

بررسی اثر هورمونهای اکسین و سیتوکینین بر رشد و محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین جلبک *Chlorella sorokiniana*

آمنه جمشیدی^{۱*}، محمدعلی ابراهیمی^۲، طیبه رجیبیان^۳، غلامرضا بخشی خانیکی^۲ و شهلا مظفری^۴

^۱ تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی

^۲ تهران، دانشگاه پیام نور، گروه کشاورزی

^۳ تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

^۴ تهران، دانشگاه پیام نور، گروه شیمی

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۶



چکیده

جلبک‌های کلرلا به‌عنوان دارو، غذای آبزیان و بیوفیلتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. از این دیدگاه، بالا بردن بیوماس و برخی متابولیت‌های آن حایز اهمیت اقتصادی است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر تحریکی برخی هورمونهای گیاهی بر بیوماس و محتوای متابولیت‌های مهم جلبک *Chlorella sorokiniana* بود. در این پژوهش جلبک در محیط کشت پایه Bold تغییر یافته کشت شد. به محیط کشت ۵ گرم در لیتر گلوکزمنو هیدرات و نسبت‌های مختلف هورمون‌های نفتالن استیک اسید (NAA)، بنزیل‌آمینوپورین (BAP)، ایندول استیک اسید (IAA) و ایندول بوتیریک اسید (IBA) افزوده شد. وزن خشک، محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین در این تیمارها اندازه‌گیری شد. این صفات رشد، در ۷۵٪ محیط کشت‌های حاوی NAA+BAP افزایش یافت و این افزایش در تیمار با NAA (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) BAP+ (۱ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به شاهد معنی‌دار بود. در تیمار IAA (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۲ میلی‌گرم در لیتر) وزن خشک و مقدار کلروفیل a بطور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. وزن خشک و محتوای پروتئین و رنگیزه‌ها، در تیمار با غلظت‌های IBA + BAP یا اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نمی‌داد یا کاهش می‌یافت. بیشترین وزن خشک، تعداد سلول، محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین، نسبت به شاهد در تیمارهای NAA+BAP مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هورمون‌های BAP، NAA و IAA به‌ترتیب بیشترین اثر افزایشی را بر صفات رشد مورد بررسی داشتند و IBA اثر چندانی بر این صفات نداشت.

واژه‌های کلیدی: *Chlorella sorokiniana*، هورمون‌های گیاهی، پروتئین، رنگیزه‌های فتوسنتزی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۸۴۳۰۳۵، پست الکترونیکی: ameneh.jamshidi@gmail.com

مقدمه

هورمون‌های موجود در جلبک‌ها می‌تواند سبب تغییر رشد آنها گردد (۳۳،۷). برخی فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سلول‌های جلبکی مثل افزایش ابعاد و تعداد سلول، تغییر محتوای قندها، پروتئین، آنزیم‌ها و رنگیزه‌ها تحت کنترل چنین هورمون‌هایی هستند (۳۸). البته مسیر عملکرد فیتوهورمون‌ها در جلبک‌ها هنوز

جلبک‌های کلرلا، جلبک‌های مفیدی هستند که در صنایع غذایی، به‌عنوان غذای آبزیان و غذای دام و طیور و در صنایع دارویی و همچنین به‌عنوان بیوفیلتر مورد استفاده متعددی دارند (۳۸). به دلیل کاربرد متعدد این جلبک‌ها کشت و افزایش بیوماس آنها ارزشمند است. یکی از راه‌های افزایش رشد، کاربرد هورمون‌هاست. تغییر غلظت

مونساکاریدها) در ترکیب براسینولید با ترانس زآتین به دست آمد و کمترین اثر در ترکیب ۲۸ همو کاستاسترول با ۱،۳ دی فنیل اوره بدست آمد. در اثر عملکرد سازگار دو نوع هورمون، تعداد سلول‌ها و محتوای متابولیت‌ها تقریباً به ۲/۵ تا ۳ برابر زمانی رسید که یک هورمون به تنهایی مورد استفاده قرار گرفته بود (۴). در پژوهشی دیگر اثر دو هورمون ۴،۲ دی کلروفوکسی استیک اسید (2,4-D) و کیتین در غلظت‌های مختلف بر جلبک *Haematococcus pluvialis* بررسی شد. نتایج نشان داد این جلبک در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۱ میلی گرم در لیتر کیتین ۲۹۷٪ نسبت به شاهد افزایش رشد (تعداد سلول) نشان داد (۱۶). در پژوهش دیگری اثر تحریک کننده‌های بیوشیمیایی بر بیوماس و محتوای متابولیت‌ها در *C. sorokiniana* آزمایش شد. در این مطالعه از NAA همراه با هورمون‌های دیگر استفاده شد. ترکیب هورمونی NAA همراه با اکسین‌های دیگر هیچ اثر سازگاری و یا ناسازگاری بر صفات مورد مطالعه نداشت، اما ترکیب آن با زآتین یا ژیرلین سبب افزایش رشد گردید (۱۴). استفاده از گلوکز در محیط کشت نیز سبب افزایش بیوماس *C. vulgaris* در کشت میکسوتروف (mixotroph) شد (۲۰). با توجه به اهمیت-های متعدد کاربردی *C. sorokiniana* در این تحقیق اثر غلظت‌های برخی هورمون‌های اکسین (طبیعی و مصنوعی) و سیتوکینین بطور ترکیبی بر روی رشد، محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین این جلبک در کشت میکسوتروف مورد بررسی قرار خواهد گرفت، تا بهترین ترکیب‌های هورمونی با بیشترین اثر تحریکی بر افزایش صفات مورد مطالعه برای اهداف کاربردی معرفی شوند.

مواد و روشها

مواد اولیه و شرایط رشد: جلبک *C. sorokiniana* (IBRC-M 5008) از مرکز ذخایر ژنتیکی و بیولوژیکی ایران خریداری شد. مواد مورد نیاز از شرکت مرک خریداری شد. جلبک‌ها در محیط کشت پایه

ناشناخته است (۳۷). محققان غلظت جیبرلین و براسینواستروئیدها را در تعدادی از جلبک‌های خانواده کلروفیسه (*Chlorophyceae*) تعیین کردند (۳۳) و محققانی نیز اثر نور و تاریکی را بر رشد و مقدار هورمون‌های جلبک *Chlorella minutissima* مورد بررسی قرار دادند. بیشترین مقدار هورمون‌های ایندولی در تاریکی در محیط کشت حاوی گلوکز گزارش شده بود. درحالی که کشت‌های جلبکی قرار گرفته در محیط فاقد گلوکز، با فتوپریود، ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی حاوی مقادیر بیشتری سیتوکینین بودند (۳۴). در تحقیقی، اثر اکسین‌های طبیعی IAA و IBA و اکسین‌های سنتزی NAA و فنیل استیک اسید (PAA) بر روی متابولیت‌ها، رشد و پاسخ آنتی‌اکسیدانی *Chlorella vulgaris* مورد بررسی قرار گرفت. IAA و IBA در غلظت‌های کمتری از NAA و PAA سبب حداکثر افزایش تعداد سلول‌ها در این جلبک شدند. در این غلظت‌ها، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های محلول نیز افزایش یافت (۲۶). در برخی مطالعات از دو و یا چند هورمون برای افزایش رشد استفاده شده است. برای مثال در تحقیقی اثرات سازگار اکسین‌ها و براسینواستروئیدها بر روی جلبک *C. vulgaris* بررسی شد. در این بررسی اکسین‌های IBA و IAA به تنهایی و یا همراه با براسینواستروئیدها مورد استفاده قرار گرفت. ترکیب اکسین و براسینواستروئید تکثیر سلول‌ها و انباشت متابولیت‌ها (کلروفیل کل، پروتئین کل و مونساکاریدها) را تقریباً ۳ تا ۴ برابر بیشتر از استفاده از یک هورمون تنها، افزایش می‌داد (۷). در تحقیقی دیگر، اثر برهم‌کنش براسینواستروئیدها و سیتوکینین‌ها (ترانس زآتین، دی فنیل اوره و کیتین) بر روی رشد جلبک *C. vulgaris* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیق نشان داد که سلول‌های جلبکی نسبت به سیتوکینین‌ها با افزایش تعداد سلول‌ها حساسیت نشان می‌دهند و سیتوکینین‌ها با براسینواستروئیدها بطور سازگار عمل می‌کنند و بیشترین اثر (تقسیم سلول‌ها، انباشت پروتئین، کلروفیل و

به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت تلقیح شد. فلاسک‌ها در اتاق کشت بر روی شیکر انکوباتور (GFL,3031, Germany) با ۱۲۵ دور در دقیقه در دمای 25 ± 1 درجه سانتیگراد و شرایط نور (لامپ‌های فلوروسنت، ۵۰ مول بر متر مربع بر نایه) و فتوپریود ۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی قرارگرفت. فلاسک‌ها به مدت ۷۲ ساعت در این شرایط نگهداری شد و بعد وزن خشک و تعداد سلول‌ها و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین جلبک پس از ۷۲ ساعت کشت اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها با روش کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها ۴ بار تکرار شد. ترکیبات هورمونی و گلوکز طبق جدول ۱ به محیط‌های کشت افزوده شد.

Bold (Bold Basal Medium:BBM) اصلاح شده (۲) با کمی تغییر (با استفاده ۰/۰۷۵ گرم در لیتر KH_2PO_4) کشت شد. به منظور دسترسی به منبع کربن، به محیط‌های کشت ۵گرم در لیتر گلوکزمنوهیدرات افزوده شد (۱۹). هورمون‌های IAA، BAP، NAA و IBA پس از تهیه در غلظت‌های مورد نظر به محیط‌های کشت اضافه شد (۲۶، ۱۶، ۹، ۷). pH محیط کشت با سود انرمال به ۶/۸ رسانده شد. محیط کشت‌ها به فلاسک‌های ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت منتقل شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱ اتمسفر در دستگاه اتوکلاو سترون شد. برای کشت نمونه‌های جلبکی، یک میلی لیتر سلول جلبکی در فاز لگاریتمی

جدول ۱- محیط کشت‌ها و غلظت ترکیبات هورمونی و گلوکز استفاده شده در یک لیتر BBM

هورمون محیط	NAA (میلی گرم در لیتر)	IBA (میلی گرم در لیتر)	IAA (میلی گرم در لیتر)	BAP (میلی گرم در لیتر)	گلوکزمنوهیدرات (گرم در لیتر)
A	۵	۰	۰	۱	۵
B	۵	۰	۰	۲	۵
C	۱۰	۰	۰	۱	۵
D	۱۰	۰	۰	۲	۵
E	۰	۵	۰	۱	۵
F	۰	۵	۰	۲	۵
G	۰	۱۰	۰	۱	۵
H	۰	۱۰	۰	۲	۵
I	۰	۰	۱	۱	۵
J	۰	۰	۱	۲	۵
K	۰	۰	۹	۱	۵
L	۰	۰	۹	۲	۵
M (شاهد)	۰	۰	۰	۰	۵

اندازه‌گیری صفات رشدی

۴۰۰۰× g سانتیفریوژ گردید. قرص جلبکی حاصل، ۷۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و بعد توزین گردید (۳).

۲- شمارش تعداد سلول: شمارش سلول‌های جلبک توسط لام نئوبار انجام گردید (۷). هر شمارش ۴ بار تکرار شد. ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون جلبک برداشت و رقیق

۱- تخمین وزن خشک: ۴۰ میلی لیتر محیط کشت حاوی سلول جلبکی، ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰× g سانتیفریوژ (Sigma, 2-16pk, Germany) و روش‌ناور دور ریخته شد و رسوب جلبکی با آب مقطر شستشو شد و بلافاصله در

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی براساس میکروگرم در یک میلی لیتر سوسپانسیون جلبک بیان شد (۱۴).

$$a = (A_{665/2} / 16/72) - (A_{9/16} / 9/16)$$

$$b = (A_{665/2} / 15/28) - (A_{665/2} / 34/09)$$

$$- (A_{470} / 1000) = \text{کاروتنوئیدها}$$

$$221 \pm [(104/96 \times \text{کلروفیل } b) - (1/63 \times \text{کلروفیل } a)]$$

محاسبات آماری: آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS(version13) با تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و معنی داری در سطح $P \leq 0/05$ تعیین شد. شکل‌ها با نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج

بررسی اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف NAA+ BAP :

وزن خشک، تعداد سلول، مقدار رنگیزه‌ها و پروتئین در ۷۵٪ از محیط‌های حاوی NAA+BAP نسبت به شاهد افزایش یافت. اما فقط در تیمار با NAA (۱۰ میلی گرم در لیتر) BAP+ (۱ میلی گرم در لیتر) این افزایش معنی دار بود، که مقادیر آن در تیمار و شاهد به ترتیب وزن خشک، ۷۷/۵ و ۶۴/۹۵ میلی گرم، محتوای کلروفیل a، ۴/۶ و ۶/۷۶ میکرو گرم در میلی لیتر، کلروفیل b، ۳/۸ و ۲/۴۷ میکرو گرم در میلی لیتر و پروتئین، ۱۵/۲۷ و ۱۲/۶۸ میلی گرم درصد میلی گرم وزن خشک می باشد (شکل ۱: A,C,D). البته تعداد سلول در تیمار و شاهد به ترتیب $10^7 \times 16/38$ و $10^7 \times 10/98$ در میلی لیتر می باشد اما افزایش تعداد سلول، در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار نبود (شکل ۱: B). ولی در سطح بالاتر، $P \leq 0/15$ اختلاف معنی داری مشاهده می شد.

بررسی اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف IBA+ BAP :

تیمار با IBA (۵ میلی گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی گرم در لیتر) وزن خشک و محتوای متابولیت‌ها مشابه شاهد بود، ولی در سایر تیمارهای IBA+ BAP وزن خشک، تعداد

شد، پس از هم زدن، ۲۰ میکرولیتر از آن روی لام نئوبار قرارگرفت. تعداد سلول جلبک در میلی لیتر طبق معادله زیر تعیین شد (۱).

میانگین عدد شمارش شده در مربع بزرگ (۰/۱ میلی متر مکعب) \times ضریب رقت $\times 10^4 =$ تعداد سلول جلبک در میلی لیتر

اندازه‌گیری محتوای پروتئین: برای سنجش محتوای

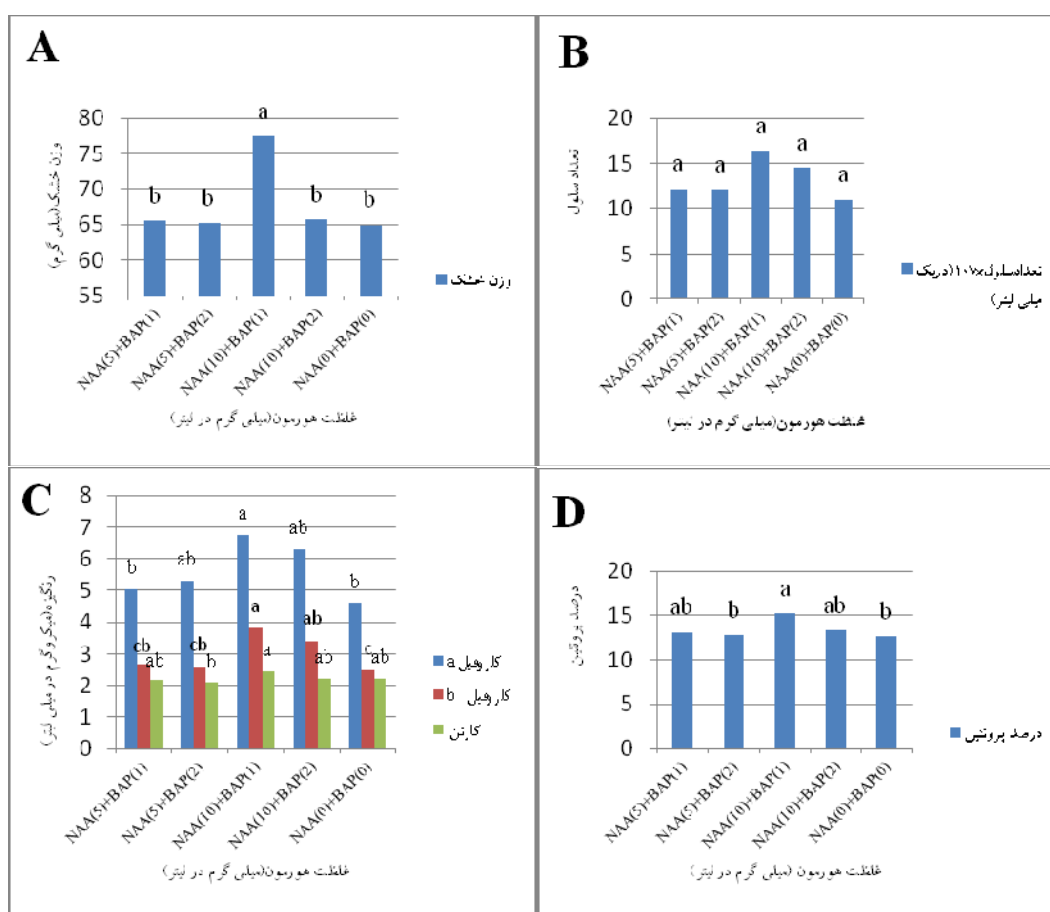
پروتئین جلبک خشک شده (۳۰) با هاون پودر شد. به ۵ میلی گرم از ماده خرد شده ۱ میلی لیتر سود (۰/۵ مولار) افزوده و به هم زده تا یکنواخت شد. نمونه ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری و گاه‌گاهی به هم زده شد، سپس در دمای آزمایشگاه سرد شد. نمونه در $g \times 2000$ سانتریفیوژ شد و روشناور به لوله دیگری انتقال یافت و برای تعیین پروتئین مورد آزمایش قرار گرفت (۱۹). بدین منظور، ۰/۱ میلی لیتر از محلول حاوی پروتئین به ۵ میلی لیتر معرف برادفورد افزوده شد و پس از تکان دادن در ۲ دقیقه جذب در ۵۹۵ نانومتر با اسپکتروفوتومتر (Shimadzu, UV mini 1240, Japan) خوانده شد. منحنی استاندارد، با سرم آلبومین گاوی ترسیم شد (۱۸). غلظت سرم آلبومین طبق معادله $y = 0/0096x$ محاسبه گردید ($x =$ غلظت سرم آلبومین و $y =$ میزان جذب). سپس درصد پروتئین بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ میلی گرم وزن خشک محاسبه شد (۱۴، ۱۹).

اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی: یک میلی لیتر

از سوسپانسیون جلبکی در $g \times 4000$ سانتریفیوژ شد. محلول رویی دور ریخته شد. به رسوب جلبکی متانول ۹۹/۹٪ (v/v) افزوده شد و در تاریکی نگهداری تا کاملاً سفید شد (۱۴)، سپس در $g \times 2000$ سانتریفیوژ شد و جذب محلول متانولی با اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید (۴۰) و

به ترتیب وزن خشک، ۵۵/۹، ۵۴/۶ و ۶۴/۹۵ میلی گرم، محتوای کلروفیل a، ۳/۸۶، ۳/۹۵ و ۴/۶۲ میکروگرم در میلی لیتر، کلروفیل b، ۱/۶، ۲ و ۲/۴۷ میکروگرم در میلی لیتر و درصد پروتئین ۱۱/۱، ۱۰/۹ و ۱۲/۶۸ میلی گرم در ۱۰۰ میلی گرم وزن خشک بود که در این تیمارها، مقادیر این صفات کاهش معنی داری را نسبت به شاهد نشان می‌داد (شکل ۲: A, C, D).

سلولها و محتوای متابولیت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت. محتوای کلروفیل b، در تیمار با IBA (۵ میلی گرم در لیتر) + BAP (۲ میلی گرم در لیتر)، ۱/۷ میلی گرم در لیتر نسبت به شاهد ۲/۴۷ میلی گرم در لیتر کاهش معنی داری نشان می‌داد. در تیمار با IBA (۱۰ میلی گرم در لیتر) + BAP (۲-۱ میلی گرم در لیتر) بیشتر صفات رشد بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت، در این تیمارها و شاهد



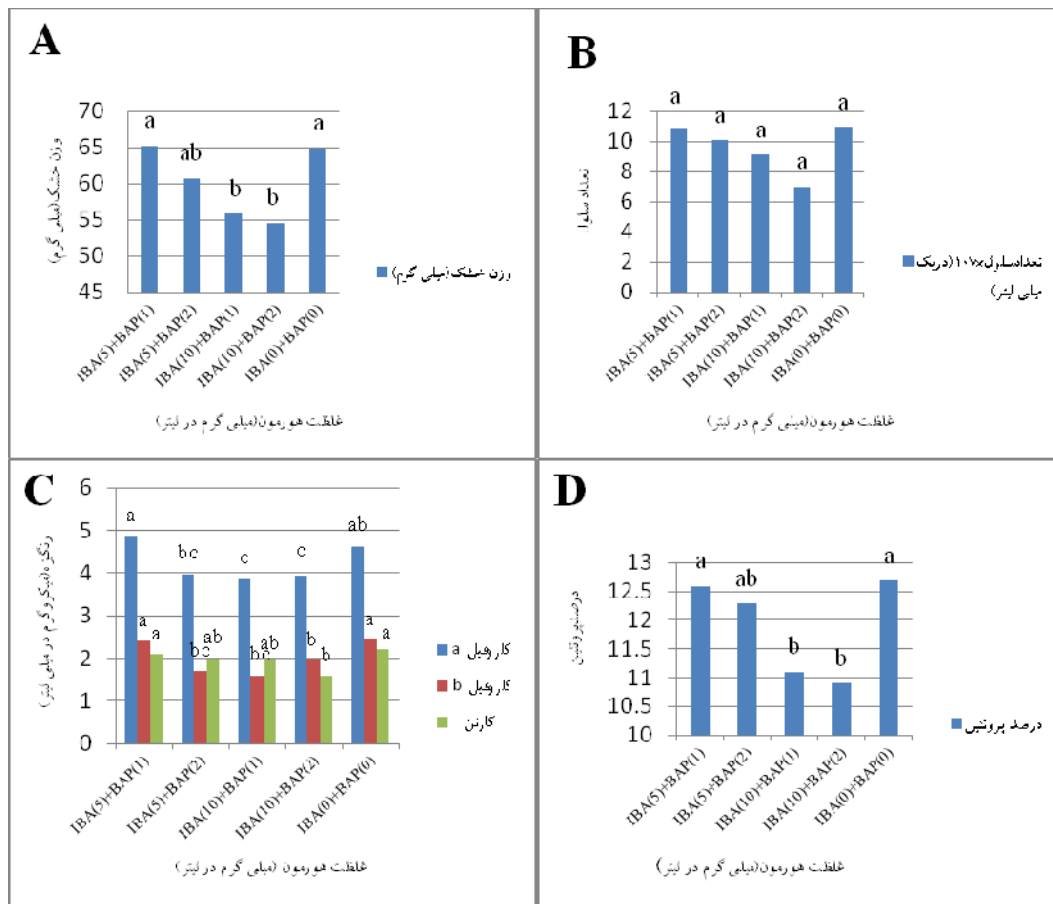
شکل ۱- بررسی اثر غلظت‌های مختلف NAA + BAP بر برخی صفات رشدی در جلبک *C. sorokiniana* کشت شده در محیط کشت BBM. (A) وزن خشک، (B) تعداد سلول $\times 10^7$ در یک میلی لیتر، (C) محتوای رنگیزه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید) میکروگرم در یک میلی لیتر سوسپانسیون جلبک و (D) درصد پروتئین (میلی گرم در ۱۰۰ میلی گرم وزن خشک). میانگین‌هایی که برای هر صفت دارای حروف مشابه می‌باشند براساس آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

از نظر تعداد سلول‌ها و وجود توده‌های سلولی نیز تیمار با IBA (۵ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر)، $10^7/9 \times 10^7$ در میلی‌لیتر مشابه شاهد ($10^7/9 \times 10^7$ در میلی‌لیتر) بود (شکل ۲: A) ولی در بقیه تیمارها کاهش غیر معنی‌داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می‌داد.

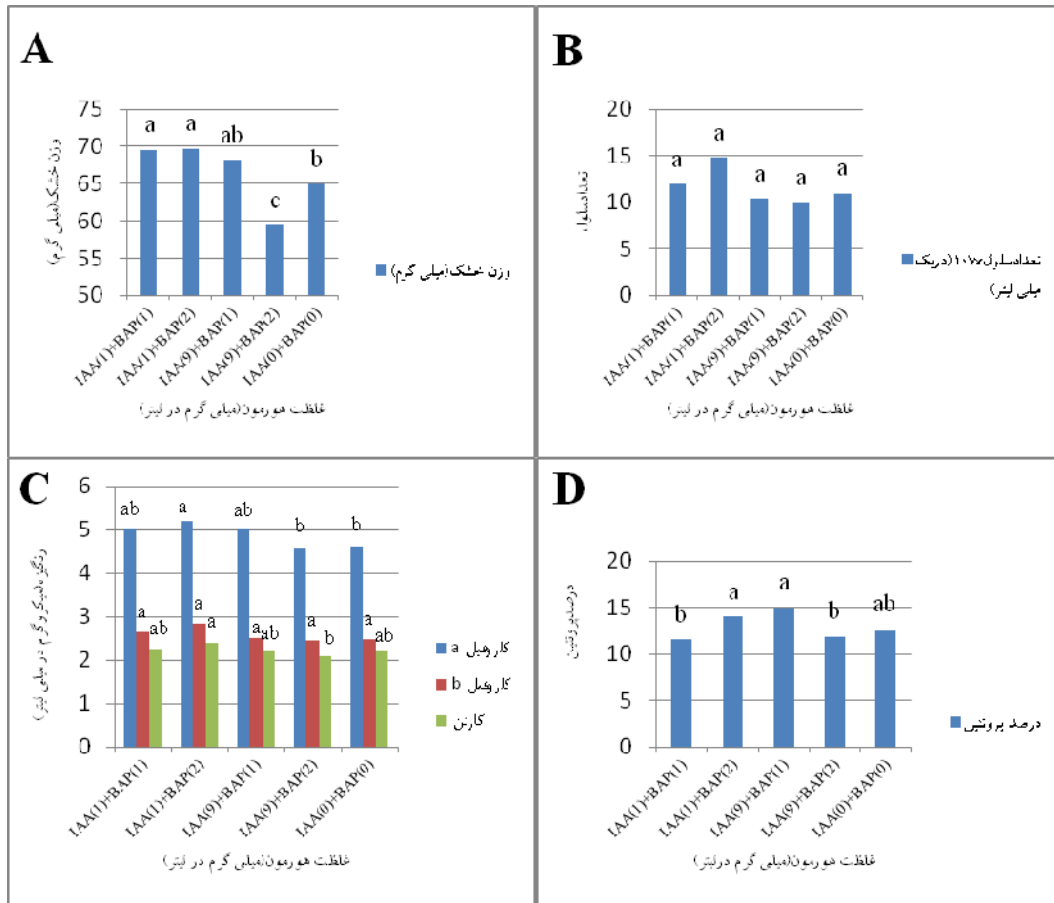
بررسی اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف IAA + BAP: در ۷۵٪ از تیمارهای IAA+BAP وزن خشک، تعداد سلول و محتویات رنگی‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. اما فقط در تیمار با IAA (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) (شکل ۳: D).

از نظر تعداد سلول‌ها و وجود توده‌های سلولی نیز تیمار با IBA (۵ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر)، $10^7/9 \times 10^7$ در میلی‌لیتر مشابه شاهد ($10^7/9 \times 10^7$ در میلی‌لیتر) بود (شکل ۲: A) ولی در بقیه تیمارها کاهش غیر معنی‌داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می‌داد.

بررسی اثر ترکیبی غلظت‌های مختلف IAA + BAP: در ۷۵٪ از تیمارهای IAA+BAP وزن خشک، تعداد سلول و محتویات رنگی‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. اما فقط در تیمار با IAA (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) (شکل ۳: D).



شکل ۲- بررسی اثر غلظت‌های مختلف IBA + BAP بر برخی صفات رشدی در جلبک *C. sorokiniana* کشت شده در محیط کشت BBM. (A) وزن خشک، (B) تعداد سلول $10^7 \times$ در یک میلی‌لیتر، (C) محتوای رنگی‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید) میکروگرم در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک و (D) درصد پروتئین (میلی‌گرم در 10^7 میلی‌گرم وزن خشک). میانگین‌هایی که برای هر صفت دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



شکل ۳- بررسی اثر غلظت‌های مختلف IAA + BAP بر برخی صفات رشدی در جلبک *C. sorokiniana* کشت شده در محیط کشت BBM. (A) وزن خشک، (B) تعداد سلول $\times 10^7$ در یک میلی‌لیتر، (C) محتوای رنگیزه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید) میکروگرم در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبک و (D) درصد پروتئین (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌گرم وزن خشک). میانگین‌هایی که برای هر صفت دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

بحث

کشت (۱۴)، فتوپریود (۳۴)، میزان رادیکال آزاد اکسیژن در سلول (۲۶)، نوع جلبک، تفاوت محتوای پروتئین‌های گیرنده اکسین در سلول‌ها و گونه‌های مختلف جلبک (۱۴) و بیشتر از همه میزان هورمون‌های درونی جلبک، باعث تغییر در نتایج تأثیر هورمون‌ها شده است. در مواردی، اکسین‌ها با اثر بر دیواره سلولی، فعال‌سازی پمپ ATPase و طولیل شدن سلول بر جلبک‌ها تأثیر می‌گذارند (۳۴). شواهد بسیاری هم نشان می‌دهند که اکسین‌های طبیعی و مصنوعی تقسیم سلولی را در گیاهان عالی و جلبک‌ها تحریک می‌کنند (۴، ۳۲). استفاده از IAA سبب تقسیم سلولی و تشکیل کلنی‌های چهار سلولی به

غلظت‌های متفاوتی برای غلظت بهینه فیتوهورمون‌ها برای رشد (تعداد سلول) جلبک کلرلا گزارش شده است. غلظت ۵۰ ppm (۲۸۵ میکرومول IAA، ۲۴۶ میکرومول IBA) (۹)، ۵۰ میکرومول (۷) و ۰/۱ میکرومول IAA و IBA (۲۶) و غلظت ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۰/۰۱ و ۰/۰۱ میکرومول IBA (۳۸) و غلظت ۵۰ ppm (۲۶۸/۵ میکرومول) (۹) و ۱ میکرومول NAA (۲۶) که نشان می‌دهد شرایط متفاوت آزمایشگاه‌ها از نظر نوع محیط کشت و مواد ضمیمه به آن، هوادهی، منبع کربن (۲۰)، میزان نور (۳۴)، مدت زمان

ها و تشکیل بیشتر توده‌های سلولی بود، افزایش معنی‌دار محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین نیز در این تیمارها هم به دلیل افزایش تعداد سلول و هم جلوگیری از تخریب کلروفیل و پروتئین، در اثر مسیرهای عملکرد این هورمون‌ها بود (۲۶،۹). این افزایش، در ترکیب NAA و IAA با BAP مشاهده گردید. در تیمار با NAA (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) BAP+ (۱ میلی‌گرم در لیتر) بیوماس و سایر صفات رشد، به شکل معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت، که این نتیجه مطابق گزارش محققان (۹) است که حداکثر رشد (وزن خشک) جلبک *Chlorella pyrenoidosa* را در غلظت ۵۰ میکرومول (۹/۳ میلی‌گرم در لیتر) به دست آوردند و مشابه گزارش‌هایی (۱۵،۱۴) در مورد جلبک *C. sorokiniana* می‌باشد که از ترکیب NAA (۵ میلی‌گرم در لیتر) + زاتین (۱ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۵ میلی‌گرم در لیتر) + اتانول (۵/۰ میلی‌لیتر) استفاده گردید، که این تیمارها، به ترتیب سبب ۱۳۶٪ و ۱۲۰٪ افزایش رشد (بیوماس) جلبک شد. در تیمارهای IAA (۱ میلی‌گرم در لیتر معادل ۵/۷ میکرومول) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر معادل ۴/۴ میکرومول) وزن خشک و در تیمار با IAA (۱ میلی‌گرم در لیتر) + BAP (۲ میلی‌گرم در لیتر) وزن خشک و محتوای کلروفیل a نیز بطور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت که نتیجه کنونی، نزدیک به گزارش محققان است که حداکثر رشد (تعداد سلول) جلبک *C. vulgaris* را در غلظت ۰/۱ میکرومول IAA به دست آوردند (۲۶). در تیمار با IAA (۹ میلی‌گرم در لیتر معادل ۵۱/۳ میکرومول) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) نیز افزایش وزن خشک و محتوای رنگیزه‌ها و پروتئین مشاهده شد ولی افزایش معنی‌دار نبود که با گزارش محققان (۷) که حداکثر رشد (تعداد سلول) *C. vulgaris* را در ۵۰ میکرومول IAA به تنهایی و همراه با براسینواستروئید به دست آورده بودند نزدیک است، ولی مطابقت ندارد. علت این اختلاف احتمالاً بدین سبب است که در پژوهش کنونی وجود گلوکز در محیط کشت سبب افزایش درون‌زای

جای سه سلولی در *Scenedesmus obliquus* و *Scenedesmus armatus* شد (۲۴). Kawano (۲۰۰۳) پیشنهاد کرد که اکسین ممکن است رشد سلول را از طریق مهار رادیکال آزاد اکسیژن انجام دهد. در طی سست شدن دیواره سلولی توسط اکسین، ممکن است رادیکال آزاد اکسیژن ماده اصلی مکانیزم بیوشیمیایی باشد (۱۷). گزارش‌ها نشان داده که پاسخ سلول‌های جلبک به اکسین‌های خارجی توسط تغییرات سطح اکسیداتیو دنبال می‌شود. اکسین خارجی سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های مهارکننده رادیکال آزاد اکسیژن می‌شود و اثر اکسین توسط این آنزیم‌ها میانجی‌گری می‌شود (۲۶). اکسین‌های طبیعی (IAA) و مصنوعی (2,4,D) می‌توانند فعالیت آنزیم‌هایی مثل کاتالاز و پراکسیداز را تحریک کنند که منجر به نوپدیدی جوانه در کشت بافت گندم می‌شود (۳۶). برای رسیدن به حد بهینه تقسیم سلولی و تولید متابولیت در جلبک، کنترل دقیق مقادیر H_2O_2 ضروریست. مکانیزم اثر اکسین در سلول‌های جلبک به استرس اکسیداتیو وابسته است که استرس اکسیداتیو نیز تحت کنترل ماشین آنتی‌اکسیدانی سلولی است. اکسین‌های طبیعی و مصنوعی تجمع رادیکال آزاد اکسیژن را ظرف ۴۸ ساعت کاهش می‌دهند. کاهش رادیکال آزاد اکسیژن سبب پیشرفت چرخه سلولی و تمایز دیواره ثانویه سلول می‌شود. به این شکل اکسین اکسیداسیون واحیا سلولی را تنظیم می‌کند (۲۶) و از تجزیه اکسیداتیو رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (۲۶،۹). اکسین‌ها اثرات تحریک‌کننده روی اتصال CO_2 با ریبولوز بیس فسفات و فسفریلاسیون فتوسنتزی دارند (۲۷)، بنابراین، با افزایش فتوسنتز سبب افزایش رشد می‌شوند. اثر سیتوکینین تحریک تقسیم سلول، موجب فعال‌سازی رشد و تولید پروتئین و تشدید برخی فرایندهای فتوسنتزی جلبک می‌شود (۱۸،۴). در این پژوهش نیز در مواردی که در اثر کاربرد غلظت‌های ترکیبی مناسب اکسین و سیتوکینین، رشد افزایش یافته، علت افزایش رشد، افزایش تقسیم سلولی و افزایش تعداد سلول

اکسین شده (۳۴)، در نتیجه حداکثر رشد، با افزودن اکسین کمتر (۵/۷ میکرومول) نسبت به گزارش محققان (۵۰ میکرومول) به دست آمد. در این پژوهش، علی‌رغم افزایش معنی‌دار وزن خشک در سطح $P \leq 0/05$ ، افزایش تعداد سلول اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌داد [شکل‌های ۳ و ۴ (A و B)]. این نتایج مشابه گزارشی است که تیمار جلبک *C. sorokiniana* با هورمون‌ها انجام داد و در تیمار با کیتین، علی‌رغم معنی‌دار بودن افزایش بیوماس، تعداد سلول‌ها اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نداد (۲۴). در مواردی با کاربرد اکسین و سیتوکینین تغییر معنی‌داری در رشد مشاهده نمی‌شود که احتمالاً به این علت است که اکسین برای حفظ ثبات غلظت اکسین درونی تخریب یا غیرفعال (اتصال اکسین) شده (۵، ۱۰)، یا از جلبک به خارج دفع شده است. ژنهای مسئول بیوستنز و متابولیسم اکسین در گروهی از گونه‌های کلروفیسه شناسایی شده‌اند (۱۰). طبق گزارش‌هایی سلول‌های *C. pyrenoidosa*، IAA را از محیط جذب می‌کنند و به شکل غیر فعال در می‌آورند (۱۱). *C. pyrenoidosa* اکسین را سنتز می‌کند و به محیط کشت رها می‌سازد (۲۴) و *C. vulgaris* احتمالاً سطوح اکسین آزاد خود را از طریق بیوستنز مولکول‌های جدید اکسین و تجزیه موادی مانند IAA، PAA، IBA، NAA موجود متعادل نگه می‌دارد (۲۶). این عدم تغییر معنی‌دار در ترکیب IBA با BAP مشاهده گردید. در این پژوهش تیمار IBA (۵ میلی‌گرم در لیتر معادل ۲۴/۶۳ میکرومول) + BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) افزایش غیر معنی‌داری با شاهد نشان می‌داد، که مشابه گزارش محققان است که تیمار IBA (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در طی ۵ روز سبب اندکی افزایش رشد (بیوماس) شد (۱۴). در این پژوهش، در مواردی که رشد جلبک کاهش یافته، به علت کاربرد غلظت مفرط دو هورمون اکسین و سیتوکینین بوده است. هورمون اکسین محرک تقسیم و رشد سلولی است ولی در غلظت‌های بالاتر اثر بازدارنده بر رشد دارد (۳۱). IAA در غلظت‌های بالا بطور

معنی‌داری تقسیم سلولی در *C. vulgaris* را کاهش می‌دهد (۳۹). آزمایش‌های با *Chlorella fusca* نشان داد که رشد جلبک در غلظت‌های بالاتر از ۶۰ میکرومول IAA مانع می‌شود (۲۳). IBA در غلظت بالا مانع از رشد می‌شود (۸). در تیمار با IBA (۱۰۰ میکرومول) رشد (تعداد سلول) جلبک *C. vulgaris* کاهش می‌یابد (۲۶). محققان گزارش کردند که اکسین‌های طبیعی و مصنوعی ایجاد فیتوهورمون اتیلن را القا می‌کنند که آن نیز سبب تولید اسید آسبیزیک می‌شود (۱۲). اکسین‌ها در غلظت‌های بالا فعالیت ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید سینتاز را افزایش می‌دهند که آنزیم کلیدی بیوستنز اتیلن است. تولید مقادیر قابل توجه اتیلن ممکن است سبب تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی شود (۳۵). از طرفی محیط کنونی حاوی سیتوکینین است. سیتوکینین‌ها در غلظت‌های ۰/۱ تا ۵۰ میکرومول بطور فزاینده‌ای بیوستنز اتیلن را پیش می‌برند (۱۳) در این پژوهش، کاهش معنی‌دار رشد (وزن خشک)، محتوای کلروفیل‌های a، b و پروتئین در تیمارهای IBA (۱۰ میلی‌گرم در لیتر معادل ۴۹/۲۶ میکرومول) + BAP (۲-۱ میلی‌گرم در لیتر معادل ۴/۴-۸/۸ میکرومول) مشاهده شد. محققان نیز گزارش کردند که IBA (۱۵ میلی‌گرم در لیتر) سبب کاهش غیر معنی‌دار کلروفیل در جلبک *C. sorokiniana* گردید (۲۵). محققان دیگری حداکثر رشد جلبک *C. vulgaris* را در غلظت ۰/۱ میکرومول IBA به دست آوردند (۲۶). علت دیگر کاهش رشد، احتمالاً به این دلیل است که در pH اسیدی IBA به شکل غیر یونیزه در می‌آید و می‌تواند به سلول وارد شود و سلول سعی می‌کند pH داخلی خود را با خنثی‌سازی یا خروج پروتون حفظ کند، چون انرژی به جای رشد، صرف این کار می‌شود و رشد کاهش می‌یابد (۲۸). به علاوه اثر IBA از دو هورمون IAA و NAA کمتر بود. احتمالاً علت این است که فعالیت اکسین‌ها توسط موقعیت گروه کربوکسیل و زنجیره آلیفاتیک تحت تأثیر قرار می‌گیرد. این زنجیره بار منفی قوی و مرکز حلقه

جلبک *C. sorokiniana* تیمار شده با IAA (۱۰-۱۵ میلی گرم در لیتر) محتوای پروتئین اختلاف معنی داری با شاهد نداشت (۲۵) که مشابه نتایج پژوهش کنونی است.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، وزن خشک، تعداد سلول، محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و پروتئین جلبک در غلظت بهینه NAA+ BAP، NAA (۱۰ میلی گرم در لیتر) BAP+ (۱ میلی گرم در لیتر) به ترتیب ۱/۱۹، ۱/۵، ۱/۴۷، ۱/۱، ۱/۱، ۱/۲ برابر شاهد بود و در غلظت بهینه IAA+ BAP (۱ میلی گرم در لیتر) BAP+ (۲ میلی گرم در لیتر) به ترتیب ۱/۰۷، ۱/۳۴، ۱/۱۳، ۱/۱۵، ۱/۰۸ و ۱/۱ برابر شاهد بود، که نشان دهنده اثر افزایشی مثبت این ترکیبات هورمونی بر روی جلبک *Chlorella sorokiniana* است و نشان می‌دهد که در غلظت‌های مورد آزمایش، ترکیبات NAA+ BAP سبب افزایش رشد بیشتری از ترکیبات IAA+ BAP می‌شوند و ترکیبات IBA+ BAP نیز در این غلظت‌ها اثر مثبت معنی داری بر رشد ندارد و برای استفاده از این ترکیبات نیز باید غلظت‌های دیگری مورد آزمایش قرار گیرد.

آروماتیک بار مثبت قوی دارد (۲۱). بلند بودن زنجیره آلیفاتیک متصل به حلقه ایندولی سبب کاهش فعالیت متابولیسمی می‌شود. بنابراین IAA از IBA فعالتر است. چون IBA در زنجیره آلیفاتیک متصل به حلقه ایندول دوکربن بیشتر دارد (۷). به همین دلیل، NAA هم از IBA قوی‌تر است. به علاوه IBA وزن مولکولی (۲۴/۲۰۳ گرم) بیشتری از IAA (۱۷۵/۱۸ گرم) و NAA (۲۱/۱۸۶ گرم) دارد، که سبب می‌شود که دیرتر از عرض غشا عبور کند و وارد سلول شود (۲۸). در نتیجه اثر کمتری داشته باشد. در این پژوهش در تمام تیمارهایی که رشد جلبک سریعتر شده بود پروتئین هم افزایش یافته بود که مشابه گزارش‌های محققان است (۲۹، ۳۰). فقط در مواردی که پروتئین به خارج دفع شده بود (تیمارهای IAA + BAP) برخلاف افزایش معنی دار رشد، پروتئین افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان نمی‌داد. این امر احتمالاً، به علت سست شدن دیواره توسط اکسین است، که باعث نشت پروتئین به محیط کشت شده است. محققان نیز گزارش کرده‌اند، IAA سبب افزایش معنی دار کلروفیل و رشد جلبک *Chlorella* sp. شد، اما مانع از تجمع پروتئین‌های محلول در سلول‌های جلبک گردید (۲۲) و بر خلاف افزایش وزن خشک

منابع

- ۱-رنجبر اقدم، م.، حجازی م.، آیین فرس.، حسین زاده ن.، بررسی تاثیر چهار آنتی بیوتیک در رشد و کارایی آن‌ها در عاری سازی آلودگی (Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 80:176-83.
- 2-Andersen, R. A. (2005) *Algal Culturing Techniques*, Elsevier Inc, pp.589.
- 3-Agrawal S.S. and Paridhavi M. (2007) *Herbal Drug Technology*. Hyderabad, Universiti es Press.
- 4- Bajguz, A. (2000) Effect of Brassinosteroids on Nucleic Acids and Protein Content in Cultured of *Chlorella vulgaris*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 38: 209-215.
- 5-Bajguz A, Piotrowska A. (2009) Conjugates of auxin and cytokinin. *Phytochemistry*, 70:957-969.
- 6-Bajguz A. (2014) Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, mono- saccharide, and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris*
- 7-Bajguz A. and Piotrowska-Niczyporuk A. (2013) Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 71:290-297.
- 8-Bertoni G. (2011) Indolebutyric acid-derived auxin and plant development. *The Plant Cell*, 23: 845.
- 9-Czerpak, R., Bajguz, A., Białecka, Ba., Wierchołowska, L. E., Wolańska, M. M. (1994) Effect of auxin precursors and chemical analogues on the growth and chemical

- composition in , Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 63(3-4):279-286.
- 10-De Smet I., VoB U., Lau S., Wilson M., Shao N., Timme R.E., Swarup R., Kerr I., Hodgman C., Bock R., Bennett M., Ju rrgens G., Tom Beeckman T. (2011) Unraveling the evolution of auxin signaling. *Plant Physiology*, 155:209.
- 11-Dibb-Fuller J.E., Morris D.A. (1992) Studies on the evolution of auxin carriers and phyto- pin receptors: transmembrane auxin transport in unicellular and multicellular Chlorophyta. *Planta*, 186:219–226.
- 12-Grossmann K. (2000) Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. *Trends in Plant Science*, 5:506–508.
- 13-Hansen M., Chae H. S. and Kieber J. J. (2009) Regulation of ACS protein stability by cytokinin and brassinosteroid. *The Plant Journal*, 57, 606–614.
- 14-Hunt R. W. , Chinnasamy S. , Bhatnagar A. and Das K. C. (2010) Effect of biochemical stimulants on biomass productivity and metabolite content of the microalga, *Chlorella sorokiniana* . *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 162(8): 2400-2414.
- 15-Hunt R.W. , Chinnasamy S. and Das K. C.(2011)The Effect of Naphthalene-Acetic Acid on biomass productivity and chlorophyll content of green algae, Coccolithophore, Diatom, and Cyanobacterium cultures, *Applied Biochemistry and Biotechnology* , 164:1350–1365.
- 16-Jesus Roposo M.,F.,Morais R.M.S.C.(2013) Influence of the growth regulators Kinetine and 2,4,D on the growth of two chlorophyte, microalgae, *Haematococcus pluviallis* and *Dunaliella salina*, *Journal of Basic&Applied Sciences*,9: 302-308.
- 17-Kawano T. (2003) Roles of reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant Cell Reports*, 9:829–837.
- 18-Kiseleva A.A., Tarachovskaya E.R., and Shishova M.F. (2012) Biosynthesis of Phytohormones in algae, *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(5): 595-610.
- 19-Kobayashi N., Noel E., Barnes A., Watson A., Rosenberg J., Erickson G. and Oyler G.(2013) Characterization on three *Chlorella sorokiniana* strains in anaerobic digested effluent from cattle manure. *Bioresource Technology*, 150: 377–386.
- 20-Kong W.B., Yang H., Cao Y.T., Song H., Hua S.F. and Xia C.G.(2013) Effect of Glycerol and Glucose on the Enhancement of biomass, lipid and soluble carbohydrate production by *Chlorella vulgaris* in mixotrophic culture. *Food Technology and Biotechnology*, 51 (1): 62-69.
- 21-Lau S., Shao N., Bock R., Ju rrgens G., De Smet I. (2009) Auxin signaling in algal lineages: fact or myth?. *Trends Plant Science*, 14:182–188.
- 22-Li, T., Wang, C., & Miao, J. (2007) Identification and quantification of indole-3-acetic acid in the kelp *Laminaria japonica* Areschoug and its effect on growth of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 1, 479–484.
- 23-Lien T., Pettersen R., Knutsen G. (1971) Effects of indole-3-acetic acid and gibberelin on synchronous cultures of *Chlorella fusca*. *Physiologia Plantarum*, 24:185–190.
- 24-Mazur H., Knop A., Synak R. (2001) Indole-3-acetic amid in the culture medium of two axenic green microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 13:35–42.
- 25-Ozioko,F.U.,Chiejina,N.V., Ogbonna,J.C.(2015) Effect of some phytohormones on growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* IAM-C212 under photoautotrophic conditions, *African Journal of Biotechnology*, 14(30): 2367-237.
- 26- Piotrowska-Niczyporuk A., Bajguz A.(2014) The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae), *Plant Growth Regulation* , 73:57–66.
- 27-Piotrowska, A., Czerpak, R., Pietryczuk, A., Olesiewicz, A., & Wedolowska, M. (2008) The effect of indomethacin on the growth and metabolism of green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck. *Plant Growth Regulation*, 55, 125–136.
- 28-Rayle D.L., Cleland R.E. (1992) The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology*, 17: 439-58.
- 29-Sayegh F.A.Q., Montagenes D.J.S.(2011) Temperature shifts in use intraspecific variation in microalgae production and biochemical composition. *Bioresource Technology*, 102:3007-3013.
- 30-Sharma R., Singh G.P., Sharma V.K. (2012) Effects of culture conditions on growth and biochemical profile of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 3 (5) 1000131.

- 31-Srivasatava, L. M.(2002) Plant Growth and Development: hormones and environment. San Diego (CA), USA, Academic Press, pp.772.
- 32- Stirk W.A., Van Staden J. (1997) Comparison of cytokinin- and auxinlike activity in some commercially used seaweed extracts. *Journal of Applied Phycology*, 8:503–508.
- 33-Stirk W.A., Bálint P., Tarkowská D., Novák O., Strnad M., Ördög V., van Staden J.(2013) Hormone profiles in microalgae: gibberellins and brassinosteroids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70:348-53.
- 34-Stirk W. A., Bálint P.,Tarkowská D., Novák O., Maróti G., Ljung K., Turečková V.,StrandM.,Ördög V. and Staden J. (2014) Effect of light on growth and endogenous hormones in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae).*Plant Physiology and Biochemistry*;79: 66-76.
- 35-Sunohara Y., Matsumoto H. (1997) Comparative physiological effects of quinclorac and auxins, and light involvement in quinclorac-induced chlorosis in corn leaves. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 58, 125–132.
- 36-Szechyn 'ska-Hebda M., Skrzypek E., Dałbrowska G., Biesaga-Kos 'cielniak J., Filek M., Wedzony M. (2007) The role of oxidative stress induced by growth regulators in the regeneration process of wheat. *Acta Physiologia Plantarum*, 29:327–337.
- 37- Tarakhovskaya E.R., Maslov Y.I, and Shishova M.(2007) Phytohormones in algae, *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(2):163-170.
- 38-Tate J.J, Gutierrez-Wing M. T., Rusch K. A., Ben M. G. (2013) The Effects of Plant Growth Substances and Mixed Cultures on Growth and Metabolite Production of Green Algae *Chlorella* sp .: A Review, *Journal of Plant Growth Regulation*, 32:417–428.
- 39-Vance B.D. (1987) Phytohormone effects on cell division in *Chlorella pyrenoidosa* Chick (TX-7-11-05) (Chlorellaceae). *Journal of Plant Growth Regulation*, 5:169–173.
- 40-Wellburn A.R. (1994) The spectral determination chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144: 307-313.

Study the effects of auxins and cytokinins on growth , pigments and protein contents of *Chlorella sorokiniana*

Jamshidi A.¹, Ebrahimi M.A.², Rajabian T.³, Bakhshikhaniki Gh.R.², Mozaffari Sh.⁴

¹ Biology Dept., Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

² Agriculture Dept., Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

³ Biology Dept., Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, I.R. of Iran

⁴ Chemistry Dept., Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Chlorella are used as medicine, aquatic foods and biofilter. For this reason increases of its biomass and some of metabolites have economic value. The aim of this research was study of stimulating effect of some phytohormones on biomass and important metabolites contents of *Chlorella sorokiniana*. In this study *C. sorokiniana* was cultured at modified Bold Basal Medium. Glucose monohydrate (5g l^{-1}) and different proportions of plant hormones naphthalene acetic acid (NAA), benzylaminopurin (BAP), indolebutyric acid (IBA) and indoleacetic acid (IAA) were added to medium. Dry weight, pigments and protein contents were measured. At 75% of NAA+BAP treatments, these growth parameters increased. At treatment with NAA (10mg l^{-1}) +BAP (1mg l^{-1}), these parameters significantly enhanced compared to control. At treatment with IAA (1mg l^{-1}) +BAP (2mg l^{-1}), dry weight and content of chlorophyll a, significantly increased compared to control. At treatment with IBA+BAP, dry weight and metabolites had not significant difference or reduced compared to control. The highest proportion of dry weight, cell numbers and pigments and protein contents were observed at NAA+BAP treatment. Results showed BAP, NAA and IAA had the greatest additive effects on growth traits respectively, but IBA had little effect on these traits.

Key words: *Chlorella sorokiniana*, plant hormones, protein, Photosynthetic pigments.