JAER

2025, 1(4): 131-140

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Investigating the effect of GABA on the biomass and the expression of some genes involved in the astaxanthin biosynthesis pathway of *Haematococcus pluvialis* under different light conditions

Ahmad Ghasemi* *, *Gholamreza Abdi, Afshin Jokar

Department of Biotechnology, Persian Gulf Research Institute, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

Key Words

GABA
Melatonin
Astaxanthin
Fatty acids
Haematococcus pluvialis
Different light conditions
Gene expression

Abstract

Introduction: Green microalgae contain a wide array of valuable metabolites that can potentially attract numerous biomanufacturing businesses. Among these microalgae, *Haematococcus pluvialis*, a unicellular freshwater microalga belonging to the Chlorophyceae class, is prevalent in numerous aquatic environments worldwide. It has gained recognition as the most abundant and auspicious reservoir for the industrial-scale synthesis of natural astaxanthin. The effects of γ-aminobutyric acid (GABA) (0 and 0.0001 g/L) on *Haematococcus pluvialis* different light condition were investigated in order to find the best inducer and suitable light type (white, blue, and red light) for maximizing the photosynthesis efficiency and low-cost production.

Materials & methods: Microalgal cells, after growth phase, were subjected to the different treatments and cell growth rate, chlorophyll, carotenoids, total astaxanthin content, and the expression of some involved genes in astaxanthin biosynthesis pathways (psy, lcy, bkt2) were measured.

Results: The results showed that the blue light increased cell division and growth efficiency (2.64-fold) and red light increased biosynthesis and accumulation of astaxanthin (94.4 mg/g). Additionally, using GABA enhanced the cell growth and astaxanthin production. GABA under red light resulted to a significantly higher accumulation of astaxanthin compared to white and blue light, although it had a lower cell growth rate and division. Gene expression results also indicated that GABA significantly induces psy and pds genes under blue and red light.

Conclusion: Collectively, our findings offer a coordinated approach to enhance the coproduction of astaxanthin by using the combination of red illuminate and GABA which influences on cell proliferation and astaxanthin synthesis in *H. pluvialis*.

Article info

* Corresponding Author's email:
aqasemi@gmail.com

Received: 30 August 2024
Reviewed: 4 October 2024
Revised: 6 December 2024
Accepted: 6 January 2025

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی تأثیر گابا بر زیست‌توده و بیان برخی ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز آستاگزانتین هماتوکوکوس پلوویالیس(*Haematococcus pluvialis*) تحت شرایط مختلف نوری

احمد قاسمی*، غلامرضا عبدی، افشین جوکار

گروه زیست‌فناوری، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

کلمات کلیدی

گابا
ملاتونین
آستاگزانتین
اسیدهای چرب
هماتوکوکوس پلوویالیس
شرایط مختلف نوری
بیان ژن

چکیده

مقدمه: هماتوکوکوس پلوویالیس، یک ریزجلبک سبز است که به‌دلیل توانایی آن در تولید مقادیر زیادی آستاگزانتین مورد علاقه صنعت است. از این ریزجلبک به‌عنوان یک سیستم تولید زیستی، برای تولید آستاگزانتین استفاده می‌شود. این پژوهش باهدف افزایش تولید آستاگزانتین در هماتوکوکوس پلوویالیس از طریق القاگر گابا در شرایط نوری مختلف انجام گردید. انتخاب یک القاگر و نور مناسب، این پتانسیل را دارد که بهره‌وری فتوسنتز را به حداکثر برساند و منجر به کاهش هزینه‌های کلی تولید شود.

مواد و روش‌ها: سلول‌های ریزجلبک، بعد از عبور فاز رشد، در ٦ تیمار متفاوت با سه تکرار برای گابا با غلظت‌های (صفر و ۰/۰۰۰۱ گرم در لیتر) و زیر تابش نور LED با سه رنگ سفید، آبی و قرمز با چرخه خواب بیداری (١٦-٨) تیمار داده شد. پارامترهای میزان رشد سلول‌ها، کلروفیل، کاروتنویید، مقدار آستاگزانتین کل و بیان برخی از ژن‌های مسیر بیوسنتز آستاگزانتین (psy، lcy، bkt2) موردبررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که نور آبی نسبت به نور سفید بازده تقسیم و رشد سلولی را افزایش داد (٢/٦٤ برابر) و نور قرمز نسبت به نور سفید میزان بیوسنتز و انباشت آستاگزانتین را افزایش داد (٤/٩٤ میلی‌گرم بر گرم). هم‌چنین، گابا رشد سلولی، تولید آستاگزانتین را افزایش می دهد. با استفاده از گابا در نور قرمز، انباشت آستاگزانتین مقدار قابل‌توجهی بالاتر از نورهای سفید و آبی بود؛ ولی سرعت رشد و تقسیم سلولی کم‌تری نیز داشت. نتایج بیان ژن مسیر سنتز آستاگزانتی نیز نشان داد که گابا در نور آبی و قرمز، را به‌طور قابل‌توجهی القا می‌کند.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طورکلی گابا با نور قرمز بیش‌ترین میزان تولید آستاگزانتین را ایجاد می‌کند بنابراین گابا به‌همراه نور قرمز می‌تواند به‌عنوان یک محرک رشد و تولید استاگزاتین استفاده گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
aqasemi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹ شهریور ۱٤۰۳
تاریخ داوری: ۱۳ مهر ۱٤۰۳
تاریخ اصلاح: ١٦ آذر ۱٤۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۷ دی ۱٤۰۳

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

مقدمه

کاروتنوئید به‌عنوان اجزای سلولی ضروری در میکروارگانیسم‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، گیاهان عالی، حیوانات و انسان‌ها شناخته‌شده‌اند. آن‌ها هم‌چنین یکی از اصلی‌ترین رنگ‌های طبیعی غذایی با استفاده گسترده هستند. اگرچه عموماً حیوانات قادر به سنتز کاروتنوئیدهای جدید نیستند. در موجودات زنده، این ترکیبات حساس به نور نقش‌های مهمی مانند رنگ‌آمیزی بدن، بافت‌ها ایفا می‌کنند و امکان سازگاری رنگی با محیط و هم‌چنین با به عهده گرفتن عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی مانند تنفس و بینایی را دارند(۱). ویژگی شیمیایی مشترک کاروتنوئیدها زنجیره پلی‌لن؟ است، یک سیستم پیوند دوگانه مزدوج طولانی که مسئول فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها با خاموش کردن اکسیژن منفرد و از بین بردن رادیکال‌ها برای پایان دادن به واکنش‌های زنجیره‌ای است. رفتار مختلف آنتی اکسیدانی کاروتنوئیدها ناشی از ساختار متفاوت گروه‌های انتهایی و تعداد و موقعیت گروه‌های متیل است (۲). از میان تمامی کاروتنوییدها، فقط تعداد بسیار کمی به‌صورت تجاری شامل بتاکاروتن، آستاگزانتین، لوتئین، زآگزانتین، لیکوپن (Lycopene) و بیکسین (Bixin) مورد استفاده قرار می‌گیرند. مهم‌ترین کاربرد آن‌ها به‌عنوان رنگ‌های خوراکی طبیعی (مانند آب‌پرتقال) و افزودنی برای خوراک حیوانات (طیور، ماهی) است. ارتباط تغذیه‌ای و درمانی برخی کاروتنوئیدها به دلیل توانایی آن‌ها، به‌عنوان پرو ویتامین A است. از بین چندین کاروتنوئید موجود طبیعی، آستاگزانتین یکی از بهترین کاروتنوئیدها است که می‌تواند از سلول‌ها، لیپیدها و لیپوپروتئین‌های غشایی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت کند (۱). آستاگزانتین در مقایسه با کاروتنوئیدهای مختلف مانند لوتئین، لیکوپن، الفاکاروتن و بتاکاروتن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری را دارد (۳). هماتوکوکوس پلوویالیس یک ریزجلبک تک‌سلولی آب شیرین، متعلق به کلاس جلبک سبز کلروفیاسه است. به‌دلیل ظرفیت بالای تولید آستاگزانتین، یک آنتی اکسیدان قوی که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان رنگ‌دانه و هم‌چنین یک جزء تغذیه‌ای در آبزی‌پروری و مکمل‌های غذایی استفاده می‌شود، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. مصرف‌کنندگان در مورد استفاده از آستاگزانتین سنتز شده شیمیایی به‌عنوان رنگ در صنعت آبزی‌پروری قزل‌آلای رنگین‌کمان ابراز نگرانی کرده‌اند و تقاضا برای آستاگزانتین با منبع طبیعی در حال افزایش است (۴). در طول مراحل ایجاد هماتوسیست، طول‌موج‌های مختلف نور بر تجمع آستاگزانتین در هماتوکوکوس پلوویالیس گزارش شد. به‌عنوان‌مثال، نور آبی برای تجمع آستاگزانتین به‌جای نور قرمز مطلوب است. بنابراین، طول موج‌های مختلف نور بر مسیر بیوسنتز آستاگزانتین تأثیر می گذارد (۵). هماتوکوکوس پلوویالیس با سرعت نسبتاً کم‌رشد می‌کند و مقدار ناچیز آستاگزانتین را جمع می‌کند برای تولید مقیاس تجاری، اگر کشت تک‌مرحله‌ای در نظر گرفته شود بسیار کم است (۶). پیشرفت‌های اخیر در کشت هماتوکوکوس پلوویالیس برای تولید آستاگزانتین شامل یک سیستم کشت میکروتروفیک دومرحله‌ای و یک بیوفیلم بی‌حرکت است، یعنی کشت پیوسته است که درکشت پیوسته چگالی بهینه تلقیح و شدت نور به‌ترتیب ۱۰ گرم در مترمربع و ۱۰۰ میکرومول در مترمربع بر ثانیه می‌شود (۷). مطالعات نشان داده‌اند که هم رشد و هم تولید آستاگزانتین در شرایط کشت میکسوتروفیک قابل افزایش است درحالی‌که تولید آستاگزانتین در شرایط کشت فوتوتروفیک القا شد. القای تجمع آستاگزانتین در شرایط محرومیت نیتروژن و با استفاده از دی‌اکسیدکربن به‌عنوان منابع کربن انجام شد. مقدار آستاگزانتین سلولی بسیار بالا حاصل شد (۸). تأثیر نور قرمز و اسید گابا-آمینو بوتیریک(GABA) بر تولید آستاگزانتین در برخی از ارگانیسم‌ها، از جمله جلبک‌ها، در تحقیقات علمی مورد مطالعه قرار گرفته است (۹). نور قرمز، به‌ویژه طول موج‌هایی در محدوده ۷۰۰-۶۰۰ نانومتر، توسط کلروفیل جذب می‌شود و می‌تواند فتوسنتز در جلبک‌ها را تحریک کند. افزایش فعالیت فتوسنتزی می‌تواند منجر به افزایش تولید کاروتنوئیدها، از جمله آستاگزانتین، گردد زیرا که در کلروپلاست‌ها سنتز می‌شوند. هم‌چنین نور قرمز ممکن است بر تنظیم بیان ژنی مرتبط با بیوسنتز کاروتنوئیدی تأثیر بگذارد. این می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌های مرتبط با مسیر کاروتنوئیدی تأثیر گذاشته و باعث افزایش سنتز آستاگزانتین شود که نتیجه مشابهی در این تحقیق به‌دست آمد. هم‌چنین گابا تاثیر مثبتی بر روند تولید استاگزانتین داشت (۱۰). GABA به‌عنوان یک اسیدآمینه غیرپروتئینی، نقش‌های متنوعی در فرآیندهای سلولی و مسیرهای سیگنال‌دهی در ارگانیسم‌های مختلف ایفا می‌کند. مطالعات نشان می‌دهند که GABA ممکن است به‌عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده که بر مسیرهای متابولیکی، ازجمله مسیرهای مرتبط بابیوسنتز کاروتنوئیدی تأثیر می‌گذارد، عمل کند. هم‌چنین GABA با کاهش استرس در گیاهان و جلبک‌ها ارتباط دارد. شرایط استرس ممکن است باعث تحریک تولید ترکیبات محافظ مانند کاروتنوئیدها، ازجمله آستاگزانتین، شود. GABA ممکن است با کاهش استرس و در نتیجه تغییر مسیرهای متابولیکی به سمت سنتز کاروتنوئیدها، به‌طور غیرمستقیم بر تولید آستاگزانتین تأثیر بگذارد. هر دو نور قرمز و GABA می‌توانند مسیرهای متابولیکی و عبارات ژنی را تنظیم کرده و به‌طور غیرمستقیم بر تولید آستاگزانتین تأثیر بگذارند. با این حال، اثرات خاص آن‌ها می‌تواند بسته به نوع ارگانیسم، نوع ژن، شرایط محیطی و شدت نور قرمز یا غلظت GABA که استفاده می‌شود، متفاوت باشد. پژوهش‌ها هم‌چنان به بررسی این عوامل و مکانیسم‌های

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

دقیق آن‌ها برای بهینه‌سازی تولید آستاگزانتین در ارگانیسم‌های مختلف برای کاربردهای پتانسیلی در صنایعی نظیر داروسازی، آبزی‌پروری و مکمل‌های غذایی ادامه دارد (۱۱). آستاگزانتین یکی از ترکیبات پرارزش ریز جلبک‌ها است که هماتوکوکوس پلوویالیس ازجمله ریز جلبک‌هایی است که توانایی سنتز و انباشت این مولکول را تا چهار درصد زیست‌توده را داراست. تحقیقات بی‌شماری در مورد مزایای بالقوه آستاگزانتین برای انسان و حیوانات صورت گرفته و کارهای زیادی در شناسایی، تولید و استفاده از منابع طبیعی آن نیز انجام شده است. با توجه به این نکته که آستاگزانتین ازجمله متابولیت های ثانویه (ترکیباتی که توسط سلول‌ها در شرایط خاص سنتز می‌شود و سلول‌ها در شرایط عادی نیازی به تولید آن‌ها ندارند) است، ایجاد شرایط کشت مناسب و تنشی برای تولید و انباشت این ترکیب باید به‌گونه‌ای باشد که به سلول‌ها آسیب وارد نشده و منجر به مرگ سلول‌ها نگردد، هم چنین شرایط تنشی به‌گونه‌ای تنظیم شود که مقدار بیش تری از آستاگزانتین توسط سلول‌های جلبک تولید شود (۱۲). تولید آستاگزانتین در سلول‌های جلبک، به القاگرهای نور و محرک‌های شیمیایی وابسته است. اضافه کردن موادی چون گابا و ملاتونین که موجب ایجاد تغییراتی شیمیایی در محیط سلول‌ها می‌شوند، در زمره محرک‌های شیمیایی قرار می‌گیرند. بنابراین هدف این پژوهش افزایش توان تولید آستاگزانتین و محصول جانبی آن (اسیدهای چرب) از طریق القاگر گابا و نور می‌باشد.

مواد و روش‌ها

انجام این پژوهش، شامل سه مرحله اصلی کشت، اعمال تیمار، سنجش کمی و کیفی و تحلیل داده‌های آماری است که هر یک از این فرآیندها به شرح زیر است:

تهیه سلول‌های جلبک: این‌گونه جلبکی آب‌شیرین، ریزجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس است که به‌صورت نمونه‌های آماده تجاری قابل تهیه می‌باشند. این نمونه در حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر از شرکت توسعه ذخایر زیستی جلبک‌های فارس واقع در شهر شیراز، پارک علم و فناوری فارس تهیه گردید. کشت اولیه و تولید زیست‌توده: به جهت کشت ریزجلبک، در محیط مایع از محیط کشت BBM با مقادیر درشت مغذی‌ها و ریزمغذی‌ها استاندارد استفاده شد (۱۳). محیط کشت به‌صورت ۵ استوک (A، B، C، D و E) به‌میزان غلظت x۱۰ آماده‌شده و با اتوکلاو استریل گردید. سپس به جهت غنی‌سازی محیط کشت، ویتامین‌های (B1، B6 و B12) نیز به‌صورت محلول با غلظت یک میکروگرم در لیتر با آب دو بار تقطیر به‌صورت جداگانه رقیق شد و تهیه گردید و برای کشت در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر به میزان ۱۰ میلی‌لیتر استوک ریزجلبک در آب دو بار تقطیر استریل شده در دمای ۱۲۱/۸ و فشار ۲Bar، کشت گردید و سپس برای بار دوم پس از ۲ روز در ارلن‌مایر ۵۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مطابق با دستورالعمل کشت داده شد. سلول‌های رویشی سبز در فاز رشد نمایی، پس از انکوباسیون ۲ روزه، با استفاده از سانتریفیوژ در xg ۳۵۰۰ برای ۱۰ دقیقه، یک‌بار با محیط BBM بدون نیترات تازه (BBM-N) شسته شد و سپس در محیط BBM-N دوباره به حالت تعلیق درآمد. تراکم سلولی به ۲×۱۰^{۵} سلول در میلی‌لیتر تنظیم شد، سپس کشت‌ها دوباره به ظروف موردنظر ریخته شد و برای ۶ روز دیگر در معرض شرایط نوری مدنظر قرار گرفت. بعد از مدت ۸ روز و افزایش تعداد سلول‌ها تا به حد مدنظر، کشت به حجم بالاتر (ml۱۰۰۰) پاساژ داده شد و در مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر به ازای هر ۱ لیتر محیط کشت، با استفاده از آب دو بار تقطیر استریل شده کشت گردید. درنهایت، با تکمیل فرآیند کشت و رساندن استوک به حجم ۶ لیتر برای کشت و القای تیمار استفاده شد. به این صورت، در ازای هر لیتر محیط کشت مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر استوک استفاده گردید.

جدول ۱: مقادیر استفاده‌شده در ساخت محیط کشت BBM

استوک	مقدار ماده مصرفی (گرم بر لیتر)	نوع ماده مصرفی
A	۲/۵	$NaNO_3$
	۰/۲۵	$CaCl_2.2H_2O$
	۰/۷۵	$MgSO_4.7H_2O$
	۰/۷۵	K_2HPO_4
	۱/۷۵	KH_2PO_4
	۰/۲۵	NaCl
B	۵	EDTA
	۳/۱	KOH
C	۰/۴۹۸	$FeSO_4.7H_2O$
	۱ میلی‌لیتر	H_2SO_4
D	۰/۸۸۲	$ZnSO_4.7H_2O$
	۰/۱۴۴	$MnCl_2.4H_2O$
	۰/۰۷	MoO_3
	۰/۱۶	$CuSO_4.5H_2O$
E	۱/۱۴	H_3BO_3

القای سلولی: در انتهای مرحله رشد در حجم ۶ لیتری (۳ عدد ارلن مایر ۲ لیتری)، محلول حاوی سلول‌ها در ارلن مایرهای ۲ لیتری تقسیم شد. هر یک از ۶ تیمار مختلف در ۳ تکرار تهیه گردید و در مجموع تعداد ۱۸ ارلن مایر ۲ لیتری کشت جهت القای تیمار، آماده گردید. ریزجلبک‌ها با غلظت محرک گابا و سه رنگ LED به رنگ‌های

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

سفید، آبی و قرمز در محفظه‌های از پیش‌ساخته شده و ایزوله تیمار بندی شد انجام شد. هوادهی تمامی تیمارها یکسان و میزان هوای ورودی ۲۴ ساعته با شدت‌جریان هوای ثابت (ده لیتر در ساعت) صورت گرفت و به‌منظور حذف آلودگی‌های هوا از فیلتری که با پنبه استریل و زغال فعال ساخته‌شده بود استفاده گردید.

تیماربندی و نوردهی: در این پژوهش، تیمار مختلف نور مورد استفاده شامل سه نور آبی، قرمز و آفتابی است که در آن هماتوکوکوس پلوویالیس را با LEDهایی قرمز و آبی با روشنایی ۷۰ میکرومول متر مربع بر ثانیه و نور آفتابی ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه کشت شدند. هم‌چنین، با استفاده از گابا که مقدار آن صفر و ۰/۰۰۰۱ گرم بر لیتر در نظر گرفته شد طی شرایط مختلف نوری قرار داده شدند. اثرات طول‌موج بر سرعت رشد و تجمع آستاگزانتین در سلول‌ها در طول دوره نوری مورد آزمون، شامل دوره‌های تاریکی-روشنایی (۱۶:۸) ساعته خواهد بود، مورد بررسی قرار گرفت.

جدول۲: تیماربندی و کلمات اختصاری هر تیمار

نوع تیمار	عنوان تیمار به اختصار
نور سفید+شاهد	WC
نور سفید+گابا	WG
نور آبی+شاهد	BC
نور آبی+گابا	BG
نور قرمز+شاهد	RC
نور قرمز+ گابا	RG

القای تنش: القای سنتز کاروتنوئید در هماتوکوکوس پلوویالیس با محتوای آستاگزانتین سلول‌ها و نهایتاً محتوای کل آستاگزانتین ارتباط مستقیمی دارد. در این راستا، در روز ۱۲ با استفاده از نمک (سدیم کلرید) برای تحریک و انتقال ریزجلبک به فاز تولید آستاگزانتین استفاده گردید و به ازای هر لیتر ۰/۱۶ گرم نمک (۲ میلی مولار) به ارلن‌های حاوی ریزجلبک اضافه شد.

سنجش‌های رشد سلولی: برای شمارش تعداد سلول‌های جلبکی در طی کشت روزانه یک‌بار از تیمارها نمونه‌برداری کرده و به‌وسیله لام هموسیتومتر در زیر میکروسکوپ شمارش انجام شد. سنجش شاخصه‌های رشد غلظت زیست‌توده، مقدار کلروفیل و کاروتنویید نیز به‌وسیله اسپکتروفومتر (Microplate Reader Synergy HTX) UVevisible اندازه‌گیری شد. توده خشک از محاسبه منحنی کالیبراسیون بین جذب و وزن زیست‌توده خشک محاسبه شد (۱۴). جهت اندازه‌گیری مقدار رنگ‌دانه‌ها (کلروفیل و کاروتنوئید) از روش Zozio و همکاران استفاده گردید (۱۵). برای خوانش جذب در طول‌موج‌های مربوط به کلروفیل‌ها و رنگ‌دانه‌های کاروتنوئیدی یک میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی ریزجلبک نمونه‌گیری شد. به‌مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۳۰۰۰ دوربردقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار یک میلی‌لیتر از استون ۸۰ درصد (حجمی/حجمی) اضافه شد. مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. با تکان دادن و پیپت شدید سلول‌ها شکسته شده و رنگ‌دانه‌ها جدا شد. در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی جذب محلول در برابر بلانک استون ۸۰ درصد در طول‌موج‌های ۴۱۲، ۴۳۱، ۴۵۰، ۴۶۰، ۴۷۴، ۴۷۰ و ۴۸۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از رابطه‌های زیر مقادیر موردنظر محاسبه گردید:

مقادیر کلروفیل های A و B (ug/ml)

$$C\ chl.a=-۱/۷۰۹(A۴۱۲)+۱۱/۹۷۰(A۴۳۱)-۲/۹۹(A۴۶۰)-۵/۷۱(A۴۸۰)$$

$$C\ chl.b = -۰/۱۷(A۴۱۲)-۰/۲۳(A۴۳۱)+۱۱/۸۷(A۴۶۰)-۱۳/۲۵(A۴۸۰)$$

C chl.a: غلظت کلروفیل A (mg/L)، C ch.b: غلظت کلروفیل B (mg/L)، $A_{۴۱۲}$: جذب در طول‌موج ۴۱۲ نانومتر، $A_{۴۳۱}$: جذب در طول موج ۴۳۱ نانومتر، $A_{۴۶۰}$: جذب در طول‌موج ۴۶۰ نانومتر، $A_{۴۸۰}$: جذب در طول‌موج ۴۸۰ نانومتر

مقدار چرا دو واحد مختلف ذکر شده است کاروتنویید کل (ug/ml)

$$Cx+c = ۱۰۰۰(A)_{۴۷۰}-۰/۲۷(Ca) - ۸۱(۰/۴Cb)/۱۹۸$$

Cx+c: کاروتنویید کل، Ca: کلروفیل a، Cb: کلروفیل b، مقدار بتا کاروتن (ug/ml)

$$\beta\text{-carotene} =-۰/۴۳(A۴۱۲)+۰/۲۵(A۴۳۱)-۴/۳۸(A۴۶۰)+۱۴/۲۲(A۴۸۰)$$

مقدار آستاگزانتین (ug/ml)

$$C\ ast = (A_{۴۷۴}-۰/۰۸۳)/۰/۱۴۳$$

C ast: غلظت آستاگزانتین، $A_{۴۷۴}$: جذب نوری نمونه در طول‌موج ۴۷۴ نانومتر

سنجش بیان ژن (RT-PCR): برای تحلیل تغییرات ژن‌های مسیر بیوسنتز آستاگزانتین (lcy، psy و bkt2) در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ نمونه‌گیری انجام گردید. در زمان نمونه‌گیری، نمونه جمع‌آوری شده از سه ارلن (تکرار)، مخلوط و به‌عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. برای هر نمونه ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت، در دور ۱۰۰۰۰rpm واحد برحسب g سانتریفیوژ گردید. رسوب حاصل با آب مقطر شسته، بلافاصله توسط نیتروژن مایع منجمد و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. به‌جهت استخراج RNA، از کیت استخراج شرکت دنازیست ایران استفاده شد با این دستورالعمل استوک RNA برای انجام مراحل بعد آماده گردید و تازمان استفاده در دمای منفی ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در ادامه برای اجرای واکنش RT-PCR، با بهره‌گیری از ۵۰۰ نانوگرم از RNA و پرایمر Randum hexamer با بهره‌گیری از کیت First Strand cDNA Synthesis Kit RevertAid (Thermo Scientific، آمریکا)، در حجم ۲۰ میکرولیتر

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

cDNAسنتز گردید. توالی آغازگرهای ژن‌های مسیر بیوسنتز آستاگزانتین (lcy، psy و bkt2 موردنظر بر اساس انتخاب گردید و ژن 18sRNA به‌عنوان ژن مرجع انتخاب گردید (جدول ۳). به‌منظور ارزیابی بیان ژن از روش PCR در زمان حقیقی و روش مقایسه‌ای CtΔ انجام شد. روش آزمون بر پایه کاربرد رنگ سایبرگرین استوار بود. در این مطالعه از ژن 18sRNA به‌عنوان کنترل داخلی استفاده و بیان ژن‌های دیگر در مورد مطالعه با توجه به بیان ثابت این ژن ارزیابی گردید. برای هر نمونه سه تکرار و نمونه‌های کنترل منفی فاقد cDNA در هر واکنش در نظر گرفته شد.

جدول ۳: آغازگرهای مورد استفاده در سنجش بیان ژن

Primer	Primer sequence (5′-3′)	Annealing	GenBank ID
psyF	CGATACCAGACCTTCGACG	55	AF305430
psyR	TGCCTTATAGACCACATCCAT	60	X86783
lycF	TGGAGCTGCTGCTGTCCCT	61	AY603347
lycR	GAAGAAGAGCGTGATGCCGA	60	AF082325
bkt2F	CAATCTTGTCAGCATTCCGC	61	U70590.1
bkt2R	CAGGAAGCTCATCACATCAGA	62	JQ867352.1,
18sF	CAAAGCAAGCCTACGCTCT	60	JQ867352.1,
18s R	ATACGAATGCCCCCGACT	60	JQ867352.1,

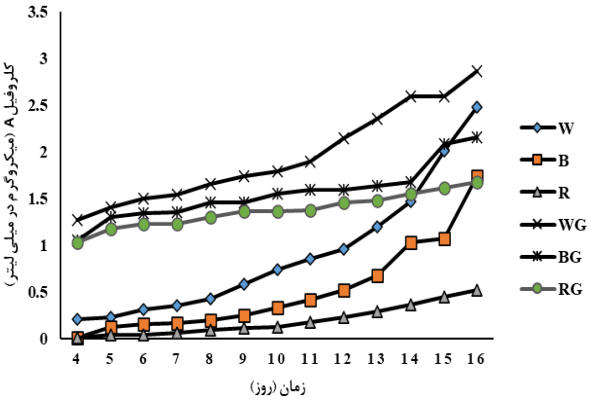
ترکیبات مواد (Mastermix Sybergreen Amplicon) مخصوص واکنش PCR در زمان حقیقی به‌ترتیب در ویال‌های مخصوص ۰/۲ میلی‌لیتری در پوش‌دار اضافه شد و برنامه دستگاه جهت واکنش با شرایط چرخه شامل واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه، مرحله دوم ۴۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه و منحنی ذوب از دمای ۵۰ تا ۹۹ بود میزان بیان ژن با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه گردید (۱۶).

تحلیل آماری: برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ و نرم‌افزار Microsoft Office Excel ویرایش ۲۰۱۶ برای رسم نمودارها استفاده گردید. نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف اسمیرنوف بررسی شد. پس از اطمینان از توزیع نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و برای مقایسه واریانس‌ها و بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها از پس‌آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

نتایج کشت و تراکم سلولی: کشت سلول‌های هماتوکوکوس پلوویالیس به‌مدت‌زمان ۱۶ روز در محیط کشت BBM انجام گردید. بعد از القای محرک‌های گابا، از روز ۴ نمونه‌برداری شد براساس نتایج به‌دست‌آمده، میزان رشد پس از دوره ۱۶ روزه کشت که به‌صورت روزانه با لام هموسایتومتر شمارش گردید نشان می‌دهد که میزان رشد سلولی از $۲/۴\times۱۰^{۵}$ در روز اول کشت و قبل از اعمال تیمار، به مقدار $۵/۰\times۱۰^{۵}$در نور سفید، $۴/۴۱\times۱۰^{۵}$ در نور قرمز و $۶/۳۳\times۱۰^{۵}$ است که در نور آبی که بیش‌ترین میزان رشد و تکثیر سلولی را مشاهده گردید .

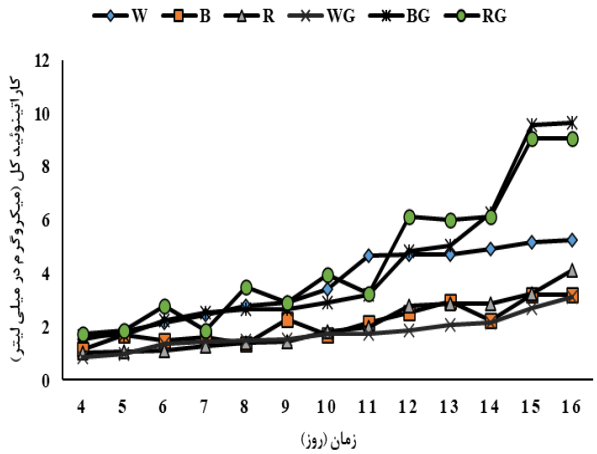
میزان کلروفیل A: مقدار کلروفیل A به‌ترتیب در نور سفید با بیش‌ترین میزان و در روزهای ۱۰، ۱۱ و ۱۲ به بالاترین سطح خود ۲/۴۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید و پس از آن در آبی و کم‌ترین میزان کلروفیل در نور قرمز مطابق با شکل ۲ قابل‌مشاهده است. در تیمار گابا نیز بیش‌ترین میزان کلروفیل A در نور سفید و سپس آبی به‌ترتیب میزان ۲/۸ و ۲/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید و این افزایش از روز ۴ تا روز ۱۴ نرخ افزایشی و از روز ۱۴ به بعد نرخ ثابت به خود داشته است.



شکل ۲: تغییرات میزان کلروفیل A با گذشته زمان در تیمارهای مختلف (WC: نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی+گابا، RG: نورقرمز+ گابا

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

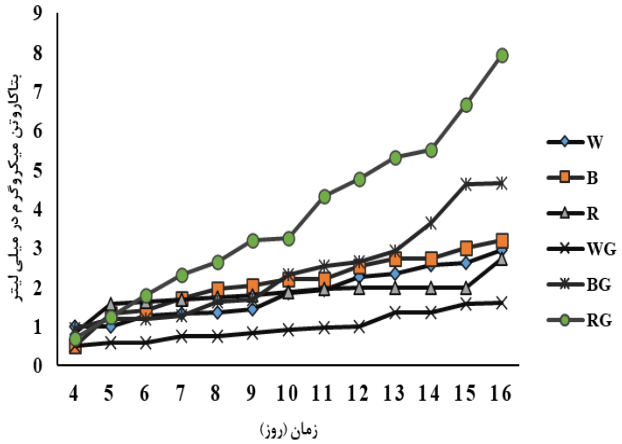
کاروتنویید کل: بررسی‌های انجام‌شده، گواه بر این است که روند سنتز کاروتنویید در ریزجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در تیمارهای مختلف دارای نرخ افزایشی از روز ۸ تا پایان دوره بوده است و در تیمار شاهد با نور سفید به ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر (شکل ۴) در تیمار گابا با نور آبی به‌میزان ۸/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر (شکل ۴) رسید. بیش‌ترین میزان کاروتنویید در نور قرمز و آبی به‌همراه گابا مشاهده گردید (P<۰/۰۵).



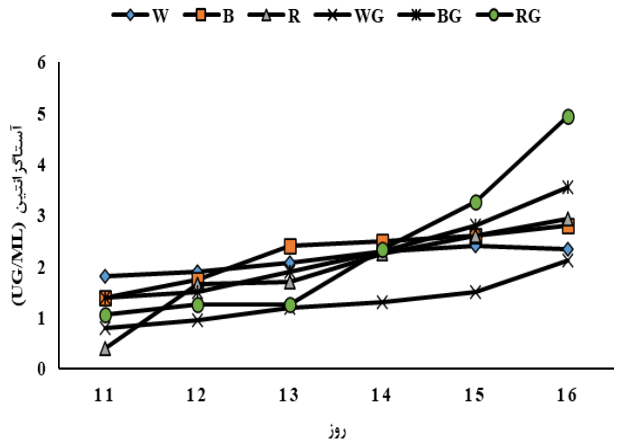
شکل ۴: مقایسه تغییرات سنتز کاروتنوئید کل در جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در نورهای سفید، قرمز و آبی و تیمار گابا کشت‌شده در محیط کشت BBM طی دوره ۱۶ روزه. (WC: نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی+گابا، RG: نورقرمز +گابا)

بتاکاروتن: بررسی‌های انجام شده در روند سنتز بتاکاروتن در ریزجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در تیمارهای مختلف دارای نرخ افزایشی از روز ۴ تا پایان دوره بوده است. در تیمار شاهد مقدار بتاکاروتن در نور قرمز به‌همراه گابا با بیش‌ترین میزان رشد به ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر در روز ۱۶ رسید (شکل ۵). در تیمار گابا نیز به‌میزان ۴/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در نور آبی در روز ۱۶ رسید (شکل ۵). بیش‌ترین میزان بتاکاروتن در تیمار نور قرمز مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

آستاگزانتین: بررسی روند سنتز آستاگزانتین به‌صورت روزانه از روز ۱۱ تا دلیل این‌که بررسی روزانه در تاریخ‌های متفاوتی آغاز شده است را لطفا بفرمایید پایان‌دوره‌کشت انجام پذیرفت. با استفاده از داده‌های به‌دست‌آمده، سنتز آستاگزانتین در ریزجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در تیمارهای مختلف دارای نرخ افزایشی بوده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، بیش‌ترین میزان آستاگزانتین به‌ترتیب در تیمار گابا و نور قرمز به‌میزان ۵/۱ میکروگرم بر میلی‌گرم و در گابا و نور آبی به‌میزان ۳/۳ میکروگرم بر میلی‌گرم، در نور سفید ۲/۱ میکروگرم بر میلی‌گرم و نور قرمز به‌میزان ۲/۵ بوده است (شکل ۶). در تیمار گابا و نور سفید میزان تولید استاگزانتین نسبت به نور سفید را کاهش داد.



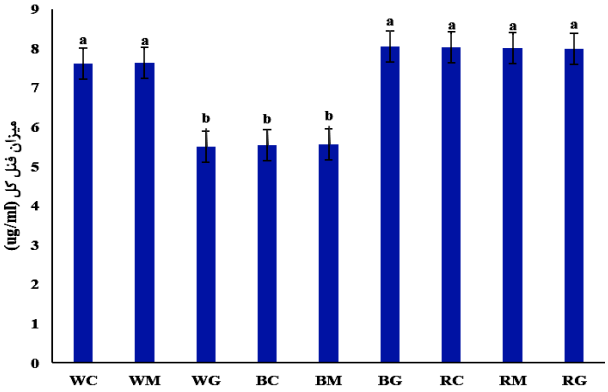
شکل ۵: مقایسه تغییرات بتاکاروتن در جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در نورهای سفید، قرمز و آبی و تیمار گابا کشت‌شده در محیط کشت BBM طی دوره ۱۶ روزه.(WC : نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی +گابا، RG: نورقرمز +گابا)



شکل ۶: مقایسه تغییرات سنتز آستاگزانتین در جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در نورهای سفید، قرمز و آبی و تیمار گابا کشت شده در محیط کشت BBM طی دوره ۱۶ روزه.(WC : نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی+گابا، RG: نورقرمز + گابا)

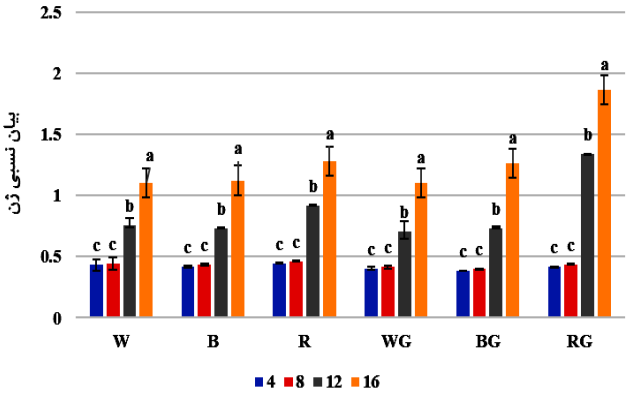
سنجش ترکیبات فنلی: نتایج به‌دست‌آمده گواه بر این است که ترکیبات فنلی در تیمارهای نور سفید و قرمز بیش‌تر از نور آبی؛ و گابا بیش‌ترین تأثیر در تولید ترکیبات فنلی را داشت (شکل ۷).

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

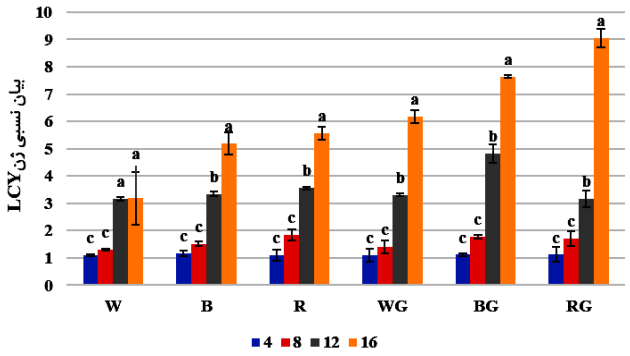


شکل ۷: میزان فنل کل بر حسب میلی گرم اسیدگالیک بر گرم جلبک دریزجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس پس از دوره کشت شده ۱۶ روزه. (WC: نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی +گابا، RG: نورقرمز+ گابا)

بیان ژن‌های مسیر سنتز آستاگزانتین: تغییرات بیان ژن‌های psy, bkt2 و lcy در مسیر سنتز آستاگزانتین به‌صورت نسبی (ژن رفرنس 18sRNA) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ژن psy به‌طور کلی از روز ۴ تا ۱۶ افزایشی است در روز ۴ و ۸ اختلاف معنی‌داری بین بیان این ژن‌ها در تیمارهای مختلف وجود نداشت (P>۰/۰۵). در روز ۱۲ و ۱۶ در تیمار RG بیش‌ترین میزان بیان ژن مشاهده گردید (P<۰/۰۵). نتایج بیان ژن lcy از روز ۴ تا ۱۶ در تیمارهای مختلف افزایشی بود در روز ۴ و ۸ اختلاف معنی‌داری بین بیان این ژن‌ها در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید(P>۰/۰۵)؛ اما در روز ۱۲ و ۱۶ در تیمارهای RG، BG بیش‌ترین میزان بیان ژن مشاهده گردید (P<۰/۰۵) (شکل ۸).

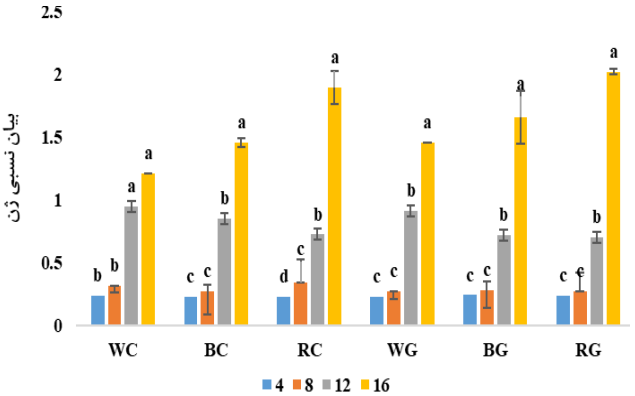


شکل ۸: نمودار مقدار بیان نسبی ژن psy در مسیر بیوسنتز آستاگزانتین در ریز جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس تحت شرایط تیمار شاهد و همراه با گابا و نور های سفید، قرمز و آبی در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶. (WC: نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی +گابا، RG: نورقرمز+ گابا)



شکل۹: نمودار مقدار بیان نسبی ژن lcy در مسیر بیوسنتز آستاگزانتین در ریزجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس تحت شرایط تیمار شاهد و همراه با گابا و نورهای سفید، قرمز و آبی در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶. (WC: نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی +گابا، RG: نورقرمز+ گابا)

بیان ژن bkt2 در تیمارهای مختلف از روز ۴ تا ۱۶ افزایش داشت. در روزهای ۴، ۸ و ۱۲ اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). در روز ۱۶ بیش‌ترین میزان افزایش بیان در تیمار RG محاسبه گردید(P<۰/۰۵)(شکل ۱۰).



شکل ۱۰: نمودار مقدار بیان نسبی ژن bkt۲ در مسیر بیوسنتز آستاگزانتین در ریز جلبک هماتوکوکوس پلوویالیس تحت شرایط تیمار شاهد و همراه با گابا و نورهای سفید، قرمز و آبی در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶. (WC: نور سفید، BC: نورآبی، RC: نور قرمز، WG: نور سفید+گابا، BG: نور آبی +گابا، RG: نورقرمز+ گابا)

بحث

سلول‌های سبز ریزجلبکی به‌صورت معمول کلروفیل‌های غیر کاروتنوئیدی را سنتز می‌کنند. اندازه‌گیری مقدار کلروفیل‌های A و B، مقدار کاروتنویید کل، بتاکاروتن و آستاگزانتین به‌عنوان شاخصی مناسب جهت بررسی و رسم‌نمودار انجام گرفت. نمودار کلروفیل رشد

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

و تکثیر مناسب سلول‌ها در محیط کشت را نشان داد. با افزایش تعداد سلول‌ها و تراکم آن‌ها در واحد حجم (میلی‌لیتر) تا ۲/۵ در تیمار شاهد افزایش میزان کلروفیل‌های A و B در محلول سلولی مشاهده شد، که می‌تواند به‌علت افزایش حجم کلروفیلی و هم‌چنین افزایش غلظت سلولی هرکدام از سلول‌ها باشد. در این تحقیق نور آبی و قرمز سبب افزایش کاروتنویید کل، بتاکاروتن و آستاگزانتین گردید و هم‌چنین گابا تاثیر مثبت به همراه نور آبی و قرمز تاثیر زیادی بر میزان کلروفیل و متعاقبا کاروتنویید کل، بتاکاروتن و آستاگزانتین گردید. در هماتوکوکوس پلوویالیس، آستاگزانتین عمدتاً با اسیدهای چرب استری‌شده است، بنابراین سه شکل از آستاگزانتین وجود دارد: آستاگزانتین آزاد، مونو استرهای آستاگزانتین و دی استرها. در این مطالعه به بررسی دی استر آستاگزانتین یا آستاگزانتین کل پرداخته شد. تحلیل نتایج نشان داد که محتوای آستاگزانتین کل زیر ۱ میلی‌گرم در گرم در روز ۱۱ام بود، سپس به‌ترتیب به ۶/۱ میلی‌گرم در گرم در زیر نور سفید، ۳/۸۸ میلی‌گرم در گرم در زیر نور آبی و ۴/۵۴ میلی‌گرم در گرم در نور قرمز در روز ۱۶ام افزایش یافت. در تحقیق Gao و همکاران، میزان تولید آستاگزانتین در سلول‌های بالغ‌تر ۸/۳-۱۰/۶۹ میلی‌گرم در لیتر آستاگزانتین در مقایسه با ۰/۹۵-۸/۱ میلی‌گرم در لیتر درکشت‌های ۴ تا ۸ روزه گزارش شد. هم‌چنین در تحقیقی دیگر، محتوای آستاگزانتین هفت برابر (از ۰/۳۹۱ میلی‌گرم به ۲/۷۴ میلی‌گرم در لیتر) افزایش را نشان داد (۱۷). مسیر بیوسنتز آستاگزانتین در جلبک‌ها شامل یک‌سری واکنش‌های آنزیمی است که مولکول‌های پیش‌ماده را به آستاگزانتین تبدیل می‌کنند. آستاگزانتین یک پیگمانت کاروتنوئیدی است که از طریق مسیر مواولونات در جلبک‌ها سنتز می‌شود. بیوسنتز آستاگرانتین شامل تولید آستاگزانتین از طریق ترکیب پیش‌ماده‌های ایزوپرنوئید که در این مسیر بیوسنتز آستاگزانتین با تولید پیش‌ماده‌های ایزوپرنوئیدی آغاز می‌شود که به عنوان بلوک‌های سازنده اصلی در مسیر مواولونات عمل می‌کنند. این مسیر برای تولید واسطه‌های ایزوپرنوئیدی که به عنوان نقطه شروع برای بیوسنتز کاروتنوئیدها، شامل آستاگزانتین، استفاده می‌شوند، حیاتی است. پس از تولید پیش‌ماده‌های ایزوپرنوئیدی در مسیر مواولونات، این پیش‌ماده‌ها در بیوسنتز کاروتنوئید یا آستاگزانتین استفاده شوند. بیوسنتز آستاگزانتین شامل چندین مرحله آنزیمی است که شامل فعالیت آنزیم‌هایی نظیر فیتوئن سینتاز، دی‌ساتوراز فیتوئن، لیکوپن سیکلاز و بتاکاروتن هیدروکسیلاز است. این آنزیم‌ها واکنش‌های خاصی را فراهم می‌کنند تا به تبدیل واسطه‌ها و در نهایت تولید آستاگزانتین بپردازند (۱۸). در مورد بیوسنتز آستاگزانتین، اولین پیش‌ساز فیتوئن، است از تراکم سر به دم دو مولکول ژرانیل ژرانیل پیروفسفات به‌دست می‌آید. واکنش توسط فیتوئن سنتاز (PSY) کاتالیز می‌شود. تشکیل آستاگزانتین با مصرف بتاکاروتن نیاز به حضور دو گروه هیدروکسی در C3 و C30 که توسط دو ژن CrtR-b و دو ژن Chy و CrtO دارد. واکنش دوم وابسته به اکسیژن است و توسط دو ژن مختلف bkt یعنی bkt1 و bkt2 به‌طور جداگانه صورت می‌گیرد (۱۹). سنتز آستاگزانتین ممکن است براساس دو مسیر فرضی اصلی اتفاق بیفتد: مسیر اول با اکسیداسیون بتاکاروتن شروع می‌شود در حالی‌که مسیر دوم با هیدروکسیلاسیون بتاکاروتن و به‌عنوان واسطه، b-کریپتوکسانتین، زآگزانتین و آدونیگزانتین شروع می‌شود(۲۰). به نظر می‌رسد گابا و نورهای مختلف با تاثیر بر مسیرهای سنتز آستاگزانتین میزان تولید را بالا می‌برد.

بیان ژن: در مطالعه حاضر، نتایج به‌طورکلی نشان داد که بیان ژن‌های psy، lcy و bkt2 در طی روزهای ۴ تا ۱۶ افزایشی است. بیان ژن psy در روز ۱۲ و ۱۶ در تیمارهای نور قرمز و ملاتونین و نور قرمز و گابا بیش‌ترین میزان مشاهده گردید. بیان ژن lcy نیز در روز ۱۲ و ۱۶ در تیمارهای نور قرمز و ملاتونین، نور قرمز و گابا، نور آبی و ملاتونین و نور آبی و گابا بیش‌ترین میزان بیان ژن مشاهده گردید. نتایج سنجش بیان ژن bkt2 نیز نشان داد که در روز ۱۶ام بیش‌ترین میزان افزایش بیان در تیمار و نور قرمز و گابا به‌دست آمد. فتوتروپین ((Phototropin (PHOT) یکی از گروه‌های پروتئین‌های فتورسپتور است که در گیاهان و برخی از جلبک‌ها یافت می‌شود و در واکنش به‌نور واکنش نشان می‌دهد. این پروتئین‌ها دارای ساختار دومین مشابهی هستند و وظیفه مهمی در واکنش‌های فیزیولوژیکی به نور دارند. فتوتروپین‌ها به‌ویژه در جواب به نور بلندمدت نقش دارند و در فرایندهایی نظیر تنظیم رشد گیاهان به‌وسیله نور (تغییر جهت رشد به سمت نور) که به‌عنوان تروپیسم فتوتروپیک شناخته می‌شود. در تنظیم کردن رشد گیاهان و تنظیم فتومورفوژنز (تغییرات ناشی از نور در رشد و توسعه) نقش دارند. فتوتروپین‌ها، مخصوصاً PHOT1 و PHOT2 که دو عضو مهم این خانواده هستند (۱۷). دارای دامنه کروموفور در ساختار خود هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد به نور با طیف وسیعی از امواج مختلف واکنش نشان دهند. این پروتئین‌ها با استفاده از فوتوکروم‌ها و کروموفورها، پاسخ‌های مختلفی به نور نشان می‌دهند و نقش مهمی در سیگنال‌دهی نوری و تنظیمات فیزیولوژیکی مرتبط با نور در گیاهان دارند (۲۱). هر دو نوع PHOT در گیاهان *Arabidopsis thaliana* و جلبک سبز *Mougeotia scalaris* نیز گزارش شده‌است (۲۲). فتوتروپین برای کنترل پیشرفت چرخه زندگی جنسی، تنظیم فتوسنتز و هم‌چنین تعدیل بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز کاروتنوئید گزارش‌شده است (۲۳، ۲۴). فوتوتروپین که سیگنال نور را حس می‌کند و سپس رونویسی ژن‌های بیوسنتز کاروتنوئید psy و pds در گیاهان را افزایش می‌دهد. PSY تبدیل GGPP به

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

فیتوئن را کاتالیز می‌کند، که یک مرحله مهم در بیوسنتز کاروتنوئید است (۲۵). جالب اینجاست که بیان psy و pds به‌طور قابل‌توجهی تحت نور آبی از روز ۴ در مقایسه با نورهای سفید و قرمز تنظیم مثبت شد (P>۰/۰۵) از این‌رو، نتایج ما از عملکردفتوئین در بیوسنتز کاروتنوئید پشتیبانی می‌کند. از سوی دیگر، محتوای آستاگزانتین آزاد در روزهای انتهایی با توجه به داده‌های تحت تمام تیمارهای نور افزایش یافت که با ژن‌های بیوسنتز کاروتنوئید مشابه بود. در مطالعه Park و همکاران، محتوای آستاگزانتین آزاد تحت نور آبی افزایش یافت و به‌طور قابل‌توجهی (P>۰/۰۵) بیش‌تر از نورهای سفید و قرمز بود (۲۶). این با تنظیم مثبت بیان PHOT، psy و pds مطابقت دارد. از سوی دیگر در این تحقیق، مونو استرهای آستاگزانتین، دی استرها و محتویات کل آستاگزانتین در زیر نور آبی روند افزایشی داشتند. در حالی‌که آستاگزانتین کل تحت نور آبی افزایش یافتند. بر اساس این یافته‌ها، نور آبی بیان ژن‌های بیوسنتز PHOT و میزان کاروتنوئیدها را افزایش می‌دهد (۲۷) اما در مطالعه ما نور قرمز به‌همراه گابا اثر افزایشی بیش‌تری بر ژن‌های مسیر سنتز کارتنوئیده داشته درحالی که کارتنوئیدهای کل را افزایش می‌دهد باعث افزایش میزان آستاگزانتین نیز می‌گردد و درنتیجه سطح بالایی از محتوای آستاگزانتین را در طول رشد در هماتوکوکوس پلوویالیس حفظ می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی: نتایج نشان داد که نور آبی راندمان تقسیم و رشد سلولی را افزایش داد و نور قرمز میزان بیوسنتز و انباشت آستاگزانتین را افزایش داد. با استفاده از گابا در نور قرمز، انباشت آستاگزانتین مقدار قابل‌توجهی بالاتر از نورهای سفید و آبی بود؛ ولی سرعت رشد و تقسیم سلولی کم‌تری نیز داشت. نتایج بیان ژن نیز نشان داد که گابا در نور آبی و قرمز، ژن‌های psy و pds را به‌طور قابل‌توجهی القا و ژن bkt2 را نیز مثبت تنظیم می‌کنند. به‌طورکلی با استفاده از نور آبی و قرمز به‌همراه گابا می‌توان تولید آستاگزانتین را افزایش داد.

منابع

1. **Ambati, R.R., Phang, S.M., Ravi, S. and Aswathanarayana, R.G., 2014.** Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications-A review. *Marine drugs*. 12(1): 128-152. doi: 10.3390/md12010128
2. **Yuan, J.P., Peng, J., Yin, K. and Wang, J.H., 2011.** Potential health-promoting effects of astaxanthin: a high-value carotenoid mostly from microalgae. *Molecular nutrition & food research*. 55(1): 150-165. doi: 10.1002/mnfr.201000414
3. **Naguib, Y.M., 2000.** Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of agricultural and food chemistry*. 48(4): 1150-1154. doi: 10.1021/jf991106k
4. **Nwoba, E.G., Parlevliet, D.A., Laird, D.W., Alameh, K. and Moheimani, N.R., 2019.** Light management technologies for increasing algal photobioreactor efficiency. *Algal research*. 39: 101433. doi: 10.1016/j.algal.2019.101433
5. **Ma, R., Thomas-Hall, S.R., Chua, E.T., Alsenani, F., Eltanahy, E., Netzel, M.E., Netzel, G., Lu, Y. and Schenk, P.M., 2018.** Gene expression profiling of astaxanthin and fatty acid pathways in *Haematococcus pluvialis* in response to different LED lighting conditions. *Bioresource Technology*. 250: 591-602. doi: 10.1016/j.biortech.2017.11.094
6. **Lababpour, A., Shimahara, K., Hada, K., Kyoui, Y., Katsuda, T. and Katoh, S., 2005.** Fed-batch culture under illumination with blue light emitting diodes (LEDs) for astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis*. *Journal of bioscience and bioengineering*. 100(3): 339-342. doi: 10.1263/jbb.100.339
7. **Zhang, W., Wang, J., Wang, J. and Liu, T., 2014.** Attached cultivation of *Haematococcus pluvialis* for astaxanthin production. *Bioresource technology*. 158:. 329-335. doi: 10.1016/j.biortech.2014.02.044
8. **Kang, C.D., Lee, J.S., Park, T.H. and Sim, S.J., 2005.** Comparison of heterotrophic and photoautotrophic induction on astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 68: 237-241. doi: 10.1007/s00253-005-1889-2
9. **Li, L., Chen, Z. and Huang, Q., 2020.** Exogenous γ-aminobutyric acid promotes biomass and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. *Algal Research*. 52: 102089. doi: 10.1016/j.algal.2020.102089
10. **Xing, H., Zhao, Y., Li, T., Han, B., Zhao, P. and Yu, X., 2022.** Enhancing astaxanthin and lipid coproduction in *Haematococcus pluvialis* by the combined induction of plant growth regulators and multiple stresses. *Bioresource technology*. 344: 126225. doi: 10.1016/j.biortech.2021.126225
11. **Zhao, Y., Wang, H.P., Yu, C., Ding, W., Han, B., Geng, S., Ning, D., Ma, T. and Yu, X., 2021.** Integration of physiological and metabolomic profiles to elucidate the regulatory mechanisms underlying the stimulatory effect of melatonin on astaxanthin and lipids coproduction in *Haematococcus pluvialis* under inductive stress conditions. *Bioresource Technology*. 319: 124150. doi: 10.1016/j.biortech.2020.124150
12. **Kakizono, T., Kobayashi, M. and Nagai, S., 1992.** Effect of carbon/nitrogen ratio on encystment accompanied with astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis*. *Journal of fermentation and bioengineering*. 74(6): 403-405. https://doi.org/10.1016/0922-338X(92)90041-R
13. **Nichols, H.W. and Bold, H.C., 1965.** *Trichosarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *Journal of phycology*. 1(1): 34-38. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1965.tb04552.x
14. **Sreesai, S. and Pakpain, P., 2007.** Nutrient recycling by *chlorella vulgaris* from septage effluent of the Bangkok city, Thailand. *ScienceAsia*. 33(3): 293. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2007.33.293
15. **Zozio, S., Pallet, D. and Dornier, M., 2011.** Evaluation of anthocyanin stability during storage of a coloured drink made from extracts of the Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and black carrot (*Daucus carota* L.). Fruits. 66(3): 203-215. doi: 10.1051/fruits/2011030

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]

16. **Pfaffl, M.W., 2001.** A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 29(9): e45. doi: 10.1093/nar/29.9.e45.

17. **Gao, Z., Meng, C., Zhang, X., Xu, D., Zhao, Y., Wang, Y., Lv, H., Yang, L., Chen, L. and Ye, N., 2012.** Differential expression of carotenogenic genes, associated changes on astaxanthin production and photosynthesis features induced by JA in *H. pluvialis*. *PLoS One.* 7(8): e42243. doi: 10.1371/ journal.pone.0042243

18. **Chen, H., Sloggy, M.R., Dhiaulhaq, A., Escobedo, F.J., Rasheed, A.R., Sánchez, J.J., Yang, W., Yu, F. and Meng, Z., 2023.** Boundary of ecosystem services: Guiding future development and application of the ecosystem service concepts. *Journal of Environmental Managem*. 344: 118752. doi: 10.1016/j.jenvman.2023. 118752

19. **Huang, X., Jimmy, L. and Demner-Fushman, D., 2006.** Evaluation of PICO as a Knowledge Representation for clinical questions. *AMIA annual symposium proceedings*. 359-363. PMCID: PMC1839740

20. **Sandmann, G., 1994.** Carotenoid biosynthesis in microorganisms and plants. *Eur J. Biochem*. 223(1): 7-24. doi: 10.1111/j.1432-1033.1994.tb18961.x

21. **Kaiserli, E., Sullivan, S., Jones, M.A., Feeney, K.A. and Christie, J.M., 2009.** Domain swapping to assess the mechanistic basis of Arabidopsis phototropin 1 receptor kinase activation and endocytosis by blue light. *The Plant Cell*. 21(10): 3226-3244. doi: 10.1105/tpc.109.067876

22. **Kianianmomeni, A., 2014.** More light behind gene expression. *Trends Plant Sci.* 19(8): 488-490. doi: 10. 1016/j.tplants.2014.05.004

23. **García-Vaquero, M., Brunton, N. and Lafarga, T., 2021.** Microalgae as a source of pigments for food applications. InCultured Microalgae for the Food Industry. 177-198. Academic Press. doi: 10.1016/B978-0. 12-821080-2.00014-9

24. **Hata, N., Ogbonna, J.C., Hasegawa, Y., Taroda, H. and Tanaka, H., 2001.** Production of astaxanthin by *Haematococcus pluvialis* in a sequential heterotrophic photoautotrophic culture. *Journal of Applied Phycology*. 13: 395-402. doi: 10.1023/A:1011921329568

25. **Moya, M.J., Sánchez-Guardamino, M.L., Vilavella, A. and Barbera, E., 1997.** Growth of *Haematococcus lacustris*: A contribution to kinetic modelling. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* (*International Research in Process, Environmental AND Clean Technology*). 68(3): 303-309.

26. **Park, J.C., Choi, S.P., Hong, M.E. and Sim, S.J., 2014.** Enhanced astaxanthin production from microalga, *Haematococcus pluvialis* by two-stage perfusion culture with stepwise light irradiation. Bioprocess and biosystems engineering. 37: 2039-2047. doi: 10.1007/s00449-014-11 80-y

27. **Shahidi, F. and Brown, J.A., 1998.** Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Critical Reveiws in Food Science*. 38(1): 1-67. doi: 10.1080/10408699891274165

[Downloaded from mail.journalaer.com on 2026-09-18]