

The effect of different concentrations of linoleic acid on physiological responses and production of bioactive compounds in *Spirulina platensis*

Roja Matani Kapouri¹ | Roya Bishehkolaei^{2✉} | Saeid Soltani³ | Abbas Ali Dehpour⁴

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Qaemshahr, Iran. E-mail: Rojamatani3@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Qaemshahr, Iran. E-mail: Roya.bishehkolaei@iau.ac.ir
3. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran. E-mail: Ketaban@gmail.com
4. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Qaemshahr, Iran. E-mail: Dehpour@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type Research Article	Objective: <i>Spirulina platensis</i> is an important source of bioactive compounds, especially plant pigments, phenolic compounds, and antioxidants. In this study, the effect of linoleic acid (30 and 60 μ M) on redox and biochemical changes of <i>Spirulina platensis</i> was studied during 3 and 7 days.
Article history Received: 31 March 2025 Revised: 14 May 2025 Accepted: 15 May 2025 Published: 22 June 2025	Methods: In the present study, the content of superoxide anion, the activity of catalase and peroxidase enzymes, as well as the content of photosynthetic pigments, proline, ascorbate, phenol, and total flavonoids were calculated via spectrophotometer.
Keywords Bioactive compounds Biochemical responses Chemical elicitors Redox status <i>Spirulina</i> algae	Results: The dry weight of algae treated with different concentrations of linoleic acid increased after 3 days. Also, the superoxide anion content increased significantly at a concentration of 30 μ M linoleic acid after 7 days. Also, linoleic acid treatment reduced the activity of catalase and peroxidase enzymes. Also, this treatment at a concentration of 60 μ M increased the content of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids. The content of proline and ascorbic acid decreased significantly in response to concentrations of 30 and 60 μ M linoleic acid. A significant increase in total phenols and flavonoid content was observed in response to linoleic acid, with the highest content of total phenols and flavonoids observed at a concentration of 60 μ M after 7 days.
	Conclusion: As a result, it can be suggested that linoleic acid can alter biochemical and metabolic responses in <i>Spirulina platensis</i> by changing the content of superoxide anion as a signaling molecule.

Cite this article: Matani Kapouri, R., Bishehkolaei, R., Soltani, S., & Dehpour, A. A. (2025). Investigating the effect of different concentrations of linoleic acid on physiological responses and production of bioactive compounds in *Spirulina platensis*. *Ethnobiology and Biodiversity Conservation*, 2(2), 1-16. <https://doi.org/10.22091/ethc.2025.11770.1043>



©The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22091/ethc.2025.11770.1043>

Publisher: University of Qom

تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر پاسخ‌های فیزیولوژیک و تولید ترکیبات زیست فعال در جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*)

رجا متانی کپوری^۱ | رؤیا بیشه کلایی^۲ | سعید سلطانی^۳ | عباسعلی دهپور^۴

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران. رایانامه: Rojamatani3@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران. رایانامه: Roya.Bishehkolaei@iau.ac.ir
۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران. رایانامه: Ketaban@gmail.com
۴. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران. رایانامه: Dehpour@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله پژوهشی	
تاریخچه دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۱ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۵ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۰۱	هدف: جلبک اسپیرولینا (<i>Spirulina platensis</i>) یک منبع مهم از ترکیبات زیست فعال به خصوص رنگیزه‌های گیاهی و ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدان‌ها است. در این بررسی، تأثیر لینولئیک اسید (۳۰ و ۶۰ میکرومولار) بر تغییرات ردوکس و بیوشیمیایی جلبک اسپیرولینا زمان‌های ۳ و ۷ روز مطالعه شد. مواد و روش‌ها: در این بررسی، محتوای سوپراکسید آنیون، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و همچنین، میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، آسکوربات، فنل و فلاوونوئید کل به روش اسپکتروفتومتری محاسبه شد. نتایج: وزن خشک جلبک‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید پس از ۳ روز افزایش یافت. همچنین، محتوای سوپراکسید آنیون در غلظت ۳۰ میکرومولار لینولئیک اسید بعد از ۷ روز افزایش یافت. همچنین، تیمار لینولئیک اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. همچنین این تیمار در غلظت ۶۰ میکرومولار باعث افزایش محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها شد. محتوای پرولین و آسکوربیک اسید در پاسخ به غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید کاهش چشمگیری یافت. افزایش معنی‌داری در محتوای فنل و فلاوونوئید کل در پاسخ به لینولئیک اسید مشاهده شد که بیشترین محتوای فنل و فلاوونوئید کل در غلظت ۶۰ میکرومولار پس از ۷ روز مشاهده شد. نتیجه‌گیری: می‌توان پیشنهاد کرد که لینولئیک اسید با تغییر محتوای سوپراکسید آنیون به عنوان یک مولکول علامت رسان می‌تواند پاسخ‌های بیوشیمیایی و متابولیکی را در جلبک اسپیرولینا تغییر دهد.

استناد: متانی کپوری، رجا؛ بیشه کلایی، رؤیا؛ سلطانی، سعید؛ و دهپور، عباسعلی (۱۴۰۳). تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر پاسخ‌های فیزیولوژیک و تولید ترکیبات زیست فعال در جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*). زیست قوم‌شناسی و حفاظت تنوع زیستی، ۲(۲)، ۱-۱۶.
<https://doi.org/10.22091/ethc.2025.11770.1043>



مقدمه

اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) یک جنس جلبک سبز-آبی است که می‌تواند از دی اکسید کربن محلول در آب دریا به عنوان یک منبع مغذی استفاده نماید (Ali and Saleh, 2012). این جلبک سبز-آبی در واقع یک سیانوفیت رشته‌ای فتوسنتزکننده است که در صنایع غذایی به عنوان یک منبع مهم از ترکیبات زیست فعال مورد توجه قرار گرفته است (Mohammadi Alasti et al., 2015) و به تدریج به عنوان مکمل پروتئین و ویتامین برای انسان و حیوانات در نظر گرفته شده است (Costa et al., 2019; Anvar and Nowruzi, 2021). این جلبک در آب شور و آب شیرین رشد می‌کند و به راحتی قابل برداشت و فرآوری است و دارای محتوای درشت مغذی و ریزمغذی بسیار بالایی است (Rosario and Josephine, 2015).

اسپیرولینا دارای ترکیبات با ارزش بسیاری از جمله استرول‌ها، پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، آنتی اکسیدان‌ها، رنگیزه‌ها و اسیدهای چرب اشباع نشده چندانگانه است (Kumar et al., 2022). علاوه بر این، جلبک اسپیرولینا به دلیل توانایی فتوسنتزی که دارد حاوی کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئیدها، آستاگزانتین (Astaxanthin) و فیکوبیلی پروتئین‌ها (Phycobiliprotein) می‌باشد که به عنوان رنگ‌های طبیعی برای صنایع غذایی ارزشمند هستند (Kumar et al., 2019). آستاگزانتین یک کتوکاروتنوئید ثانوی با خواص پاداکسایندگی بالا است که به میزان زیادی در غذا، خوراک دام و داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ambati et al., 2014). بررسی‌ها نشان داده‌اند که آستاگزانتین در جلبک‌های خاصی تحت شرایط تنشی، سنتز و تجمع می‌یابد (Liu et al., 2016). از سوی دیگر، فیکوبیلی پروتئین‌ها اجزای پروتئینی محلول در آب هستند که بر اساس رنگشان به دو گروه بزرگ فایکواریترین (Phycoerythrin) و فایکوسیانین (Phycocyanin) تقسیم می‌شوند و در سیستم فتوسنتزی جلبک نقش به سزایی دارند (Wang et al., 2001; Benelhadj et al., 2016).

خواص عملکردی عصاره جلبک *S. platensis* شامل فعالیت‌های ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد انگلی و ضد پیری است و همچنین از این جلبک به عنوان پری بیوتیک استفاده زیادی می‌شود (AlFadhly et al., 2022). در میان ترکیبات زیست فعال موجود در جلبک‌ها، فنولیک‌ها می‌توانند سیستم واکنش‌های حفاظت شیمیایی در برابر شرایط نامطلوب را بهبود بخشند و نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو با خوردن غذاهایی با مقادیر بالای آنتی اکسیدان کاهش می‌یابد (Andrade et al., 2022; AlFadhly et al., 2018). در سال ۱۹۷۴، طی کنفرانس جهانی غذا سازمان ملل، این جلبک به عنوان یک منبع غذایی مهم برای آینده معرفی شد و در سال ۱۹۹۳، توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان یک غذای غنی از پروتئین و آهن و قابل مصرف بدون هیچ خطری شناخته شد (Marles et al., 2011).

در این سال‌ها، از اسپیرولینا به دلیل ترکیبات غذایی چشمگیر آن به طور گسترده در صنایع غذایی، سوخت زیستی، دارویی، آرایشی و بهداشتی و کشاورزی استفاده شده است (Trotta et al., 2022). جلبک اسپیرولینا دارای رشد پایینی است و برای افزایش تولید ترکیبات زیست فعال ارزشمند در این جلبک از روش‌های مختلفی مانند اصلاح شرایط کشت و استفاده از تنش‌های غیرزیستی (مانند pH، دما، شوری، فلزات و تابش فرابنفش) و محرک‌های شیمیایی مانند هورمون‌های گیاهی و ترکیبات حد واسط استفاده شده است (Ran et al., 2019; Khalili et al., 2019).

مطالعات نشان داده‌اند که آلفا-لینولئیک اسید توسط فعالیت آنزیم لیپاز از غشاء سلول‌های گیاهی آزاد شده و به عنوان یک مولکول پیش ساز برای بیوسنتز فیتو-اکسی لیپین مطرح شده است. همچنین، این مولکول نقش مهمی در عملکرد مناسب پروتئین‌های سراسری غشا دارد و سیالیت غشاء را در طول استرس حفظ می‌کند (Upchurch, 2008). آلفا-لینولئیک اسید یک اسید چرب غیراشباع است که نقش مهمی را به عنوان مولکول‌های علامت رسان در طول فرآیندهای دفاعی گیاه در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌نماید (Deleu et al., 2019). همچنین، رابطه مثبتی بین لینولئیک اسید و سنتز کاروتنوئیدها به خصوص آستاگزانتین گزارش شده است (Chen et al., 2015).

بررسی‌ها نشان داده‌اند که لینولئیک اسید ممکن است به عنوان آلوشیمیایی و یا به عنوان پیش‌ساز هورمون‌های گیاهی از جمله جاسمونیک اسید و تروماتیک اسید عمل کند که می‌تواند بر فیزیولوژی گونه‌های مختلف ریزجلبکی اثرگذار باشد (Khalili et al., 2019). نقش هورمون جاسمونیک اسید در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه در پاسخ به شرایط تنش زیستی و غیرزیستی بررسی شده است (Sagharyan et al., 2023; He and Ding, 2020). یکی از پیامدهای شرایط تنش در

گیاهان و جلبک‌ها افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند آنیون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است. این مولکول‌های رادیکال از متابولیسم هوازی به‌طور طبیعی تولید می‌شوند و می‌توانند در تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی مختلف، به خصوص پاسخ‌های تنشی، نقش ایفا نمایند (Ameri et al., 2020; Sagharyan et al., 2024). با این حال، سطوح بالای ROS می‌تواند به آسانی به مولکول‌های زیستی مختلف از جمله، لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک حمله کند و آن‌ها را از بین ببرد (Saxena et al., 2016).

با این حال، اطلاعات در مورد سازوکارهای لینولئیک اسید بر جلبک *S. platensis* محدود است. با توجه به موارد ذکر شده، آزمایش حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر مولکول‌های آنیون سوپراکسید، سیستم پاداکساینده آنزیمی، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید کل) و ترکیبات زیست فعال مانند فنل و فلاوونوئید کل در جلبک *S. platensis* انجام شده است.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد و تیماردهی جلبک‌ها

در این پژوهش، نمونه‌های جلبک *S. platensis* از بانک جلبک (با شناسه abdf2224) خریداری شد. هر نمونه در فلاسک‌های ارلن (۲۵۰ میلی‌لیتر) تحت دوره نوری ۸/۱۶ (۲۰ میکرومول در مترمربع ثانیه بر ثانیه از سطح تابش) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت Zarrouk با برخی تغییرات رشد داده شد (جدول ۱) (Zarrouk, 1966). ابتدا، لینولئیک اسید (Merk, Accession No. 8.43483.0025) در اتانول ۵۰٪ حل شد و سپس غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار توسط فیلتر سرسرنگی به محیط کشت جلبکی افزوده شد. تیماردهی در روز دهم پس از واکشت انجام شد و تمام نمونه‌ها پس از سه و هفت روز جمع‌آوری و برای تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

جدول ۱. محیط کشت استاندارد و کمی تغییر یافته Zarrouk

عناصر مورد نیاز	محیط کشت استاندارد Zarrouk (گرم بر لیتر)	محیط کشت Zarrouk تغییر یافته (گرم بر لیتر)
NaCl	۱	۱
CaCl ₂ .2H ₂ O	۰/۰۴	۰/۰۴
KNO ₃	-	۲/۵
NaNO ₃	۲/۵	-
FeSO ₄ · 7H ₂ O	۰/۰۱	۰/۰۱
EDTA (Na)	۰/۰۸	۰/۰۸
K ₂ SO ₄	۱	۱
MgSO ₄ · 7H ₂ O	۰/۲	۰/۲
NaHCO ₃	۱۶/۸	۱۶/۸
K ₂ HPO ₄	۰/۵	۰/۵
A5 micronutrient (H ₃ BO ₃ , MnCl ₂ .4H ₂ O, ZnSO ₄ .4H ₂ O, Na ₂ MoO ₄ , CuSO ₄ .5H ₂ O)	۱ میلی‌لیتر	۱ میلی‌لیتر

اندازه‌گیری محتوای رادیکال آزاد سوپراکسید و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده

محتوای آنیون سوپراکسید با استفاده از ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (۶۵ میلی‌مولار، pH 7.8) به عنوان بافر استخراج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Elstner and Heupel, 1976). پس از سانتریفیوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، ۵۰۰ میکرولیتر عصاره با ۱۰ میلی‌مولار HONH₂ در دمای اتاق به‌طور کامل مخلوط شد. پس از ۲۰ دقیقه، مخلوط‌های واکنش با ۷ میلی‌مولار ۱-نفتیل‌آمین (1-naphthylamine) و ۱۷ میلی‌مولار سولفانیل آمید (sulfanilamide) ترکیب شدند. در نهایت، تغییرات جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۳۰ نانومتر ثبت شد و بر اساس منحنی استاندارد کاهش نیتروبلوتترازولیم (Nitro blue tetrazolium, NBT) محاسبه شد.

محتوای پروتئین کل با روش Bradford (۱۹۷۶) بر اساس منحنی استاندارد BSA (سرم گاوی) مورد سنجش قرار گرفت. برای این آزمایش، ۰/۲ گرم وزن تر از نمونه‌ها در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار؛ pH 7.0) حاوی ۱ میلی‌مولار پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) ساییده شد. سپس مایع رویی با سانتریفیوژ جدا شد و جذب نمونه در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD, EC 1.11.1.7) توسط روش Pandolfini و همکاران (۱۹۹۲) همان‌طور که توسط Khodamoradi و همکاران (۲۰۲۲) تعیین شد. عصاره پروتئین نمونه‌ها (۲۰ میکرولیتر) با ۶۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم (۶۰ میلی‌مولار، pH 6)، ۱۰ میکرولیتر H_2O_2 (۵ میلی‌مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول (۲۸ میلی‌مولار) مخلوط شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس تغییرات اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه محاسبه شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6) CAT با روش Cakmak و Marschner (۱۹۹۲) آزمایش شد. به طور خلاصه، ۲۵ میکرولیتر عصاره پروتئینی با ۴۷۵ میکرولیتر فسفات پتاسیم (۲۵ میلی‌مولار، pH 6.8) مخلوط شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر H_2O_2 (۱۰ میلی‌مولار) به مخلوط واکنش اضافه شد و میزان فعالیت کاتالاز با توجه به سرعت ناپدید شدن H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری تولید محتوای رنگی‌های فتوسنتزی

برای این منظور، ۰/۲ گرم وزن تر از نمونه‌ها در ۲ میلی‌لیتر استون (۹۵٪) ساییده شد. پس از آن، نمونه‌ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس، جذب نمونه در طول موج ۶۴۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و مطابق معادله‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

$$\text{کلروفیل کل} = \text{کلروفیل } a + \text{کلروفیل } b$$

$$\text{کلروفیل } a = (\text{جذب نمونه در } 663 \times 12/25) - (\text{جذب نمونه در } 646 \times 2/79)$$

$$\text{کلروفیل } b = (\text{جذب نمونه در } 646 \times 21/50) - (\text{جذب نمونه در } 663 \times 5/10)$$

$$\text{کاروتنوئید کل} = ((\text{جذب نمونه در } 470 \times 1000) - (\text{کلروفیل } a \times 1/8) - (\text{کلروفیل } b \times 85/0.2)) \div 198$$

اندازه‌گیری ترکیبات پرولین و آسکوربیک اسید

محتوای پرولین نمونه‌های جلبکی بر اساس روش Bates (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۲ گرم از نمونه‌های منجمد در ۲ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید (۳ درصد وزنی-حجمی) ساییده شد. سپس، این نمونه‌ها در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. یک میلی‌لیتر مایع رویی جمع‌آوری شد و با محلول اسید استیک (۳ میلی‌لیتر) حاوی نین هیدرین (۱/۲۵ گرم) مخلوط شد. سپس مخلوط واکنش با ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک (۶ مولار) ترکیب شد. پس از آن، جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و با استفاده از L-پرولین به عنوان مرجع استاندارد کالیبره شد.

به منظور بررسی محتوای اسکوربات، ۰/۲ گرم نمونه تازه در ۳ میلی‌لیتر متافسفریک اسید (۵٪) ساییده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۷۵۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات (۱۰۰ میلی‌مولار) و ۱۵۰ میکرولیتر از N-ethylmaleamide (۵٪) مخلوط شد. سپس، به مخلوط واکنش ۶۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید (۱۰٪)، ۱۵۰ میکرولیتر Dithiothreitol (DTT) ۱۰ میلی‌مولار، ۶۰۰ میکرومولار ارتو-فسفریک ۴۴٪ و ۱۰ میکرولیتر کلرید آهن ($FeCl_3$) افزوده شد. جذب مخلوط واکنش در ۵۲۵ نانومتر ثبت و محتوای اسکوربات بر اساس منحنی اسکوربیک اسید محاسبه شد (de Pinto et al., 1999).

تعیین محتوای فنل و فلاونوئید کل

محتوای فنل و فلاونوئید کل با استفاده از عصاره متانولی بر طبق روش Akkol و همکاران (۲۰۰۸) محاسبه شد. برای این منظور، ۰/۲ گرم از جلبک‌های فریز شده با یک میلی‌لیتر متانول ساییده و همگن شد. پس از سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰ دقیقه و ۴ درجه سانتی‌گراد)، ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۲ میلی‌لیتر معرف Folin-Ciocalteu و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد مخلوط شد. پس از ۲ ساعت، جذب مخلوط واکنش توسط اسپکتروفتومتر (Cary 100-UV-vis, Agilent)، ساخت آمریکا) در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت شد. مقدار فنل کل بر اساس نمودار منحنی استاندارد گالیک اسید (۵-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر؛ $R^2=0.995$) برحسب میکروگرم بر وزن تر محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل فلاونوئید کل، ابتدا ۵۰۰

میکرولیتر عصاره متانولی با تری کلرید آلومینیوم حل شده در اتانول (۲۰ میلی گرم در میلی لیتر در لیتر) مخلوط شد. پس از ۴۰ دقیقه، جذب از طریق اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. از منحنی استاندارد کوئرستین (۵-۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر؛ $R^2 = 0.992$) به منظور محاسبه فلاوونوئید کل استفاده شد (Sagharyan et al., 2023).

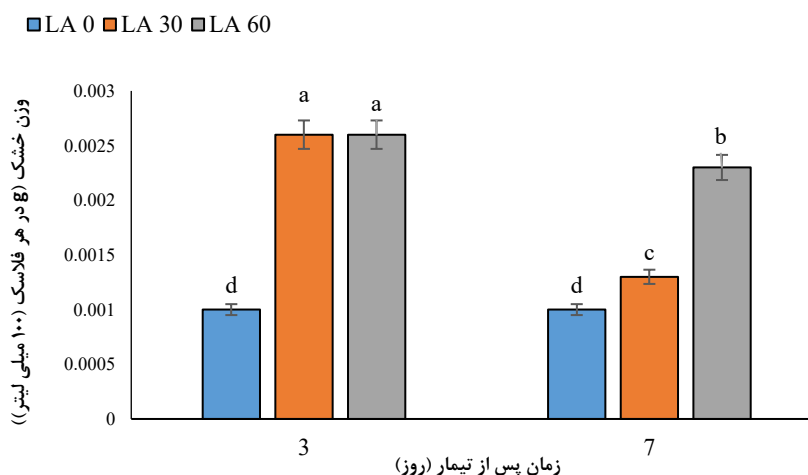
تجزیه و تحلیل آماری

تمامی بررسی های بیوشیمیایی دارای سه تکرار مستقل بودند. مقایسه میانگین ها توسط نرم افزار SPSS (Version 25) صورت پذیرفت. همچنین از آزمون دانکن جهت معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P \leq 0.05$ استفاده شد. برای به دست آوردن اطلاعات دقیق بیشتر در مورد تغییرات متابولیک، ما از تجزیه و تحلیل خوشه سلسله مراتبی ((Hierarchical Cluster (HCA) Analysis)) و تجزیه و تحلیل اجزای اصلی ((Principal Component Analysis (PCA)) با استفاده از ابزار پردازش داده متابولومیک مبتنی بر وب metaboanalyst (<https://www.metaboanalyst.ca>) استفاده کردیم (Esmaili et al., 2023).

نتایج

تأثیر غلظت های مختلف لینولئیک اسید بر رشد سلولی جلبک اسپیرولینا

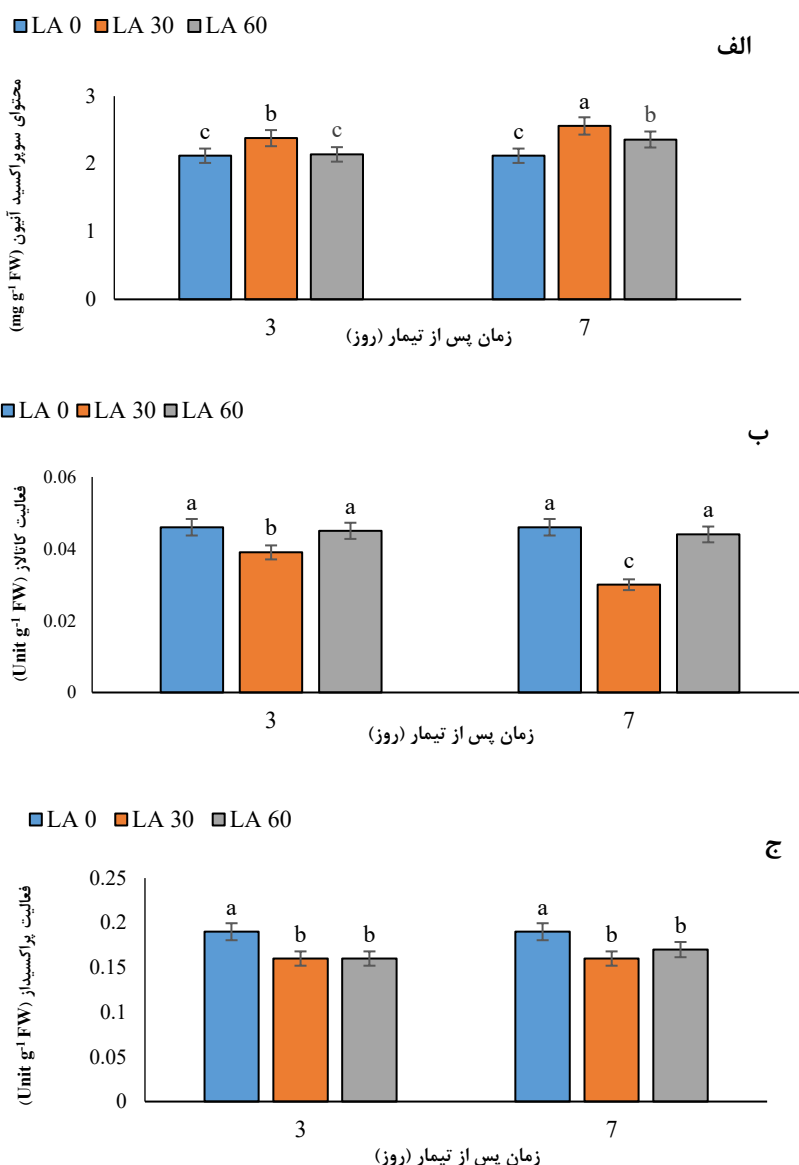
در این بررسی، ابتدا تأثیر غلظت های مختلف لینولئیک اسید (۰، ۳۰ و ۶۰ میکرومولار) بر رشد سلول های جلبک اسپیرولینا مطالعه شد. بر اساس نتایج به دست آمده در شکل ۱، به طور کلی تیمار لینولئیک اسید بر وزن خشک سلول های جلبک اسپیرولینا تأثیر معنی داری داشت. بیشترین میزان وزن خشک در غلظت ۳۰ و ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید مشاهده شد که تقریباً ۲/۶ برابر نمونه شاهد بود.



شکل ۱. تأثیر غلظت های مختلف لینولئیک اسید بر وزن خشک در جلبک اسپیرولینا. مقادیر ستون نوار میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد است. حروف مختلف تفاوت های آماری معنی داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می دهند.

تأثیر غلظت های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای سوپراکسید آنیون و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

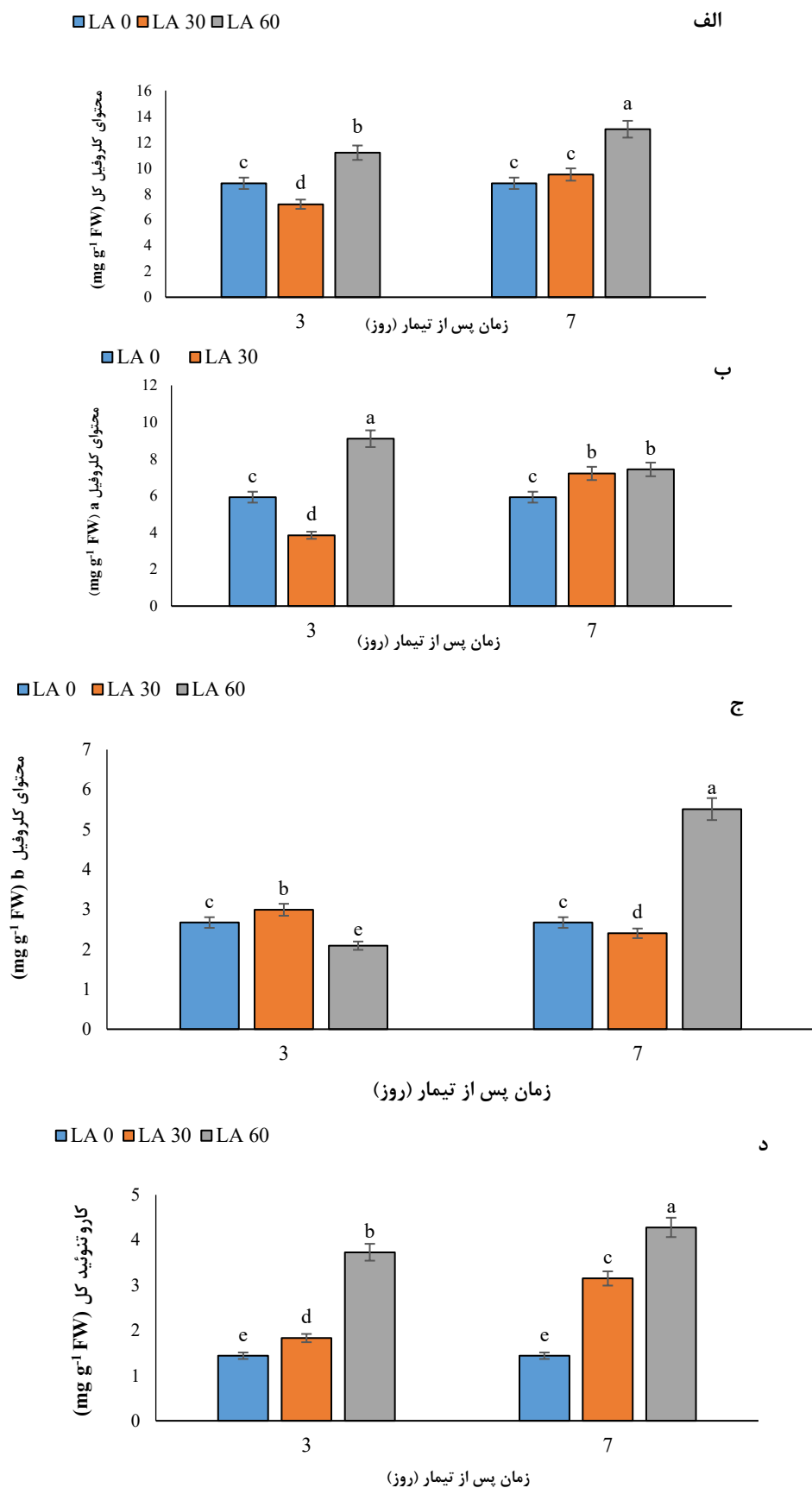
به منظور بررسی تأثیر غلظت های مختلف لینولئیک اسید بر شرایط اکسیداتیو جلبک اسپیرولینا، مقدار محتوای سوپراکسید آنیون و فعالیت آنزیم های پاداکسنده کاتالاز و پراکسیداز اندازه گیری شد (شکل ۲). تغییرات محتوای سوپراکسید آنیون در پاسخ به غلظت های مختلف لینولئیک اسید معنی دار ($P \leq 0.05$) بود و بیشترین محتوای آن در غلظت ۳۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز مشاهده شد که ۱/۲ برابر بیشتر از نمونه شاهد بود (شکل ۲-الف). همچنین، بر اساس نتایج شکل ۲-ب، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۳۰ میکرومولار لینولئیک اسید کاهش یافت. در حالی که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میکرومولار در طول دوره های زمانی ۳ و ۷ روز کاهش یافت (شکل ۲-ج).



شکل ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر (الف) محتوای سوپراکسید آنیون و میزان فعالیت آنزیم‌های (ب) کاتالاز و (ج) پراکسیداز در جلبک اسپیرولینا در طول دوره زمانی. مقادیر ستون نوار میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد است. حروف مختلف تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می‌دهند.

تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

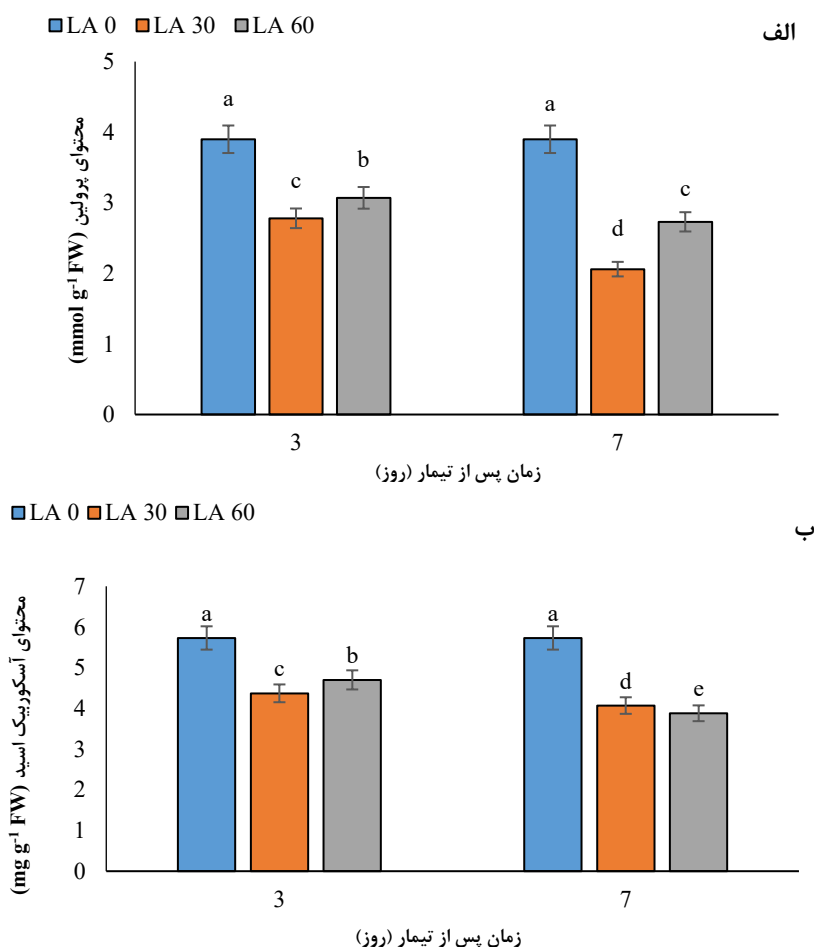
در این پژوهش، به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر فعالیت سیستم فتوسنتزی و کارایی آن، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله محتوای کلروفیل کل، کلروفیل‌های a و b و همچنین کاروتنوئید کل در جلبک‌های تیمار شده ارزیابی شد (شکل ۳). بر اساس شکل ۳-الف، میزان محتوای کلروفیل کل در پاسخ به غلظت ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافت. بیشترین محتوای آن در غلظت ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز مشاهده شد که ۱/۴۷ برابر بیشتر از نمونه شاهد بود. همچنین، تغییر محتوای کلروفیل a در پاسخ به تیمار لینولئیک اسید معنی‌دار بود و بیشترین مقدار آن در غلظت ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۳ روز مشاهده شد (شکل ۳-ب). در طرف مقابل، تیمار لینولئیک اسید تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر مقدار محتوای کلروفیل b داشت و بیشترین مقدار آن در غلظت ۶۰ میکرومولار پس از ۷ روز مشاهده شد (شکل ۳-ج). میزان محتوای کاروتنوئید کل در پاسخ به غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید افزایش یافت و بیشترین مقدار محتوای این رنگیزه در پاسخ به غلظت ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز دیده شد، در جایی که مقدار آن ۲/۹۷ برابر بیشتر از نمونه شاهد بود (شکل ۳-د).



شکل ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای الف) کلروفیل کل، ب) کلروفیل a و ج) کلروفیل b د) کاروتنوئید کل در جلبک اسپیرولینا در طول دوره زمانی. مقادیر ستون نوار میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد است. حروف مختلف تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می‌دهند.

تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای پرولین و آسکوربیک اسید

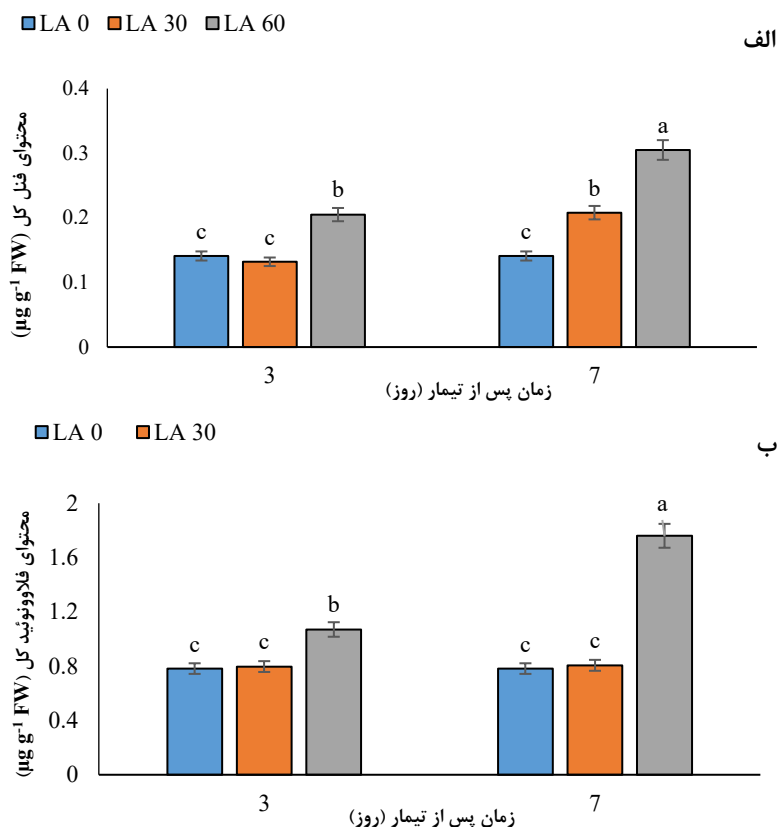
در این مطالعه، به منظور بررسی تغییرات متابولیکی در جلبک‌های تیمار شده و تیمار نشده، محتوای پرولین، آسکوربیک اسید اندازه‌گیری شد (شکل ۴). کاهش محتوای پرولین در جلبک‌های تیمار شده با لینولئیک اسید مشاهده شد که بیشترین کاهش آن (۱/۸۹) برابر کمتر از نمونه شاهد) در غلظت ۳۰ میکرومولار پس از ۷ روز مشاهده شد (شکل ۴الف). همچنین، نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر مقدار محتوای آسکوربیک اسید اثر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) دارد (شکل ۴ب). بر اساس نتایج شکل ۴ب، کمترین محتوای آسکوربیک اسید در غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز مشاهده شد که به ترتیب ۱/۴۰ و ۱/۴۷ برابر کمتر از نمونه‌های کنترل بود.



شکل ۴. تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای (الف) پرولین و (ب) آسکوربیک اسید در جلبک اسپیرولینا در طول دوره زمانی. مقادیر ستون نوار میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد است. حروف مختلف تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می‌دهند.

تأثیر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای فنل و فلاونوئید کل

مقدار محتوای فنل کل در جلبک‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید افزایش یافت (شکل ۵الف). بر اساس داده‌های شکل ۵الف، بیشترین محتوای فنل کل در غلظت ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز دیده شد که ۲/۱۶ برابر بیشتر از نمونه‌های شاهد بود. همچنین، محتوای فلاونوئید کل در پاسخ به غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در غلظت ۶۰ میکرومولار دیده شد که ۲/۲۵ برابر بیشتر از محتوای آن در نمونه‌های شاهد بود (شکل ۵ب).



شکل ۵. اثر غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر محتوای الف) فنل کل و ب) فلاونوئید کل در جلبک اسپیرولینا در طول دوره زمانی. مقادیر ستون نوار میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد است. حروف مختلف تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در سطح $P \leq 0.05$ نشان می‌دهند.

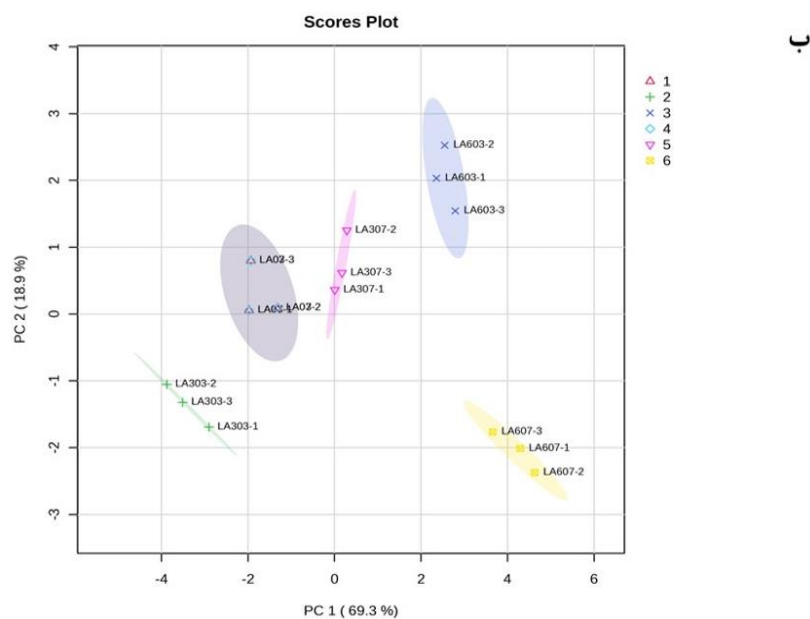
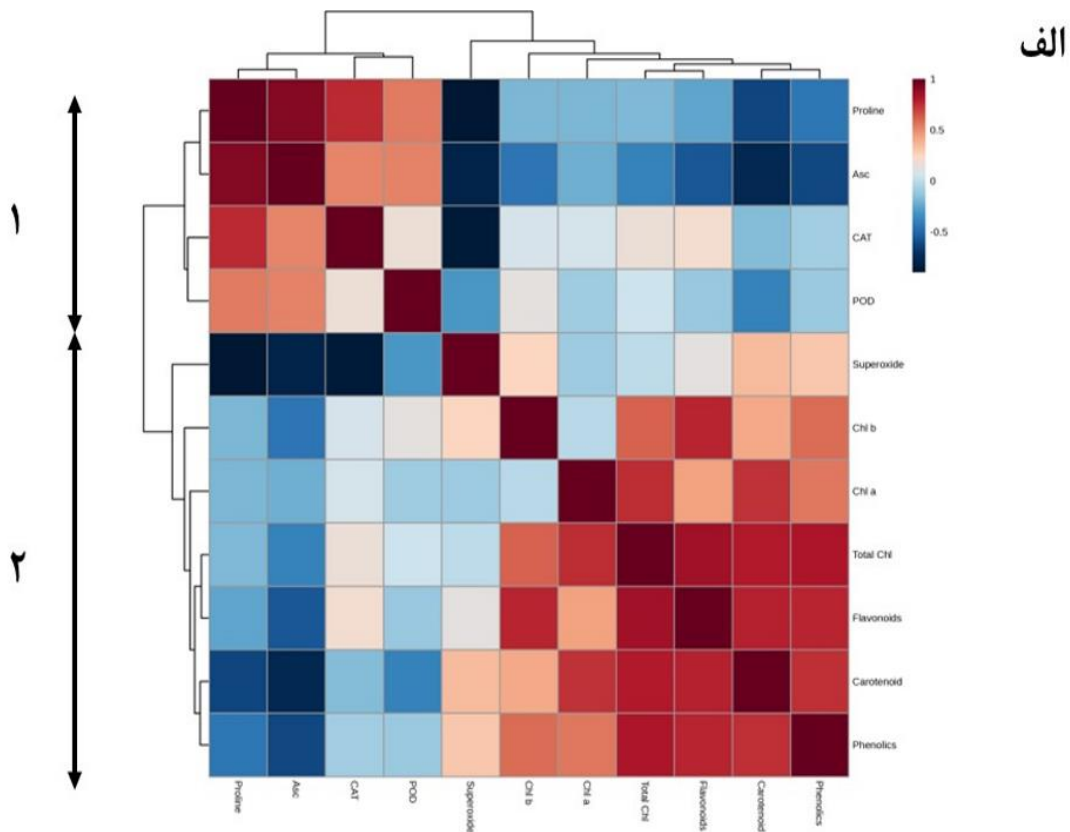
طبقه‌بندی تغییرات متابولیت‌های مختلف در جلبک‌های اسپیرولینا تیمار شده با لینولئیک اسید

همان‌طور که در شکل ۶ الف نشان داده شده است، یک تحلیل تصویری با ضریب همبستگی پیرسون به منظور گروه‌بندی آنزیم‌ها و متابولیت‌های موجود در مسیرهای اولیه و ثانویه جلبک اسپیرولینا انجام شد. بر اساس شکل ۶ الف، ارتباط بین آنزیم‌ها و متابولیت‌های اولیه و ثانویه در پاسخ به غلظت‌های لینولئیک اسید در ۲ خوشه اصلی قرار گرفتند (خوشه ۱: پرولین تا پراکسیداز، خوشه ۲: سوپراکسید تا فنل کل). این خوشه‌ها الگوهای مختلف متابولیت‌ها را در پاسخ به تیمار لینولئیک اسید نشان می‌دهند. یک رابطه مثبت جزئی در خوشه ۱ و یک همبستگی مثبت بزرگ در خوشه ۲ مشاهده شد.

در طرف دیگر، تجزیه و تحلیل PCA برای شناسایی الگوها و توضیح روابط بین تجمع متابولیت‌ها و تیمار لینولئیک اسید استفاده شد (شکل ۶ ب). بر اساس داده‌های PCA، اجزاء بر اساس نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید به طور معنی‌داری از هم جدا شدند. نمودار امتیازی PCA (PC_1 و PC_2) تفاوت معنی‌داری را بین جلبک‌های تیمار شده با لینولئیک اسید و شاهد نشان داد. تیمار لینولئیک اسید در غلظت ۶۰ میکرومولار پس از ۳ و ۷ روز جدایی واضحی را توسط جزء اول نشان دادند ($PC_1 \sim 69/3$) در حالی که غلظت ۳۰ میکرومولار و شاهد پس از ۳ و ۷ روز به جزء دوم ($PC_2 \sim 18/9$) اختصاص داده شد.

بحث

جلبک‌ها از منابع غنی مولکول‌های فعال زیستی مانند لیپیدها، پلی ساکاریدها، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها، فنل‌ها و فیکوبیلی پروتئین‌ها هستند (Eze et al., 2023). جلبک‌ها به دلیل عملکرد فتوسنتزی خود می‌توانند بسیاری از رنگیزه‌های مهم از جمله کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و آستاگزانتین را در سلول‌های خود جمع کنند که به طور گسترده‌ای به عنوان مواد خام صنعتی استفاده می‌شوند (Randrianarison and Ashraf, 2017). در این مطالعه، تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید بر مولکول‌های آنیون سوپراکسید، سیستم پاداکساینده آنزیمی، رنگیزه‌ها و ترکیبات زیست فعال جلبک *S. platensis* بررسی شد.



شکل ۶. طبقه‌بندی محتویات متابولیت‌ها و رفتار فعالیت آنزیم‌ها در پاسخ به غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید در جلبک اسپیرولینا الف) نقشه HCA بر روی داده‌های خوشه‌ای بر اساس ضریب همبستگی پیرسون اعمال می‌شود. داده‌ها برای سه تکرار برای هر متغیر در غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید نشان داده شده است. رنگ‌ها در نقشه HCA بزرگی و جهت همبستگی را نشان می‌دهند. جعبه آبی به معنای منفی قوی است و کادر قرمز نشان‌دهنده یک همبستگی مثبت قوی است. خوشه‌های اولیه در تصویر ۱ تا ۲ شماره‌گذاری شده‌اند (ب) PCA. از این نمودار برای طبقه‌بندی داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش جلبک‌های اسپیرولینا تیمار شده و تیمار نشده استفاده می‌شود.

در این بررسی مشخص شد که غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید باعث افزایش معنی‌داری در وزن خشک جلبک‌های مورد آزمایش پس از ۳ روز شد. از سوی دیگر، وزن خشک این جلبک‌ها در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز کاهش یافت (شکل ۱). مشاهدات نشان داده است که لینولئیک اسید دارای فعالیت آللوپاتیک در برابر جلبک‌های

یوکاریوتی است؛ به طوری که پس از افزودن لینولئیک اسید برونزا به محیط کشت، سرعت رشد میکرو جلبک کاهش می‌یابد (Qian et al., 2018). مطابق با نتایج این تحقیق، Khalili و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که سرعت رشد *Chlorella sorokiniana* پس از تیمار با لینولئیک اسید بعد از ۴ روز کاهش یافت. احتمالاً، کاهش وزن و سرعت رشد جلبک‌ها به اکسیداسیون اسید چرب در محلول‌های آبی، افزایش محتوای رنگیزه‌هایی مانند آستاگزانتین و افزایش تولید هورمون‌های گیاهی مانند جاسمونیک اسید و تروماتیک اسید در سلول‌های آسیب دیده مرتبط است (Qian et al., 2018; Solovchenko, 2013; Pietryczuk et al., 2014). بررسی‌های مختلفی نشان داده‌اند که اسیدهای چرب غیر اشباع مانند لینولئیک اسید نقش به سزایی را به عنوان تنظیم‌کننده در پاسخ‌های تنشی ایفا می‌کنند (Zhao, 2015; Hou et al., 2016).

همچنین، نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار لینولئیک اسید تولید رادیکال آنیون سوپراکسید را در جلبک‌های تیمار شده القا کرد؛ به طوری که بیشترین محتوای این مولکول در غلظت ۳۰ میکرومولار لینولئیک اسید پس از ۷ روز مشاهده شد (شکل ۲-الف). رادیکال آنیون سوپراکسید یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که در تشکیل هیدروژن پراکسید نقش دارد (Anjum et al., 2022). بررسی‌ها نشان داده‌اند که تشکیل و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان یکی از ابتدایی‌ترین رویدادها در پاسخ به انواع محرک‌ها در نظر گرفته می‌شود (Dietz et al., 2016; Tashackori et al., 2021). احتمالاً، لینولئیک اسید از طریق افزایش مولکول‌های ROS می‌تواند آشارهای علامت‌رسانی پاسخ‌های دفاعی را تنظیم نماید. نتایج ما با گزارش‌های قبلی مبنی بر این که مولکول‌ها دارای نقش دوگانه‌ای هستند، مطابقت دارد (Ameri et al., 2020; Esmaeili et al., 2023). همچنین، Ameri و همکاران (۲۰۲۰) گزارش داده‌اند که مولکول‌های ROS با غلظت درون سلولی آن‌ها رابطه مستقیم دارد و مشخص کردند که در غلظت‌های مؤثر، نقش یک مولکول علامت‌رسان را ایفا می‌کنند و بسیاری از رویدادهای فیزیولوژیکی را در گیاهان و جلبک‌ها فعال می‌سازند؛ اما در غلظت‌های بالا تنش اکسیداتیو را القا می‌کنند که باعث تخریب غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و مولکول‌های DNA و RNA می‌شود (Sagharyan et al., 2023).

همچنین، مشخص شد که لینولئیک اسید اثر کاهشی بر میزان فعالیت کاتالاز دارد به طوری که کمترین میزان فعالیت کاتالاز در غلظت ۳۰ میکرومولار لینولئیک اسید بعد از ۷ روز مشاهده شد. در طرف دیگر، میزان فعالیت پراکسیداز در هر دو غلظت لینولئیک اسید کاهش یافت. این مشاهدات برخلاف یافته‌های Zeeshan و Prasad (۲۰۰۹) است که گزارش دادند میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز تحت شرایط تنشی افزایش می‌یابد و از سلول‌های جلبک‌ها در مقابل غلظت‌های بالای مولکول‌های ROS حفاظت می‌نماید.

در این بررسی مشخص شد که محتوای کلروفیل a، b و همچنین کاروتنوئیدها در پاسخ به غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید در طول دوره‌های زمانی ۳ و ۷ روز تغییرات معنی‌داری ($P \leq 0.05$) داشته است. کاهش محتوای کلروفیل‌ها احتمالاً به دلیل خاصیت آلوپاتی لینولئیک اسید باشد. نتایج مشابهی توسط Xu و همکاران (۲۰۱۷) در جلبک *Cylindrospermopsis raciborskii* گزارش شده است که محتوای کلروفیل a با افزایش میزان لینولئیک اسید کاهش می‌یابد. محتوای کلروفیل ارتباط نزدیکی با ویژگی‌های فتوسنتزی گیاهان و جلبک‌ها دارد و محتوای کمتر کلروفیل نشان‌دهنده کاهش اندازه آنتن کمپلکس‌های فتوسنتزی RC است و سیستم فتوسنتز یکی از جایگاه‌های هدف برای مهار آلوپاتی در جلبک‌ها در نظر گرفته می‌شود (Niu et al., 2012; Xu et al., 2017). جلبک اسپیرولینا حاوی مقادیر بالایی از رنگیزه‌های گیاهی از جمله کلروفیل a، b، کاروتنوئیدها و بتاکاروتن است (Paliwal et al., 2017). مطابق با نتایج این تحقیق، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که میزان تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی در جلبک اسپیرولینا تحت تأثیر عوامل مختلف مانند دما، pH، شوری، نور و همچنین ترکیبات آلوپاتی مانند لینولئیک اسید قرار می‌گیرد (Kumar et al., 2011; Xu et al., 2017; Khalili et al., 2020).

این رنگیزه‌ها نه تنها به جلبک کمک می‌کنند تا فتوسنتز کارآمدی داشته باشد، بلکه می‌توانند به عنوان یک ترکیب زیست فعال کاربردهای غذایی و دارویی فراوانی داشته باشند (Patel et al., 2022). همچنین نتایج ما با یافته‌های Wang و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد و گزارش دادند که رنگیزه‌های کاروتنوئیدی در جلبک *Karenia mikimotoi* در پاسخ به تیمار لینولئیک اسید افزایش یافتند که می‌تواند در ارتباط با نقش محافظتی این رنگیزه‌ها در جلوگیری از استرس اکسیداتیو باشد.

در بررسی حاضر مشخص شد که غلظت‌های مختلف لینولئیک اسید باعث کاهش سطح پرولین و آسکوربیک اسید شده است (شکل ۴-الف، ب). پرولین به عنوان یک ترکیب زیست سازگار از سلول‌های جلبکی در برابر غلظت‌های بالای ROS و فلزات سنگین در طول تنش محافظت می‌کند (Pancha et al., 2015). در بررسی Shinde و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شد که تجمع پرولین با متابولیسم اسیدهای چرب دارای رابطه عکس می‌باشد و در جهش یافته‌هایی که توانایی تولید اسیدهای چرب را ندارند میزان پرولین افزایش یافت.

در نهایت، نتایج ما نشان داد که تیمار ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید باعث القای معنی‌دار تجمع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در جلبک اسپیرولینا شده است (شکل ۴-ج، د). بررسی‌ها نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از مسیر فنیل پروپانوئیدها مشتق شده‌اند و می‌توانند به عنوان یک حصار بیوشیمیایی در گیاهان و جلبک‌ها عمل کنند (Sagharyan and Sharifi, 2024). اکسی لیپین‌ها مجموعه وسیعی از محصولات تولید شده توسط خوداکسیداسیون یا اکسیداسیون آنزیمی اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه هستند و فیتوهورمون جاسمونیک اسید یکی از برجسته‌ترین آن‌هاست که در گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است (Kachroo and Kachroo, 2009). همچنین، مشخص شده است که فیتوهورمون جاسمونیک اسید بر تشکیل متابولیت در ریزجلبک‌ها تأثیر می‌گذارد (Khalili et al., 2019). لینولئیک اسید به عنوان پیش‌ساز جاسمونیک اسید مطرح شده است و می‌تواند به عنوان مولکول علامت‌دهنده عمل کند؛ تولید ترکیبات فنلی را القا کند و سیستم ایمنی گیاهان را در برابر شرایط تنشی افزایش دهد (Lim et al., 2017).

علاوه بر این، پاداکسنده‌هایی مانند فنولیک‌ها و فلاونوئیدها به عنوان مواد مغذی گیاهی و متابولیت‌های زیست فعال در نظر گرفته می‌شوند که برای جلوگیری از خطر بیماری قلبی، سرطان و سایر اختلالات کمک می‌کنند (Rahim et al., 2021; Ugya et al., 2020). بر اساس داده‌های HCA، یک همبستگی مثبت میان آنیون سوپراکسید، رنگیزه‌های فتوستتزی (کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها) و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مشاهده شد. همچنین مشخص شد که محتوای پرولین، آسکوربیک اسید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز همبستگی مثبتی دارند. از این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که جلبک اسپیرولینای تیمار شده با ۶۰ میکرومولار لینولئیک اسید می‌تواند تولید رنگیزه‌های فتوستتزی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را از طریق تغییر محتوای سوپراکسید آنیون پس از ۷ روز افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

جلبک اسپیرولینا یکی از مهم‌ترین منابع غذایی و حاوی ترکیبات زیست فعال مانند لیپیدها، پلی ساکاریدها، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها، فنل‌ها و فیکوبیلی پروتئین‌ها و همچنین رنگیزه‌های مهمی از جمله کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و آستاگزانتین است. در این بررسی مشخص شد که لینولئیک اسید با تغییر وضعیت ردوکس جلبک اسپیرولینا می‌تواند باعث افزایش رنگیزه‌های فتوستتزی و همچنین ترکیبات فنل و فلاونوئیدی شود. علاوه بر این، میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده کاتالاز و پراکسیداز و محتوای پرولین و آسکوربیک اسید در پاسخ به این تیمار کاهش چشمگیری یافت. نتایج نشان داد که لینولئیک اسید به عنوان یک مولکول علامت‌رسان می‌تواند پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلف را در جلبک اسپیرولینا القا نماید. از این رو، مطالعات بیوشیمیایی و مولکولی بیشتری برای بررسی برهمکنش لینولئیک اسید و سایر مسیرهای علامت‌رسانی مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر به خاطر حمایت مالی/ حمایت معنوی / همکاری در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

محمدی الستی، فربا؛ فدائی نوغانی، وجیهه؛ و خسروی دارانی، کیانوش (۱۳۹۵). تأثیر غلظت‌های مختلف جلبک/اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی ماست اسفناج پروبیوتیک. *پژوهش‌های صنایع غذایی*، ۲۶ (۲)، ۱۴۳-۱۲۷.

References

- Akkol, E. K., Göger, F., Koşar, M., & Başer, K. H. C. (2008). Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*, 108(3), 942-949.
- AlFadhly, N. K., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., Cacciola, F., & Narayanankutty, A. (2022). Trends and technological advancements in the possible food applications of *Spirulina* and their health benefits: A Review. *Molecules*, 27(17), 5584.
- Anjum, N. A., Gill, S. S., Corpas, F. J., Ortega-Villasante, C., Hernandez, L. E., Tuteja, N., ... & Fujita, M. (2022). Recent insights into the double role of hydrogen peroxide in plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 843274.
- Ali, S. K., & Saleh, A. M. (2012). *Spirulina*-an overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 9-15.
- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014). Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Marine Drugs*, 12(1), 128-152.
- Ameri, M., Baron-Sola, A., Khavari-Nejad, R. A., Soltani, N., Najafi, F., Bagheri, A., ... & Hernández, L. E. (2020). Aluminium triggers oxidative stress and antioxidant response in the microalgae *Scenedesmus* sp. *Journal of Plant Physiology*, 246, 153114.
- Andrade, L. M., Andrade, C. J., Dias, M., Nascimento, C., & Mendes, M. A. (2018). *Chlorella* and *Spirulina* microalgae as sources of functional foods. *Nutraceuticals, and Food Supplements*, 6(1), 45-58.
- Anvar, A. A., & Nowruzi, B. (2021). Bioactive properties of spirulina: A review. *Microbial Bioactechonology*, 4, 134-142.
- Bates, A. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207.
- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. *Food Chemistry*, 194, 1056-1063.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248-254.
- Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98, 1222-1227.
- Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Rosa, G. M., Moraes, L., Morais, M. G., & Mitchell, B. G. (2019). Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. *Bioresource Technology*, 292, 121946.
- de Pinto, M. C., Francis, D., & De Gara, L. (1999). The redox state of the ascorbate-dehydroascorbate pair as a specific sensor of cell division in tobacco BY-2 cells. *Protoplasma*, 209, 90-97.
- Deleu, M., Deboever, E., Nasir, M. N., Crowet, J. M., Dauchez, M., Ongena, M., ... & Lins, L. (2019). Linoleic and linolenic acid hydroperoxides interact differentially with biomimetic plant membranes in a lipid specific manner. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 175, 384-391.
- Dietz, K. J., Turkan, I., & Krieger-Liszkay, A. (2016). Redox-and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast. *Plant Physiology*, 171(3), 1541-1550.
- Elstner, E. F., & Heupel, A. (1976). Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Analytical Biochemistry*, 70, 616-620.
- Esmaceli, S., Sharifi, M., Ghanati, F., Soltani, B. M., Samari, E., & Sagharyan, M. (2023). Exogenous melatonin induces phenolic compounds production in *Linum album* cells by altering nitric oxide and salicylic acid. *Scientific Reports*, 13(1), 4158.
- Eze, C. N., Onyejiaka, C. K., Ihim, S. A., Ayoka, T. O., Aduba, C. C., Nwaiwu, O., & Onyeaka, H. (2023). Bioactive compounds by microalgae and potentials for the management of some human disease conditions. *AIMS Microbiology*, 9(1), 55.
- He, M., & Ding, N. Z. (2020). Plant unsaturated fatty acids: multiple roles in stress response. *Frontiers in Plant Science*, 11, 562785.
- Hou, Q., Ufer, G., & Bartels, D. (2016). Lipid signalling in plant responses to abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*, 39(5), 1029-1048.

- Kachroo, A., & Kachroo, P. (2009). Fatty acid-derived signals in plant defense. *Annual Review of Phytopathology*, 47(1), 153-176.
- Khalili, Z., Jalili, H., Noroozi, M., & Amrane, A. (2019). Effect of linoleic acid and methyl jasmonate on astaxanthin content of *Scenedesmus acutus* and *Chlorella sorokiniana* under heterotrophic cultivation and salt shock conditions. *Journal of Applied Phycology*, 31, 2811-2822.
- Khalili, Z., Jalili, H., Noroozi, M., Amrane, A., & Ashtiani, F. R. (2020). Linoleic-acid-enhanced astaxanthin content of *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta) under normal and light shock conditions. *Phycologia*, 59(1), 54-62.
- Khodamoradi, S., Sagharyan, M., Samari, E., & Sharifi, M. (2022). Changes in phenolic compounds production as a defensive mechanism against hydrogen sulfide pollution in *Scrophularia striata*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 177, 23-31.
- Kumar, A., Ramamoorthy, D., Verma, D. K., Kumar, A., Kumar, N., Kanak, K. R., ... & Mohan, K. (2022). Antioxidant and phytonutrient activities of *Spirulina platensis*. *Energy Nexus*, 6, 100070.
- Kumar, A., Verma, D. K., Kumar, A., Kumar, N., & Ramamoorthy, D. (2019). Influence of *Spirulina* on food consumption and efficiency of *Bombyx mori* L. Bivoltive Hybrid race (CSR2 X CSR4). *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 6(1), 722-740.
- Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Singh, G. P. (2011). Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1128-1135.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1985). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592.
- Lim, G. H., Singhal, R., Kachroo, A., & Kachroo, P. (2017). Fatty acid-and lipid-mediated signaling in plant defense. *Annual Review of Phytopathology*, 55(1), 505-536.
- Liu, J., Mao, X., Zhou, W., & Guarnieri, M. T. (2016). Simultaneous production of triacylglycerol and high-value carotenoids by the astaxanthin-producing oleaginous green microalga *Chlorella zofingiensis*. *Bioresource Technology*, 214, 319-327.
- Marles, R. J., Barrett, M. L., Barnes, J., Chavez, M. L., Gardiner, P., Ko, R., ... & Griffiths, J. (2011). United States pharmacopeia safety evaluation of *Spirulina*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 593-604.
- Mohammadi Alasti, F., Fadei Noghani, V., & Khosravi Darani, K. (2015). Influence of different concentrations of *Spirulina platensis* on some physicochemical and sensory properties of probiotic spinach yoghurt. *Food Industry Research*, 26(2), 127-143. (in persian)
- Niu, X. D., Li, G. R., Kang, Z. H., Huang, J. L., & Wang, G. X. (2012). Photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme system in high-chlorophyll rice Gc mutant. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59, 691-695.
- Paliwal, C., Mitra, M., Bhayani, K., Bharadwaj, S. V., Ghosh, T., Dubey, S., & Mishra, S. (2017). Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. *Bioresource Technology*, 244, 1216-1226.
- Pancha, I., Chokshi, K., Maurya, R., Trivedi, K., Patidar, S. K., Ghosh, A., & Mishra, S. (2015). Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresource Technology*, 189, 341-348.
- Pandolfini, T., Gabbrielli, R., & Comparini, C. (1992). Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell and Environment*, 15, 719-725.
- Patel, A. K., Albarico, F. P. J. B., Perumal, P. K., Vadrade, A. P., Nian, C. T., Chau, H. T. B., ... & Singhanian, R. R. (2022). Algae as an emerging source of bioactive pigments. *Bioresource Technology*, 351, 126910.
- Pietryczuk, A., Biziewska, I., Imierska, M., & Czerpak, R. (2014). Influence of traumatic acid on growth and metabolism of *Chlorella vulgaris* under conditions of salt stress. *Plant Growth Regulation*, 73, 103-110.
- Qian, H., Xu, J., Lu, T., Zhang, Q., Qu, Q., Yang, Z., & Pan, X. (2018). Responses of unicellular alga *Chlorella pyrenoidosa* to allelochemical linoleic acid. *Science of the Total Environment*, 625, 1415-1422.
- Rahim, A., Çakir, C., Ozturk, M., Şahin, B., Soulaïmani, A., Sibaoueih, M., ... & El Amiri, B. (2021). Chemical characterization and nutritional value of *Spirulina platensis* cultivated in natural conditions of Chichaoua region (Morocco). *South African Journal of Botany*, 141, 235-242.

- Ran, W., Wang, H., Liu, Y., Qi, M., Xiang, Q., Yao, C., ... & Lan, X. (2019). Storage of starch and lipids in microalgae: Biosynthesis and manipulation by nutrients. *Bioresource Technology*, 291, 121894.
- Randrianarison, G., & Ashraf, M. A. (2017). Microalgae: a potential plant for energy production. *Geology, Ecology, and Landscapes*, 1(2), 104-120.
- Rosario, J. C., & Josephine, R. M. (2015). Mineral profile of edible algae *Spirulina platensis*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 478-483.
- Sagharyan, M., & Sharifi, M. (2024). Metabolic and physiological changes induced by exogenous phenylalanine in *Linum album* Cells. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43, 2785-2801.
- Sagharyan, M., Sharifi, M., & Samari, E. (2023). Methyl jasmonate redirects the dynamics of carbohydrates and amino acids toward the lignans accumulation in *Linum album* cells. *Plant Physiology and Biochemistry*, 198, 107677.
- Shinde, S., Villamor, J. G., Lin, W., Sharma, S., & Verslues, P. E. (2016). Proline coordination with fatty acid synthesis and redox metabolism of chloroplast and mitochondria. *Plant Physiology*, 172(2), 1074-1088.
- Sagharyan, M., Sharifi, M., Samari, E., & Karimi, F. (2024). Changes in MicroRNAs expression mediate molecular mechanism underlying the effect of MeJA on the biosynthesis of podophyllotoxin in *Linum album* cells. *Scientific Reports*, 14(1), 30738.
- Saxena, I., Srikanth, S., & Chen, Z. (2016). Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response. *Frontiers in Plant Science*, 7, 570.
- Solovchenko, A. E. (2013). Physiology and adaptive significance of secondary carotenogenesis in green microalgae. *Russian Journal of Plant Physiology*, 60, 1-13.
- Tashackori, H., Sharifi, M., Ahmadian Chashmi, N., Behmanesh, M., Safaie, N., & Sagharyan, M. (2021). Physiological, biochemical, and molecular responses of *Linum album* to digested cell wall of *Piriformospora indica*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 2695-2708.
- Trotta, T., Porro, C., Cianciulli, A., & Panaro, M. A. (2022). Beneficial effects of *spirulina* consumption on brain health. *Nutrients*, 14(3), 676.
- Ugya, A. Y., Imam, T. S., Li, A., Ma, J., & Hua, X. (2020). Antioxidant response mechanism of freshwater microalgae species to reactive oxygen species production: a mini review. *Chemistry and Ecology*, 36(2), 174-193.
- Upchurch, R. G. (2008). Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnology Letters*, 30, 967-977.
- Wang, C., Wang, R., Hu, L., Xi, M., Wang, M., Ma, Y., ... & Gao, P. (2023). Metabolites and metabolic pathways associated with allelochemical effects of linoleic acid on *Karenia mikimotoi*. *Journal of Hazardous Materials*, 447, 130815.
- Wang, X. Q., Li, L. N., Chang, W. R., Zhang, J. P., Gui, L. L., Guo, B. J., & Liang, D. C. (2001). Structure of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* at 2.2 Å resolution: a novel monoclinic crystal form for phycobiliproteins in phycobilisomes. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 57(6), 784-792.
- Xu, S., Yang, S. Q., Yang, Y. J., Xu, J. Z., Shi, J. Q., & Wu, Z. X. (2017). Influence of linoleic acid on growth, oxidative stress and photosynthesis of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 51(2), 223-236.
- Zarrouk, C. (1966). *Contribution a l'etude d'une Cyanophyceae. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina mixima* Geitler. (Doctoral dissertation, University of Paris, France).
- Zeeshan, M., & Prasad, S. M. (2009). Differential response of growth, photosynthesis, antioxidant enzymes and lipid peroxidation to UV-B radiation in three cyanobacteria. *South African Journal of Botany*, 75(3), 466-474.
- Zhao, J. (2015). Phospholipase D and phosphatidic acid in plant defence response: from protein-protein and lipid-protein interactions to hormone signalling. *Journal of Experimental Botany*, 66(7), 1721-1736.