شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۷، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳
صفحات ۹۲-۸۳

کنترل زیستی عامل شکوفایی سیانوباکتریایی مزارع پروش ماهیان گرمابی با استفاده از باکتری *سودوموناس پوتیدا*

مصطفی علی‌شیری جونقانی[1*]، علیرضا فلاح نصرت آباد[2]، مصطفی آرمنده[3]

۱. دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲. دانشیار موسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۳. دانشجوی دکتری علوم و مهندسی شیلات، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷

چکیده

پدیدهٔ شکوفایی سیانوباکتریایی در سراسر جهان سالیانه خسارات مالی زیاد و جبران‌ناپذیری را به پرورش‌دهندگان ماهی تحمیل می‌کند. یکی از روش‌های مؤثر جهت مدیریت شکوفایی سیانوباکتریایی آب، کنترل زیستی از طریق افزودن عوامل پاتوژن به‌منظور تجزیهٔ سلول‌های سیانوباکتریایی است. بنابراین این مطالعه به بررسی امکان بکارگیری باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) در کنترل شکوفایی سیانوباکتری‌های *Chroococcus* sp.، *Oscillatoria* sp.، *Microcystis* sp. و *Gloeocapsa* sp. جدا شده از استخرهای پرورش ماهیان گرمابی در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد باکتری سودوموناس پوتیدا تأثیر معنی‌داری در کنترل هر ۴ گونه سیانوباکتریایی دارند. به‌طوری‌که تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا با جمعیت 10^6CFU/ml به محیط حاوی سیانوباکتری *Chroococcus* sp. باعث کاهش ۸۰/۷ درصد تودهٔ زیستی و همچنین در گروه حاوی 10^4 CFU/ml این باکتری ۶۳/۱ درصد کاهش نسبت به گروه شاهد در روز دهم نشان داد. همچنین در محیط حاوی سیانوباکتری *Oscillatoria* sp. در روز دهم و در جمعیت 10^4 CFU/ml از باکتری سودوموناس پوتیدا ۷۸/۹ درصد کاهش و در جمعیت 10^6 CFU/ml نیز ۸۷/۷ درصد کاهش رخ داده است. در ادامه، سیانوباکتری *Microcystis* sp. در روز دهم ۶۱/۷ درصد کاهش در گروه حاوی 10^4 CFU/ml و ۷۰/۵ کاهش در گروه حاوی 10^6 CFU/ml باکتری سودوموناس پوتیدا مشاهده شده است. در نهایت برای سیانوباکتری *Gloeocapsa* sp. در گروه آزمایشی حاوی 10^4 CFU/ml کاهش ۷۲/۳ درصدی و در گروه حاوی 10^6 CFU/ml کاهش ۸۳ درصدی مشاهده شد. این در حالی است که گروه آزمایشی شاهد، افزایشی بین ۷۸-۳۷ درصد داشت ($P<0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد باکتری سودوموناس پوتیدا کارایی بالایی جهت کنترل زیستی شکوفایی ناشی از سیانوباکتری‌ها دارد.

واژگان کلیدی: سیانوباکتری، سودوموناس پوتیدا، شکوفایی جلبکی، کنترل شکوفایی سیانوباکتری

* نویسنده مسئول: مصطفی علی‌شیری جونقانی
Email: mostafaalishiri@ut.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 77, No. 1, Spring 2024
pp. 83-92

Biological control of cyanobacterial bloom in fish Culture ponds using *Pseudomonas putida*

Mostafa Alishiri Junaghani[1*], Alireza Fallah Nosratabad[2], Mostafa Armandeh[3]

1. Ph. D graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Karaj, Iran
3. Ph. D Student, Department of Aquaculture, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

Received: 24-Apr-2023 **Accepted: 07-Jan-2024**

Abstract

Cyanobacterial blooms cause huge and irreparable financial losses to fish farmers every year. One of the most effective methods for managing water cyanobacterial bloom is biological control by adding pathogenic agents to break down cyanobacterial cells. Therefore, this study investigated the possibility of using *Pseudomonas putida* bacteria to control the bloom of cyanobacteria *Chroococcus* sp., *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. and *Gloeocapsa* sp., isolated from fish Culture ponds was done in the laboratory. The results of this study showed that Pseudomonas putida bacteria have a significant effect on controlling all 4 cyanobacterial species. So, for the cyanobacterium *Chroococcus* sp. In the experimental group containing 106 CFU/ml of *Pseudomonas putida* bacteria, there was a moderate 80.7% reduction and also in the group containing 10^4 CFU/ml of this bacterium, there was 63.1% reduction compared to the control group models on the 10th day. Also, for the cyanobacterium *Oscillatoria* sp. at the 10th day, 78.9% reduction occurred in 10^4 CFU/ml and 87.7% in 10^6 CFU/ml. Next, for the cyanobacterium *Microcystis s*p. On the tenth day, there was 61.7 percent decrease in the group containing 10^4 CFU/ml and 70.5 percent decrease in the group containing 10^6 CFU/ml of *Pseudomonas putida* bacteria. Finally for the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. A decrease of 72.3% was observed in the experimental group containing 10^4 CFU/ml and an 83% decrease in the group containing 10^6 CFU/ml. Although the control group show an increase of 37-78 percent (P<0.05). The results of this research showed that the bacterium *Pseudomonas putida* has a high efficiency in controlling the bloom of cyanobacteria.

Key words: Cyanobacteria, *Pseudomonas putida*, Algal bloom, Bloom control

∗ Corresponding author: Mostafa Alishiri Junaghani Email: mostafaalishiri@ut.ac.ir

۱. مقدمه

سیانوباکترها عامل شکوفایی اکوسیستم‌های آبی‌اند و قادرند به‌شدت سطح اکسیژن آب را کاهش دهند و این مسئله می‌تواند از چندین روز تا ماه‌ها به طول انجامد (Anderson *et al.*, 2008). همچنین با تولید زیست‌تودهٔ زیاد مانع نفوذ نور به سطوح عمیق‌تر آب می‌شوند و در نتیجه تولیدات طبیعی و مفید اکوسیستم آبی را کاهش می‌دهند (Anderson, 2009). از طرفی دیگر، بسیاری از سیانوباکتری‌ها توانایی تولید سیانوتوکسین داشته و امکان اثرگذاری بر سایر موجودات آبزی را از طریق ترشح سم دارند (Zingone and Oksfeldt Enevoldsen, 2000). با توجه به توانایی بیشتر سیانوباکتری‌ها در استفاده از مواد معدنی نسبت به سایر گروه‌ها، شکوفایی این گروه محتمل‌تر است. افزودن کود به‌خصوص کودهای فسفاته به استخرهای پرورش ماهیان گرمابی باعث غنی‌سازی آب از مواد معدنی مانند فسفر می‌شود که عامل محدودکنندهٔ تولید در آب شیرین است (Boyd, 2002). در نتیجه غنی‌شدن آب در کنار سایر شرایط محیطی مانند افزایش مدت زمان دورهٔ نوری و افزایش دما منجر به شکوفایی سیانوباکتریایی استخر می‌گردد (Padmavathi and Prasad Durga, 2007). پدیدهٔ شکوفایی سیانوباکتریایی در سراسر جهان سالیانه خسارات مالی زیاد و جبران‌ناپذیری را به پرورش‌دهندگان ماهی تحمیل می‌کند (Geohab, 2001). اگر چه تاکنون برای کنترل شکوفایی سیانوباکتریایی در مقایس آزمایشگاهی روش‌های متعددی مانند استفاده از امواج التراسونیک، فیلتراسیون آب، دوغاب خاک رس، ازون، سولفات مس، گونه‌های خاصی از باکتری، انواع زئوپلانکتون‌ها و صدف پیشنهاد شده است، با این حال برخی از این روش‌ها به‌دلیل آلودگی‌های ثانویه، هزینهٔ بالا و یا غیر عملی بودن این روش‌ها قابل استفاده نیستند (Pal *et al.*, 2020). یکی از روش‌های مؤثر جهت مدیریت شکوفایی سیانوباکتریایی آب، کنترل زیستی از طریق افزودن عوامل پاتوژن به‌منظور تجزیهٔ سلول‌های سیانوباکتریایی است (Anderson, 2009). در این میان، نقش باکتری‌ها به‌عنوان یک راهکار عملی جهت کنترل زیستی پیشنهاد گردیده است (Pal *et al.*, 2020). در مطالعات متعدد گونه‌های مختلف جنس سودوموناس (*Pseudomonas*) به‌منظور کنترل شکوفایی جلبکی و سیانوباکتری‌ها مطرح شده‌اند (Roth *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2010; Pal *et al.*, 2020). در این راستا باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) که کارایی حل‌کنندگی فسفات نامحلول آن‌ها نیز به اثبات رسیده است (Armandeh *et al.*, 2018) و به‌عنوان یکی از باکتری‌های شاخص در کنترل شکوفایی معرفی شده است (Zhang *et al.*, 2011). بنابراین این پژوهش با هدف امکان‌سنجی بکارگیری باکتری سودوموناس پوتیدا جهت کنترل شکوفایی سیانوباکتری‌های استخر پرورش ماهیان گرمابی در آزمایشگاه بیولوژی موسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. نمونه‌برداری از آب استخرهای پرروش ماهی

نمونه‌برداری از ۵ استخر پرورش ماهیان گرمابی در استان گیلان، شهرستان رودبار، بخش رحمت‌آباد در مهرماه ۱۴۰۱ انجام شد. ابعاد استخرها ۰/۵ تا ۱ هکتار بود و پرورش چند گونه‌ای در آن‌ها انجام شد. همچنین با توجه به کدورت آب، استخرها بلوم کردند. نمونه‌برداری از هر چهار طرف استخرها و از عمق ۰ تا ۲۰ سانتی‌متری سطح آب انجام شد و پس از اختلاط نمونه‌ها، یک نمونهٔ ۲۵۰ میلی‌لیتری جهت کشت و جداسازی سیانوباکتری‌ها به‌صورت زنده و به دور از نور خورشید در مجاورت یخ به آزمایشگاه گروه بیولوژی موسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور منتقل شد (Kulik, 1995).

۲.۲. جداسازی و شناسایی سیانوباکتری‌ها

جهت تشکیل کلنی‌های اولیهٔ سیانوباکتری‌ها، ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-5} نمونه آب در پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت جامد BG11 به‌مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد و با شدت نور ۲۵۰۰ لوکس با تناوب نوری ۲۴ ساعت روشنایی در گرمخانه نگهداری شدند. بعد از رشد و پیدایش کلنی‌های متفاوت سیانوباکتری‌ها، هر کلنی به‌صورت جداگانه به پتری‌دیش‌های جدید حاوی محیط کشت جامد BG11 منتقل شد و مجدداً به‌مدت ۱۴ روز در شرایط قبلی در گرمخانه نگهداری شدند. در ادامه طی ۳ مرتبه واکشت مشابه شرایط قبل سیانوباکتری‌ها خالص گردیدند. سپس مقداری از هر کلنی در محیط کشت جامد برداشته شد و به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع BG11 تلقیح گردید و به‌مدت ۱۴ روز در اتاقک رشد روی دستگاه تکان‌دهنده (با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه) در دمای ۲۸ درجهٔ

سانتی‌گراد و دورهٔ نوری ۲۴ ساعت روشنایی قرار داده شدند (Johansson and Bergman, 2006).

همچنین جدایه‌های سیانوباکتریایی به روش ریخت‌شناسی، با تهیهٔ لام از کلنی‌های مختلف، با استفاده از میکروسکوپ نوری و کلیدهای شناسایی سیانوباکتری‌ها، مشخصات میکروسکوپی و ماکروسکوپی نمونه‌های مورد نظر شناسایی شدند (John and Museum, 2012; Komárek *et al.*, 2014).

۳.۲. تهیهٔ مایع تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*)

باکتری سودوموناس پوتیدا از کلکسیون باکتریایی گروه بیولوژی موسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردید. این باکتری از رسوبات کف مزرعه پرورش ماهیان گرمابی از نواحی مرکزی استان مازندران با استفاده از ویژگی تشکیل هاله در اطراف کلنی روی محیط کشت اختصاصی NBRIP[1] جداسازی شد و با روش‌های ملکولی شناسایی گردید که اطلاعات آن با شمارهٔ دسترسی MH254940 در بانک جهانی ژن (NCBI) ثبت شده است (Armandeh *et al.*, 2018).

۴.۲. کشت سیانوباکتریایی و آلوده‌سازی با باکتری سودوموناس پوتیدا

جهت بررسی اثر بازدارندگی رشد باکتری سودوموناس پوتیدا بر سیانوباکتری‌های عامل شکوفایی استخرهای پرورش ماهیان گرمابی از ۴ گونه سیانوباکتری شامل *Chroococcus* sp.، *Gloeocapsa* sp.، *Oscillatoria* sp. و *Microcystis* sp. که در تمامی استخرهای شکوفا شده حضور داشتند، به‌صورت جداگانه در محیط کشت مایع BG11 با حجم ۱۵۰ میلی‌لیتر کشت خالص تهیه شد. برای اینکار به محیط ارلن‌های حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون از کشت جوان و در مرحلهٔ رشد تصاعدی[2] به محیط ۱۴۰ میلی-لیتر محیط کشت تلقیح شد (Canelhas, 2011). با رسیدن کشت سیانوباکتریایی به مرحلهٔ رشد تصاعدی بعد از ۶ روز قرارگیری روی انکوباتور شیکردار در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس، دورهٔ نوری ۲۴ ساعت روشنایی و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه، جهت ارزیابی اثر بادارندگی رشد سیانوباکتریایی باکتری سودوموناس پوتیدا، کشت‌های خالص این باکتری با لوگ‌های 10^4 CFU/ml و 10^6 CFU/ml به محیط‌های کشت خالص سیانوباکتری تلقیح شدند و گروه‌های شاهد نیز کشت سیانوباکتریایی هر گونه بدون آلوده‌سازی با باکتری و نیز کشت خالص باکتری سودوموناس پوتیدا در نظر گرفته شدند (Sakine *et al.*, 2013).

در ادامه تمامی گروه‌های آزمایشی و شاهد برای ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد، دورهٔ نوری ۲۴ ساعت روشنایی و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. در طول دورهٔ ۱۰ روزه از هر گروه آزمایشی ۵ مرتبه نمونه‌گیری گردید و پس از تثبیت نمونه‌های سیانوباکتریایی با فرمالین ۴ درصد، تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شمارش گردید. همچنین برای بررسی میزان باکتری سودوموناس پوتیدا در انتهای دورهٔ کشت باکتریایی روی محیط کشت کینگ بی آگاراز هر گروه آزمایشی انجام شد (Canelhas, 2011; Su *et al.*, 2011).

۵.۲. ارزیابی رشد سیانوباکتریایی و باکتری سودوموناس پوتیدا

جهت بررسی و مقایسهٔ میزان زیست‌تودهٔ سیانوباکتری‌های مختلف از روش شمارش با لام نئوبار استفاده شد. در این روش در پایان دورهٔ ۱۴ روزه ۱۰ میکرولیتر از کشت هر گروه آزمایشی روی لام نئوبار ریخته شد و تعداد آن‌ها شمارش شد. همچنین جهت بررسی میزان باکتری در گروه‌های آزمایشی در انتهای دورهٔ ۱۰ روزه ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت هر گروه نمونه‌برداری شد و روی محیط کشت کینگ بی آگار کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت رشد باکتری در دمای ۲۶ درجهٔ سانتی‌گراد تعداد کلنی‌های رشد کرده شمارش گردید (*Zhang et al.*, 2011).

۶.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش براساس طرح فاکتوریل بر مبنای طرح پایهٔ آزمایشی کاملاً تصادفی بود و برای تجزیه و تحلیل آماری متغییرها بین تیمارها و رسم نمودارها به‌ترتیب از نرم‌افزار SPSS-26 و Exel-2016 استفاده شد. پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده

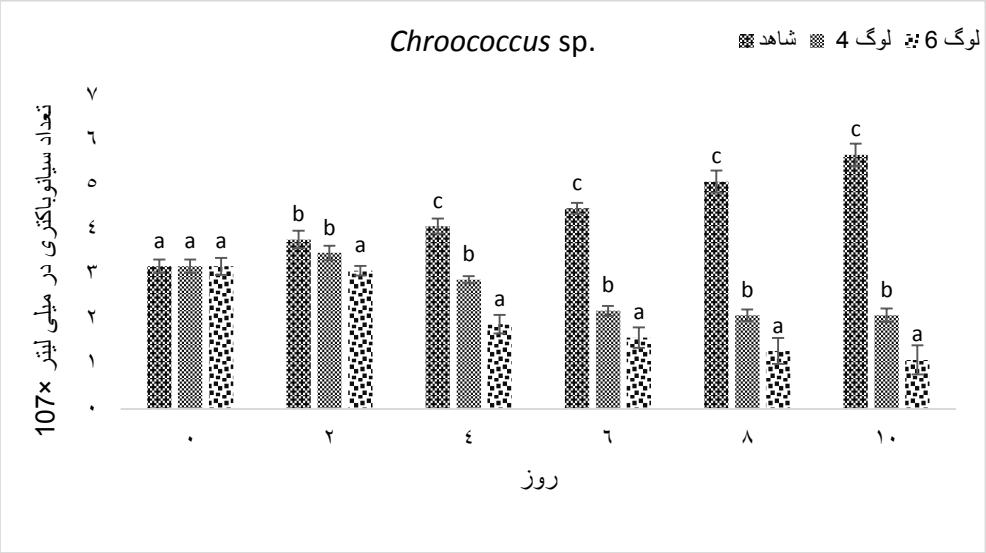
[1]National Botanical Research Institute's Phosphate Growth Medium
[2]Logarithmic growth phase

از آزمون کولموگروف-اسیمرنوف و بررسی همگنی واریانس‌ها در تیمارهای جداگانه با آزمون لون، جهت بررسی اختلاف معنی‌دار ازتجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار به‌منظور مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن (Duncan) استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. ارزیابی اثر بازدارندگی رشد باکتری سودوموناس پوتیدا برجلبک سبز-آبی *Chroococcus* sp.

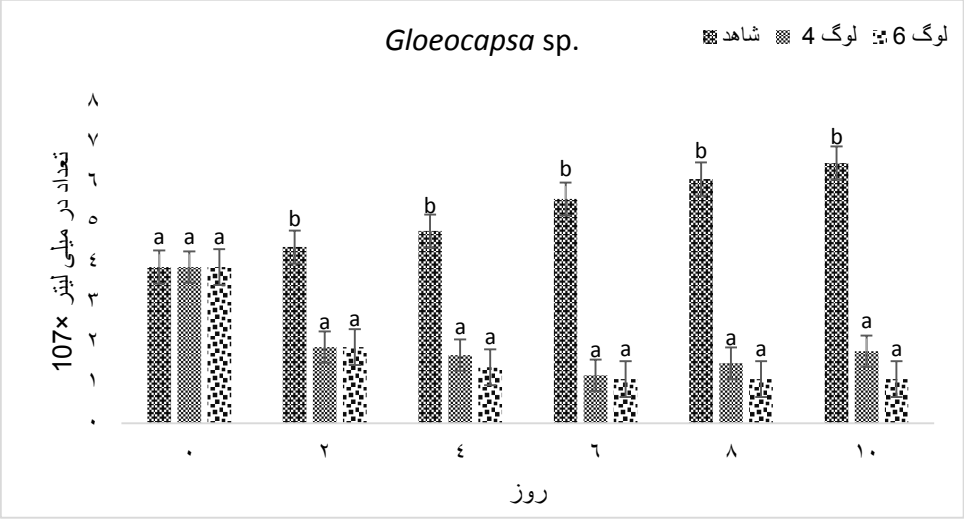
طبق نمودار شکل ۱ رشد سیانوباکتری *Chroococcus* sp. در گروه آزمایشی حاوی 10^6 CFU/ml باکتری سودوموناس پوتیدا از روز دوم تلقیح نسبت به گروه شاهد و گروه آزمایشی حاوی 10^4 CFU/ml روند کاهشی داشته و تا روز دهم این روند ادامه داشته است. اما در گروه آزمایشی حاوی 10^4 CFU/ml باکتری سودوموناس پوتیدا در روز دوم تفاوت معنی‌داری در رشد این گروه نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد، اما از روز چهارم یک روند کاهشی تا روز دهم برای این گروه آزمایشی مشاهده شد. طبق انتظار نیز گروه شاهد به رشد خود تا روز دهم ادامه داد. نتایج نشان داد در گروه آزمایشی حاوی 10^6 CFU/ml باکتری سودوموناس پوتیدا ۸۰/۷ درصد کاهش زیست‌توده و همچنین در گروه حاوی 10^4 CFU/ml این باکتری ۶۳/۱ درصد کاهش نسبت به گروه شاهد در روز دهم رخ داده است. به‌علاوه در گروه شاهد ۷۸/۱ درصد افزایش زیست‌توده نسبت به روز شروع رخ داده است.



شکل ۱- نمودراثر تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا با غلظت‌های مختلف به کشت سیانوباکتری در زمان‌های متفاوت *Chroococcus* sp.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

۲.۳. ارزیابی اثر بازدارندگی رشد باکتری سودوموناس پوتیدا بر *Gloeocapsa* sp.

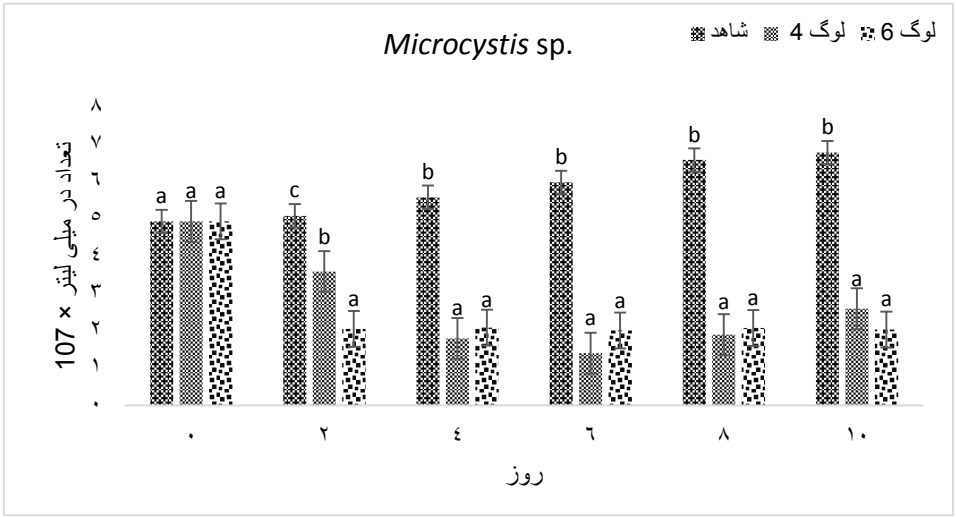
نمودارشکل ۲ حاکی از تأثیر سریع باکتری سودوموناس پوتیدا در هر دو 10^6 CFU/ml و 10^4 CFU/ml بر روند رشد سیانوباکتری *Gloeocapsa* sp. است. در این گروه آزمایشی از روز دوم کاهش چشمگیری رخ داد به‌طوری‌که از روز دوم کاهش ۵۶/۸ درصدی در گروه حاوی 10^4 CFU/ml و ۷۰/۸ درصدی در گروه حاوی 10^6 CFU/ml مشاهده شد. اما این روندکاهشی با روند بسیار آرامتری تا روز دهم ادامه داشت. به‌طوری‌که در روز دهم در گروه آزمایشی حاوی 10^4 CFU/ml کاهش ۷۲/۳ درصدی و در گروه حاوی 10^6 CFU/ml کاهش ۸۳ درصدی مشاهده شد. گروه شاهد نیز نسبت به روز شروع ۶۶/۶ درصد رشد زیست‌توده داشت ($P<0/05$).



شکل ۲- نمودار اثر تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا با غلظت‌های مختلف به کشت سیانوباکتری در زمان‌های متفاوت *Gloeocapsa* sp.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

۳.۳. ارزیابی اثر بادارندگی رشد باکتری سودوموناس پوتیدا بر *Microcystis* sp.

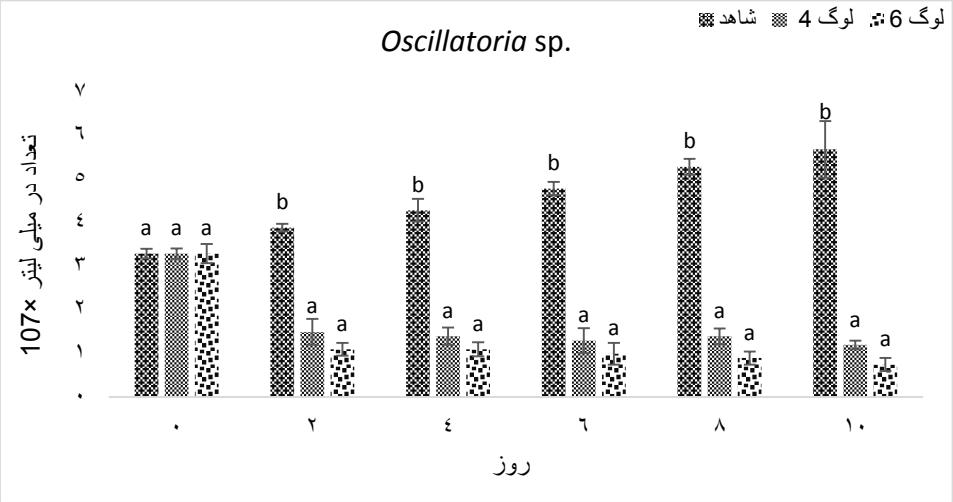
براساس اطلاعات نمودار شکل ۳، کاهش معنی‌دار و قابل توجهی در زیست‌تودهٔ سیانوباکتری *Microcystis* sp. در گروه آزمایشی حاوی 10^6 CFU/ml باکتری سودوموناس پوتیدا در روز دوم رخ داده است و پس از آن این کاهش تقریباً ثابتی تا روز دهم به‌صورت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد ادامه داشته است. اما در گروه حاوی 10^4 CFU/ml هر چند کاهش معنی‌داری در میزان زیست‌تودهٔ سیانوباکتریایی در روز دوم رخ داد، اما این میزان کاهش نسبت به 10^6 CFU/ml کمتر بود و نیز در ادامه یک روند کاهشی معنی‌دار تا روز دهم رخ داد. همچنین به مانند دو سیانوباکتری قبلی، گروه شاهد روند افزایشی خود را تا روز دهم ادامه داد. به‌طوری‌که ۳۸/۸ درصد افزایش رشد زیست‌توده در این گروه رخ داد. همچنین در روز دهم ۶۱/۷ درصد کاهش در گروه حاوی 10^4 CFU/ml و ۷۰/۵ کاهش در گروه حاوی 10^6 CFU/ml باکتری سودوموناس پوتیدا رخ داد ($P<0/05$).



شکل ۳- نمودار میانگین اثر تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا با غلظت‌های مختلف به کشت سیانوباکتری در زمان‌های متفاوت *Microcystis* sp.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

۴.۳. ارزیابی اثر بازدارندگی رشد باکتری سودوموناس پوتیدا بر *Oscillatoria* sp.

در نهایت براساس نمودار ۴، سیانوباکتری *Oscillatoria* sp. همانند سیانوباکتری *Gloeocapsa* sp. یک روند کاهشی معنی‌دار در هر دو CFU/ml ۱۰۴ و CFU/ml ۱۰۶ در میزان رشد و زیست‌توده در روز دوم نشان دادند و این کاهش تا روز دهم ادامه داشت به صورتی که در روز دهم ۷۸/۹ درصد کاهش در CFU/ml ۱۰۴ و ۸۷/۷ درصد در CFU/ml ۱۰۶ رخ داد. درگروه آزمایشی شاهد نیز روند افزایشی تا روز دهم ادامه داشت و ۷۲/۷ درصد افزایش میزان زیست‌توده رخ داد ($P<0/05$).



شکل ۴- نموداراثر تلقیح باکتری سودوموناس پوتیدا با غلظت‌های مختلف به کشت سیانوباکتری در زمان‌های متفاوت *Oscillatoria* sp.
حروف لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

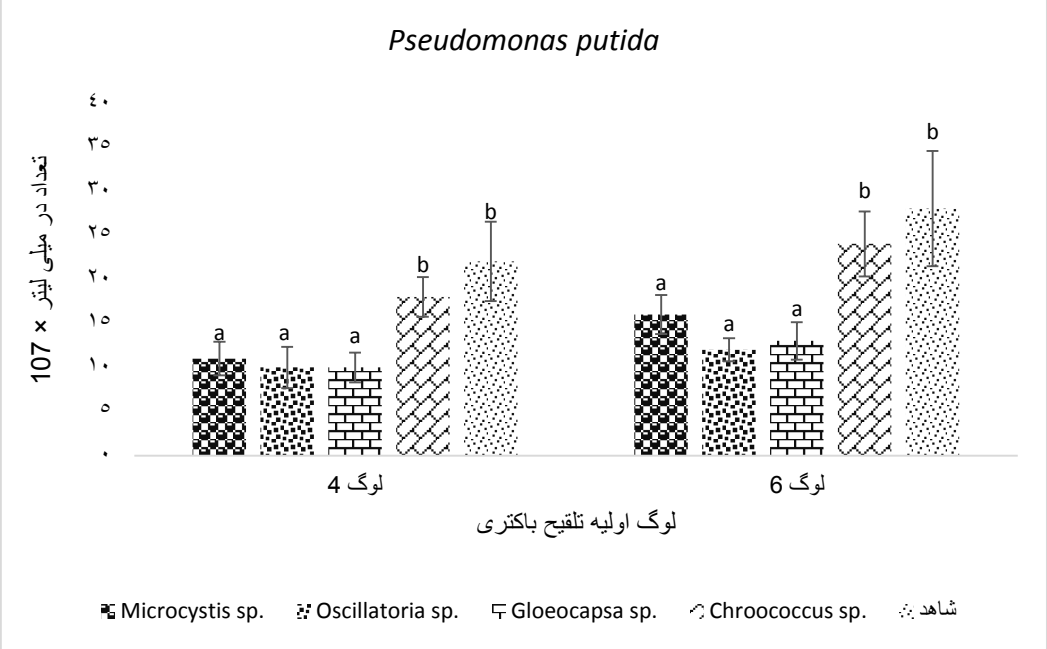
۵.۳. ارزیابی رشد باکتری سودوموناس پوتیدا در گروه‌های آزمایشی مختلف

براساس نمودار شکل ۵، در سه گروه آزمایشی حاوی *Gloeocapsa* sp.، *Oscillatoria* sp. و *Microcystis* sp. باکتری سودوموناس پوتیدا با هر دو CFU/ml ۱۰۴ و CFU/ml ۱۰۶ تلقیح اولیه رشد کمتری را نسبت به گروه شاهد و گروه حاوی سیانوباکتری *Chroococcus* sp. بعد از ده روز داشت و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها با گروه شاهد وجود داشت. اما بین دو گروه شاهد و گروه حاوی *Chroococcus* sp. اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P<0/05$).

۴. بحث

مطالعات متعددی به‌منظور کاهش شکوفایی جلبکی و سیانوباکتریایی به‌وسیلهٔ میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها انجام شده است. باکتری‌های مختلف قادر به مهار رشد سیانوباکتری‌ها و تخریب ساختمان سلولی آن هستند که از مهمترین جنس‌های مورد بررسی می‌توان به استافیلوکوکوس، باسیلوس و سودوموناس اشاره نمود (Safari and Yaghobzadeh, 2020). در این بین، مطالعات زیادی گزارش کرده‌اند که سودوموناس‌ها قابلیت زیادی در حذف جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها دارند (Roth *et al*., 2008; Ren *et al*., 2010). گزارش شده است که باکتری سودوموناس پوتیدا در غلظت‌های CFU/ml ۱۰۷ و CFU/ml ۱۰۸ اثر قابل توجهی در کنترل رشد سیانوباکتری *Nodularin spumigena* دارد (Safari and Yaghobzadeh, 2020). در پژوهش دیگری نیز گزارش شده است که طیف اثرگذاری این باکتری بر سیانوباکتری‌های مختلف وسیع و از ۹۴-۶۲ درصد متفاوت است (Kristyanto and Kim, 2016) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. در این مطالعه باکتری سودوموناس پوتیدا عمدتاً بر هر ۴ گونه سیانوباکتری اثر معنی‌داری در ۴۸ ساعت ابتدایی تلقیح داشت و بررسی تمامی گروه‌های آزمایشی نشان داد در ۹۶ ساعت ابتدایی تمامی سیانوباکتری‌ها روند کاهشی معنی‌داری داشتند ولی در گروه شاهد روند رشد به‌صورت صعودی بود. اثر اصلی

مهارکنندگی رشد باکتری سودوموناس به ترشح مواد ضد میکروبی نسبت داده شده است، به این صورت که مواد مترشحه دارای ماهیت بتاگالاکتوزیدازی هستند و توانایی اثرگذاری بر طیف خاصی از سیانوباکتری‌ها را دارند، اما ممکن است بر جلبک‌های سبز اثر چندانی نداشته باشند (Kim *et al*., 2008).



شکل ۵- نمودارمیزان رشد باکتری سودوموناس پوتیدا در گروه‌های آزمایشی مختلف.
لاتین غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

از مهمترین متابولیت‌های میکروبی تأثیرگذار بر مهار رشد سیانوباکتری‌ها می‌توان به سیدروفورها، سالینوسپورامیدها، هکتوکلرین، باربامید، کوراسین و بریوستاتین اشاره کرد (Giordano *et al*., 2015). با توجه به اینکه سودوموناس پوتیدا قادر است در حضور ۴ گونه از سیانوباکتری‌ها به‌خوبی رشد کند و نیز اثر مهارکنندگی خود را برآن‌ها لحاظ کند، می‌تواند به‌عنوان یک سویه با پتانسیل مناسب در مطالعات مربوط به کنترل زیستی مطرح شود. همان‌طور که قبلاً هم گزارش شده است سودوموناس به‌علت تولید طیف وسیعی از متابولیت‌ها و آنزیم‌های مهارکنندهٔ رشد در شرایط نامناسب زیست‌محیطی، رشد در محیط‌های کشت دارای حداقل مواد غذایی و نیز تنوع میزبان‌های مختلف از اهمیت خاصی برخوردارند (Kim *et al*., 2008). همچنین رشد کمتر باکتری سودوموناس در محیط‌های کشت حاوی سیانوباکتری‌های مختلف را می‌توان به اثرات متقابل و سیانوتوکسین‌های ترشح شده ازآن‌ها نسبت داد. آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق حاکی از آن است که 10^6 CFU/ml از 10^4 CFU/ml عملکرد بهتری در طول دوره دارد، هرچند که عمدتاً تفاوت معنی‌داری در مهار رشد سیانوباکتری‌های مختلف مشاهده نشده است. نتایج این مطالعات با سایر بررسی‌های مشابه مطابقت دارد (Safari and Yaghobzadeh, 2020). این مسئله می‌تواند به‌دلیل رشد باکتری در ساعات ابتدایی تلقیح و رسیدن به غلظت‌های بالاتر و به‌دنبال یکسان باکتری سودوموناس باشد.

۵. نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به داده‌های این پژوهش در مقیاس آزمایشگاهی، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری سودوموناس پوتیدا جدا شده از آب مزارع پرورش ماهیان گرمابی اثر قابل توجهی برکنترل میزان رشد و کنترل زیست‌تودهٔ هر سه سیانوباکتری جدایه از این مزارع دارد. بنابراین در ادامه لازم است تا عملکرد این باکتری پس از تلقیح در مزارع پرورشی ماهیان گرمابی شکوفا شده توسط سیانوباکتری‌های هدف بررسی شود.

۶. تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از موسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور به‌خصوص رئیس بخش و کارشناسان بخش تحقیقات بیولوژی خاک به‌دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

۷. منابع

References

Anderson, D., 2009. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs). *Ocean & Coastal Management* 52(7), 342-347. DOI: 10.1016/j.ocecoaman.2009.04.006

Anderson, D.M., Burkholder, J.M., Cochlan, W.P., Glibert, P.M., Gobler, C.J., Heil, C.A., Kudela, R.M., Parsons, M. L., Rensel, J.E.J., Townsend, D.W., Trainer, V.L., Vargo, G.A., 2008. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States. *Harmful Algae* 8(1), 39–53. DOI: 10.1016/j.hal.2008.08.017

Armandeh, M., Mahmoodi, N., fallah, A.R., 2018. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria from fish farms as a candidate for phosphorus biofertilizer. *Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology* 6th year, 4th issue, pp. 121-140. (In Persian)

Boyd, C. E., 2002. Aquaculture pond bottom Soil quality management. *Spine* 11(6), 525-530.

Canelhas, M.R., 2011. The biocontrol potential of lytic bacteria against cyanobacterial blooms. Master thesis. project in biology science. Biology Education Centre and Limnology department, Uppsala University. Sweden. 41 p.

Geohab., 2001. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms Science Plan. SCOR and IOC press. Baltimore and Paris. 87 p.

Giordano, D., Coppola, D., Russo, R., Denaro, R., Giuliano, L., Lauro, F.M., Prisco, G., Verde, C., 2015. Marine Microbial Secondary Metabolites: Pathways, Evolution and Physiological Roles. *Advances in Microbial Physiology* 66, 357-428. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2015.04.001

Johansson, C., Bergman, B., 2006. Reconstitution of the symbiosis of Gunnera manicata Linden: Cyanobacterial specificity. *New Phytologist* 126(4), 643-652. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb02960.x

John, D.M., Museum, N.H., 2012. The Freshwater algal flora of the British Isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae. British Phycological Society Cambridge University Press. pp. 25-702.

Kim, M.J., Jeong, S.Y., Lee, S.J., 2008. Isolation, identification, and algicidal activity of marine bacteria against Cochlodinium polykrikoides. *Journal of Applied Phycology* 20(6): 1069-1078. DOI: 10.1007/s10811-008-9312-x

Komarek, J., Kastovsky, J., Mares, J., Johansen, J.R., 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (Cyanobacterial genera) using a polyphasic approach. *Preslia* 86(4), 295-335.

Kristyanto, S., Kim, J., 2016. Isolation of marine algicidal bacteria from surface seawater and sediment samples associated with harmful algal blooms in Korea. *Korean Journal of Microbiology* 52(1), 40-48.

Kulik, M.M., 1995. The potential for using cyanobacteria (blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. *European Journal of Plant Pathology* 101(6), 585-599. DOI: 10.1007/BF01874863

Padmavathi, P., Prasad-Durga, M.K., 2007. Egular Aper. *Regular Paper* 24, 32-43.

Pal, M., Yesankar, P. J., Dwivedi, A., Qureshi, A., 2020. Biotic control of harmful algal blooms (HABs): A brief review. *Journal of Environmental Management* 268 April, 110687.

Ren, H., Zhang, P., Liu, C., Xue, Y., Lian, B., 2010. The potential use of bacterium strain R219 for controlling of the bloom-forming cyanobacteria in freshwater lake. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26(3), 465-472. DOI: 10.1007/s11274-009-0192-2

Roth, P.B., Twiner, M.J., Mikulski, C.M., Barnhorst, A.B., Doucette, G.J., 2008. Comparative analysis of two algicidal bacteria active against the red tide dinoflagellate Karenia brevis. *Harmful Algae* 7(5), 682-691. DOI: 10.1016/j.hal.2008.02.002

Safari, R., Yaghobzadeh, Z., 2020. Evaluation of the anti-algae activity of Pseudomonas isolates against the cyanobacterium *Nodularia spumigena* on a laboratory scale. *Iran Scientific Journal of Fisheries* 30, 187-193. (In Persian)

Sakine, S., Amir, H.M., Mahmood, A., Ali, R.M., Ramin, N., Reza, D., 2013. Performance evaluation of cyanobacteria removal from water reservoirs by biological method. *African Journal of Microbiology Research* 7(17), 1729-1734.

Su, J., Yang, X., Zhou, Y., Zheng, T., 2011. Marine bacteria antagonistic to the harmful algal bloom species Alexandrium tamarense *(Dinophyceae)*. *Biological Control*, *56*(2), 132–138.

Zhang, H., Yu, Z., Huang, Q., Xiao, X., Wang, X., Zhang, F., Wang, X., Liu, Y., Hu, C., 2011. Isolation, identification and characterization of phytoplankton-lytic bacterium CH-22 against *Microcystis aeruginosa*. *Limnologica* 41(1), 70-77. DOI: 10.1016/j.limno.2010.08.001

Zingone, A., Enevoldsen, H., 2000. The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management. *Ocean and Coastal Management* 43(8), 725-748. DOI: 10.1016/S0964-5691(00)00056-9