مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۳ شماره ۳ صفحه های ۵۲۳ تا ۵۳۸ (۱۴۰۱)
مقاله پژوهشی

تأثیر آبسیزیک‌اسید بر میزان رشد، زیست‌توده خشک، انباشت لیپید و رنگدانه‌های فتوسنتزی ریزجلبک *Nannochloropsis salina* در محیط کشت گیلارد[1]

The Effect of Abscisic Acid on the Growth Rate, Dry Biomass, Total Lipid and Photosynthetic Pigments of *Nannochloropsis salina* Microalgae in Guillard (F/2) Medium

مجتبی قاسمی، لیلا فهمیده*، صالحه گنجعلی، مجتبی کیخاصابر و محمد مدرسی[2]

چکیده

ریزجلبک *Nannochloropsis salina* یک گونه امیدبخش برای تولید لیپید است که در آبزی‌پروی و تولید سوخت زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از طرفی، هورمون‌های گیاهی نیز اثرهای مختلفی بر سوخت و ساز جلبک‌های تک یاخته‌ای دارند. از این رو، آزمایشی با هدف بررسی تاثیر غلظت‌های آبسیزیک‌اسید (ABA) بر رشد و زمان دو برابر شدن، مقدار کلروفیل‌ها، کاروتنوئید، زیست‌توده خشک، ABA درونی و لیپید کل ریزجلبک *N. salina* در محیط کشت گیلارد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱۰ و۲۰ میلی‌گرم در لیتر آبسیزیک‌اسید بود. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه ریزجلبک پارک علم و فناوری خلیج فارس بوشهر انجام شد. تجزیه واریانس نشان داد که تیمار ABA بر تمام ویژگی‌های مورد مطالعه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر آبسیزیک‌اسید باعث افزایش نرخ رشد، مقدار کلروفیل‌ها، ABA درونی و لیپید کل در این ریزجلبک گردید. بیشترین کاروتنوئید و زیست‌توده خشک بهترتیب در تیمارهای ۰/۵میلی‌گرم بر لیتر و شاهد مشاهده شد. یافته‌های پژوهش نشان داد غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ABA بر تولید لیپید و کاروتنوئید ریزجلبک موثر بوده، ولی برای افزایش تولید لیپید کل، غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA مناسب‌تر است.

واژه‌های کلیدی: اسید چرب، تنظیم کننده رشد گیاهی، سوخت زیستی، کاروتنوئید.

مقدمه

ریزجلبک *Nannochloropsis* از نوعی یاخته‌های کوچک (کمتر از ۵ میکرومتر) کوکوئید یونی تشکیل شده است و در اصل در محیط دریایی یافت می‌شود (۶). گونه‌های مختلف از جنس *Nannochloropsis* به دلیل زیست‌توده بالا و بهره‌وری از لیپیدها و پتانسیل آن‌ها برای کشت در مقیاس وسیع مورد توجه قرار گرفته است. ریزجلبک سبز تک‌یاخته‌ای *Nannochloropsis salina* متعلق به رده Eustigmatophyceae و خانواده Monodopsidaceae می‌باشد و امروزه به عنوان یک گونه کاندیدای امیدوارکننده برای تولید پایدار فرآورده‌های جنبی با ارزش بالا از جمله اسیدهای چرب غیراشباع چندتایی با

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۳۰

۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران، دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و دانشگاه زابل، استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل و استادیار گروه ژنتیک و بهنژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (l.fahmideh@gau.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

زنجیره طولانی[1]، اسید چرب امگا-۳، اسید چرب امگا-۶ و آیکوزاپِنتانوئیک اسید[2] مطرح است (۳۵). ریزجلبک *Nannochloropsis* برای پرورش ماهی به طور مستقیم یا از راه روتیفر[3](چرخان‌تنان) در آبزی‌پروی مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا *Nannochloropsis* در فرآیند پرورش رفتار بسیار پایداری دارد (۷). در این ریزجلبک دریایی کلروفیل a و رنگدانه‌های کمکی ویولاگزانتین[4] و وُچریاگزانتین[5] نقش عمده‌ای در جذب نور دارند. برخی از گزانتوفیل[6]های کوچک (کانتاگزانتین[7]، آنتراگزانتین[8]، زئآگزانتین[9]) و کاروتن[10]ها (بتاکاروتن) نیز در مقادیر بسیار کمتری وجود دارند. گونه‌های جلبکی از *Isochyrsis*، *Nannochloropsis*، *Pavlova* و *Phaeodactylum* برای زیست‌توده و بهره‌وری لیپید و همچنین محتوای اسیدچرب اُمگا بررسی شده است (۱۵). در چندین گونه از *Nannochloropsis* نشان داده شده است که از نظر روغن (تا۶۰ درصد روغن از وزن خشک) و ایکوزاپنتانوئیک اسید به طور طبیعی در این ریزجلبک فراوان است. مطالعه‌های تکمیلی نشان داده است که تولید روغن و ایکوزاپِنتانوئیک اسید در *Nannochloropsis* sp.، *N. gaditana*، *N. oceanica*، *N. oculata* و *N. salina* می‌تواند از طریق دست‌ورزی ژنتیکی، گرسنگی نیتروژن، تغییر شدت نور و نیز با تغییر شرایط دمایی افزایش یابد (۲۳). مطالعه‌ای دیگر به بررسی متابولیسم و بازسازی لیپیدها در گونه‌های مختلف *Nannochloropsis* پرداخته و نشان داده است که اختلالات محیطی، مانند شدت نور و کمبود نیتروژن، به ترتیب منجر به بازسازی لیپید و تجمع تری‌اسیل‌گلیسرول[11] (TAG) می‌شود (۱۲).

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و آنالوگ‌های آن‌ها اثرهای تحریک‌کننده بر رشد و تولید متابولیت‌های (کاروتنوئید، لیپید، کربوهیدرات و پروتئین) ریزجلبک دارند. آبسیزیک‌اسید[12] (ABA) یک تنظیم‌کننده رشد مؤثر است که بر بسیاری از جنبه‌های رشدی و فرآیندهای نموی گیاه تأثیر می‌گذارد (۲۴). فرمول ساختاری ABA یک سسکوئی‌ترپن (C_{15}) است. هورمون ABA ابتدا توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) در جلبک‌های قهوه‌ای و سبز شناسایی شد (۱۰). گزارش‌های پیشین نشان می‌دهد که ABA ممکن است به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کاروتنوژنز عمل کند و همچنین می‌تواند به‌عنوان عامل مؤثر برای تولید کاروتنوئید در ریزجلبک *Dunaliella salina* و *Haematococcus pluvialis* استفاده شود (۱۱). همچنین، گزارش شده است که تنظیم‌کننده رشد گیاهی ABA می‌توانند تولید آستازانتین و کاروتنوئیدها را در *Haematococcus pluvialis* به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. آبسیزیک‌اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، رشد و تحمل تنش اکسیداتیو در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* را افزایش می‌هد. هورمون ABA به‌طور قابل توجهی رشد و تجمع تری‌اسیل‌گلیسرول را در ریزجلبک *Chlorella saccharophila* افزایش می‌دهد. همچنین پژوهش‌هایی نشان داده‌اند که ABA باعث کاهش تنش‌های شوری، اسمزی، اکسیداتیو، خشکی و مواد مغذی در جلبک می‌شود (۱۴). بنابراین، پیشنهاد شده است که کشت ریز جلبک‌ها می‌تواند منجر به تولیدات زیستی با ارزش بیشتر با ترکیبی از ABA برون‌زا و تنش شود. مطالعه دیگر نشان داد که کاربرد بیرونی ABA تجمع کاروتنوئیدها، تحمل تنش در برابر کمبود آب برای یک جلبک سبز *H. pluvialis* را افزایش می‌دهد و کاروتنوئیدهای انباشته شده بیش‌تر به‌عنوان یک عامل محافظ در برابر آسیب تنش اکسیداتیو عمل می‌کنند (۱۱). در ریز جلبک *S. quadricauda*، اضافه کردن ۲ میکرومولار ABA پس از ۴۸ ساعت کشت، تولید زیست‌توده را در شرایط کمبود نیتروژن ۲/۱ برابر افزایش داد، بنابراین ممکن است این یک استراتژی برای کشت ریز جلبکی کارآمد برای تولید سوخت زیستی باشد. در ضمن، تجمع لیپید در ریزجلبک‌ها با اضافه کردن ABA به تنهایی در محیط کشت نیز آشکار شده است. نشان داده شده است که یک میلی‌گرم بر لیتر ABA باعث افزایش تولید لیپید در سویه *C. vulgaris* ZF و FACHB-31 به ترتیب با مقادیر ۱۲۳ و ۴۴ درصد می‌شود (۱۰). همچنین، نتیجه‌ها نشان داد که ABA می‌تواند باعث افزایش تولید زیست‌توده، کاروتنوئیدها و لیپیدها در تاژک‌دار تک‌یاخته‌ای *Euglena gracilis* شود (۱۶).

اگرچه تعدادی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در برخی گونه‌های ریزجلبک مورد مطالعه قرار گرفته است، اما تاکنون تأثیر غلظت‌های مختلف ABA در محیط کشت گیلارد به منظور بررسی تغییرهای محتوای لیپید کل، کاروتنوئید و زیست‌توده

۱- Polyunsaturated fatty acids ۲- Eicosapentaenoic acid ۳- Rotifer ۴- Violaxanthin
۵- Vaucheriaxanthin ۶- Xanthophyll ۷- Canthaxanthin ۸- Antheraxanthin ۹- Zeaxanthin
۱۰- Carotene ۱۱- Triacylglycerol ۱۲- Abscisic acid

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

در گونه ریزجلبک *N. salina* مطالعه نشده است. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تیمارهای ABA بر میزان تغییرهای رشد، تجمع برخی رنگدانه‌های فتوسنتزی، زیست‌توده خشک، محتوای آبسیزیک اسید درونی و لیپید کل ریزجلبک *N. salina* در محیط کشت گیلارد (f/2) انجام شد.

مواد و روش‌ها

گونه و شرایط کشت

ریزجلبک نانوکلروپسیس سالینا (*Nannochloropsis salina* SAG40.85) از کلکسیون کشت و پروش جلبک دانشگاه گوتینگن آلمان[1](SAG) خریداری گردید. برای کشت ریزجلبک، از محیط کشت گیلارد (f/2) با اندکی تغییرات (۹) با شوری ۲۵ دسی‌زیمنس بر متر ($dS\ m^{-1}$) و از آب دریا به عنوان آب پایه در این آزمایش استفاده شد که ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب دریای مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. بدین منظور آب دریای خلیج فارس از ساحل محدوده پارک دانشجو شهر بوشهر و به فاصله یک کیلومتری از ساحل و از عمق حدود یک متری به وسیله سیستم پمپاژ به گلخانه کشت و پرورش جلبک و آرتمیای پژوهشکده خلیج فارس در دانشگاه خلیج فارس بوشهر منتقل و پس از طی نمودن مراحل فیلتراسیون در گالن ۲۰ لیتری جمع‌آوری و به آزمایشگاه مرکز توسعه فناوری ریزجلبک خلیج فارس وابسته به پارک علم و فناوری خلیج فارس بوشهر انتقال داده شد. ترکیب محیط کشت گیلارد (f/2) اندکی تغییر یافته مورد استفاده در این آزمایش بر طبق پروتکل تهیه محیط کشت گیلارد (f/2) (۹) آماده‌سازی گردید که جزئیات آن در جدول ۲ آورده شده است. محلول‌های ویتامین‌ها، عناصر ریزمغذی کم‌مصرف، نیترات سدیم و مونو سدیم فسفات محیط کشت گیلارد (f/2) در چهار ظرف جداگانه تهیه و سپس یک میلی‌لیتر از هر محلول در یک لیتر آب دریا حل گردید. سپس میزان pH محیط کشت پیش از اتوکلاو pH=۷/۳ تنظیم شد. در مرحله‌ی بعد مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت درون هر یک از ظرف‌های ارلن‌مایر شیشه‌ای با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر ریخته و سپس دهانه هر ظرف با پنبه کتانی و فویل آلومینیومی به‌طور کامل پوشانده شد. ظرف‌های شیشه‌ای حاوی محیط کشت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس با فشار ۱/۵ بار به مدت ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اتوکلاو (شرکت ریحان طب، ساخت ایران) ضدعفونی گردیدند. پس از خنک شدن ظروف حاوی محیط کشت در زیر هود لامینار ایرفلو کلاس ۲ (مدل KG-A100، کیمیاژن پژوه پارس، ساخت ایران)، برای مایه‌زنی ریزجلبک، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از ذخیره[2] ریزجلبک به وسیله پیپت شیشه‌ای گندزدایی‌شده (با نسبت محیط کشت ۳۰۰: ریزجلبک ۳۰ میلی‌لیتر به صورت حجمی/حجمی) به هر ظرف حاوی محیط کشت تزریق شد. سپس ظروف ارلن‌مایر شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت تلقیح شده با ریزجلبک، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس زیر نور لامپ فلورسنت سفید با شدت نور ۴۵۰۰ لوکس و چرخه ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد و کشت برای یک دوره ۱۴ روزه در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی انجام گردید.

تیمارهای هورمونی

تیمارهای آزمایش شامل هورمون آبسیزیک‌اسید (ABA) با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر (به ترتیب معادل صفر، ۱/۸۹، ۳۷/۸ و ۷۵/۷ میکرومولار) بود. این آزمایش در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی با سه تکرار (هر تکرار برای تیمار هورمونی مربوط شامل سه ظرف ارلن‌مایر شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت تلقیح شده با ریزجلبک بود) در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه مرکز توسعه فناوری ریزجلبک خلیج فارس وابسته به پارک علم و فناوری خلیج فارس بوشهر انجام شد. هورمون آبسیزیک‌اسید مورد استفاده در این آزمایش با خلوص ۹۸ درصد، (شرکت Acros Organics، ساخت آمریکا) به راحتی و بدون نیاز به همزن مغناطیسی در آب دوبار تقطیر حل گردید.

۱- The Culture Collection of Algae at Goettingen University

۲- Stock

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب دریای مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Physical and chemical parameters of seawater used in the experiment.

اسیدیته pH	دما Temperature (ºC)	شوری Salinity (ppt)	هدایت الکتریکی Conductivity (mS/cm)	اکسیژن محلول DO (mg/L)	کل مواد جامد محلول T.D.S	نیترات Nitrate (µg L^{-1})	نیتریت Nitrite g L^{-} (µ^{1}	فسفات Phosphate (µg L^{-1})
8.32	27.03	38.58	57.98	5.65	29.02	0.150	0.0100	0.144

Salinity (ppt): parts per thousand, DO: dissolved oxygen, T.D.S: total dissolved solids

جدول ۲- اجزاء تشکیل دهنده محیط کشت گیلارد (f/2) مورد استفاده در این آزمایش.

Table 2. Components of the Guillard medium (f/2) used in this experiment.

ترکیب‌ها Components	محلول ذخیره اولیه Primary stock solution	مقدار Quantity	غلظت مولار در محیط‌کشت نهایی Molar concentration in final medium
نیترات سدیم $NaNO_3$	75 g L^{-1}	1 mL	8.82×10^{-4} M
مونو سدیم فسفات NaH_2PO_4	5 g L^{-1}	1 mL	3.62×10^{-5} M
محلول عناصر کم‌مصرف Micronutrients solution			
کلراید آهن $FeCl_3.6H_2O$	-	3.15 g	1.17×10^{-5} M
دی‌سدیم اتیلن‌دی‌آمین‌تراستات‌دی‌هیدرات $Na_2EDTA.2H_2O$	-	4.36 g	1.17×10^{-5} M
سولفات مس $CuSO_4.5H_2O$	9.8 g L^{-1}	1 mL	3.93×10^{-8} M
مولیبدات سدیم $Na_2MoO_4.2H_2O$	6.3 g L^{-1}	1 mL	2.60×10^{-8} M
سولفات روی $ZnSO_4.2H_2O$	22 g L^{-1}	1 mL	7.65×10^{-8} M
کلراید کبالت $CoCl_2.6H_2O$	10 g L^{-1}	1 mL	4.20×10^{-8} M
کلراید منگنز $MnCl_2.4H_2O$	180 g L^{-1}	1 mL	9.10×10^{-7} M
محلول ویتامین Vitamin solution			
تیامین Thiamine HCl (Vit. B_1)	-	200 mg	2.96×10^{-7} M
بیوتین Biotin (Vit. B_7)	1 g L^{-1}	1 mL	2.05×10^{-9} M
سیانوکوبالامین Cyanocobalamin (Vit. B_{12})	1 g L^{-1}	1 mL	3.69×10^{-10} M

اعمال تیمارهای آبسیزیک اسید به محیط کشت و نمونه برداری

تزریق تیمارهای هورمون آبسیزیک اسید به‌وسیله میکروپیپت در مرحله رشد نمایی ریزجلبک در دوره ۸ ساعت تاریکی به محیط کشت انجام شد. زیست‌توده ریزجلبک نمونه‌های شاهد و زیر تیمار پس از پایان دوره کشت دو هفته‌ای (۱۴روزه)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

جمع‌آوری و سپس به وسیله سانتریفیوژ (مدل K241R، Centurion Scientific، ساخت انگلستان) با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس برداشت گردیدند. محیط کشت اضافی دور ریخته شد و رسوب باقیمانده در ته فالکن‌های پلاستیکی ۵۰ میلی‌لیتری به منظور حذف کامل عناصر و نمک‌های محیط کشت دو بار با آب مقطر شستشو و سانتریفیوژ شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس قرار گرفتند و سپس توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (مدل FD-8505/FD-5005-BT، دناوکیوم، صنعت‌پرداز دنا، ساخت ایران) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۴- درجه سلسیوس به‌طور کامل خشک گردیدند. نمونه‌های ریزجلبک خشک انجمادی شده (Lyophilized) تا زمان انجام آنالیزهای بیش‌تر در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

محاسبه نرخ رشد و زمان دو برابر شدن برحسب واحد بر روز (d^{-1}) و روز (d)

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی، جذب نوری[1] (OD) روزانه در یک بازه زمانی معین (ساعت ۱۰ صبح الی ۱۲ ظهر) ثبت و یادداشت گردید. بدین منظور، ابتدا مقدار ۲ میلی‌لیتر ریزجلبک از هر ظرف ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت ریزجلبک به وسیله میکروپیپت برداشته و سپس در کووت دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده، و میزان جذب نوری در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PD-303UV، APEL، ساخت ژاپن) خوانده شد. شاخص‌های نرخ رشد (۱) و زمان دو برابر شدن (۲) بر اساس داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری‌های جذب نوری در طول موج ۷۵۰ نانومتر از روابط (۲۳) زیر محاسبه شدند:

$$\text{Growth rate } (d^{-1}) = \frac{\ln OD_{14\,d} - \ln OD_{0\,d}}{14\,d} \quad (۱)$$

$$\text{Doubling time}(d) = \frac{\ln 2}{\text{Growth rate}} \quad (۲)$$

در رابطه ۱ نرخ رشد[2] برحسب واحد بر روز (d^{-1}) بیان شده است که از حاصل تفریق لگاریتم طبیعی جذب نوری در آخرین روز کشت ($\ln OD_{14\,d}$) و لگاریتم طبیعی جذب روز صفر ($\ln OD_{0\,d}$) تقسیم بر تعداد کل روزهای کشت به‌دست می‌آید. در رابطه ۲ زمان دو برابر شدن[3] تعداد یاخته برحسب واحد روز (d) بیان شده که از حاصل تقسیم ln 2 (لگاریتم طبیعی عدد ۲) بر نرخ رشد به‌دست می‌آید.

سنجش رنگدانه‌های کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید

برای سنجش مقدار کلروفیل a و b از روش Lichtenthaler (۲۱) استفاده شد. برای استخراج این رنگدانه‌های فتوسنتزی، ابتدا ۱۰ میلی‌گرم پودر ریزجلبک لیوفیلیزه شده را با دقت به وسیله ترازوی دیجیتال توزین و سپس به درون لوله آزمایش شیشه‌ای منتقل و به مقدار ۵ میلی‌لیتر استون ۹۰ درصد به لوله های آزمایش اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس و در تاریکی نگه‌داری شدند. در مرحله بعد لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌ها به‌مدت ۲ ساعت به‌خوبی به‌وسیله دستگاه لرزا تکان داده شدند و سپس تمام نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعد محلول سبز رنگ شفاف رویی را با میکروپیپت برداشته و به مقدار ۳ میلی‌لیتر درون کووت کوارتزی دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PD-303UV، APEL، ساخت ژاپن) قرار داده شد. جذب کلروفیل a، b و کاروتنوئید کل به‌ترتیب در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومترخوانده شد. جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر، استون ۹۰ درصد به‌عنوان محلول بلانک مورد استفاده قرار گرفت و برای محاسبه عددی میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید کل از روابط زیر استفاده شد و نتیجه‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن خشک محاسبه و ارائه گردید:

فرمول‌ها:

$$Chl_a = 11.75A662 - 2.35A64$$

$$Chl_b = 18.61A645 - 3.96A662$$

$$\text{Carotenoid} = \frac{1000A_{470} - 2.70Chl_a - 81.4Chl_b}{227}$$

که Chl_a کلروفیل a، Chl_b کلروفیل b و از مجموع مقادیرکلروفیل a وb، مقدار کلروفیل کل (Chl_T) محاسبه شد.

۱- Optical density ۲- Growth rate ۳- Doubling time

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

اندازه‌گیری زیست‌توده خشک

ابتدا نمونه‌های ریزجلبک در فاز سکون برداشت و سپس با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. در مرحله بعد محیط کشت اضافی روی رسوب بیرون ریخته شد و رسوب باقیمانده با آب مقطر به منظور حذف عناصر غذایی و نمک‌های اضافی شستشو و به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس (مدلRZ 28H6150WW، سامسونگ، ساخت کره جنوبی) قرار گرفت. در ادامه نمونه‌ها توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۴- درجه سلسیوس خشک گردیده و نمونه‌های خشک شده توسط ترازوی دیجیتال دقیق، توزین و وزن خشک نمونه‌ها یادداشت و ثبت گردید.

استخراج و سنجش محتوی لیپید کل

استخراج لیپید کل بر اساس روش Bligh و Dyer (۲) انجام شد. ابتدا یک گرم ریزجلبک لیوفیلیزه شده توزین و سپس مقدار ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم: متانول (به نسبت ۲:۱) اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در دستگاه لرزا (مدل R-430، شرکت پُل ایده‌آل پارس، ساخت ایران) و ۸ دقیقه در دستگاه سونیکاتور (Misonix Sonicator 3000، ساخت آمریکا) قرار گرفتند تا دیواره ضخیم ریزجلبک‌ها به‌طورکامل شکسته شود. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند تا دو فاز ایجاد شود. فاز آلی حاوی لیپید جدا شد و به باقیمانده ۵ میلی‌لیتر کلروفرم خالص اضافه گردید. مانند مرحله قبل مراحل استخراج لیپید تکرار شد. فاز آلی جدا شده به یک میکروتیوب که از قبل وزن شده بود (W_1) منتقل شد و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون (Memmert، ساخت آلمان) قرار داده شد تا حلال تبخیر شود. پس از آن میکروتیوب‌ها دوباره توزین (W_2) و میزان لیپید کل از اختلاف بین وزن اولیه و ثانویه (W_2-W_1) برحسب درصد وزنی- وزنی محاسبه گردید.

استخراج و سنجش غلظت آبسیزیک اسید درونی

سطح آبسیزیک اسید درونی ریزجلبک به روش Stewart و Voetberg (۲۱) استخراج و اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا مقدار یک گرم ریزجلبک لیوفیلیزه شده انتخاب و بی‌درنگ توسط نیتروژن مایع منجمد و سپس پودر شد. نمونه‌های آسیاب شده در ۲۰ میلی‌لیتر محلول حاوی متانول، اتیل استات و اسید استیک به ترتیب با نسبت‌های (۵۰: ۵۰: ۱) که به آن ۲۰ میلی گرم BHT[1] به عنوان آنتی‌اکسیدان اضافه شده بود، حل گردید و یک محلول هموژن ایجاد شد. محلول حاصل توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف و سپس حجم نهایی محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به منظور حذف حلال، محلول نهایی داخل بالن روتاری در شرایط خلاء و دمای ۳۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از حذف حلال، ۱۰ میلی‌لیتر فسفات هیدروژن پتاسیم ۵۰۰ میلی مولار با pH برابر ۸ به باقیمانده اضافه و سپس محلول توسط کاغذ صافی دوباره صاف گردید. پی‌اچ محلول به‌دست آمده با استفاده از فسفریک اسید ۱۰ درصد به ۲/۵ رسانده شد. در ادامه ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات به محلول آخری اضافه گردید. برای جداسازی اتیل استات حاوی ABA و محلول فسفات هیدروژن پتاسیم از قیف دکانتور و برای آبگیری از محلول اتیل استات حاوی ABA، از سولفات سدیم استفاده شد. از آنجا که محلول اتیل‌استات به فاصله چند ساعت در هوای آزاد تبخیر می‌شود، لذا پس از تبخیر اتیل‌استات، ۵ میلی‌لیتر متیل‌کلراید به عصاره خشک باقیمانده اضافه و نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت برای تبخیر متیل‌کلراید زیر هود شیمیایی نگه داشته شدند. پس از تبخیر متیل‌کلراید، ۳۰۰ میکرولیتر محلول متانول حاوی ۱ درصد استیک اسید به عصاره خشک باقی‌مانده اضافه و محلول حاصل توسط صافی میلی‌پور دوباره صاف گردید و محلول نهایی برای تعیین غلظت ABA مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین غلظت ABA نمونه‌ها از ستون (۱۵×۴/۶ cm) دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) (مدل Infinity LC ۱۲۲۰، شرکت Agilent، ساخت آمریکا) و شناساگر اسپکترومتر جرمی یون ربا (ion trap mass spectrometer) با فاصله زمانی ۴ تا ۵ دقیقه مطابق ABA استاندارد استفاده شد. فاز ثابت ستون از استونیتریل، آب و اسید فرمیک به‌ترتیب با نسبت‌های حجمی ۲۵: ۷۴/۹: ۰/۱۰ تشکیل شد. در هر بار اندازه‌گیری مقدار ۸۰ میکرولیتر محلول تزریق و سپس سطح منحنی تعیین و از راه روابط موجود (منحنی استاندارد) غلظت نمونه‌ها تعیین گردید.

۱- Butylated hydroxy toluene

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

واکاوی آماری داده‌ها

محاسبه داده‌ها و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel، نسخه ۲۰۰۷ و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA-one way) به کمک نرم‌افزارهای آماری MSTAT-C و DSAASTAT، نسخه ۱/۰۲۲ پروجیا، ایتالیا ۲۰۱۰ و مقایسه‌ی میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد (P<۰/۰۵) انجام گردید.

نتایج

نتیجه‌های تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف هورمون ABA بر تمام ویژگی‌های مورد مطالعه ریزجلبک *N. salina* در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین برای ویژگی‌های مورد اندازه‌گیری در تیمارهای مختلف هورمون ABA انجام و مشخص شد که تفاوت‌های معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف هورمون ABA برای تمام ویژگی‌های مورد بررسی وجود دارد.در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین برای صفات مورد اندازه‌گیری تحت تیمارهای مختلف هورمون آبسیزیک‌اسید انجام و مشخص شد که تفاوت‌های معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف هورمون آبسیزیک‌اسید برای تمام صفات مورد بررسی وجود دارد.

اثر تیمارهای آبسیزیک اسید بر میزان رشد

شکل ۱ اثر تیمارهای مختلف هورمون ABA بر رشد ریزجلبک *N. salina* بر اساس میزان جذب نوری در طی روزهای کشت را نشان می‌دهد. بر اساس شکل ۱، بعد از انگیزش هورمون آبسیزیک اسید، منحنی‌های رشد ریزجلبک برای تیمارهای ABA یک روند رو به رشد را نشان داد. نتیجه‌های آزمایش نشان داد که شاهد و تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA بیشترین میزان رشد در ریزجلبک *N. salina* از خود نشان دادند. بنابراین، می‌توان گفت که هورمون ABA می‌تواند رشد ریزجلبک *N. salina* را تحریک نموده و افزایش دهد.

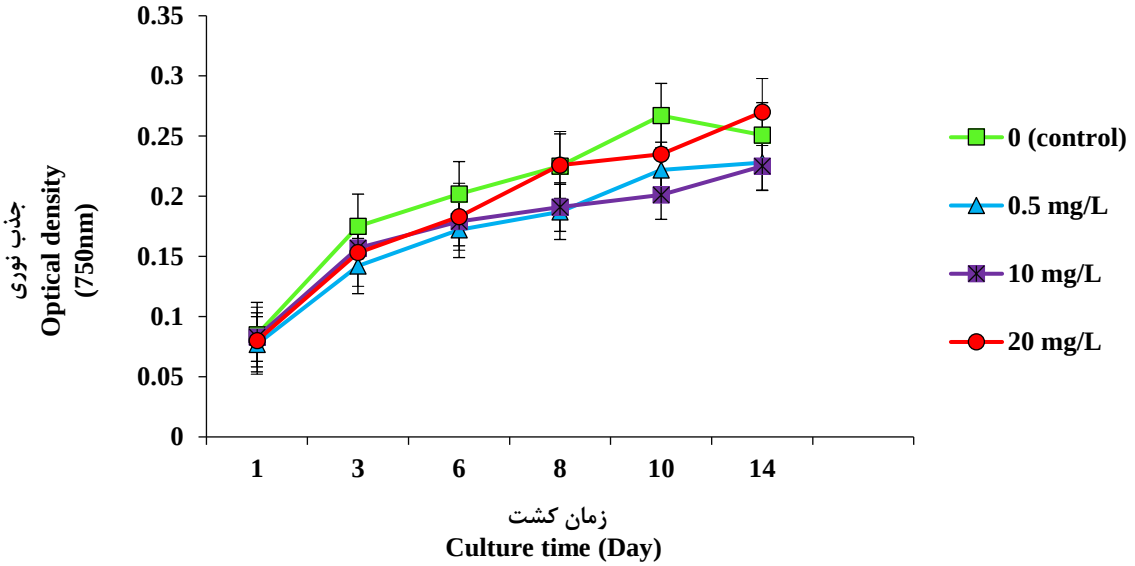

Fig. 1. Growth curve of *N. salina* under different treatments of ABA.

شکل ۱- منحنی رشد ریزجلبک *N. salina* در تیمارهای مختلف آبسیزیک اسید.

تاثیر تیمارهای آبسیزیک اسید بر نرخ رشد و زمان دو برابر شدن

بر اساس داده‌های جذب نوری در طول موج ۷۵۰ نانومتر، بالاترین میزان نرخ رشد و زمان دو برابر شدن به ترتیب با مقادیر ۰/۰۳۷ بر روز و ۱۸/۷ روز متعلق به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر هورمون ABA و کمترین میزان نرخ رشد و زمان دو برابر شدن به ترتیب با مقادیر ۰/۰۱۹ بر روز و ۳۶/۵ روز مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر هورمون ABA بود (جدول ۳).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

جدول ۳- پارامترهای رشد برای ریزجلبک *N. salina* در تیمارهای مختلف آبسیزیک اسید طی یک دوره ۱۴ روزه.

Table 3. Growth parameters for *N.salina* under different treatments of ABA during a 14-day period.

فراسنجه Parameter	غلظت آبسیزیک‌اسید (میلی‌گرم در لیتر) ABA concentration (mg/L)			
	0	۰/۵ 0.5	10	20
نرخ رشد (بر روز) Growth rate (d^{-1})	0.022^{b}	0.023^{b}	0.019^{ab}	0.037^{a}
زمان دو برابر شدن (روز) Doubling time (d)	31.5^{ab}	30.1^{ab}	36.5^{a}	18.7^{b}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

اثر تیمار آبسیزیک اسید بر مقدار کلروفیل a، b، کل و تجمع کاروتنوئید کل

نتیجه‌های تجزیه واریانس نشان داد که میزان کلروفیل a و b در ریزجلبک *N. salina* به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد زیر تاثیر تیمارهای هورمون ABA قرار گرفته است. مقایسه میانگین برای ویژگی‌های کلروفیل a و b بین همه سطوح مختلف هورمون ABA انجام شد. بر اساس نتیجه‌ها، کاربرد خارجی هورمون ABA افزایش قابل ملاحظه‌ای را در مقدار کلروفیل a و b ریزجلبک *N. salina* در مقایسه با نمونه شاهد داشت؛ به طوری که بیشترین مقدار کلروفیل a با میانگین ۱/۵۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA و کمترین میزان کلروفیل a با میانگین ۱/۳ میکروگرم بر گرم وزن خشک برای این صفت متعلق به نمونه شاهد بود. این در حالی است که بین سه تیمار شاهد، ۰/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت ABA تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (شکل ۲). بالاترین مقدار کلروفیل b با میانگین ۲/۴۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک مربوط به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA بود (هرچند که بین سه تیمار ۰/۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت ABA تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید) در حالی که کمترین میزان کلروفیل b با میانگین ۱/۹۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک برای این صفت متعلق به نمونه شاهد بود (شکل ۳).

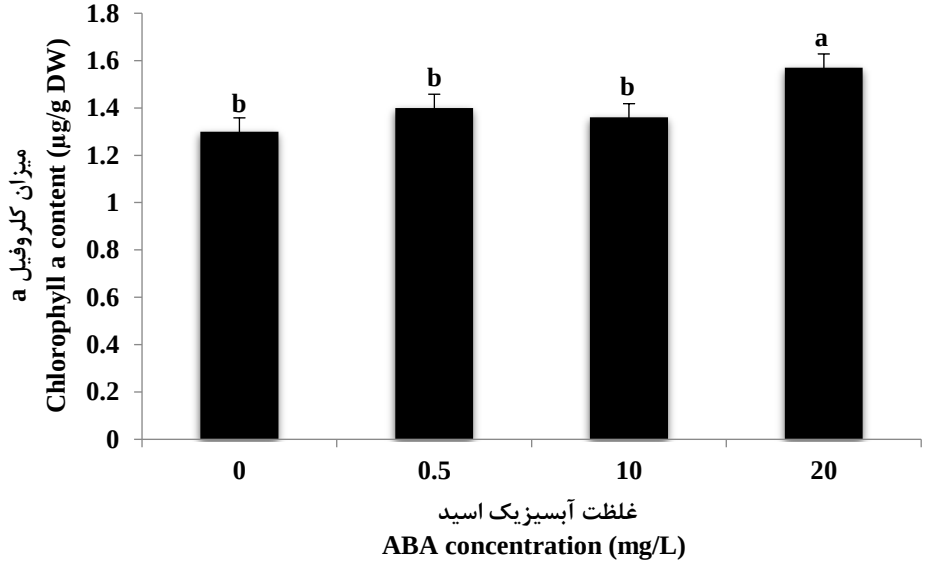

Fig. 2. Effect of different ABA concentrations on chlorophyll a content in *N. salina*. In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر میزان کلروفیل a در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

هورمون آبسیزیک اسید باعث افزایش چشمگیری در میزان تجمع کلروفیل کل ریزجلبک *N. salina* در مقایسه با شاهد گردید؛ به طوری که بیشترین مقدار کلروفیل کل با میانگین ۴/۰۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک متعلق به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر آبسیزیک اسید بود، در حالی که کم‌ترین میزان کلروفیل کل با میانگین ۳/۲۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک برای این صفت متعلق به نمونه شاهد بود (شکل ۴).

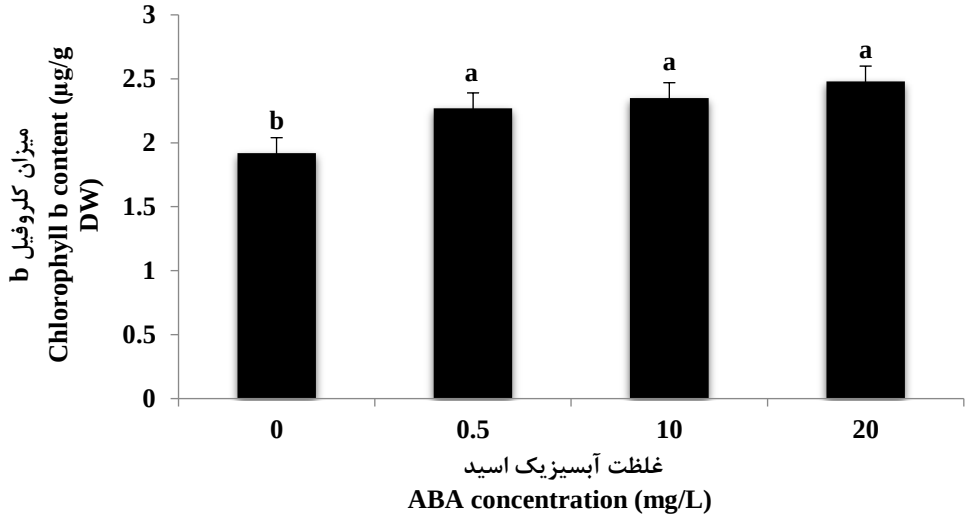

Fig. 3. Effect of different ABA concentrations on chlorophyll b content in *N. salina*. In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر میزان کلروفیل b در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

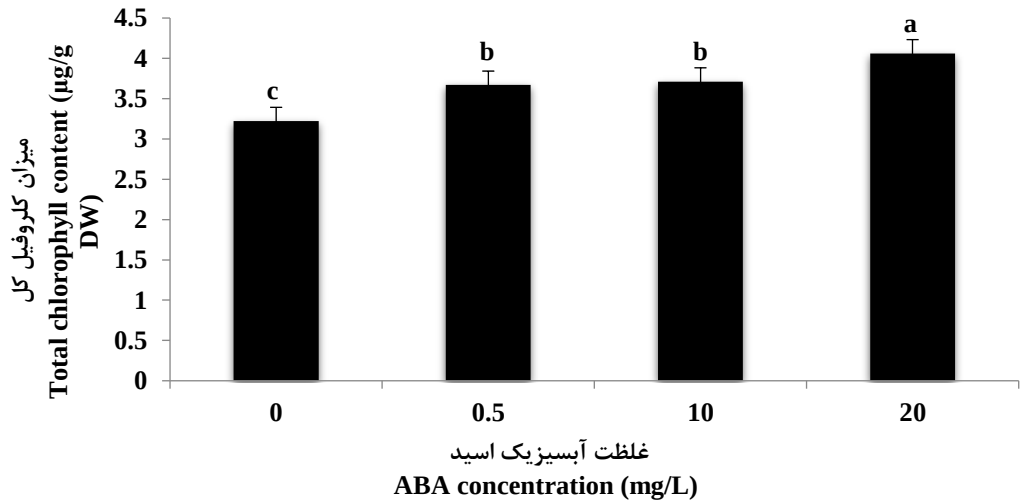

Fig. 4. Effect of different ABA concentrations on total chlorophyll content in *N. salina*. In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر میزان کلروفیل کل در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

نتیجه‌ها نشان داد که هورمون ABA باعث افزایش در میزان انباشت کاروتنوئید کل ریزجلبک *N. salina* در مقایسه با شاهد شد، به طوری که بیشترین میزان کاروتنوئید کل با میانگین ۰/۴۴ میکروگرم بر گرم وزن خشک متعلق به تیمار ۰/۵

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

میلی‌گرم بر لیتر ABA بود، در حالی که کم‌ترین مقدار کاروتنوئید کل با میانگین ۰/۲۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک برای این صفت متعلق به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA بود (شکل ۵).

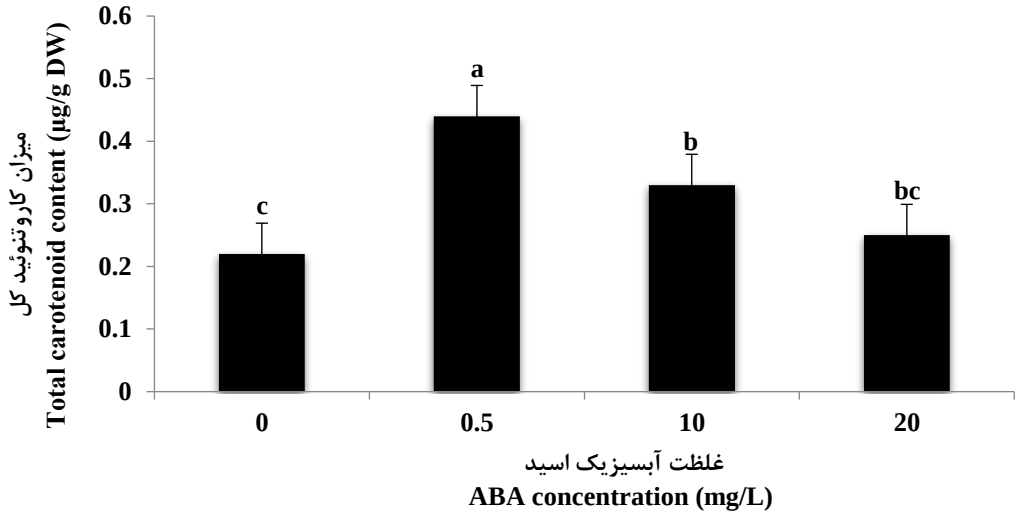

Fig. 5. Effect of different ABA concentrations on total carotenoid content in *N. salina*. In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر میزان کاروتنوئید کل در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

اثر تیمار آبسیزیک اسید بر تولید زیست‌توده خشک

تیمار ABA در غلظت‌های مورد استفاده باعث افزایش در تولید زیست‌توده خشک ریزجلبک *N. salina* در مقایسه با تیمار شاهد نشد. به طوری که بیشترین مقدار زیست‌توده خشک با میانگین ۰/۴۲ گرم بر لیتر متعلق به تیمار شاهد بود در حالی که کم‌ترین میزان زیست‌توده خشک با میانگین ۰/۲۸ میلی‌گرم بر لیتر برای این صفت مربوط به تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ABA بود (شکل ۶). شایان بیان است که در مقایسه میانگین‌های این صفت، تیمارهای ۰/۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند.

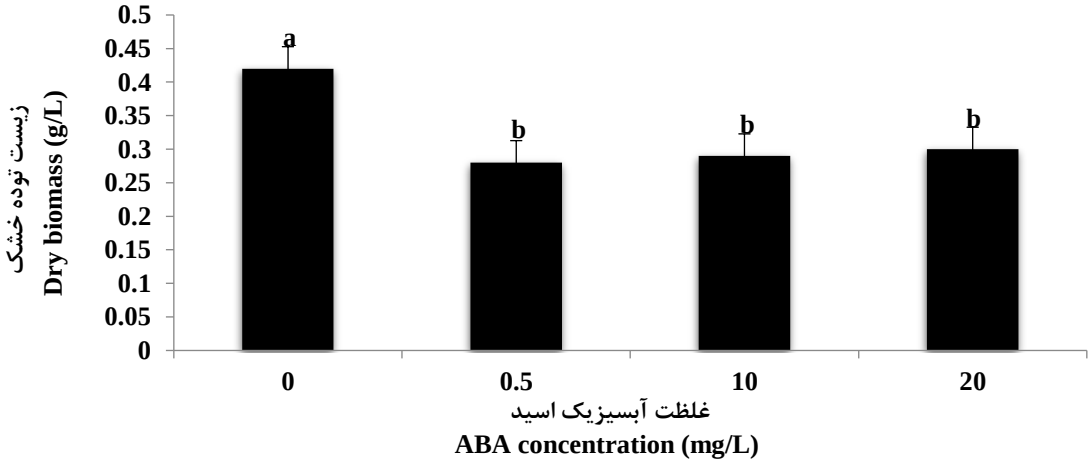

Fig. 6. Effect of different ABA concentrations on dry biomass in *N. salina*. In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر میزان زیست‌توده خشک در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

اثر تیمار آبسیزیک اسید بر محتوای لیپید کل

نتیجه‌های این آزمایش نشان داد که اثر تیمار ABA بر محتوای لیپید کل ریزجلبک *N. salina* در غلظت‌های مورد استفاده در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین مقدار لیپید کل با میانگین ۱۵/۵۲ درصد متعلق به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA بود، در حالی که کم‌ترین مقدار لیپید کل متعلق به تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA بود (شکل ۷).

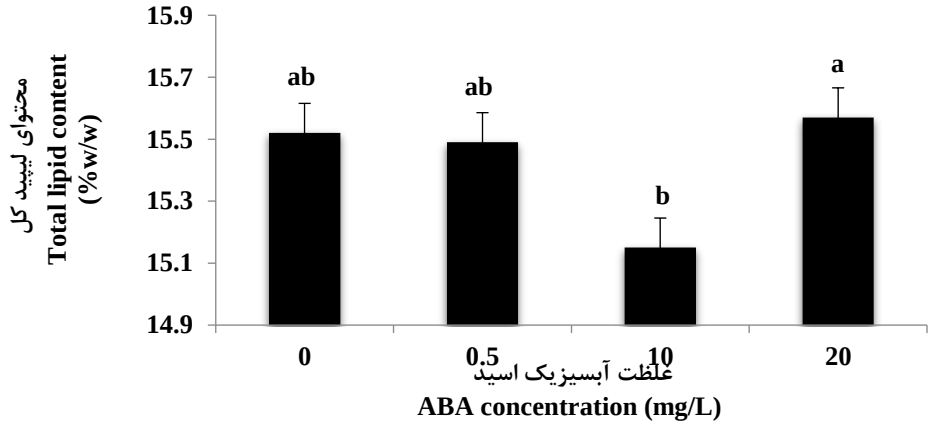

Fig. 7. Effect of different ABA concentrations on total lipid content in *N. salina.* In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر محتوای لیپید کل در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

تاثیر تیمار آبسیزیک اسید بر محتوای آبسیزیک اسید درون زا

نتیجه‌ها نشان داد که تیمارهای ABA باعث افزایش در محتوای آبسیزیک اسید درون‌زا ریزجلبک در مقایسه با تیمار شاهد گردید؛ به طوری که بیشترین غلظت آبسیزیک اسید درونی با میانگین ۴۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر متعلق به تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA بود، در حالی که کم‌ترین میزان آبسیزیک اسید درون‌زا با میانگین ۲۶/۸۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر متعلق به تیمار شاهد بود (شکل ۸).

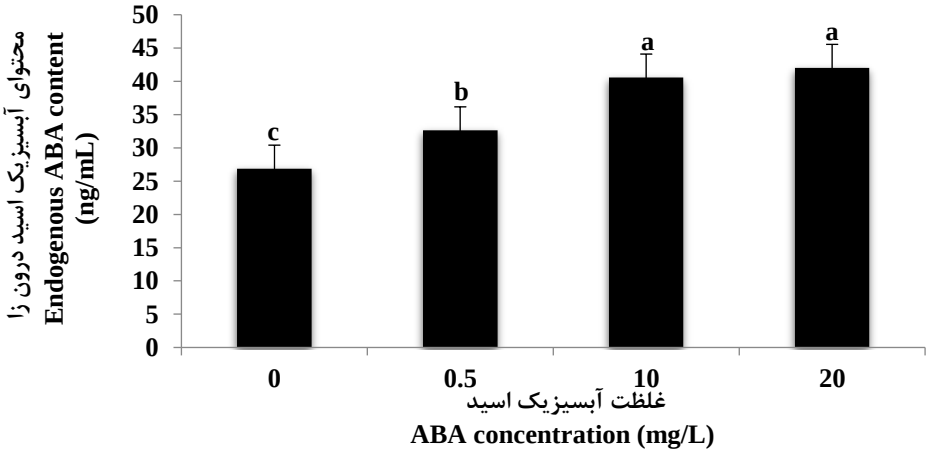

Fig. 8. Effect of different ABA concentrations on endogenous ABA content in *N. Salina.* In each column, averages with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف آبسیزیک اسید بر محتوای آبسیزیک اسید درون‌زا در ریزجلبک *N. salina*. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

بحث

هورمون ABA یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که نقش مهمی در واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی و عوامل بیماری‌زای گیاهی دارد (۱۶). در پژوهش حاضر، ویژگی‌های رشد، انباشت برخی رنگدانه‌های فتوسنتزی، محتوای کاروتنوئید کل، زیست‌توده خشک و محتوای لیپید کل در ریزجلبک *N. salina* در تیمارهای مختلف هورمون ABA مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌های این آزمایش نشان داد که تیمار ABA توانست باعث افزایش رشد، میزان کلروفیل a و b، کلروفیل کل، کاروتنوئید کل و محتوای لیپید کل شود؛ در حالی که تأثیری بر افزایش زیست توده خشک نداشت.

عوامل گوناگونی از جمله نور، دما، دی اکسید کربن، تنظیم کننده‌های رشد، شوری، pH و مواد غذایی در رشد ریزجلبک‌ها موثر هستند. دقت در تنظیم فاکتورهای بالا می‌تواند کمک قابل ملاحظه‌ای به بهبود کشت آن‌ها نماید. نور و دما از فاکتورهای مهمی هستند که تغییرات مقدارشان در میزان رشد ریزجلبک بسیار تاثیرگذار است. در پژوهش حاضر، تیمارهای ABA روی ریزجلبک *N. salina* نشان داد که نرخ رشد سازگار و همسان با رشد نمایی در ریزجلبک طی دوره رشدی ۱۴ روزه است و کاربرد خارجی هورمون ABA باعث افزایش نرخ رشد و کوتاه‌تر شدن زمان دو برابر شدن در ریزجلبک *N. salina* می‌گردد. در مطالعه‌ای Mousavi و همکاران (۲۷) گزارش کردند که ABA به تقریب تاثیر مثبتی بر رشد یاخته و میزان بتا-کاروتن در ریزجلبک *D. salina* دارد. از آنجایی که ABA محصولی از مسیر زیست‌ساخت کاروتنوئید است، به احتمال، تیمار ABA می تواند تأثیر مثبتی بر ساخت کاروتنوئیدها داشته باشد. در مطالعه‌ای Noble و همکاران (۲۹) گزارش کردند که کاربرد ترکیبی ABAو ترانس‌زآتین به ترتیب با غلظت‌های $۱۰^{-۹}$ و $۱۰^{-۷}$ مولار می‌تواند شرایط بهینه‌ای را برای افزایش رشد تاژک‌دار تک‌یاخته‌ای *Euglena gracilis* فراهم نماید. مشخص شده است که ABA از راه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، رشد و تحمل تنش اکسیداتیو در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* را افزایش می‌دهد. در گزارش Contreras-Pool و همکاران (۴) هورمون ABA به‌طور قابل توجهی میزان رشد و تجمع تری‌اسیل‌گلیسرول را در ریزجلبک *Chlorella saccharophila* افزایش می‌دهد که نتیجه‌های پژوهش حاضر با یافته‌های پژوهش‌های بیان‌شده، همخوانی دارند. Park و همکاران (۳۲) گزارش کردند که کاربرد خارجی ABA در محیط کشت تریس‌استات‌فسفات[۱] (TAP) باعث افزایش میزان رشد در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* نمی‌شود. ABA در ریزجلبک *Haematococcus pluvialis* روند رشد را سرکوب کرده و انتقال یاخته را از مرحله فعال به مرحله استراحت آغاز می‌کند. کاهش رشد ناشی از ABA در دو نوع دیاتوم دریایی مانند *Coscinodiscus granii* و *Nannochloropsis oceanica* نیز مشاهده شد (۲۰).

با توجه به نتیجه‌های به‌دست آمده، کاربرد بیرون‌زا هورمون ABA باعث تحریک و افزایش محتوای کلروفیل a در ریزجلبک *N. salina* در مقایسه با نمونه شاهد گردید. در جلبک‌های دریایی کلروفیل a به همراه کلروفیل‌های b، c و d از مهم‌ترین و اصلی‌ترین رنگدانه‌های فتوسنتزی هستند که انرژی نورانی را در مرکز واکنش فتوسنتز جذب می‌کنند؛ در حالی که ریزجلبک *Nannochlropsis* کلروفیل a و رنگدانه‌های اصلی کمکی، اِسترهای ویولاگزانتین و وُچریاگزانتین که نقش عمده‌ای در برداشت نور دارند را نشان می‌دهد. Noble و همکاران (۲۹) گزارش کردند که ABA می‌تواند باعث افزایش کلروفیل در تاژک‌دار تک‌یاخته‌ای *Euglena gracilis* شود. مطالعه Barickman و همکاران (۱) نیز نشان داد که استفاده از هورمون ABA باعث افزایش کلروفیل a و b در بافت برگ گوجه‌فرنگی گردید. این یافته‌ها منطقی است، زیرا کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها از مسیر MEP[۲] به دست می‌آیند. از آنجا که هم کاروتنوئیدها و هم کلروفیل‌ها از مسیر MEP گرفته می‌شوند، ABA ممکن است با افزایش سطح هر دو در بافت برگ به طور مشابه عمل کند. افزایش محتوای کلروفیل باعث تحریک فتوسنتز و در نتیجه افزایش پتانسیل برای فعالیت متابولیکی و تجمع متابولیت‌ها می‌شود. بنابر نتیجه‌های به‌دست آمده از این مطالعه، هورمون ABA همچنین بر میزان تجمع کلروفیل b در ریزجلبک *N. salina* تاثیر می‌گذارد. افزودن هورمون ABA به محیط کشت ریزجلبک باعث افزایش معنی‌داری در میزان انباشت کلروفیل کل گردید. Park و همکاران (۳۲) گزارش کردند که ABA با غلظت ۵ قسمت در میلیون (ppm) باعث افزایش ۳۹ درصدی میزان کلروفیل کل در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* می‌شود. به احتمال، هورمون‌های گیاهی می‌توانند موجب کاهش تخریب کلروفیل و یا افزایش ساخت کلروفیل

۱- Tris-acetate-phosphate medium
۲- 2-C-Methyl-D-erythritol 4-phosphate
۳- Bleaching

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

شوند. همچنین، گزارش شده است که ABA اثر مهاری در تجزیه کلروفیل توسط کلروفیلاز، منیزیم- دکلاتاز و سفید کردن[۳] کلروفیل مرتبط با پراکسیداز در گیاهان آوندی دارد. به احتمال، مکانیسم‌های مشابه در *N. salina* به دلیل افزایش قابل توجه سطح کلروفیل a و b در حضور ABA اتفاق می‌افتد. افزون بر این، تیمار یاخته‌های جلبکی با فیتوهورمون‌ها باعث تجمع کاروتنوئیدها می‌شود که دسته‌ای از رنگدانه‌های مهم هستند که نور مرئی را جذب و از کلروپلاست‌ها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) محافظت می‌کنند. همچنین احتمال می‌رود که ABA باعث افزایش فعالیت‌های آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون-اس-ترانسفراز می‌شود که مشخص شده نقش مهمی در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مسئول تخریب دستگاه فتوسنتز، دارند. محتوای بالاتر کاروتنوئیدها با افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در یاخته‌های *N. salina* تیمارشده با ABA ارتباط مثبت دارد. از آنجا که ABA محصولی از مسیر زیست‌ساخت کاروتنوئید است، کاربرد تیمارهای ABA می‌تواند تأثیر مثبتی بر کلروفیل و کاروتنوئیدها داشته باشد.

کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگدانه‌های کمکی برای جمع‌آوری نور عمل می‌کنند و با خاموش کردن مولکول‌های کلروفیل حالت سه‌گانه و مهار رادیکال‌های سمی اکسیژن تشکیل شده در کلروپلاست، نقش مهمی در محافظت از نور دارند (۲۵). با توجه به نتیجه‌های به دست آمده، محتوای کاروتنوئید کل ریزجلبک زیر تاثیر تیمار ABA افزایش یافت. گزارش‌ها نشان می‌دهد که ABA ممکن است به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کاروتنوژنز عمل کند و همچنین می‌تواند به‌عنوان عامل مؤثر برای تولید و افزایش بتاکاروتن و کاروتنوئید به ترتیب در ریزجلبک‌های *Dunaliella salina* و*Haematococcus pluvialis* استفاده شود (۱۱). همچنین، گزارش شده است که تنظیم‌کننده رشد گیاهی ABA می‌توانند تولید آستازانتین و کاروتنوئیدها را در *Haematococcus pluvialis* به‌طور قابل توجهی افزایش دهد (۵). Park و همکاران (۳۲) نیز گزارش کردند که اضافه کردن غلظت‌های بهینه ABA در محیط کشت باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها و مونوساکاریدها در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* می‌شود. در گزارشی دیگر Du و همکاران (۶) بیان کردند که هورمون ABA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر در طی ۱۲ روز باعث افزایش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید کل در ریزجلبک *Chlorella pyrenoidosa* شد. یک مطالعه دیگر نشان داد که کاربرد خارجی ABA با تجمع کاروتنوئیدها، تحمل تنش در برابر کمبود آب برای جلبک سبز *H. pluvialis* را افزایش می‌دهد و کاروتنوئیدهای انباشته شده بیش‌تر به‌عنوان یک عامل محافظ در برابر آسیب تنش اکسیداتیو عمل می‌کنند (۱۱). زیست‌ساخت بالاتر کاروتنوئیدها بیشتر به مهار آسیب کلروپلاست در یاخته‌های در معرض تنش‌های محیطی مربوط می‌باشد که یافته‌های پژوهش حاضر با همه نتیجه‌های گزارش شده در بالا همخوانی دارد. سنتز زیستی بالاتر کاروتنوئیدهای مشاهده شده در مطالعه حاضر نشان دهنده این است که هورمون ABA شاید مکانیسم محافظت از یاخته‌های *N. salina* را فعال می‌کند. به طورکلی، تجمع کاروتنوئید ممکن است از تغییر تعادل کربن و نیتروژن در شرایط نامساعد نیز حاصل شود. کاربرد خارجی ABA باعث افزایش غلظت کاروتنوئیدهای برگ گوجه‌فرنگی مانند زآگزانتین، بتاکاروتن، نئوگزانتین و لوتئین می‌شود. بنابراین، ABA می‌تواند به‌طور غیر مستقیم مسیر کاروتنوئید را با افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند بتاکاروتن هیدروکسیلاز و فیتوئن سینتاز[۱] (PSY) به‌طور غیر مستقیم تنظیم کند (۱). در مطالعه‌ای دیگر Lin و همکاران (۱۹) با بررسی اثر هورمون‌های آبسیزیک اسید، جیبرلیک اسید، نفتالن استیک اسید و سالیسیلیک اسید به همراه مواد اسپرمیدین و اتفون در ریز جلبک *Chlorella vulgaris* گزارش کردند که میزان تولید و تجمع کاروتنوئید در یاخته‌های این ریزجلبک زیر تاثیر همه هورمون‌های استفاده شده به‌جز ABA، افزایش یافت که نتایج پژوهش حاضر با این گزارش در یک راستا نیست.

تولید غلظت‌های بالای زیست‌توده اولین گام در فرآیندهای تولید زیستی ترکیب‌های با ارزش تجاری از ریزاندامواره‌ها است. بر اساس نتیجه‌های حاصل از پژوهش حاضر، تولید زیست‌توده خشک ریزجلبک *N. salina* با تیمار ABA افزایش پیدا نکرد. اغلب ABA با افزایش رشد منجر به افزایش وزن زیست توده خشک نمی‌گردد. بنابر گزارش Contreras-Pool و همکاران (۴) آبسیزیک اسید منجر به افزایش رشد ریزجلبک *Chlorella saccharophila* گردیده است، اما وزن زیست‌توده خشک کاهش پیدا کرد که این نتیجه نشان می‌دهد ABA می‌تواند همزمان با افزایش رشد، باعث افزایش وزن زیست‌توده نشود. به

۱- Phytoene synthase

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

استناد نتیجه‌های به‌دست آمده از پژوهش‌های Sulochana و Arumugam در ریز جلبک *S. quadricauda*، اضافه کردن ۲ میکرومولار ABA پس از ۴۸ ساعت کشت، تولید زیست‌توده را در شرایط محدودیت نیتروژن ۲/۱ برابر افزایش می‌دهد (۲۲).

در یک مطالعه Sivaramakrishnan و Incharoensakdi (۳۵) گزارش کردند که هورمون‌های آبسیزیک اسید، جیبرلیک اسید و ایندول استیک اسید باعث افزایش تولید زیست‌توده و لیپید در ریزجلبک *Chlorella* sp. می‌گردد، اگرچه بیشترین میزان تحریک‌شدگی در تولید زیست توده و لیپید در تیمار ABA مشاهده شد که این نشان دهنده عدم همسویی نتیجه‌های مطالعه حاضر با گزارش‌های پیشین است. در مطالعه دیگری، Park و همکاران گزارش کردند که اضافه کردن ABA در محیط کشت اغلب باعث افزایش میزان زیست‌توده در ریزجلبک *Chlamydomonas reinhardtii* نمی‌شود (۱۸)

به طور کلی ریزجلبک‌ها در شرایط نامساعد و تنش‌زا، تجمع محتوای لیپید را افزایش می‌دهند. بنابراین، مطالعه فرآیندهای القای تولید لیپید به منظور افزایش تولید و تجمع محتوای لیپید با ارزش است. بر اساس نتیجه‌های حاصل از پژوهش حاضر، تولید محتوای لیپید کل ریزجلبک *N. salina* با تیمار ABA افزایش پیدا کرد. مشخص شده است که ABA می‌تواند قطر یاخته را بزرگ کند و تقسیم یاخته‌ای را افزایش دهد. تجمع لیپید در ریزجلبک‌ها با اضافه کردن ABA به تنهایی در محیط کشت نیز آشکار شده است (۳). همچنین، در پژوهشی نشان داده شد که تیمار یک میلی‌گرم بر لیتر ABA باعث افزایش تولید لیپید در سویه *C. vulgaris* ZF و FACHB-31 به ترتیب با مقادیر ۱۲۳ و ۴۴ درصد می‌شود (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است که ABA می‌تواند باعث تولید لیپید در تاژک‌دار تک‌یاخته‌ای *Euglena gracilis* شود (۱۶). در گزارشی دیگر هورمون ABA با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به تولید بیش‌تر محتوای لیپید در ریزجلبک *Chlorella pyrenoidosa* گردید (۵). در مطالعه‌ای اثر کاربرد خارجی ABA بر تغییرات لیپیدهای ریزجلبک *Chlorella vulgaris*UMT-M1 بررسی و مشخص گردید که غلظت ۸۰ میکرومولار ABA باعث افزایش محتوای لیپید می‌شود. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که غلظت بالای ABA باعث افزایش محتوای داخل یاخته‌ای اسید چرب آسیل- CoA و بیان ژن‌های درگیر در متابولیسم لیپید می‌شود که به نوبه خود، تبدیل اسید چرب اسیل- CoA به تری اسیل‌گلیسرول که یک فرمی از ذخیره‌سازی لیپید در ریز جلبک‌ها است را تحریک می‌کند (۳۰).

آبسیزیک اسید، هورمونی است که شبکه‌های زیستی پیچیدهٔ پاسخ به تنش را هماهنگ نموده و محتوای این هورمون در پاسخ به تنش به سرعت تغییر می‌یابد. در واقع این هورمون، عامل انتقال پیام در شرایط تنش‌های زنده و غیرزنده است. با توجه به یافته‌های آزمایش حاضر، کاربرد بیرون‌زای هورمون ABA باعث افزایش بسیار معنی‌دار سطح آبسیزیک اسید درون‌زا در ریزجلبک *N. salina* در مقایسه با تیمار شاهد گردید. Sulochana و Arumugam (۳۳) در مطالعه‌ای افزایش فوری سطح ABA درون‌زا را تا چهار برابر تیمار شاهد در جلبک سبز *S. quadricauda* در هنگام شروع ۲۴ ساعت کمبود نیتروژن گزارش کردند. همچنین، گزارش شده است که ABA درون‌زا سطح خود را در ریزجلبک‌های *Dunaliella parva* و *Draparnaldia mutabilis* زمانی که آن‌ها در شرایط تنش شوری و افزایش pH رشد می‌کنند، افزایش می‌دهد (۴). Lu و همکاران (۲۱) گزارش نمودند که تنظیم مجدد رونویسی مسیرهای زیست‌ساخت ABA در ریزجلبک *N. oceanica* در کمبود نیتروژن اتفاق افتاده است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که در تنش شوری، ساخت هورمون ABA درون‌زا در ریزجلبک *D. salina* افزایش می‌یابد و تشکیل ABA در مسیری که از مشتق‌های یونی فارنسیل‌دی‌فسفات استفاده می‌کند، ادامه دارد. فرض بر این است که این روش ساخت ABA اغلب در گونه‌های بدون رنگدانه نئوگزآنتین رخ می‌دهد (۱۹).

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر به بررسی تاثیر کاربرد خارجی تیمارهای ABA در ریزجلبک *N. salina* در محیط کشت گیلارد با تاکید بر اثر ABA بر میزان رشد، محتوای انواع کلروفیل، کاروتنوئید، زیست‌توده خشک، آبسیزیک اسید درونی و لیپید کل پرداخته شد. نتیجه‌ها نشان داد که تیمار ABA بر تمام ویژگی‌های مورد مطالعه تاثیر گذار بود و تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر آبسیزیک اسید باعث افزایش نرخ رشد، محتوای کلروفیل، ABA درونی و لیپید کل در این ریزجلبک گردید. بیشترین مقادیر کاروتنوئید و زیست‌توده خشک به ترتیب در تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و شاهد مشاهده شد. با توجه به یافته‌های این پژوهش

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

پیشنهاد می‌گردد که اگر هدف از کشت این گونه ریزجلبک تولید لیپید و کاروتنوئید باشد، غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ABA می‌تواند کارایی موثری داشته باشد، اما در صورتی که هدف افزایش تولید لیپید کل باشد، استفاده از غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ABA مناسب‌تر خواهد بود. به هر حال، پژوهش‌های بیشتری برای درک و فهم نقش ABA در انباشت لیپید و پروفایل اسیدهای چرب به ویژه تری‌اسیل‌گلیسرول در این گونه ریزجلبک نیاز است. از این رو، پیشنهاد می‌گردد که سایر واکاوی‌های تکمیلی و همچنین تیمارهای ABA در دیگر مرحله‌های رشدی این ریزجلبک مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

از مدیریت محترم مرکز رشد علم و فناوری بوشهر و همچنین مدیریت محترم آزمایشگاه مرکز توسعه فناوری ریزجلبک خلیج فارس وابسته به پارک علم و فناوری خلیج فارس بوشهر که در انجام این پروژه همکاری و مساعدت‌های لازم را مبذول داشته‌اند، قدردانی و سپاسگزاری می‌گردد.

References منابع

1. Barickman, T.C., D.A. Kopsell, and C.E. Sams. 2014. Abscisic acid increases carotenoid and chlorophyll concentrations in leaves and fruit of two tomato genotypes. Hort. Sci. 139(3):261–66
2. Bligh, E.G and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37(8):911-7
3. Contreras-Pool, P.Y., S. Peraza-Echeverria, Á.F. Ku-González, and V.A. Herrera-Valencia. 2016. The phytohormone abscisic acid increases triacylglycerol content in the green microalga chlorella saccharophila (Chlorophyta). Algae. 31(3):267–76
4. Do, T.C.V., D.T. Tran, T.G. Le, and Q.T. Nguyen. 2020. Characterization of endogenous auxins and gibberellins produced by Chlorella sorokiniana TH01 under phototrophic and mixtrophic cultivation modes toward applications in microalgal biorefinery and crop research. J. Chem. 2020: 1-11
5. Du, H., F. Ahmed, B. Lin, Z. Li, and Y. Huang. 2017. The effects of plant growth regulators on cell growth, protein, carotenoid, PUFAs and lipid production of chlorella pyrenoidosa ZF strain. Energies. 10(11): 1-23
6. Fawley, K.P. and M.W. Fawley. 2007. Observations on the Diversity and Ecology of Freshwater Nannochloropsis (Eustigmatophyceae), with Descriptions of New Taxa. Protist. 158(3):325–36
7. Forján, E., I. Garbayo, C. Casal, and C. Vílchez. 2007. Enhancement of carotenoid production in Nannochloropsis by phosphate and sulphur limitation. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. Microbiology Book Series. Formatex Publisher. 1:356–64
8. Gill, S.S., S. Willette, B. Dungan, J.M. Jarvis, and T. Schaub. 2018. Suboptimal Temperature Acclimation Affects Kennedy Pathway Gene Expression, Lipidome and Metabolite Profile of Nannochloropsis salina during PUFA Enriched TAG Synthesis. Mar. Drugs. 16(11):1–21
9. Guillard, R. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Cult. Mar. Invertebr. Anim. Plenum Press, New York. 29–60
10. Han, X., H. Zeng, P. Bartocci, F. Fantozzi, and Y. Yan. 2018. Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. Fermentation. 4(2):25
11. Kobayashi, M., Y. Todoroki, N. Hirai, Y. Kurimura, H. Ohigashi, and Y. Tsuji. 1998. Biological activities of abscisic acid analogs in the morphological change of the green alga Haematococcus pluvialis. J. Ferment. Bioeng. 85(5):529–31.
12. Li-beisson, Y.N.Y. 2016. Lipids in Plant and Algae Development. Subcellular Biochemistry, 86. Springer. 86:179–205.
13. Lichtenthaler, H.K. 1988. In Vivo Chlorophyll Fluorescence as a Tool for Stress Detection in Plants. In Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology. Hydrobiology and Remote Sensing. 129–42.
14. Lv, H., Q.E. Wang, S. Wang, B. Qi, J. He, and S. Jia. 2019. Enhancing biomass production of Dunaliella salina via optimized combinational application of phytohormones. Aquaculture, 503:146–55
15. Mühlroth, A., K. Li, G. Røkke, P. Winge, and Y. Olsen. 2013. Pathways of lipid metabolism in marine algae, co-expression network, bottlenecks and candidate genes for enhanced production of EPA and DHA in species of chromista. Mar. Drugs. 11(11):4662–97
16. Noble, A., A. Kisiala, A. Galer, D. Clysdale, and RJN. Emery. 2014. Euglena gracilis (Euglenophyceae) produces abscisic acid and cytokinins and responds to their exogenous application singly and in combination with other growth regulators. Eur. J. Phycol. 49(2):244–54
17. Norlina, R., M.N. Norashikin, SH. Loh, A. Aziz, and TS. Cha. 2020. Exogenous Abscisic Acid Supplementation at Early Stationary Growth Phase Triggers Changes in the Regulation of Fatty Acid Biosynthesis in Chlorella vulgaris UMT-M1. Appl. Biochem. Biotechnol. 191(4):1653–69

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

18. Park, W.K., G. Yoo, M. Moon, C.W. Kim, Y.E. Choi, and J.W. Yang. 2013. Phytohormone supplementation significantly increases growth of chlamydomonas reinhardtii cultivated for biodiesel production. Appl. Biochem. Biotechnol. 171(5):1128–42
19. Romanenko, E.A., I.V. Kosakovskaya, and P.A. Romanenko. 2015. Phytohormones of microalgae: Biological role and involvement in the regulation of physiological processes Pt I. Auxins, Abscisic acid, Ethylene. Int. J. Algae. 17(3):275–89
20. Sivaramakrishnan, R. and A. Incharoensakdi. 2020. Plant hormone induced enrichment of Chlorella sp. omega-3 fatty acids. Biotechnol. Biofuels. 13(1):1–14
21. Stewart, C.R. and G. Voetberg. 1985. Relationship between Stress-Induced ABA and Proline Accumulations and ABA-Induced Proline Accumulation in Excised Barley Leaves. Plant Physiol. 79(1):24–27
22. Sulochana, S.B. and M. Arumugam. 2016. Influence of abscisic acid on growth, biomass and lipid yield of Scenedesmus quadricauda under nitrogen starved condition. Bioresour. Technol. 213:198–203
23. Willette, S., S.S. Gill, B. Dungan, T.M. Schaub, and J.M. Jarvis. 2018. Alterations in lipidome and metabolome profiles of Nannochloropsis salina in response to reduced culture temperature during sinusoidal temperature and light. Algal Res. 32:79–92
24. Yang, X., Y.N. Yang, L.J. Xue, M.J. Zou, and J.Y. Liu. 2011. Rice ABI5-like1 regulates abscisic acid and auxin responses by affecting the expression of ABRE-containing genes. Plant Physiol. 156(3):1397–1409
25. Young, A.J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. Physiol. Plant. 83(4):702–8

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 23 (3): 523-538 (2022)
Research article

The Effect of Abscisic Acid on the Growth Rate, Dry Biomass, Total Lipid and Photosynthetic Pigments of *Nannochloropsis salina* Microalgae in Guillard (F/2) Medium

M. Ghasemi, L. Fahmideh*, S. Ganjali, M. Keykhasaber and M. Modarresi[1]

Nannochloropsis salina is a promising species for lipid production, which is used in aquaculture and biofuel production. On the other hand, plant phytohormones also have different effects on the metabolism of protozoan algae. Therefore, an experiment was conducted with the aim of investigating the effect of abscisic acid (ABA) concentrations on growth and doubling time, chlorophyll, carotenoid, dry biomass, endogenous ABA and total lipid of *N. salina* microalgae in Gaillard (f/2) medium. The experimental treatments included 0 (control), 0.5, 10 and 20 mg L^{-1} ABA concentrations. This experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications during 2019-2020. The analysis of variance showed that ABA treatment was significant on all studied characteristics at the 5% level. The treatment of 20 mg L^{-1} ABA increased the growth rate, chlorophyll, endogenous ABA and total lipid in *N.salina* microalgae. The highest carotenoids and dry biomass were observed in 0.5 mg L^{-1} and control treatments, respectively. The findings of this study show that the concentration of 0.5 mg L^{-1} ABA is effective on lipid and carotenoid production of microalgae, but to increase total lipid production, the concentration of mg L^{-1} ABA is more suitable.

Keywords: Biofuel, Carotenoids, Fatty acid, Plant growth regulator.

1. Ph.D. Student in Agricultural Biotechnology, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources and University of Zabol, Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol and Assistant Professor, Department of Plant Genetics and Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran, respectively.
* Corresponding Author, Email: (l.fahmideh@gau.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-05]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.3.9.1]