شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۷، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳
صفحات ۶۸-۵۳

تغییرات فصلی میزان آگار و دو هورمون گیاهی در ماکرو جلبک *Gracilaria corticata* (Rhodophyta)

حدیقه صائب مهر[۱*]، فرناز رفیعی[۲]، محمد هادی گیویان راد[۳]، گلاله مصطفوی[۴]

۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه فناوری‌های زیستی، دانشکدهٔ منابع طبیعی و محیط‌زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. استادیار گروه بیولوژی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. استادیار 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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۰۱

چکیده

جلبک‌های دریایی قرمز حاوی ترکیباتی مانند آگار و هورمون‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد هستند که در صنایع مصارف متعددی دارند. این تحقیق جهت تعیین تودهٔ زندهٔ و استخراج دو هورمون و آگار از جلبک *Gracilaria corticata* انجام شد. نمونه‌برداری از دی ۱۳۹۴ تا آبان ۱۳۹۵ در بندر بوشهر یک ماه در میان انجام گرفت. تودهٔ زنده و پارامترهای محیطی در ترانسکت انتخابی اندازه‌گیری و جلبک برداشت شد. پس از مراحل استخراج، با روشHPLC هورمون‌ها جداسازی و توسط تزریق استاندارد شناسایی شدند. بیشترین میزان آگار در تیر ماه ۶۳/۳ ٪ ، زآتین در شهریور ماه ۲۱/۹۰ ٪ و ایندول بوتیریک اسید ۱۹/۲۱٪ در دی‌ماه بود. بیشترین تودهٔ زندهٔ این جلبک در اسفند ماه ۴۲۳/۳۳ گرم در مترمربع اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از آزمون آماری ANOVA وChi-squared تفاوت معنی‌داری را در ۶ ماه نمونه‌برداری در تمامی نمونه‌ها نشان داد ($P<۰/۰۵$). در بین عوامل محیطی آگار با شوری همبستگی داشت. ایندول بوتیریک اسید در دی ماه باعث رشد زیاد جلبک شد اما زآتین تأثیر معنی‌داری بر رشد این گونه نشان نداد. به‌طور کلی می‌توان به‌منظور استخراج این مواد، در ماه‌هایی که بیشترین مقدار را داشته‌اند برداشت صورت گیرد. با توجه به قیمت گزاف این هورمون‌ها و ضرورت استفاده از آن‌ها در عصاره‌های جلبکی و کودمایع جلبکی، این تحقیق شروعی برای استخراج انواع هورمون‌ها از این جلبک‌ها است.

واژگان کلیدی: آگار، استخراج، تنظیم‌کننده‌های رشد، گراسیلاریا

* نویسنده مسئول: حدیقه صائب مهر
Email: h.saebmehr@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 77, No. 1, Spring 2024
pp. 53-68

Seasonal variation of agar and two plant hormones in Macroalgae *Gracilaria corticata* (Rhodophyta)

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

1. Ph.D graduate, Department of Natural Resources & Environment, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Marine Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Chemistry, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Assistant Professor,Department of Biology,Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahr-e- Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 28-Oct-2023 **Accepted: 20-Mar-2024**

Abstract
Red seaweeds contain compounds such as agar and hormones that have many uses in industry. This research was done to determine biomass and extract two hormones and agar from *Gracilaria corticata* algae. Methods Sampling was done from December 2014 to November 2015 in Bushehr port, one month apart. Biomass and environmental parameters were measured and algae harvested in the selected transect. After the extraction steps, hormones are separated by the HPLC method and identified by standard injection. The highest amount of agar occurred in July with 63.3%, Zeatin in September with 21.9% and indole butyric acid with 19.21% in January. The highest fresh weight of this algae was measured in March at 423.33 grams per square meter. The results of the ANOVA and Chi-squared statistical tests showed a significant difference in 6 months of sampling in all samples (P<0.05). The amount of agar showed a significant correlation with the biomass. Also, among environmental factors, agar was correlated with salinity and temperature. Butyric indole of acid in January caused the growth of alga, but Zeatin did not show a significant effect on the growth of this species. In general, in order to extract these materials, harvesting can be done in the months that have the highest amount. Considering the exorbitant price of these hormones and the need to use them in algae extracts and algae liquid fertilizer, this research is a starting point for extracting all kinds of hormones from these algae.

Keywords: Agar, Extraction, *Gracilaria* , Growth regulator

∗ Corresponding author: Hadigheh Saebmehr Email: h.saebmehr@gmail.com

۱. مقدمه

جلبک‌ها به‌عنوان اولین تولیدکنندگان و پایهٔ شبکهٔ غذایی محسوب می‌شوند (Silva *et al*., 2020). بیش از ۴۴ درصد از فتوسنتز موجود بیوسفر به‌وسیلهٔ موجودات اتوتروف آبزی انجام می‌شود. مواد استخراج شده از جلبک‌ها دارای خواص متنوعی مانند: ضد سمیت، ضدباکتری، ضدویروسی و ضد سرطانی است (Yousefian, 2020). در کنار مصرف غذایی و دارویی، جلبک‌های دریایی منبع مواد صنعتی آینده از جمله کودهای مایع جلبکی، به‌دلیل وجود تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی خواهند بود (Yokota *et al*., 2014). عصارهٔ ماکروجلبک‌ها نتایج قابل‌توجهی در بهبود جوانه‌زنی بذر، توسعهٔ سیستم ریشه، افزایش سطح برگ، کیفیت میوه و قدرت گیاه، رشد نهال، رشد و عملکرد گیاهان و افزایش بهره‌وری محصول داشته است (Hernandez-Herrera *et al*., 2017).

هورمون‌های درون‌زا نقش اصلی را در گیاه مانند تکثیر سلولی، بزرگ‌شدن و تمایز، تنظیم ژن‌های خاص چرخهٔ سلولی گیاهی از جمله در سنتز DNA، تحریک یا بازدارندگی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی دارند. جلبک‌ها حاوی هورمون‌های گیاهی بوده و سیتوکینین‌ها از *Porphyra perforate* و *Laminaria japonica* و جیبرلین‌ها از *Cystoseira barbata* و *Polysiphonia scopulorum* (Yalcin *et al*., 2019)، ایندول‌بوتیریک‌اسید از *Spyridia filamentosa* (Spagnuolo *et al*., 2022) سیتوکینین و اکسین‌ها از *Ulva* و *Dictyota* استخراج شده‌اند (Stirk *et al*., 2009). Gupta و همکاران (۲۰۱۱)، هورمون‌های گیاه را در شش گونه از جلبک‌های دریایی سبز عمدتاً گونه‌های جنس *Monostroma* و *Ulva* تعیین کردند. مانند گیاهان آوندی، رویدادهای رشد و تولیدمثل در چرخهٔ زندگی جلبک‌های دریایی بسیار متفاوت هستند که با تغییرات فصلی مرتبط است. مطالعات انجام شده بیانگر تغییرات فصلی در *Ulva fasciata* و *Dictyota humifusa* (Stirk *et al*., 2009) و *Ecklonia* (Smith and Charles. 1984) بوده است.

هم‌اکنون تعدادی از عصاره‌های ماکروجلبک‌ها به‌صورت پودر و مایع به‌عنوان محرک‌های گیاهی عرضه می‌شود (Hoang, 2016)، از این فرآورده به‌صورت مخلوط با خاک و یا اسپری استفاده می‌شود. این تنظیم‌کننده‌های رشد می‌توانند پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه را در مقادیر کم ایجاد کنند (Strike *et al*., 2003; Strike *et al*., 2009). عصارهٔ جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum* با نام تجاری Stimplex و Acadian به‌عنوان محرک رشد و کود جلبکی با قیمت بالا وارد کشور می‌شود که دارای هورمون‌های سیتوکینین و اکسین است (Sunarpi *et al*., 2010; Vuong *et al*., 2018). مطالعه بر روی جلبک‌ها از سال ۱۳۷۰ آغاز گردید، اما در ایران تنها Hasibi (۲۰۱۶) به بررسی فیزیولوژیک اثر تنش سرما در ژنوتیپ‌های مختلف برنج پرداخت و بدین‌منظور استخراج، خالص‌سازی و آنالیز هورمون‌های آبسیزیک اسید و اکسین از برنج را انجام داد.

Gracilaria جلبک ماکروسکوپی از شاخهٔ جلبک‌های قرمز است که بخش عمده و اصلی پوشش برخی از سواحل جزرومدی را تشکیل می‌دهند. این جلبک‌ها از دو جنبهٔ اقتصادی و اکولوژیک، درپایهٔ هرم انرژی اکوسیستم‌های دریایی بوده و به‌عنوان تولیدکنندگان اصلی زنجیرهٔ غذای، تثبیت‌کنندگان ازت و ایجاد اکوسیستم‌های خاص و تأمین زیستگاه مناسب برای آبزیان، دارای نقش حیاتی هستند (Pereira, 2017). از جنبهٔ اقتصادی نیز این گیاهان در تهیهٔ علوفه، کود و تولید بسیاری از پلی‌ساکاریدهای باارزش مانند آگار حائز اهمیت بوده و مصارف مستقیم این گیاهان و پلی‌ساکاریدهای قابل‌استخراج از آن‌ها روزبه‌روز در حال گسترش است (Sunarpi Jupri *et al*., 2020). در آب‌های خلیج‌فارس و دریای عمان در جنوب ایران تاکنون ۱۳ گونه از آن شناسایی شده است که جلبک *Gracilaria corticata* در سواحل چابهار، بندر لنگه، بوشهر و جزایر خلیج‌فارس گزارش شده و تراکم آن نسبت به سایر گونه‌های گراسیلاریا بیشتر است. ریسه‌های گامتوفیت و اسپوروفیت مشابه *Gracilaria corticata*، پرسلولی، استوانه‌ای، پهن، منشعب، غضروف مانند، توسط یک اندام تخت به بستر می‌چسبند. به‌صورت دوتایی منشعب شده‌اند و تا ۱۱ سانتی‌متر طول دارند (Hosseini and Abkenar, 2004). آگار پلی‌ساکارید استخراجی از بعضی جلبک‌های قرمز است (Marinho-Soriano *et al*., 2001). آگار در ماتریکس خارج سلولی قرار دارد و توسط دستگاه گلژی ساخته می‌شود (Vergara-Rodarte *et al*., 2010). بیش از ۶۵ درصد از آگار تولید شده در جهان از جلبک *Gracilaria* به‌دست می‌آید (Trejo-Méndez *et al*., 2021). آگار شامل دو پلی‌ساکارید به‌نام آگارز و آگاروپکتین است. خاصیت ژلاتینی آن به سبب ترکیب آگارز بوده درحالی‌که ترکیب آگاروپکتین خاصیت

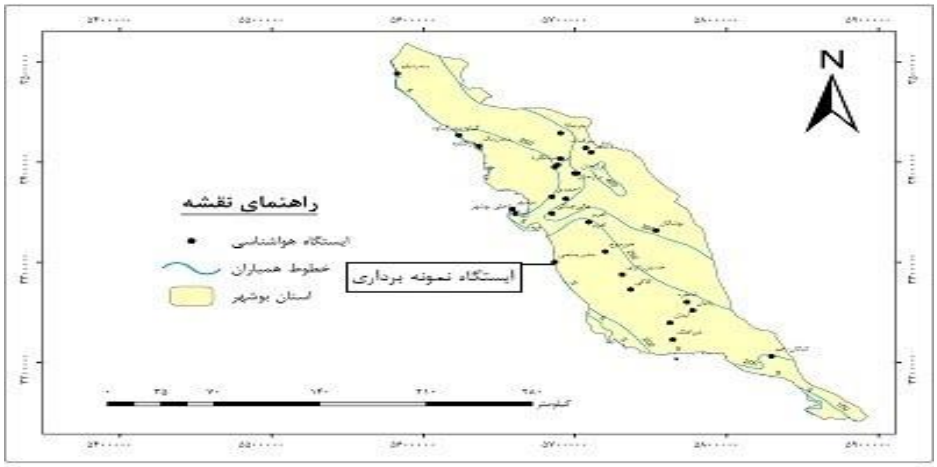
چسبندگی ایجاد می‌کند (Rezaei and Jaymand, 1997). آگار به‌عنوان محیط کشت باکتری‌ها، تهیهٔ چسب، مواد آرایشی، ژل‌های الکتروفورتیک، مواد دندانپزشکی، داروهای ملین، تهیهٔ قرص و کپسول به‌کار می‌رود. فصل و فاز رشد جلبک‌ها روی میزان آگار تأثیر می‌گذارند (Dawes, 1997). بنابراین، به‌منظور استفاده از عصاره و آگار این جلبک‌ها بررسی تغییرات فصلی و یافتن بهترین زمان بهره‌برداری از اهمیت زیادی برخوردار است. باتوجه به اهمیت و ارزش اقتصادی آگار در صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و آزمایشگاهی، مطالعهٔ گونه‌های مختلف این جنس از جنبه‌های آرایه‌شناسی، اکولوژیک، کشت و پرورش و محتوای کمی و کیفی آگار مورد توجه محققان است. با درنظرگرفتن ارزش اقتصادی عصارهٔ جلبکی و مواد استخراجی از آن‌ها به‌ویژه هورمون‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد و همچنین جنبهٔ نوآوری و جدید بودن این تحقیق در ایران، وجود ماکروجلبک‌های متنوع در سواحل بوشهر، استخراج هورمون‌های تنظیم‌کنندهٔ گیاهی از این‌گونه‌ها و فقدان اطلاعات قبلی در این زمینه در ایران، کمبود اطلاعات استخراج این هورمون‌ها در سطح جهانی، نبود پروتکل استخراج خاص در این زمینه و نوشتن پروتکل جدیدی برای استخراج در این تحقیق ایجاب می‌کند که این پروژه تحت مورد بررسی قرار گیرد. به‌منظور دستیابی به بهترین زمان برداشت این جلبک برای استخراج آگار، زآتین و ایندول بوتیریک اسید در این پروژه به بررسی جلبک *Gracilaria* در طول یک سال به‌صورت یک ماه در میان و استخراج مواد یاد شده پرداخته شد. این پژوهش اولین بار در کشور به‌منظور استخراج هورمون‌های گیاهی از جلبک‌ها انجام شده است.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در طول یک سال از دی‌ماه ۱۳۹۴ تا آبان ماه ۱۳۹۵در زمان جزر کامل آب به‌صورت یک ماه در میان در منطقهٔ بین جزرومدی ساحل بوشهر انجام شد. ابتدا جهت آشنایی با منطقهٔ نمونه‌برداری اولیه صورت گرفت و پس از آن ایستگاه مورد نظر بر حسب وجود جلبک در فصل‌های مختلف برای تعیین ترانسکت مشخص شد.

۱.۲. معرفی ایستگاه مورد مطالعه

بدین‌منظور ایستگاهی با طول جغرافیایی ″۵۳ ′۴۸ °۵۰ و با عرض جغرافیایی ″۴۱ ′۵۴ °۲۸ در زون UTM ۳۹ در منطقهٔ جزرومدی سواحل بوشهر انتخاب گردید (شکل۱).



شکل ۱- نقشهٔ موقعیت ایستگاه نمونه‌برداری در استان بوشهر در مقیاس ۱/۵۰۰۰۰

۲.۲. اندازه‌گیری عوامل محیطی

در این تحقیق عوامل محیطی: شوری (ppt)، دما ب (سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر) و اسیدیته (Andrew *et al.*, 2005) در ایستگاه مورد بررسی به‌ترتیب توسط دستگاه‌های شوری‌سنج پرتابل ATAGO مدل-Hand Held refractometer، دماسنج پرتابل دیجیتالی TES مدل

۱۳۶۵، اسیدیته و اکسیژن محلول با اکسی‌متر پرتابل WTW مدل Multi 3510 همراه با ۳ تکرار، همزمان با نمونه‌برداری اندازه‌گیری و ثبت شد. غلظت مواد مغذی نیترات و فسفات نیز به روش استاندارد و به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر HACH مدل DR-2500، برحسب میلی‌گرم بر لیتر گزارش گردید (Eaton *et al*., 2005).

۳.۲. جمع‌آوری نمونه‌ها

برای نمونه‌برداری یک خط فرضی عمود بر ساحل (ترانسکت) در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری با پرتاب ۳ کوادرات ۵۰×۵۰ سانتی‌متر به‌طور تصادفی در هر بار صورت گرفت. با استفاده از منابع علمی (Basson, 1978; Bellinger *et al*., 2010; Guiry *et al*., 2014)، ماکروجلبک شناسایی و وزن تر جلبک توسط ترازوی دیجیتال مدل Berlini TS-1000 C بادقت دو رقم اعشار اندازه‌گیری شد. جلبک *Gracilaria* پس از شستشو با آب مقطر، در ظروف استریل و شسته شده با اسید، جهت طی‌کردن مراحل استخراج به آزمایشگاه رازی در تهران انتقال یافت.

استخراج هورمون‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد از ماکروجلبک‌ها برای استخراج اکسین (آیندول‌بوتیریک‌اسید، IBA) و سیتوکینین (زآتین) پس از مطالعهٔ چند پروتکل (Hanisak *et al*., 1987; Craigie, 2011) در تحقیقات گذشته، پروتکل جدیدی نوشته شد و براساس آن مراحل زیر در آزمایشگاه طی شد؛

۱۰ گرم (وزن مرطوب) نمونهٔ جلبک در داخل ۶۰ میلی لیتر محلول استخراج (متانول-کلروفرم-هیدروکسید آمونیوم ۲ نرمال) به نسبت (۱۲:۵:۳:۲N) ریخته شد. در تاریکی هموژناسیون انجام شد تا عمل انحلال هورمون‌ها به‌خوبی صورت گیرد. مخلوط هموژنیزه با استفاده از صافی واتمن No.1 صاف شده و عصارهٔ حاصل به یک دکانتور انتقال داده شد. آب دوبار تقطیر افزوده شد و به‌شدت هم زده شد؛ فاز رویی (کلروفرم) دور ریخته و فاز آب-متانول نگهداری شد. فاز زیرین جمع‌آوری و به‌وسیلهٔ روتاری تبخیر شد تا کلروفرم و متانول باقی مانده در آن تبخیر شده و حجم آن به ۳۵ سی‌سی رسید. فاز آبی با استفاده از HCl یک نرمال به pH ۲/۵ رسانده شده و سپس به دکانتور با حجم مناسب انتقال داده شد. ۱۵ میلی‌لیتر اتیل‌استات به دکانتور اضافه شد. فاز رویی جدا و در ظرفی دیگر جمع‌آوری شد؛ مرحلهٔ اضافه کردن اتیل‌استات دوبار دیگر تکرار شد و هر ۳ فاز رویی به‌صورت تجمعی در یک ظرف جمع‌آوری شد (این محلول حاوی Zeatin IBA است).

۴.۲. آنالیز هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی با HPLC

نمونه‌ها از فیلتر پلی تترافلوئوراتیلن ۴۵٪ عبور داده شد؛ سپس به ستون HPLC تزریق گردید (Sarkar *et al*., 2002). اجزای محلول به‌دست‌آمده توسط دستگاه HPLC با ستون C18، دتکتور UV، شدت‌جریان ۰/۷ ml/min و حلال استیک اسید ۰/۰۲٪ و متانول ۹۵٪ در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد جدا گردیدند و توسط تزریق استاندارد هورمون‌ها به دستگاه شناسایی شدند. شکل ۲ ساختار شیمیایی دو هورمون را نشان می‌دهد.

شکل ۲- ساختارهای شیمیایی زآتین (A) و ایندول بوتیریک اسید (B)

۵.۲. استخراج آگار

به‌منظور استخراج آگار، یک گرم از پودر جلبک خشک شدهٔ گراسیلاریا در ۴۰ سی‌سی آب مقطر به‌مدت یک ساعت در آون با دمای ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس از فیلتر عبور داده و مایع حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. جلبک‌های عبور داده شده از فیلتر همراه با ۴۰ سی‌سی آب

مقطر در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ ساعت جوشانده شد. پس از صاف‌کردن، مایع حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. جلبک‌های عبور داده شده از فیلتر در قسمت دوم در دمای ۱۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در ۲۰ سی‌سی آب مقطر به‌مدت نیم ساعت قرار داده شد. پس از عبوردادن از صافی به‌مدت ۲۰ دقیقه در۱۰۰۰ rpmسانتریفیوژ شد. مایع حاصل از هر ۳ سانتریفیوژ را با هم ادغام کرده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm rpm سانتریفیوژ انجام شد. مایع حاصل در پلیت‌های علامت‌گذاری شده در آون با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. در نهایت آگار خشک شده در پلیت‌ها جمع‌آوری و با ترازوی دیجیتال (NACI/LAB/557) بادقت ۴ رقم اعشار اندازه‌گیری شد. تمامی مراحل بالا جهت دقیق بودن استخراج با ۳ تکرار در هر ماه صورت گرفت (Carmona *et al*. 1998).

۶.۲. آنالیز آماری و تحلیل داده‌ها

به‌منظور تجزیه‌وتحلیل آماری و آزمون فرض‌های این پژوهش باتوجه به اینکه داده‌ها به‌صورت ماهانه از ماه اول تا ماه ششم و با ۳ تکرار در هر ماه حاصل شده‌اند، برای تحلیل آماری آزمون کولموگروف-اسمیرنوف که به آزمون KS نیز موسوم است؛ برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون مربع کای والد Chi-squared test با در نظر گرفتن ساختار همبستگی ماه‌های مختلف به‌صورت اتورگرسیو مرتبه یک به‌کار گرفته شد. رسم نمودارها وجدول ها توسط نرم‌افزارهای Word 2019 و Excel Landau and (Everett, 2004) انجام گردید. تجزیه و تحلیل آماری در محیط نرم‌افزار SPSS v. 23 صورت گرفت. سطح معنی‌داری در این مطالعه ۰/۰۵ درصد در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

۱.۳. نتایج اندازه‌گیری عوامل محیطی

نتایج حاصل از عوامل محیطی اندازه‌گیری شده در ایستگاه انتخابی استان بوشهر در شکل ۲ و جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- مقایسهٔ پارامترهای محیطی در ۶ ماه متناوب (میانگین± خطای استاندارد)

	میانگین درجه (سانتی‌گراد) حرارت	میانگین شوری (PPT)	میانگین اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)	اسیدیته میانگین	میانگین نیترات (میلی‌گرم درلیتر)	میانگین فسفات (میلی‌گرم در لیتر)
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±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±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}
شهریور ۹۵	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}
آبان ۹۵	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 یکسان نشان‌دهندهٔ عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیرهمسان اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.

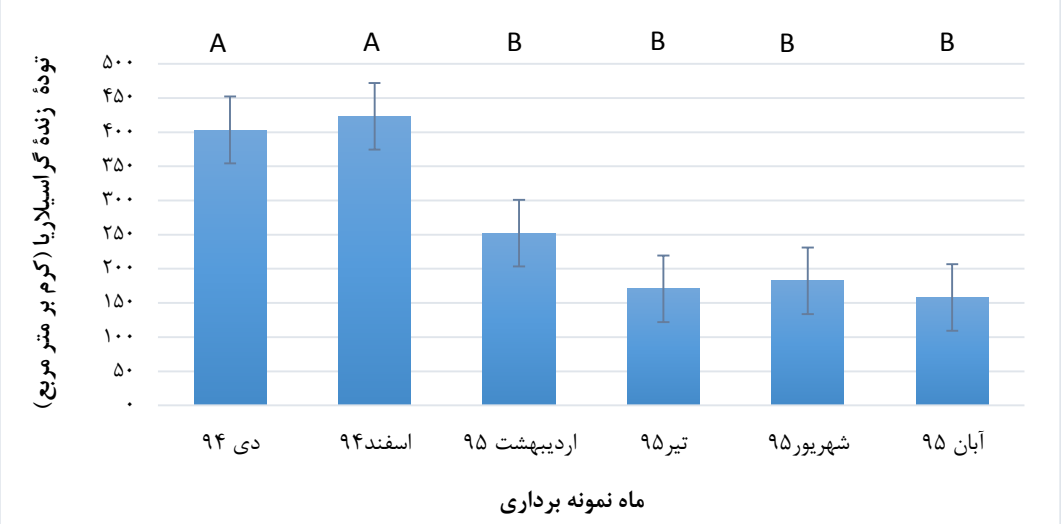
نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مقادیر pH (۷/۹±۱/۴۳)، دما (۳۸±۲/۱۱ درجهٔ سانتی‌گراد) و شوری (ppt ۴۸/۳۳±۱/۲۲) درتیرماه، اکسیژن در شهریور (۲/۸۰±۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر)، نیترات در اسفند (۰/۳۳±۰/۰۸) میلی‌گرم بر لیتر و فسفات در شهریور (۰/۰۸±۰/۰۱ میلی‌گرم برلیتر) به‌دست آمد. مقایسهٔ عوامل محیطی در طول یکسال نشان داد که همبستگی معنی‌دار مثبت بین pH با شوری، همبستگی معنی‌دار و منفی بین pH با فسفات، اکسیژن با شوری، دما با نیترات، فسفات با pH مشاهده شد. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین شوری با pH، دما با pH، زآتین با اکسیژن، آگار

با شوری، تودهٔ زنده با نیترات و ایندول بوتیریک اسید وجود داشت. همبستگی منفی و معنی‌دار بین شوری با اکسیژن، نیترات با دما، فسفات با pH، زآتین با pH و شوری، ایندول بوتیریک اسید با pH و اکسیژن، تودهٔ زنده با دما مشاهده شد.

جدول ۲- نتایج همبستگی پیرسون پارامترهای مختلف

	pH	اکسیژن	شوری	دما	نیترات	فسفات	زآتین	IBA	آگار
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	-۰/۴۸۷*	۰/۹۱۳**	-۰/۶۷۴**	۰/۳۳۲	-۰/۴۶۳	۰/۳۱۷			
IBA	-۰/۴۹۱*	-۰/۴۸۴*	۰/۴۶	-۰/۴۷۹*	۰/۰۷۸	۰/۲۵۶	-۰/۲۲۶		
آگار	۰/۲۲۸	-۰/۳۲۴	۰/۷۵۲**	-۰/۰۰۲	۰/۰۴۰	-۰/۰۳۸	-۰/۱۲۶	۰/۲۲۷	
تودهٔ زنده	-۰/۳۵۸	-۰/۴۳۸	۰/۳۴۸	-۰/۸۹۶**	۰/۴۹۸*	۰/۲۲۳	-۰/۳۳۹	۰/۵۳۷*	۰/۴۴۳

*بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵، ** و معنی دار بودن در سطح ۰/۰۰۱ است.



شکل ۳- تودهٔ زنده *G.corticata* (گرم بر مترمربع) در ۶ ماه متناوب
آنتنک‌ها خطای استاندارد و حروف غیرهمنام اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند

۲.۳. نتایج سنجش تودهٔ زندهٔ جلبک *Gracilaria corticata*

نتایج اندازه‌گیری تودهٔ زندهٔ جلبک *Gracilaria* در منطقهٔ بین جزرومدی استان بوشهر از دی‌ماه ۱۳۹۴ تا آبان‌ماه ۱۳۹۵ در شکل ۳ نشان‌داده شده است. بیشترین میانگین تودهٔ زندهٔ جلبک ۴۲۳/۳۳±۳/۸۶ (گرم برمترمربع) مربوط به اسفند ماه ۱۳۹۴ و کمترین میانگین آن ۱۵۸±۱/۴ (گرم برمترمربع) مربوط به آبان ماه ۱۳۹۵ بوده است. میانگین تودهٔ زنده در ماه‌های نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$).

۳.۳. نتایج استخراج هورمون‌های گیاهی از جلبک قرمز *Gracilaria*

۱.۳.۳. ایندول بوتیریک اسید (IBA)

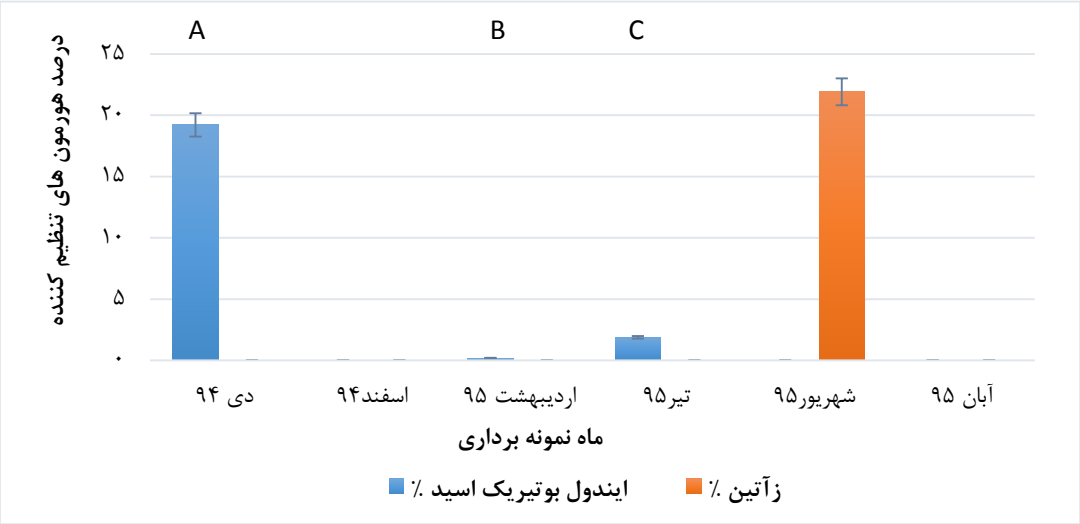
نتایج شکل ۴ نشان داد بیشترین میزان ایندول بوتیریک

اسید استخراج شده از ۰/۶۷±۱۹/۲۱ درصد در دی ماه ۱۳۹۴ و کمترین میزان استخراج شده Not Detected در اسفند و آبان است. نتایج حاصل ازتحلیل واریانس یک‌طرفه و مربع کای والد تفاوت معنی‌داری بین استخراج ایندول بوتیریک اسید در ۶ ماه نمونه‌برداری در طول یکسال نشان داد ($P<۰/۰۵$).

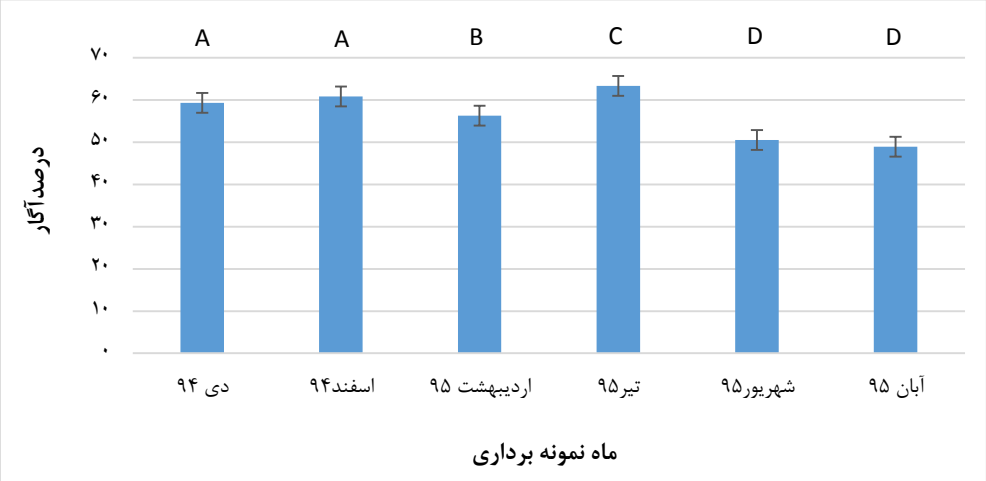
۲.۳.۳. زآتین (Zeatin)

نتایج شکل ۴ نشان داد بیشترین میزان زآتین استخراج شده ۰/۳۲±۲۱/۹ درصد در شهریور ماه ۱۳۹۵ و کمترین میزان استخراج شده Not Detected در دیگر ماه‌ها بوده است. نتایج حاصل از آزمون آماری واریانس یک‌طرفه و مربع کای والد تفاوت معنی‌داری بین استخراج زآتین در شهریورماه با بقیه ماه نمونه‌برداری در طول یکسال نشان داد ($P<۰/۰۵$).

کمترین میزان آگار استخراج شده مربوط به آبان‌ماه با میزان ۰/۸۲ ±۴۹ درصد و بیشترین میزان آگار استخراج شده مربوط به تیر ماه با میزان ۱/۲۱ ±۶۳/۳ درصد بوده است (شکل۵). در بین ماه‌های دی، اسفند، تیر اخلاف معنی‌داری دیده نشد و همچنین در بین ماه آبان با شهریور اختلاف معنی داری دیده نشد اما ماه‌های ذکر شده با اردیبشهت ماه اختلاف معنی دار داشت و همچنین بین ماه های دی، اسفند، تیر با ماه آبان و شهریور اختلاف معنی داری دیده شد ($P<0.05$; n =18).



شکل ۴- هورمون‌های (ایندول بوتیریک اسید و زآتین) استخراج شده از دی ۱۳۹۴تا آبان ۱۳۹۵
آنتنک‌ها خطای استاندارد و حروف غیر همنام اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند



شکل ۵- آگار استخراج شده از دی ماه ۱۳۹۴ تا آبان ماه ۱۳۹۵
آنتنک‌ها خطای استاندارد و حروف غیر همنام اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

براساس آنالیزهای آماری در این تحقیق، میانگین عوامل محیطی (شوری، درجه حرارت، اکسیژن محلول، نیترات، فسفات و اسیدیته) در بین ماه‌های مختلف و درون ماه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان داد. در این تحقیق pH با فسفات ارتباط منفی و معنی‌داری را نشان داد. Sumandiarsa و همکاران (2021) گزارش دادند که کاهش pH بر کربن و متابولیسم نیتروژن و فسفر جلبک دریایی *Ulva* در استرالیا تأثیر می‌گذارد؛ اما در رشد آن اثری ندارد.

مانند این تحقیق، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین pH با دما و شوری در دریای باندا در اندونزی (Rugebrect *et al.*, 2023) و در ویتنام (Dung and Duc, 2015) دیده شد که نشان می‌دهد این عوامل بر تغییرات pH تأثیرگذار هستند.

در این تحقیق همبستگی منفی معنی‌داری بین شوری و اکسیژن به دست آمد. مطالعات بیانگر این هستند که میزان اکسیژن در آب‌های پر شور نسبتاً کمتر است؛ زیرا انتقال جرم اکسیژن اتمسفر در آب یون‌دار کاهش‌یافته و در نتیجه انحلال اکسیژن در آب‌شور کاهش می‌یابد (Haddouta *et al.*, 2022).

گیاهان به‌طور مداوم در معرض شرایط محیطی مختلفی قرار می‌گیرند که به‌ترتیب باعث تغییراتی در متابولیسم آن‌ها می‌شود.

تحقیقات نشان داد که عوامل محیطی بر رشد و تودهٔ زندهٔ جلبک *Gracilaria* تأثیر می‌گذارند. عوامل محیطی خصوصاً دما نقش مهمی در رشد و نمو ماکروجلبک‌ها دارد که می‌تواند روی حلالیت مواد مغذی محلول در آب و شرایط فیزیکی حاکم بر محیط تأثیر بگذارد (Orduna-Rojas *et al.*, 2008; Rasoulian *et al.*, 2018) بیشترین میانگین تودهٔزندهٔ *Gracilaria corticata* ۴۲۳/۳۳ ۳±/۸۶ (گرم بر مترمربع) مربوط به اسفندماه ۱۳۹۴ و کمترین میانگین آن ۱۵۸±۱/۴ (گرم بر مترمربع) مربوط به آبان‌ماه ۱۳۹۵ به‌دست آمد. به‌صورتی که تودهٔ زنده با دما همبستگی معنی‌دار و منفی نشان داد. در هند نیزکاهش عوامل رشد، در جلبک *Gracilaria verrucosa* در آبان‌ماه گزارش شده است (Marinho-Soriano *et al.*, 2001) که علت این شباهت می‌تواند شرایط آب‌وهوایی به نسبت مشابه این دو منطقه باشد، زیرا آب‌های هر دو منطقه مربوط به اقیانوس هند است.

جلبک *Gracilaria chorda* در ژاپن، بیشترین تودهٔ زنده را در تابستان و بهار نشان داد، اما به‌تدریج در پاییز و زمستان کاهش یافت (Ohno and Chirapart, 1993). Subba (1983) دریافت که اوج تودهٔ زندهٔ *Gracilaria corticata* در دی‌ماه رخ می‌دهد. در بررسی Volynkin (2013) نیز با شروع شدن فصل گرم تودهٔ زندهٔ جلبک کاهش یافته است. براساس مطالعات (Fathy and Mohammady, 2007) بیشترین میزان تودهٔ زندهٔ جلبک قرمز *Pterocladia capillacea* (مانند این تحقیق) در زمستان بوده است که علت آن را دسترسی بیشتر به مواد مغذی و همچنین دما و نور کم عنوان شده است. در تابستان نور و دمای زیاد باعث تولید کم (به‌واسطهٔ مهار نوری) و خشکی در جلبک‌های بین جزرومدی می‌شود.

دمای بالا، فعالیت آنزیمی سلول را افزایش داده و موجب رشد می‌گردد. اما در دمای بحرانی بعضی پروتئین‌ها، به‌ویژه آن‌هایی که در فتوسیستم‌ها و زنجیرهٔ انتقال الکترون دخالت دارند، دناتوره شده و بر متابولیسم سلولی تأثیر می‌گذارند و در نهایت باعث مرگ‌ومیر سلولی می‌شوند (Lopez-Munoz and Bernard, 2021). در این تحقیق بیشترین تودهٔ زنده در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد و در ماه اسفند و کمترین مقدار آن در دمای ۳۳ تا ۳۸ درجهٔ سانتی‌گراد در فصل‌های تابستان و پاییز به‌دست آمد که بیانگر تحمل کمتر این گونه در دمای زیاد می‌باشد. تحقیقات پیشین (Orduna-Rojas *et al.*, 2008) حداکثر رشد گونه‌های *Gracilaria* سازگار به رشد در آب‌های با درجه حرارت بالا را بین ۲۵ تا ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌دست آورده‌اند. این جلبک‌ها در درجه حرارت بالاتر از ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد از بین رفته‌اند. گونه‌های گراسیلاریا سازگار به رشد در آب‌های با درجه حرارت بالا، محدوده‌های باریک‌تری از تحمل دمایی را نسبت به گونه‌های سازگار با آب سرد دارند. گونهٔ برزیل گراسیلاریا (*G. cornea*) در پایین‌تر از ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد رشد مناسبی ندارد. حداکثر رشد برای برخی گونه‌های گراسیلاریا در حرارت ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد ذکر شده است (Yokoya *et al.*, 1999). به‌طوری‌که در *Gracilaria longissima* در مکزیک، تودهٔ زنده در طی ماه‌های گرم تابستان از بین رفته و در ماه‌های سرد از دی تا اسفند افزایش می‌یابد. همچنین *Gracilariopsis lemaneiformis* در خلیج کالیفرنیا در تابستان که دما به بیش از ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد می‌رسد کمترین مقدار تودهٔ زنده و در پاییز و بهار بیشترین مقدار تودهٔ زنده را دارد (Marinho-Soriano *et al.*, 2008). ریسه‌های گونهٔ *G. tenuistipitata* در آزمایشگاه پس

از ۵ روز در ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سالم ماندند اما در ۱۰ و ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد سفید شدند. حرارت بالای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد ایجاد استرس کرده و میزان اسیدآمینهٔ پرولین آزاد افزایش یافته که با کاهش رشد ارتباط دارد و حالت سمی برای جلبک ایجاد می‌کند (Verma *et al.*, 2016).

در این تحقیق تودهٔ زندهٔ جلبک *G. corticata* با نیترات همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. براساس تحقیقات، نیترات فعالیت بیولوژیک چندین گونهٔ *Gracilaria* را بهبود بخشیده است. به‌خوبی شناخته شده که محدودیت مواد مغذی با چندین اثر منفی بر اکوفیزیولوژی جلبک‌های دریایی همراه است که افزایش آسیب‌پذیری نسبت به مهار نور توسط تشعشعات مختلف و رشد آهسته‌تر از آن جمله است. علاوه بر این، استرس ناشی از محدودیت نیتروژن برای کاهش پاسخ‌های فتوسنتزی و کاهش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی در جلبک‌های دریایی قرمز شناخته شده است. در شیلی افزایش نیترات در پرورش *Gracilaria chilensis* باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، فتوسنتز و متعاقب آن رشد جلبک شده است. گونه‌های *Gracilaria* قادر به جذب نیتروژن بیش از نیاز خود و استفاده از آن در هنگام کمبود این مادهٔ مغذی هستند (Usandizaga *et al.*, 2018).

تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که میزان آگار از عوامل محیطی و میزان تودهٔ زنده تأثیر می‌پذیرد (Hurtado *et al.*, 2010). بررسی Marinho-Soriano و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که تغییرات میزان مواد استخراج شده در جلبک‌های پرسلولی همبستگی با تغییرات تودهٔ زنده دارد. در تحقیقات دیگر نیز میزان تودهٔ زنده جلبک‌های *Gracilaria* (Rafiee *et al.*, 2015) *Pterocladia capillacea* و *Hypnea musciformis* (Fathy and Mohammadi, 2007) با آگار رابطهٔ مستقیم داشت. اما بعضی از تحقیقات روی جلبک‌های *G. gracilis* (Orduna-Rojas and Robledo, 2002)، *G. gracilis* (Marinho-Soriano *et al.*, 2001) و *Gelidium* (Orduna-Rojas *et al.*, 2008) مؤید این بودند که بین تودهٔ زنده و آگار استخراج شده از جلبک *Gracilaria gracilis* همبستگی منفی وجود دارد. در این تحقیق میزان آگار با تودهٔ زنده همبستگی معنی‌داری نشان نداد.

تفاوت در مقدار و کیفیت آگار در بین فصول، با تغییرات فصلی در شرایط محیطی مانند وضعیت تولیدمثلی جمعیت و افزایش اندازهٔ جلبک در طول سال که منجر به بلوغ جلبک می‌شود، در ارتباط است (Vergara-Rodart *et al.*, 2010). در مطالعهٔ Rodríguez-Montesinos و همکاران (۲۰۱۳) روی *Gracilaria veleroae* و *Gracilaria vermicullophyla* در مکزیک میزان آگار اختلاف معنی‌داری بین فصول مختلف نداشته است. جلبک *Gracilaria gracilis* در آرژانتین در تابستان بیشترین میزان آگار با ۴۱ درصد (Murillo *et al.*, 2013) و *Gracilaria vermicullophyla* در مکزیک در تابستان حداکثر با ۲۹ درصد (Vergara-Rodarte *et al.*, 2010) را داشته‌اند که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. در الجزایر میزان آگار جلبک *Gelidium sesquipendale* در تابستان با ۳۲/۲۲ درصد بیشترین میزان و در سواحل مراکش نیز این گونه بیشترین میزان آگار را از فروردین تا مرداد با ۴۰ درصد داشته است. افزایش آگار در تابستان ناشی از بالا بودن شدت نور و دما بوده با این توضیح که افزایش نور با سنتز پلی‌ساکاریدهای دیوارهٔ سلولی جلبک در ارتباط است (Nil *et al.*, 2016). میزان آگار در ماه‌هایی که دما به زیر ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد می‌رسد کاهش می‌یابد. *Gracilaria longissimi* در مکزیک در آبان‌ماه بیشترین میزان آگار را داشته است (Orduna-Rojas *et al.*, 2008). در این تحقیق میزان آگار با شوری همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت. نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق موافق با مطالعات قبلی بر روی سایر گونه‌های خانواده Gracilariaceae در مناطق حاره یا مناطق معتدل حاره، در فصل سرد که شوری و دمای آب کمتر است، میزان آگار کمتری به‌دست آمد. این شرایط بر عملکرد فیزیولوژیکی جلبک دریایی به‌عنوان مثال تعادل یونی و ترشح سلولی تأثیر می‌گذارد (Trejo-Méndez *et al.*, 2021). با افزایش شوری در این تحقیق میزان آگار نیز افزایش داشته است. بیشترین میزان آگار *Gracilaria bursapastoris* (Marinho- Soriano and Bouret, 2003)، *Gracilaria tikvahiae* (Rocha *et al.*, 2018) و *Gracilaria parvispora* در مکزیک (Trejo-Méndez *et al.*, 2021) نیز با بیشترین میزان شوری هم‌زمان بوده که این امر نشان‌دهنده‌ی اثر شوری بر سنتز زیستی آگار است (Marinho- Soriano and Bouret, 2003).

در مقایسهٔ میزان آگار به‌دست‌آمده در *Gracilaria chilensis* با ۴۳ درصد (Chirapart *et al.*, 2006) *Gracilaria gracilis* ۴۱ درصد (Luca *et al.*, 2013) و *Gracilaria cornea* ۴۱ درصد (Marinho-Soriano *et*

Gracilaria corticata (*al.*, 2001)، ۳۳ درصد (Sornalakshmi. 2017)، *Gracilaria parvispora* ۲۰/۶ درصد (Trejo-Méndez *et al.*, 2021) *Gracilaria longissima* ۴۶/۲ درصد (Orduna-Rojas *et al.*, 2008) به‌دست‌آمده است که بیشترین میزان آگار استخراج شده در این تحقیق با ۶۳ درصد از مقدار بالایی برخوردار است.

اکسین و سیتوکینین در کنترل بسیاری از فرآیندهای اصلی در نمو همانند ایجاد چیرگی رأسی در ریشه و ساقه، با یکدیگر تقابل و برهم‌کنش دارند (Li *et al.*, 2007). پژوهش‌های انجام شده در این زمینه به‌وضوح بیانگر این امر است که هر یک از هورمون‌های اکسین و سیتوکینین می‌تواند سطح دیگری را تنظیم کند (Yosefian *et al.*, 2021). Smith و Charles (1984) سیتوکینین را به‌صورت فصلی در *Ecklonia* بررسی کردند. میزان سیتوکینین زآتین مانند این تحقیق در تابستان به‌دست‌آمده است. براساس یافته‌های Nordström و همکاران (2004)، اکسین از طریق مسیر مستقل از ایزوپنتیل آدنوزین-۵- منوفسفات (اولین حد واسط تولید شده در مسیر بیوسنتز سیتوکینین)، یک اثر تعدیل‌کنندهٔ منفی روی میزان سیتوکینین دارد؛ اما اثرات سیتوکینین بر میزان محتوای اکسین در کل پیکرهٔ گیاه آهسته است. این امر نشان می‌دهد که به‌احتمال زیاد سیتوکینین از طریق تغییر تعدادی از فرآیندهای رشد و نمو می‌تواند بر محتوای اکسین تأثیرگذار باشد. به‌همین علت میزان اکسین (ایندول بوتیریک اسید) و سیتوکینین (زآتین) در این تحقیق در ماه‌های مختلف روی داده است.

ترکیب هورمون‌های گیاهی و توزیع آن‌ها در ماکروجلبک‌ها با گونه‌های جلبک، تغییرات و نوسانات فصلی شرایط محیطی، محل جمع‌آوری آن‌ها و فاز رشد جلبک در ارتباط است (Yalçın *et al.*, 2020). در این تحقیق همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تودهٔ زنده و اکسین ایندول بوتیریک اسید به‌دست آمد. سنتز زیستی ایندول بوتیریک اسید در ذرت (*Zea mays*) شامل ایندول استیک اسید به‌عنوان پیش‌ساز مستقیم است، به‌طوری‌که ایندول استیک اسید تبدیل به ایندول بوتیریک اسید می‌گردد (Ludwig-Muller, 2000). در این تحقیق میزان زیاد ایندول بوتیریک اسید در دی‌ماه موجب افزایش تودهٔ زنده شد. اکسین موجب رشد گیاهچه‌ها در جلبک قهوه‌ای *Fucus disticus* شده است (Basu *et al.*, 2002). در طول رشد نمایی اولیه (تقسیم سلول) ریزجلبک *Scenedesmus obliquus* سیتوکینین کل ظاهراً بالا بود که به‌تدریج با رشد جمعیت کاهش یافته و به یک فاز ثابت نزدیک شد، اما رشد جلبک با افزایش اکسین همراه بوده است (Zizkova *et al.*, 2017).

در تحقیقاتی که توسط محققین مختلف بر روی گیاهان عالی انجام شده است ایندول بوتیریک اسید باعث رشد گیاهچه در *Melissa officinalis* (Sevil *et al.*, 2013)، *Rosa bourboniana* و *Rosa gruss-an-teplitz* (Hosseini *et al.*, 2004)، رشد جوانه‌های جانبی و ریشه در *Holostemma ada-kodien* (Martin, 2002)، افزایش قابل‌توجهی در رشد رویشی، طول برگ، ارتفاع گیاه، تعداد برگ در بوته، وزن تر و خشک ریشه و قطر ریشه در *Raphanus sativus* (Rasoulian *et al.*, 2018)، افزایش ارتفاع بوته، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر برگ و ساقه و وزن خشک ساقه در *Lilium* (Naji *et al.*, 2015) شده است. در این تحقیق میزان ایندول بوتیریک اسید که از اکسین تولید می‌شود با pH رابطهٔ معنی‌دار و منفی داشت. غلظت اکسین سلولی توسط یک فرآیند مولکولی به نام انتقال اکسین قطبی تنظیم می‌شود که وابسته به pH و انرژی است و توسط گروهی از پروتئین‌های غشای پلاسمایی تسهیل می‌شود. کاهش pH محیط کشت از ۹ به ۶ باعث افزایش تولید اکسین در *Arthrospira platensis* (یک سیانوباکتری که در مزارع برنج) شده است. ژن‌های سنتز اکسین در pH پایین به‌شدت بیان می‌شوند و در pH های بالا مهار تولید IAA گزارش شده است (Tan *et al.*, 2021). بر طبق گزارش Koda و Kikuta (۱۹۸۹)، در pH ۴، بالاترین تولید سیتوکینین در گوجه‌فرنگی مشاهده شد. بالاتر از pH ۴، مقادیر سیتوکینین با افزایش pH به‌شدت کاهش و از pH ۵/۶ تا ۸ دوباره افزایش یافت.

در گوجه‌فرنگی تولید سیتوکینین به‌شدت با میزان اکسیژن در دسترس ارتباط داشته است، به‌طوری‌که در اثر هوادهی میزان زآتین در ریشهٔ گوجه‌فرنگی از ۲۷ به ۱۰۱۳ پیکوگرم رسیده است. همچنین در گیاهان آفتابگردان، مقدار سیتوکینین در شیرهٔ آوند چوبی، زمانی که سیستم ریشه در معرض غرقاب آب قرار گرفت، کاهش یافت (Koda *et al.*, 1989). به‌همین علت در این تحقیق میزان زآتین در شهریورماه با بیشترین میزان اکسیژن و کمترین مقدار pH همراه بود.

در این تحقیق میزان سیتوکینین زآتین با شوری همبستگی منفی و معنی‌دار داشت. مهار رشد و نمو، کاهش فتوسنتز، تنفس و سنتز پروتئین در گونه‌های حساس در شرایط شوری گزارش

شده است. سیتوکینین‌ها برای کاهش اثرات نامطلوب شوری بر رشد گیاه شناخته شده‌اند. پوشش بذر با سیتوکینین برای افزایش تحمل گیاه به تنش شوری گزارش شد. کاهش غلظت اسید آبسیزیک در گیاهان حاصل از دانه‌های تیمار شده با کینین احتمالاً مسئول کاهش تنش شوری در گندم است. سیتوکینین‌ها به کاهش استرس شوری کمک می‌کنند. کاهش سطح سیتوکینین به‌عنوان پاسخ اولیه به تنش شوری پیشنهاد شده است.

سیتوکینین‌ها سازگاری گیاه با تنش شوری را کنترل می‌کنند. پس از افزودن ۶۵ میلی‌مولار نمک طعام به محلول غذایی، کاهش سطح سیتوکینین در ریشه و اندام هوایی گیاهان جو مقاوم گزارش شده است. غلظت زاتین در اندام هوایی و ریشهٔ ارقام جو پس از قرار گرفتن در معرض شوری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش سطح سیتوکینین این سوال را مطرح می‌کند که آیا فعالیت زیستی هورمون‌ها با افزایش ذخیره‌سازی موقت به حداقل رسیده یا اینکه متابولیزه شده است و این جنبه باید در مطالعات آینده برای درک بهتر مورد بررسی قرارگیرد (Fahad *et al.*, 2015).

بر اساس گزارش Nishiyama و همکاران (۲۰۱۲)، کاهش سطح سیتوکینین درون‌زا می‌تواند تحمل به شوری و تنش خشکی را افزایش دهد. آن‌ها متوجه شدند که بیان ژن‌های بسیاری که افزایش می‌یابد. پروتئین‌های تنظیم‌کننده، مانند فاکتورهای رونویسی NAC، یا پروتئین‌های عملکردی، مانند پروتئین‌های فراوان در اواخر جنین‌زایی، زایل‌گلوکان اندوترانس‌گلیکوزیلازها، گلیکوزیل ترانسفرازها، گلیکوزید هیدرولازها، دیفنسین‌ها و پروتئین‌های خانوادهٔ گلیوکسالاز I، ممکن است به بهبود تحمل به نمک گیاهان دارای کمبود سیتوکینین کمک کنند.

تنش نمک بر فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متعددی در گیاهان تأثیر می‌گذارد. تجمع یون‌های سدیم (Na^+) در گیاهان ممکن است هموستاز یونی را مختل کند، نسبت یون پتاسیم Na^+/ (K^+) و سمیت یون Na^+ را مختل کند که همگی می‌توانند منجر به استرس ثانویه از جمله استرس اکسیداتیو شوند. علاوه بر این، نشت یون، آسیب غشای سلولی، و آسیب مستقیم به پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها، همگی در اثر استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شوند که ممکن است در موارد خاص منجر به سمیت سلولی، اختلال در عملکرد غشا و مرگ سلولی شود. گزارش شده است که گیاهان با سطوح سیتوکینین پایین‌تر نسبت به چالش‌های غیرزیستی مانند تنش شوری، به‌دلیل کاهش تولید سیتوکینین یا افزایش تخریب، مقاوم‌تر هستند (Mandal *et al.*, 2022).

در مطالعهٔ حاضر همبستگی منفی و معنی‌دار بین ایندول بوتیریک اسید و اکسیژن وجود داشت. بر طبق مطالعات Yemelyanov و همکاران (2020)، ایندول استیک اسید و به‌دنبال آن ایندول بوتیریک اسید در تنظیم متابولیک در هنگام کمبود اکسیژن شرکت می‌کند. داده‌های به‌دست‌آمده نشان‌دهندهٔ تجمع معنی‌دار اکسین آزاد در بافت‌های گیاهی گندم و برنج طی ۱۲ ساعت از بی اکسیژنی بود. افزایش ۱٫۵-۲ برابری سطح اکسین در نهال گندم و ۵-۴ برابر در برنج افزایش یافت. در طول اکسیژن‌رسانی مجدد، سطح اکسین به سرعت در شاخه‌ها و به‌تدریج در ریشه کاهش می‌یابد. شاید این به‌دلیل در دسترس بودن بیشتر اکسیژن در داخل شاخه‌ها باشد، که در آن اکسین به سرعت از طریق فعال‌سازی پراکسیدازهای مختلف توسط ROS متابولیزه می‌شود. تحت شرایط پس از اکسیژن کم، تیمار نهال‌های برنج با اکسین خارجی اگزوژن، آسیب سلولی را کاهش داد. در تیمار با اکسین در گندم نیز مهار فرآیندهای اکسیداتیو مخرب (پراکسیداسیون لیپیدی و تولید پراکسید هیدروژن) مشاهده شد. این موارد باعث تأیید نقش مثبت اکسین در تأمین بقای گیاه در طول کمبود اکسیژن و پس از آن اکسیژن‌رسانی مجدد می‌گردد.

اکسین در طول کمبود اکسیژن بر رشد سطح وسیعی از طیف گیاهان تالابی تأثیر می‌گذارد. رشد برگ‌های سرخس *Regnellidium diphyllum*، ساقه‌های *Potamogeton pectinatus*، دمبرگ‌های *Nymphoides peltata*، *Ranunculus sceleratus* و *R. palustris* را تحریک می‌کند. به‌همین علت همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تودهٔ زنده و ایندول استیک اسید در این تحقیق مشاهده شد (Yemelyanov, 2020).

در این تحقیق همبستگی معنی‌دار و منفی‌بین ایندول بوتیریک اسید و دما به‌دست آمد. یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های اکسین، انتقال قطبی است که بیشتر به توزیع قطبی پروتئین‌های خانوادهٔ PIN بر روی غشای سلولی بستگی دارد (Geldner *et al.*, 2001). یک مطالعه نشان داد که اندوسیتوز و اگزوسیتوز در فعالیت‌های سلولی در توزیع قطبی پروتئین PIN روی غشای سلولی نقش دارند. اندوسیتوز نقش مهمی در شبکهٔ پاسخ سرمایی گیاه *Zanthoxylum bungeanum* ایفا

می‌کند. این نتایج نشان داد که توزیع قطبی اکسین به‌واسطهٔ اندوسیتوز یک راه مهم و شکل عمل پاسخ *Z. bungeanum* به تنش در دمای پایین است. افزایش میزان اکسین در گیاهان در دمای کم مشاهده شده است (Tian *et al*., 2022).

در بررسی حاضر در طی یک سال مشخص شد، در جلبک قرمز *Gracilaria corticata* زآتین در شهریورماه بیشترین میزان خود را در داشته است. در تحقیقات دیگر نیز زآتین در فصل تابستان به بیشترین میزان رسیده است (Erin *et al*., 2008; Ljung, 2013). باتوجه‌به اینکه زآتین هورمون تحریک‌کنندهٔ رشد و باعث افزایش طول ریسه است (Benkova, 2016)، انتظار می‌رفت که در فصل گرم میزان تودهٔ زنده *G. corticata* نیز افزایش پیدا می‌کرد. اما با وجود عوامل محیطی محدودکننده مانند دما و شوری، تودهٔ زنده *Gracilaria* روند معکوسی را دنبال کرده و در دی تا اردیبهشت‌ماه افزایش داشته و با شروع‌شدن فصل گرم کاهش پیدا کرده است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد این هورمون در رشد *Gracilaria* تأثیر چندانی نداشت. تحقیقات انجام شده در چین نشان می‌دهد که هورمون سیتوکینین گونه‌های مختلف *Gracilaria*، ریخت‌شناسی (مورفولوژی) جلبک‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. این هورمون روی تقسیم سلولی، فعالیت‌های متابولیکی مانند سنتز زیستی فیکواریترین و پروتئین‌ها اثر دارد. به‌طوری‌که دانشمندان اثر سیتوکینین روی رشد را نتیجهٔ تأثیر آن بر پروتئین‌سازی می‌دانند (Martin *et al*., 2013). مانند این تحقیق، گزارش‌ها نیز حاکی از آن است که سیتوکینین اثر معنی‌داری روی رشد جلبک‌های دریایی از جمله *Gracilaria textorii* نداشته است (Huang *et al*., 1997).

Strik و همکاران (2009) به استخراج سیتوکینین، اکسین و اسید آبسیزیک از جلبک‌های *Ulva* و *Dictyota* در آفریقای جنوبی پرداختند و تغییرات تراکم این ۳ هورمون را در یک سال بررسی کردند. اکسین در جلبک *Ulva* در اسفند و در جلبک *Dictyota* در اردیبهشت بیشترین میزان، اسید آبسیزیک در هر دو جلبک در شهریور و سیتوکینین در *Ulva* در تیر و در *Dictyota* مانند تحقیق حاضر در شهریور بیشترین مقدار را داشت. با توجه به اینکه بیشترین میزان تودهٔ زنده با حداکثر هورمون زآتین همزمان نبود و ایندول بوتیریک اسید فقط در دی‌ماه موجب رشد جلبک شده است می‌توان نتیجه گرفت در این جلبک عوامل خارجی بیشترین تأثیر را بر روی رشد آن داشته‌اند.

به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به نبود پروتکل مشخص برای استخراج هورمون‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد در ایران با جمع‌آوری اطلاعات و مطالعهٔ روش‌های متفاوت استخراج این هورمون‌ها بر روی گونه‌های گیاهان زمینی و اندک گیاهان آبزی پروتکلی جهت استخراج طراحی شد. میزان ایندول بوتیریک اسید و زآتین در جلبک قرمز *Gracilaria corticata* در طول یک سال از دی‌ماه ۱۳۹۴ تا آبان‌ماه ۱۳۹۵ بررسی و اندازه‌گیری شد و مشخص شد که عوامل محیطی از جمله دما و شوری اثر محدودکننده بر میزان تودهٔ زندهٔ جلبک‌ها در حضور تحریک‌کننده‌های رشد دارند. به‌دلیل انجام نگرفتن استخراج این هورمون‌ها از جلبک‌ها در داخل ایران و محدود بودن استخراج این عوامل از جلبک‌ها در تحقیقات خارج کشور امکان بررسی دقیق و گسترده و مقایسه و بازنگری این عوامل تنظیم‌کنندهٔ رشد از همه جوانب وجود نداشته و با توجه به قیمت گزاف هورمون‌های گیاهی و لازمه استفاده بودن این هورمون‌ها در کودهای مایع‌جلبکی و عصاره‌های جلبکی برای استفاده در کشاورزی و شیلات و وجود ماکروجلبک‌های فراوان در سواحل خلیج فارس (Rafiee *et al*., 2015) این تحقیق شروعی مفید برای استخراج انواع هورمون‌ها از این جلبک‌ها است (Yosefian, 2020). نتایج نشان داد که به‌منظور استخراج آگار، ایندول بوتیریک اسید و زآتین نمونه‌برداری در ماه‌های تیر، دی و شهریور به‌ترتیب انجام گیرد.

۵. 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 و مترجم گرامی سرکار خانم فاطمه زردچشمی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References ۶. منابع

Andrew, D., Eaton, M.A., Franson, H., 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. APHA. 21st Edition. American Public Health Association. American Water Works Association. Water Environment Federation.Washington DC. 773 p.

A.Stirk, W., Novak, M.S., Van-Staden. J., 2003. Cytokinines in macro-algae. *Plant Growth Regulation* 41, 13-24.

A.Stirk, W., Novak. O., Hradecka, V., Pencík, A., Rolcik, J., Strnad, M., Van-Staden. J., 2009. Endogenous cytokinins. auxins and abscisic acid in *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Dictyota humifusa* (Phaeophyta): towards understanding their biosynthesis and homoeostasis. *European Journal of Phycology* 44(2), .231-240. DOI:10.1080/09670260802573717

Basson, P.W., 1987. Marine Algae of the Persian Gulf Coast of Saudi Arabia (first half). Botanica Marina. Vol XXII. Yarmouk University. Dhahran. Saudi Arabia.

Bellinger, E., Sigee. D., 2010. Freshwater Algae: Identification and Use as Bio indicators. Wiley. Hardcover. Edition. 1. ISBN: 0470058145.

Benkova, E., 2016. Plant hormones in interactions with the environment. *Plant Molcular Biology*, 91(6), 597.

Basu, S., Sun, H., Brian, L., Quatrano, R.L., Muday, G.K., 2002. Early Embryo Development in Fucus distichus Is Auxin Sensitive. *Plant Physiology* 130(1), 292-302. DOI: 10.1104/pp.004747

Carmona. R., Vergara, J.J., Lahaye, M., Niell., F.X., 1998. Light quality affects morphology and polysaccharide yield and composition of *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyceae). *Journal of Applied Phycology* 10, 323-331. DOI: 10.1023/A:1008042904972

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

Chirapart, A., Munkit, J., Lewmanomont, K., 2006. Changes in Yield and Quality of Agar from the Agarophytes. *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitatavar*. liui Cultivated in Earthen Ponds. *National Science* 40, 529-540.

Chirapart, A., Ohno, M., 2004. Seasonal variation in the physical properties of agar and biomass of *Gracilaria* sp. (chorda type) from Tosa Bay. southern Japan. *Hydrobiologia* 260, 541-547. DOI: 10.1007/BF00049068

Dawes, C.J., 1997. Marine Botany. John Wlley and Sons. NewYork. 480 p.

Erin, N., Afacan. B., Ersoy, Y., Ercan, F., Balcı., M.K., 2008. Gibberellic acid. a plant growth regulator. increases mast cell recruitment and alters substance P levels. *Toxicology* 254(1-2), 75-81.

Fahad, S., Nie, L., Chen, Y., Wu, C., Xiong, D., Saud, S., Hongyan, L., Cui, K., Huang, J., 2015. Crop plant hormones and environmental stress. *Sustainable Agriculture Reviews* 15, 371-400. DOI: 10.1007/978-3-319-09132-7_10

Fathy, A.A., Mohammady, N.G.E., 2007. Seasonal variation on biomass and agar quality extracted from the marine red algae Pterocladia capillacea and Hypnea musciformis growing along Mediterranean seashore of Alexandria. EGYPT. *Egyptian Journal of Phycology* 8(1), 29-38. DOI: 10.21608/egyjs.2007.114541

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

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

Hanisak, M.D., 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

Hasibi, P., 2016. Physiological study of the effect of cold stress in the seedling stage of different genotypes of rice. Doctoral dissertation of Shahid Chamran University. Ahvaz. 145 p. (In Persian)

Hernandez-Herrera, R.M.F., Santacruz-Ruvalcaba, D.R., Briceno-Domínguez, D.A., Herrera, D.F., Hernandez-Carmona, G., 2018. Seaweeds as Potential Plant Growth Stimulants for Agriculture in Mexico. *Hidrobiológica* 28(1), 129-140.

Hosseini, M.R., Abkanar, A.M., 2004. Investigating the possibility of growing seaweed species *Gracilaria corticata* in natural environment (sea), Chabahar. *Scientific Journal of Iranian Fisheries* 13(2):61-72. (In Persian).

Hurtado, M., Manzano-Sarabia, M., Herandez-Garibaye, E., Pacheco-Ruiz, I., Zetuche-Gonzales, J., 2010. Latitudinal variations of the yield and quality of agar from *Gelidium robustum* (Gelidiales Rhodophyta) from the main commercial harvest beds along the western coast of the Baja California Peninsula. Mexico. *Journal of Applied Phycology* 23, 727-734. DOI: 10.1007/s10811-010-9572-0.

Huang, W., Fujita, Y., 1997. Callus induction and thallus regeneration in some species of red algae. *Phycological Research* 45, 105-111. DOI: 10.1111/j.1440-1835.1997.tb00069.x

Koda, Y., Kikuta, Y., 1989. Cytokinin production by tomato root: identicatifion of a major cytokinin produced by the root and environmemtal factors affecting the production. *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University* 64(1), 10-20.

Landau, S., Everitt, B.S., 2004. A Handbook of Statistical Analyses Using SPSS. Chapman and Hall/CRC.P:366.

Ljung, K., 2013. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*, 140(5), 943-950.

Marinho-Soriano, E., 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

Marinho-Soriano, E., Silva, T.S.F., Moreira, W.S.C., 2001. Seasonal variation in the biomass and agar yield from *Gracilaria cervicornis* and hydropuntia cornea from Brazil. *Bioresource Technology* 77, 115-120. DOI: 10.1016/S0960-8524(00)00158-9

Martin, L.A., Rodríguez, M.C., Matulewicz, M.C., Fissore, E.N., Gerschenson, L.N., 2013. Seasonal variation in agar composition and properties from *Gracilaria gracilis* (Gracilariales. Rhodophyta) of the Patagonian coast of Argentina. *Phycological Research*, 61(3), 163-171. DOI: 10.1111/pre.12000

Murillo-Álvarez, J.I., 2013. Seasonal variation of the agar quality and chemical composition of *Gracilaria veleroae* and *Gracilaria vermiculophylla* (Rhodophyceae. Gracilariaceae) from Baja California Sur. Mexico. *Phycological Research* 61(2), 116-123. DOI: 10.1111/pre.12008

Nil, S., Ali-Mehidi, S., Zellal, A., Abi-Ayad, S.M.E.A., 2016. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) from Mostaganem. Algeria. *African Journal of Biotechnology* 15(10), 350-355. DOI: 10.5897/AJB2015.15004

Nishiyama, R., Le, D.T., Watanabe, Y., Matsui, A., Tanaka, M., Seki, M., Yamaguchi-Shinozaki. K., Shinozaki, K., Tran, L.S.P., 2012. Transcriptome analyses of a salt-tolerant cytokinin-deficient mutant reveal differential regulation of salt stress response by cytokinin deficiency. *PloS one* 7(2), e32124. DOI: 10.1371/journal.pone.0032124

Nordström, A., Tarkowski, P., Tarkowska, D., Sandberg, G., 2004. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in Arabidopsis thaliana: A factor of potential importance for Auxin–Cytokinin-regulated development. *Biological Science* 101(21), 8039-8044. DOI: 10.1073/pnas.0402504101

Orduna-Rojas, J., Robledo, D., 2002. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* from Yucatan Mexico.II: Biomass assessment and reproductive phenology. *Botanica Marina* 45, 459-464.

Orduna-Rojas, J., Robledo, D., Dawes, C.J., 2008. Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta. Gracilariales) from Yucatan. Mexico. I. Seasonal physiological and bio chemical responses. *Botanica Marina* 45, 453-458. DOI: 10.1515/BOT.2002.046

Pereira, D.T., Simioni, C., Filipin, E.P., Bouvie, F., Ramlov, F., Maraschin, M., Bouzon, Z.L., Schmidt, E.C., 2017. Effects of salinity on the physiology of the red macroalga. *Acanthophora spicifera* (Rhodophyta. Ceramiales). *Acta Botanica Brasilica* 31(4), 555-565. DOI: 10.1590/0102-33062017abb0059

Rafiee, F., Fatemi, S.M.R., Vothoqi, G.H., Filizadeh, Y., Esmaili Sari, A., 2015. Investigating the effects of some environmental factors on the amount of agar extracted from *Gracilaria corticata* in the coasts of the Persian Gulf - Bandar Lange. *Scientific Journal of Iranian Fisheries* 15(1), 88-81. (In Persian)

Rasoulian, M., Akbari Nasab, M., 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. (In Persian)

Rezaei, M.b., Jaymand, A., 1997. Agar Agar Research Institute of Forests and Pastures. 165 p. (In Persian)

Sarkar, P.K., Haque, M.Sh., Abdul Karim, M., 2002. Effects of GA and IAA and their frequency of application on morphology. yield 3. *Pakistan Journal of Agronomy* 1(4), 119- 122.

Silva, A., Silva, S.A., Carpena, M., Garcia-Oliveira, P., Gullón, P., Fátima Barroso, M., Prieto, M.A., Simal-Smith, A., Charles. B., 1984. Cytokinins in *Eclonia maxima* and the Effect of Seaweed Concentrate on Plant Growth. PhD thesis of Botany. University of Natal. Pietermaritzburg.

Spagnuolo, D., Russo, V., Manghisi, A., Di Martino, A., Morabito, M., Genovese, G., Trifilo, P., 2022. Screening on the Presence of Plant Growth Regulators in High Biomass Forming Seaweeds from the Ionian Sea (Mediterranean Sea). *Sustainability* 14(7), 3914. DOI: 10.3390/su14073914

Strik, W., Novák, O., Hradecká, V., Pěnčík, A., Rolčík, J., Strnad, M., 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, 2.231-240. DOI: 10.1080/09670260802573717

Subba Rangaiah, G., 1984. Effect of environmental factors on germination and growth in *Gracilaria corticata* J. Agardh. *Indian Journal of Botanica* 7(2), 234-239.

Sunarpi Jupri, A., Kurnianingsih, R., Julisaniah, N.I., Nikmatullah, A., 2010. Effect of seaweed extracts on growth and yield of rice plants. *Nusantara Bioscience* 2(2), 73-77.

Verma, V., Ravindran, P.P., Kumar P., 2016. Plant hormone-mediated regulation of Stress responses. *BMC Plant Biology* 16, 1-10. DOI: 10.1186/s12870-016-0771-y

Volynkin, A., 2013. Growing *Gracilaria parvispora*. Salt Water Reefing. Re-trieved 2016-12-18.

Vuong, D., Kaplan, M., Lacey, H.J., Crombie, A., Lacey, E., Piggott, A.M., 2018. A study of the chemical diversity of macroalgae from South Eastern Australia. *Fitoterapia* 126, 53-64. DOI: 10.1016/j.fitote.2017.10.014

Yalcin, S., Sukran Okudan, E., Karakaş, O., Önem, A.N., Sözgen Baskan, K., 2019. Identification and quantification of some phytohormones in seaweeds using UPLC-MS/MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 42(15-16), 475-484. DOI: 10.1080/10826076.2019.1625374.

Yemelyanov, V.V., Lastochkin, V.V., Chirkova, T.V., Lindberg, S.M., Shishova, M.F., 2020. Indoleacetic Acid Levels in Wheat and Rice Seedlings under Oxygen Deficiency and Subsequent Reoxygenation. *Biomolecules* 10(2), 276. DOI: 10.3390/biom10020276

Yokoya, N.S., Kakita. H., Obika, H., Kitamura, T., 1999. Effects of environmental factors and plant growth Regulators on growth of the red alga *Gracilaria vermiculophylla* from Shikoku Island. Japan. *Hydrobiologia* 398/399, 339-347. DOI: 10.1023/A:1017072508583

Yokota, T., Murofushi, N., Takahashi, N., 2014. Extraction. purification and identification. In: MacMillan J(Ed) Hormonal regulation of development I. Encyclopedia of plant physiology. new series. vol 9. Springer. Berlin Heidelberg New York. pp. 113-2011.

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

Zizkova, E., Kubes, M., Dobrev, P.I., Pribyl, P., Simura, J., Zahajska, L., Zaveska Drabkova, L., Novák, O., Motyka, V., 2017. Control of cytokinin and auxin homeostasis in cyanobacteria and 1476 algae. *Annals of Botany* 119(1), 151-166. DOI: 10.1093/aob/mcw194