Archive of SID

مجله علوم دانشگاه تهران
جلد سی‌ام (۱۳۸۳) شماره ۳ (۴۶۰-۴۵۱)

تأثیر اسید آبسیزیک بر میزان رشد دو سویه جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس (*Haematococcus pluvialis*)

صادق فرهی‌آشتیانی[۱] و مجید مهدیه[۲]

۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ۱۷۵- ۱۴۱۱۵، تهران
۲ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اراک، اراک

(دریافت: ۸۲/۷/۱ ؛ پذیرش:۸۳/۲/۲)

چکیده

جلبک تک‌سلولی هماتوکوکوس پلوویالیس، یک تولیدکننده قوی کتوکاروتنوئید آستاگزانتین است. در این بررسی تأثیر نمک و اسید آبسیزیک (ABA) بر رشد سلولهای سبزرنگ رویشی و کیست قرمز دو سویه ایرانی (TMU) و آلمانی (SAG) این جلبک، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تشکیل ماده خشک و نسبت سلولهای کیست قرمز رنگ به سلولهای رویشی سبزرنگ در سویه ایرانی در مقایسه با سویه آلمانی زیادتر است. تعداد کل سلولهای جلبک با مصرف اسید آبسیزیک در مدت ۷۶ روز ۱/۵ برابر و در مدت ۱۵۰ روز ٤ برابر می‌شود و سلولهای سبز رویشی در هر دو سویه، سریعتر به کیست قرمز تبدیل می شود. به نظر می‌رسد علت این افزایش آن است که سلولهای رویشی در حضور اسید آبسیزیک زودتر پیرشده و به کیست تبدیل می‌شوند. بنابراین لازم است تاثیر مصرف ABA به عنوان یک تنظیم کننده رشد، از طرق افزایش تعداد چرخه‌های زندگی سلولهای هماتوکوکوس (در مدت زمان معین) در فرایند پیری برای کیست‌زائی و تولید ماده خشک مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: *اسیدآبسیزیک، جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس، فرایند پیری، تغییرشکل سلولی.*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سلولهای رویشی دوتاژکه سبزرنگ جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس (*Haematococcus pluvialis*) متحرک بوده و از نظر فتوسنتز فعالند؛ اما سلولهای غیرمتحرک، کیست سبزرنگ آن که در مرحله سکون و استراحت به سر می‌برند، از نظر فتوسنتز چندان فعال نیستند (Boussiba & Vonshak, 1991; Kobayashi *et al.,* 1991). کیست‌زایی و تولید کتوکاروتنوئید آستاگزانتین (Astaxanthin)در جلبک *Haematococcus pluvialis* (در محیط مایع و محیط کشت آگار) حدود ۴-۶ هفته طول می‌کشد (Kobayashi *et al.,* 1997). کمبود مواد غذایی از جمله محدودیت درعرضه میزان ازت، موجب می‌شود که این جلبک سریعاً به کیست رود (Kakizono *et al.,* 1992). همچنین میزان آستاگزانتین محتوای سلولهای کیست این جلبک در اثر اکسیژن فعال (Kobayashi *et al.,* 1993)، حرارت بالا (Tjahjono *et al.,* 1994)، نمک (فرهی آشتیانی و همکاران، ۱۳۸۱) افزایش پیدا می‌کند.

اسید آبسیزیک (ABA) به عنوان یک فیتوهورمون تنش، درمتابولیسم و فیزیولوژی گیاهان عالی نقش دارد (Zeevart and Creelman, 1988). تحقیقات نشان داده است که این فیتوهورمون دربسیاری از فرایندهای تکوینی و فیزیولوژیکی گیاهان مانند بسته‌شدن شکاف روزنه، افزایش رشد ریشه و کاهش رشد بخش هوایی نقش دارد (Creelman *et al.,*1990 Raschke, 1975). همچنین مقدار ABA در بافتهای درمعرض تنش اسمزی ناشی از نمک (Skriver and Mundy, 1990)، تنش رطوبت (Henson, 1984; Creelman *et al.,* 1990) و سرما (Lang & Palva, 1992; Mohapatra *et al.,*1988) افزایش پیدا می‌کند.

با آزمایش روی تعداد زیادی از انواع مختلف جلبکها، نشان داده شده است که فیتوهورمون اسید آبسیزیک درجلبکها نیز وجود دارد (Tietz and Kasprik, 1986). سلولهای رویشی جلبک هماتوکوکوس در محیطهای کشت حاوی فیتوهورمون اسید آبسیزیک زودتر از محیطهای کشت فاقد این فیتوهورمون به کیست رفته و سلولهای کیست بالغ قرمز رنگ تولید می‌کنند، شایان ذکر اینکه با تغییر ساختار مورفولوژیکی این جلبک بر میزان اسید آبسیزیک محتوی آنها نیز افزوده می‌شود (Kobyashi *et al.,* 1997). همچنین میزان تولید آستاگزانتین در سویه‌های مختلف این جلبک، متفاوت است (فرهی آشتیانی و مهدیه، ۱۳۸۱). براساس احتمال شاید اسید آبسیزیک به عنوان یک فیتوهورمون برتغییرات مورفوژنز، کیست‌زایی و تولید آستاگزانتین در سویه‌های مختلف این جلبک به شیوه‌های متفاوت اثر بگذارد، به همین علت تأثیر مصرف اسید آبسیزیک بر میزان رشد دو سویه مختلف جلبک *Haematococcus pluvialis* ، مورد مطالعه قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش کار

برای این مطالعه طی اجرای چند آزمایش مجزا، ابتدا کیست‌های قرمز رنگ جلبک *Haematococcus pluvialis* سویه ایرانی (TMU) و سویه آلمانی (SAG) که روی محیط کشت آگار در یخچال نگهداری می‌شدند، برای جوانه‌زنی و تکثیر تعداد سلولهای رویشی آن در محیط کشت بولد (مهدیه، ۱۳۷۸) و شرایط استریل، در دمای ۲۰°C، شدت نور ۳۰-۴۰ میکرواینشتین (Micro Einstein) بر مترمربع بر ثانیه و فتوپریود ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انکوبه شد. پس از جوانه‌زنی اسپورها و افزایش جمعیت سلولهای رویشی سبزرنگ، حجم معینی از سوسپانسیون جلبکها در فاز رشد رویشی، که از نظر تعداد سلولها برابر بودند، به داخل ارلنهای ۲۵۰ میلی‌لیتری در شرایط استریل بر روی محیط کشت بولد (در سه و یا چهار تکرار) انتقال یافت و سپس در اتاقک رشد با شرایط نور و دمای ذکرشده، قرار داده شد. اسید آبسیزیک، در برخی از آزمایشها با غلظت 10^{-3}M و در بعضی دیگر با غلظت 10^{-4}M (به غلظت اسید آبسیزیک مصرف شده در جداول توجه شود) و نمک، با غلظت ۳۰ میلی مولار به محیط کشت بولد (مهدیه، ۱۳۷۸) اضافه شد، سپس ارلن‌ها در اتاقک رشد، تحت شرایط ذکر شده قرار گرفتند.

در پایان هرآزمایش، قبل از برداشت نمونه‌ها، ابتدا تعداد کل سلولهای جلبک موجود در هر ارلن (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت) با استفاده از لام هماسیتومتر، عدسی چشمی ۱۰× ، عدسی شیئی ۲۰× ، عدسی بینا بینی با بزرگنمایی ۳/۳ و میکروسکوپ نوری، مدل Olympus (با بزرگنمایی ۶۶۰) شمارش شده و تعداد سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری وزن خشک جلبک، ابتدا ده میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی جلبک بوسیله فیلترهای میلی پور (اندازه منفذ ۰/۴۵ میکرون) فیلتر شده، سپس نمونه‌ها در دمای ۸۰°C به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند که در نهایت وزن خشک برحسب گرم در لیتر محاسبه شد(Kobayashi *et al.*, 1991). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن، در سطح ۵ درصد با کمک نرم افزار آماری صورت گرفت.

نتایج و بحث

ضمن بررسی رشد جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در مدت ۲۲ روز معلوم شد، که به‌طور همزمان، هم سلولهای دوتاژکه رویشی متحرک و هم سلولهای زایشی غیرمتحرک (در ابتدا سبز رنگ بوده و بعد قرمز رنگ می شوند) در محیط کشت این جلبک دیده می شود. این موضوع به

www.SID.ir

Archive of SID

وسیله افراد دیگر نیز گزارش شده است (Goodwin and Jamikorn, 1954). بررسی تغییرات نسبت تعداد این دو نوع سلول در محیط کشت بولد (در مدت ۲۲ روز) در جدول ۱ ملاحظه می شود. از ارقام مندرج در این جدول معلوم می‌شود که نسبت تبدیل سلولهای زایشی به سلولهای رویشی در دو سویه ایرانی (TMU) و آلمانی (SAG) این جلبک متفاوت است. با انکوبه کردن مقدار معینی از کیست قرمز (سلولهای زایشی) هریک از این دو سویه، در محیط کشت بولد معلوم شد که در روز چهارم، بعد از انکوباسیون، میانگین تعداد سلولهای جلبک سویه TMU درهر میلی لیتر محیط کشت برابر $۳/۴۲\times۱۰^{۴}$ سلول زایشی و $۵/۹۲\times۱۰^{۴}$ سلول رویشی است، اما میانگین تعداد سلولهای جلبک سویه SAG در هر میلی‌لیتر محیط کشت، $۱/۳۳\times۱۰^{۴}$ سلول زایشی و $۲/۳۳\times۱۰^{۴}$ سلول رویشی می‌باشد. با محاسبه نسبت تعداد سلولهای زایشی به تعداد سلولهای رویشی معلوم می‌شود که این نسبت در روز چهارم انکوباسیون برای هر دو سویه جلبک ذکرشده یکسان بوده و برابر با ۰/۵۷ است (جدول۱)، این نسبت در روزهای ششم و هشتم بعد از انکوباسیون بترتیب در جلبک سویه TMU حدود ۰/۱ و در جلبک سویه SAG ۰/۶-۰/۷ است. در روز بیستم بعد از انکوباسیون، نسبت سلولهای زایشی به سلولهای رویشی در سویه ایرانی حدود ۷ و در سویه آلمانی حدود ۱/۷ می‌شود. این اختلاف نسبت، تکثیر شدیدتر سلولهای سویه ایرانی را در مقایسه با سویه آلمانی، در طول زمان یکسان نشان می‌دهد که شاید علت آن به متغیربودن زمان لازم برای تبدیل شکلهای مختلف سلولی به یکدیگر در دو سویه مختلف این جلبک مربوط باشد، که با سرعت جوانه‌زنی کیستهای قرمز و سرعت تقسیم سلولهای هر سویه جلبک ارتباط دارد. بنابراین لازم به یادآوری است که کیستهای قرمزرنگ (سلولهای زایشی) سویه ایرانی، روز اول و کیستهای قرمز رنگ سویه آلمانی روز دوم، بعد از انکوباسیون (نسبت به روز صفر انکوباسیون) جوانه زده بودند. از آنجا که نقش اسید آبسیزیک (ABA) به عنوان یک فیتوهورمون در گیاهان عالی نسبت به تنش خشکی و برخی تنش‌های دیگر شناخته شده است (Farrahi-Aschtiani, 1993; Singh *et al.*, 1989)، در این بررسی مشخص شد که در حضور ABA در مقایسه با شاهد، تعداد سلولهای رویشی جلبک هماتوکوکوس در ظرف یک هفته شدیدتر کاهش می‌یابد و به کیست سبز رنگ (کیست نابالغ) تبدیل می شوند. به علاوه تیمار ABA موجب افزایش و تیمار نمک، سبب کاهش تعداد کیستهای سبزرنگ می‌شود (جدول۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- بررسی تغییرات سلولهای زایشی (کیست قرمز غیرمتحرک) و رویشی (سلولهای دوتاژکه سبزرنگ) در دو سویه مختلف جلبک *Haematococcus* در ظرف ۲۰ روز (میانگین سه تکرار)* .

سویه جلبک	شمارش سلولها	میانگین تعداد سلولهای زایشی در هر میلی‌لیتر (×۱۰^{۴})	میانگین تعدا دسلولهای رویشی در هر میلی‌لیتر (×۱۰^{۴})	نسبت تعداد سلولهای زایشی به تعداد سلولهای رویشی
TMU	یک روز بعد از انکوباسیون	۱/۱۰^{bc}	۰/۰۰	–
SAG		۰/۴۱^{ab}	۰/۰۰	–
TMU	چهار روز بعد ازانکوباسیون	۳/۴۲^{d}	۵/۹۲^{d}	۰/۵۷^{a}
SAG		۱/۳۳^{bc}	۲/۳۳^{b}	۰/۵۷^{a}
TMU	شش روز بعد ازانکوباسیون	۰/۱۸^{a}	۲/۱۷^{b}	۰/۱۰^{a}
SAG		۰/۷۵^{abc}	۱/۲۵^{ab}	۰/۶۰^{a}
TMU	هشت روز بعد ازانکوماسیون	۰/۴۲^{ab}	۴/۶۷^{c}	۰/۱۰^{a}
SAG		۰/۶۷^{bc}	۰/۸۷^{d}	۰/۷۰^{a}
TMU	بیست روز بعد ازانکوباسیون	۴/۰۰^{d}	۰/۵۸^{a}	۷/۱۰^{c}
SAG		۱/۰۸^{bc}	۰/۶۷^{a}	۱/۷۰^{b}

* مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام شده است و در هر ستون، تیمارهایی که حروف مشترک ندارند از نظر آماری معنی دار می‌باشند(آزمون دانکن).

جدول۲- تأثیر اسید آبسیزیک و سدیم کلراید بر میزان کاهش تعداد سلولهای رویشی و تبدیل آنها به کیست سبزرنگ و تولید ماده خشک در جلبک *Haematococcus pluvialis* سویه ایرانی(میانگین چهار تکرار)* .

تیمار	تکثیر سلولها در ظرف یک هفته اول، بعد از انکوباسیون	
	تعداد سلولهای رویشی در هر میلی‌لیتر (×۱۰^{۴})**	تعداد سلولهای کیست سبزرنگ در هر میلی‌لیتر (×۱۰^{۴})
شاهد	۵/۵۸^{C}	۱/۹۴^{b}
۱۰$^{-۳}$M ABA	۰/۴۴^{a}	۲/۱۳^{b}
۳۰ میلی مولار سدیم کلراید	۱/۵۰^{b}	۱/۱۹^{a}
۱۰$^{-۳}$M ABA + ۳۰ میلی مولار سدیم کلراید	۰/۱۳^{a}	۲/۲۵^{b}

*مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام شده است و در هر ستون، تیمارهائی که حروف مشترک ندارند ، از نظر آماری معنی دار می‌باشند (آزمون دانکن).

** تعداد سلولها در شروع آزمایش، برابر ۱/۲۵×۱۰^{۴} سلول رویشی و ۱×۱۰^{۴} کیست سبز در هر میلی‌لیتر محیط کشت بوده است.

www.SID.ir

Archive of SID

از آنجا که با تبدیل کیست سبز نابالغ به کیست قرمز بالغ، آستاگزانتین تولید می‌شود، بنابراین احتمال دارد، اسید آبسیزیک از طریق تاثیر بر مورفوژنز، کیست‌زایی و تولید کاروتن به عنوان یک تنظیم کننده موثر بر تولید کاروتنوئید آستاگزانتین نقش داشته باشد. اثر اسید آبسیزیک را بر تولید آستاگزانتین می‌توان از طریق تعیین نسبت Car./Chl. محتوای سلولی بررسی کرد، زیرا نسبت Car./Chl. معیار خوبی برای تمیز تبدیل سلولهای رویشی به کیست سبز غیرمتحرک (کیست نابالغ) و کیست قرمز (کیست بالغ) بوده و کاربرد دارد. معمولا" نسبت Car./ Chl. در حدود ۰/۵، ۱/۰ و ۷/۰ بترتیب در فازهای رشد رویشی، کیست سبز نابالغ و کیست قرمز بالغ گزارش شده است (Kobayahi *et al.*, 1997).

با شمارش تعداد کیست قرمز (جدول۳) معلوم شد که درحضور اسید آبسیزیک، (۴۳ روز بعد از انکوباسیون) تعداد کیست قرمز درسویه ایرانی از تعداد $۱۲/۳\times۱۰^{۴}$ سلول درهر میلی‌لیتر محیط کشت به تعداد $۱۳/۷\times۱۰^{۴}$ سلول می‌رسد، درسویه آلمانی نیز تعداد کیست قرمز از ۹×۱۰^{۴} سلول به $۱۱/۳\times۱۰^{۴}$ سلول افزایش پیدا می‌کند.

جدول۳- تأثیر اسید آبسیزیک بر تشکیل سلولهای کیست قرمز در جلبک *Haematococcus pluvialis* در طی اجرای دو آزمایش مجزا (میانگین چهار تکرار)*.

تیمار	تعداد کیست قرمز در هر میلی لیتر ($\times۱۰^{۴}$)	
	۴۳ روز بعد از انکوباسپیون	۵۴ روز بعد از انکوباسیون
	سویه ایرانی(TMU) **	
شاهد	$۱۲/۳^{a}$	-
$۱۰^{-۴}$M ABA	$۱۳/۷^{a}$	-
	سویه آلمانی (SAG) ***	
شاهد	$۹/۰^{a}$	$۱۱/۳^{a}$
$۱۰^{-۴}$M ABA	$۱۱/۳^{a}$	۸/۰b

*مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵درصد انجام شده و در تیمارهائی که حرف مشترک ندارند از نظر آماری معنی دار می باشند.

** تعداد سلولهای TMU، در شروع آزمایش برابر $۲/۲\times۱۰^{۴}$ سلول رویشی و $۱/۵\times۱۰^{۴}$ سلول کیست سبز در هر میلی‌لیتر از محیط کشت می‌باشد.

*** تعداد سلولهای SAG، در شروع آزمایش برابر $۴/۵\times۱۰^{۴}$ سلول رویشی و $۱/۲\times۱۰^{۴}$ سلول کیست سبز در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

اما ۵۴ روز بعد از انکوباسیون با شمارش تعداد سلولها در سویه آلمانی، معلوم شد که با مصرف ABA تعداد سلولها از $۱۱/۳\times۱۰^{۴}$ به $۸/۰\times۱۰^{۴}$ سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت، کاهش پیدا می‌کند (جدول ۳). شاید علت کاهش تعداد سلولها این است که در حضور اسید آبسیزیک، ۵۴ روز بعد از انکوباسیون، مرگ و میر سلولی (ناشی از پیری) افزایش می یابد. گزارش مهدیه، نیز نشان داده است که تعداد سلولهای سبزرنگ به فرم پالملوئید (Palmeloid) پس از تشکیل‌شدن، ابتدا شروع به افزایش کرده ودر روز نهم، تعداد سلولهای سبزرنگ به حالت اول خود برمی‌گردد، درادامه آن تا روز چهاردهم بتدریج کاهش پیدا می‌کند (مهدیه ۱۳۷۸). تأثیر اسید آبسیزیک بر پیرشدن سلولهای جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس را که در دو آزمایش جداگانه بررسی کردیم، می توان در جدول۴ ملاحظه کرد. براساس ارقام مندرج در این جدول، معلوم می‌شود اسید آبسیزیک بر افزایش تعداد سلولهای تخریب شده در محیط کشت (ناشی از پیرشدن سلول نیز تأثیر می‌گذارد. همچنین احتمال می‌رود فیتوهورمون اسید آبسیزیک از طریق تشدید تغییرات مورفولوژیکی سلولهای رویشی دوتاژکه و تبدیل آنها به سلولهای کیست قرمزرنگ که حاوی کاروتنوئید است بر رشد و تولید آستاگزانتین در این جلبک تأثیر بگذارد. احتمال دیگری نیز وجود دارد که اسید آبسیزیک بتواند از طریق کاهش فعالیت اعمال متابولیکی این جلبک، موجب افزایش کاروتنوئید محتوی آن شود و به‌عنوان یک تنظیم کننده مؤثر برای تولید کاروتنوئید در سلولهای جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس به کار رود. همچنین ممکن است افزایش تولید آستاگزانتین به‌وسیله سلولهای کیست این جلبک، معرف مقاوم بودن کیست آن نسبت به شرایط محیطی دشوار و نامناسب باشد. اثبات این موضوع به آزمایشهای بیشتری نیاز دارد (نگارنده)، از ارقام جدول ۵ استنباط می‌شود که تأثیر مصرف ABA در افزایش تولید ماده خشک جلبک هماتوکوکوس، تابع زمان انکوباسیون است، به طوری‌که ۵۵ روز، ۷۶ روز و ۱۵۰ روز بعد از انکوباسیون، ضریب افزایش ماده خشک ناشی از تأثیر تیمار ABA، بدون مصرف نمک به ترتیب ۱/۲، ۱/۵ و ۴/۳ است، در حالی‌که با مصرف نمک و شورشدن محیط کشت جلبکها، این ضرایب، به ترتیب ۱/۰، ۰/۹ و ۰/۹ است. احتمال دارد این نتیجه به تأثیر مثبت ABA بر افزایش و تأثیر منفی نمک (در غلظت مصرف‌شده) بر کاهش تولید ماده خشک، در این جلبک مربوط باشد (جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۴- تأثیر اسید آبسیزیک بر پیرشدن سلولهای دو سویه آلمانی(SAG) و ایرانی (TMU) جلبک *Haematococcus pluvialis* درطی انجام دو آزمایش مجزا (میانگین چهار تکرار) *.

تیمار	تعداد سلولهای تخریب شده در هر میلی لیتر محیط کشت (۱۰^{۴} ×)	
	سلولهای ۴۰ روزه سویه SAG **	سلولهای ۵۴ روزه سویه TMU ***
شاهد	۰/۱ ^{a}	۰/۸ ^{a}
۱۰$^{-۴}$M ABA	۲/۱ ^{b}	۳/۰ ^{b}

* مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام شده و در هر ستون تیمارهائی که حرف مشترک ندارند از نظر آماری معنی‌دار می باشند.

** تعداد سلولهای SAG، در شروع آزمایش برابر ۴/۵×۱۰^{۴} سلول رویشی و ۱/۲×۱۰^{۴} سلول کیست سبز، در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

***تعداد سلولهای TMU، در شروع آزمایش برابر ۲/۲×۱۰^{۴} سلول رویشی و ۱/۵×۱۰^{۴} سلول کیست سبز، در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

از آنجایی که مصرف ABA فقط در شرایط غیرشور موجب افزایش ماده خشک می شود (جدول ۵)، ممکن است این افزایش به علت تأثیر آن بر سرعت پیری سلولها و تشدید کیست‌زایی در این جلبک باشد، که نتیجه آن افزایش تولید ماده خشک است. علت اختلاف تأثیر ABA بر تولید ماده خشک در محیط شور و غیرشور شاید این باشد که جلبک هماتوکوکوس، ساکن آب شیرین بوده و نسبت به مصرف نمک با غلظت ۳۰ میلی مولار حساس است و اضافه کردن نمک توأم با ABA در مقایسه با مصرف ABA به تنهایی موجب کاهش تولید ماده خشک در این جلبک شده است.

جدول۵- تأثیر اسید آبسیزیک و سدیم کلراید بر میزان تولید ماده خشک، در جلبک *Haematococcus pluvialis* سویه TMU (میانگین چهار تکرار)*.

تیمار	تولید ماده خشک برحسب گرم در لیتر**		
	۵۵ روز بعد از انکوباسیون	۷۶ روز بعد از انکوباسیون	۱۵۰ روز بعد از انکوباسیون
شاهد	۰/۸۹^{a}	۱/۲۰^{a}	۱/۴۸^{b}
	(۱۰۰)	(۱۰۰)	(۱۰۰)
۱۰$^{-۳}$M ABA	۰/۹۶^{c}	۱/۸۳^{d}	۶/۴۲^{c}
	(۱۲۲)	(۱۵۳)	۴۳۳
۳۰ میلی مولار سدیم کلراید	۰/۷۶^{a}	۰/۹۳^{a}	۱/۰۶^{a}
	(۹۷)	(۷۸)	(۷۲)
۱۰$^{-۳}$M ABA + ۳۰ میلی مولار سدیم کلراید	۰/۸۶^{b}	۱/۰۵ ^{a}	۱/۳۰^{ab}
	(۱۰۸)	(۸۸)	(۸۸)

* مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵درصد انجام شده است و در هر ستون تیمارهایی که حروف مشترک ندارند، از نظر آماری معنی دار می‌باشند (آزمون دانکن).

** تعداد سلولها در شروع آزمایش برابر ۱/۵×۱۰^{۴} سلول رویشی، ۱×۱۰^{۴} کیست سبز، در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

Boussiba, S., and Vonshak, A. (1991) *Astaxanthin accumulation in the green alga. Haematococcus pluvialis*. Plant cell physiol., **32**, 1077-1082.

Creelman, R.A., Mason, H.S., Bensen, R.J., Boyer, J.S., and Mullet, J. (1990) *Water deficit and abscisic acid cause differental inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. Analysis of growth, sugar accumulation, and gene expression*. Plant Physiol., **92**, 205-214.

Farrahi-Aschtiani, S. (1993) *Some effect of abscisic acid on halophyte Suaeda maritima (L.) Dum*. Plant Physiol.Suppl., **102**, 927.

Goodwin, T.W. and Jamikron, M. (1954) *Studies in Carotenogenesis. II. Caroteniod Synthesis in the alga Haematococcus pluvialis*. Biochem. J., **57**, 376-381.

Henson, I.E. (1984) *Effects of atmospheric humidity on abscisic acid accumulation and water status in leaves of rice (Oryza sativa.L.)* Ann. Bot., **54**, 596-582.

Kakizono, T., Kobayashi, M., and Nagai, S. (1992) *Effect of Carbon/nitrogen ratio on encystment accompanied with astaxanthin formation in a green alga Haematococcus pluvialis*. J. Ferment. Bioeng., **74**, 403-405.

Kobayashi, M., Kakizono, T., and Nagai, S. (1991) *Astaxanthin production by a green alga, Haematococcus pluvialis accompanied with morphological changes in acetate media*. J. Ferment. Bioeng., **71**, 335-339.

Kobayashi, M., Kakizono, T., and Nagai, S.(1993) *Enhanced Carotenoid biosymthesis by oxidative stress in acetate- induced cyst cells of a green unicellular alga, Hamatococcus pluvialis*. Appl. Environ. Microbiol. **59**, 867-873.

Kobayashi, M., Hirai, N., Kurimura,Y., Ohigashi, H., and Tsugi, Y. (1997) *Abscisic acid-dependent algal morphogenesis in the unicellular green alga Haematococcus pluvialis*. Plant Growth Regul., **22**, 79-85.

Lang, V., and Palva, E.T. (1992) *The expression of a rab-related gene, rab 18, is induced by abscisic acid during the cold acclimation process of Arabidopsis thaliana(L.) Heynth*. Plant Mol. Biol. **20**, 951-962.

Mohapatra, S.S., Poole, R.J., and Dhindsa, R.S. (1988) *Abscisic acid-regulated gene expression in relation to freezing tolerance in alfalfa*. Plant physiol. **87**, 468-473.

Raschke, K.(1975) *Stomatal action*. Annu Rev. Plant Physiol. **26**, 309-340.

Singh, N.K., Nelson, D.E., Kuhn, D., Hasegawa, P.M., and Bressan, R.A. (1989) *Molecular cloning of osmotin and regulation of its expression by ABA and adaptation of low water potential*. Plant Physiol. **90**, 1096-1101.

Skriver, K., and Mundy, J. (1990) *Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress*. Plant Cell **2**, 503-512.

Tietz, A., and Kasprik, W. (1986) *Identification of abscisic acid in a green alga*. Biochem Physiol Pflanz. **181**, 269-277.

Tjahjono, A.E., Hayama, Y. kakizono, T., Terada, Y., Nishio, N., and Nagai, S. (1994) *Hyper- accumulation of astaxanthin in a green alga Haematococcus pluvialis at elevated temperatures*. Biotechnol. Lett., **16**, 133-138.

Zeevaart, J.A.D., and Creelman, R.A. (1988) *Metabolism and Physiology of abscisic acid*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. **39**, 439-473.

www.SID.ir

Archive of SID

فرهی آشتیانی، ص. و مهدیه، م. (۱۳۸۱) *تاثیر شدت نور بر تولید آستاگزانتین در دوسویه جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس*. مجله علوم دریایی ایران، دوره اول، شماره سوم، ص. ۱۶-۹.

فرهی آشتیانی، ص.، مهدیه، م، و نحوی، الف. (۱۳۸۱) *تاثیر شوری، ائوزین و کمبود فسفات بر میزان رشد و تولید آستاگزانتین در جلبک سبز تک سلولی هماتوکوکوس پلوویالیس*. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ششم، شماره دوم، ص. ۲۱۴-۲۰۱.

مهدیه، م. (۱۳۷۸) *تاثیر شوری و برخی از عوامل تغذیه ای بر میزان رشد و تولید کاروتنوئید در برخی از جلبکهای سبز*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

www.SID.ir