



پاسخ جلبک سبز-آبی آنابنا (*Anabaena sp.*) به جیبرلیک اسید

حکیمه منصوری^{۱*}، بهاره طالبی زاده^۲

DOI: 10.22124/japb.2022.22518.1471

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۱

چکیده

در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید در سه دوره رشد (۷، ۱۴ و ۲۱ روز) بر اندازه سلول‌های رویشی و هتروسیست‌ها، مقدار قندهای احیا کننده و پروتئین در جلبک سبز-آبی آنابنا مورد بررسی قرار گرفت. اندازه سلول‌های رویشی تحت تیمار جیبرلیک اسید و دوره زمانی تغییری را نشان نداد. طول و عرض سلول‌های هتروسیست تنها در غلظت ۱۰ میکرومولار جیبرلیک اسید در کشت ۷ روزه افزایش معنی‌داری را نشان داد. جلبک‌های تیمار شده با جیبرلیک اسید وزن تر بیشتری داشتند. جیبرلیک اسید تشکیل هتروسیست‌ها را بعد از ۱۴ و ۲۱ روز تحریک کرد. در جلبک‌های تیمار شده ۷ و ۱۴ روزه مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی کاهش و در جلبک‌های ۲۱ روزه افزایش یافت. استفاده از جیبرلیک اسید در محیط کشت بر درصد هتروسیست‌های جلبک‌ها بعد از ۷ روز تاثیر نداشت، ولی باعث افزایش تعداد هتروسیست‌ها در کشت‌های ۱۴ و ۲۱ روزه شد. میزان قندهای احیا کننده بسته به غلظت جیبرلیک اسید و دوره رشد تغییر کرد. تیمار با جیبرلیک اسید توانست در غلظت‌های مختلف و در دوره‌های رشد متفاوت باعث افزایش مقدار پروتئین شود. نتایج این مطالعه نشان دهنده تاثیر قابل توجه این تنظیم کننده رشد گیاهی بر برخی از شاخص‌های بررسی شده آنابنا بود.

واژگان کلیدی: هتروسیست، وزن تر، پروتئین، جیبرلیک اسید، آنابنا.

۱- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

* نویسنده مسئول: h_mansori@uk.ac.ir

مقدمه

جلبک‌های سبز-آبی (سیانوفیتا، سیانوباکتری‌ها) در زیستگاه‌های متفاوتی با عوامل محیطی به شدت متغیر مانند شدت و کیفیت نور، دما، مواد غذایی و آب وجود دارند (Tandeau De Marsac and Houmard, 1993; Whitton and Potts, 2000). آنها یک گروه از پروکاریوت‌های اتوتروف فتوسنتزی هستند و بعضی‌ها از آنها می‌توانند از نیتروژن اتمسفر استفاده کنند و سازگاری‌های جالبی را نسبت به محیط اطراف خود نشان می‌دهند (Stewart et al., 2006). جلبک‌های سبز-آبی هتروسیست‌دار به طور سنتی در مزارع برنج در آسیا به عنوان یک منبع نیتروژن (به صورت کود) استفاده می‌شوند، چون می‌توانند نیتروژن را تثبیت کنند و آن را به گیاهان دیگر انتقال دهند (Whitton, 2000). ثابت شده است که تقریباً ۴۰ درصد نیتروژن تثبیت شده به وسیله جلبک‌های سبز-آبی توسط گیاهان برنج استفاده می‌شود (Vaishampayan et al., 1998). جلبک‌های سبز-آبی همچنین در دیگر کشورهای در حال توسعه اهمیت پیدا کرده‌اند. چون مشکلات اقتصادی استفاده از کودها و آفات‌کش‌های مرسوم را که در طولانی مدت اثرات مضرى روی محصول‌دهی خاک و کیفیت محیط دارند، محدود کرده است (Kannaiyan et al., 1997). شواهد زیادی وجود دارد که بعضی از هورمون‌هایی که در گیاهان عالی وجود دارند، می‌توانند نقش‌های مشابهی در جلبک‌ها داشته باشند. بنابراین جلبک‌ها می‌توانند ابزار بسیار مفیدی برای مطالعه باشند. جیبرلین‌ها به عنوان ترکیبات محرک رشد در نظر گرفته می‌شوند و فرایندهایی مثل جوانه‌زنی دانه، رشد طولی ساقه، توسعه سلول و غیره را در گیاهان تنظیم می‌کنند (Olszewsk et al., 2002; Razem et al., 2006). استفاده از جیبرلین در محیط کشت جلبک *Isochrysis galbana* باعث افزایش رشد، مقدار پروتئین، کلروفیل a و لیپید شده است (Hosseini Madani et al., 2021). همچنین اثرات مثبت این فیتوهورمون بر رشد، افزایش پروتئین، کربوهیدرات و کلروفیل در *Tetraselmis suecica* و اثبات *Monodopsis subterranean* به ارباب رسیده است (Arora and Mishra, 2019; Kovalev et al., 2022). گزارش شده است تیمار *Nostock linkia* با جیبرلین باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a و کاروتنوئیدها شده است ولی مقدار فیکوبیلی پروتئین‌ها را افزایش داده

است (Mansouri and Talebizadeh, 2016).

در این مطالعه با توجه به اهمیت جلبک‌های سبز-آبی و موارد استفاده از ترکیبات فعال آنها در زمینه‌های مختلف مثل ترکیبات فیکوبیلی پروتئین، ترکیبات ضداسعه فرابنفش و استفاده به عنوان کود زیستی، اثر فیتوهورمون جیبرلیک اسید (GA3)، به عنوان یکی از انواع جیبرلین فعال) بر افزایش زیست توده جلبک سبز-آبی رشته‌ای آنابنا (*Anabaena* sp.) و تاثیر آن بر منوساکاریدها، پروتئین و تمایز هتروسیست‌ها در سه دوره زمانی متفاوت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک و تیماردهی

جلبک مورد مطالعه در این پژوهش ریزجلبک آنابنا (*Anabaena* sp.) از خانواده Nostocaceae است. این گونه از رودخانه‌ای با آب شیرین در روستای شصت فیچ از توابع شهرستان بافت استان کرمان جمع‌آوری شد. پس از خالص‌سازی و شناسایی با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و کلید شناسایی، در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری دارای ۲۰۰ میلی‌لیتر محیط BG11 کشت شدند. کشت‌ها زیر نور

سفید با شدت ۴۹ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه با دوره نوری ۱۶:۸ ساعته نور و تاریکی و دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سوسپانسیون‌ها از کشت ۱۴ روزه برای زیرکشت استفاده شد.

محیط کشت BG11 با غلظت‌های ۰، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید تهیه شد و با ۲۰ میلی‌لیتر کشت هموزن تلقیح شد (در سه تکرار). جلبک‌ها در پایان سه دوره زمانی ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ روزه با استفاده از سانتریفیوژ کل محیط کشت برداشت شدند و پس از فریز شدن در نیتروژن مایع تا زمان اندازه‌گیری در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

شمارش تعداد هتروسیست‌ها

برای مشخص شدن درصد هتروسیست‌ها در هر نمونه، تعداد آنها در ۱۰۰۰ سلول شمارش شد و به صورت درصد بیان شد. این کار در چندین میدان دید تصادفی در قسمت‌های مختلف لام انجام شد و در نهایت میانگینی از آن‌ها ارائه شد. شمارش با استفاده از میکروسکپ نوری (Olympus، ژاپن) انجام شد. اندازه سلول‌ها با استفاده از لام مدرج و زیر میکروسکوپ نوری محاسبه شد.

سنجش کلروفیل و کاروتنوئید

مقدار قندهای احیا کننده با روش Somogyi (۱۹۵۲) اندازه گیری شد. بر این اساس، ۰/۰۱ گرم زیست توده تازه جلبک با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ساییده و عصاره گیری شد. به ۲ میلی لیتر عصاره جلبکی، ۲ میلی لیتر محلول سولفات مس اضافه و در بن ماری با دمای جوش حرارت داده شد. سپس به آن ۲ میلی لیتر محلول اسید فسفومولیبیدیک افزوده شد. جذب نمونه ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد.

مقدار پروتئین کل مطابق با روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه گیری شد. ۵۰۰ میلی گرم از جلبک تازه با ۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ساییده شد. ۵ میلی لیتر معرف پروتئین به لوله های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره پروتئینی اضافه شد و محتویات به خوبی مخلوط شدند. جذب نمونه ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر بعد از ۲ دقیقه و قبل از ۱ ساعت اندازه گیری شد. از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد برای اندازه گیری محتوای پروتئین استفاده شد.

تمامی داده ها به صورت میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد ارائه شده اند و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و معنی داری

برای سنجش میزان کلروفیل a و کاروتنوئیدها از روش Sukran و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد. به این ترتیب که ۰/۱ گرم از نمونه جلبک در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر متانول ۹۶ درصد ساییده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۶، ۶۵۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. سپس غلظت رنگیزه ها با استفاده از رابطه های ۱ تا ۳ بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر محاسبه شد (Surkan et al., 1998).

رابطه ۱:

$$C_a \text{ (mg/g)} = 15.65A_{666} - 7.340A_{653}$$

C_a : غلظت کلروفیل a؛ A_{666} : جذب در طول موج ۶۶۶ نانومتر؛ A_{653} : جذب در طول موج ۶۵۳ نانومتر.

رابطه ۲:

$$C_b \text{ (mg/g)} = 27.05A_{653} - 11.21A_{666}$$

C_b : غلظت کلروفیل b؛ A_{653} : جذب در طول موج ۶۵۳ نانومتر؛ A_{666} : جذب در طول موج ۶۶۶ نانومتر.

رابطه ۳:

$$Car \text{ (mg/g)} = (1000A_{470} - 2.860C_a - 129.2C_b) / 245$$

Car : کاراتنوئید؛ C_a : غلظت کلروفیل a؛ C_b : غلظت کلروفیل b؛ A_{470} : جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر.

تفاوت‌ها با پس‌آزمون مقایسه چندگانه دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) برآورد شد. هیچ دوره زمانی تغییر معنی‌داری با سلول‌های شاهد نداشت (جدول ۱). تاثیر جیبرلیک اسید بر طول و عرض سلول‌های هتروسیست در جدول ۲ نشان داده شده است. طول و عرض سلول‌های هتروسیست تنها در غلظت ۱۰ میکرومولار جیبرلیک اسید در کشت ۷ روزه افزایش معنی‌داری را نشان داد.

نتایج

جدول ۱: اثر جیبرلیک اسید بر طول سلول‌های رویشی آنابنا در طول دوره تیمار (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$)

تیمار	غلظت جیبرلیک اسید (میکرومول)			
	۰	۱	۱۰	۱۰۰
طول سلول (میکرومتر)	۵/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۵/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۵/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۶/۰۰ \pm ۰/۰۰ a
روز ۷	۵/۰۰ \pm ۰/۰۰ b	۵/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۵/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۵/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab
روز ۱۴	۵/۰۰ \pm ۰/۰۰ b	۵/۰۰ \pm ۰/۰۰ b	۵/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۵/۰۰ \pm ۰/۰۰ b
روز ۲۱				

در هر ردیف، حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

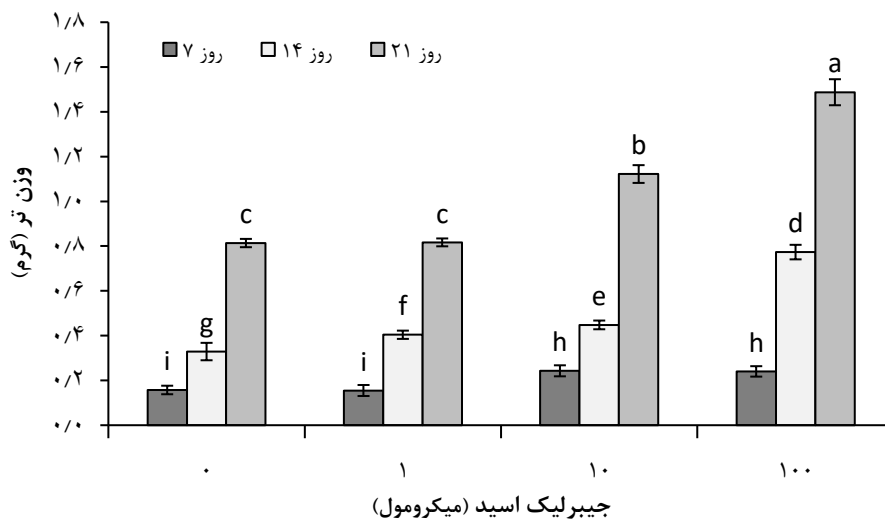
جدول ۲: اثر جیبرلیک اسید بر طول و عرض سلول‌های هتروسیست آنابنا در طول دوره تیمار (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$)

تیمار	غلظت جیبرلیک اسید (میکرومول)			
	۰	۱	۱۰	۱۰۰
عرض (میکرومتر)	۶/۰۰ \pm ۰/۰۰ b	۶/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۰۰ \pm ۰/۰۰ a	۶/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab
طول (میکرومتر)	۶/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۸/۰۰ \pm ۰/۰۰ a	۷/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab
عرض (میکرومتر)	۶/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۶/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۰۰ \pm ۰/۰۰ a	۷/۰۰ \pm ۰/۰۰ a
طول (میکرومتر)	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab
عرض (میکرومتر)	۶/۶۷ \pm ۰/۳۳ ab	۶/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۶/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۰۰ \pm ۰/۰۰ a
طول (میکرومتر)	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab	۷/۰۰ \pm ۰/۰۰ ab	۷/۳۳ \pm ۰/۳۳ ab

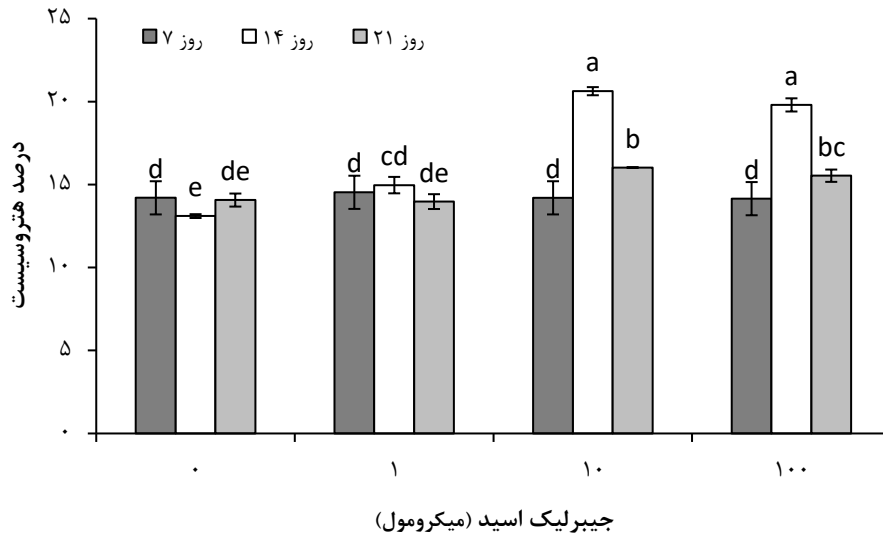
در هر ردیف، حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

وزن تر جلبک آنابنا در هر سه دوره رشد ۷، ۱۴ و ۲۱ روز تحت تاثیر جیبرلیک اسید افزایش یافت (شکل ۱). بیشترین تاثیر در غلظت ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید و در جلبک‌های ۲۱ روزه مشاهده شد. در صد هتروسیست‌ها بعد از گذشت ۱۴ روز از کشت، کاهش معنی‌داری را نسبت به جلبک‌های ۷ روزه نشان داد. استفاده از جیبرلیک اسید در محیط کشت بر درصد هتروسیست‌های جلبک‌ها بعد از ۷ روز

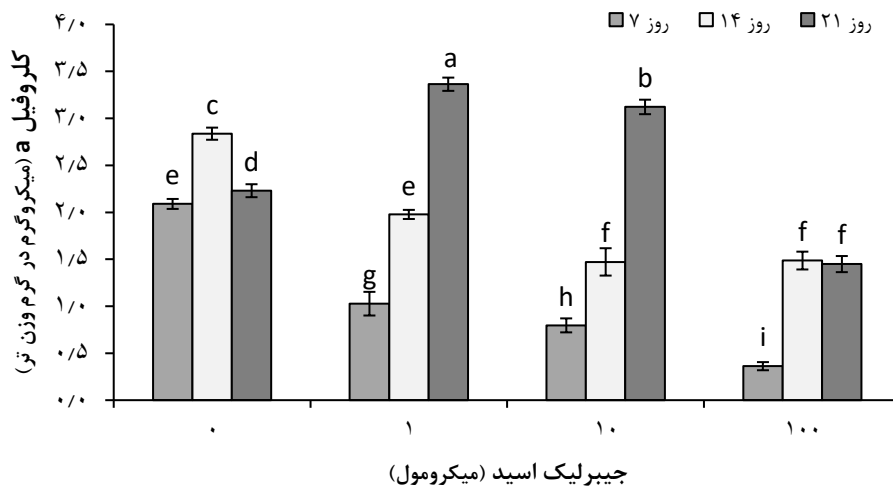
تاثیر نداشت، ولی باعث افزایش معنی‌دار تعداد هتروسیست‌ها در کشت‌های ۱۴ و ۲۱ روزه شد (شکل ۲). این تاثیر در کشت‌های ۱۴ روزه و در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید شدیدتر بود. مقدار کلروفیل جلبک با گذشت زمان ابتدا یک روند افزایشی را نشان داد و سپس یک روند کاهشی داشت، به طوری که جلبک‌های ۱۴ روزه بیشترین مقدار کلروفیل را داشتند (شکل ۳).



شکل ۱: اثر جیبرلیک اسید بر مقدار وزن تر در جلبک آنابنا در دوره‌های زمانی مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



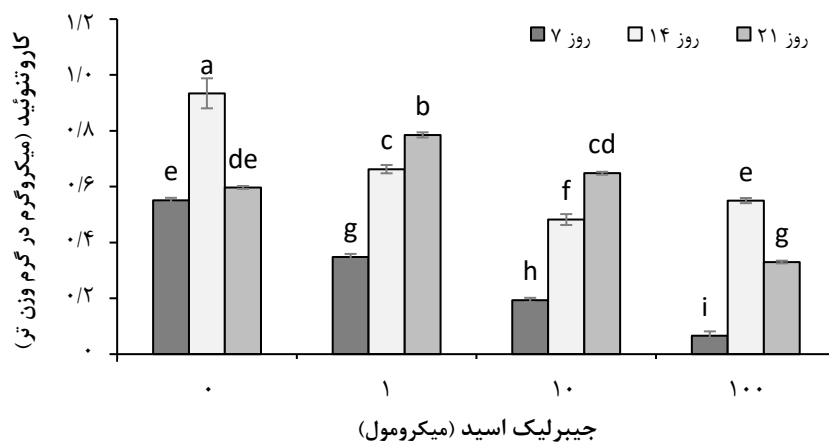
شکل ۲: اثر جیبرلیک اسید بر درصد هتروسیست در جلبک آنابنا در دوره‌های زمانی مختلف (میانگین ± خطای استاندارد؛ n=۳). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).



شکل ۳: اثر جیبرلیک اسید بر مقدار کلروفیل a در جلبک آنابنا در دوره‌های زمانی مختلف (میانگین ± خطای استاندارد؛ n=۳). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

در کشت‌های ۷ روزه استفاده از جیبرلیک اسید باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a شد و این کاهش وابسته به غلظت جیبرلیک اسید بود. در کشت ۱۴ روزه نیز مقدار کلروفیل a کاهش یافت ولی بین غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در کشت‌های ۲۱ روزه بیشترین مقدار کلروفیل در تیمار ۱ میکرومولار و سپس ۱۰ میکرومولار جیبرلیک اسید مشاهده شد. تیمار جلبک‌ها با غلظت ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a شد. در کشت‌های شاهد بیشترین مقدار کاروتنوئیدها، شبیه کلروفیل، در کشت ۱۴ روزه مشاهده شد

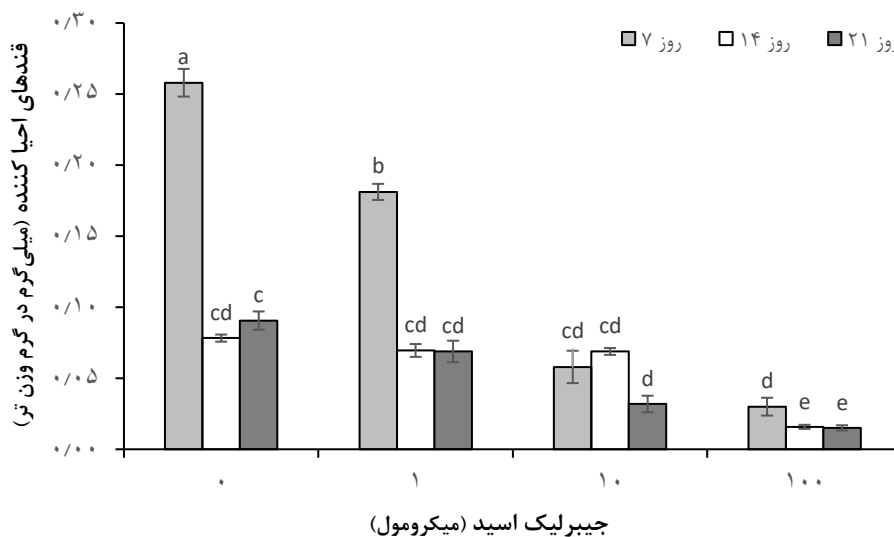
(شکل ۴). جیبرلیک اسید مقدار کاروتنوئید را در جلبک‌های ۷ روزه کاهش داد. این کاهش وابسته به غلظت بود و بیشترین کاهش در غلظت ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید مشاهده شد. در کشت‌های ۱۴ روزه نیز جیبرلیک اسید باعث کاهش معنی‌دار کاروتنوئیدها شد، ولی بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۱۰ میکرومولار جیبرلیک اسید بود. غلظت ۱ میکرومولار جیبرلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئیدها در جلبک‌های ۲۱ روزه شد. جلبک‌های ۲۱ روزه تیمار شده با ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید نسبت به کشت‌های شاهد ۲۱ روزه مقدار کمتری کاروتنوئید داشتند.



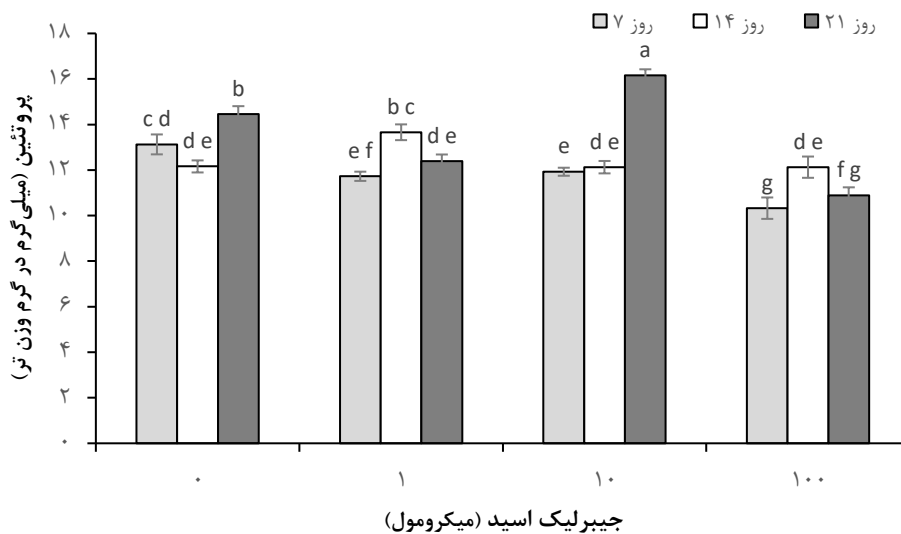
شکل ۴: اثر جیبرلیک اسید بر مقدار کاروتنوئیدها در جلبک آنابنا در دوره‌های زمانی مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

شده است. مقدار پروتئین در کشت ۲۱ روزه نسبت به کشت ۷ و ۱۴ روزه افزایش یافت. تیمار جیبرلیک اسید مقدار پروتئین را در کشت ۷ روزه کاهش داد. کمترین مقدار در غلظت ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید مشاهده شد. در کشت ۱۴ روزه اضافه کردن ۱ میکرومولار جیبرلیک اسید مقدار پروتئین را به طور معنی داری افزایش داد. بیشترین مقدار پروتئین در تیمار ۱۰ میکرومولار کشت ۲۱ روزه مشاهده شد، ولی دو غلظت ۱ و ۱۰۰ میکرومولار باعث کاهش مقدار پروتئین شد.

میزان قندهای احیا کننده در کشت ۷ روزه بیش از ۱۴ و ۲۱ روزه بود (شکل ۵). تیمار جیبرلیک اسید باعث کاهش قابل توجه مقدار قندهای احیا کننده در جلبک آنابنا شد. در کشت ۷ روزه این کاهش وابسته به غلظت جیبرلیک اسید بود و با افزایش غلظت، کاهش بیشتری در مقدار قندهای احیا کننده مشاهده شد. در کشت ۱۴ روزه غلظت ۱۰۰ میکرومولار و در کشت ۲۱ روزه غلظت ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار جیبرلیک اسید باعث کاهش مقدار قند شد. تغییرات مقدار پروتئین بر اساس زمان و غلظت جیبرلیک اسید در شکل ۶ نشان داده



شکل ۵: اثر جیبرلیک اسید بر مقدار قندهای احیا کننده در جلبک آنابنا در دوره‌های زمانی مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).



شکل ۶: اثر جیبرلیک اسید بر مقدار پروتئین در جلبک آنابنا در دوره‌های زمانی مختلف (میانگین ± خطای استاندارد؛ $n=3$). حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

Adair and Miller, 1982). مشخص شده

است که در بعضی از جلبک‌ها غلظت‌های بالای جیبرلین اثر بازدارندگی و غلظت‌های کم اثر تحریک‌کنندگی در اندازه سلول‌ها داشته است (Paster and Abbott, 1970). با توجه به اثر افزایشی GA3 بر اندازه هتروسیست‌ها ممکن است جیبرلیک اسید چنین تاثیری را در کوتاه مدت (کمتر از ۷ روز) روی سلول‌ها داشته باشد. ولی چون اندازه سلول در جانداران تک‌سلولی و چندسلولی به شدت کنترل می‌شود، ممکن است به راحتی تحت تاثیر قرار نگیرد.

بحث

جیبرلیک اسید یک فیتوهورمون کلیدی است که بر بعضی از فعالیت‌های ریزجلبک‌ها مثل تقسیم سلولی تاثیر می‌گذارد (Pan et al., 2008; Falkowska et al., 2011). بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، جیبرلیک اسید تاثیر معنی‌داری بر اندازه سلول‌های رویشی آنابنا نداشت. ثابت شده است در گیاهان، جیبرلیک اسید باعث توسعه سلول‌ها می‌شود. اما مطابق با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، تیمار جیبرلیک اسید تاثیری بر اندازه سلول‌های *Cyclotella cryptica* نداشت

از تجزیه آنها در فاز سکون جلوگیری کرده و به این ترتیب باعث افزایش مقدار رنگدانه‌ها در جلبک‌های ۲۱ روزه شده است. تاثیر GA3 بر رنگدانه‌های جلبک‌ها به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است. نتایج گزارش شده توسط Pan و همکارانش (۲۰۰۸) نشان داد که جیبرلین باعث افزایش محتوی کلروفیل در *Microcystis aeruginosa* شد. در مطالعه دیگری گزارش شده است که GA3 سبب افزایش محتوی کلروفیل کل و کاروتنوئیدها *Chlorella vulgaris* در روز اول، دوم و سوم کشت شده است، اما با گذشت زمان بیشتر و افزایش سن سلول‌ها، کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شد (Falkowska et al, 2011). همچنین افزایش مقدار کلروفیل a در جلبک *C. vulgaris* تیمار شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید مشاهده شد (Lin et al., 2018). مقدار کلروفیل a در جلبک *I. galbana* در تیمار ۶ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین کاهش معنی‌داری داشت (Madani et al., 2021).

در مطالعه حاضر، جیبرلیک اسید مقدار قندهای احیا کننده را در آنابنا کاهش داد. مشابه نتایج به دست آمده در این مطالعه، اضافه کردن جیبرلیک اسید به محیط کشت *M. aeruginosa* باعث کاهش مقدار این قندها

یکی از مهم‌ترین فرایندها در رشد بعضی از جلبک‌های سبز-آبی مانند آنابنا، تمایز سلول‌های هتروسیست در شرایط فقدان نیتروژن در محیط رشد است (Golden and Yoon, 2003). نتایج این مطالعه نشان داد جیبرلیک اسید در غلظت‌های خاص، تشکیل هتروسیست‌ها را القا می‌کند. در مطالعه‌ای که قبلا روی جلبک *Nostoc linckia* انجام شد، جیبرلیک اسید باعث کاهش تشکیل هتروسیست‌ها بعد از ۷ روز از کشت جلبک شد (Mansouri and Talebizadeh, 2016). این نتایج نشان دهنده اثرات متفاوت و پیچیده این هورمون بر گونه‌های مختلف جلبک‌های سبز-آبی است.

رنگدانه‌ها ترکیباتی مهم برای فتوسنتز و رشد فتواتوتروف‌ها هستند. نتایج این مطالعه نشان داد که جیبرلیک اسید در جلبک‌های ۷ و ۱۴ روزه به طور کلی سبب کاهش و در جلبک‌های ۲۱ روزه باعث افزایش محتوی کلروفیل a و کاروتنوئیدها شد. این موضوع نشان دهنده اثرات وابسته به نمو جیبرلین بر ساخت یا تجزیه این رنگدانه‌ها است. احتمالا دلیل این کاهش، تقسیم سریع سلول‌ها و نبودن زمان کافی برای تولید رنگدانه‌ها باشد. شاید جیبرلیک اسید از طریق مکانیسم‌های حفاظتی رنگدانه‌ها

C. vulgaris استفاده از GA3 مقدار پروتئين را افزايش داد (Pan et al., 2008; Falkowska et al., 2011). همچنين بايد اشاره کرد که تغييرات مقدار پروتئين در مطالعه حاضر رابطه مشخصى با تعداد هتروسيستها که محل تثبيت نيتروژن هستند نشان نداد. مشابه نتايج اين آزمائش، مقدار پروتئين در *Chlamydomonas*، *I. galbana* و *Chlorella minutissima reinhardtii* (Park et al., 2013; Stirk et al., 2014; Madani et al., 2021). افزايش فتوسنتز و جذب نيتروژن يك دليل احتمالى براى تجمع پروتئين در پاسخ به غلظت بهينه GA3 است (Han et al., 2018).

نتايج اين مطالعه نشان داد که جيبريليك اسيد با افزايش زيست توده، تعداد هتروسيستها، مقدار كلروفيل a و پروتئين اثرات قابل توجهى بر متابوليسم آنابنا دارد و احتمالاً اين تركيب به عنوان يك تنظيم کننده رشد درونى در اين موجودات زنده عمل مى كند.

شد (Pan et al., 2008). ولي Falkowska و همكاران (۲۰۱۱) گزارش كردند که تيمار GA3 مقدار قندهاى احيا کننده را در *C. vulgaris* افزايش داد. با اين وجود، کاهش مقدار كربوهيدراتها در *I. galbana* تيمار شده با جيبريليك اسيد مشاهده شده است (Madani et al., 2021). مشخص شده است که افزايش رشد ايجاد شده توسط جيبريليك اسيد از طريق افزايش ميزان مصرف مواد مغذى مثل كربوهيدراتها صورت مى گيرد (Yu et al., 2016). بنابراين کاهش مقدار قندهاى احيا کننده در اين پژوهش مى تواند به دليل افزايش مصرف آنها در جهت افزايش رشد باشد.

سنتز پروتئين به عنوان فرايند اصلى رشد و نمو در بسيارى از جانداران شناخته مى شود. بر اساس نتايج اين آزمائش، اثر جيبريليك اسيد بر مقدار پروتئين سلولهاى جلبكى، به غلظت جيبريليك اسيد و دوره رشد جلبك بستگى داشت و اثرات افزايشى و كاهشى بر مقدار پروتئين داشت. در *M. aeruginosa* و

منابع

- Adair O.V. and Miller M.W. 1982.** Growth responses of the diatome, *Cyclotella cryptica* (Bacillariophyceae), to gibberellic acid. *Journal of Phycology*, 18: 587–589.
- Arora S. and Mishra G. 2019.** Biochemical modulation of *Monodopsis subterranea* (Eustigmatophyceae) by auxin and cytokinin enhances eicosa-pentaenoic acid productivity. *Journal of Applied Phycology*, 31(6): 3441–3452.
- Bradford M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Journal of Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Falkowska M., Pietryczuk A., Piotrowska A., Bajguz A., Grygoruk A. and Czerpak R. 2011.** The effect of gibberellic acid (GA3) on growth, metal biosorption and metabolism of the green algae *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae) Beijerinck exposed to cadmium and lead stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20: 53–59.
- Golden J.W. and Yoon H.S. 2003.** Heterocyst development in *Anabaena*. *Current Opinion in Microbiology*, 6(6): 557–563.
- Han X., Zeng H., Bartocci P., Fantozzi F. and Yan Y. 2018.** Phytohormones and effects on growth and metabolites of microalgae: A review. *Fermentation*, 4: 1–15.
- Hosseini Madani N.S., Shamsaie Mehrgan M., Hosseini Shekarabi S.P. and Pourang N. 2021.** Regulatory effect of gibberellic acid (GA3) on the biomass productivity and some metabolites of a marine microalga, *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*, 33: 255–262.
- Kannaiyan S., Aruna S.J., Kumari S.M.P. and Hall D.O. 1997.** Immobilized cyanobacteria as a biofertilizer for rice crops. *Journal of Applied Phycology*, 9: 167–174.
- Kovalev N.N., Leskova S.Y., Mikheev Y.V., Pozdnyakova Y.M. and Esipenko R.V. 2022.** The effect of gibberellic acid on the production characteristics and biochemical parameters of *Tetraselmis suecica* in an enrichment culture. *KnE Life Sciences*, 228–235.
- Lin B., Ahmed F., Du H., Li Z., Yan Y., Huang Y., Cui M., Yin Y., Li B. and Wang M. 2018.** Plant growth regulators promote lipid and carotenoid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Journal of Applied Phycology*, 30: 1549–1561.

- Madani N.S.H., Shamsaie Mehrgan M., Hosseini Shekarabi S.P. and Pourang N. 2021.** Regulatory effect of gibberellic acid (GA3) on the biomass productivity and some metabolites of a marine microalga, *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*, 33(1): 255–262.
- Mansouri H. and Talebizadeh B. 2016.** Effect of gibberellic acid on the cyanobacterium *Nostoc linckia*. *Journal of Applied Phycology*, 28: 2187–2193.
- Olszewsk N., Sun T. and Gubler F. 2002.** Gibberellin signaling: Biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell*, 14: S61–80.
- Pan X., Chang F., Kang L., Liu Y., Li G. and Li D. 2008.** Effects of gibberellin A3 on growth and microcystin production in *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyta). *Journal of Plant Physiology*, 165: 1691–1697.
- Park W.K., Yoo G., Moon M., Kim C.W., Choi Y.E. and Yang J.W. 2013.** Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171: 1128–1142.
- Paster Z. and Abbott B.C. 1970.** Gibberellic acid: A growth factor in the unicellular alga *Gymnodinium breve*. *Science*, 169(3945): 600–601.
- Razem F.A., Baron K. and Hill R.D. 2006.** Turning on gibberellin and abscisic acid signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 9: 454–459.
- Somogyi M. 1952.** Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195: 19–23.
- Stewart I., Webb P.M., Schluter P.J. and Shaw G.R. 2006.** Recreational and occupational field exposure to freshwater cyanobacteria- A review of anecdotal and case reports, epidemiological studies and the challenges for epidemiologic assessment. *Environmental Health*, 5(1): 1–13.
- Stirk W.A., Balint P., Tarkowska D., Novak O., Maroti G., Ljung K., Tureckova V., Strnad M., Ordog V. and Van Staden J. 2014.** Effect of light on growth and endogenous hormones in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae). *Journal of Plant Biochemistry and Physiology*, 79: 66–76.
- Sukran D., Gunes T. and Sivaci R. 1998.** Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22(1): 13–18.
- Tandeau De Marsac N. and Houmard J. 1993.** Adaptation of cyanobacteria to environmental

stimuli: New steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 104: 119–190.

Vaishampayan A., Sinha R.P. and Hader D.P. 1998. Use of genetically improved nitrogen-fixing cyanobacteria in rice paddy fields: Prospects as a source material for engineering herbicide sensitivity and resistance in plants. *Botanica Acta*, 111: 176–190.

Whitton B.A. 2000. Soils and rice-fields. P: 233–255. In: Whitton B.A. and Potts M. (Eds.). *The Ecology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Whitton B.A. and Potts M. 2000. Introduction to the cyanobacteria. P: 1–11. In: Whitton B.A. and Potts M. (Eds.) *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic, Netherlands.

Yu X.J., Sun J., Sun Y.Q., Zheng J.Y. and Wang Z. 2016. Metabolomics analysis of phytohormone gibberellin improving lipid and DHA accumulation in *Aurantiochytrium* sp. *Biochemical Engineering Journal*, 112: 258–268.



Research Paper

The response of *Anabaena* sp. to gibberellic acid

Hakimeh Mansouri^{1*}, Bahareh Talebizadeh²

DOI: 10.22124/japb.2022.22518.1471

Received: June 2022

Accepted: August 2022

Abstract

In this study, the effect of gibberellic acid on vegetative and heterocyst cell size, inducing sugar and protein content was investigated in *Anabaena* at three durations (7, 14 and 21 days). According to the results, vegetative cell size did not show any significant differentiation under gibberellic acid treatments and time duration. Length and width of heterocyst cells showed a significantly different impact only with 10 μ M gibberellic acid at 7-day-old cultures. Algae treated with gibberellic acid had more fresh weight. Gibberellic acid induced heterocyst formation after 14 and 21 days. The amount of photosynthetic pigments increased in the 7 and 14-day cultures and decreased in the 21-day cultures. Application of gibberellic acid to the culture medium did not affect heterocyst percentage after 7 days, but it increased the heterocyst numbers in the 14 and 21-day cultures. Reducing sugar content changed dependence of gibberellic acid concentration and growth period. Treatment with gibberellic acid could increase protein content at different concentration and growth period. The results of this research showed notable effect of this plant growth regulator on *Anabaena*.

Key words: *Heterocyst, Fresh Weight, Protein, Gibberellic Acid, Anabaena.*

1- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

2- M.Sc. in Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

*Corresponding Author: h_mansori@uk.ac.ir