فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال یازدهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۲

مقاله پژوهشی

بررسی میزان آلژینات و دو هورمون گیاهی از درشت‌جلبک قهوه‌ای *Sargassum muticum* (Phaeophyta)

حدیقه صائب‌مهر[۱]، فرناز رفیعی[۲]*، محمد هادی گیویان‌راد[۳]، گلاله مصطفوی[۴]

DOI: 10.22124/japb.2023.23731.1490
تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۲

چکیده

جلبک‌های دریایی قهوه‌ای حاوی ترکیباتی مانند آلژینات و هورمون‌ها هستند که در صنایع مصارف متعددی دارند. این مطالعه برای تعیین زی‌توده و استخراج دو هورمون و آلژینات از جلبک *Sargassum muticum* انجام شد. نمونه‌برداری از دی ۱۳۹۴ تا آبان ۱۳۹۵ در بندر بوشهر یک ماه در میان انجام شد. زی‌توده و شاخص‌های محیطی در ترانسکت انتخابی اندازه‌گیری و جلبک برداشت شد. پس از استخراج، هورمون‌ها با HPLC جداسازی و شناسایی شدند. بیشترین زی‌توده در دی (۲/۱۲±۶۷۹ گرم در متر مربع) و کمترین در شهریور (۰/۷۶±۲۰/۶۷ گرم در متر مربع) بود. آلژینات در آبان کمترین (۱/۰۳±۴۰/۶۷درصد) و در دی بیشترین (۲/۲۵±۵۴/۶۷ درصد) بود که با زی‌توده همبستگی مثبت داشت. بیشترین میزان جیبرلین در تیر (۱/۱۱±۵/۸۶ درصد) بود که با دما همبستگی مثبت داشت. زآتین تنها در اردیبهشت (۰/۰۷±۰/۱۸درصد) به دست آمد. با توجه به نتایج به دست آمده، برای استخراج آلژینات، جیبرلین و زآتین از این جلبک به ترتیب ماه‌های دی، تیر و اردیبهشت برای نمونه‌برداری مناسب هستند. با توجه به قیمت گزاف و ضرورت استفاده از این مواد در صنایع دارویی و کشاورزی به عنوان کود مایع جلبکی، این مطالعه مبدایی برای استخراج انواع مواد و هورمون‌ها از این جلبک‌ها است.

واژگان کلیدی: *سارگاسوم، جیبرلین، زآتین ، آلژینات.*

۱- دکتری زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- دانشیار گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴- استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
* نویسنده مسئول: farnaz.rafiee47@gmail.com

مقدمه

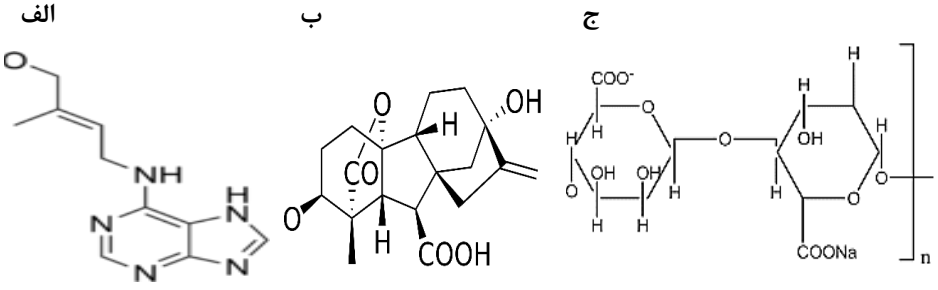
جلبک‌ها از تولیدکنندگان مهم در محیط‌های آبی هستند و به عنوان پایه شبکه غذایی محسوب می‌شوند (Silva et al., 2020). غیر از تامین غذا، جلبک‌های دریایی از منابع عمده استخراج مواد هستند. مواد استخراج شده از جلبک‌ها دارای ویژگی‌های بیوتکنولوژیکی متنوعی مانند ضدسمیت، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدتوموری هستند (Yousefian, 2020). در کنار مصرف غذایی و دارویی، جلبک‌های دریایی منبع مواد صنعتی آینده از جمله کودهای مایع جلبکی هستند (Yokota et al., 2014). آلژینیک اسید، پلی‌ساکارید به دست آمده از جلبک‌های قهوه‌ای (مانند *Sargassum*) است که به عنوان شکل دهنده دیواره سلولی جلبک عمل می‌کند و قدرت مکانیکی و قابلیت انعطاف به جلبک می‌دهد. آلژینات‌ها درصنعت پزشکی در تهیه چسب‌ها و پانسمان‌ها برای درمان سوختگی و زخم‌های دیابتی، در ساخت دست و پای مصنوعی، گچ قالب‌گیری دندان در دندانپزشکی، در صنایع چوب، ایجاد نقش روی منسوجات، به عنوان غلیظ کننده، رنگ، پوشش کاغذ، براق کننده اشیا، پوشش دندان، ساخت فیلم، چسب و ژل استفاده می‌شوند. در صنایع غذایی به عنوان ماده تثبیت کننده در خامه‌ها، پنیرهای خامه‌ای، سس‌ها، نوشیدنی‌ها، تولیدات نانوایی، فرنی‌ها و آدامس به کار می‌روند. شاخص‌های محیطی مانند دما، شوری و مواد مغذی روی رشد و میزان آلژینات این جلبک‌ها تاثیر می‌گذارند که از نقطه نظر اکولوژیکی و صنعتی بسیار مهم است (Rafiee, 2013).

هورمون‌های گیاهی از اهمیت حیاتی برای عملکرد طبیعی گیاهان برخوردار هستند. مقادیر اندک آنها باعث ایجاد فرآیندهای اساسی رشد مانند تقسیم سلولی، بزرگ شدن و تمایز، تشکیل اندام، خواب و جوانه‌زنی بذرها، پیری برگ و اندام و تورم می‌شود (Silva et al., 2020). این تنظیم کننده‌های رشد گیاهی شامل آبسیزیک اسید، جیبرلین‌ها، اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها را می‌توان از جلبک‌ها استخراج کرد که کاربرد وسیعی در کشاورزی، دامپروری و مواد دارویی دارند (Moradi, 2016; Verma et al., 2016).

اولین عصاره درشت‌جلبک‌ها برای مقاصد کشاورزی در اواخر دهه ۱۹۴۰ با عنوان Maxicrop ارائه شد (Dawes and Mcintosh, 1981; Davies, 1988). اکنون تعداد زیادی از عصاره‌های درشت‌جلبک‌ها،

عمدتا از جلبک‌های قهوه‌ای، به صورت مایع و پودر به عنوان محرک‌های گیاهی عرضه می‌شوند (Hoang et al., 2016). از این فرآورده‌ها به صورت مخلوط با خاک و یا اسپری استفاده می‌شود. این تنظیم کننده‌های رشد می‌توانند پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه را در مقادیر کم ایجاد کنند (Strik et al., 2003, 2009). هم اکنون عصاره جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum* با نام‌های تجاری Stimplex و Acadian به عنوان محرک رشد و کود جلبکی با قیمت گزاف وارد کشور می‌شود که دارای هورمون‌های زآتین و جیبرلین (شکل ۱) است و استفاده از آن در برنامه غذایی محصولات کشاورزی موجب افزایش کیفیت، میزان محصول و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Sunarpi Jupri et al., 2010). در یک مطالعه سیتوکنین به صورت فصلی در جلبک قهوه‌ای *Ecklonia* مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد میزان زآتین در تابستان بیشترین بود (Smith and Charles, 1984). در سال ۲۰۰۹ استخراج سیتوکینین، اکسین و آبسیزیک اسید از جلبک‌های *Ulva* و *Dictyota* در آفریقای جنوبی انجام شد و تغییرات تراکم این سه هورمون در یک سال بررسی شد. نتایج آنها نشان داد بیشترین میزان آبسیزیک اسید، اکسین و سیتوکینین در *Dictyota* به ترتیب در ماه‌های اسفند، اردیبهشت و تیر و در *Ulva* در اسفند، اسفند و شهریور بود (Strik et al., 2009).

گونه‌های *Sargassum* درشت‌جلبک‌های قهوه‌ای با پراکندگی جهانی با غالبیت در آب‌های کم عمق استوایی و نیمه گرمسیری هستند. این جلبک‌ها زیستگاه‌های مورد نیاز را برای نوزادگاهی بی‌مهرگان، لارو و بچه ماهیان فراهم می‌کنند و منبعی برای داروها، تولید کودها، آلژینات و سوخت‌های زیستی به شمار می‌روند.



شکل ۱: ساختارهای شیمیایی. الف) زآتین. ب) جیبرلین. ج)آلژینات.

جلبک *Sargassum muticum* که از گونه‌های سواحل بندر بوشهر به شمار می‌رود، جلبکی تک پایه و چند ساله، دارای یک نگهدارنده دیسکی شکل فیبری است و محور اصلی گاهی یک یا دو بار به سمت راس منشعب می‌شود. شاخه‌های جانبی به صورت متناوب منشعب می‌شوند تا ریسه متراکمی را تشکیل دهند. این گونه در قسمت‌های جزر و مدی پایینی تا جزر و مدی بالایی رشد می‌کند (Lewis, 2009). این جلبک در کره به عنوان مکمل غذایی و خوراک خیار دریایی و آبالون در چین (Maureen et al., 2017) و به عنوان مکمل‌های غذایی یا کودها (Balboa et al., 2016) استفاده می‌شود. عصاره‌های گونه *S. muticum* با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی به عنوان مواد نگهدارنده طبیعی استفاده می‌شوند (Kim et al., 2007). عصاره *S. muticum* باعث مهار رشد باکتری‌ها، دیاتومه‌ها، قارچ‌ها و همچنین نشست بارناکل‌ها می‌شود (Lewis, 2009).

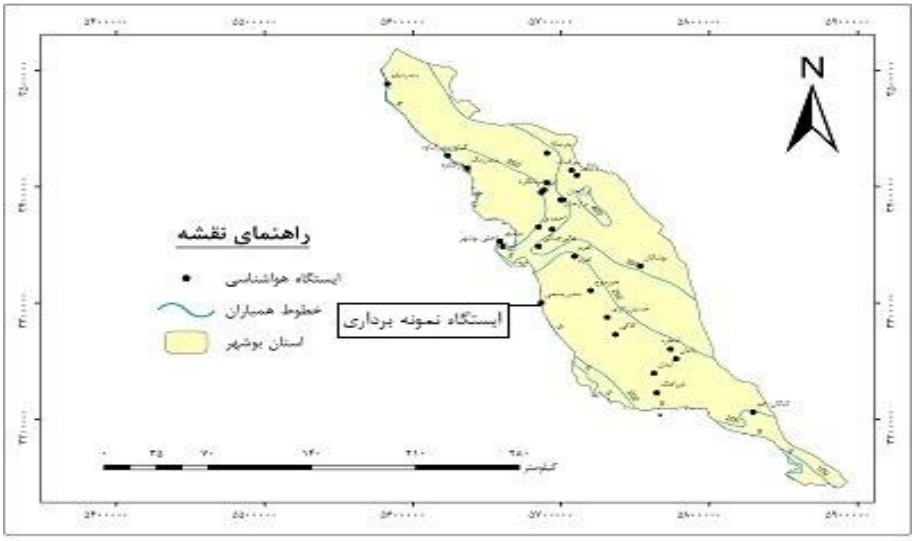
با در نظر گرفتن ارزش اقتصادی درشت‌جلبک *Sargassum* و مواد استخراجی از آن مانند آلژینات و بویژه هورمون‌های تنظیم کننده رشد و همچنین جنبه نوآوری و جدید بودن این پژوهش در ایران، وجود درشت‌جلبک‌های متنوع در سواحل بوشهر و فقدان اطلاعات قبلی در باره استخراج هورمون‌های تنظیم کننده گیاهی از گونه‌های این جلبک در ایران، کمبود اطلاعات استخراج این هورمون‌ها در سطح جهانی و نوشتن پروتکل جدیدی برای استخراج این مواد، این پروژه با هدف بررسی میزان زی‌توده، آلژینات و دو هورمون گیاهی از جلبک *S. muticum* در سواحل بوشهر انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری شش بار از دی ماه ۱۳۹۴ تا آبان ماه ۱۳۹۵ به صورت یک ماه در میان در زمان جزر کامل آب در منطقه بین جزر و مدی ساحل بوشهر انجام شد. در ابتدا نمونه‌برداری برای آشنایی با منطقه انجام گرفت و سپس ایستگاه مورد نظر بر حسب وجود جلبک در فصل‌های مختلف برای تعیین ایستگاه نمونه‌برداری مشخص شد.

معرفی ایستگاه مورد مطالعه

بدین منظور ایستگاهی در عرض جغرافیایی ″۱۲ ′۵۴ °۲۸ شمالی و با طول جغرافیایی ″۱۳ ′۴۹ °۵۰ شرقی در زون UTM ۳۹ در منطقه جزر و مدی سواحل بوشهر انتخاب شد (شکل ۲).



شکل ۲: نقشه موقعیت ایستگاه نمونه‌برداری در استان بوشهر در مقیاس ۱:۵۰۰۰۰

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب

در مطالعه حاضر شاخص‌های محیطی شوری (ppt)، دما (سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (DO، میلی‌گرم در لیتر) و pH در ایستگاه مورد مطالعه به ترتیب توسط دستگاه های شوری‌سنج پرتابل (Hand-Held Refractometer، ATAGO، ژاپن) دماسنج پرتابل دیجیتالی (1365، TES، بریتانیا) و مولتی‌متر پرتابل (Multi 3510، WTW، آلمان) در سه تکرار به طور دقیق، همزمان با نمونه‌برداری ماهانه اندازه‌گیری و ثبت شدند (APHA, 2005). غلظت مواد مغذی نیترات و فسفات (میلی‌گرم در لیتر) نیز به روش استاندارد و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (DR-2500، HACH، بریتانیا) اندازه‌گیری شد (Eaton et al., 2005).

جمع‌آوری نمونه‌ها

برای نمونه‌برداری در یک خط فرضی عمود بر ساحل (ترانسکت)، نمونه‌برداری با کوادرات ۵۰×۵۰ سانتی‌متر مربع سه بار به صورت تصادفی انجام گرفت. درشت‌جلبک *Sargassum muticum* جمع‌آوری شده با استفاده از منابع موجود (Basson, 1987; Bellinger and Sigee, 2010; Guiry and Guiry, 2014) شناسایی شد. سپس وزن تر جلبک‌ها توسط ترازوی دیجیتالی (TS-

C 1000، Berlini، چین) با دقت دو رقم اعشار اندازه‌گیری شد. نمونه‌های درشت‌جلبک پس از شستشو با آب مقطر و جدا کردن اپی‌فونا و اپی‌فیت‌ها از آنها، در ظروف استریل و شسته شده با اسید نیتریک ۱ درصد، برای طی کردن مراحل استخراج به آزمایشگاه رازی در تهران انتقال یافتند.

استخراج آلژینات

۱۰ گرم از جلبک خشک شده در سایه به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت، در هاون خرد و در یک ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس ۵۰۰ میلی‌لیتری سولفوریک اسید ۰/۲ نرمال به آن اضافه شد. مخلوط به دست آمده در طول شب (به مدت ۱۶ ساعت) روی شیکر آرام باقی ماند تا نمک محلول در اسید خارج شود (شکل ۳). مخلوط به دست آمده از صافی عبور داده شد و با ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر شسته و دو بار صاف شد. سپس مواد با ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۱ درصد مخلوط و در دمای اتاق در طول شب روی شیکر گذاشته شد. سپس حجم نمونه با آب مقطر به یک لیتر رسانده و توسط توری صاف شد (شکل ۴).

شکل ۳: خرد کردن جلبک *Sargassum muticum* و قرار دادن روی شیکر در طول شب

شکل ۴: جداسازی مایع حاوی آلژینات

به منظور استخراج آلژینات ۵۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم ۰/۲-۰/۱ درصد به مایع صاف شده اضافه و به آرامی با محلول مخلوط شد. اتانول (نصف حجم مایع صاف شده) کم کم به محلول اضافه و همزمان با یک همزن شیشه ای هم زده شد. آلژینات رسوب کرده و رسوب آن بر روی یک توری قرار داده شد و با اتانول شسته شد، سپس در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت خشک شد. پس از استخراج و خشک شدن، مقدار آلژینات به دست آمده توسط ترازو با دقت ۴ رقم اعشار اندازه‌گیری شد. کل مراحل بالا با نمونه‌های هر ماه با سه بار تکرار برای دقیق بودن استخراج، انجام و ثبت شد (Istini et al., 1994).

استخراج تنظیم کننده‌های رشد

برای استخراج جیبرلین و زآتین پس از بررسی چند پروتکل (Abetz and Young, 1983; Hanisak and Samuel, 1987; Craigie, 2011) پروتکل جدیدی نوشته شد و بر اساس آن مراحل زیر در آزمایشگاه طی شد: ۱۰ گرم (وزن تر) نمونه جلبک در داخل ۶۰ میلی‌لیتر محلول استخراج (متانول- کلروفرم- هیدروکسید آمونیوم) ریخته شد. در دمای صفر درجه سانتی‌گراد و در تاریکی هموژناسیون انجام شد تا عمل انحلال هورمون‌ها به خوبی صورت گیرد. مخلوط هموژنیزه با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. عصاره به دست آمده به یک دکانتور انتقال داده شد و به آن آب دو بار تقطیر افزوده و به شدت هم زده شد. فاز رویی (کلروفرم) دور ریخته شد. فاز آب- متانول نگه داشته شد و به روتاری منتقل شد تا کلروفرم و متانول باقی مانده در آن تبخیر شود. در پایان حجم آن به ۳۵ میلی‌لیتر رسید. فاز آبی با استفاده از هیدروکلریک اسید یک نرمال به pH ۲/۵ رسانده شد و سپس به دکانتور با حجم مناسب انتقال داده شد. ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات به دکانتور اضافه شد. فاز رویی جدا و در ظرفی دیگر جمع‌آوری شد. مرحله اضافه کردن اتیل استات دوبار دیگر تکرار شد و هر سه نمونه فاز رویی به صورت تجمعی در یک ظرف جمع‌آوری شد که این محلول حاوی جیبرلین و زآتین بود.

بررسی هورمون‌های تنظیم کننده رشد گیاهی با HPLC

نمونه‌های فاز رویی از فیلتر پلی‌تترافلوئور اتیلن ۴۵ درصد عبور داده شده و سپس به ستون HPLC (HP 6890A Plus، Agilent، آمریکا) تزریق شدند (Sarkar et al., 2002)

اجزای محلول به دست آمده توسط دستگاه HPLC با ستون C18، دتکتور UV، شدت جریان ۰/۷ ml/min میلی‌لیتر در دقیقه و حلال استیک اسید ۰/۲ درصد و متانول ۹۵ درصد در دمای ۴۰ سانتی‌گراد جدا شد. هورمون‌ها توسط استاندارد تزریق شده به دستگاه HPLC شناسایی شدند. واحد اندازه‌گیری هورمون‌ها میکروگرم در گرم وزن تر بود که به صورت درصد بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری و تحلیل داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل آماری و آزمون فرض‌های این پژوهش با توجه به این که داده‌ها در شش مرحله نمونه‌برداری و در سه تکرار به دست آمدند، از نرم‌افزار SPSS 23 و آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (آزمون KS) برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد (Ghiathund, 2017). مقایسه میانگین‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) با در نظر گرفتن ساختار همبستگی ماه‌های مختلف به صورت اتورگرسیو مرتبه یک در سطح اطمینان ۹۵ درصد به کار گرفته شد و همبستگی متغیرهای مورد نظر با ضریب همبستگی پیرسون ارزیابی و گزارش شد. رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Microsoft Excel 2019 انجام شد.

نتایج

نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های محیطی

نتایج به دست آمده از شاخص‌های محیطی اندازه‌گیری شده در ایستگاه انتخابی استان بوشهر در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار pH (۱/۴۳±۷/۹)، دما (۲/۱۱±۳۸ درجه سانتی‌گراد) و شوری (۱/۲۲±۴۸/۳۳ گرم در لیتر) در تیر ماه، اکسیژن محلول (۰/۳۵±۲/۸۰ میلی‌گرم در لیتر) و فسفات (۰/۰۱±۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر) در شهریور و نیترات (۰/۰۸±۰/۳۳ میلی‌گرم در لیتر) در اسفند مشاهده شد.

نتایج همبستگی شاخص‌های مختلف در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود همبستگی معنی‌دار مثبتی بین pH با شوری، دما و جیبرلین، شوری با آلژینات و زی‌توده با آلژینات وجود داشت. همبستگی معنی‌دار و منفی بین pH با فسفات، اکسیژن با شوری، دما با نیترات، نیترات با جیبرلین، فسفات با pH و زآتین و جیبرلین با آلژینات مشاهده شد.

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های محیطی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (میانگین ± خطای استاندارد)

زمان نمونه‌برداری	دما (°C)	شوری (PPT)	اکسیژن (mg/L)	pH	نیترات (mg/L)	فسفات (mg/L)
دی ۹۴	۲۸/۰۰±۰/۵۲^{a}	۴۴/۳۳±۱/۰۱^{a}	۲/۱۶±۰/۰۹^{a}	۷/۱۲±۰/۲۴^{a}	۰/۲۳۹±۰/۰۵۷^{a}	۰/۰۸۳±۰/۰۲۷^{a}
اسفند ۹۴	۲۸/۰۰±۱/۱۱^{a}	۴۷/۰۰±۱/۲۲^{b}	۲/۳۶±۰/۱۷^{b}	۷/۵۰±۱/۳۱^{b}	۰/۳۳۲±۰/۰۷۶^{a}	۰/۰۷۸±۰/۰۱۳^{ab}
اردیبهشت ۹۵	۳۲/۰۰±۱/۱۶^{b}	۴۴/۶۶±۱/۳۵^{a}	۲/۲۲±۰/۱۲^{c}	۷۰/۵۱±/۱۰^{cb}	۰/۱۹۹±۰/۱۴۰^{ab}	۰/۰۵۲±۰/۰۱۵^{b}
تیر ۹۵	۳۸/۰۰±۲/۱۱^{c}	۴۸/۳۳±۱/۲۲^{c}	۲/۲۷±۰/۰۹^{d}	۷/۹۱±۱/۴۳^{d}	۰/۱۷۵±۰/۰۰۶^{b}	۰/۰۶۲±۰/۰۱۰^{ab}
شهریور۹۵	۳۵/۰۰±۱/۸۴^{d}	۴۰/۳۳±۰/۸۹^{d}	۲/۸۰±۰/۳۵^{e}	۷/۱۶±۰/۳۶^{a}	۰/۱۲۲±۰۸۸^{c}	۰/۰۸۴±۰/۰۰۹^{a}
آبان۹۵	۳۳/۰۰±۱/۷۷^{e}	۴۲/۰۰±۰/۷۷^{e}	۲۰/۴۲±/۲۲^{f}	۷/۴۸±۰/۷۳^{db}	۰/۲۴۳±۰/۰۵۵^{abc}	۰/۰۷۳±۰/۰۰۸^{ab}
میانگین ۶ ماه	۳۲/۳±۱/۲۱	۴۴/۴۴±۱/۲۲	۲/۳۷±۰/۱۹	۷/۴۵±۰/۲۹	۰/۲۱۸±۰/۰۶۴	۰/۰۷۲±۰/۰۰۸
بیشترین	۳۸/۰۰±۲/۱۱	۴۸/۳۳±۱/۲۲	۲/۸۰±۰/۳۵	۷/۹۱±۱/۴۳	۰/۳۳۲±۰۷۶	۰/۰۸۴±۰/۰۰۹
کمترین	۲۸/۰۰±۰/۵۲	۴۰/۳۳±۰/۸۹	۲/۱۶±۰/۰۹	۷/۱۲±۰/۲۴	۰/۱۲۲±۰/۰۸۸	۰/۰۵۲±۰/۰۱۵

حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۲: نتایج همبستگی پیرسون شاخص‌های مختلف

	pH	اکسیژن	شوری	دما	نیترات	فسفات	زآتین	جیبرلین	آلژینات
pH									
اکسیژن	-۰/۳۲۸								
شوری	۰/۷۱۸**	-۰/۶۷۴**							
دما	۰/۵۴۱*	۰/۳۵۸	-۰/۰۲۱						
نیترات	۰/۰۴۶	-۰/۳۲۸	۰/۲۹۷	-۰/۵۲۷*					
فسفات	-۰/۴۷۳*	-۰/۳۲۵	-۰/۳۰۱	-۰/۲۴۶	۰/۰۶۶				
زآتین	۰/۱۰۹	-۰/۳۲۳	۰/۰۳۶	-۰/۰۴۲	-۰/۰۹۴	-۰/۵۲۴*			
جیبرلین	۰/۴۹۳*	۰/۳۷۹	-۰/۱۷۷	۰/۹۶۰**	-۰/۵۰۹*	-۰/۲۹۲	۰/۰۹۲		
آلژینات	-۰/۰۴۰	-۰/۴۴۸	۰/۶۱۳**	-۰/۴۲۷	۰/۲۸۵	۰/۲۲۵	-۰/۴۰۷	-۰/۶۵۵**	
زی‌توده	-۰/۲۷۰	-۰/۷۳۳**	۰/۳۷۲	-۰/۷۳۰**	۰/۳۹۲	۰/۱۵۰	-۰/۱۱۴	-۰/۸۰۹**	۰/۷۶۴**

*: معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد (P<۰/۰۵). **: معنی‌داری در سطح ۹۹/۹ درصد (P<۰/۰۰۱).

نتایج سنجش زی‌توده جلبک *Sargassum muticum*

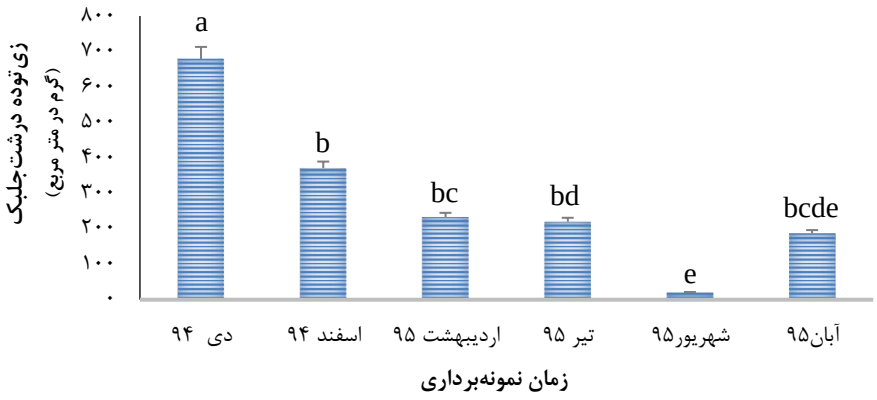
نتایج اندازه‌گیری زی‌توده جلبک *S. muticum* در منطقه بین جزرومدی استان بوشهر از دی ماه ۱۳۹۴ تا آبان ماه ۱۳۹۵ در شکل ۵ نشان داده شده است. بیشترین میانگین زی‌توده نمونه مطالعاتی (۲/۱۲±۶۷۹ گرم در متر مربع) مربوط به دی ماه ۱۳۹۴ و کمترین میانگین آن (۰/۷۶±۲۰/۶۷ گرم در متر مربع) مربوط به شهریور ماه ۱۳۹۵ طی شش مرحله نمونه‌برداری بود. تفاوت میانگین زی‌توده در شش مرحله نمونه‌برداری معنی‌دار بود است (n=۶ ؛P<۰/۰۵).

نتایج بررسی ترکیبات شیمیایی درشت‌جلبک

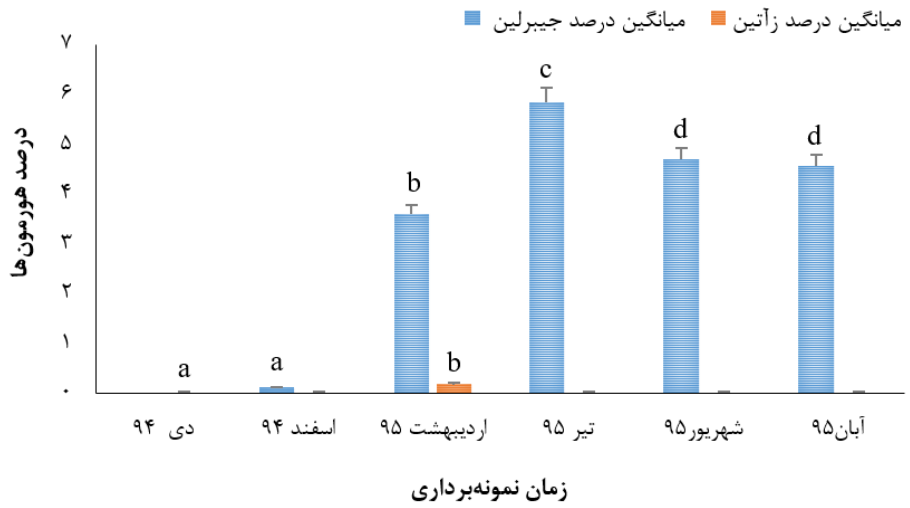
بیشترین میزان جیبرلین استخراج شده (۱/۱۱±۵/۸۶ درصد) در تیر ماه ۱۳۹۵ و کمترین میزان (۰ درصد) در دی ماه ۱۳۹۴ مشاهده شد. همچنین تفاوت معنی‌داری در استخراج جیبرلین بین ماه‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده شد (n=۶ ؛P<۰/۰۵؛ شکل ۶).

زآتین با مقدار ۰/۰۷±۰/۱۸ درصد تنها در اردیبهشت ۱۳۹۵ به دست آمد (شکل ۶).

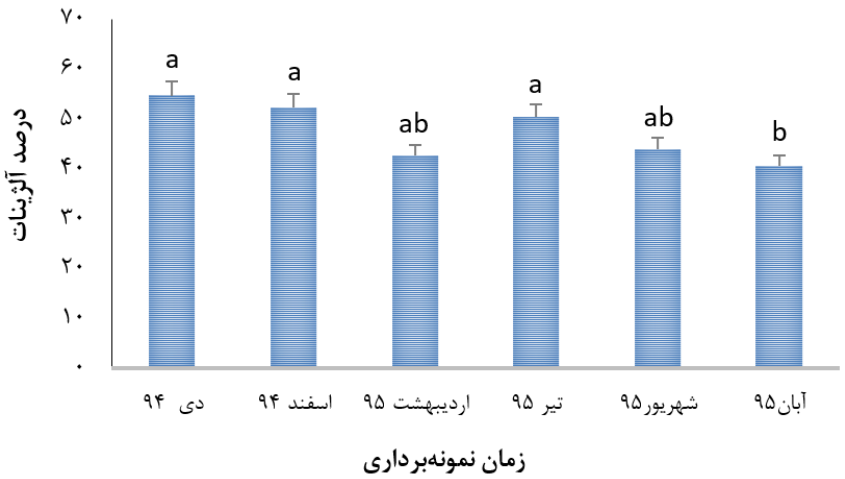
کمترین میزان استخراج آلژینات در آبان ماه (۱/۰۳±۴۰/۶۷ درصد) و بیشترین میزان آن (۲/۲۵±۵۴/۶۷ درصد) در دی ماه ثبت شد (شکل ۷). همچنین تفاوت معنی‌داری در استخراج آلژینات بین ماه‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده شد (n=۶ ؛P<۰/۰۵).



شکل ۵: مقایسه زی‌توده *Sargassum muticum* در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (میانگین ± خطای استاندارد). حروف غیرهمنام اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).



شکل ۶: درصد هورمون‌های جیبرلین و زآتین استخراج شده از *Sargassum muticum* در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (میانگین ± خطای استاندارد). حروف غیرهمنام اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).



شکل ۷: درصد آلژینات استخراج شده از *Sargassum muticum* در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (میانگین ± خطای استاندارد). حروف غیرهمنام اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).

بحث

در این مطالعه تغییرات آلژینات، جیبرلین و زآتین در جلبک *Sargassum muticum* بررسی شد. بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، میانگین مربعات شاخص‌های محیطی (شوری، دما، اکسیژن محلول، نیترات، فسفات، pH) در بین ماه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). در این مطالعه pH با فسفات ارتباط منفی و معنی‌داری را نشان داد. Sumandiarsa و همکاران در ۲۰۲۱ گزارش دادند که کاهش pH بر کربن و متابولیسم نیتروژن و فسفر جلبک دریایی *Ulva* در استرالیا تاثیر می‌گذارد، با این حال، تغییری در رشد ایجاد نمی‌کند. مشابه با مطالعه حاضر، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین pH با دما و شوری در دریای باندا در اندونزی (Rugebregt et al., 2023) و در ویتنام (Dung and Duc, 2015) دیده شد که نشانگر تاثیر این عوامل بر تغییرات pH است.

مطالعات نشان می‌دهند که مقادیر اکسیژن در آب‌های شور نسبتا کمتر است زیرا انتقال جرم اکسیژن اتمسفر در آب یون‌دار کاهش می‌یابد و در نتیجه باعث کاهش انحلال اکسیژن در آب شور می‌شود (Haddouta et al., 2022). به همین علت در مطالعه حاضر همبستگی منفی معنی‌داری بین شوری و اکسیژن به دست آمد.

مطالعه Maureen و همکاران در ۲۰۱۷ نشان داد که رشد، توسعه و توزیع بسترهای *Sargassum* به شدت تحت تاثیر عوامل فیزیکوشیمیایی آب است. میزان زی‌توده جلبک در مطالعه حاضر در ماه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشت و از بین عوامل محیطی اندازه‌گیری شده دما و اکسیژن بر میزان زی‌توده آن تاثیر داشتند. بیشترین میانگین زی‌توده *S. muticum* در دی ماه (۶۷۹ گرم در متر مربع) و کمترین میزان در شهریور ماه (۲۰/۶۷ گرم در متر مربع) بود. میزان زی‌توده با دما همبستگی منفی و معنی‌دار داشت. عوامل محیطی بویژه دما نقش مهمی در رشد و نمو درشت‌جلبک‌ها دارد (Orduna-Rojas et al., 2002; Rasoulian et al., 2018). دمای بالا باعث افزایش فعالیت آنزیمی سلول می‌شود و به رشد کمک می‌کند. با این حال، هنگام رسیدن به دمای بحرانی برخی از پروتئین‌ها، به ویژه آنهایی که در فتوسیستم‌ها و زنجیره انتقال الکترون دخیل هستند، شروع به دناتوره شدن می‌کنند، بر متابولیسم سلولی تاثیر می‌گذارند و در نهایت مرگ و میر سلولی را القا می‌کنند (Lopez Munoz and Bernard, 2021).

عوامل محدود کننده محیطی در فصل‌های گرم افزایش نور و دما است که خود باعث تبخیر آب و بالا رفتن شوری آب می‌شود (Rasoulian et al., 2018). در مطالعه Shahidi (۲۰۱۶) نیز از این عوامل به عنوان عوامل محدود کننده رشد و کاهش زی‌توده نام برده شد. بر طبق مطالعه Yan و همکاران در ۲۰۲۱، شدت نور بالا ممکن است بازده رنگدانه فتوسنتزی جلبک‌ها را کاهش دهد. انرژی نور بیش از حد به طور کلی منجر به آسیب مرکز واکنش فتوسنتز جلبک‌ها شده و باعث «مهار نوری» می‌شود. در مطالعه انجام شده توسط Lewis در ۲۰۰۹، شرایط ایده‌آل برای رشد *S. muticum* ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۴ ppt با قابلیت رشد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. در بررسی‌های آزمایشگاهی دیده شده که پاسخ فتوپریودیک نیز با افزایش طویل شدن شاخه‌های اصلی در دوره‌های روز کوتاه و کاهش رشد در دوره‌های نوری با طول روز بلند همراه بود (Lewis, 2009). به همین دلیل در مطالعه حاضر بیشترین رشد در دی ماه با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و طول روز کوتاه و کمترین میزان زی‌توده در ماه‌های شهریور و تیر به ترتیب با ۳۵ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد با طول روز بلند و افزایش شدت نور مشاهده شد. در مطالعات دیگر نیز نشان داده شد که بالاترین ارزش زی‌توده در طول ماه‌های سردتر رخ داده است (Setyawidati et al., 2018). دوره رشد و نمو *S. muticum* در فرانسه نیز در زمستان و بهار اتفاق می‌افتد (Maureen et al., 2017). بیشترین زی‌توده *S. muticum* در اسپانیا در فروردین و اردیبهشت با فراوانی مواد مغذی مشاهده شده است. جلبک *S. muticum* تحمل گسترده‌ای نسبت به دما نشان می‌دهد و در بهار درست قبل از دوره تابستانی (تنش گرمایی) که این گونه جلبک در مرحله جوانی است به بیشترین سرعت رشد خود می‌رسد (Fernandez, 2020). در استرالیا زی‌توده *Sargassum* در طول زمستان و اوایل بهار همزمان با بالاترین غلظت مواد مغذی از جمله نیترات، فسفات و آمونیوم به بیشترین مقدار می‌رسد (Hoang et al., 2016). بیشترین میزان زی‌توده *Sargassum aquifolium* در اندونزی (Setyawidati et al., 2018) و *Sargassum polycystum* در تایلند (Noiraksar et al., 2017) و هند (Padal et al., 2014) و *Sargassum ilicifolium* در دریای سرخ (Ateweberhan et al., 2005) نیز در ماه‌های سردتر سال بوده است.

نیتروژن و فسفر مواد مغذی ضروری برای بقا و رشد جلبک‌ها هستند و به دلیل افزایش فتوسنتز، افزایش عرضه نیتروژن و فسفر منجر به ارتقای نرخ رشد جلبک‌ها می‌شود. چنین نرخ رشد افزایش یافته‌ای توسط نیتروژن در چهار گونه *Sargassum horneri*، *Sargassum natans*، *Sargassum fluitans* و *S. muticum* (Liu et al., 2019; Yan et al., 2021) و *Sargassum* spp. (Hoang et al., 2016) و فسفات در *S. polycystum* (Noiraksar et al., 2017) دیده شده است.

مواد مغذی نیترات و فسفات در مطالعه حاضر اثر معنی‌داری روی زی‌توده جلبک نداشت و این نشان می‌دهد که رشد فصلی در این جلبک به این عوامل بستگی ندارد. همان طور که در مطالعه Rao و Rao در ۲۰۰۲ بر روی *S. polycystum* نیز همبستگی معنی‌داری بین عوامل محیطی مانند نیترات و فسفات به جز دما دیده نشد.

جلبک‌ها از طریق فتوسنتز با تثبیت دی‌اکسید کربن، اکسیژن مولکولی تولید می‌کنند. تحت سطوح بالای اکسیژن محلول، آنزیم ریبولوز-۱،۵- بیس فسفات کربوکسیلاز-اکسیژناز (RuBisCO)، یک آنزیم حیاتی در تثبیت کربن در چرخه کالوین- بنسون، به جای کربن با اکسیژن واکنش می‌دهد که باعث افزایش تنفس نوری و کاهش فتوسنتز و به تبع آن کاهش زی‌توده می‌شود، همان طور که در جلبک *Spirulina* اکسیژن زیاد در تابستان موجب کاهش زی‌توده شده است (Rao and Rao, 2002). این مورد در *Chlorella vulgaris*، *Nannochloropsis* sp. (Lopez Munoz and Bernard, 2021) و *Chlorella pyrenoidosa* نیز دیده شد. اما در *Scenedesmus obliquus* و *Monoraphidium minutum* تحت تنش اکسیژن زی‌توده کاهش نیافت (Gao et al., 2022). در مطالعه حاضر همبستگی منفی و معنی‌داری بین اکسیژن و زی‌توده *S. muticum* به دست آمد که تاثیر تنفس نوری را در زمان افزایش اکسیژن و کاهش زی‌توده و زیاد شدن میزان CO_2 در زمان کاهش اکسیژن و به تبع آن افزایش زی‌توده را نشان می‌دهد.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که در محتوای آلژینات بین گونه‌ها و فصول تغییراتی وجود دارد که ممکن است به شرایط جغرافیایی، محیطی و میزان زی‌توده جلبک مربوط باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که مقادیر اکسیژن، pH، دما، نیترات و فسفات تاثیر چندانی بر میزان آلژینات نداشت و بین شوری و آلژینات همبستگی مثبت

و معنی‌دار مشاهده شد. به طور کلی پاسخ متابولیت‌های ثانویه مانند آلژینات و آگار به شوری اثر شوری را در بیوسنتز آنها آشکار می‌سازد. در جلبک‌های *Gracilaria bursa-pastoris* (Marinho-Soriano and Bourret, 2003)، *Gracilaria cornea* (Freile-Pelegrin et al., 2002) و *Gracilaria corticate* (Rafiei et al., 2015) نیز شوری با آگار همبستگی معنی‌دار و مثبت داشت.

نتایج مشخص کرد که از دی ماه تا شهریور ماه با کاهش میزان زی‌توده *S. muticum* میزان آلژینات نیز کاهش و با افزایش میزان زی‌توده این جلبک در ماه آبان به بعد میزان آلژینات افزایش یافت. میزان زی‌توده *S. muticum* با میزان آلژینات رابطه مستقیم و معنی‌دار داشت. در جلبک *Sargassum boveanum* در بندر لنگه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان آلژینات و زی‌توده وجود داشت. در این باره با افزایش زی‌توده میزان فتوسنتز افزایش یافت که باعث بالا بردن متابولیت‌های ثانویه مانند آلژینات شد (Rafiee, 2013). در سه گونه جلبک *Sargassum* در سواحل چابهار میزان آلژینات در آبان بیشتر از دی ماه بود (Alavi, 1997). در مکزیک از گونه *Sargassum horridum* کمترین مقدار آلژینات در ماه مرداد (۹/۵ درصد) همزمان با مرحله پیری جلبک و بالاترین میزان در ماه اردیبهشت (۲۱/۴ درصد) به دست آمده است (Di Filippo-Herrera et al., 2018). در مراکش عملکرد آلژینات جلبک *Sargassum* از ۱۱/۱۴ درصد در زمستان تا ۲۵/۶۲ درصد در بهار و اوایل تابستان، همزمان با بیشترین رشد رویشی متغیر بود. به طوری که بیشترین میزان آلژینات *S. muticum* با بیشترین زی‌توده همزمان بود (Belattmania et al., 2022). در پاکستان بیشترین میزان آلژینیک اسید در خلیج هاوکز در بهمن ماه (۲۴/۶۹ درصد) و کمترین آن در ماه تیر (۱۱/۳ درصد) بود و در سواحل مانورا در دی ماه (۲۱/۵۴ درصد) بالاترین میزان و در شهریور (۱۲/۵۳ درصد) کمترین میزان را داشت که با زی‌توده همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت (Khan and Qari, 2009). در هند نیز تغییرات فصلی معنی‌داری با عملکرد بالای آلژینات *S. polycystum* در بهمن ماه مشاهده شد (Saraswathi et al., 2003). میزان آلژینات در *S. muticum* ۲۵/۶ درصد (El Atouani et al., 2016)، در *Durvillaea potatorum* ۴۴ درصد (Hjelland , 2010)،

در *Laminaria digitata* ۴۰ درصد (Guo and Zhang, 2020)، در *Sargassum* sp. ۳۵ درصد (Dharmarathne et al., 2020) و در *Turbinaria conoides* ۴۹ درصد (Mohamed et al., 2021) اندازه‌گیری شد. در مطالعه حاضر بیشترین میزان آلژینات ۵۴/۶۷ درصد به دست آمد که در مقایسه با مطالعات دیگر از میزان مناسبی برخودار بود و می‌توان از آن برای مقاصد صنعتی استفاده کرد.

اگرچه اثر هورمون‌های رشد در گیاهان آوندی بسیار گسترده مطالعه شده است، اما گزارش‌های کمی درباره اثرات فیزیولوژیکی آنها در جلبک‌ها وجود دارد. میزان رشد جلبک‌ها توسط هورمون‌های آنها کنترل می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که سیتوکینین‌ها روی تقسیم سلولی و فعالیت‌های متابولیکی مانند سنتز پروتئین‌ها اثر می‌گذارند. به طوری که دانشمندان اثر سیتوکینین بر تقسیم سلولی را نتیجه اثر آن روی پروتئین می‌دانند (Martins et al., 2007). در *Caulerpa* سیتوکینین اثر معنی‌دار روی رشد داشت، اما در *Gracilaria textori* اثری مشاهده نشد (Strik et al., 2009). طبق نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر و حضور سیتوکینین زآتین فقط در اردیبهشت همراه با زی‌توده کم جلبک، به نظر می‌رسد که در جلبک *S. muticum* سیتوکینین به طور مستقیم در رشد تاثیری نداشته باشد. این هورمون با عوامل محیطی اندازه‌گیری شده به جز فسفات همبستگی نداشت.

گیاهان دارای مکانیسم‌های پیام‌دهی خاص مواد مغذی برای کنترل متابولیسم و رشد و نمو نسبت به تغییر شرایط تغذیه خود هستند. یکی از نمونه‌های بارز آن سیستم کنترل کمبود فسفر است که یافته‌ها نشان از ارتباط سیتوکینین‌ها با آن دارند. فسفر نقش مهمی در جفت شدن واکنش‌های نور و تاریکی در فتوسنتز و در صدور قند سه کربنه از کلروپلاست دارد و نیز در بسیاری از واکنش های متابولیسم قند یک بستر یا یک محصول را شامل می‌شود. فسفر یک درشت مغذی ضروری است و گیاهان یک سیستم تطبیقی برای مقابله با رشد تحت شرایط محدود کننده آن، شامل سازگاری‌های رشدی و متابولیکی آن ایجاد کرده‌اند. نشان داده شده است که در گیاهان، کمبود فسفر با کاهش در محتوای سیتوکینین و بیان ژن‌های گیرنده سیتوکینین (CRE I) همراه است (Franco-Zorrilla et al., 2005). در مطالعات صورت گرفته دیگر از جمله بر روی گیاهان رشادی (*Arabidopsis*) با اعمال کاهش فسفات، دریافتند که در ریشه و اندام هوایی به طور قابل

توجهی غلظت زآتین ترانس کاهش و غلظت زآتین سیس افزایش می‌یابد که در این حالت باعث افزایش طول سلول‌ها در ریشه می‌شود. زآتین ترانس باعث کاهش طول سلول‌ها در ریشه می‌شود. در این راستا، دریافتند که کمبود فسفر غلظت دو فلاونول کورستین و کامفرول را که در کنترل رشد ریشه نقش دارند، افزایش می‌دهد. زآتین سیس اندازه تارهای کشنده ریشه را در فسفات کم افزایش می‌دهد که با یک سازگاری ویژه، باعث افزایش سطح ریشه و جذب بیشتر فسفر در زمان فسفات کم می‌شود. تصور می‌شود که تجمع زآتین به واکنش‌های محیطی مانند تنش‌های غیرزیستی، تعامل زیستی، یا حملات بیماری‌زا و گیاه‌خوار مرتبط باشد. هر دو زآتین سیس و ترانس اندازه مریستم ریشه را کاهش می‌دهند، اما به نظر می‌رسد تنها زآتین سیس باعث افزایش طول سلول در طول کمبود فسفر می‌شود و به رشد ریشه کمک می‌کند (Silva-Navas et al., 2019). به همین علت در مطالعه حاضر در کمترین میزان فسفات، احتمالا زآتین سیس ایجاد شده است تا با اعمال سازگاری‌هایی ویژه در جلبک جذب فسفات بیشتر شود.

در سال ۱۹۸۴ Smith و Charles سیتوکنین زآتین را به صورت فصلی در جلبک قهوه‌ای *Ecklonia* مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که زآتین در تابستان بیشترین مقدار را داشت. Strik و همکارانش در سال ۲۰۰۹ به استخراج سیتوکینین از جلبک‌های *Ulva* و *Dictyota* در آفریقای جنوبی پرداختند و تغییرات تراکم این هورمون را در یک سال بررسی کردند. سیتوکینین در *Ulva* در تیر و در *Dictyota* در شهریور بیشترین مقدار را داشت (Strik et al., 2009). در مطالعه حاضر زآتین در اردیبهشت مشاهده شد.

بر طبق مطالعات، هورمون جیبرلین تحریک کننده رشد است (Benkova, 2016). جیبرلین‌ها در فرآیندهای رشدی متعددی از جمله رشد و جوانه زنی بذر، رشد گیاهچه، افزایش طول ساقه، تکثیر ریشه و تعیین اندازه و شکل برگ شرکت می‌کنند. از طرف دیگر، هورمون آبسیزیک اسید برای رشد و نمو طبیعی گیاه ضروری است و نقش مهمی در هنگام تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. گیاهان تعادل بین سطوح جیبرلین و آبسیزیک اسید را به طور مداوم در طول فرآیندهای رشدی در بافت‌ها و اندام‌های مختلف، از جمله در شرایط محیطی یا فیزیولوژیکی نامطلوب، حفظ می‌کنند. عوامل خارجی دائما در حال تغییر که بیشتر بر رشد و نمو گیاه تاثیر می‌گذارند، تنش‌های غیرزیستی

هستند. تنش‌های غیرزیستی بسیار متغیر موثر بر رشد گیاه عبارت هستند از شوری، خشکی و دما. گیاهان طیفی از سطوح تحمل را نسبت به این تنش‌ها نشان می‌دهند که در نهایت توسط مسیرهای پیام دهی پیچیده تنظیم می‌شوند. تنش‌های غیرزیستی باعث بیوسنتز آبسیزیک اسید می‌شود که با تنظیم فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و مرتبط با رشد، واکنش‌های سازگار با تنش را میانجی‌گری می‌کند (Vishal and Kumar, 2018).

مطالعات نشان داده‌اند که با نزدیک شدن به فصل گرم جیبرلین و زآتین افزایش می‌یابد (Erin et al., 2008; Ljung, 2013). در نمونه‌های مطالعه حاضر نیز میزان جیبرلین با دما همبستگی مثبت داشت و در تیر به اوج خود رسید. بر طبق مطالعات Pinthus و همکاران (۱۹۸۹) پاسخ‌های رشد برگ‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف گندم به دما متفاوت بود و برخی از آنها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد محتوای جیبرلین ۱ (GA1) و رشد برگ از ۱۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر بود و در برخی تفاوتی مشاهده نشد و با وجود میزان جیبرلین بالا، دما اثر معنی‌داری بر رشد برگ نداشت، بنابراین GA1 موجب رشد آنها نشده بود. طبق گزارش Li و همکاران (۲۰۱۹) تیمار با دمای پایین می‌تواند محتوای جیبرلین‌ها را در طول تمایز جوانه‌های گل گوجه فرنگی افزایش دهد و باعث نمو برچه شود. در مطالعه روی گیاه رشادی (*Arabidopsis thaliana*)، بیشترین دمای مجاز برای جوانه‌زنی بذر به تدریج در طول یک دوره پس از رسیدن در تابستان افزایش یافت، اما جوانه‌زنی بذر توسط دمای محیطی بالاتر از حد بالایی برای جوانه‌زنی سرکوب شد (Castro-camba et al., 2022). بذرها در پاییز زمانی که دما از حد بالایی برای جوانه‌زنی پایین می‌آید، باید جوانه بزنند. بنابراین، تغییر در حساسیت بذر به دما از نظر اکولوژیکی نقش مهمی در تشخیص زمان‌بندی فصلی مناسب برای جوانه‌زنی دارد. آبسیزیک اسید و جیبرلین در کنترل جوانه‌زنی بذر توسط دما نقش دارند. با افزایش دما مقدار آبسیزیک اسید بالا می‌رود که باعث خنثی کردن تاثیر جیبرلین می‌شود (Castro-camba et al., 2022). به همین دلیل، در مطالعه حاضر با توجه به نتایج به دست آمده میزان جیبرلین و زی‌توده ارتباط منفی معنی‌داری داشتند. به نظر می رسد مهارکننده‌های رشد مانند آبسیزیک اسید در زمان تنش دمایی در ماه‌های گرم سال افزایش پیدا کرده و اثر جیبرلین را خنثی کرد (Railton and Wareing, 1973). با توجه به این که دما رابطه معکوسی با میزان زی‌توده

جلبک داشت احتمالا اثر تحریک کنندگی جیبرلین را خنثی کرد و بر آن غالب شد.

از عوامل محیطی دیگر، pH همبستگی مثبت با جیبرلین نشان داد. بر طبق مطالعات Henderson در ۱۹۶۰ حتی محیط‌های اسیدی ضعیف باعث از بین رفتن جیبرلین می‌شوند و این ماده در محلول‌های خنثی و بازی بسیار پایدارتر است. بنابراین، در مطالعه حاضر بیشترین pH (۷/۹۱) در تیر ماه همراه با بیشترین میزان جیبرلین مشاهده شد.

به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به نبود پروتکل مشخص برای استخراج تنظیم کننده رشد در ایران با جمع‌آوری اطلاعات و مطالعه روش‌های متفاوت استخراج این هورمون‌ها بر روی گونه‌های گیاهان زمینی و اندک گیاهان آبزی پروتکلی برای استخراج طراحی شد. میزان جیبرلین و زآتین در جلبک قهوه‌ای *S. muticum* در طول شش بار نمونه‌برداری از دی ماه ۱۳۹۴ تا آبان ماه ۱۳۹۵ بررسی و اندازه‌گیری شد. به دلیل انجام نگرفتن استخراج این هورمون‌ها از جلبک‌ها در داخل ایران و محدود بودن استخراج این عوامل از جلبک‌ها در پژوهش‌های خارج از کشور امکان بررسی دقیق و گسترده و مقایسه و بازنگری این عوامل تنظیم کننده رشد از همه جوانب وجود نداشت و با توجه به قیمت گزاف هورمون‌های گیاهی و لزوم استفاده این هورمون‌ها در کودهای مایع جلبکی و عصاره‌های جلبکی برای استفاده در کشاورزی و شیلات و وجود درشت‌جلبک‌های فراوان در سواحل خلیج فارس، این پژوهش مبدایی مورد توجه و مفید برای استخراج انواع ترکیبات شیمیایی و بویژه هورمون‌ها از این جلبک‌ها است. مقدار مناسب آلژینات *S. muticum* آن را برای استخراج این ماده با ارزش مناسب می‌کند. برداشت *S. muticum* برای استفاده از زی‌توده جلبکی و آلژینات آن در ماه‌های دی و اسفند و برای استفاده از کود مایع جلبکی و حضور هورمون جیبرلین در تیر ماه پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نگارندگان صمیمانه از کارشناسان محترم آزمایشگاه رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران جهت همکاری و مساعدت‌های ایشان، آقای مهندس امیرحسین زردچشمی جهت حمایت‌های مالی این پروژه، مترجم گرامی سرکار خانم فاطمه زردچشمی جهت یاری در ویرایش متون انگلیسی و ترجمه مقالات و دیگر عزیزانی که ما را در اجرای این پروژه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abetz P. and Young C.L. 1983. The effect of seaweed extract sprays derived from *Ascophyllum nodosum* on lettuce and cauliflower crops. Botanica Marina, 26: 487–492. doi: 10.1515/botm.1983.26.10.487

Alavi A. 1997. Extraction of alginic acid from brown algae of South Sea and separation of alginates based on molecular weight (In Persian). University of Tehran. 216P.

APHA . 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. P: 541.

Ateweberhan M., Bruggemann J.H. and Breeman A.M. 2005. Seasonal dynamics of *Sargassum ilicifolium* (Phaeophyta) on a shallow reef flat in the southern Red Sea (Eritrea). Marine Ecology Progress Series, 292: 159–171. doi: 10.3354/meps292159

Balboa E.M., Gallego-Fabrega C., Moure A. and Domínguez H. 2016. Study of the seasonal variation on proximate composition of oven-dried *Sargassum muticum* biomass collected in Vigo Ria, Spain. Journal of Applied Phycology, 28: 1943–1953. doi: 10.1007/s10811-015-0727-x

Basson P.w. 1987. Marine algae of the Persian Gulf coast of Saudi Arabia (first half). Botanica Marina, 22: 47–64. doi: 10.1515/botm.1979.22.1.47

Belattmania Z., El Atouani S., Bentiss F., Jama C., Falace A., Chaouti A., Reani A. and Sabour B. 2022. Seasonal patterns of growth, alginate content and block structure of the alien invader *Sargassum muticum* (Fucales, Ochrophyta) from the Atlantic coast of Morocco. Botanica Marina, 65(1): 69–78. doi: 10.1515/bot-2021-0050

Bellinger E. and Sigee D. 2010. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. Wiley, USA. 304P.

Benkova E. 2016. Plant hormones in interactions with the environment. Plant Molecular Biology, 91(6): 597. doi: 10.1007/s11103-016-0501-8

Castro-Camba R., Sanchez C., Vidal N. and Vielba J.M. 2022. Interactions of gibberellins with phytohormones and their role in stress responses. Horticulturae, 8(3): 1–21 (241). doi: 10.3390/horticulturae8030241

Craigie J.S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. Journal of Applied Phycology, 23: 371–393. doi: 10.1007/s10811-010-9560-4

Davies P.J. 1988. The plant hormones: Their nature, occurrence, and functions. P: 1–11. In: Davies P.J. (Ed.). Plant Hormones. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. doi: 10.1007/978-1-4020-2686-7_1

Dawes C.J. and Mcintosh R.P. 1981. The effect of organic material and inorganic ions on the photosynthetic rate of the red alga *Bostrychia binderi* from a Florida estuary. Marine Biology, 64: 213–218. doi: 10.1007/BF00397111

Dharmarathne A., Thilakasinghe I., Gunasekera U. and Vijayarajah V. 2020. Investigating the possibilities to produce alginate filaments with locally available seaweeds. Proceedings of the 2020 Moratuwa Engineering Research Conference (MERCon), Sri Lanka. P: 459–464. doi: 10.1109/MERCon50084.2020.9185258

Di Filippo-Herrera D.A., Hernandez-Carmona G., Munoz-Ochoa M., Arvizu-Higuera D.L. and Rodriguez-Montesinos Y.E. 2018. Monthly variation in the chemical composition and biological activity of *Sargassum horridum*. Botanica Marina, 61(1): 91–102. doi: 10.1515/bot-2017-0031

Dung D.Q. and Duc P.A. 2015. Influence of water temperature and salinity on pH during dry season in lower Dong Nai River system, Vietnam. GeoScience Engineering, 61(4): 29–35. doi: 10.1515/gse-2015-0028

Eaton A.D., Clesceri L.S., Rice E.W. and Greenberg A.E. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association (APHA) Press, USA. 1368P.

El Atouani S., Bentiss F., Reani A., Zrid R., Belattmania Z., Pereira L., Mortadi A., Cherkaoui O. and Sabour B. 2016. The invasive brown seaweed *Sargassum muticum* as new resource for alginate in Morocco: Spectroscopic and rheological characterization. Phycological Research, 64: 185–193. doi: 10.1111/pre.12135

Erin N., Afacan B., Ersoy Y., Ercan F. and Balci M.K. 2008. Gibberellic acid, a plant growth regulator, increases mast cell recruitment and alters substance P levels. Toxicology, 254(1): 75–81. doi: 10.1016/j.tox.2008.09.020

Fernandez C. 2020. Boom-bust of *Sargassum muticum* in northern Spain: 30 years of invasion. European Journal of Phycology, 55(3): 285–295. doi: 10.1080/09670262.2020.1715489

Franco-Zorrilla J.M., Martin A.C., Leyva A. and Paz-Ares J. 2005. Interaction between phosphate-starvation, sugar, and cytokinin signaling in *Arabidopsis* and the roles of cytokinin receptors

CRE1/AHK4 and AHK31. Plant Physiology, 138: 847–857. doi: 10.1104/pp.105.060517

Freile-Pelegrin Y., Robledo D., Pedersen M., Bruno E. and Ronnqvist J. 2002. Effect of dark and salinity treatment in the yield and quality of agar from *Gracilaria cornea* (Rhodophyceae). Ciencias Marinas, 28(3): 289–296. doi: 10.7773/cm.v28i3.223

Gao S., Edmundson S. and Huesemann M. 2022. Oxygen stress mitigation for microalgal biomass productivity improvement in outdoor raceway ponds. Algal Research, 68: 1–8 (102901). doi: 10.1016/j.algal.2022.102901

Ghiathund A. 2017. Application of statistics and SPSS software in data analysis (In Persian). Loya Publishing House, Iran. 325P.

Guiry M.D. and Guiry G.M. 2014. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland. Galway. Retrieved January 2014, from http://www.algaebase.org

Guo Y. and Zhang S. 2020. New extraction technology and characterization of sodium alginate. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 474: 1–7 (052092). doi: 10.1088/1755-1315/474/5/052092

Haddouta S., Priyab K.L., Hoguanec A.M., Casilad J.C.C. and Ljubenkove I. 2022. Relationship of salinity, temperature, pH, and transparency to dissolved oxygen in the Bouregreg estuary (Morocco): First results. Water Practice and Technology, 17(12): 2654–2663. doi: 10.2166/wpt.2022.144

Hanisak M.D. and Samuel M. 1987. Growth rates in culture of several species of *Sargassum* from Florida, USA. Hydrobiologia, 152: 399–404. doi: 10.1007/978-94-009-4057-4_59

Henderson J. 1960. Influence of hydrogen ion concentration and autoclaving on gibberellin. Nature, 185: 628–629. doi: 10.1038/185628a0

Hjelland F. 2010. Process for the Production of Alginate Having a High Mannuronic Acid-Content. US Patent Office, USA. 20P.

Hoang T.C., Cole A.J., Fotedar R.K., O'Leary M.J., Lomas M.W. and Roy S. 2016. Seasonal changes in water quality and *Sargassum* biomass in southwest Australia. Marine Ecology Progress Series, 551: 63–79. doi: 10.3354/meps11735

Istini S., Ohno M. and Kusunose H. 1994. Methods of analysis for agar, carrageenan and alginate in seaweed. Bulletin of Marine Sciences and Fisheries, 14: 49–55.

Khan F. and Qari R. 2009. Seasonal variation in water soluble polysacharide alginic acid extracted from *Sargassum*

boveanum J. Agardh (Phaeophyta, Sargassaceae) along the different shores of of Karachi coast, Pakistan. International Journal of Biological Biotechnology, 6(4): 303–310.

Kim J.Y., Lee J.A., Kim K.N., Yoon W.J., Lee W.J. and Park S.Y. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Sargassum muticum* extracts. Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition, 36(6): 663–669. doi: 10.3746/jkfn.2007.36.6.663

Lewis J. 2009. *Sargassum muticum* (wire weed). CABI Compendium. 20P. doi: 10.1079/cabicompendium.108973

Li Y., Sun M., Xiang H., Liu Y., Li H. and Qi M. 2019. Low overnight temperature-induced gibberellin accumulation increases locule number in tomato. International Journal of Molecular Science, 20: 30–42. doi: 10.3390/ijms20123042

Liu T., Ma Z., Li H. and Xu Z. 2019. Effects of light intensity and nitrate level on growth and photosynthetic characteristics of *Sargassum horneri*. Chinese Journal of Ecology, 38(3): 762–769. doi: 10.1007/s11802-021-4507-8

Ljung K. 2013. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. Development, 140(5): 943–950. doi: 10.1242/dev.086363

Lopez Munoz I. and Bernard O. 2021. Modeling the influence of temperature, light intensity and oxygen concentration on microalgal growth rate. Processes, 9(3): 1–14 (496). doi: 10.3390/pr9030496

Marinho-Soriano E. and Bourret E. 2003. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta). Bioresource Technology, 90: 329–333. doi: 10.1016/S0960-8524(03)00112-3

Martins A.P., Yokoya N.S., Carvalho M.A.N. and Plastino E.M. 2007. Effects of kinetin and nitrogen on growth rates, pigment and protein contents in wild and phycoerythrin-deficient strains of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta). Journal of Applied Phycology, 20: 767–773. doi: 10.1007/s10811-007-9289-x

Maureen D., Maya P., Philippe D., Valerie S.P., Gilles B., Nathalie B. and Laurent V. 2017. Seasonal variation of *Sargassum muticum* biochemical composition determined by Fourier transform infra-red spectroscopy. Journal of Analytical, Bioanalytical and Separation Techniques, 2(1): 75–84. doi: 10.15436/2476-1869.17.1555

Mohamed D.A., Hassan A.A., Ibrahim M.T. and Helmy M.M. 2021. Extraction and characterization of sodium alginates extracted from

Sargassum muticum and *Turbinaria conoides*. International Journal of Innovative Science, Engineering and Technology, 8(1): 64–75.

Moradi F. 2016. Plant growth regulators in the past, present and future. Promotional Research Findings in Agricultural and Garden Plants, 5(2): 71–95. doi: 10.22092/ra c.2016.109756

Noiraksar T., Manthachitra V., Buranaprattheprat A. and Komatsu T. 2017. Growth and reproductive seasonal pattern of *Sargassum polycystum* C. Agardh (Sargassaceae, Phaeophyceae) population in Samaesarn Island, Chon Buri Province, Thailand. La Mer, 55: 11–23.

Orduna-Rojas J., Robledo D. and Dawes C.J. 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rodophyta, Gracilariales) from Yucatan, Mexico. I. Seasonal physiological and bio chemical responses. Botnnica Marina, 45: 453–458. doi: 10.1515/BOT.2002.046

Padal S.B., Rao D.A. and Subbarangaiah G. 2014. Habitat influences the seasonal growth, fruiting behaviour in *Sargassum polycystum* C. Agradh. (Fucales, Phaeophyceae) at Visakhapatnam coast, India. International Journal of Pharmacy and Bio-Science, 1(1): 1–8.

Pinthus M.J., Gale M.D., Appleford N.E. and Lenton J.R. 1989. Effect of temperature on gibberellin (GA) responsiveness and on endogenous GA (1) content of tall and dwarf wheat genotypes. Plant Physiology, 90(3): 854–859. doi: 10.1104/pp.90.3.854

Rafiee F. 2013. Studying the ecology of the growth and reproduction of the indicator species of algae in the intertidal zone of the shores of Bandar Langeh (In Persian). Ph.D. Thesis, Islamic Azad University, Iran. 400P.

Rafiei F., Fatemi M.R., Filizadeh Y., Vathouqi G. and Esmaili Sari A. 2015. Investigating the effects of some factors on the amount of agar extracted from *Gracilaria corticata* on the shores of the Persian Gulf- Bandar Lange (In Persian). Scientific Journal of Iranian Fisheries, 15(1): 88–81.

Railton I.D. and Wareing P.F. 1973. Effect of abscisic acid on the levels of endogenous gibberellin like substances in *Solanum andigena*. Planta, 112: 65–69. doi: 10.1007/BF00386032

Rao S. and Rao M.U. 2002. Seasonal growth pattern in *Sargassum polycystum* C. Agardh (Phaeophyta, Fucales) occurring at Visakhapatnam, east coast of India. Indian Journal of Geo-Marine Sciences, 31(1): 26–32. doi: 10.1007/s10811-017-1165-8

Rasoulian M., Akbari Nasab M. and Naseri A. 2018. Increasing the accuracy of TPXO global tide model using TELEMAC numerical model in Bushehr Bay. Scientific Research Journal of Oceanography, 10(38): 11–16. doi: 10.29252/joc.10.38.11

Rugebregt M.J., Opier R.D.A., Abdul M.S., Triyulianti I., Kesaulya I., Widiaratih R., Sunuddin A. and Kalambo Y. 2023. Changes in pH associated with temperature and salinity in the Banda Sea. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1163: 1–7 (012001). doi: 10.1088/1755-1315/1163/1/012001

Saraswathi S.J., Babu B. and Rengasam R. 2003. Seasonal studies on the alginate and its biochemical composition I: *Sargassum polycystum* (Fucales), Phaeophyceae. Phycological Research, 51(4): 240–243. doi: 10.1111/j.1440-1835.2003.t01-1-.x

Sarkar P.K., Haque M.S. and Abdul Karim M. 2002. Effects of GA_3 and IAA and their frequency of application on morphology, yield contributing characters and yield of soybean. Journal of Agronomy, 1(3): 119–122. doi: 10.3923/ja.2002.119.122

Setyawidati N.A.R., Puspita M., Kaimuddin A.H., Widowati I., Deslandes E., Bourgougnon N. and Stiger-Pouvreau V. 2018. Seasonal biomass and alginate stock assessment of three abundant genera of brown macroalgae using multispectral high resolution satellite remote sensing: A case study at Ekas Bay (Lombok, Indonesia). Marine Pollution Bulletin, 131: 40–48. doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.11.068

Shahidi S. 2016. Investigating heavy metals zinc, copper and lead in macroalgae of intertidal area of Bushehr (In Persian). M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Iran. 300P.

Silva A., Silva S.A., Carpena M., Garcia-Oliveira P., Gullon P., Fatima Barroso M., Prieto M.A. and Simal-Gandara J. 2020. Macroalgae as a source of valuable antimicrobial compounds: Extraction and applications. Antibiotics, 25: 9(10): 1–41 (642). doi: 10.3390/antibiotics9100642

Silva-Navas J., Conesa C.M., Saez A., Navarro-Neila S., Garcia-Mina J.M., Zamarreno A.M., Baigorri R., Swarup R. and Del Pozo J.C. 2019. Role of cis-zeatin in root responses to phosphate starvation. New Phytologist, 224: 242–257. doi: 10.1111/nph.16020

Smith A. and Charles B. 1984. Cytokinins in *Eclonia maxima* and the effect of seaweed concentrare on plant growth. Ph.D. Thesis of Botany. University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa. 340P.

Strik W., Novak M.S. and Van Staden J. 2003. Cytokinines in macro-algae. Plant Growth Regulation, 41: 13–24. doi: 10.1023/A:1027376507197

Strik W., Novak O., Hradecka V., Pencik A., Rolcik J., Strnad M. and Van-Staden J. 2009. Endogenous cytokinines, auxines and abscisic acid in *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Dictyota humifusa* (Phaeophyta): Towards understanding their biosynthesis and homoeostasis. European Journal of Phycology, 44: 2231–2240. doi: 10.1080/09670260802573717

Sumandiarsa K., Bengen D.G., Santoso J. and Januar H.I. 2021. The relationship between seasonal and environmental variations with morphometric characteristics of *Sargassum polycystum* (C. Agardh. 1824) from Tidung, Sebesi and Bintan Islands Waters, Indonesia. Polish Journal of Natural Sciences, 36(1): 37–57. doi: 10.31648/pjns.7305

Sunarpi Jupri A., Kurnianingsih R., Julisaniah N.I. and Nikmatullah A. 2010. Effect of seaweed extracts on growth and yield of rice plants. Nusantara Bioscience, 2(2): 73–77. doi: 10.13057/nusbiosci/n020204

Verma V., Ravindran P. and Kumar P. 2016. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. BMC Plant Biology, 16: 1–10 (86). doi: 10.1186/s12870-016-0771-y

Vishal B. and Kumar P.P. 2018. Regulation of seed germination and abiotic stresses by gibberellins and abscisic acid. Frontiers Plant Science, 20(9): 1–15 (838). doi: 10.3389/fpls.2018.00838

Yan F., Li L., Yu D., Cui C., Zang S., Xu Z. and Wu H. 2021. Physiological responses of *Sargassum muticum*, a potential golden tide species, to different levels of light and nitrogen. Frontiers in Ecology and Evolution, 9: 1–11 (759732). doi: 10.3389/fevo.2021.759732

Yokota T., Murofushi N. and Takahashi N. 2014. Extraction, purification and identifica-tion. P: 113–2011. In: MacMillan J. (Ed.). Hormonal Regulation of Development I. Encyclopedia of Plant Physiology, New Serie, Vol 9. Springer, Germany. doi: 10.1007/978-3-642-67704-5

Yousefian M. 2020. A review on the effect of cytokinin hormone on plant growth. 11th National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture (In Persian). Hamedan, Iran. P: 1–10.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 11, No. 3, Autumn 2023

Research Paper

Investigation of alginate and two plant hormones from brown macroalga *Sargassum muticum* (Phaeophyta)

Hadigheh Saebmehr[1], Farnaz Rafiee[2]*, Mohammad Hadi Givianrad[3], Golaleh Mostafavi[4]

DOI: 10.22124/japb.2023.23731.1490
Received: February 2023 Accepted: July 2023

Abstract

Brown seaweeds contain compounds such as alginate and phytohormones that have many uses in industries. This research was conducted to determine biomass and extract two phytohormones and alginate from *Sargassum muticum*. Sampling was done from January 2014 to November 2015 in Bushehr port, one month apart. Biomass and environmental parameters were measured in the selected transect and the algae were sampled. After extraction, hormones were separated by HPLC and identified by standard injection. The highest biomass of alga was in January (679±2.12g/m^2) and the lowest was in September (20.67±0.76 g/m^2). Alginate reached the lowest leve (40.67±1.03%) in November and the highest level (54.67±2.25%) in January, which had a positive correlation with biomass. The highest amount of gibberellin (5.86±1.11%) was in July, which had a positive correlation with temperature. Zeatin was obtained only in May (0.18±0.07%). According to the results, in order to extract alginate, gibberellin and zeatin from this alga, it should be done in January, July and May, respectively. Considering the high price and the necessity of using these materials in industries, agriculture and as algae liquid fertilizer, this research is a starting point for extracting substances and hormones from this alga.

Key words: Sargassum, *Alginate*, *Zeatin*, *Gibberellin*.

1- Ph.D. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Marine Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3- Associate Professor in Department of Chemistry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4- Assistant Professor in Department of Biology, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding Author: farnaz.rafiee47@gmail.com