

تأثیر دما و عوامل معدنی و آلی بر رشد و تکثیر *Paramecium caudatum* در محیط

کشت مخمر

سید سجاد شاه‌رخی^{۱،۲}، منیژه کرمی^{۱،۲*} و بهرام کاظمی^۳^۱ تهران، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی^۲ تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی^۳ تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی - مولکولی

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۱۹

چکیده

تک یاختگان مژه دار مانند *Paramecium caudatum* را می‌توان در محیط کشت مخمر پرورش داد. در این پژوهش تأثیر دما و غنی‌سازی محیط کشت مخمر بر رشد و تکثیر جمعیت *P. caudatum* بررسی شد. رشد جمعیت *P. caudatum* در محیط کشت مخمر تحت دماهای مختلف (۲۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد) و تحت غنی‌سازی با یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} و اسید آمینه ال-آرژنین مورد مقایسه قرار گرفت. طبق نتایج، جمعیت این جانوران ۴۸ ساعت پس از پاساژ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر دماها افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت ($p < 0.001$). همچنین غنی‌کردن محیط کشت با یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} و به ویژه افزودن اسید آمینه ال-آرژنین در دمای بهینه موجب افزایش بیشتر جمعیت *P. caudatum* در این محیط نسبت به محیط کشت معمولی مخمر شد ($p < 0.001$). بررسی منحنی رشد این جانوران تک سلولی در محیط کشت معمولی مخمر تحت دمای بهینه نشان داد که رشد و تکثیر این جانوران تک سلولی دارای چهار مرحله است. مقایسه منحنیهای رشد محیط معمولی نسبت به محیط غنی شده، نشان دهنده رشد بیشتر سلولها در محیط غنی شده نسبت به محیط معمولی است. بر اساس یافته‌های حاضر محیط کشت غنی شده مخمر را تحت دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌توان به عنوان یک محیط کشت مصنوعی مناسب برای تکثیر و ازدیاد *P. caudatum* معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: *P. caudatum*، دمای بهینه، محیط کشت مخمر، عوامل معدنی و آلی، منحنی رشد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۵۱۲۱۲۲۴۳، پست الکترونیکی: Karami@shahed.ac.ir

مقدمه

گیاهان جذب می‌شوند. این مسئله می‌تواند در حفظ و احیای جنگلها توسط مژه داران مؤثر باشد (۳). همچنین از آنجایی که بسیاری از مژه داران به عنوان باکتری خوار (Bacterivore) و گندیده خوار (Saprovore) عمل کرده، می‌توانند در تصفیه و پاکسازی فاضلاب شهری و صنعتی نقش بسیار مهمی داشته باشند (۶، ۷، ۸ و ۹)، بررسی عوامل محیطی مؤثر بر رشد و تکثیر این جانوران در راستای کاهش آلودگیهای زیست محیطی اهمیت وافر می‌یابد.

این جانوران تک سلولی نسبت به تغییرات محیطی بسیار حساس هستند، به طوری که دما و کیفیت محیط زندگی

جانوران تک یاخته‌ای گروهی از موجودات زنده جانور مانند هستند که فقط از یک سلول ساخته شده‌اند. یک گروه بزرگ از این جانوران را مژه داران تشکیل می‌دهند که در خاک، مردابها، دریاها، دریاچه‌ها و چشمه‌ها پراکنده‌اند (۱۰).

مژه داران از مصرف کنندگان اولیه و تجزیه کنندگان در اکوسیستم به حساب می‌آیند و نقش مهمی را در چرخه ماده و انرژی بر عهده دارند (۳). آنها همچنین به عنوان عوامل پاکسازی کننده محیط زیست، موادی را که توسط گیاهان قابل جذب نیست به مواد قابل جذب تبدیل می‌کنند، به طوری که این مواد مستقیم یا غیر مستقیم توسط

مشاهده مستقیم با لوپ و میکروسکوپ قرار گرفت تا حیوان دلخواه رؤیت شود و در صورت عدم مشاهده حیوان مورد نظر (به تشخیص افتراقی *P. caudatum* مراجعه شود)، اجازه داده شد تا نمونه آب جمع آوری شده تحت محیط کشت طبیعی (استفاده از خیسانده یونجه) در آزمایشگاه نگهداری شود تا وقتی که تک یاخته مذکور در آنها ظاهر گردد. آنگاه به کمک پمپ پاستور و تحت مشاهده با لوپ، پاساژ تک یاخته به محیط‌های تازه و استریل انجام شد. این عمل تا آنجا که کشت خالصی از این تک یاخته تهیه شود، تکرار گردید. سرانجام فرآیند کشت دادن در محیط مصنوعی (حاوی ۲ گرم مخمر در ۱ لیتر آب مقطر که نحوه تهیه و غنی‌سازی آن در قسمتهای بعد ذکر شده است) به اجرا درآمد.

تشخیص افتراقی *P. caudatum*: برای تشخیص این نمونه از سایر انواع *Paramecium* به ویژگیهای تشخیصی مهم پرداخته شد از جمله داشتن یک ریز هسته (Micro-nucleus) و یک درشت هسته (Macro-nucleus) به شکلی که ریز هسته داخل فرورفتگی کلیه ای شکل درشت هسته فشرده جای داشته باشد (مراجعه شود به نمودار ۱)، سیستم خطوط نقره دوست (Silver line system) که فشرده‌گی منحصر به فردی در نزدیکی ساختار دهانی دارد، وجود یک دسته مژه دمی طویل که اصطلاحاً دسته دمی (Caudal tuft) نامیده می‌شود و این امر حتی به تنهایی می‌تواند باعث تمیز نمونه حاضر از سایر انواع *Paramecium* شود، ابعاد بدن که از این نظر دومین مقام را بعد از *P. multimicronucleatum* دارد (عموماً بین ۳۰۰ تا ۴۰۰ میکرون) و وجود مجموعه بزرگی از عناصر یا اجسام کشنده که در ناحیه دمی مجتمع می‌شوند (refractile-r-bodies).

تهیه محیط کشت طبیعی به کمک خیسانده یونجه: مقداری یونجه خشک (یک مشت) در ۵۰۰ میلی لیتر آب به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد و پس از خنک شدن در شیشه در دار به عنوان محیط مغذی ذخیره در دمای ۴

آنها تأثیر قابل توجهی بر میزان رشد و تکثیرشان بر جای می‌گذارد (۱۰ و ۱۱). فرآیند تنظیم دما (thermoregulation)، به عنوان یکی از فرآیندهای فیزیولوژیک حیاتی در *Paramecium caudatum* به عنوان یک مژه دار مطالعه و نقش تنظیمی نیتریک اکساید بر فرآیند مذکور نشان داده شده است (۱۱). این مولکول به واسطه اسید آمینه ال-آرژینین در حضور آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز بیوسنتز می‌شود و به عنوان یکی از پیامدهای انتقال سیگنال، سطح یون کلسیم داخل سلول را افزایش می‌دهد (۵). بنابراین با توجه به نقش یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} در فرآیند تقسیم سلولی (۱۳) می‌توان از ال-آرژینین به عنوان عامل رشد و تکثیر *P. caudatum* استفاده کرد (۱۱).

از طرف دیگر، از آنجایی که این جانور تک سلولی به لحاظ اندازه نسبتاً بزرگ است و روشهای تغذیه ای متنوعی دارد (۱۰)، در آزمایشگاهها جهت فعالیتهای تحقیقاتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما در بیشتر موارد آن را در محیطهای کشت طبیعی مانند خیسانده یونجه می‌پروراند (۲) که این محیط از شرایط ایده آل بر خوردار نیست و شاهد نامطلوبیت آن هم رشد انواع متعددی از مژه داران و سایر تک یاختگان و یا حتی پریاختگان کوچک در کنار انواعی از باکتریها در این نوع محیط کشت است (۲). بنابراین ایجاد شرایط بهینه رشد در محیطهای کشت مصنوعی برای تکثیر و پرورش خالص *P. caudatum* به منظور استفاده از این مدل ارزشمند در مطالعات و تحقیقات سلولی ضروری به نظر می‌رسد که این امر نیز در تحقیق حاضر مد نظر قرار گرفته است.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه حیوانی از محیطهای طبیعی: برای جمع آوری *P. caudatum* از ایستگاههای آب شیرین موقت از جمله آبگیرهای کم عمق و آبگاهها، نمونه برداری به صورت تصادفی از این مکانها انجام و نمونه های آب سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. هر نمونه چند بار تحت

همگن و ۱ mL از آن به درون لام سدویک انتقال داده شد. سپس به کمک میکروسکوپ نوری تحت ۴x مشاهده و شمارش سلولی انجام گرفت: مساحت میدان دید تحت لنز ۴ میکروسکوپ نوری برابر $\frac{1}{66798}$ از کل مساحت لام سدویک رافتر است، بنابراین با ضرب کردن تعداد سلولهای شمارش شده تحت نمای مذکور در عدد ۶۶/۶۶ تعداد سلولها در ۱ mL محیط کشت به دست آمد.

تهیه محیط کشت غنی شده مخمر: پس از دستیابی به دمای بهینه رشد *P. caudatum* نوبت به تهیه محیط کشت غنی شده مخمر رسید تا تأثیر دما و مواد اضافه شده به محیط کشت مخمر به طور همزمان بررسی شود. برای تهیه محیط کشت غنی شده مخمر به ازای ۱ لیتر محیط کشت معمولی مخمر، $(0.2 \text{ g}) \text{MgCl}_2$ ، $(0.2 \text{ g}) \text{CaCl}_2$ و (0.04 g) ال-آرژینین به محیط افزوده شد (۱).

تحلیل آماری: کلیه داده‌ها با آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با کمک تستهای *Post-hoc* مانند Tukey تفاوت بین گروهها مشخص و ضریب آلفا ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

تأثیر دماهای مختلف (۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰) درجه سانتی گراد) بر رشد *P. caudatum*: داده‌های مربوط به تأثیر دما بر رشد *P. caudatum* با آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که با توجه نتیجه آزمون ($p < 0.001$) و $F(4, 20) = 596.244$ اختلاف گروهها کاملاً معنی دار است.

همان گونه که در نمودار ۲ نشان داده شده است رشد این حیوانات در ۳۰ درجه سانتی گراد ۴۸ ساعت پس از پاساژ در محیط کشت معمولی مخمر نسبت به سایر دماها افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت، به طوری که دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به عنوان دمای بهینه برای رشد *P. caudatum* در نظر گرفته شد.

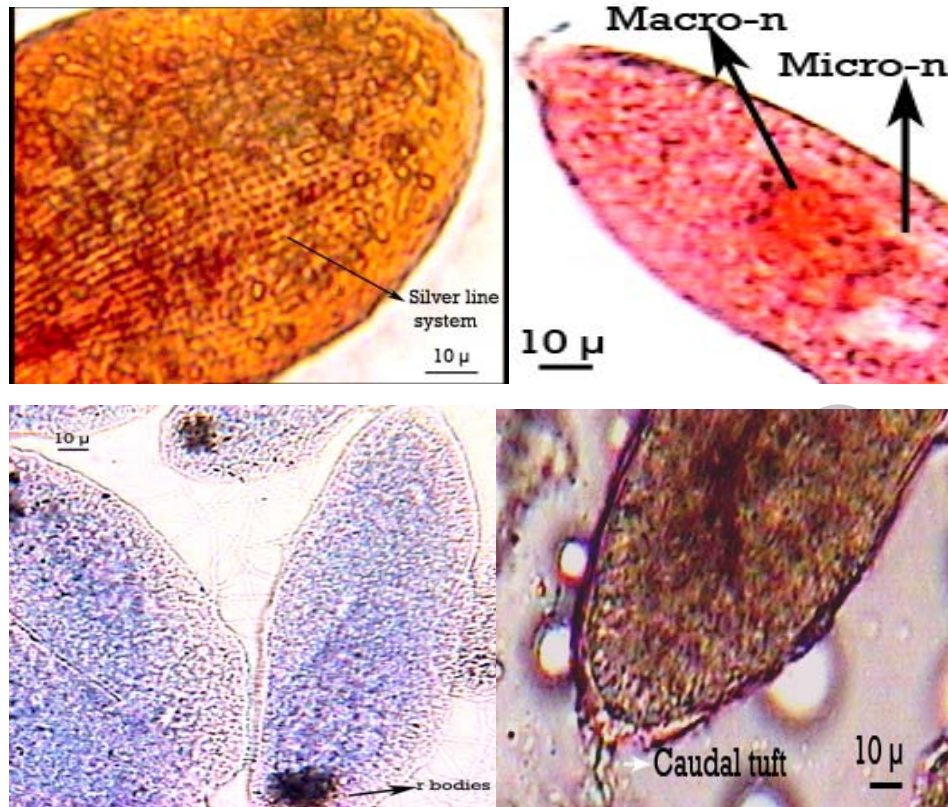
درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۲). برای تهیه محیط کشت طبیعی به ازای هر ۲۰۰ میلی لیتر آب معمولی، یک قاشق سر پر از یونجه خیس‌انده همراه مقدار کمی مایع رویی از محیط مغذی ذخیره اضافه و میکروارگانیسم مورد نظر با کمک پیپت پاستور (حداقل ۳ پیپت سر پر) به این محیط تلقیح شد (۲).

تهیه محیط کشت مخمر: پودر مخمر (۲ g/L) در آب مقطر حل و پس از اتوکلاو در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. به منظور تهیه محیط کشت مخمر به ازای هر ۶۰ میلی لیتر از این محیط که در پتری دیش استریل اضافه می‌شد، تعدادی میکروارگانیسم از محیط ذخیره با پیپت به این محیط تلقیح شد (حداقل ۱ پیپت سر پر).

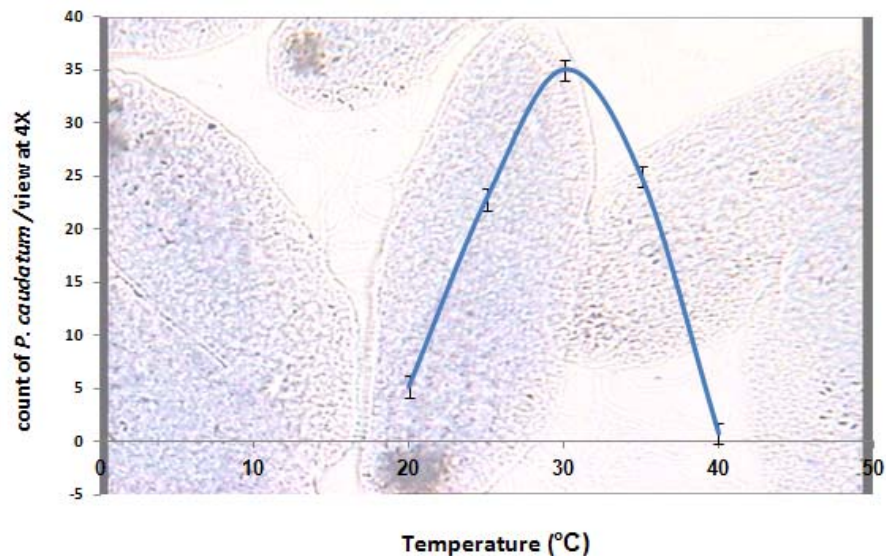
تنظیم pH مناسب جهت رشد *P. caudatum*: pH مناسب برای رشد *P. caudatum* در محدوده 6.8 ± 0.2 است (۲). برای تنظیم pH از محلولهای اسید استیک و سود ۰/۱ نرمال استفاده شد (۲).

ایجاد شرایط دمایی مختلف (۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰) درجه سانتی گراد) جهت بررسی تأثیر دماهای مختلف بر رشد *P. caudatum* در محیط مخمر: برای بررسی تأثیر دماهای مختلف بر روی رشد جمعیت حیوانات تحت مطالعه، شرایط استاندارد از نظر استریل بودن و قابل تنظیم بودن دما تدارک دیده شد: پلیتهای کشت با ظرفیت ۶۰ mL که در زیر هود استریل مجهز به تهویه مطبوع و لامپ UV قرار داشتند، تحت فضای هود و بر روی یک آکواریوم مجهز به بخاری دیجیتال ساعت دار با قابلیت تنظیم دما (به واسطه وجود حسگر) جایگزین شدند تا در فواصل زمانی مشخص، جمعیت *P. caudatum* در واحد حجم به کمک لام شمارش مخصوص (Sedgewick-Rafter counting chamber) برآورد شود.

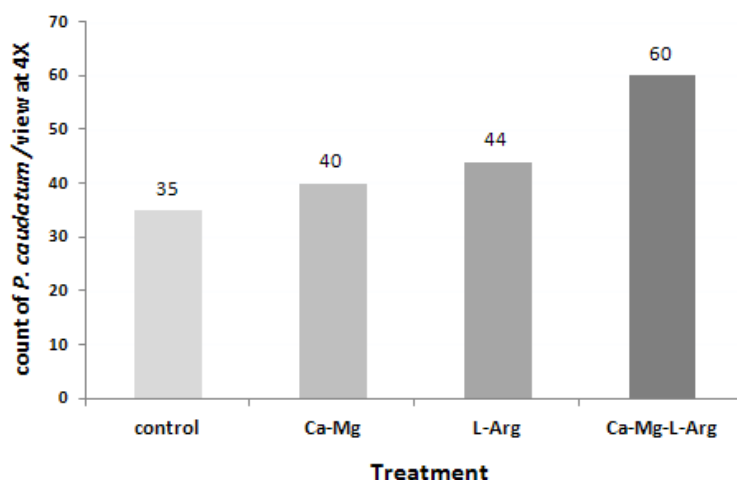
نحوه شمارش جمعیت سلولی *P. caudatum*: برای شمارش جمعیت سلولی تحت کشت به کمک لام استاندارد سدویک رافتر، ابتدا در زمانهای تعیین شده، محیط کشت حاوی جمعیت *P. caudatum* به وسیله پیپت



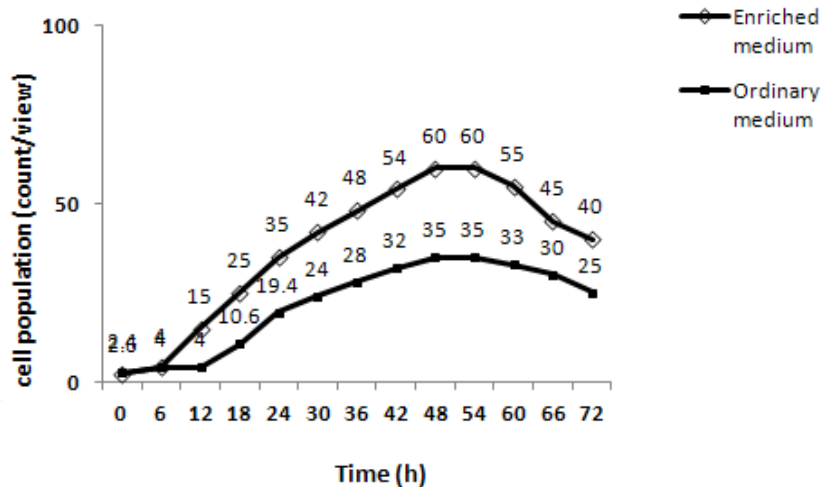
نمودار ۱: تشخیص *P. caudatum* با بررسی ویژگی‌های مهم از جمله وضعیت و تعداد هسته‌ها، سیستم خطوط نقره‌ای، مژه‌های دسته‌دمی، اجسام کشنده، ابعاد بدن و ... انجام شد.



نمودار ۲: تعداد *P. caudatum* تحت ۴X (مطابق مندرجات بخش روشها) ۴۸ ساعت پس از پاساژ در دماهای ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ درجه سانتی‌گراد. برای محاسبه تعداد کل این تک‌یاخته‌ها در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت موجود در لام سدویک کافی است تعداد سلول را تحت منظر مورد مشاهده در ۶۶/۶۶ ضرب کرد. مطابق این نمودار تعداد این حیوانات در دمای ۳۰ درجه نسبت به سایر دماها بسیار بیشتر است.



نمودار ۳: تعداد *P. caudatum* تحت ۴X، ۴۸ ساعت پس از پاساژ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت مخمر حاوی غلظت‌های مشخصی از CaCl_2 , MgCl_2 , L-Arg (ال-آرژینین) (مطابق مندرجات بخش روشها). حالت کنترل فاقد هر گونه ماده و فقط محیط کشت معمولی مخمر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. تعداد کل سلولها در ۱ میلی‌لیتر محیط موجود در لام سدویک با ضرب کردن تعداد آنها تحت منظر ۴X در ۶۶/۶۶ به دست آمد.



نمودار ۴- تعداد *P. caudatum* تحت ۴X (مطابق مندرجات بخش روشها) طی ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت معمولی مخمر و محیط کشت غنی شده مخمر. تعداد کل تک یاخته‌ها در ۱ میلی‌لیتر محیط موجود در لام سدویک با ضرب کردن تعداد آنها تحت منظر ۴X در ۶۶/۶۶ به دست آمد.

کاملاً معنی‌دار است. همانگونه که از نمودار ۳ دریافت می‌شود با اضافه کردن یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} و اسید آمینه ال-آرژینین به محیط کشت معمولی مخمر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به حالت کنترل که فاقد این عوامل افزودنی و در واقع محیط کشت معمولی مخمر

تأثیر یونها و اسید آمینه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر رشد *P. caudatum*: ابتدا داده‌های مربوط به تأثیر یونها و اسید آمینه با آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که با توجه به نتیجه آزمون $(F(3, 16) = 246/140$ و $p < 0.001$) اختلاف گروهها

است که این واقعیت نشان دهنده تأثیر بیشتر محیط کشت غنی شده مخمر بر رشد و تکثیر سلولهای *P. caudatum* است.

بحث

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر دما و عوامل معدنی و آلی بر رشد و تکثیر *Paramecium caudatum* در محیط کشت مخمر انجام شد. تأثیر طیف دمایی ۲۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد و غنی‌سازی محیط کشت معمولی مخمر با افزودن عوامل معدنی (یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} و آلی (اسید آمینه ال-آرژینین به عنوان مولد نیتریک اکساید) بر رشد و تکثیر این تک‌یاخته مطالعه شد. مطابق یافته‌های این تحقیق رشد جمعیت *P. caudatum* در محیط کشت معمولی مخمر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد ۴۸ ساعت پس از پاساژ نسبت به سایر دماها افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت. در اثر غنی‌کردن محیط کشت مذکور با یونهای Ca^{2+} و Mg^{2+} (به نسبت‌های مندرج در قسمت روشها) و به ویژه پس از افزودن اسید آمینه ال-آرژینین افزایش فوق‌العاده بیشتر جمعیت *P. caudatum* نسبت به محیط کشت معمولی مخمر تحت همان دمای بهینه مشاهده شد. همچنین منحنی رشد این جانوران تک‌سلولی تحت دمای بهینه نشان داد که رشد و تکثیر این تک‌یاخته دارای چهار مرحله است. مقایسه منحنی رشد این جانوران تحت دمای بهینه در محیط کشت غنی شده نسبت به محیط کشت معمولی نیز تأثیر فوق‌العاده بیشتر محیط کشت غنی شده نسبت به محیط کشت معمولی بر میزان رشد و تکثیر *P. caudatum* را منعکس نمود.

در تفسیر این نتایج باید اشاره کرد که رشد و تکثیر *P. caudatum* شدیداً تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما قرار دارد (۱۱). مطالعه Malvin و همکاران (۲۰۰۳) (۱۱) همچنین نشان داد که سیستم نیتریک اکساید در این میکروارگانیسم نقش مؤثری را در تنظیم حرارت (thermoregulation) ایفا می‌کند. پژوهش یاد شده به علاوه نشان داد که مهار سیستم مذکور موجب کاهش

بوده، افزایش قابل ملاحظه‌ای در تعداد سلولها ۴۸ ساعت پس از پاساژ صورت گرفته است. گرچه تأثیر یونها به تنهایی بر روی رشد سلولها در مقایسه با تأثیر اسید آمینه ال-آرژینین به ظاهر یکسان به نظر می‌رسد، ولی در واقع از نظر آماری برای محیط حاوی یونها نسبت به حالت کنترل و برای محیط حاوی ال-آرژینین نسبت به حالت کنترل اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین افزودن توأم ال-آرژینین و یونها به محیط کشت معمولی مخمر باعث افزایش بیشتر تعداد سلولهای *P. caudatum* نسبت به محیط کشت معمولی مخمر (حالت کنترل) می‌شود. بنابراین بیشترین جمعیت سلولی را در واحد حجم می‌توان در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در محیط کشت $CaCl_2 + MgCl_2 + L-Arginine$ گزارش کرد و این محیط را می‌توان محیط کشت غنی شده مخمر نامید.

منحنی رشد *P. caudatum* : نمودار ۴ منحنی رشد *P. caudatum* را شامل چهار مرحله نشان می‌دهد. مرحله اول از زمان صفر تا ۱۲ ساعت بعد از کشت ادامه دارد که در این مرحله سرعت رشد و تکثیر سلولها نسبتاً پایین است (فاز تأخیر). مرحله دوم از این ساعت تا ۴۸ ساعت بعد از کشت را شامل می‌شود که طی آن سرعت رشد به بالاترین حد (رشد لگاریتمی) می‌رسد. در مرحله سوم که از این لحظه تا ۵۴ ساعت بعد از کشت ادامه دارد سرعت رشد صفر بوده و در تعداد سلولهای *P. caudatum* در واحد حجم محیط کشت تفاوتی ایجاد نمی‌شود که می‌توان این مرحله را مرحله سکون یا فاز ثابت از منحنی رشد نامید. در مرحله چهارم که از ۵۴ ساعت تا ۷۲ ساعت بعد از کشت را شامل می‌شود رشد منفی است، یعنی تعداد سلولها در واحد حجم محیط کشت رو به کاهش می‌گذارد. همان‌گونه که از نمودار ۴ قابل مشاهده است، از لحاظ وجود مراحل چهارگانه رشد، دو منحنی موجود در این نمودار با یکدیگر تفاوتی ندارند، اما نکته قابل توجه این است که منحنی محیط غنی شده نسبت به منحنی محیط کشت معمولی مخمر به سمت بالا جا به جا شده

اشاره به مطالعات تک‌یاخته‌شناسان رشد تک‌یاختگان مژه‌داری مانند *Paramecium* را در محیط‌های غنی از مواد آلی در حال اکسید شدن و غنی از نیتريت‌ها بسیار چشم‌گیر قلمداد کرده‌اند و این تحقیق نیز با بهره‌مندی از این اطلاعات به بررسی تأثیر افزودن عوامل معدنی (یونها) و آلی (اسید آمینه مولد نیتريك اکساید) به محیط کشت مصنوعی (مخمر) این تک‌یاخته پرداخت و نتیجه مؤید آن است که تأثیر محیط مغذی غنی شده کاملاً معنی‌دار است. به این ترتیب این نوع غنی‌سازی محیط کشت مخمر می‌تواند اثر قابل‌ملاحظه‌ای بر روی رشد و تکثیر *P. caudatum* بر جای گذارد. این نتیجه می‌تواند دستیابی پژوهشگران را به *P. caudatum* سریع‌الوصول، پر تعداد و بسیار آسان نماید. اهمیت این امر آن وقت آشکار می‌شود که بتوان برای شناخت مکانیسم‌های بیولوژیک به جای مطالعات *In vitro* در میکروارگانیسم‌ها به ویژه انواع پروکاریوت به مطالعه مستقیم سلول‌های حیوانی در شرایط *In vivo* روی آورد. مسلماً مطالعات اخیرالذکر نه تنها از نظر هزینه بسیار مقرون به صرفه خواهد بود بلکه نتایج مستندتری به دست خواهد داد که برای انسان کاربردهای ارزنده‌ای خواهد داشت.

در یک نتیجه‌گیری کلی محیط کشت مخمر را که از جمله محیط‌های کشت مصنوعی *P. caudatum* است، می‌توان به شکل غنی شده تحت‌دمای مطلوب برای رشد و تکثیر بسیار بالای *P. caudatum* به کار برد.

تشکر و قدردانی: این پژوهش با حمایت معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی دانشگاه شاهد انجام شده است و بدین ترتیب تقدیر و قدردانی به عمل می‌آید.

جمعیت این موجودات می‌شود. همان محقق قبلاً (۱۲) با بررسی تأثیر متقابل فیزیولوژی تنفس و تنظیم دمای بدن این ارگانیسم دریافته بود که با القای مهار در واکنش‌های اکسیداتیو دمای مطلوب این حیوان به 28.3 ± 0.3 تغییر می‌یابد و او این امر را برای سازگاری موجود با شرایط هیپوکسیک ضروری دانست. در این پژوهش با بررسی تأثیر طیف دمایی نسبتاً وسیعی بر رشد و تکثیر *P. caudatum* در ظروف پتری در دار که شرایط تنفسی را به حالت هیپوکسیک نزدیک می‌کند نتیجه قابل‌قبول و مطابق با پژوهش یاد شده به دست آمد.

در باب غنی‌کردن محیط کشت با توجه به اینکه *P. caudatum* می‌تواند محیط‌های آلوده حاوی مواد شیمیایی از قبیل کلرید سدیم، کربنات پتاسیم، نترات آمونیم، سولفات منیزیم، ارتوفسفات آهن و استات سرب را در طیف غلظتی وسیعی از ۱ تا ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تحمل کند (۳و۴). طبیعتاً با افزودن این عوامل به محیط کشت موجود مورد نظر ارزش تغذیه‌ای محیط کشت بالا می‌رود. مضافاً اینکه مژه‌داران نقش ویژه‌ای در اکوسیستم (۳) دارند و می‌توان آنها را نیز در ردیف تجزیه‌کنندگان و عوامل مؤثر بر چرخه و گردش مواد در طبیعت دسته‌بندی کرد. همچنان که تأثیر این جانوران در پاکسازی و تصفیه فاضلاب‌ها و پس‌آب‌های شهری و صنعتی (۶، ۷، ۸ و ۹)، بر کسی پوشیده نیست و بر همین اساس است که شناخت گونه‌های مختلف تک‌یاختگان، به خصوص مژه‌داران، جهت بررسی برهمکنش این جانوران با محیط زیست در راستای کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی، حفاظت از محیط زیست و احیای جنگل‌ها یک ضرورت جدی به نظر می‌رسد. چرا که آلودگی محیط زیست از مسائل عمده‌ای است که امروزه قسمت اعظم تلاش برنامه‌ریزان اجتماعی را به خود اختصاص داده است. سایر مستندها (۱۰ و ۱۴) با

منابع

۱. حقیقی، ع و رضاییان، م. ۱۳۷۷. کشت و نگهداری *انتامبا هیستولیتیکا* در محیط کشت سرم اسب، رینگر و نشاسته برنج (HSr+S). مجله علوم پزشکی کرمان، دوره پنجم، شماره ۲، ص ۶۰-۶۴.

۱. حقیقی، ع و رضاییان، م. ۱۳۷۷. کشت و نگهداری *انتامبا هیستولیتیکا* در محیط کشت سرم اسب، رینگر و نشاسته برنج

۲. فیثلی، ب، جی. ۱۳۷۵. جانوران تک یاخته ای آبهای شیرین: راهنمای جمع آوری، جداسازی، کشت و تشخیص. منیژه کرمی
3. Adl M. S., and Gupta V. V. S. R. (2006) Protists in soil ecology and forest nutrient cycling, *Ca J Forest Res* 36, 1805-1817.
4. Apostol S. (1973) A bioassay of toxicity using Protozoa in the study of aquatic environment pollution and its prevention. *Environ Res* 6, 365-72.
5. Clementi E. (1998) Role of nitric oxide and its intracellular signaling pathways in the control of Ca^{2+} homeostasis. *Biochem Pharmacol* 55, 713-718.
6. Curds C. R., and Cockburn A. (1970a) Protozoa in biological sewage-treatment processes. I. A survey of the protozoan fauna of British percolating-filter and activated-sludge plants. *Water Res* 4, 225-36.
7. Curds C. R., and Cockburn A. (1970b) Protozoa in biological sewage-treatment processes. II. Protozoa as indicators in the activated-sludge process. *Water Res* 4, 237-49.
8. Curds C. R. (1973) The role of protozoa in the activated-sludge process. *Am Zool* 13, 161-9.
9. Curds C. R. (1975) "Protozoa" in C. R. Curds and H. A. Hawkes (eds), *Ecological Aspects of Used-Water Treatment*. Academic Press, London.
10. Laybourn-Parry J. (1984) A Functional Biology of Free-Living Protozoa. Biddles Ltd, Guilford and King, Lynn, U. K. Pages 218.
11. Malvin G. M., Cecava N., and Nelin L. D. (2003) Nitric oxide production and thermoregulation in *Paramecium caudatum*. *Acta Protozool* 42, 259-267.
12. Malvin, G. M., Havlen, P., Baldwin, C. (1994) Interactions between cellular respiration and thermoregulation in the *Paramecium*, *Am J Physiol* 267, R349-R352.
13. Prajer M., Fleury A., and Laurent M. (1997) Dynamics of calcium regulation in *Paramecium* and possible morphogenetic implication. *J Cell Sci* 110, 529-535.
14. Singh, Y. K. (2008) Teaching of zoology. A P H Publishing Corporation, New Delhi, pages 303.

Effect of temperature and organic & inorganic factors on growth and proliferation of *Paramecium caudatum*

Shahrokhi S.S.^{1,2}, Karami M.^{1,2} and Kazemi B.³

¹ Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, I.R. of IRAN

² Biology Dept., Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, I.R. of IRAN

³ Cellular-Molecular Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Unicellular ciliates including *Paramecium caudatum* can be cultivated in yeast medium. In this research the effect of temperature and medium enrichment on growth and reproduction of the ciliate population was evaluated. The growth of the *P. caudatum* population in the ordinary yeast medium under a range of temperature from 20 to 40°C and enrichment of the medium using both the ions (Ca^{2+} and Mg^{2+}) and the L-Arginine were compared. Based on the results the population of the ciliate 48 h after the cultivation in the ordinary yeast medium increased at a significant level ($p < 0.001$) under 30 °C compared with those of other temperatures. Moreover, the enrichment of the medium with ingredients (Ca^{2+} and Mg^{2+}) especially after adding of L-Arginine under optimum temperature caused more increase in the population of the ciliate to that observed in the ordinary medium ($p < 0.001$). The growth curve of *P. caudatum* in enriched medium under optimum temperature showed 4 phases. A comparison between growth curves of this with that of ordinary medium indicated much upward growth in the enriched one. According to this work an enriched yeast medium under the temperature of 30 °C can be introduced as a suitable artificial medium for cultivation and proliferation of *P. caudatum*.

Keywords: *P. caudatum*, Optimum temperature, Yeast culture medium, Organic and inorganic factors, Growth curve