مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه‌ی داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. جداسازی شده از شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni*

حمیده طهماسبی ملکرودی، بهروز زارعی دارکی*

گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۵/۱۲/۰۵
اصلاح: ۹۶/۰۳/۰۴
پذیرش: ۹۶/۰۳/۱۵

کلمات کلیدی:
داینوفایت‌ها
مرفولوژی
دو تاژکیان
زیست‌فناوری
Symbiodinium sp.

چکیده

کشت داینوفلاژله‌ها به علت فشار هیدرودینامیکی حاصل از محیط کشت بر رشد آن‌ها، بسیار دشوار است. در پژوهش حاضر، نمونه‌برداری شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* از سواحل شرقی جزیره هرمز صورت گرفت. ابتدا داینوفلاژله‌های همزیست در آزمایشگاه به روش هموژنیزه از شقایق جداسازی و سپس در محیط کشت‌های ASP_{12}، ASP_8، F_2-Gilard و L_1 تحت دماهای ۱±۲۹ °C و ۱±۱،۲۳±۱۷ و شدت نوری μ mol.photon.m^{-2}.s^{-1} ۱۰۰ قرار داده شدند. سپس ریزجلبک‌ها در محیط کشت ASP_{12}، به‌عنوان محیط کشت انتخابی کشت داده شدند. شمارش سلولی به‌صورت روزانه با استفاده از لام نئوبار انجام شد. درنهایت نرخ رشد ویژه و شاخص میتوزی محاسبه گردید. به ترتیب ماکزیمم شاخص میتوزی، تعداد سلولی و نرخ رشد ویژه در طول دوره کشت تحت دمای ۱°C±۲۳ به میزان ۴۰٪، ۱۲×۱۰^{۵} cell/ml و ۰/۰۸۶ d^{-1} در محیط کشت ASP_{12} مشاهده گردید. نتایج آماری نشان داد، اختلاف معناداری در نرخ رشد ویژه داینوفلاژله، تحت سه دمای مذکور وجود دارد ($P<0.05$). همچنین بررسی‌های انجام‌شده در این مطالعه نشان می‌دهد که عوامل محیطی مانند درجه حرارت می‌تواند بر میزان رشد داینوفلاژله *Symbiodinium* sp. مؤثر باشد.

مقدمــه

فیتوپلانگتون‌ها، تولیدکنندگان مهم دریاها، اقیانوس‌ها و پایه هرم انرژی هستند. مطالعه آن‌ها به‌منظور شناسایی حلقه اول شبکه غذایی، پایه حیات و تولید اکوسیستم‌های آبی ضروری می‌باشد (Graham and Wilcox, 2000). فیتوپلانکتون‌ها ازجمله داینوفلاژله‌های دریایی به سبب اهمیت ترکیباتشان در عرصه‌های مختلف غذا و دارو از قبیل بهبود بخشیدن واکنش‌های آلرژیک، اثر مهاری قوی بر فعال‌سازی آنتی‌ژن اولیه ویروس هرپس انسانی ۴ (herpes virus)، القای آپاپتوز سلول‌های سرطانی روده بزرگ انسانی (Onodera *et al*., 2014; Sugawara *et al*., 2007; Tsushima *et al*., 1995) مورد توجه قرار گرفته‌اند. از داینوفلاژله‌ها جنس *Symbiodinium* در اغلب بی‌مهرگان دریایی به‌صورت همزیست مشاهده می‌شود (Pochon and Pawlowski, 2006). متغیرهای محیطی ازجمله دما، تأثیر بسزایی بر فتوسنتز و درنتیجه رشد داینوفلاژله‌ها اعمال می‌کنند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، حداکثر نرخ رشد داینوفلاژله *Symbiodinium microadriaticum* در محدوده دمایی ۳۵°C-۲۰ در محیط کشت ASP_8 مشاهده شده است (Iglesias-Prieto, 1992).

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: zareidarki@modares.ac.ir

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

کشت داینوفلاژله‌ها در مقیاس فنی به دلیل رشد ضعیف آن‌ها تاکنون ناشناخته مانده است. نیروهای هیدرودینامیکی حاصل از بیورآکتورهای طراحی‌شده، تأثیر منفی قابل‌توجهی را بر رشد نشان داده است (Benstein *et al*., 2014). این امر در تولید تجاری داینوفلاژله‌ها منجر به ایجاد موقعیتی شده که در آن حتی مقادیر جزئی از مواد خام نمی‌تواند عرضه شود. با توجه به کاربردهای بسیار زیاد تولیدات داینوفلاژله‌ای در صنعت غذا و دارو، کشت آن‌ها در مقیاس فنی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Gallardo-Rodríguez *et al*., 2012; Camacho, 2007). تولید مواد زیست فعال نیاز به یک محیط کشت مناسب و فاقد نیروهای هیدرودینامیکی دارد. به‌منظور پیش‌بینی این امر، محققین اثرات متلاطم آب دریا در لایه یوفوتیک را بررسی نموده و یکی از علل اصلی در کاهش رشد داینوفلاژله‌ها بیان نموده‌اند. با بررسی میزان این تلاطم و اجرای عملی آن در آزمایشگاه می‌توان از کاهش رشد آهسته داینوفلاژله‌ها تا حدودی جلوگیری نمود (Camacho *et al*., Gibson and Thomas, 1995; 2007). جهت بهینه‌سازی شرایط رشد و تولیدات از داینوفلاژله‌ها، انواع مختلفی از تحقیقات در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است (Pistocchi *et al*., 2011; Dixon and Syrett,1988; Morton *et al*., 1992; Kitaya *et al*., 2008). بااین‌حال، اکثر مطالعات، تنها مرتبط با کشت آزمایشگاهی در مقیاس کم بوده و به انبوه‌سازی تولیدات حاصله اشاره‌ای نشده است (Beuzenberg *et al*., 2012). طبق بررسی‌های انجام‌گرفته، رایج‌ترین محیط کشت‌های استفاده‌شده شامل **ASP_8** (Chang *et al*., 1983; Colley and Trench, 1983; Fitt *et al*., 1981; Schoenberg and trench, 1980) و L_1 (Benstein *et al*., 2014) ASP_{12}، (Guillard and Ryther, 1962; Polne-Fuller, 1991) **F_2**، (Banaszak *et al*., 2000; Guillard and Hargraves, 1993؛ Rogers and Marcovich, 2007) بوده است.

طبق نتایج به‌دست‌آمده، بسیاری از مرجانیان همزیست با داینوفلاژله‌ها از جنس *Symbiodinium* می‌باشند. این امر موجب افزایش تاب تحمل آن‌ها نسبت به شرایط سخت محیطی ازجمله افزایش دما و نور شده است. مرجانیان در برخی شرایط با تغییر همزیست خود از کلاد C به D قادر به تحمل افزایش دمایی به‌اندازه ۱/۵-۱ °C هستند. این امر گویای آن است که در مناطق با افزایش دمایی، میزبان‌های همزیست با داینوفلاژله کلاد D، تراکم بیشتری دارند. بنابراین یک مرجان همزیست با ۱ تا ۳ گونه زئوزانتلا، می‌تواند نسبت به پارامترهای محیطی، پتانسیل متفاوتی داشته باشد. لذا جداسازی و انتخاب محیط کشت مناسب، جهت رشد زئوزانتلاهای همزیست با شقایق دریایی از اهداف این مطالعه بوده است (Berkelman and Oppen, 2006; Baker *et al*., 2013; Stat *et al*., 2013).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری شقایق دریایی *stichodactyla haddoni*

نمونه‌برداری شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* سبزرنگ در زمان جزر کامل، از نواحی شرقی جزیره هرمز (ایستگاه خضر) صورت گرفت. موقعیت جغرافیایی منطقه‌ی نمونه‌برداری در جزیره هرمز به ترتیب '۲۷°۱ تا '۲۷°۶ عرض شمالی و '۵۶°۲۵ تا '۵۶°۳۰ طول شرقی ثبت گردید. در محل، به‌آرامی پولیپ فشار داده شد تا زئوزانتلا خارج شود، سپس در فالکون‌های حاوی آب همان محل ریخته شدند و سریعاً در ظرف حاوی یخ خشک قرار گرفتند. فالکون‌های حاوی نمونه در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه انتقال داده و در دمای ۴ °C نگهداری شدند.

استخراج داینوفلاژله‌های همزیست با شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni*

بخش‌هایی از صفحه دهانی شقایق دریایی مذکور با کاتر جدا شد، سپس با آب دریای فیلتر شده مخلوط و ورتکس گردیدند. سوسپانسیون به‌دست‌آمده سانتریفیوژ و مایع رویی دورریز شد، سپس رسوب باقی‌مانده رقیق گردید و مجدداً سانتریفیوژ انجام شد. این عمل جهت به دست آمدن رسوب خالص جلبکی چندین مرتبه تکرار گردید (Jeffrey and Haxo, 1968; Jeffrey, 1968).

شستشو و حذف آلودگی از رسوب خالص جلبکی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

به رسوب خالص جلبکی، آب دریای خلیج‌فارس افزوده و ورتکس شدند. در مرحله بعدی نمونه‌ها در شرایط دمایی ۴°C سانتریفیوژ گردیدند. فاز رویی دورریز و به رسوب حاصل مجدداً آب دریای خلیج‌فارس افزوده شد. مراحل شستشو چندین بار تکرار گردید. سپس به نمونه‌ها آنتی‌بیوتیک افزوده و در یخچال نگهداری شدند (Polne-Fuller, 1991; Laskey, 1970; Oliveira, 2010).

کشت داینوفلاژله‌های استخراج‌شده

پس از شستشوی جلبک‌ها از آنتی‌بیوتیک، جهت خوگیری زئوزانتلای همزیست از محیط کشت‌های ASP_8، ASP_{12}، F_2 و L_1 استفاده گردید. ترکیبات محیط کشت **ASP_8 شامل:** NaCl، $MgSo_4$، KCl، $CaCl_2$، $NaNo_3$، Na_2 glycero.po_4، $FeCl_3$، $MnCl_2$، $ZnSo_4$، $COSO_4$، Na_2MoO_4، Na_2EDTA، Tris، H_3BO_3، Biotin، Vitamin B_{12} و Thiamine HCl به استناد (Schoenberg and trench, 1980؛ Fitt *et al*., 1981؛ Colley and Trench, 1983؛ Chang *et al*., 1983؛ Banaszak *et al*., 2000)، **F_2:** $NaNO_3$، NaH_2PO_4، $FeCl_3$، $MnCl_2$، $ZnSo_4$، Na_2MoO_4، Na_2EDTA، $CuSO_4$، $CoCl_2$، Biotin، Vitamin B_{12} و Thiamine HCl به استناد (Polne-Fuller, 1991؛Guillard and Ryther, 1962) **ASP_{12}:** NaCl، $MgSo_4$، KCl، $CaCl_2$، $NaNo_3$، Na_2 glycero.po_4، $MgCl_2$، $K3Po_4$، Na_2 Sio_3، Na_2MoO_4، Na_2EDTA، Tris، H_3BO_3، $SrCl_2$، $CaCl_2$، $ZnCl_2$، KBr، RbCl، LiCl، Biotin، Vitamin B_{12} و Thiamine HCl به استناد (Benstein *et al*., 2014) و **L_1:** $NaNO_3$، NaH_2PO_4، $MnCl_2$ ، $ZnSo_4$، Na_2MoO_4، Na_2EDTA، $CuSo_4$، $CoCl_2$، H2SeO3، NiSO4، Na3VO4، K2CrO4، Biotin، Vitamin B_{12} و Thiamine HCl به استناد (Guillard and Hargraves, 1993؛ Rogers and Marcovich, 2007) می‌باشد. بعد از مشاهده تکثیر زئوزانتلا در محیط کشت‌های به کار گرفته‌شده طی چندین هفته، محیط کشت مناسب انتخاب شد. در مرحله بعد، جهت کشت دوم با محیط کشت انتخابی، زئوزانتلاها تحت دماهای ۱±۲۹ °C و ۱±۲۳،۱۷ و دوره نوری ۱۵ ساعت روشنایی/۹ ساعت تاریکی در ژرمیناتورها قرار داده شدند. نمونه‌ها هر دو روز، یک‌مرتبه توسط میکروسکوپ بررسی شدند (Polne-Fuller, 1991). شمارش سلول‌ها توسط لام نئوبار انجام شد و سپس شاخص میتوزی محاسبه گردید (Benstein *et al*., 2014; McDuff and Chisholm, 1982; Gibson and Thomas, 1995).

اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه و محاسبه شاخص میتوزی

ابتدا تمامی وسایل شیشه‌ای با آب مقطر شستشو داده شدند. ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع به‌وسیله پنبه و فویل آلومینیومی پوشانیده شدند و جهت استریل شدن در دستگاه اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه با دمای ۱۲۰ °C قرار گرفتند. جهت استریل نمودن اتاق کشت از لامپ UV به مدت نیم ساعت استفاده گردید. در این پژوهش از شدت نور μ mol.photon.m^{-2}.s^{-1} ۱۰۰ توسط لامپ‌های فلورسنت با تناوب نوری ۱۵ ساعت روشنایی/ ۹ ساعت تاریکی و سطح‌های دمایی ۱±۲۹ °C و ۱±۲۳،۱۷ استفاده شد. جهت کشت ریز جلبک مذکور از محیط کشت ASP_{12} استفاده گردید. پس از سترون نمودن محیط کشت، با افزودن ریزجلبک داینوفلاژله، عملیات کشت آغاز گردید. جلبک‌ها در ابتدا طی شرایط نوری و دمایی مذکور در فضای کوچک‌تر در محیط کشت ASP_{12} کشت داده شدند. پس از رشد و اطمینان از خالص بودن ریزجلبک‌های مذکور، به محیط‌های کشت بزرگ‌تر انتقال داده شدند.

جهت شمارش سلولی، ۴۰ میکرولیتر از محیط کشت موردنظر در کنار شعله نمونه‌برداری و با استفاده از لام هماسیتومتر (نئوبار) توسط میکروسکوپ نوری با عدسی ۲۰ شمارش گردید. شمارش سلول به روش ذیل محاسبه شد (Krediet *et al*., 2015).

تراکم سلولی در میلی‌لیتر = کل سلول‌های شمارش‌شده × $۱۰^{۴}$× فاکتور رقت

بعد از مشاهده تکثیر زئوزانتلا در محیط کشت‌های به کار گرفته‌شده طی چندین هفته، محیط کشت مناسب انتخاب شد. درنهایت پس از نزدیک شدن رشد جلبک‌ها به انتهای مرحله رشد لگاریتمی خود (stionary phase)، جهت تعیین میزان بیوماس سلولی، از روش اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه (μ) استفاده شد (Levasseur *et al*., 1993).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

$$k= 3,32.\ 1/t.\ (\text{Log } N_t - \text{Log } N_o) \qquad \text{(معادله ۱)}$$

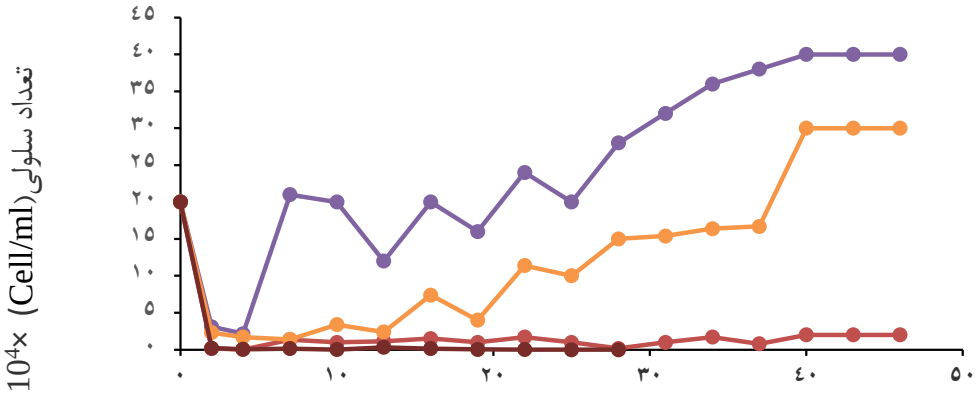
K؛ ثابت نرخ رشد، N_t؛ تعداد سلول‌ها در زمان t ، N_o؛ تعداد سلول‌ها در زمان شروع کشت

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Spss 16 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smironov مورد بررسی قرار گرفت. در صورت نرمال بودن داده‌ها از آزمون ANOVA و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey و Duncan استفاده شد.

نتایـج

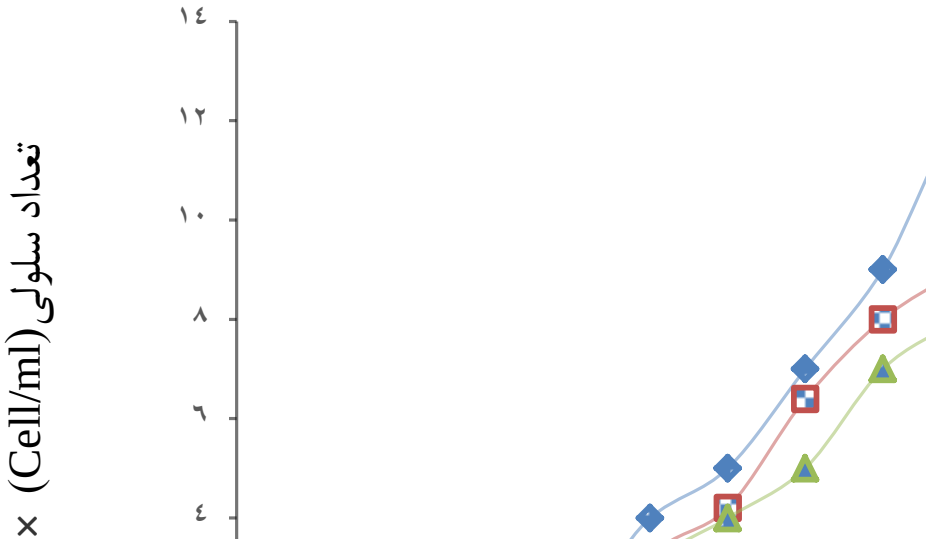
نتایج کشت اولیه جهت خوگیری زئوزانتلای همزیست، بیشترین شاخص میتوزی و تعداد سلولی را به ترتیب بـه مقـدار ۴۰٪ و ۴×۱۰^{۵} Cell/ml در محیط کشت ASP_{12} نشان داد. درصد شاخص میتوزی و تعداد سلولی در محیط کشـت F_2، ASP_8 و L_1 در سطح پایین‌تری نسبت به ASP_{12} مشاهده گردید. قابل‌ذکر است در محیط کشت L_1 بعد از گذشت چهار هفته، کلیـه سـلول‌هـا بی‌رنگ شدند (شکل ۱). سـپس، زئـوزانتلاهـا از محـیط کشـت ASP_{12} بـه‌عنـوان محـیط کشـت انتخـابی، بـه محـیط کشـت سوسپانسیونی (ASP_{12}) تحت سه دمای مختلف انتقال داده شدند. بیشترین تعداد سلول به مقدار ۱۲×۱۰^{۵} cell/ml در محـیط کشت سوسپانسیونی ASP_{12} تحت دمای ۲۳ °C مشاهده گردید؛ به‌طوری‌که نتـایج حاصـل از ایـن پـژوهش، نـرخ رشـد ویـژه سلول‌های داینوفلاژله را تحت دماهای ۲۹±۱ °C و ۱۷±۲۳،۱ به ترتیـب ۰/۰۷۱، ۰/۰۸۶ و ۰/۰۶۷ d^{-1} نشـان داد، بنـابراین بیش‌ترین تراکم و نرخ رشد ویژه در دمای ۲۳±۱ °C و محیط کشت ASP_{12} مشاهده شد. نتایج آماری نشـان داد کـه اخـتلاف معناداری بین تعداد سلول و نرخ رشد ویژه سلول‌های زئوزانتلا در دمای ۲۳±۱ °C با دماهـای ۲۹±۱ °C و ۱۷±۱ وجـود دارد ($P<0.05$) (شکل ۲ و ۳). همچنین اختلاف معناداری بین درصد تقسـیم میتـوزی در سـلول‌هـای زئـوزانتلا در محـیط کشـت ASP_{12} نسبت به ASP_8 و L_1 مشاهده شد. با توجـه بـه اهمیـت مـواد زیسـت فعـال داینوفلاژلـه‌هـا در زمینـه‌هـای پزشـکی و غیرپزشکی، مطالعات بیشتر بر روی زئوزانتلای فوق، گامی اولیه در راستای مطالعات زیست‌فناوری بر روی این موجود می‌باشد.



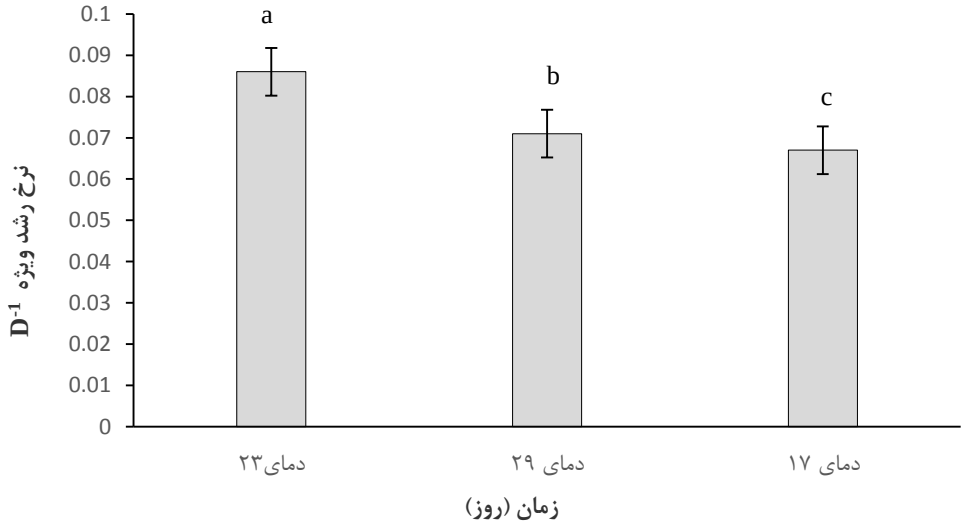
شکل ۱. مقایسه رشد *Symbiodinium* sp. تحت محیط کشت‌های ASP_{12}، ASP_8، F_2-Gilard و L_1 جهت تعیین محـیط کشت انتخـابی و انـدازه‌گیـری شـاخص میتـوزی. بـا توجـه بـه نمودارهـا، بیشـترین شـاخص میتـوزی و تـراکم سـلول‌هـای *Symbiodinium* sp. در محـیط کشـت ASP_{12} بـه مقـدار ۴۰٪ و ۴×۱۰^{۵} Cell/ml مشـاهده شـد. نتـایج آمـاری، اخـتلاف معناداری را در شاخص میتوزی و تراکم سلولی داینوفلاژله در محیط کشت ASP_{12} نسبت به محیط کشـت‌هـای ASP_8 و L_1 نشان می‌دهد ($P<0.05$).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]



شکل ۲. مقایسه رشد *Symbiodinium* sp. تحت دماهای مختلف در محیط کشت سوسپانسیونی ASP_{12}. با توجه به نمودارها بیشترین تراکم سلول‌های *Symbiodinium* sp. در دمای ۱±۲۳ °C به میزان ۱۲×۱۰^۵ Cell/ml مشاهده شد. نتایج آماری، اختلاف معناداری را بین تراکم سلولی در دمای ۱±۲۳ °C نسبت به دمای ۱±۲۹ °C و ۱±۱۷ نشان می‌دهد ($P<0.05$).



شکل ۳. مقایسه نرخ رشد ویژه سلول‌های داینوفلاژله طی دماهایی مختلف در محیط کشت ASP_{12}. بیشترین نرخ رشد ویژه‌ی سلول‌های *Symbiodinium* sp. در دمای ۱±۲۳ °C به مقدار ۰/۰۸۶ d^{-1} مشاهده شد. طبق نتایج آماری اختلاف معناداری بین نرخ رشد ویژه‌ی سلول‌های زئوزانتلا در دماهای مختلف وجود دارد ($P<0.05$).

بحث

فاکتورهای مختلفی ازجمله دما، نور، pH و شوری در رشد جلبک‌ها تأثیر بسزایی دارند. دقت در تنظیم فاکتورهای فوق می‌تواند کمک شایانی به کشت بهتر آن‌ها نماید. دما و نور از عوامل مهمی هستند که نوسان مقدارشان در میزان رشد سلول و تولید بیوماس جلبکی تأثیرگذار است (Ben-Amotz *et al.*, 1982). در پژوهش حاضر، با توجه به شکل۳-۱، کمترین تعداد سلولی و نرخ رشد ویژه در دمای ۱±۱۷ °C مشاهده شده است. با توجه به نتایج و همچنین اهمیت نقش کمپلکس تجزیه‌کننده آب در ادامه جریان انتقال الکترون فتوسیستم II می‌توان گفت، کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب در اثر کاهش

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

دما احتمالاً در کاهش میزان انتقال الکترون به پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II نقش داشته و اختلال در فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II ($F_{E0}\Phi$) در ریز جلبک داینوفلاژله گونه مذکور در اثر کاهش دما می‌تواند به علت کاهش کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب تحت تنش سرما باشد (Amotz *et al*., 1982؛ Wise, 1995؛ Pereira *et al*., 2000؛ Zouni *et al*., 2001).

همچنین لازم به ذکر است که در پژوهش حاضر، سازگار نمودن و اشباع سازی داینوفلاژله‌ها با محیط کشت ASP_{12} به دلیل وجود نیروهای هیدرودینامیکی و رشد بسیار آهسته آن‌ها، ۶ ماه به طول انجامید. بعد از اعمال تیمارهای دمایی، توسط شاخص میتوزی نرخ رشد جمعیت ریز جلبک‌ها محاسبه شد (Swift and Durbin, 1972). در این پژوهش سعی شد با تعیین شاخص میتوزی و با در نظر گرفتن فاکتورهای دمایی مطلوب، تعداد جمعیت داینوفلاژله‌های کشت داده‌شده به همراه نرخ رشد ویژه در محیط کشت ASP_{12} مشخص شود. در پژوهش حاضر، تراکم زئوزانتلا در محیط کشت ASP_{12} در دمای ۱±۲۳ °C به مقدار ۱۲×۱۰^{۵} cell/ml مشاهده شد که نتایج بررسی‌شده مبنی بر تائید این گزارش می‌باشد. طبق نتایج حاصل از این بررسی، حداکثر نرخ رشد ویژه سلول‌های داینوفلاژله در محدوده دمایی ۱±۲۳°C می‌باشد و با نتایج Iglesias-Prieto و همکاران (۱۹۹۲) که فتوسنتز داینوفلاژله *Symbiodinium microadriaticum* را در محدوده دمایی ۳۵ °C- ۲۰ گزارش نمودند، مطابقت دارد. بر اساس نتایج Thomas و Carr (۱۹۸۵)، تراکم داینوفلاژله کلاد D در محدوده $۱-۶\times۱۰^{۵}$ cell/ml گزارش شده است، این میزان با نتایج Valenzuela-Espinoza و همکاران (۲۰۱۱)، که تراکم سلولی را برای گونه *Amphidinium carterae* برابر با $۲۳/۳\times۱۰^{۵}$ cell/ml گزارش دادند و همچنین با نتایج حاصل از این پژوهش (۱۲×۱۰^{۵} cell/ml) همخوانی نداشت. بیشترین تراکم سلولی در داینوفلاژله‌های کشت داده شده در محیط کشت F_2، $۱۴۶/۶\times۱۰۳$ cell/ml با نرخ رشد ۰/۰۱ ± ۰/۳۱۷ در روز و بیوماس ۰/۰۳ ± ۰/۲۶ g/L وزن خشک گزارش شده است (Shah *et al*., 2014). با توجه به مشاهدات Benstein و همکاران (۲۰۱۴)، مقدار بیوماس تولیدشده از داینوفلاژله‌های کشت داده شده در فتوبیورآکتور تحت محیط کشت ASP_{12}، در محدوده ۱۱-۱ گرم در مترمربع در روز گزارش شده و محیط کشت ASP_{12} به‌عنوان بهترین محیط کشت معرفی شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. دمای مطلوب جهت نرخ رشد داینوفلاژله *Gymnidinium* در محدوده ۲۴ °C- ۲۰ گزارش شده است و با بررسی‌های موجود در این مقاله که دمای ۱±۲۳ °C، به‌عنوان بهترین دما جهت رشد زئوزانتلا است، مطابقت دارد. Nielsen (۱۹۹۶)، گزارش نموده است که دمای ۳۲°C موجب تخریب کلروپلاست و شکست لاملای تیلاکوئید در داینوفلاژله *Pocillopora damicornis* می‌گردد. طبق نتایج López-Rosales و همکاران (۲۰۱۴)، داینوفلاژله *Prorocentrum belizeanum* در محدوده دمایی ۱۸ °C، ۲۵ و ۲۸، حداکثر میزان رشد بهینه را در محدوده دمایی ۲۵°C نشان داده است. داینوفلاژله *Vulcanodinium rugosum*، قادر به زندگی در محدوده دمایی ۳۰ °C- ۲۰ و تابش نوری ۱۰۰ µ $mol.photon.m^{-2}.s^{-1}$ می‌باشد (Abadie *et al*., 2016). Hume و همکاران (۲۰۱۶)، بیان نموده‌اند که داینوفلاژله *Symbiodinium thermophilum* همزیست با مرجانیان خلیج‌فارس و دریای عرب در برابر افزایش دمایی ۳۵°C در تابستان مقاومت داشته است. لیکن با توجه به نتایج گزارش‌های ذکر شده، حداکثر نرخ رشد ویژه سلول‌های داینوفلاژله در محدوده دمایی ۱±۲۹-۱±۲۳ °C، اثبات می‌گردد. همچنین هوادهی و تزریق CO_2 در محیط کشت زئوزانتلا می‌تواند در راندمان بیوماس کشت مؤثر باشد. با وجود اینکه تولیدات داینوفلاژله‌های فتوتروپیک ازجمله توکسین‌ها و رنگ‌دانه‌ها، پتانسیل بسیار مهمی را در علوم پزشکی و صنعت داروسازی ایفا می‌نمایند، لیکن مطالعات بسیار اندکی در ارتباط با کشت داینوفلاژله‌ها در کشور صورت گرفته است؛ بنابراین نتایج اولین کشت داینوفلاژله همزیست از خلیج‌فارس می‌تواند پیش‌زمینه‌ای جهت مطالعه گسترده در راستای توسعه سیستم‌های کشت پایدار و استخراج مواد زیست فعال با ارزش از این همزیست‌ها باشد.

منابـع

Abadie, E., Muguet, A., Berteaux, T., Chomérat, N., Hess, P., Roque D'OrbCastel, E., Laabir, M. 2016. Toxin and growth responses of the neurotoxic dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* to varying temperature and salinity. Toxins. 8(5): 135-152.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

Baker, D.M., Andras, J.P., Jordán-Garza, A.G., Fogel, M.L. 2013. Nitrate competition in a coral symbiosis varies with temperature among *Symbiodinium* clades. The ISME Journal. 7(6): 1248-1251.

Banaszak, A.T., LaJeunesse, T.C., Trench, R.K. 2000. The synthesis of mycosporine-like amino acids (MAAs) by cultured, symbiotic dinoflagellates. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 249(2): 219-233.

Ben-Amotz, A., Katz, A., Avron, M. 1982. Accumulation of β-carotene in Halotolerant algae: purification and characterization of β-carotene-rich globules from *Dunaliella Bardawil* (Chlorophyceae). Journal of Phycology. 18(4): 529-537.

Benstein, R.M., Çebi, Z., Podola, B., Melkonian, M. 2014. Immobilized growth of the peridinin-producing marine dinoflagellate *Symbiodinium* in a simple biofilm photobioreactor. Marine biotechnology. 16(6): 621-628.

Berkelmans, R., Van Oppen, M.J. 2006. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a 'nugget of hope'for coral reefs in an era of climate change. Proceedings of the Royal Society of London. B: Biological Sciences. 273(1599): 2305-2312.

Beuzenberg, V., Mountfort, D., Holland, P., Shi, F., MacKenzie, L. 2012. Optimization of growth and production of toxins by three dinoflagellates in photobioreactor cultures. Journal of Applied Phycology. 24(5): 1023-1033.

Camacho, F.G., Rodríguez, J.G., Mirón, A.S., García, M.C., Belarbi, E.H., Grima, E.M. 2007. Determination of shear stress thresholds in toxic dinoflagellates cultured in shaken flasks: Implications in bioprocess engineering. Process Biochemistry. 42(11): 1506-1515.

Chang, S.S., Prezelin, B.B., Trench, R.K. 1983. Mechanisms of photoadaptation in three strains of the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum*. Marine Biology. 76(3): 219-229.

Colley, N.J., Trench, R.K. 1983. Selectivity in phagocytosis and persistence of symbiotic algae by the scyphistoma stage of the jellyfish *Cassiopeia xamachana*. Proceedings of the Royal Society of London. B: Biological Sciences. 219(1214): 61-82.

Dixon, G.K., Syrett, P.J. 1988. The growth of dinoflagellates in laboratory cultures. New Phytologist. 109(3): 297-302.

Fitt, W.K., Chang, S.S., Trench, R.K. 1981. Motility patterns of different strains of the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* (= *Gymnodinium*) *microadriaticum* (Freudenthal) in culture. Bulletin of Marine Science. 31(2): 436-443.

Gallardo-Rodríguez, J., Sánchez-Mirón, A., García-Camacho, F., López-Rosales, L., Chisti, Y., Molina-Grima, E. 2012. Bioactives from microalgal dinoflagellates. Biotechnology advances. 30(6): 1673-1684.

Gibson, C.H., Thomas, W.H. 1995. Effects of turbulence intermittency on growth inhibition of a red tide dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra* Stein. Journal of Geophysical Research: Oceans. 100(C12): 24841-24846.

Graham, L.K., Wilcox, L.W. 2000. The origin of alternation of generations in land plants: a focus on matrotrophy and hexose transport. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 355(1398): 757-767.

Guillard, R.R.L., Hargraves, P.E. 1993. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. Phycologia. 32(3): 234-236.

Guillard, R.R., Ryther, J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella Nana Hustedt*, and *Detonula Confervacea* (CLEVE) Gran. Canadian Journal of Microbiology. 8(2): 229-239.

Hume, B.C., Voolstra, C.R., Arif, C., D'Angelo, C., Burt, J.A., Eyal, G., Wiedenmann, J. 2016. Ancestral genetic diversity associated with the rapid spread of stress-tolerant coral symbionts in response to Holocene climate change. Proceedings of the National Academy of Sciences. 113(16): 4416-4421.

Iglesias-Prieto, R., Matta, J.L., Robins, W.A., Trench, R.K. 1992. Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture. Proceedings of the National Academy of Sciences. 89(21): 10302-10305.

Jeffrey, S.W. 1968. Quantitative thin-layer chromatography of chlorophylls and carotenoids from marine algae. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. 162(2): 271-285.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

Jeffrey, S.W., Haxo, F.T. 1968. Photosynthetic pigments of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) from corals and clams. The Biological Bulletin. 135(1): 149-165.

Kitaya, Y., Xiao, L., Masuda, A., Ozawa, T., Tsuda, M., Omasa, K. 2008. Effects of temperature, photosynthetic photon flux density, photoperiod and O_2 and CO_2 concentrations on growth rates of the symbiotic dinoflagellate, *Amphidinium* sp. Journal of Applied Phycology. 20(5): 737-742.

Krediet, C.J., DeNofrio, J.C., Caruso, C., Burriesci, M.S., Cella, K., Pringle, J.R. 2015. Rapid, precise, and accurate counts of *Symbiodinium* cells using the Guava flow cytometer, and a comparison to other methods. PLOS One. 10(8): e0135725.

Laskey, R.A. 1970. The use of antibiotics in the preparation of amphibian cell cultures from highly contaminated material. Journal of Cell Science. 7(3): 653-659.

Levasseur, M., Thompson, P.A., Harrison, P.J. 1993. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. Journal of Phycology. 29(5): 587-595.

López-Rosales, L., Gallardo-Rodríguez, J.J., Sánchez-Mirón, A., Cerón-García, M. D. C., Belarbi, E. H., García-Camacho, F., Molina-Grima, E. 2014. Simultaneous effect of temperature and irradiance on growth and okadaic acid production from the marine dinoflagellate *Prorocentrum belizeanum*. Toxins. 6(1): 229-253.

Morton, S.L., Norris, D.R., Bomber, J.W. 1992. Effect of temperature, salinity and light intensity on the growth and seasonality of toxic dinoflagellates associated with ciguatera. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 157(1): 79-90.

McDuff, R.E., Chisholm, S.W. 1982. The calculation of in situ growth rates of phytoplankton populations from fractions of cells undergoing mitosis: a clarification. Limnology and Oceanography. 27(4): 783-788.

Nielsen, M.V. 1996. Growth and chemical composition of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium galatheanum* in relation to irradiance, temperature and salinity. Marine Ecology Progress Series. 136: 205-211.

Onodera, K.I., Konishi, Y., Taguchi, T., Kiyoto, S., Tominaga, A. 2014. Peridinin from the marine symbiotic dinoflagellate, *Symbiodinium* sp., regulates eosinophilia in mice. Marine Drugs. 12(4): 1773-1787.

Oliveira, M.L.P.D., Costa, M.G.C., Silva, C.V.D., Otoni, W.C. 2010. Growth regulators, culture media and antibiotics in the in vitro shoot regeneration from mature tissue of citrus cultivars. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 45(7): 654-660.

Pereira, W.E., de Siqueira, D.L., Martínez, C.A., Puiatti, M. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. Journal of Plant Physiology. 157(5): 513-520.

Pistocchi, R., Pezzolesi, L., Guerrini, F., Vanucci, S., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E. 2011. A review on the effects of environmental conditions on growth and toxin production of *Ostreopsis ovata*. Toxicon. 57(3): 421-428.

Pochon, X., Pawlowski, J. 2006. Evolution of the soritids-*Symbiodinium* symbiosis. Symbiosis. 42(2): 77-88.

Polne-Fuller, M. 1991. A novel technique for preparation of axenic cultures of *Symbiodinium* (Pyrrophyta) through selective digestion by amoebae. Journal of Phycology. 27(4): 552-554.

Rogers, J.E., Marcovich, D. 2007. A simple method for the extraction and quantification of photopigments from *Symbiodinium* spp. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 353(2): 191-197.

Schoenberg, D.A., Trench, R.K. 1980. Genetic variation in *Symbiodinium* (=*Gymnodinium*) *microadriaticum Freudenthal*, and specificity in its symbiosis with marine invertebrates. I. Isoenzyme and soluble protein patterns of axenic cultures of *Symbiodinium microadriaticum*. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 207(1169): 405-427.

Shah, M.M.R., Samarakoon, K.W., Ko, J., Lakmal, H.C., Lee, J., An, S., Jeon, Y. 2014. Potentiality of benthic dinoflagellate cultures and screening of their bioactivities in Jeju Island, Korea. African Journal of Biotechnology. 13(6): 792-805.

Stat, M., Pochon, X., Franklin, E.C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Selig, E.R., Gates, R.D. 2013. The distribution of the thermally tolerant symbiont lineage (*Symbiodinium* clade D) in corals from

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]

Hawaii: correlations with host and the history of ocean thermal stress. Ecology and Evolution. 3(5): 1317-1329.

Sugawara, T., Yamashita, K., Sakai, S., Asai, A., Nagao, A., Shiraishi, T., Hirata, T. 2007. Induction of apoptosis in DLD-1 human colon cancer cells by peridinin isolated from the dinoflagellate, Heterocapsa triquetra. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 71(4): 1069-1072.

Swift, E.L.I.J.A.H., Durbin, E.G. 1972. The phased division and cytological characteristics of *Pyrocystis* spp. can be used to estimate doubling times of their populations in the sea. In Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts. 19(3): 189-198.

Thomas, P.H., Carr, N.G. 1985. The invariance of macromolecular composition with altered light limited growth rate of *Amphidinium carteri* (Dinophyceae). Archives of Microbiology. 142(1): 81-86.

Tsushima, M., Maoka, T., Katsuyama, M., Kozuka, M., Matsuno, T., Tokuda, H., Iwashima, A. 1995. Inhibitory effect of natural carotenoids on Epstein-Barr virus activation activity of a tumor promoter in Raji cells. A screening study for anti-tumor promoters. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 18(2): 227-233.

Valenzuela-Espinoza, E., Millán-Núñez, R., Santamaría-del-Ángel, E., Trees, C.C. 2011. Macronutrient uptake and carotenoid/chlorophyll a ratio in the dinoflagellate *Amphidinium carteri Hulburt*, cultured under different nutrient and light conditions. Hydrobiologica. 21(1): 34-48.

Wise, R.R. 1995. Chilling-enhanced photooxidation: the production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. Photosynthesis Research. 45(2): 79-97.

Zouni, A., Witt, H.T., Kern, J., Fromme, P., Krauss, N., Saenger, W., Orth, P. 2001. Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution. Nature. 409(6821): 739-743.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1396.7.2.11.8]