌ها وجود دارند (Czerpak *et al*., 1994). برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سلول‌های جلبکی (Tarakhovskaya *et al*., 2007) مثل افزایش ابعاد و تعداد سلول، تغییر محتوای قندها، پروتئین و رنگیزه‌ها تحت کنترل هورمون‌ها هستند (Tate *et al*., 2013). به‌علاوه تغییر در غلظت هورمون‌ها، می‌تواند سبب تغییر رشد جلبک گردد (Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk, 2013; Stirk *et al*, 2013). تولید هورمون‌ها تحت کنترل ژن‌های جلبک است. طبق گزارش‌های اخیر در جلبک *C. sorokiniana* ژن‌های کد کننده‌ی ایندول استیک اسید از سه مسیر سبب تولید این هورمون می‌شوند و در این جلبک در طی تنش اسمزی اسیدآبسیزیک ایجاد می‌شود (Khasin, 2017). در مواردی محققین اثر یک هورمون را بر رشد جلبک‌ها بررسی کرده‌اند.. Chai و Chung (۱۹۷۵) گزارش کردند که 2, 4-D در غلظت پایین (۲۲ میلی‌گرم در لیتر) سبب رشد *Chlorella elipsoidea* گردید. Kobbia و El-Sharouny (۱۹۸۴) نشان دادند که حداکثر رشد و میزان کلروفیل در دو جلبک *Nostoc muscorum* و *Tolypothrix lanata* در ۵۰ میلی‌گرم در لیتر 2, 4-D مشاهده گردید و در غلظت بیشتر از آن کاهش یافت. Piotrowska و Czerpak (۲۰۰۹) اثر سیتوکینین‌های تیپ آدنین و فنیل اوره در نور و تاریکی بر جلبک *Chlorella vulgaris* بررسی کردند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که تیمار کلرلا با سیتوکینین‌های تیپ آدنینی، زاتین، کینتین و بنزیل آدنین (Z, Kin, BA) و دی فنیل اوره، اثرات مثبتی بر حیات و افزایش ۱/۵ تا ۲ برابر تعداد سلول و افزایش کلروفیل و کاروتنوییدها داشت. در بین سیتوکینین‌ها تیمار با BA سبب بیشترین اثر افزایشی شد. طبق گزارش Bajguz و Piotrowska-Niczyporuk (۲۰۱۴) کینتین در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرو مولار (۰/۲۱۵ و ۲/۱۵ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش تعداد سلول‌های جلبک *C.vulgaris* شد. Liu وهمکاران (۲۰۱۷a) گزارش کردند که کینتین در تنش آمونیوم (محیط واجد ۱ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیوم) با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش رشد (بیوماس) *Chlorella pyrenoidosa* گردید. طبق گزارش محققین سالیسیلیک اسید در غلظت $۱۰^{-۴}$ مولار سبب بیشترین تغییرات معنی‌دار در حجم جلبک *C.vulgaris* گردید. در این غلظت تعداد سلول‌ها ۴۰درصد و میزان پروتئین ۶۰ درصد افزایش یافت و ترشح پروتئین به محیط کشت نیز افزایش یافت. بیشترین افزایش میزان کاروتنوییدها (۵۷–۲۵ درصد) در غلظت $۱۰^{-۴}$ مولار این ماده مشاهده شد (Czerpak *et al*., 2002). در بررسی دیگری اثر سالیسیلیک اسید بر رشد و میزان رنگیزه استاگزانتین در جلبک *Haematococcus pluvialis* بررسی شد. اسید سالیسیلیک در غلظت ۵۰۰ میکرو مولار سبب کاهش رشد جلبک گردید. ولی در غلظت ۱۰۰ میکرو مولار سبب افزایش حجم جلبک و افزایش ۶/۸ برابری استاگزانتین در نور کم گردید (Raman and Ravi, 2011). درمواردی از دو یا چند هورمون برای افزایش رشد استفاده شد. درتحقیقی اثر برهم‌کنش براسینواستروئیدها و سیتوکینین‌ها بر روی رشد جلبک *C. vulgaris* موردبررسی قرار گرفت. بالاترین اثر (تقسیم سلول‌ها، تجمع پروتئین، کلروفیل و منوساکاریدها) در مخلوط براسینولید با ترانس زاتین به دست آمد (Bajguz, 2000). مخلوط اکسین و براسینواسترویید تکثیر سلول‌ها و تجمع متابولیت‌ها (کلروفیل، پروتئین، منوساکاریدها) را تقریباً ۳ الی ۴ برابر بیشتر از هورمون تنها افزایش داد (Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk, 2013). Jesus Raposo و Morais (۲۰۱۳) اثر دو هورمون 2, 4-D و کینتین در غلظت‌های مختلف را بر روی دو جلبک *Haematococcus pluvialis* و *Dunaliella salina* بررسی کردند. نتایج نشان داد جلبک *Haematococcus pluvialis* در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و بدون کینتین، ۵ درصد و در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین، ۲۹۷ درصد و در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین، ۲۷۵ درصد نسبت به شاهد افزایش رشد نشان داد و در محیط واجد ۱– ۵ درصد نمک، جلبک *Dunaliella salina* در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و بدون کینتین، ۱۸۴ درصد و در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم کینتین، ۲۹۱ درصد و در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم کینتین، ۲۷۰ درصد نسبت به شاهد افزایش رشد نشان داد. جمشیدی و همکاران (۱۳۹۶) اثر ترکیبی توفوردی و نفتالن استیک اسید همراه با کینتین را بر روی جلبک *C. sorokiniana* بررسی کردند وزن خشک و محتوای کلروفیل a در تیمار توفوردی (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و کینتین (۱ میلی‌گرم در لیتر) و محتوای کلروفیل a در تیمار نفتالن استیک اسید (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) توأم با کینتین (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به‌طور معنی‌داری

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

افزایش یافت. محتوای پروتئین در تیمارهای توفوردی و کینتین به‌طور غیر معنی‌داری کاهش یافت. با توجه به اهمیت‌های متعدد کاربردی *C. sorokiniana* در این تحقیق ترکیب هورمون توفوردی با کینتین، بنزیل امینو پورین و سالیسیلیک اسید در غلظت‌هایی که به‌تنهایی سبب رشد می‌شدند، استفاده گردید و اثر ترکیبی این هورمون‌ها بر روی برخی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این جلبک موردبررسی قرار گرفت، تا بهترین ترکیب‌های هورمونی با بیشترین اثر تحریکی برافزایش صفات موردمطالعه، معین شوند. با توجه به این‌که هورمون‌های توفوردی و سالیسیلیک اسید بسیار ارزان هستند و هورمون کینتین و بنزیل امینو پورین هم در مقادیر میلی‌گرم استفاده می‌شوند، کاربرد این هورمون‌ها برای افزایش بیوماس جلبک صرفه اقتصادی نیز دارد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه پیام نور تهران انجام پذیرفت. جلبک *Chlorella sorokiniana* (IBRC-M 5008) از مرکز ذخایر ژنتیکی و بیولوژیکی ایران خریداری شد. مواد موردنیاز از شرکت مرک خریداری شد. جلبک‌ها در محیط کشت پایه بولد (**Basal Bold Medium**: BBM) اصلاح‌شده (Andersen, 2005) باکمی تغییر (KH_2PO_4: ۰/۰۷۵ گرم درلیتر) کشت شد. به محیط‌ها ۵ گرم در لیتر گلوکزمنوهیدرات افزوده شد. هورمون‌های 2,4-D، Kin، BAP و SA هم به محیط اضافه شد (Piotrowska- Bajguz and Niczyporuk, 2014). pH محیط با سود ۱ نرمال به ۶/۸ رسانده شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت در فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو شد. برای کشت، یک میلی‌لیتر جلبک (۰/۰۲ گرم) در فاز لگاریتمی به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت تلقیح شد. فلاسک‌ها در اتاق کشت بر روی شیکر انکوباتور (GFL, 3031, Germany) با ۱۲۵ دور در دقیقه در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نور (لامپ‌های فلوئور سنت، ۵۰ مول بر مترمربع بر ثانیه) و دوره نوری ۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفت (Andersen, 2005). فلاکس‌ها به مدت ۷۲ ساعت در این شرایط نگهداری شد و سپس وزن خشک و تعداد سلول‌ها و محتوای متابولیت‌های جلبک پس از ۷۲ ساعت کشت اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها با روش کاملاً تصادفی انجام گرفت. تیمارها ۴ بار تکرار شد. هورمون‌هایی که به محیط‌های کشت افزوده شد، طبق جداول ۱ و ۲ است.

جدول ۱: نام و غلظت هورمون‌های استفاده‌شده با تغییر(Hunt *et al.*, 2010) در محیط کشت جلبک *Chlorella sorokiniana* در مرحله اول (۱۳۹۵).

هورمون / محیط	بنزیل امینو پورین (میلی‌گرم در لیتر)	توفوردی (میلی‌گرم در لیتر)	کینتین (میلی‌گرم در لیتر)
A	۱	۰/۵	۰
B	۲	۰/۵	۰
C	۱	۱	۰
D	۲	۱	۰
E	۰	۰/۵	۱
F	۰	۰/۵	۲
G	۰	۱	۱
H	۰	۱	۲
L (شاهد)	۰	۰	۰

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

جدول ۲: نام و غلظت هورمون‌های استفاده‌شده در محیط کشت جلبک *Chlorella sorokiniana* در مرحله دوم (۱۳۹۵).

هورمون / محیط	بنزیل امینو پورین (میلی‌گرم در لیتر)	توفوردی (میلی‌گرم در لیتر)	سالیسیلیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)
I	۱	۱	۱۳/۸
J	۱	۱	۱/۳۸
K	۱	۱	۰/۱۳۸
L (شاهد)	۰	۰	۰

اندازه‌گیری رشد از طریق سنجش وزن خشک و شمارش تعداد سلول انجام پذیرفت. سنجش وزن خشک به روش Kong وهمکاران (۲۰۱۳) باکمی تغییر، انجام پذیرفت. بدین منظور ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی سلول جلبکی، ۱۰ دقیقه در g ۴۰۰۰ سانتریفوژ (Sigma, 2-16pk, Germany) شد و رو شناور دور ریخته شد و رسوب جلبکی با آب مقطر شستشو شد و بلافاصله در g ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. قرص جلبکی حاصل، ۷۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس توزین گردید (Agrawal and Paridhavi, 2007). شمارش سلول‌های جلبک توسط لام نئوبار صورت گرفت (رنجبر اقدم و همکاران ۱۳۹۱). سنجش محتوای پروتئین به روش Kobayashi و همکاران (۲۰۱۳) انجام پذیرفت. بدین منظور جلبک خشک‌شده با هاون پودر شد. به ۵ میلی‌گرم از ماده خردشده ۱ میلی‌لیتر سود (۰/۵ مولار) افزوده شد. نمونه ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و گاه‌گاهی به هم زده شد سپس در دمای آزمایشگاه سرد شد. نمونه در ۲۰۰۰ گرم سانتریفوژ شد و محلول رویی به لوله دیگری انتقال یافت و برای تعیین پروتئین و با افزودن معرف برادفورد سنجیده شد. منحنی استاندارد با سرم آلبومین گاوی ترسیم شد و درصد پروتئین (میلی‌گرم پروتئین در ۱۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) محاسبه گردید. اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی به روش Hunt و همکاران (۲۰۱۰) باکمی تغییر صورت پذیرفت. بدین منظور، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی در ۴۰۰۰ گرم سانتریفوژ شد سپس قرص جلبکی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، در یخزن قرار داده شد. به جلبک‌های یخزده متانول ۹۹/۹ درصد (v/v، ۱:۴) افزوده شد و در تاریکی قرار گرفت. زمانی که جلبک‌ها کاملاً سفید شد در ۲۰۰۰ گرم سانتریفوژ شد و جذب محلول متانولی با اسپکتروفتومتر (Shimadzu, UV mini 1240, Japan) در طول‌موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل a،b و کاروتنویید با استفاده از روش Wellburn (۱۹۹۴) بر طبق رابطه‌های۱ تا ۳ زیر محاسبه گردید و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میکروگرم در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک بیان شد (Hunt *et al*., 2010).

رابطه ۱: کلروفیل a =(۱۶/۷۲ $A_{۶۶۵/۲}$) – (۹/۱۶ $A_{۶۵۲/۴}$)

رابطه ۲: کلروفیل b= (۳۴/۰۹ $A_{۶۵۲/۴}$) –(۱۵/۲۸ $A_{۶۶۵/۲}$)

رابطه ۳: کاروتنویدها = [(۱۰۰۰ $A_{۴۷۰}$) –(a کلروفیل ×۱/۶۳)–(b کلروفیل ×۱۰۴/۹۶)]÷۲۲۱

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش سیزدهم) از مسیر Anova یک‌طرفه انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و معنی‌داری در سطح $P\leq$ ۰/۰۵ تعیین شد. شکل‌ها با همین نرم‌افزار رسم شد.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

نتایج

وزن خشک در همه‌ی تیمارهای 2,4-D +BAP و تیمارهای Kin (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر)+ Kin (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. در تیمارهای BAP (۲،۱ گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) وزن خشک جلبک به حداکثر رسیده و در این تیمارها افزایش وزن خشک نسبت به همه‌ی تیمارهای 2,4-D +Kin و شاهد معنی‌دار بود. تعداد سلول‌ها نیز در همهِ تیمارهای هورمونی افزایش غیر معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. محتوای کلروفیل a و کاروتنویید نیز در تیمار BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. محتوای کلروفیل b نیز در همهِ تیمارهای هورمونی افزایش غیر معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. درصد پروتئین در همه‌ی تیمارهایBAP+ 2,4-D نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳: وزن خشک، تعداد سلول و محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین جلبک *Chlorella sorokiniana* کشت‌شده در BBM در غلظت‌های متفاوت 2,4-D + Kin و2,4-D + BAP (۱۳۹۵).

تیمار هورمونی (میلی‌گرم در لیتر)	وزن خشک (میلی‌گرم)	تعداد سلول×$۱۰^{۷}$ (دریک میلی لیتر)	کلروفیل a (میلی‌گرم در لیتر)	کلروفیل b (میلی‌گرم در لیتر)	کاروتنویید (میلی‌گرم در لیتر)	درصد پروتئین
2,4-D(۰/۵) +Kin(۱)	۷۷^{bc}	۱۶/۶^{a}	۶/۶^{abc}	۳/۱^{a}	۲/۹^{ab}	۱۲/۴^{ab}
2,4-D(۰/۵) +Kin(۲)	۷۳/۷^{cd}	۱۴/۳^{a}	۵/۶^{abc}	۳/۱^{a}	۲/۵^{b}	۱۱/۶^{abc}
2,4-D(۱) +Kin(۱)	۷۶/۲^{bc}	۲۰/۶^{a}	۵/۹^{abc}	۳/۷^{a}	۲/۴^{b}	۱۲/۴^{ab}
2,4-D(۱) +Kin(۲)	۷۶/۲^{bc}	۱۲/۷^{a}	۵/۷^{abc}	۳/۹^{a}	۲/۱^{b}	۱۱/۹^{ab}
2,4-D(۰/۵) +BAP(۱)	۸۶^{ab}	۱۴/۹^{a}	۵/۲^{abc}	۳/۲^{a}	۲/۳^{b}	۱۰/۸^{bc}
2,4-D(۰/۵) +BAP(۲)	۸۰/۳^{abc}	۱۱/۷^{a}	۴/۹^{bc}	۲/۵^{a}	۲/۳^{b}	۹/۶^{d}
2,4-D(۱) +BAP(۱)	۹۰/۶^{a}	۱۸/۳^{a}	۷^{a}	۴^{a}	۳/۶^{a}	۹/۹^{cd}
2,4-D(۱) +BAP(۲)	۸۹/۴^{a}	۱۸^{a}	۵/۱^{bc}	۲/۷^{a}	۲/۵^{b}	۹/۱^{d}
شاهد	۶۴/۹^{d}	۱۱^{a}	۴/۶^{c}	۲/۵^{a}	۲/۲^{b}	۱۲/۷^{a}

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح P≤ ۰/۰۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

ازآنجایی‌که حداکثر وزن خشک، محتوای کلروفیل a، b و کاروتنویید در تیمار BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد از این تیمار به‌عنوان تیمار محیط کشت پایه استفاده شد و به‌منظور افزایش پروتئین جلبک در این تیمار و به دست آوردن تیمار مناسب برای رشد بهینه‌ی جلبک، سالیسیلیک اسید در سه غلظت ۰/۱۳۸، ۱/۳۸ و ۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر به محیط کشت پایه افزوده شد. در ۳۳ درصد از تیمارهای با هورمون‌های SA (۰/۱۳۸، ۱/۳۸ و ۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) وزن خشک، تعداد سلول، محتوای کلروفیل a و b نسبت به شاهد افزایش غیر معنی‌داری یافت (جدول ۴ و شکل ۱).

مقایسه‌ی همه‌ی تیمارهای مختلف باهم نشان می‌دهد که محیط تیمار شده با BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) حداکثر رشد (وزن خشک) را نشان می‌دهد که نسبت به تیمارهای SA (۱۳/۸، ۱/۳۸، ۰/۱۳۸ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر)، همه‌ی تیمارهای 2,4-D + Kin و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۱) که مؤید این است که احتمالاً سالیسیلیک اسید افزایش رشدی که در اثر هورمون‌های BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) ایجادشده را کاهش داده است. تعداد سلول‌ها در همه‌ی تیمارها نسبت به شاهد افزایش غیر معنی‌داری را نشان داد (شکل ۲). تعداد سلول‌ها در همه‌ی جلبک‌های تیمار

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

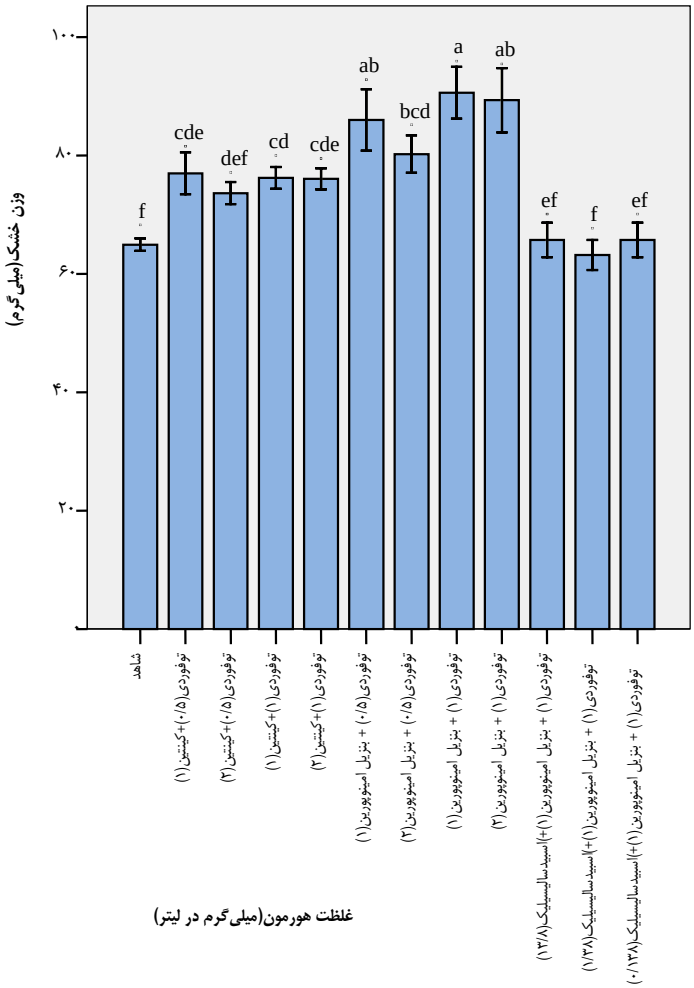
شده با سالیسیلیک اسید به‌طور غیر معنی‌داری کمتر از جلبک‌های تیمار شده با هورمون‌های BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) بود. محتوای کلروفیل a و b در تیمار BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) از همه‌ی تیمارها بیشتر بود ولی فقط نسبت به شاهد و تیمار SA (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) افزایش معنی‌داری نشان داد(شکل‌های۳و۴). محتوای کاروتنویید‌ها نیز در تیمار BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) به‌استثنای تیمار Kin (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) نسبت همه‌ی تیمارهای دیگر و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۵) درصد پروتئین در همه‌ی تیمارهای BAP + 2,4-D به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ولی با افزودن سالیسیلیک اسید به این تیمار در همه‌ی غلظت‌های سالیسیلیک اسید (۱۳/۸، ۱/۳۸ و ۰/۱۳۸ میلی‌گرم در لیتر) محتوای پروتئین جلبک افزایش یافت (شکل ۶) و دیگر کاهش معنی‌داری با شاهد نشان نداد.

جدول ٤: وزن خشک، تعداد سلول و محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین جلبک *Chlorella sorokiniana* کشت‌شده در BBM در غلظت‌های متفاوت 2,4-D + BAP + SA (۱۳۹۵).

تیمار هورمونی (میلی‌گرم در لیتر)	وزن خشک (میلی‌گرم)	تعداد سلول×۱۰^{۷}(در یک مبلی لیتر)	کلروفیل a (میلی‌گرم در لیتر)	کلروفیل b (میلی‌گرم در لیتر)	کاروتنویید (میلی‌گرم در لیتر)	درصد پروتئین
2,4-D(۱) +BAP(۱) +SA(۱۳/۸)	۶۵/۷^{a}	۱۴/۳^{a}	۴/۸^{ab}	۲/۱^{a}	۲/۱^{b}	۱۳^{a}
2,4-D(۱) +BAP(۱) +SA(۰/۱۳۸)	۶۳/۲^{a}	۱۴/۴^{a}	۵/۴^{ab}	۲/۶^{a}	۲/۳^{ab}	۱۱/۸^{a}
2,4-D(۱) +BAP(۱) +SA(۰/۱۳۸)	۶۵/۷^{a}	۱۶/۷^{a}	۵/۷ ^{ab}	۲/۸^{a}	۲/۵^{a}	۱۳^{a}
شاهد	۶۴/۹^{a}	۱۱^{a}	۴/۶^{b}	۲/۵^{a}	۲/۲^{ab}	۱۲/۷^{a}

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح $p\leq ۰/۰۵$ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

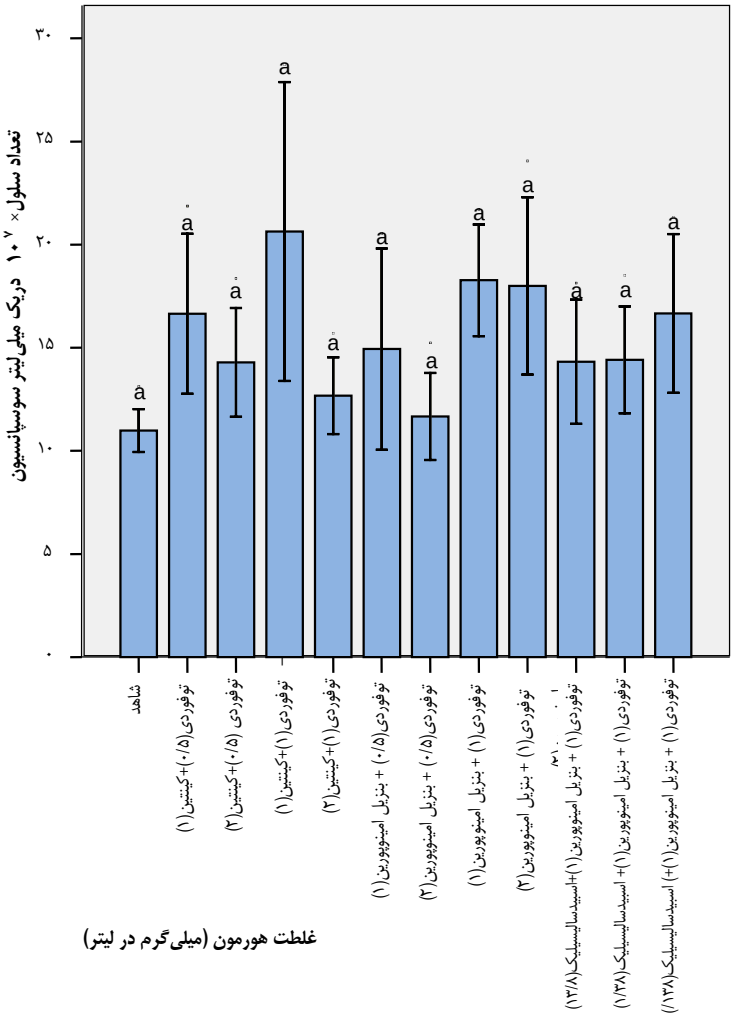
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ۱: بررسی اثر غلظت‌های مختلف Kin + 2,4-D، 2,4-D+BAP و 2,4-D +BAP+ SA بر وزن خشک ۴۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک *Chlorella Sorokiniana* کشت‌شده در BBM (۱۳۹۵).

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح P≤ ۰/۰۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

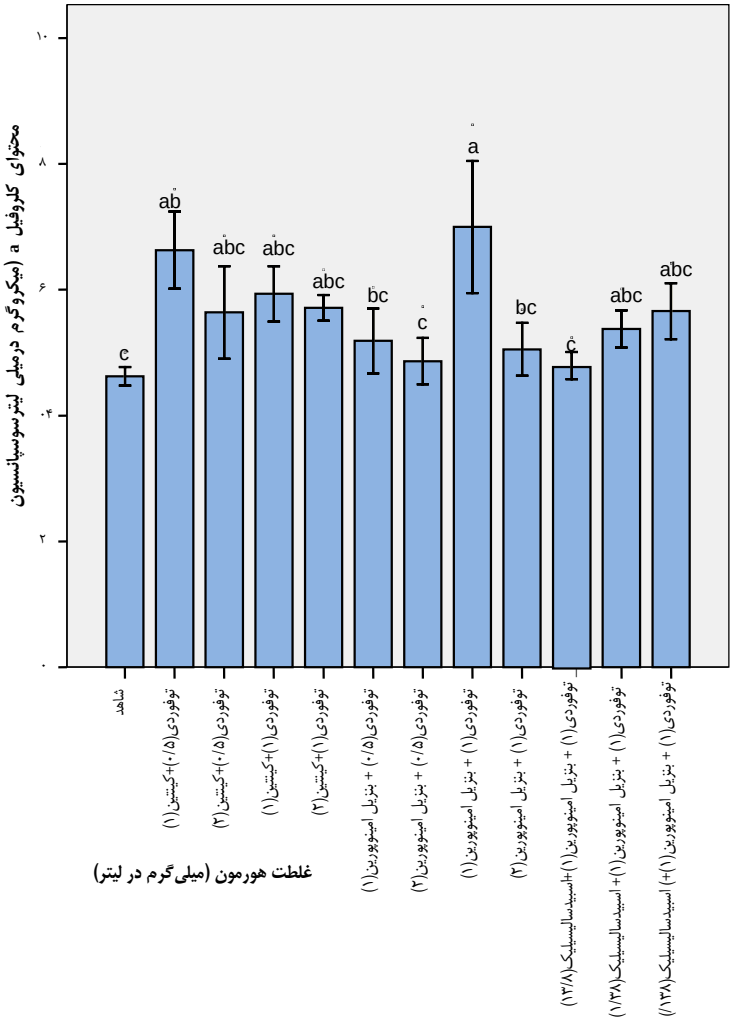
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ۲: بررسی اثر غلظت‌های مختلف 2,4-D + Kin، 2,4-D + BAP و 2,4-D+BAP+SA بر تعداد سلول × ۱۰^۷ در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک *Chlorella Sorokiniana* کشت‌شده در BBM (۱۳۹۵).

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح P≤ ۰/۰۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

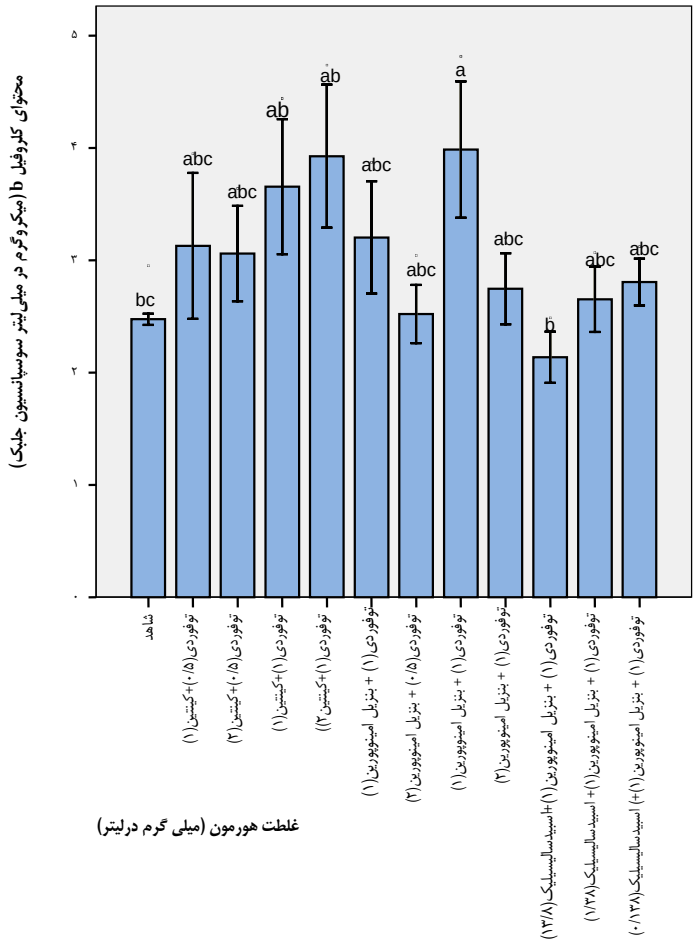
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ۳: بررسی اثر غلظت‌های مختلف 2,4-D + Kin، 2,4-D + BAP و 2,4-D +BAP+ SA بر محتوای کلروفیل a (میکروگرم در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک) در جلبک *Chlorella Sorokiniana* کشت‌شده در BBM (۱۳۹۵).

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح ۰/۰۵ ≥P با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

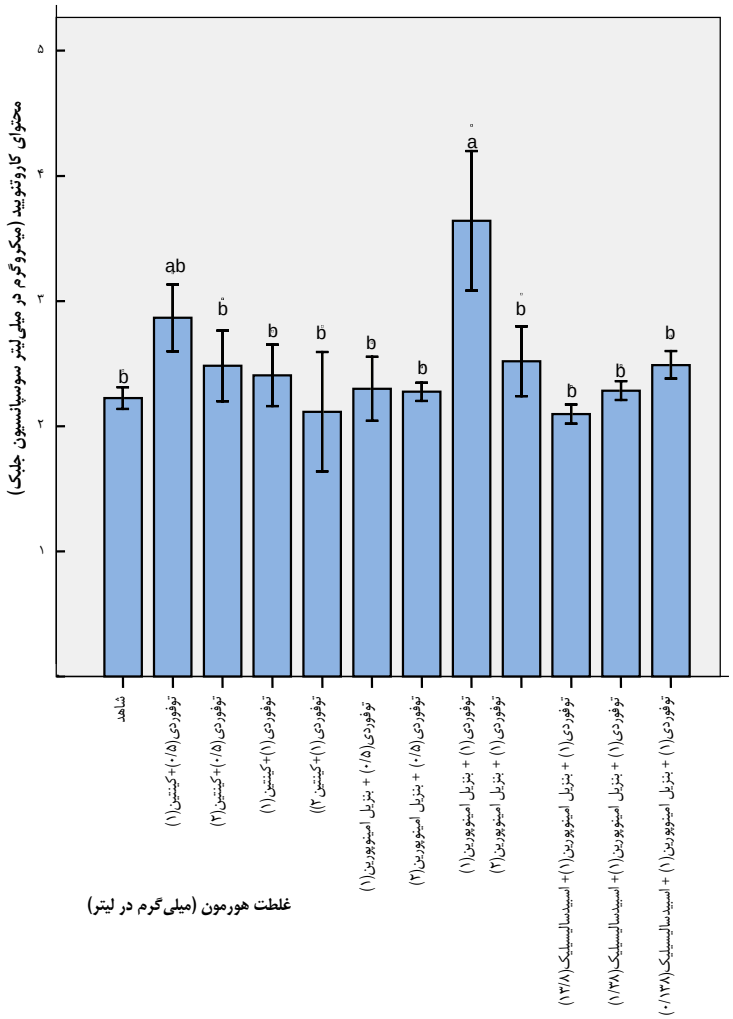
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ٤: بررسی اثر غلظت‌های مختلف Kin + 2,4-D، BAP + 2,4-D و 2,4-D +BAP+ SA بر محتوای کلروفیل b (میکروگرم در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک) در جلبک *Chlorella Sorokiniana* کشت‌شده در BBM (۱۳۹۵).

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح P≤ ۰/۰۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

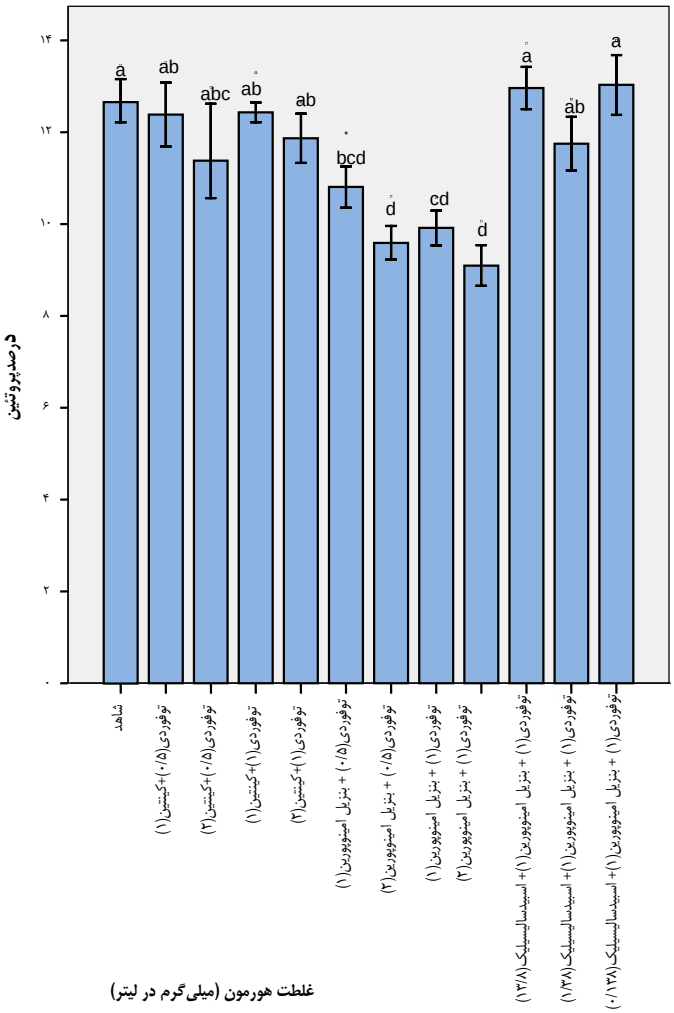
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ۵: بررسی اثر غلظت‌های مختلف 2,4-D + Kin، 2,4-D+BAP و 2,4-D +BAP+ SA بر محتوای کاروتنویید (میکروگرم در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک) در جلبک *Chlorella Sorokiniana* کشت‌شده در BBM (۱۳۹۵).

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح P≤ ۰/۰۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار،دارند.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]



شکل ٦: بررسی اثر غلظت‌های مختلف Kin + 2,4-D، 2,4-D+BAP و 2,4-D +BAP+ SA بر درصد پروتئین (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌گرم وزن خشک جلبک) در جلبک *Chlorella Sorokiniana* کشت‌شده در BBM (۱۳۹۵).

میانگین‌های هر صفت که دارای حروف غیرمشابه می‌باشند یعنی بر اساس آزمون دانکن، در سطح P≤ ۰/۰۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار، دارند.

بحث و نتیجه‌گیری

طبق نظر برخی از محققین، اثر اکسین‌ها بر جلبک‌ها درمواردی اثر بر دیواره سلولی، فعال‌سازی پمپ ATPase و طویل شدن سلول (Stirk *et al*., 2014) و تقسیم سلولی است (Bajguz, 2000). طبق گزارش‌ها اکسین خارجی سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های مهارکننده رادیکال آزاد اکسیژن می‌شود و اثر اکسین توسط این آنزیم‌ها میانجی‌گری می‌شود. اکسین‌های طبیعی و مصنوعی سبب کاهش تجمع رادیکال آزاد اکسیژن ظرف ۴۸ ساعت می‌گردند. کاهش رادیکال آزاد اکسیژن سبب پیشرفت چرخه سلولی و تمایز دیواره ثانویه سلول می‌شود (Piotrowska-Niczyporuk and Bajguz, 2014). اکسین از تجزیه اکسیداتیو رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (Czerpak *et al*., 1994). به‌علاوه اکسین‌ها سبب تحریک اتصال دی‌اکسید کربن با ریبولوز بیس فسفات و فسفریلاسیون فتوسنتزی می‌شوند

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

(Piotrowska-Niczyporuk *et al*., 2008). درنتیجه فتوسنتز و رشد افزایش می‌یابد. سیتوکینین نیز سبب تحریک تقسیم سلول، فعال‌سازی رشد و تولید پروتئین و تشدید برخی فرآیندهای فتوسنتزی جلبک می‌شود (Kiseleva *et al*., 2012; García-Jiménez *et al*., 1998). در پژوهش حاضر نیز در مواردی که در اثر کاربرد غلظت‌های ترکیبی مناسب اکسین و سیتوکینین، رشد افزایش‌یافته، علت افزایش رشد، افزایش تقسیم سلولی و افزایش تعداد سلول‌ها و تشکیل بیشتر توده‌های سلولی بود که هم سبب افزایش بیوماس و هم افزایش متابولیت‌ها شد. البته، چون اکسین‌ها از تجزیه اکسیداتیو رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند به این شکل نیز، سبب افزایش این متابولیت‌ها می‌شوند. علی‌رغم، افزایش معنی‌دار وزن خشک، افزایش تعداد سلول‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری رانشان نمی‌دهد که با نتایج Ozioko و همکاران (۲۰۱۵) همخوانی دارد این محققین اثر هورمون‌ها را بر روی جلبک *C. Sorokiniana* بررسی کردند و هورمون کینتین علی‌رغم افزایش معنی‌دار وزن خشک، سبب افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌ها نشد. این امر، به دلیل تشکیل توده‌های سلولی در این‌گونه جلبک است که یک‌باره شکل می‌گیرد که سبب ایجاد واریانس بالا و درنتیجه همپوشانی تعداد سلول‌ها در تیمارهای مختلف و عدم معنی‌داری افزایش می‌گردد. در پژوهش حاضر وزن خشک در همه‌ی تیمارها و محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوییدها در برخی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. Lin و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند کاربرد هورمون‌های نفتالن استیک اسید (NAA) و بنزیل امینو پورین (6-BA) در محیط کشت جلبک *C. vulgaris* سبب افزایش محتوای کاروتنویید آن شد. Czerpak و همکاران (۱۹۹۴) از 2, 4-D در غلظت ۵×۱۰^{-۶} مول (۱/۱ میلی‌گرم در لیتر) استفاده کردند و وزن‌تر و خشک و محتویات کلروفیل و کاروتن جلبک *Chlorella pyrenoidosa* افزایش یافت. Saygideger و Okkay (۲۰۰۸) گزارش کردند که 2, 4-D در غلظت ($۹ \times$ میلی مولار (۰/۲، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش رشد و محتوای کلروفیل در *C. vulgaris* و *Spirulina platensis* شد و در غلظت ($۹ \times$ میلی مولار از رشد آن‌ها ممانعت می‌کرد. Kobraei و White (۱۹۹۶) نشان دادند که استفاده از 2, 4-D به میزان کمتر از ۲ میلی‌گرم در لیتر سبب رشد اجتماعات جلبکی در آزمایشگاه و محیط می‌شود. رشد و متابولیسم جلبک‌ها در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش می‌یابد. طبق گزارش Wong (۲۰۰۰) 2,4-D در غلظت پایین (۰/۰۲ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش رشد *Scenedesmus quadricauda* گردید. طبق گزارش Jesus Raposo و Morais (۲۰۱۳) کاربرد 2,4-D (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D (۲ میلی‌گرم در لیتر) همراه با کینتین (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش رشد *Dunaliella salina* شد و کاربرد 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر)، 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) همراه با کینتین (۱ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) همراه با کینتین (۲ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش رشد *Haematococcus pluvialis* گردید. Liu وهمکاران (۲۰۱۷b) گزارش دادند که 2, 4-D در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش رشد (بیوماس) *C. vulgaris* گردید؛ که نتایج پژوهش حاضر با نتایج محققین مذکور همخوانی دارد. درمواردی محققین با غلظت‌های بالاتری از هورمون‌ها نتیجه گرفته‌اند. Liu و همکاران (۲۰۱۷a) گزارش کرده‌اند که در تنش آمونیوم (محیط واجد ۱ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیوم) کینتین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش رشد (بیوماس) *C. Pyrenoidosa* گردید؛ که احتمالاً به علت بالاتر بودن میزان نیتروژن قابل‌دسترس، هورمون نیز در غلظت بالاتر مؤثر بوده است. محتوای پروتئین نیز در همه تیمارهای 2,4-D + Kin کاهش غیر معنی‌دار و در همه تیمارهای 2,4-D + BAP کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. بررسی محیط کشت این تیمارها نشان داد که پروتئین به محیط دفع شده است. طبق گزارش Bukowska (۲۰۰۶) 2,4-D می‌تواند بااتصال به آنزیم‌ها سبب تغییر فعالیت آن‌ها، تعامل با فسفولیپیدهای غشاء سلول و فعل‌وانفعالات فیزیکی در غشاء سلول گردد. در پژوهش حاضر نیز احتمالاً یکی از علل کاهش پروتئین، به دلیل تغییر در ساختار غشاء پلاسمایی در اثر اتصال 2,4-D به غشا است و دلیل دیگر وجود سیتوکینین‌هاست که سبب تراوش پروتئین به خارج سلول می‌شود (Piotrowska-Niczyporuk and Czerpak, 2009). به همین دلیل در این تیمارها علی‌رغم افزایش رشد، درصد پروتئین، نسبت به شاهد کاهش یافت. در پژوهش حاضر وزن خشک در همه‌ی تیمارهای 2,4-D+BAP + SA نسبت به تیمار 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

در لیتر) کاهش معنی‌داری را نشان داد درحالی‌که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت؛ اما طبق گزارش Czerpak (۲۰۰۲) اسید سالیسیلیک در غلظت $۱۰^{-۴}$ مولار (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش حجم جلبک *C. vulgaris* گردید. طبق گزارش Raman و Ravi (۲۰۱۱) اسید سالیسیلیک در غلظت ۱۰۰ میکرو مولار (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش حجم جلبک *Haematococcus pluvialis* شد. در پژوهش کنونی محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوییدها در تیمار 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + SA (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) مشابه شاهد بود و کاهش معنی‌داری نسبت به 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) نشان داد. در بقیه غلظت‌های SA(۱/۳۸ و ۰/۱۳۸ میلی‌گرم در لیتر) محتوای کلروفیل‌ها اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) نشان نداد که مؤید این است که فقط کاربرد مقادیر بالای سالیسیلیک اسید (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) سبب کاهش محتوای کلروفیل‌ها شده است، اما فقط محتوای کاروتنوییدها کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) نشان داد که مؤید این است که احتمالاً سالیسیلیک اسید سبب کاهش معنی‌دار محتوای کاروتنوییدها نسبت به تیمار BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) + 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) شده است. در هیچ‌یک از تیمارهای 2,4-D +BAP + SA محتوای کاروتنوییدها اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نداد. Gao و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید در غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تولید استاگزانتین را در جلبک *Haematococcus pluvialis* افزایش داد. طبق گزارش Raman و Ravi (۲۰۱۱) اسید سالیسیلیک در غلظت ۱۰۰ میکرو مولار (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش ۶/۸ استاگزانتین در جلبک *Haematococcus pluvialis* شد. طبق گزارش دیگری بیشترین افزایش محتوای کاروتنوییدها (۵۷–۲۵ درصد) در جلبک *C.vulgaris* در غلظت $۱۰^{-۴}$ مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد (Czerpak *et al.*, 2002) که احتمالاً چون در پژوهش حاضر به‌غیراز سالیسیلیک اسید، دو هورمون دیگر هم وجود داشتند نتایج باهم متفاوت است. پروتئین در همه‌ی تیمارهای 2,4-D + BAP+SA نسبت به شاهد افزایش غیر معنی‌دار و نسبت به تیمار 2,4-D (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) افزایش معنی‌داری نشان داد که مؤید این است که احتمالاً سالیسیلیک اسید سبب افزایش سنتز پروتئین شده است. Lin وهمکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند کاربرد هورمون SA (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در محیط کشت جلبک *C. vulgaris* سبب افزایش محتوای پروتئین آن شد. طبق گزارش محققین سالیسیلیک اسید در غلظت $۱۰^{-۴}$ مولار سبب افزایش ۶۰ درصدی پروتئین در جلبک *C.vulgaris* گردید و ترشح پروتئین به محیط کشت نیز افزایش یافت (Czerpak *et al.*, 2002) که این گزارش‌ها با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. به‌طورکلی در پژوهش کنونی اثر ترکیبی هورمون‌های اکسینی وسیتوکینینی و اسید سالیسیلیک بررسی شد. 2,4-D هورمون اکسینی و سنتزی است، اسیدسالیسیلیک هورمون تولیدشده در هنگام تنش است وبنزیل امینوپورین وکینتین هورمون‌های سیتوکینینی هستند که هریک به‌تنهایی در غلظت‌های مناسب، سبب افزایش رشد و محتوای متابولیت‌های ارزشمند گیاه یا جلبک می‌شوند. هورمون اکسین با کاهش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب پیشرفت چرخه سلولی می‌گردد، هورمون سالیسیلیک اسید سبب افزایش پروتئین و برخی رنگیزه‌هامی شود و هورمون‌های سیتوکینین با تحریک تقسیم سلولی و سنتز پروتئین عمل می‌کنند که همه سبب افزایش رشد جلبک می‌شوند. در این پژوهش ترکیبات مناسبی از هورمون‌های اکسین وسیتوکینین سبب افزایش رشدومحتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی جلبک *Chlorella sorokiniana* گردید. بالاترین میزان وزن خشک و محتوای رنگیزه‌ها در تیمار 2,4-D(۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ولی محتوای پروتئین در این تیمار کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. به‌منظور رفع کاهش پروتئین به این تیمار اسید سالیسیلیک (۰/۱۳۸، ۱/۳۸ و ۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) افزوده شد، این هورمون سبب افزایش معنی‌دار پروتئین جلبک نسبت به تیمار اولیه گردید ولی افزایش پروتئین، نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. به‌علاوه اسید سالیسیلیک، باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک، محتوای کاروتنویید در همه غلظت‌ها و کاهش معنی‌دارمحتوای کلروفیلa وb در غلظت بالاتر (۱۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) گردید. از نتایج حاصله از این پژوهش می‌توان در کشت مصنوعی جلبک *Chlorella sorokiniana* استفاده کرد، به این صورت که اگر هدف از کشت جلبک تهیه بیوماس و رنگیزه‌های فتوسنتزی بیشتر باشد

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

مناسب‌ترین ترکیب هورمونی، تیمار 2,4-D(۱ میلی‌گرم در لیتر) +BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) است و باید از کاهش معنی‌دار پروتئین آن صرف‌نظر کرد. ولی اگر هدف افزایش بیوماس و محتوای کلروفیلa، بدون کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین باشد بهتراست از ترکیب هورمونی 2,4-D(۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) +Kin (۱ میلی‌گرم در لیتر) استفاده کرد. با توجه به اثر افزایشی غلظت‌های اندک این هورمون‌ها و درنتیجه هزینه پایین تولید جلبک، کاربرد هورمون‌ها حائز اهمیت اقتصادی است.

منابع

جمشیدی، آ.، ابراهیمی، م. ح.، رجبیان، ط.، بخشی خانیکی، غ. ر. و مظفری، ش.، ۱۳۹۶. اثر اکسین‌های مصنوعی و کینتین بر محتوای پروتئین و رنگیزه‌های فتوسنتزی جلبک *Chlorella sorokiniana*، زیست‌شناسی دریا. جلد ۳۶: صفحات ۲۴-۱۵.

جمشیدی، آ.، ابراهیمی، م. ح.، رجبیان، ط.، بخشی خانیکی، غ. ر. و مظفری، ش.، ۱۳۹۷. غنی‌سازی مواد غذایی جلبک کلرلا *Chlorella sorokiniana* Shihira&R. W. Krauss، زیست‌شناسی جانوری تجربی. جلد ۳۸: صفحات ۱۱۳-۱۰۵.

رنجبر اقدم، م.، حجازی، م.، آیین فر، س. و حسین زاده، ن.، ۱۳۹۱. بررسی تأثیر چهار آنتی‌بیوتیک در رشد و کارایی آن‌ها در عاری سازی آلودگی محیط کشت جلبک تک‌سلولی *Dunaliella sp.* علوم محیطی (ویژه‌نامه اولین اجلاس ملی جلبک‌شناسی ایران)، جلد ۹: صفحات ۸-۱.

Andersen, R. A., 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier Inc, 589 pp.

Agrawal, S. S. and Paridhavi, M., 2007. Herbal Drug Technology. Hydrabad, Universities Press, pp.519-530.

Bajguz, A., 2000. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured of *Chlorella vulgaris*. Plant Physiology and Biochemistry, 38: 209-215.

Bajguz, A. and Piotrowska-Niczyporuk, A., 2014. Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, mono saccharide, and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). Plant Physiology and Biochemistry, 80:176-83.

Bajguz, A. and Piotrowska-Niczyporuk, A., 2013. Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). Plant Physiology and Biochemistry, 71:290-7.

Bukowska, B., 2006. Toxicity of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid molecular mechanisms. Polish Journal of Environtal Studies, 15 (3): 365-374.

Chai, I.K. and Chung, Y.S., 1975. Physiological effects of 2, 4-D on *Chlorella ellipsoidea*. Misaenglum Hakhoe Chi,13: 101-108.

Czerpak, R., Bajguz, A., Białecka, B., Wierzchołowska, L. E. and Wolańska, M. M., 1994. Effect of auxin precursors and chemical analogues on the growth and chemical composition in *Chlorella pyrenoidosa*. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 63 (3-4): 279-286.

Czerpak, R., Dobrzyń, P., Krotke, A. and Kicińska, E., 2002. The effect of auxins and salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents in *Wolffia Arrhiza* (L.) Wimm. (Lemnaceae) growing on media of various trophicities. Polish Journal of Environmental Studies, 11(3): 231-2.

Gao, Z., Meng, C., Zhang, X., Xu, D., Miao, X., Wang, Y., Yang, L., Lv, H., Chen, L. and Ye, N., 2012. Induction of salicylic acid (SA) on transcriptional expression of eight carotenoid genes and astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. Enzyme and Microbial Technology, 51(4): 225-30.

García-Jiménez, P., Rodrigo, M. and Robaina, R. R., 1998. Influence of Plant growth regulators, polyamines and glycerol interaction on growth and morphogenesis of carposporelingsof *Grateloupia doryphora* cultured in vitro. Journal of Applied Phycology, 10: 95-100.

Hunt, R. W., Chinnasamy, S., Bhatnagar, A. and Das, K. C., 2010. Effect of biochemical stimulants on biomass productivity and metabolite content of the microalga, *Chlorella sorokiniana*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 162 (8): 2400-2414.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

Jesus Ropososo, M. F. and Morais, R. M. S. C., 2013. Influence of the growth regulators Kinetine and 2,4, D on the growth of two chlorophyte, microalgae, *Haematococcus pluviallis* and *Dunaliella salina*. Journal of Basic and Applied Scinces, 9: 302-308.

Khasin, M., 2017. Phytohormone signaling in *Chlorella sorokiniana*: perspectives on the evolution of plant cell to cell signaling. *Dissertations and Thesis in Biological Sciences.* University of Nebraska – Lincoln, 95 pp.

Kiseleva A. A., Tarachovskaya E. R. and Shishova M. F., 2012. Biosynthesis of Phytohormones in algae. Russian Journal of Plant Physiology, 59 (5): 595-610.

Kobayashi, N., Noel, E., Barnes, A., Watson, A., Rosenberg, J., Erickson, G. and Oyler, G., 2013. Characterization on three *Chlorella sorokiniana* strains in anaerobic digested effluent from cattle manure. Bioresource Technology, 150: 377-386.

Kobbia I. A. and El-Sharouny H. M., 1984. Interactions between three blue green algae and herbicide 2,4-D in culture media. Journal of Basic Microbiology, 25 (60): 381-385.

Kobraei, M. E. and White, D. S., 1996. Effects of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid on Kentuckey algae. Archives of **Environmental Contamination** and **Toxicology**, 31: 571-580.

Kong, W. B., Yang, H., Cao, Y. T., Song, H., Hua, S. F. and Xia, C. G., 2013. Effect of Glycerol and Glucose on the Enhancement of biomass, lipid and soluble carbohydrate production by *Chlorella vulgaris* in mixotrophic culture. Food Technology and Biotechnology, 51 (1): 62-69.

Lin, B., Faruq, A., Huanmin, D., Zhe, L., Yuchen, Y., Yuhan, H., Meng, C., Yonghao, Y., Bang, L., Miaomiao, W., Chunxiao, M., Zhengquan, G., 2018. Plant growth regulators promote lipid and carotenoid accumulation in ***Chlorella vulgaris***. Journal of Applied Phycology, 30(3): 1549-1561.

Lui, J., Qiu, W., Song, Y, Peng, H. and Zhao, Y., 2017a. The growth and lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* enhanced by plant hormones under ammonium stress. Environmental Progress and Sustainable Energy, 0 (0) :1-7.

Liu, T., Liu, F., Wang, C., Wang, Z. and Li, Y., 2017b. lipid accumulation in *Chlorella vulgaris* by supplementation of synthetic phytohormone analogs. Bioresource Technology, 232: 44-52

Ozioko, F. U., Chiejina, N. V. and Ogbonna, J. C., 2015. Effect of some phytohormones on growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* IAM-C212 under photoautotrophic conditions. African Journal of Biotechnology, 14(30): 2367-2376.

Piotrowska-Niczyporuk, A. and Bajguz, A., 2014. The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophycea). Plant Growth Regulation, 73:57–66.

Piotrowska, **A., Czerpak**, **R., Pietryczuk**, **A. and Olesiewicz**, **A., 2008.** The effect of indomethacin on the growth and metabolism of green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck. Plant Growth Regulation, 55(2) : 125-136.

Piotrowska, **A. and Czerpak**, **R., 2009.** Cellular response of light/dark-grown green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Chlorophyceae) to exogenous adenine- and phenylurea-type cytokinins. Acta Physiologiae Plantarum, 31(3): 573-585.

Raman, V. and Ravi, S., 2011. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on antioxidant systems of *Haematococcus pluvialis*. Acta Physiologia Plantarum, 33:1043–104.

Reyna-Martinez, R., Gomez-Flores, R., López-Chuken, U., Quintanilla-Licea, R., Caballero-Hernandez, D., Rodríguez-Padilla, C., Beltrán-Rocha, J. C. and Tamez-Guerra, P., 2018. Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. PeerJ, 6:1-15.

Saygideger, S. D. and Okkay, O., 2008. Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on growth, protein and chlorophyll-a content of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* cells. Journal of Environmental Biology, 29 (2): 175-178.

Stirk, W.A., Bálint, P., Tarkowská, D., Novák, O., Strnad, M., Ördög, V. and Van Staden, J., 2013. Hormone profiles in microalgae: gibberellins and brasinosteroids. Plant Physiology and Biochemistry, 70:348-53.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

Stirk, W. A., Bálint, P., Tarkowská, D., Novák, O., Maróti, G., Ljung, K., Turečková, V., Strand, M., Ordög, V. and Staden, J., 2014. Effect of light on growth and endogenous hormones in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae).Plant Physiology and Biochemistry, 79: 66-76.

Tarakhovskaya, **E. R., Maslov**, **Y. I. and Shishova**, **M., 2007.** Phytohormones in algae. Russian Journal of Plant Physiology, 54 (2): 163-170.

Tate, J. J., Gutierrez-Wing, M. T., Rusch, K. A., Benton, M. G., 2013. The effects of plant growth substances and mixed cultures on growth and metabolite production of green algae *Chlorella sp*.: a review. Journal of Plant Growth Regulators, 32:417-428.

Wellburn, A. R., 1994. The spectral determination chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144: 307-313.

Wong, P. K., 2000. Effect of 2, 4-D, glyphosphate and paraquat on growth photosynthesis and chlorophylla synthesis of *Senedesmus quadricauda* Berb 614. Chemosphere, 41:177-182.

Zabochnicka-Swiatek, M., 2010. Algae–feedstock of the future. Archivum Combustionis, 30 (3): 225-236.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]