اثر سیتوکینین بر رشد و فیزیولوژی *Dunaliella salina*

لیلا زرندی میاندوآب*[۱]، محمدامین حجازی[۲]، مینا نصیری[۳]

تاریخ دریافت:۱۳۹٤/۱۰/۱۳
تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۱۲/۱۷

چکیده

کشت دونالیلا سالینا به خاطر توانایی این ارگانیسم در تولید و انباشتگی برخی مواد بیواکتیو از جمله کاروتنوییدها، از نظر اقتصادی حائز اهمیت فراوان است. این ریزجلبک متعلق به شاخه جلبک‌های سبز و ساکن آبهای شور می باشد. با این حال، فعلاً توان تولید فرآیندهای مبتنی بر ریزجلبک‌ها بسیار کم است که کشت در مقیاس وسیع آنها را محدود می کند. این پژوهش گزارش یک مورد مطالعه اثر تنظیم کننده رشد سیتوکینین (BAP) در غلظت‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک دونالیلا می‌باشد. پس از ۴ هفته از شروع تیمارها، افزایش غلظت BAP منجر به افزایش معنی‌دار در نرخ رشد و تعداد سلول‌های دونالیلا شد. سیتوکینین همچنین موجب افزایش معنی‌دار غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتیین و قند شد. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با استعمال ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر سیتوکینین می‌توان تعداد سلول دونالیلا را تا حدود ۶۳٪ و نرخ رشد را ۶۰٪ افزایش داد که ممکن است نتیجه بهبود در وضعیت و کارایی فتوسنتز و تاثیر بر تقسیم سلولی باشد.

واژه های کلیدی :پروتیین ،رشد، سیتوکینین، قند Dunaliella salina

*۱-استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
(نویسنده مسئول : leilazarandym@gmail.com)
۲-دانشیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی غرب و شمال غرب کشور، تبریز، ایران
۳ -کارشناسی ارشد، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی غرب و شمال غرب کشور، تبریز، ایران

مقدمه

هورمون‌های رشد، مخصوصا آن دسته از تنظیم کننده‌های رشد که موجب افزایش فتوسنتز و مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف شده و در تسهیم محصولات فتوسنتزی کارآمد هستند، پتانسیل خوبی برای توسعه کشاورزی دارند. کاربرد تجاری تنظیم کننده‌های رشد گیاهی کمیّت و کیفیت محصولات کشاورزی و بیوتکنولوژی را افزایش می‌دهد. ریزجلبک‌ها از جمله *Dunaliella salina* ارگانیسم‌های اتوتروفی هستند که توانایی استفاده از انرژی نوری و مواد غذایی معدنی به منظور تولید زیست‌توده و سنتز متابولیت‌های باارزش را دارند. برخی سویه‌های جلبکی در شرایط تنش‌زا کشت می‌شوند تا متابولیت‌های ثانویه ویژه‌ای از جمله رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها و یا لیپیدها را انباشته کنند. این ترکیبات ارزش بالایی در صنایع آرایشی، غذایی، دارویی و همچنین به عنوان ماده خام صنعتی و حتی سوخت زیستی دارند (Skjanes et al., 2013). اما فقط تعداد کمی از محصولات زیستی مانند بتاکاروتن و استاگزانتین در مقیاس صنعتی تولید می‌شوند(Borowitzka, 2013) که ممکن است به خاطر قابلیت یا پتانسیل کم تولید این محصولات در طبیعت و سختی جداسازی آنها با روش‌های عملی و با توجیه اقتصادی باشد. علاوه بر تلاش‌های متنوع در جهت بهبود سویه‌ها، بهینه‌سازی کشت و یا حتی دستکاری ژنتیکی سویه‌ها، پیشنهاد شده که توانایی تولید فرایندهایی که بر پایه ریزجلبک هستند می‌تواند با استعمال ترکیبات و مواد شیمیایی مختلف به منظور افزایش رشد سلول و تجمع محصولات زیستی، افزایش یابد. یکی از محاسن کاربرد ترکیبات شیمیایی این است که، برخلاف روش ایجاد تغییرات ژنتیکی این روش‌ها بر پایه غربالگری فنوتیپی بوده و نیازی به دانش مولکولی ندارند. هورمون‌های گیاهی و آنالوگ‌های آنها گروهی از این ترکیبات شیمیایی هستند که چندین جنبه از متابولیسم ریزجلبک را متاثر می‌سازند. تحقیقات اولیه نشان داده‌اند که استفاده از محرک‌های شیمیایی می‌تواند روش بسیار موثر و اقتصادی در توسعه رشد سلولی و تجمع محصولات زیستی باارزش در کشت‌های مقیاس وسیع ریزجلبکی باشد (Yu et al., 2015). در سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از هورمون‌های گیاهی برای افزایش رشد دونالیلا نیز ارائه شده است (Liangxia, 2007). کینتین و یا ترکیبات سیتوکینینی باعث تحریک رشد و افزایش فعالیت تقسیم سلولی در گیاهان می‌شوند. وجود انواعی از سیتوکینین‌ها در خزه‌ها، جلبک‌های قهوه‌ای، قرمز و دیاتومه‌ها اثبات شده است. در رده‌های مختلف جلبکی (ماکرو و میکرو) حضور مواد رشد درون‌زاد مثل اکسین، سیتوکینین و جیبرلین که

عملکردی مشابه فیتوهورمون‌ها دارند گزارش شده است. عصاره جلبک‌های دریایی فعالیت سیتوکینینی از خود نشان می‌دهند (Provasoli, 1974). مخصوصا در فوکوئیدها زئاتین، زئاتین ریبوزید، IPA (ایندول پروبیونیک اسید) و ایزوپنتنیل آدنوزین پیدا شده است (Polevoi, 2003). کلروپلاست اوگلنا، tRNA با فعالیت سیتوکینینی و طیف‌گسترده‌ای از سیتوکینین‌ها از جمله IPA، ۲-متیل‌ایزوپنتنیل‌آدنین و ۲- متیل‌ایزوپنتنیل‌آدنوزین دارد (Swaminathan, 1977a). برخی از اثرات سیتوکینین‌ها در گیاهان شامل تقسیم سلولی، تکوین و شکل‌گیری اولیه ساقه‌ها در خزه‌ها، القای تشکیل جوانه، رشد جوانه‌های جانبی، توسعه برگ، به تاخیر انداختن پیری برگ، افزایش گشودگی روزنه و توسعه کلروفیل می‌باشد. سیتوکینین سرعت فتوسنتز، مقدار کلروفیل و پروتیین محلول را افزایش می‌دهد (سعیدی و همکاران ۱۳۸۵). بر طبق نظریه مدرن درباره منشاء سلول‌های یوکاریوتی، دستگاه پلاستیدی نشان‌دهنده نمو تکاملی از ارگانیسم فتوسنتز کننده پروکاریوتی است. بنابراین، تصور می‌شود که فیتوهورمون‌ها که سنتز و عملکردشان در ابتدا مرتبط با پلاستیدهاست، باید اثر فعالیت تنظیمی‌شان را در جلبک‌ها مثل سایر گیاهان عالی بگذارند (Tarakhovskaya et al., 2007). سیتوکینین از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کند و باعث تاخیر در تجزیه کلروفیل می‌شود. جذب اسیدهای‌آمینه و نگهداری پروتیین‌ها را در گیاه تقویت می‌نماید. برخلاف گیاهان عالی که مقادیر متنابهی سلولز و همی‌سلولز دارند، محتوی بالای پروتیین و قند زیست‌توده جلبکی می‌تواند مستقیماً به سوخت زیستی یا سایر محصولات زیستی با ارزش از طریق فرایندهای پایین دست تبدیل شوند(Wijffels et al., 2010) .

به دلیل اینکه گزارش‌های کمی مربوط به اثر سیتوکینین بر رشد و متابولیسم دونالیلا سالینا وجود دارد (DE Jesus Raposo and de Morais, 2013) در پژوهش حاضر اثر غلظت‌های مختلف هورمون گیاهی سیتوکینین بر ریزجلبک دونالیلا مورد بررسی و آزمایش قرار گرفته‌است.

مواد و روش‌ها

جلبک *D. salina* سویه CCAP ۱۹/۱۸ از کلکسیون پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور واقع در تبریز تهیه گردید. بدین منظور به محیط کشت A.S.W (Artificial Sea Water) (Hejazi and Wijffels, 2003) ریز جلبک *Dunaliella salina* سیتوکینین نوع BAP (B-Benzyl aminopurine N6-Benzyladenine) Lat. No ۰۰٤٤١٤,۰۲ در ٦ غلظت (صفر، ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰و ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر) اضافه شد. اسیدیته محیط کشت

با استفاده از بافر تریس در حدود ۷/۵ تنظیم شد. ارلن‌مایرهای ۱۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت در شدت نور مداوم ۱۰ میکرومول فوتون‌برمترمربع‌درثانیه و دمای 25±2C قرار داده شدند. ارلن‌ها روی شیکر با ۱۱۲ دور در دقیقه مدام هم زده می‌شدند. پس از ٤هفته و در فاز ثابت رشدی، نمونه‌برداری و آنالیزهای زیر انجام شد. به منظور شمارش مستقیم تعداد سلول *D. salina* در هر میلی‌لیتر از محیط کشت از محلول لوگول، لام نئوبار و میکروسکوپ نوری استفاده شد(Schoen, 1988). محاسبه نرخ رشد با استفاده از معادله Rate = dy/dx انجام گرفت. در این معادله dy تغییرات تعداد سلول و dx تغییرات زمان (روز) می‌باشد. جهت تعیین غلظت کلروفیل a و b و کاروتنویید کل، از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (Lichtenthaler and Buschmann, 2001). به این ترتیب که پس از رسوبگیری از محیط حاوی سلول‌ها از استون ۸۰% برای استخراج رنگدانه‌ها استفاده شد. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفیوژ صاف گردید. میزان جذب محلول رنگین و شفاف رویی در طول‌موج‌های ٦٦٣/٢، ٦٤٦/٨ و ٤٧٠ نانومتر با اسپکتروفتومتر تعیین شد. سپس با قرار دادن جذب‌های خوانده شده در روابط و فرمول های مربوطه میزان بتاکاروتن به صورت میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. جهت اندازه‌گیری قند کل ۲ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۱ نرمال به ۲×۱۰۷ سلول اضافه شد. مخلوط برای ۲۰ دقیقه جوشانده و پس از سرد شدن به مدت ٥ دقیقه در ۲۰۰۰دور سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول بالایی با ۵۰۰ میکرولیتر از فنل ٥% و ۲/٥ میلی لیتر از اسیدسولفوریک مخلوط و جذب در ٤٨٨ نانومتر تعیین شد. با استفاده از منحنی استاندارد مقدار قند برحسب میکروگرم‌برمیلی‌لیتر محاسبه گردید (Dubois et al., 1956). به منظور اندازه‌گیری مقدار پروتیین کل، ریزجلبک‌های ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت با استفاده از سانتریفیوژ جداسازی گردیدند. سپس با استفاده از آب دیونیزه و روی یخ سلول‌ها تخریب شدند. از جذب مخلوط مایع رویی با معرف بردفورد در ٥٩٥ نانومتر برای مقایسه با منحنی استاندارد و محاسبه مقدار پروتیین برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد(Bradford, 1976). محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ١٦ و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

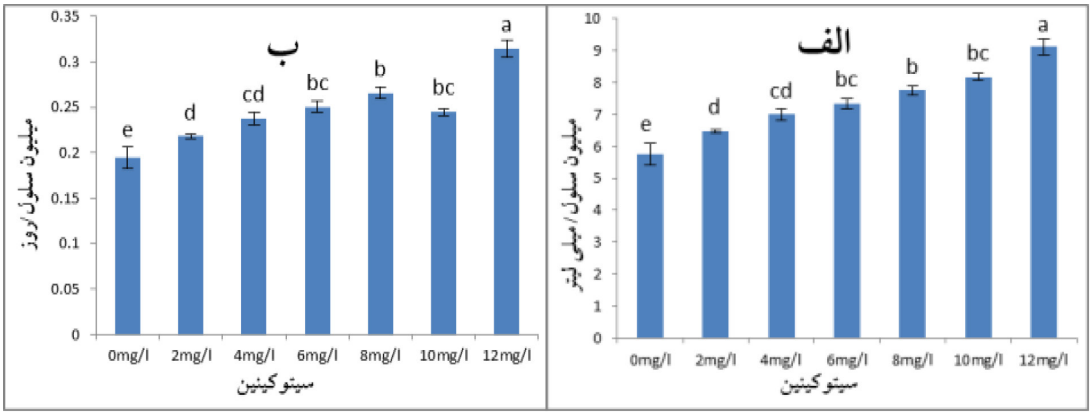
آنالیز آماری داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که استفاده از غلظت‌های مختلف سیتوکینین تاثیر معنی‌داری در سطح ۱درصد آماری، بر تعداد سلول‌ها، نرخ رشد، غلظت کلروفیل a، کاروتنوییدها، محتوی پروتیین و قند داشت (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر سیتوکینین بر صفات مورد مطالعه *D. salina*

صفات	SS	df	MS	F	sig.
تعداد سلول	۱/۹۸۹×۱۰^{۱۳}	۶	۳/۳۱۵×۱۰^{۱۲}	۲۷/۷	۰**
کل	۱/۱۲۱×۱۰^{۱۵}	۲۱	–	–	–
نرخ رشد	۲/۵۶۴×۱۰^{۱۳}	۶	۴/۲۷۳×۱۰^{۹}	۲۵/۱	۰**
کل	۱/۳۰۵×۱۰^{۱۲}	۲۱	–	–	–
کلروفیل *a*	۲۲/۹۱۵	۶	۳/۸۱۹	۵/۰۲۱	۰/۰۰۶**
کل	۶۸۰/۴۲۸	۲۱	–	–	–
کلروفیل *b*	۳/۱۴۷	۶	۰/۵۲۴	۱/۵۳۵	۰/۲۳۸^{ns}
کل	۶۳/۲۳۶	۲۱	–	–	–
کاروتنوییدها	۴/۰۲۳	۶	۰/۶۷	۷/۳۹۱	۰/۰۰۱**
کل	۱۹۶/۲۶	۲۱	–	–	–
پروتیین کل	۳۳۴۰۲/۵۱۸	۶	۵۵۶۷/۰۸۶	۷۴/۰۱	۰**
کل	۴۹۳۱۱۳/۳۰۳	۲۱	–	–	–
قند کل	۷۰۸۴/۰۶	۶	۱۱۸۰/۶۷۷	۱۹/۳۸۷	۰**
کل	۲۰۴۵۰۶/۷۴۳	۲۱	–	–	–

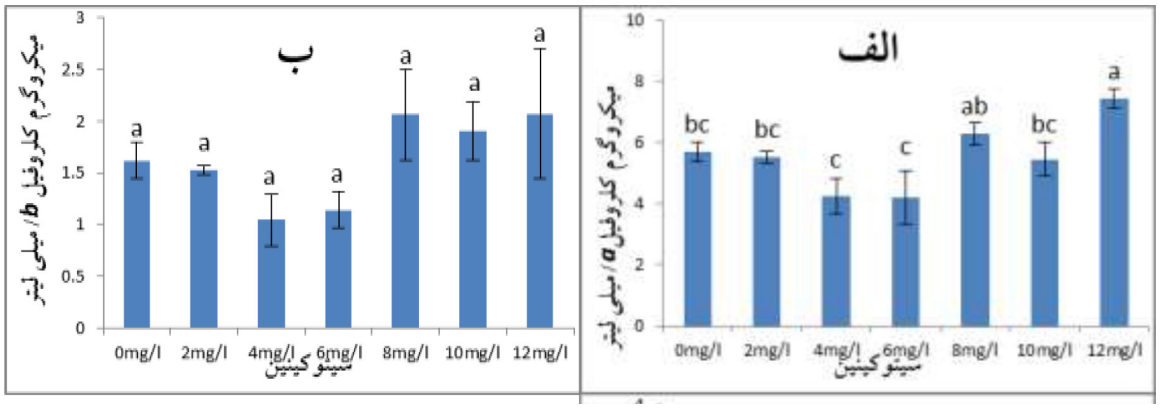
**وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح۱٪، ^{ns} عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها.

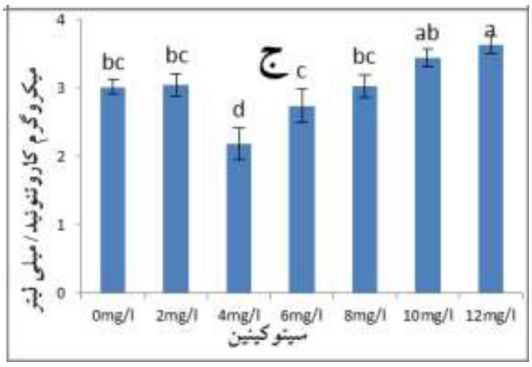
رشد و تقسیم سلولی: همانطور که در شکل ۱ الف مشاهده می‌شود استفاده از هورمون سیتوکینین بر رشد و تقسیم سلولی *Dunaliella salina* بصورت معنی داری موثر بوده است. حداکثر افزایش تعداد سلول‌ها در تیمار محتوی ۱۲ میلی‌گرم‌درلیتر سیتوکینین مشاهده می‌شود که منجر به رشد در حدود ٦٣% در تعداد سلول‌ها نسبت به شاهد (تیمار فاقد هورمون) شده است. همچنین محاسبه نرخ رشد نشان داد که بیشترین نرخ رشد (۳۰۰۰۰۰ سلول روزانه) در تیمار حاوی بالاترین غلظت هورمون بوده است (شکل۱ب).



شکل ۱: اثر سطوح مختلف سیتوکینین بر الف) تعداد سلول و ب) نرخ رشد *D. salina*.
حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵%می‌باشد.

رنگدانه‌ها: داده‌های مندرج در شکل ۲(الف تا ج) نشان می‌دهد که استعمال غلظت‌های مختلف هورمون سیتوکینین اثرات متفاوتی بر غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی طی ٤ هفته تیمار داشته‌است. غلظت ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر هورمون در هفته چهارم موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a شده است (شکل ۲ الف). با توجه به شکل ۲ ب (غلظت کلروفیلb در واحد حجم محیط کشت) می‌توان برداشت کرد که افزودن غلظت‌های بالای هورمون سیتوکینین تاثیر معنی‌داری بر بیوسنتز و یا تجزیه کلروفیلb نداشته است. شکل۲ ج نشان می‌دهد که استعمال غلظت‌های بالای سیتوکینین موجب افزایش معنی‌دار کاروتنوییدها در واحد حجم شده است.



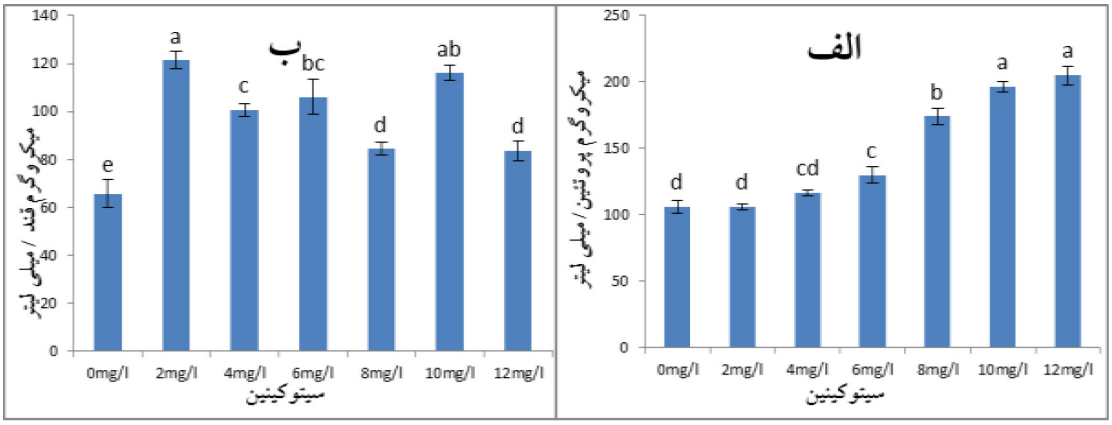


شکل ۲: اثر سطوح مختلف سیتوکینین بر رنگدانه‌های فتوسنتزی *D. salina*.

الف) کلروفیل a ب) کلروفیل b ج) کاروتنوییدها.

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵%می‌باشد.

محتوی پروتیین و قند کل: با ملاحظه نمودارهای شکل ۳ الف و ب مشاهده می‌شود که استعمال سیتوکینین غلظت پروتیین و قند در واحد حجم را بصورت معنی‌دار افزایش داده است. به‌نظر می‌رسد رابطه مستقیمی بین غلظت سیتوکینین و محتوی پروتیین وجود دارد. ظاهراً غلظت‌های مختلف هورمون اثر متفاوتی بر افزایش قند دارند ولی همه نسبت به تیمار شاهد از محتوی قند بیشتری برخوردارند.



شکل ۳: اثر سطوح مختلف سیتوکینین بر الف) پروتیین کل ب) قند کل . *D. salina*

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵% می‌باشد.

بحث

رشد و تقسیم سلولی: با توجه به شناختی که از هورمون سیتوکینین به عنوان هورمون موثر بر تقسیم یاخته‌های گیاهی وجود دارد به‌نظر می‌رسد ریزجلبک تک سلولی دونالیلا سالینا نیز به این هورمون پاسخ مشابه داده و غلظت۱۲میلی‌گرم‌درلیتر سیتوکینین توانسته تعداد سلول‌ها را به حدود ۶۳% در هفته چهارم نسبت به تیمار

شـاهد افزایـش دهـد.

سـیتوکینین‌ها عـلاوه بـر تاثیـر بـر سـیتوکینز و تقسـیم سـلول گیاهـی بـر سـایر جنبه‌هـای فیزیولـوژی و نمـو تنظیم‌شـونده بـا نـور شـامل تمایـز کلروپلاسـت، نمو(توسـعه متابولیسـم اتوتروفـی) ایـن یاخته‌هـا نیـز موثـر می‌باشـند (Alberte and Naylor, 1975). همچنیـن سـیتوکینین‌ها اغلـب فرایندهـای سـلولی را تنظیـم می‌کننـد. سـیتوکینین بـا فعال‌سـازی یـک فسـفاتاز مشـابه Cdc25 مرتبـط می‌باشـد، کـه نقـش آن حـذف مهارکنندگـی گـروه فسـفات از کینـاز Cdc2 اسـت. همچنیـن سـیتوکینین در بیـان ژن CYCD3 نقـش مثبـت ایفـا میکنـد. ایـن ژن کدکننـده یـک سـایکلین نـوع D (D-type cyclin) اسـت. در سـلول‌های جانـوری ایـن نـوع سـایکلین در گـذر از مرحلـه (نقطـه محدودکننـده)G۱ مهـم اسـت و تحـت تنظیـم تعـدادی از فاکتورهـای رشـدی می‌باشـد. بنابرایـن سـایکلین‌های نـوع D نقـش کلیـدی و مهـم در تنظیـم تکثیـر (Proliferation) سـلولی دارنـد. در نتیجـه می‌تـوان گفـت مکانیسـم اصلـی بـرای توانایـی سـیتوکینین‌ها در تحریـک تقسـیم سـلولی بـه افزایـش عملکـرد CYCD3 مربـوط می‌شـود (Hopkins and Hüner, 2008). همچنیـن پیشـنهاد شـده اسـت کـه سـیتوکینین از طریـق تحریـک انباشـتگی و فعالیـت براسینواسـتروئیدهای (Brasinosteroid) درون‌زاد بـر تعـداد سـلول و تجمـع متابولیت‌هایـی همچـون پروتییـن، کلروفیل‌هـا و منوسـاکاریدها موثـر اسـت (Bajguz and Piotrowska-Niczyporuk 2014).

محتـوی رنگدانه‌هـا: محاسـبه غلظـت کلروفیـلa، کلروفیـل bو کاروتنوییدهـا در واحـد حجـم محیـط کشـت تحـت تاثیـر هورمـون سـیتوکینین افزایـش نشـان میدهـد کـه دلیـل آن اثـر مثبـت سـیتوکینین بـر بیوسـنتز و توسـعه دسـتگاه فتوسـنتزی *Dunaliella* می‌باشـد. محقـق‌زاده و همـکاران (۲۰۱۲) نیـز بـه نتیجـه مشـابه در مـورد اثـر سـیتوکینین بـر کاروتنوییدهـای *Dunaliella* اشـاره کـرده اسـت (Mohagheghzadeh et al., 2012). سـیتوکینینها در تمایـز کلروپلاسـت نقـش دارنـد و موجـب سـنتز کلروفیـل و آنزیم‌هـای فتوسـنتزی می‌شـوند (Towne and Owensby, 1983 ;Hopkins and Hüner, 2008). در گیاهـان عالـی سـیتوکینین‌ها موجـب بیوسـنتز بیشـتر کلروفیـل می‌شـود (Alberte and Naylor, 1975). همچنیـن مـی تـوان بـه افزایـش هماهنـگ رنگدانـه هـای کمکـی (کاروتنوئیدهـا) بـا رنگدانـه هـای اصلـی فتوسـنتز (کلروفیـل هـا) اشـاره نمـود (شـکل ۲). ایـن موضـوع مشـخص مـی کنـد کاروتنوئیدهـای افزایـش یافتـه در غشـاهای تیلاکوئیـدی جـای گرفتـه انـد و نـه در پلاسـتو گلوبولیـن هـای غنـی از بتاکاروتـن کـه در شـرایط خـاص محیطـی *Dunaliella* بتـا کاروتـن را بـدان شـکل انباشـته مـی کنـد. بـا توجـه بـه اثـر اختصاصـی هورمونهـا بـر فیزیولـوژی سـلولی

به‌نظر می رسد مقدار آن تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر پاسخ سلول دارد به همین دلیل در غلظت های ٤ و ٦ میلی‌گرم بر لیتر کاهش مقدار رنگدانه‌ها مشاهده می‌شود.

محتوی پروتیین: غلظت پروتیین تحت تاثیر سیتوکینین افزایش نشان می‌دهد که میتواند مرتبط با افزایش رشد و تولید و توسعه دستگاه فتوسنتزی باشد. اثر تحریک‌کنندگی سیتوکینین بر سنتز پروتیین در بافت‌های گیاهی مدتهاست که بخوبی شناخته شده است. این اثر در مرحله پس از رونویسی یا حتی مستقیماً در مرحله رونویسی است. زیرا سیتوکینین در برخی tRNA ها در موقعیت آنتی‌کدن کشف شده است. بعدها معلوم شد که حضور سیتوکینین در tRNA ها تمایل اتصال به ریبوزوم را در tRNA های حامل آمینواسید افزایش می‌دهد و تشخیص کدن را در کمپلکس‌های پلی‌ریبوزومی تسهیل می‌کند(Summons et al., 1981; Szweykowska et al., 1981; Towne and Owensby, 1983). محل فعالیت سیتوکینین در اوگلنا *Euglena gracilis* var. *bacillaris* به‌عنوان ۳ ریبونوکلئوزید از tRNA شناسایی شده است (Swaminathan, 1977b).

محتوی قند کل: محتوی قند کل دونالیلا تحت تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون افزایش نشان می‌دهد ولی با توجه به غلظت پروتیین چنین برداشت می‌شود که افزایش قندها در تیمارهایی که پروتیین بیشتری تولید و انباشته کرده‌اند کمتر بوده است. استعمال سیتوکینین برون‌زاد، بیوسنتز و انباشتگی قندها را در گیاهان عالی نیز افزایش می‌دهد (Javid, Sorooshzadeh et al., 2011).

نتیجه‌گیری

Dunaliella به عنوان مکمل غذایی ارزش اقتصادی قابل توجهی دارد. پودر *Dunaliella* به دلیل دارا بودن بتاکاروتن، توسط صنایع پرورش آبزیان به عنوان غذای رنگی که گوشت میگو و ماهی سالمون را به رنگ صورتی خوشرنگ در می‌آورد، مورد استفاده قرار می‌گیرد. به منظور تولید محصولات زیستی با ارزش از ریزجلبک‌ها با یک روش مناسب و مقرون به صرفه، باید مشکل تولید کم زیست‌توده حل شود. برای رفع این مشکل، می‌توان از کاربرد مواد و مولکول‌های شیمیایی در افزایش رشد و تولید و انباشتگی محصولات زیستی ریزجلبک‌ها بهره برد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استعمال ۱۲ میکروگرم در لیتر ازسیتوکینین نوع BAP بصورت محلول در محیط کشت *Dunaliella salina* نرخ رشد، توان فتوسنتزی، محتوی قند و پروتیین ریزجلبک مورد مطالعه را بصورت معنی‌داری افزایش می‌دهد که می‌تواند در کشت مقیاس وسیع *Dunaliella* از این نتیجه بهره برد.

سپاسگزاری

نگارندگان از زحمات مرحوم جناب آقای شهرام خسروی، مسئول آزمایشگاه فیزیولوژی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور، تشکر می‌نمایند.

منابع

سعیدی، م.، مرادی، ف.، احمدی، ع.، پوستینی، ک.، نجفیان، گ.، (۱۳۸۵) اثر محلول پاشی اسید آبسزیک و سیتوکینین در مراحل مختلف رشد دانه بر پاره‌ای از جنبه‌های فیزیولوژیک روابط منبع و مخزن در دو رقم گندم. مجله علوم زراعی ایران جلد هشتم، شماره ۳، صفحه: ۸۶۲-۲۸۲.

Alberte R. S. and Naylor A. W. (1975) The role of cytokinins in chloroplast lamellar development. Plant physiology 55(6): 1079-1081.

Bajguz, A. and Piotrowska-Niczyporuk, A. (2014) Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). Plant Physiology and Biochemistry 80: 176-183.

Borowitzka M. (2013)High-value products from microalgae-their development and commercialisation. Journal of Applied Phycology 25: 743–756.

Bradford M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry 72(1): 248-254.

DE Jesus Raposo M. F. and de Morais R. M. S. C. (2013) Influence of the growth regulators kinetin and 2, 4-D on the growth of two chlorophyte microalgae, *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina*. Journal of Basic and Applied Sciences 9: 302-308.

Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P.and Smith F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistrym 28(3): 350-356.

Hopkins, W. G. and Hüner N. P. (2008) Introduction to plant physiology. 4th ed., Wiley. 528 pp., New York.

Javid M. G., Sorooshzadeh A., Sanavy S. A. M. M., Allahdadi I. and Moradi F. (2011)

Effects of the exogenous application of auxin and cytokinin on carbohydrate accumulation in grains of rice under salt stress. Plant Growth Regulation 65(2): 305-313.

Liangxia, Z. (2007) Influence of Six Kinds of Hormones on Growth of *Dunaliella salina*. Journal of Anhui Agricultural Sciences 35(16): 4764.

Lichtenthaler H. K. and Buschmann C. (2001) Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV VIS Spectroscopy. Methods in Enzymology 148: 349–382.

Mohagheghzadeh A., Hamidi M., Niazi A., Rasoul-Amini S., Ghasemi Y., Mousavi P. and Abolhassanzadeh Z. (2012) The effect of plant growth regulators on growth and production of β-carotene in *Dunaliella salina*. Research in Pharmaceutical Sciences 7(5): S498.

Polevoi V. V., Tarakhovskaya E. R., Maslov Yu. I., and Polevoi A. V. (2003) Induction of Polarity in Zygotes of *Fucus vesiculosus* L. by Auxin. Ontogenez 34: 432–37.

Provasoli L. and Carlucci A.F. (1974) Vitamins and Growth Regulators, Algal Physiology and Biochemistry, Stewart, W.D.P., Ed., Los Angeles. Berkeley pp: 741–787.

Schoen M. (1988) Cell counting In Dunaliella: Experimental pycology (eds. Labban, C., Chapnoon, D., and Kermer, B. P.). Cambridge University press. Cambridge.

Skjanes K., Rebours C., and Lindblad P. (2013) Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process. Critical Reviews in Biotechnology 33: 172–215.

Summons R., Letham D., Gollnow B., Parker C., Entsch B., Johnson L., MacLeod J., Rolfe B., Guern J. and Peaud-Lenoël C. (1981) Metabolism and Molecular Activities of Cytokinins.

Swaminathan S. and Bock R.M. (1977a) Subcellular Localization of Cytokinins in Transfer Ribonucleic Acid. Plant Physiology 59: 558–563.

Swaminathan S. and Bock RM. (1977b) Isolation and identification of cytokinins from *Euglena gracilis* var. *bacillaris* transfer-RNA. Biochemistry 16: 1355-60.

Szweykowska A., Gwozdz E. and Spychała M. (1981) The cytokinin control of protein synthesis in plants. Metabolism and Molecular Activities of Cytokinins. Spring-

er: 212-217.

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

Towne G. and Owensby C. (1983) Cytokinins effect on protein and chlorophyll content of big bluestem leaves. Journal of Range Management 75-77.

Wijffels R., Barbosa M. and Eppink M. (2010) Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. Biofuels, Bioproducts and Biorefining 4: 287–295.

Yu X., Chen L. and Zhang W. (2015) Chemicals to enhance microalgal growth and accumulation of high-value bioproducts. Frontiers in microbiology 6.