

تأثیر اسید آبسزیک 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 آبسزیک (ABA) بر رشد سلولهای سبز رنگ 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 سبز رنگ در سویه ایرانی در مقایسه با سویه آلمانی زیادتر است. تعداد کل سلولهای جلبک با مصرف اسید آبسزیک در مدت ۷۶ روز ۱/۵ برابر و در مدت ۱۵۰ روز ۴ برابر می‌شود و سلولهای سبز رویشی در هر دو سویه، سریعتر به کیست قرمز تبدیل می‌شود. به نظر می‌رسد علت این افزایش آن است که سلولهای رویشی در حضور اسید آبسزیک زودتر پیر شده و به کیست تبدیل می‌شوند. بنابراین لازم است تأثیر مصرف ABA به عنوان یک تنظیم‌کننده 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: اسید آبسزیک، جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس، فرایند پیری، تغییر شکل سلولی.

مقدمه

سلولهای رویشی دوتاژ که 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 در عرضه 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 آبسزیک (ABA) به عنوان یک فیتوهورمون تنش، در متابولیسم و فیزیولوژی گیاهان عالی نقش دارد (Zeevart and Creelman, 1988). تحقیقات نشان داده است که این فیتوهورمون در بسیاری از فرایندهای تکوینی و فیزیولوژیکی گیاهان مانند بسته شدن شکاف روزنه، افزایش رشد ریشه و کاهش رشد بخش هوایی نقش دارد (Creelman *et al.*, 1990). همچنین مقدار ABA در بافتهای در معرض تنش اسمزی ناشی از نمک (Raschke, 1975) و تنش رطوبت (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 آبسزیک در جلبکها نیز وجود دارد (Tietz and Kasprick, 1986). سلولهای رویشی جلبک هماتوکوکوس در محیطهای کشت حاوی فیتوهورمون اسید آبسزیک 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 آبسزیک محتوی آنها نیز افزوده می‌شود (Kobayashi *et al.*, 1997). همچنین میزان تولید آستاگزانتین در سویه‌های مختلف این جلبک، متفاوت است (فرهی آشتیانی و مهدیه، ۱۳۸۱). براساس احتمال شاید اسید آبسزیک به عنوان یک فیتوهورمون بر تغییرات مورفولوژیکی، کیست‌زایی و تولید آستاگزانتین در سویه‌های مختلف این جلبک به شیوه‌های متفاوت اثر بگذارد، به همین علت تأثیر مصرف اسید آبسزیک بر میزان رشد دو سویه مختلف جلبک *Haematococcus pluvialis*، مورد مطالعه قرار گرفت.

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 20°C ، شدت نور $30-40$ 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 250 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 آبسزیک، در برخی از آزمایشها با غلظت 10^{-3}M و در بعضی دیگر با غلظت 10^{-4}M (به غلظت اسید آبسزیک مصرف شده در جداول توجه شود) و نمک، با غلظت 30 میلی مولار به محیط کشت بولد (مهدیه، ۱۳۷۸) اضافه شد، سپس ارلن‌ها در اتاقک رشد، تحت شرایط ذکر شده قرار گرفتند.

در پایان هر آزمایش، 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 $\times 10$ ، عدسی شیئی $\times 20$ ، عدسی بینا بینی با بزرگنمایی $3/3$ و میکروسکوپ نوری، مدل Olympus (با بزرگنمایی 660) 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 $0/45$ میکرون) فیلتر شده، سپس نمونه‌ها در دمای 80°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 دوتاژ که رویشی متحرک و هم سلولهای زایشی غیرمتحرک (در ابتدا سبز رنگ بوده و بعد قرمز رنگ می‌شوند) در محیط کشت این جلبک دیده می‌شود. این موضوع به

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 می شود 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 در هر میلی لیتر محیط کشت برابر $۳/۴۲ \times ۱۰^۴$ سلول زایشی و $۵/۹۲ \times ۱۰^۴$ سلول رویشی است، اما میانگین تعداد سلولهای جلبک سویه SAG در هر میلی لیتر محیط کشت، $۱/۳۳ \times ۱۰^۴$ سلول زایشی و $۲/۳۳ \times ۱۰^۴$ سلول رویشی می باشد. با محاسبه نسبت تعداد سلولهای زایشی به تعداد سلولهای رویشی معلوم می شود که این نسبت در روز چهارم انکوباسیون برای هر دو سویه جلبک ذکر شده یکسان بوده و برابر با $۰/۵۷$ است (جدول ۱). 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 $۱/۷$ می شود. این اختلاف نسبت، تکثیر شدیدتر سلولهای سویه ایرانی را در مقایسه با سویه آلمانی، در طول زمان یکسان نشان می دهد که شاید علت آن به متغیر بودن زمان لازم برای تبدیل شکل های مختلف سلولی به یکدیگر در دو سویه مختلف این جلبک مربوط باشد، که با سرعت جوانه زنی کیستهای قرمز و سرعت تقسیم سلولهای هر سویه جلبک ارتباط دارد. بنابراین لازم به یادآوری است که کیستهای قرمز رنگ (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 آبسزیک (ABA) به عنوان یک فیتوهورمون در گیاهان عالی نسبت به تنش خشکی و برخی تنش های 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 می یابد و به کیست سبز رنگ (کیست نابالغ) تبدیل می شوند. به علاوه تیمار ABA موجب افزایش و تیمار نمک، سبب کاهش تعداد کیستهای سبزرنگ می شود (جدول ۲).

جدول ۱- بررسی تغییرات سلولهای زایشی (کیست قرمز غیرمتحرک) و رویشی (سلولهای دوتاژکه سبزنگ) در دو سویه مختلف جلبک *Haematococcus* در ظرف ۲۰ روز (میانگین سه تکرار) *.

| سویه جلبک | شمارش سلولها | میانگین تعداد سلولهای زایشی در هر میلی لیتر ($\times 10^4$) | میانگین تعداد دسلولهای رویشی در هر میلی لیتر ($\times 10^4$) | نسبت تعداد سلولهای زایشی به تعداد سلولهای رویشی |
|-----------|----------------------------|---|--|---|
| TMU SAG | یک روز بعد از انکوباسیون | ۱/۱۰ ^{bc} | ۰/۰۰ | - |
| | | ۰/۴۱ ^{ab} | ۰/۰۰ | - |
| TMU SAG | چهار روز بعد از انکوباسیون | ۳/۴۲ ^d | ۵/۹۲ ^d | ۰/۵۷ ^a |
| | | ۱/۳۳ ^{bc} | ۲/۳۳ ^b | ۰/۵۷ ^a |
| TMU SAG | شش روز بعد از انکوباسیون | ۰/۱۸ ^a | ۲/۱۷ ^b | ۰/۱۰ ^a |
| | | ۰/۷۵ ^{abc} | ۱/۲۵ ^{ab} | ۰/۶۰ ^a |
| TMU SAG | هشت روز بعد از انکوباسیون | ۰/۴۳ ^{ab} | ۴/۶۷ ^c | ۰/۱۰ ^a |
| | | ۰/۶۷ ^{bc} | ۰/۸۷ ^d | ۰/۷۰ ^a |
| TMU SAG | بیست روز بعد از انکوباسیون | ۴/۰۰ ^d | ۰/۵۸ ^a | ۷/۱۰ ^c |
| | | 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).

جدول ۲- تأثیر اسید آبسزیک و سدیم کلراید بر میزان کاهش تعداد سلولهای رویشی و تبدیل آنها به کیست سبزنگ 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 میلی لیتر ($\times 10^4$) ** | تعداد سلولهای کیست سبزنگ در هر میلی لیتر ($\times 10^4$) |
| شاهد | ۵/۵۸ ^C | ۱/۹۴ ^b |
| ۱۰ ^{-۲} M ABA ۳۰ میلی مولار سدیم کلراید | ۰/۴۴ ^a | ۲/۱۳ ^b |
| | ۱/۵۰ ^b | ۱/۱۹ ^a |
| ۱۰ ^{-۲} 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، تیمارهایی که حروف مشترک ندارند، از نظر آماری معنی دار میباشند (آزمون دانکن).
** تعداد سلولها در شروع آزمایش، برابر $1/25 \times 10^4$ سلول رویشی و 1×10^4 کیست سبز در هر میلی لیتر محیط کشت بوده است.

از آنجا که با تبدیل کیست سبز نابالغ به کیست قرمز بالغ، آستاگزانتین تولید می‌شود، بنابراین احتمال دارد، اسید آبسزیک از طریق تاثیر بر مورفوژنز، کیست‌زایی و تولید کاروتن به عنوان یک تنظیم کننده موثر بر تولید کاروتنوئید آستاگزانتین نقش داشته باشد. اثر اسید آبسزیک 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. معمولاً 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 (جدول ۳) معلوم شد که در حضور اسید آبسزیک، (۴۳ روز بعد از انکوباسیون) تعداد کیست قرمز در سویه ایرانی از تعداد $12/3 \times 10^4$ سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت به تعداد $13/7 \times 10^4$ سلول می‌رسد، در سویه آلمانی نیز تعداد کیست قرمز از 9×10^4 سلول به $11/3 \times 10^4$ سلول افزایش پیدا می‌کند.

جدول ۳- تأثیر اسید آبسزیک 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 ($\times 10^4$) | |
|-------|---|--------------------------|
| | ۴۳ روز بعد از انکوباسیون | ۵۴ روز بعد از انکوباسیون |
| شاهد | ۱۲/۳ ^a | - |
| | ۱۰ ^{-۴} M ABA | ۱۳/۷ ^a |
| شاهد | ۹/۰ ^a | ۱۱/۳ ^a |
| | ۱۰ ^{-۴} M ABA | ۸/۰ ^b |

*مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام شده و در تیمارهایی که حرف مشترک ندارند از نظر آماری معنی دار می‌باشند.
****** تعداد سلولهای TMU، در شروع آزمایش برابر $2/2 \times 10^4$ سلول رویشی و $1/5 \times 10^4$ سلول کیست سبز در هر میلی‌لیتر از محیط کشت می‌باشد.
******* تعداد سلولهای SAG، در شروع آزمایش برابر $4/5 \times 10^4$ سلول رویشی و $1/2 \times 10^4$ سلول کیست سبز در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

اما ۵۴ روز بعد از انکوباسیون با شمارش تعداد سلولها در سویه آلمانی، معلوم شد که با مصرف ABA تعداد سلولها از $11/3 \times 10^4$ به $8/0 \times 10^4$ سلول در هر میلی لیتر محیط کشت، کاهش پیدا می کند (جدول ۳). شاید علت کاهش تعداد سلولها این است که در حضور اسید آبسزیک، ۵۴ روز بعد از انکوباسیون، مرگ و میر سلولی (ناشی از پیری) افزایش می یابد. گزارش مهديه، نیز نشان داده است که تعداد سلولهای سبزرنگ به فرم پالملوئید (Palmeloid) پس از تشکیل شدن، ابتدا شروع به افزایش کرده و در روز نهم، تعداد سلولهای سبزرنگ به حالت اول خود برمی گردد، در ادامه آن تا روز چهاردهم بتدریج کاهش پیدا می کند (مهديه ۱۳۷۸). تأثیر اسید آبسزیک بر پیر شدن سلولهای جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس را که در دو آزمایش جداگانه بررسی کردیم، می توان در جدول ۴ ملاحظه کرد. براساس ارقام مندرج در این جدول، معلوم می شود اسید آبسزیک بر افزایش تعداد سلولهای تخریب شده در محیط کشت (ناشی از پیر شدن سلول نیز تأثیر می گذارد. همچنین احتمال می رود فیتوهورمون اسید آبسزیک از طریق تشدید تغییرات مورفولوژیکی سلولهای رویشی دوتاژ که و تبدیل آنها به سلولهای کیست قرمز رنگ که حاوی کاروتنوئید است بر رشد و تولید آستاگزانتین در این جلبک تأثیر بگذارد. احتمال دیگری نیز وجود دارد که اسید آبسزیک بتواند از طریق کاهش فعالیت اعمال متابولیکی این جلبک، موجب افزایش کاروتنوئید محتوی آن شود و به عنوان یک تنظیم کننده مؤثر برای تولید کاروتنوئید در سلولهای جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس به کار رود. همچنین ممکن است افزایش تولید آستاگزانتین به وسیله 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 می شود که تأثیر مصرف ABA در افزایش تولید ماده خشک جلبک هماتوکوکوس، تابع زمان انکوباسیون است، به طوری که ۵۵ روز، ۷۶ روز و ۱۵۰ روز بعد از انکوباسیون، ضریب افزایش ماده خشک ناشی از تأثیر تیمار ABA، بدون مصرف نمک به ترتیب $1/2$ ، $1/5$ و $4/3$ است، در حالی که با مصرف نمک و شورشیدن محیط کشت جلبکها، این ضرایب، به ترتیب $1/0$ ، $0/9$ و $0/9$ است. احتمال دارد این نتیجه به تأثیر مثبت ABA بر افزایش و تأثیر منفی نمک (در غلظت مصرف شده) بر کاهش تولید ماده خشک، در این جلبک مربوط باشد (جدول ۵).

جدول ۴- تأثیر اسید آبسازیک بر پیرشدن سلولهای دو سویه آلمانی (SAG) و ایرانی (TMU) جلبک *Haematococcus pluvialis* در طی انجام دو آزمایش مجزا (میانگین چهار تکرار) *

| تعداد سلولهای تخریب شده در هر میلی لیتر محیط کشت ($\times 10^4$) | | تیمار |
|--|-----------------------------|-----------------|
| سلولهای ۵۴ روزه سویه TMU *** | سلولهای ۴۰ روزه سویه SAG ** | |
| ۰/۸ ^a | ۰/۱ ^a | شاهد |
| ۳/۰ ^b | ۲/۱ ^b | 10^{-3} M ABA |

* مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام شده و در هر ستون تیمارهایی که حرف مشترک ندارند از نظر آماری معنی‌دار می‌باشند.
 ** تعداد سلولهای SAG، در شروع آزمایش برابر $4/5 \times 10^4$ سلول رویشی و $1/2 \times 10^4$ سلول کیست سبز، در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.
 *** تعداد سلولهای TMU، در شروع آزمایش برابر $2/2 \times 10^4$ سلول رویشی و $1/5 \times 10^4$ سلول کیست سبز، در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

از آنجایی که مصرف ABA فقط در شرایط غیرشور موجب افزایش ماده خشک می‌شود (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.

جدول ۵- تأثیر اسید آبسازیک و سدیم کلراید بر میزان تولید ماده خشک، در جلبک *Haematococcus pluvialis* سویه TMU (میانگین چهار تکرار) *.

| تولید ماده خشک بر حسب گرم در لیتر ** | | | تیمار |
|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| ۱۵۰ روز بعد از انکوباسیون | ۷۶ روز بعد از انکوباسیون | ۵۵ روز بعد از انکوباسیون | |
| ۱/۴۸ ^b | ۱/۲۰ ^a | ۰/۸۹ ^a | شاهد |
| (۱۰۰) | (۱۰۰) | (۱۰۰) | |
| ۶/۴۲ ^c | ۱/۸۳ ^d | ۰/۹۶ ^c | 10^{-3} M ABA |
| ۴۳۳ | (۱۵۳) | (۱۲۲) | |
| ۱/۰۶ ^a | ۰/۹۳ ^a | ۰/۷۶ ^a | ۳۰ میلی مولار سدیم کلراید |
| (۷۲) | (۷۸) | (۹۷) | |
| ۱/۳۰ ^{ab} | ۱/۰۵ ^a | ۰/۸۶ ^b | 10^{-3} M ABA |
| (۸۸) | (۸۸) | (۱۰۸) | + |
| | | | ۳۰ میلی مولار سدیم کلراید |

* مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵ درصد انجام شده است و در هر ستون تیمارهایی که حروف مشترک ندارند، از نظر آماری معنی‌دار می‌باشند (آزمون دانکن).
 ** تعداد سلولها در شروع آزمایش برابر $1/5 \times 10^4$ سلول رویشی، 1×10^4 کیست سبز، در هر میلی لیتر محیط کشت می‌باشد.

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 differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. Analysis of growth, sugar accumulation, and gene expression*. Plant Physiol., **92**, 205-214.
- Farrahi-Ashtiani, 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. Carotenoid 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 biosynthesis 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.

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. ۹-۱۶.

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. ۲۰۱-۲۱۴.

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.