بکارگیری سه گونه باکتری سودوموناس در مهار شکوفایی جلبک سمی نودولاریا

رضا صفری[۱]– حسن نصراله زاده ساروی[۱] –زهرا یعقوب زاده*[۱]

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، صندوق پستی ۹۶۱، مازندران، ساری

* ایمیل مسئول مکاتبات: Za_yaghoub@yahoo.com

چکیده:

میکروجلبک نودولاریا توانایی شکوفایی جلبکی در آبهای با شوری پائین، لب شور و شور را دارد. شکوفایی جلبکی بعنوان یک مشکل جدی زندگی موجودات آبزی ساکن در حوزه جنوبی دریای خزر را دچار مخاطره خواهد نمود. در این مطالعه، اثر سه گونه باکتری سودوموناس شامل آئروجینوزا، پوتیدا و فلورسانس جداسازی شده از مصب رودخانه تجن بر مهار شکوفایی جلبکی در مقیاس آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تغییرات پارامترهایی نظیر کلروفیل -آ، اکسیژن محلول، فسفات و نیترات نیز همزمان مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که روند تغییرات کلروفیل-آ، اکسیژن محلول و نیترات در تمامی تیمارهای حاوی باکتری خصوصا آئروجینوزا (۶۸٪) و مخلوط باکتریها (۷۱٪) کاهشی بوده و در بیشتر زمان ها نیز معنی دار بوده است ($p<۰/۰۵$) و روند تغییر پارامترهای مذکور در تیمار شاهد تقریبا ثابت بوده است. هر چند که تغییرات فسفات در زمان های مختلف کاهش نسبی بیشتری داشته ولی اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد که در زمانهای مختلف سرعت مصرف فسفات بیش از نیترات بوده است. نتیجه اینکه، میتوان از این گونه ها بعنوان باکتری شاخص در هنگام مهار شکوفایی جلبکی در اکوسیستم بزرگتر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: مهار شکوفایی جلبکی، نودولاریا، سودوموناس، مواد مغذی

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

مقدمه

اثرات منفی فعالیت‌های انسانی در دریای خزر بر سطوح مختلف زیستی، از میکرو ارگانیسم‌ها تا موجودات و ماهیان بزرگ نمایان می گردد. یکی از رویدادهای مهم که عموما" با تغییر فصل در دریا رخ می دهد، رشد و افزایش تعداد گونه های خاصی از فیتوپلانکتون ها (تولید کنندگان اولیه دریا و اولین حلقه از زنجیره‌ی غذایی) می باشد. این رویداد در محیط‌های طبیعی و دست نخورده به نحوی صورت می پذیرد که عدم توازن را در اکوسیستم سبب نمی گردد. اما اضافه شدن عوامل خارجی از جمله فعالیت‌های انسانی (مستقیم و غیر مستقیم) زمینه رشد و تکثیر بیش از حد این فیتوپلانکتون‌ها و یا سایر فیتوپلانکتون-های فرصت طلب را فراهم می کند. از اثرات مستقیم ناشی از فعالیت‌های انسانی میتوان به وارد نمودن فاضلاب‌های کشاورزی، صنعتی و خانگی به دریا اشاره نمود که سبب ورود مواد مغذی اضافی به دریا می گردند. افزایش مواد مغذی سبب اختلال در توازن زیستی شده و پدیده اوتریفیکاسیون در دریا می گردد (Seng, 2001; EPA, 2000).

جلبک‌های سبز-آبی یا سیانوباکترها بصورت طبیعی بخش کوچکی از هر اکوسیستم آبی اعم از شیرین، شور و لب شور را تشکیل می دهند. رشد این گروه درتراکم انبوه (بیش از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ عدد در میلی لیتر) اصطلاحا" شکوفایی جلبکی (bloom) نامیده شده وگاها" ممکن است که تعداد سلولهای جلبک به بیش از یک میلیون در میلی لیتر برسد. شکوفائی جلبکی به رنگ‌های سبز، قهوه ای مایل به زرد و قرمز دیده می شود (Tsaloglou, 2016; Seng, 2001).

شکوفایی جلبکی باعث بروز مشکلات زیست محیطی در اکوسیستم‌های آبی و باعث تغییر در تعادل اکوسیستم می شود. این پدیده زندگی سایر موجودات دریایی را تحت تاثیر قرار میدهد(Kononen, 2001) . مرحله یوتریفیکاسیون در محیط های دریایی زمانی اتفاق می افتد که میزان زیادی از نیتروژن و فسفر که تشکیل دهنده ساختمان آبزی هستند وارد محیط آبی گردد تا سبب رشد جلبک و گیاهان گردد که این شرایط اثرات نامطلوب بر اکوسیستم می گذارد (Bonsdorff *et al.*, 2002). تحقیقات نشان داده که زمانی شکوفایی سیانوباکتر بوقوع می پیوندد که نسبت نیتروژن به فسفر (N/P) کمتر از ۱۶ گردد به بیان دیگر میزان فسفر بیش از نیتروژن باشد (Lucas *et al.*, 2003; Nasrollahzadeh *et al.*, 2011). شایان ذکر است که نه تنها نسبت فوق مهم است، بلکه غلظت کافی این دو عنصر نیز در تشکیل شکوفایی موثر می باشد. علاوه بر فسفرو نیتروژن، عناصر دیگرنظیر آهن و سولفات از پارامترهایی هستند که بر شکوفایی جلبکی تاثیر گذار می باشند. سولفات در غلظت‌های بالا باعث کاهش شکوفایی جلبکی می شود.اهمیت نور و روشنایی بیشتر از دمای آب در جهت بروز شکوفایی جلبک می باشد. هنگامی که نور کافی جهت فرایند فتوسنتز در دسترس باشد، سرعت رشد وتکثیر جلبکی و در نتیجه وقوع شکوفایی افزایش می‌یابد (Stal & Walsby, 2000).

یکی از راههای کنترل بیولوژیک استفاده از میکروارگانیسمها است. میکروارگانیسم‌های مختلف نظیر قارچها، ویروس‌ها، پروتوزئوها و باکتری‌ها بعنوان موجودات بیولوژیک کنترل کننده جلبک مورد استفاده قرارمی گیرند (Elbrachter &

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

(Schnof 1998, Ibelings *et al*., 2004) . استفاده از باکتری به عنوان یک ارگانیسم جهت حذف جلبک در یک محیط طبیعی به میزان تلقیح اولیه باکتری، میزبان‌های موجود، پاسخ به گونه های غیرهدف، روش تولید، پایداری، فرمولاسیون تلقیح، pH، دما و سایر پارامترهای محیطی بستگی دارد (Ahn *et al*., 2003). مطالعات نشان داده که برخی از متابولیت‌های خارج سلولی باکتری‌ها نظیر هیدروکسیل آمیل، فنازین ها، آمینوفنل ها، رامنولیپید، پروتئازها، باسیل آمید، سورفاکتین وسوفورولیپید ویژگی جلبک کشی دارند(Lee *et al*., 2000) . مطالعات مختلفی در خصوص کاهش شکوفایی جلبکی توسط میکروارگانیسمهای مختلف از جمله باکتریها انجام گرفته است. باکتریهای مختلف قادر به مهار رشد جلبک وتخریب ساختمان سلولی آن بوده که از مهمترین جنس های مورد بررسی میتوان به استافیلوکوکوس، باسیلوس و سودوموناس اشاره نمود (Zhao *et al*., 2005). در این میان ،گونه های مختلف سودوموناس جزو باکتریهای شاخص بوده و قادر به حذف جلبکهای مختلف میباشند (Roth *et al*., 2008; Ren *et al*., 2010) . مکانیسم جلبک کشی باکتری بدو صورت مستقیم و غیر مستقیم میباشد. در روش مستقیم اتصال فیزیکی ما بین باکتری و جلبک رخ داده ولی درروش غیرمستقیم ، باکتری با ترشح مواد ضد جلبکی ، اثرات مهارکننده خود را نشان میدهد و به نوعی دیواره جلبک را تحت تاثیر قرار داده و آنرا از بین می برد. تقریبا ۷۰٪ از مکانیسم جلبک کشی باکتریها بصورت غیرمستقیم بوده و ۳۰٪ بصورت اتصال فیزیکی میباشد(Mayali & Azam, 2004; Roth *et al*., 2008).

در مطالعه انجام گرفته توسط Nasrollahzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۱ تاثیر پارامترهای محیطی و تغییرات فصلی بر روند افزایش یا کاهش شکوفایی جلبکی و همچنین پراکنش جلبک های مختلف در هنگام شکوفایی جلبکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین شکوفایی جلبکی در اواسط تابستان و اوایل پائیز رخ داده و گروه سیانوفیت ها بترتیب با بیوماس و فراوانی ۹۶ و ۹۸ درصد جزء جلبک های غالب بودند. در مطالعه انجام شده توسط El-Shehawy و Gorokhova در سال ۲۰۱۳ ، شکوفایی جلبکی ناشی از نودولاریا در دریای بالتیک مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان دادکه این جلبک به لحاظ توانایی تثبیت ازت و متعاقب آن افزایش حجم سالانه نیتروژن در دریا و با مناسب شدن شرایط محیطی، پتانسیل بروز شکوفایی جلبکی را دارا می باشد.

هدف از این تحقیق تاثیر سه گونه سودوموناس با استفاده از پارامترهای محیطی و کلروفیل-آ جهت بررسی اثرات مهار شکوفایی جلبکی در مقیاس آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش کار

جهت ارزیابی روند مهار شکوفایی جلبکی از سه گونه سودوموناس (آئروجینوزا، پوتیدا و فلورسانس) در مقیاس آکواریوم استفاده گردید. پس از رساندن رشد جلبک به فاز لگاریتمی در آکواریوم حاوی محیط کشتBG-11 (در آزمایشات اولیه انجام شده ، تفاوت چندانی ما بین تغییرات رشد نودولاریا در دو محیط Z8 وBG11 مشاهده نگردید)، باکتریها درقالب تیمارهای

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

مختلف و در دو لگاریتم ۷ و ۸ به آکواریوم اضافه شدند. لگاریتم نهایی جلبک جهت رویارویی با باکتری در آکواریوم نیز ۵ در نظر گرفته شد. تیمارهای انتخاب شده شامل سه گونه باکتری بصورت منفرد ، تیمار شاهد و تیمار ترکیبی بوده که با در نظر گرفتن ۳ تکرار برای هر تیمار و دو تراکم برای گونه های سودوموناس، در مجموع ۳۰ آکواریوم در طی دوره ۱۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. تغییرات جلبک از طریق شمارش روزانه با استفاده از لام سدویک رافتر انجام شده بدین ترتیب که ابتدا نمونه ها در فرمالین ۱٪ فیکس شده و با استفاده از لام مذکور و میکروسکوپ نوری، تعداد جلبک شمارش شد. تغییرات سودوموناس نیز با استفاده از نمونه گیری، تهیه رقت و کشت در محیط ستریمید آگار و انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه بمدت ۴۸ ساعت بوده و در نهایت شمارش سودوموناس انجام گرفت (Canelhas, 2011; Su *et al*., 2011). علاوه بر ارزیابی تغییرات میکروبی اعم از جلبک و گونه های سودوموناس، تغییرات کلروفیل-آ، نیترات، فسفات و اکسیژن محلول نیز همگام با اندازه گیری پارامترهای بیولوژیک انجام گرفت روش اندازه گیری پارامترهای مورد اشاره طبق روش استاندارد ارزیابی آب و پساب انجام گرفت (APHA, 2005).

نتایج و بحث

کلروفیل -آ

کلروفیل-آ بعنوان نماینده ای از تراکم جلبک می باشد و ارتباط مستقیم بین روند کاهشی این پارامتر و جمعیت جلبک وجود دارد. نتایج تغییرات کلروفیل -آ در جدول ۱ نشان داد که میزان کلروفیل-آ در زمان صفر در محدوده ۱۶۸ تا ۱۷۱ میکروگرم در لیتر بوده و با گذشت زمان روند کاهشی داشته ولی در تیمار کنترل (شاهد)، میزان کلروفیل-آ تقریبا ثابت بوده است. در بین تیمارهای مورد بررسی، بیشترین روند کاهش کلروفیل-آ مربوط به تیمار ترکیبی و آئروجینوزا بوده است ($p<0.05$). مطالعه Shekoohiyan و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که غلظت کلروفیل-آ در محیطهای کشت حاوی سودوموناس و سیتروباکتر کاهش چشمگیری خصوصا در روزهای ۵ تا ۶ داشته و بر این اساس، کارآیی حذف به ترتیب ۶۳/۵٪ و ۵۶/۵۹٪ تخمین زده شد. در نمونه کنترل (شاهد)، کلروفیل -آ هیچگونه تغییری نداشته است. در نمونه هایی که باکتریها بصورت ترکیبی مورد استفاده قرارگرفتند میزان کارآیی حذف چندان بالا نبوده و در حدود ۲۱/۲۹٪ بوده است. در تحقیق حاضر در روز ششم کارایی حذف در تیمارهای آئروجینوزا، پوتیدا، فلورسانس و ترکیبی به ترتیب برابر ۵۰٪، ۲۹٪ و ۲۴٪ بوده و این تیمارها با مقایسه تحقیق فوق دارای کارایی کمتری بوده است اما تیمار ترکیبی (۵۸٪) تقریبا مشابه بوده است. همچنین در روز دهم و با مقایسه نتایج تحقیقات فوق در می یابیم بیشترین میزان کاهش در تیمارهای آئروجینوزا و ترکیبی به ترتیب با کارایی ۶۸٪ و ۷۱٪ بوده است.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J A C S)

جدول۱ - ارزیابی تغییرات کلروفیل -آ (میکروگرم بر لیتر) در مقیاس آکواریوم در تیمارهای مختلف سه گونه از سودوموناس (لگاریتم ۸) در زمانهای (روز) مختلف

زمان (روز)	تیمارها				
	آئروجینوزا	پوتیدا	فلورسانس	ترکیبی	شاهد
صفر	۱۷۱/۲۲±۲/۲۴aA	۱۶۸/۳۱±۳/۱۶aA	۱۷۱/۱۷±۱/۲۹aA	۱۷۱/۶۳±۱/۴۳aA	۱۶۹/۲۵±۲/۲۱aA
۲	۱۳۰/۳۶±۳/۲۳bD	۱۴۵/۴۵±۲/۱۳bC	۱۵۰/۵۲±۲/۲۲bB	۱۲۱/۵۷±۱/۱۶bE	۱۶۸/۳۳±۲/۲۷aA
۴	۱۰۰/۴۱±۱/۲۳cE	۱۳۶/۲۰±۳/۱۲cC	۱۴۱/۳۱±۲/۱۱cB	۹۳/۳۶±۱/۲۵cD	۱۷۱/۱۷±۲/۱۴aA
۶	۸۵/۴۰±۱/۱۶dD	۱۲۰/۴۵±۱/۲۱dC	۱۳۱/۳۱±۲/۱۳dB	۷۱/۱۷±۱/۳۳dE	۱۷۰/۲۵±۲/۲۷aA
۸	۶۸/۳۲±۱/۳۲eD	۱۱۵/۳۵±۱/۴۵eC	۱۲۴/۱۷±۲/۳۲eB	۶۴/۶۳±۲/۱۷eD	۱۶۷/۴۱±۱/۳۴aA
۱۰	۵۴/۴۱±۱/۴۲fD	۱۱۰/۲۵±۱/۱۹fC	۱۱۷/۱۸±۱/۲۱fB	۵۱/۴۴±۲/۱۲fD	۱۷۰/۲۳±۱/۱۸aA

حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب در ستون و ردیف نشان دهنده ارتباط معنی دار ما بین داده ها می باشد ($p<0.05$)

اکسیژن محلول

نتایج تغییرات اکسیژن محلول در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان اکسیژن محلول در زمان صفر در محدوده ۷/۱۶ تا ۷/۷۵ میلی گرم در لیتر بوده و با گذشت زمان روند کاهشی داشته است. در بین تیمارهای مورد بررسی، بیشترین روند کاهش اکسیژن مربوط به تیمار ترکیبی و آئروجینوزا بوده است. این امر به دلیل استفاده باکتریها از اکسیژن موجود در جهت کاهش جمعیت جلبک بوده است. این باکتریها در گروه باکتریهای هوازی بوده و در حضور اکسیژن رشد بهتری از خود نشان می دهند.

جدول۲- ارزیابی تغییرات غلظت اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر) در مقیاس آکواریوم درتیمارهای مختلف سه گونه از سودوموناس (لگاریتم ۸) در زمانهای (روز) متفاوت

زمان (روز)	تیمارها				
	آئروجینوزا	پوتیدا	فلورسانس	ترکیبی	شاهد
صفر	۷/۱۶±۰/۱۴aA	۷/۳۶±۰/۲۱aA	۷/۷۴±۰/۰۹aA	۸/۶۱±۰/۱۱aA	۷/۷۵±۰/۱۰aA
۲	۴/۵۵±۰/۱۳bC	۶/۴۱±۰/۲۳bB	۶/۴۵±۰/۳۵bB	۴/۳۴±۰/۲۶bD	۷/۴۱±۰/۴۱bA
۴	۳/۲۲±۰/۴۳cD	۴/۴۵±۰/۵۲cB	۴/۳۶±۰/۴۱cC	۳/۲۴±۰/۳۵cD	۶/۳۸±۰/۲۴cA
۶	۲/۵۶±۰/۲۶dD	۴/۳۴±۰/۳۱dC	۴/۴۱±۰/۵۳cB	۲/۳۲±۰/۱۳dE	۶/۴۱±۰/۳۷cA
۸	۲/۳۱±۰/۱۲eD	۴/۴۱±۰/۳۵cB	۴/۳۵±۰/۲۲cC	۲/۲۵±۰/۳۷eE	۵/۸۸±۰/۱۴dA
۱۰	۲/۲۵±۰/۲۲eD	۴/۲۶±۰/۲۹deC	۴/۳۱±۰/۳۱cB	۲/۲۰±۰/۳۲eE	۵/۴۵±۰/۲۸eA

حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب در ستون و ردیف نشان دهنده ارتباط معنی دار ما بین داده ها می باشد **($p<0.05$)**

فسفات

نتایج تغییرات فسفات در جدول۳ نشان داد که میزان فسفات در زمان صفر در محدوده ۲/۶۰ تا ۲/۶۶ میلی گرم در لیتر بوده و در زمان های اولیه روند کاهشی داشته و با گذشت زمان روند تقریبا ثابت بوده است. در بین تیمارهای مورد بررسی، بیشترین روند کاهش فسفات مربوط به تیمار ترکیبی و آئروجینوزا بوده است.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

جدول۳ - ارزیابی تغییرات غلظت فسفات (میلی گرم بر لیتر) در مقیاس آکواریوم درتیمارهای مختلف سه گونه از سودوموناس(لگاریتم ۸) در زمانهای (روز) متفاوت

زمان (روز)	تیمارها				
	آئروجینوزا	پوتیدا	فلورسانس	ترکیبی	شاهد
صفر	۲/۶۵±۰/۱۲aA	۲/۶۰±۰/۱۷aA	۲/۶۵±۰/۱۱aA	۲/۶۳±۰/۱۳aA	۲/۶۶±۰/۱۷aA
۲	۲/۱۶±۰/۱۵bC	۲/۴۶±۰/۲۱bB	۲/۴۴±۰/۲۷bB	۲/۱۴±۰/۱۷bC	۲/۶۵±۰/۳۳aA
۴	۱/۳۱±۰/۱۷cD	۲/۴۵±۰/۳۲bB	۲/۴۲±۰/۱۱bB	۱/۲۶±۰/۲۵cC	۲/۶۴±۰/۳۲aA
۶	۱/۲۹±۰/۲۰cC	۲/۴۲±۰/۳۵bB	۲/۴۰±۰/۳۳bB	۱/۲۵±۰/۲۳cC	۲/۶۴±۰/۳۵aA
۸	۱/۲۹±۰/۲۲cC	۲/۴۰±۰/۳۲bB	۲/۴۰±۰/۲۴bB	۱/۲۴±۰/۲۷cC	۲/۶۵±۰/۱۱aA
۱۰	۱/۲۸±۰/۲۲cC	۲/۳۸±۰/۲۹dbB	۲/۴۰±۰/۳۱bB	۱/۲۴±۰/۳۲cC	۲/۶۵±۰/۲۸aA

حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب در ستون و ردیف نشان دهنده ارتباط معنی دار ما بین داده ها می باشد **(p<0.05)**

نیترات

نتایج تغییرات نیترات در جدول۴ نشان داده شده است. که غلظت نیترات در زمان صفر در محدوده ۲۰/۳۱ تا ۲۱/۲۷ میلی گرم در لیتر بوده و روند تغییرات آن در زمان‌های مختلف کاهشی بوده ولی با این وجود از نظم خاصی تبعیت نکرده است. در بین تیمارهای مورد بررسی، بیشترین روند کاهش نیترات مربوط به تیمار ترکیبی و آئروجینوزا بوده است.

جدول۴- ارزیابی تغییرات غلظت نیترات (میلی گرم بر لیتر) در مقیاس آکواریوم در قالب تیمارهای مختلف سه گونه از سودوموناس (لگاریتم ۸) در زمانهای (روز) متفاوت

زمان (روز)	تیمارها				
	آئروجینوزا	پوتیدا	فلورسانس	ترکیبی	شاهد
صفر	۲۰/۳۱±۱/۴۵aA	۲۱/۱۵±۱/۳۶aA	۲۰/۳۵±۱/۲۵aA	۲۱/۲۷±۱/۲۳aA	۲۰/۳۲±۱/۴۵aA
۲	۱۸/۴۵±۱/۳۲bB	۲۰/۲۵±۱/۱۴aA	۱۹/۳۱±۱/۳۴aA	۱۸/۳۳±۱/۴۳bB	۱۹/۴۱±۱/۲۴aA
۴	۱۵/۵۲±۱/۲۷cB	۱۷/۳۲±۱/۳۶bA	۱۷/۴۱±۱/۱۸bA	۱۴/۳۵±۱/۲۸cB	۱۸/۴۷±۱/۵۱bA
۶	۱۶/۳۶±۱/۲۳cB	۱۷/۱۱±۱/۱۱bA	۱۷/۱۶±۱/۱۳bA	۱۵/۱۸±۱/۲۶cB	۱۸/۲۱±۱/۲۵bA
۸	۱۵/۱۱±۱/۵۲cBC	۱۶/۳۶±۱/۱۲bB	۱۵/۱۲±۱/۱۸cBC	۱۴/۳۶±۱/۳۱cBC	۱۸/۳۶±۱/۱۵bA
۱۰	۱۵/۳۶±۱/۴cB	۱۶/۱۵±۱/۳۱bB	۱۵/۲۵±۱/۵۱cB	۱۴/۶۳±۱/۱۲cBC	۱۸/۱۱±۱/۲۲bA

حروف بزرگ و کوچک متفاوت به ترتیب در ستون و ردیف نشان دهنده ارتباط معنی دار ما بین داده ها می باشد **(p<0.05)**

نسبت Redfield (C106:N16:P1:Si16) در اصل یک سنگ بنای ژئوشیمی زیستی است که رابطه بین اجزائ میکروارگانیزم و شیمی آب را نشان می دهد (Harrison *et al.*, 1977). انحراف در نسبت این مواد مغذی بیانگر محدودیت در تولیدات اولیه (رشد فیتوپلانکتونی) در یک اکوسیستم آبی می باشد. به بیان دیگر نسبت استوکیومتری (stoichiometric) مواد مغذی بر آورد خوبی برای نشان دادن محدودیت رشد فیتوپلانکتون در یک اکوسیستم آبی می باشد (Redfield *et al.*, 1963; Brzezinski, 1985). مطالعه روی سنیتیک جذب مواد مغذی نشان داد که نسبت مولی DIN/DIP<۱۰ نشان دهنده محدودیت نیتروژنی است (Brzezinski, 1985) و اگر DIN/DIP >۲۰-۳۰ نشان دهنده محدودیت فسفری می باشد (Goldman *et al.*, 1979). در تحقیق حاضر نسبت مولی نیتروژن به فسفر (N/P) در

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

محدوده ۹-۴ با توجه غلظت تیمارهای مختلف در جداول ۳ و ۴ بیانگر محدودیت نیتروژنی است به بیان دیگر میزان فسفر محیط اضافه می باشد. جلبک نودولاریا مانند سایر جنس های گروه سیانوفیت، از میکروارگانیسم های تثبیت کننده نیتروژن از اتمسفر بوده و با کاهش نسبت نیتروژن به فسفر، میزان رشد و تکثیر این جلبک افزایش می یابد ولی با این وجود، نودولاریا فسفر را از محیط آبی و به شکل معدنی فسفات مورد استفاده قرار میدهد (Olofsson *et al*., 2016; Hagemann et al., 2019) در تحقیق حاضر در تیمارهای آئروجینوزا و ترکیبی که بیشترین کاهش در غلظت نیترات و فسفات نشان داد (جداول ۳ و ۴). در این دو تیمار کاهش غلظت نیترات از روز چهارم تا دهم در محدوده ۲۶-۱۹ درصد و کاهش فسفات در محدوده ۵۳-۵۰ درصد بوده که بیانگر مصرف بیشتر گونه نودولاریا از فسفات بوده که با نتایج فوق مشابه بوده است.

در تحقیق حاضر پارامترهای شیمیایی در تیمارهای مختلف دارای روند کاهشی بود ولی این روند در خصوص اکسیژن و نیترات در مقایسه با فسفات معنی دار بوده و تغییرات فسفات در طول دوره ۱۰ روز چندان مشهود نبوده است. در مطالعه انجام شده توسط Shekoohiyan و همکاران (۲۰۱۳) مشخص گردید که میزان اکسیژن محلول، فسفات و نیترات در تیمارهای منفرد (سودوموناس، سیتروباکتر، انتروباکتر و کلبسیلا) در مقایسه با تیمار ترکیبی، کاهش بیشتری داشته که با مطالعه حاضر مغایرت دارد. در مقایسه تیمارهای منفرد نیز نتایج متفاوت بوده و در اکثر موارد سودوموناس و سیتروباکتر بهتر از دو جنس کلبسیلا و انتروباکتر بوده ولی با این وجود در تغییرات مربوط به نیترات، دو جنس اخیر نتایج بهتری را نشان دادند. نتایج مربوط به باکتریهای منفرد با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

یافته ترویجی

بر اساس این مطالعه، اولا گونه های مختلف باکتری سودوموناس دارای خواص مهارکنندگی شکوفایی جلبکی می‌باشند و میتوان از آنها در جهت کاهش شکوفایی جلبکی خصوصاً نودولاریا استفاده نمود. ثانیا متعاقب افزایش عملکرد خواص مهارکنندگی شکوفایی جلبکی توسط سودوموناس، تنظیم نسبت های مواد مغذی دارای اهمیت است.

منابع

Ahn, C.Y., Joung, S.H., Jeon, J.W., Kim, H.S., Yoon, B.D. and Oh, H.M., 2003. Selective control of cyanobacteria by surfactin containing culture broth of *Bacillus subtilis* C1. Biotechnology letters. 25: 1137–1142.

APHA. 2005. Standard methods for the examination of water and wastes water. Washington DC, USA: American publication Health Association. 1113 p.

Bonsdorff, E., Ronnberg, C. and Aarnio, K., 2002. Some ecological properties in relation to eutrophication in the Baltic Sea. In Nutrients and Eutrophication in Estuaries and Coastal Waters . Springer, Dordrecht. 475: 371-377.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Brzezinski, M. 1985. The Si:C:N ratio of marine diatoms: interspecific variability and the effect of some environmental variables. Journal of Phycology, 21:347–357.

Canelhas, M.R., 2011. The biocontrol potential of lytic bacteria against cyanobacterial blooms. Degree project in biology, Master of science. Uppsala University.

Elbrächter, M. and Schnepf, E., 1998. Parasites of harmful algae. In: Physiological ecology of harmful algal blooms. NATO ASI Series 41. (Ed D. M.Anderson and A. D.Cembella and G.M. Hallegraeff), Springer, New York. pp 351–369.

El-Shehway, R. and Gorokhova, E., 2013. The bloom-forming cyanobacterium N. *spumigena*: a pecullar nitrogen-fixer in the Baltic Sea food webs. Chapter 3. Cyanobacteria: Ecology, Toxicology, Management, pp 47- 71.

EPA. 1999. Nutrient Criteria Technical Guidance Manual Lakes and Reservoirs.

Goldman, J.C., McCarthy, J.J. and Peavey, D.G., 1979. Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. Nature, 279:210-215.

Hagemann, M., Moke, F., Springer, A., Westermann, L., Frank, M. and Wasmund, N., 2019. Cyanobacterium *Nodularia spumigena* strain CCY9414 accumulates polyphosphate under long-term P-limiting conditions. Aquatic Microbial Ecology, 82:265-274.

Harrison, P. J., Conway, H. L., Holmes, R. W. and. Davis, C. O., 1977. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of three marine diatoms. Marine Biology, 43:19–31.

Ibelings, B.W., Bruin, A.D., Kagami, M., Rijkeboer, M., Brehm, M. and Donk, E.V., 2004. Host parasite interactions between freshwater phytoplankton and chytrid fungi (Chytridiomycota*)*. Journal of Phycology, 40: 437-453.

Kononen, K., 2001. Eutrophication, harmful algal blooms and species diversity in phytoplankton communities:examples from the Baltic Sea. AMBIO, A Journal of the Human Environment, 30:184–190.

Lee, J.C., Hou, M.F. and Huang, H.W., 2013. Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. Cancer Cell International, 13 (55): 1-7.

Lucas, J.S., Patrizia, A., Birgitta, B., Klaus von, B., John, R.G., Paul, K.H., Kaarina, S. and Anthony, E.W., 2003. BASIC: Baltic Sea cyanobacteria. An investigation of the structure and dynamics of water blooms of cyanobacteria in the Baltic Sea-responses to a changing environment. Continental Shelf Research, 23: 1695–1714.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Mayali, X. and Azam, F., 2004. Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms. Journal of Eukaryotic Microbiology, 51: 139-144.

Nasrollahzadeh, H., Makhlough, A., Pourgholam R., Vahedi, F., Qanqermeh, A. and Foong, S.Y., 2011. The study of *Nodularia spumigena* bloom event in the Southern Caspian Sea. Applied Ecology and Environmental Research, 9(2): 141-155

Olofsson, M., 2009. The influence of the cyanobacterium *Nodularia spumigena* on the growth of perch (*Perca fluviatilis*). Degree project work in biology, University of Kalmar.

Olofsson, M., Egardt, J., Singh, A. and Ploug, H., 2016. Inorganic phosphorus enrichments in Baltic Sea water have large effects on growth, carbon fixation, and N2 fixation by *Nodularia spumigena*. Aquatic Microbial Ecology, 77:111-123.

Redfield, A.C., 1963. The influence of organisms on the composition of seawater. The sea, 2: 26-77.

Ren, H., Zhang, P., Liu, C., Xue, Y. and Lian, B., 2010. The potential use of bacterium strain R219 for controlling of the bloom-forming cyanobacteria in freshwater lake. World journal of microbiology & biotechnology., 26(3):465-472.

Roth, P., Twiner, M., Mikulski, C.M., Barnhorst, AB. and Doucette, G.J., 2008. Comparative analysis of two algicidal bacteria active against the red tide dinoflagellate *Karenia brevis*. Harmful Algae, 7(5):682-691.

Seng, L. W., 2001. Water Quality Modeling for Waste loud Allocations and TMDLS. Published simultaneously in Canada. John Wiley & Sons.

Shekoohiyan, S., Mahvi, A.H., Alimohammadi, A., Mesdaghinia, A.R., Nabizadeh, R. and Dabbagh, R., 2013. Performance evaluation of cyanobacteria removal from water reservoirs by biological method. African Journal of Microbiology Research, 7(617): 1729-1734.

Stal, L.J. and Walsby, A.E., 2000. Photosynthesis and nitrogen fixation in a cyanobacterial bloom in the Baltic Sea. European Journal of Phycology, 35: 97–108.

Su, J., Yang, X., Zhou, Z. and Zheng, T., 2011. Marine bacteria antagonistic to the harmful algal bloom species *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) Biological Control, 56:132–138.

Torunska, A., Bolałek. J., Plinski. M. and Mazur-Marzec, H., 2008. Biodegradation and sorption of nodularin (NOD) in fine-grained sediments.Chemosphere, 70(11), pp.2039-2046.

Tsaloglou, M.N., 2016. Microalgae. Current Research and Applications. Caister Academic Press.

Zhao, P., Pu, Y.P. and Yin, L.H., 2005. Development of research on algicidal bacteria and its evaluation. Journal of Southeast University, 24(3):202-206.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Application of three species of *Pseudomonas* bacterium in inhibiting of the *Nodularia* bloom

Reza safari [1] - Hasan Nasrollahzadeh Saravi [1] -Zahra yaghoubzadeh[*1]

1. Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), P.O. Box 961, Sari, Iran

[*] Corresponding author Email: za_yaghoub@yahoo.com

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Abstract

The *Nodularia* microalga has the potential for bloom at low salinity, brackish and saline waters. The algal bloom is endangered as a serious problem of living aquatic organisms in the southern part of Caspian Sea. In this study, the effect of algal bloom inhibition were investigated with three species of *Pseudomonas* spp. including *aeruginosa*, *putida* and *fluorescence*, which were isolated and identified from the estuaries of the Tajan River in basin of the southern of Caspian Sea, in a laboratory scale. Also, fluctuation of chlorophyll-a, dissolved oxygen, phosphate and nitrate were simultaneously evaluated. The results showed that the trend of chlorophyll-a, dissolved oxygen and nitrate were significantly reduced in all treatments containing bacteria, especially *aeruginosa* (68%) and mixture of bacteria (71%) ($p<0.05$) and this trend of the parameters was almost constant in the control treatment. Although, phosphate concentrations decreased relative at different times, but there was no significant difference ($p>0.05$). In addition, the rate of phosphate consumption was higher than nitrate at different times. As a result, these species can be used as indicator bacteria for inhibiting of the algae bloom in a larger ecosystem.

Keywords: Inhibiting algal bloom, *Nodularia*, *Pseudomonas*, nutrients