

## یافته علمی کوتاه:

## ارزیابی فعالیت ضد جلبکی جدایه‌های *Pseudomonas* در مقابل سیانوباکتری *Nodularia spumigena* در مقیاس آزمایشگاهی

رضا صفری\*<sup>۱</sup>، زهرا یعقوب زاده<sup>۱</sup>

\*safari1351@gmail.com

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

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۷

**لغات کلیدی:** شکوفایی جلبک مضر HAB، *Nodularia*، *Pseudomonas*، کنترل زیستی

### مقدمه

همانند مواد آلی به عنوان منابع غذایی استفاده کنند. لذا، شکوفایی سیانوفیتی در شرایط مناسب (دما، مواد مغذی، دوره‌های نوری و طیف نور) بیش از سایر گروه‌های جلبکی، اکوسیستم‌های آبی را تهدید می‌کند (Maldonado Garcia, 2018). باکتری‌های آبی دارای پتانسیل کاهش بلوم‌های جلبکی هستند و مطالعات مختلفی در این زمینه انجام شده است (Kang et al., 2013; Seong and Jeong, 2008). جنس‌های مختلف نظیر *Bacillus*، *Alteromonas*، *Alcaligenes* و *Cytophaga*، *Flavobacterium*، *Pseudomonas* و *Xanthomonas* به عنوان باکتری‌های شاخص کنترل‌کننده مورد استفاده قرار گرفتند (Mulderij et al., 2006; Kim et al., 2008; Wang et al., 2010). هدف از این تحقیق استفاده از گونه‌های مختلف سودوموناس به منظور کاهش جلبک نودولاریا در مقیاس آزمایشگاهی بوده است.

دریای خزر از نظر شیلاتی، اقتصادی و تجاری، اقلیمی و بوم‌شناختی دارای اهمیت زیادی است. اما حفظ سلامت محیط زیست و آبریان آن زیاد مورد توجه قرار نگرفته است و فعالیت‌های انسانی اعم از صنعتی، کشاورزی به صورت متمرکز و غیر متمرکز بدون تقریباً هیچ‌گونه ضوابطی در اطراف آن یا در دریا صورت می‌گیرد. در نتیجه، وضعیت زیستی و غیر زیستی آن را به‌جایی رسانده است که عزم ملی و منطقه‌ای را در جهت پیشگیری و توقف اثرات منفی اعمال شده بر آن طلب می‌کند (Nasrollahzadeh et al., 2011). علل افزایش مواد مغذی ممکن است از منابع خارجی (ورودی رودخانه‌ها و مصب‌ها) یا داخلی (متلاشی شدن و رسوب توده‌های مختلف سلولی) باشد (مخلوق و همکاران، ۱۴۰۰). در تمامی دنیا ارتباط قوی بین افزایش مواد مغذی و ازدیاد وقوع انواع خاصی از گونه‌های مضر جلبک<sup>۱</sup> مشاهده می‌شود (زرشناس و همکاران، ۱۳۹۳). برخی از جلبک‌ها نظیر *Cyanobacteria* می‌توانند از مواد معدنی نیز

<sup>۱</sup> Harmful algal blooms

## مواد و روش کار

نمونه‌برداری از عمق ۵ سانتی‌متری مصب رودخانه تجن و با استفاده از شیشه‌های در سمباده‌ای استریل انجام گردید. نمونه‌ها در مجاورت زنجیره سرد به آزمایشگاه انتقال یافتند و پس از آماده‌سازی اولیه و تهیه رقت‌های متوالی در محیط‌های کشت کینگ آگار بیس و ستریمید آگار به صورت سطحی کشت داده شدند و در دمای ۳۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. کلنی‌هایی با پیگمان سبز - آبی و سبز - زرد انتخاب و جهت انجام تست‌های اولیه و نیز تست‌های بیوشیمیایی مورد آزمایش قرار گرفتند و در نهایت با استفاده از کتاب مرجع Bergy جنس و گونه سودوموناس شناسایی گردید (Breed et al., 1957; Shekoohiyan et al., 2013).

سه گونه مورد نظر جهت آزمایش‌های مهار جلبک *Pseudomonas aeruginosa* *P. putida* و *P. fluorescens* بودند. هنگام انجام تست‌های بیوشیمیایی از سوش‌های استاندارد به منظور تأیید آزمایش‌ها استفاده شد. دو گونه آئروجینوزا (*Pseudomonas aeruginosa* PTCC 1570 و پوتیدا (*P. putida* PTCC 1694) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و گونه سودوموناس فلورسانس نیز از انستیتو پاستور ایران تهیه گردیدند.

استوک جلبک نودولاریا از مرکز ملی ذخایر ژنتیک و زیستی ایران تهیه گردید. آزمایش‌های مربوط به کشت جلبک و رویارویی باکتری و جلبک نیز در آزمایشگاه میکروبیولوژی انجام گرفت. به منظور کشت جلبک نودولاریا از محیط کشت BG-11 مدیوم (Blue Green medium) از شرکت مرک استفاده شد. پس از کشت اولیه جلبک در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری و هوادهی ملایم و نیز نوردهی متناوب (۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی)، نمونه‌ها به ارلن یک لیتری انتقال داده شدند. در این مرحله، نمونه‌ها با نوردهی متناوب به میزان ۴۰ میکرومول فوتون در مترمربع در ثانیه، شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه و pH= ۷/۵ به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۰ درجه قرار داده شدند (Breed et al., 1957; Shekoohiyan et al., 2013).

پس از کشت خالص از کلنی‌های سودوموناس، نسبت به آماده‌سازی آنها در محیط کشت تریپتیک سوی برات (Tryptic Soy broth) اقدام شد. بدین ترتیب، ابتدا کشت اولیه باکتری در محیط مذکور انجام شد. سپس در دمای ۳۰ درجه به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شده (۱۵۰ دور در دقیقه) و پس از رساندن باکتری به فاز لگاریتمی، عمل سانتریفوژ در دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. پس از دور ریختن مایع رویی، به رسوب حاصله بافر فسفات اضافه شد و عمل سانتریفوژ برای ۳ بار تکرار گردید. به رسوب نهایی حاصله مقداری بافر فسفات اضافه گردید و سپس با لوله ۰/۵ مک فارلند مقایسه شد که معادل  $10^8 \times 1/5$  سلول باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد (Canelhas, 2011; Su et al., 2011).

جهت ارزیابی روند ضد جلبکی سه گونه سودوموناس، کشت جلبک در مقیاس آکواریوم انجام شد. پس از رساندن رشد جلبک به فاز لگاریتمی در آکواریوم حاوی محیط کشت BG-11، باکتری‌ها در قالب تیمارهای مختلف و در دو لوگ  $10^7$  CFU/ml و  $10^8$  CFU/ml به آکواریوم اضافه شدند. لوگ نهایی جلبک جهت رویارویی با باکتری در آکواریوم نیز ۵ در نظر گرفته شد. تغییرات جلبک از طریق شمارش روزانه با استفاده از لام سدویک رافت انجام شد. بدین ترتیب، ابتدا نمونه‌ها در فرمالدئید ۱٪ فیکس شدند و با استفاده از لام مذکور و میکروسکوپ نوری، تعداد جلبک‌ها شمارش شد. تغییرات سودوموناس نیز با استفاده از نمونه‌گیری، تهیه رقت و کشت در محیط ستریمید آگار و انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت بود و در نهایت شمارش سودوموناس انجام گرفت (Jung et al., 2008; Su et al., 2011; Canelhas, 2011).

جهت کشت دو لایه ابتدا ۰/۱ میلی لیتر از جلبک نودولاریا (فاز رشد لگاریتمی معادل لوگ ۵) به صورت پورپلیت در محیط کشت BG-11 آگار کشت داده شد. محیط مذکور به مدت ۳-۴ روز در دمای ۲۰ درجه انکوبه شد و هر ۱۲ ساعت متناوب در مقابل روشنایی و تاریکی قرار گرفت. پس از رشد جلبک، ۰/۰۱ میلی لیتر از سوسپانسیون گونه‌های سودوموناس که در فاز رشد

جلبک، بود.

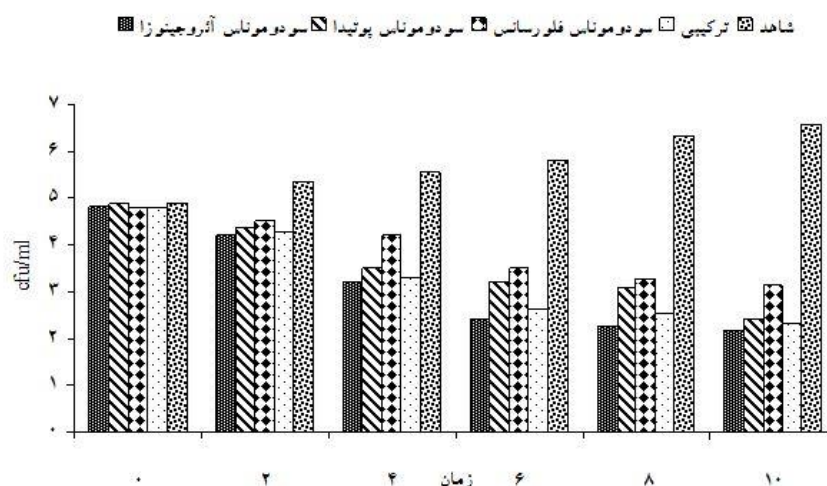
### نتایج

**نتایج روبرویی باکتری و جلبک در مقیاس آکواریوم**  
 نتایج شکل ۱ نشان‌دهنده آن است که رشد و تکثیر جلبک نودولاریا در حضور سه گونه سودوموناس و نمونه ترکیبی حاوی سه گونه در لوگ ۸، روند کاهشی داشته در صورتی که در نمونه شاهد، جلبک دارای روند رشد صعودی بوده است. در بین تیمارهای مورد بررسی، روند کاهش جلبک به ترتیب آئروجینوزا < ترکیبی < پوتیدا < فلورسانس بوده است. نتایج به دست آمده در تمامی زمان‌ها به جز زمان‌های ۶ و ۸ معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ).

لگاریتمی قرار داشتند، به صورت نقطه‌ای در پلیت حاوی جلبک کشت داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه انکوبه شد و نقاط عدم رشد جلبک مشخص شدن (Jung et al., 2008; Canelhas, 2011; Su et al., 2011).

### روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. به منظور مقایسه میانگین تیمارها و بررسی روند رشد باکتری و جلبک در فواصل زمانی مختلف از روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن استفاده شده و ارزش P با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات مورد بررسی در این تحقیق تغییرات باکتری و

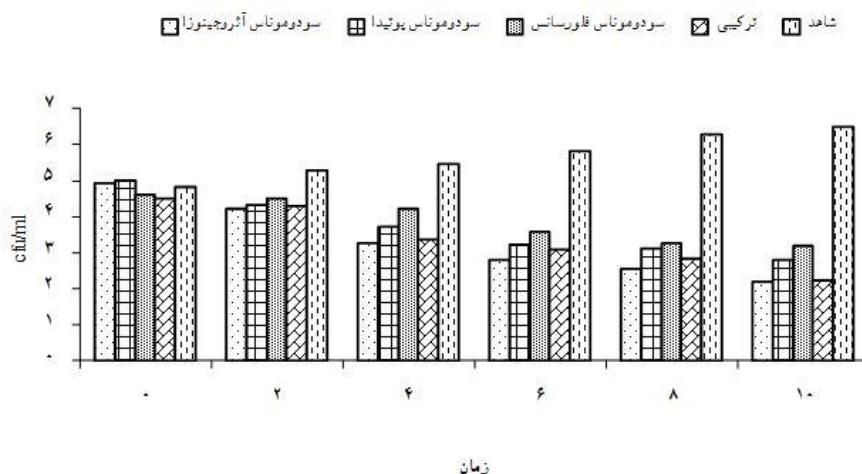


شکل ۱: ارزیابی تغییرات جلبک نودولاریا در مقیاس آکواریوم در قالب تیمارهای مختلف سه گونه از سودوموناس (لوگ ۸) در زمان‌های متفاوت

Figure 1: Evaluation of changes in nodular algae at the aquarium scale in the form of different treatments of three species of Pseudomonas (Log 8) at different times

داده‌های مورد نظر وجود نداشته است. در بین تیمارهای مورد بررسی، روند کاهش جلبک به ترتیب آئروجینوزا < ترکیبی < پوتیدا < فلورسانس بوده است. نتایج به دست آمده در تمامی زمان‌ها به جز زمان‌های ۶ و ۸ معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ).

نتایج شکل ۲ نشان می‌دهد که رشد و تکثیر جلبک نودولاریا در حضور سه گونه سودوموناس و نمونه ترکیبی حاوی سه گونه در لوگ ۷، روند کاهشی داشته در صورتی که در نمونه شاهد، جلبک دارای روند رشد صعودی بوده است. به طور کلی، روند تغییرات در لوگ ۸ گونه‌ها بهتر از لوگ ۷ بوده ولی هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین



شکل ۲: ارزیابی تغییرات جلبک نودولاریا در مقیاس آکواریوم در قالب تیمارهای مختلف سه گونه از سودوموناس (لوگ ۷) در زمان‌های متفاوت

Figure 2: Evaluation of changes in nodular algae at the aquarium scale in the form of different treatments of three species of Pseudomonas (Log 7) at different times

انجام گرفته است. باکتری‌های مختلف قادر به مهار رشد جلبک و تخریب ساختمان سلولی آن هستند که از مهم‌ترین جنس‌های مورد بررسی می‌توان به استفیلوکوکوس، باسیلوس و سودوموناس اشاره نمود (Mayali and Azam, 2004; Zhao et al., 2005) این میان، گونه‌های مختلف سودوموناس جزء باکتری‌های شاخص هستند و قادر به حذف جلبک‌های مختلف می‌باشند (Roth et al., 2008; Ren et al., 2010).  
 Kristyanto و Kim (۲۰۱۶) گزارش کردند که باکتری‌های مختلف مثل *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Vibrio*، *Pseudoaltromonas* و *Porphyrobacteria* قادر به کاهش جمعیت جلبک‌هایی نظیر *Chattonella*، *Skeletonema*، *Heterosigma*، *Prorocentrum* و *Scrippsiella*، *Cochlidinium* هستند و دامنه اثرات مهار کننده آنها ۶۲-۹۴ درصد متغیر بوده است. در این میان بیشترین باکتری موثر، سودوموناس (۲۶ سویه) بوده که در روش دو لایه بیشترین اثرات ضد جلبکی را نشان داده است. نتایج تحقیق مذکور با تحقیق حاضر همخوانی داشت و حاکی از اثرات ضد جلبکی هر سه گونه سودوموناس مورد استفاده در مدت ۶ ساعت در روش کشت دو لایه بوده است، ولی با این وجود

## نتایج رویارویی باکتری و جلبک در محیط کشت دو لایه

نتایج آزمایش‌های اثر مهارکنندگی گونه‌های سودوموناس بر جلبک نودولاریا در محیط کشت BG-11 نشان داد که هنگام استفاده از ترکیب باکتری‌ها و گونه سودوموناس آئروجینوزا، هیچ‌گونه رشدی از جلبک مشاهده نشد و با طولانی‌تر کردن زمان انکوباسیون، روند مذکور ادامه داشت و به‌نوعی اشاره به خاصیت جلبک‌کشی گونه آئروجینوزا و نیز اثر سینرژیسمی هنگام استفاده ترکیبی گونه‌ها داشته است. همچنین نتایج نشان داد، زمانی که از دو گونه فلورسانس و پوتیدا استفاده می‌شود، هر چند که هاله عدم رشد اولیه بعد از پایان دور انکوباسیون مشاهده شد، ولی با این وجود پس از طولانی‌تر کردن دوره نگهداری، رشد مجدد جلبک به آرامی صورت می‌گیرد. این واکنش نشان‌دهنده آن است که دو گونه اخیر دارای خاصیت مهارکننده جلبک نودولاریا هستند و ممکن است جلبک مجدداً توانایی رشد را کسب نماید.

## بحث

مطالعات مختلفی در خصوص کاهش شکوفایی جلبکی به‌وسیله میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها

در این مطالعه از گونه‌های مختلف سودوموناس استفاده شده است. سودوموناس به علت تولید طیف وسیعی از متابولیت‌ها و آنزیم‌های مهارکننده، رشد در شرایط نامناسب زیست محیطی، رشد در محیط‌های کشت دارای حداقل مواد غذایی و نیز تنوع میزبان‌های مختلف از اهمیت خاصی در مطالعات بیولوژیک برخوردار می‌باشد. Kang و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که باکتری‌هایی که قادر به رشد در حضور میزبان‌های متفاوت هستند و در شرایط موجود نیز دارای توانایی تولید آنزیم‌های مختلف می‌باشند، نسبت به سایر باکتری‌ها پتانسیل بالاتری دارند و به عنوان سویه‌های مناسب در آزمایش‌های کنترل بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات Yamamoto و همکاران (۱۹۹۳) نشان داد که برخی از سویه‌های سودوموناس دارای اثرات مهارکننده بر سیانوباکترها می‌باشند. Kodani و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که سودوموناس سویه K44-1 دارای اثرات بسیار بالای ضد جلبکی است و باعث مهار رشد سیانوباکترها می‌شود. سودوموناس پوتیدا دارای اثرات ضد جلبکی بر علیه دیاتومه *Stephanodiscus* و جلبک سبز-آبی میکروسیستیس می‌باشد (Kang et al., 2008). در مطالعه حاضر نیز گونه پوتیدا دارای اثرات مهارکننده بر نودولاریا بوده و بعد از تیمارهای ترکیبی و آئروجینوزا و بالاتر از فلورسانس قرار داشته است. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان اذعان کرد که گونه‌های مختلف سودوموناس دارای اثرات مهارکننده بر جلبک نودولاریا می‌باشند. جهت استفاده از باکتری‌های جدا شده در مقیاس بزرگتر، ابتدا با استفاده از تست‌های مولکولی بایستی گونه و سویه‌های سودوموناس مورد تأیید نهایی قرار گیرند و در مرحله بعد، پس از تأیید خواص هم‌افزایی و سینرژیسمی گونه‌های جدا شوند، می‌توان از آنها به صورت استوک‌های ترکیبی یا کنسرسیوم، در مقیاس‌های بزرگتر و در مکان‌هایی که بلوم جلبکی رخ می‌دهد، استفاده نمود.

#### منابع

زرشناس، غ. ع.، مطلبی، ع. ع.، محسنی زاده، ف.، دهقان، س.، سراجی، ف. و روحانی، ک. ۱۳۹۳.

گونه آئروجینوزا و تیمار ترکیبی بهتر از سایر تیمارها نشان دادند. اثر تیمارهای اخیر بر جلبک نودولاریا در روش کشت دولایه به صورت جلبک‌کشی بوده در صورتی که در سایر تیمارها به شکل مهارکننده جلبک بوده است. مطالعه Kim و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که سودوموناس فلورسانس باعث مهار رشد جلبک *Cochlodinium polykrikoides* شده بود که با مطالعه حاضر و گونه فلورسانس همخوانی داشت، ولی اثرات مهارکنندگی کمتر از نمونه گزارش شده از Kim و همکاران (۲۰۰۸) بوده و علت اصلی اثرات مهارکننده سودوموناس فلورسانس، ترشح ماده ضد میکروبی بوده است و اثرات خود را به صورت غیر مستقیم نشان می‌دهد. مواد مترشحه دارای ماهیت بتاگلاکتوزیدازی هستند و ممکن است بر سایر گونه‌های جلبکی تاثیر چندانی نداشته باشند (Kim et al., 2008).

اثرات جلبک‌کشی باکتری‌ها، علاوه بر متابولیت‌های مترشحه، به فاز رشد باکتری (سکون، لگاریتمی و ثابت) آنها بستگی دارد به‌طوری‌که میزان تولید متابولیت‌های اولیه در فاز رشد لگاریتمی بیشتر از ثابت می‌باشد. در فاز سکون فقط متابولیت‌های ثانویه تولید می‌شوند و در سایر فازها تولید نمی‌شوند (Kim et al., 2008). از مهم‌ترین متابولیت‌های میکروبی می‌توان به انواع سیدروفورها، سالینوسپورامیدها، هکتوکترین، باربامید، کوراسین و بریوستاتین اشاره نمود (Giordano et al., 2015). علاوه بر متابولیت‌های مختلف باکتریایی، غلظت و لوگ باکتری‌های مورد استفاده نیز از پارامترهای مهم در افزایش اثرات ضد جلبکی می‌باشند (Seong and Jeong, 2013). آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق حاکی از آن است که لوگ ۸ نسبت به لوگ ۷ دارای تاثیر بیشتری بوده که دارای روندی مشابه با مطالعه Seong و Jeong (۲۰۱۳) می‌باشد. یکی از تیمارهای مورد نظر در این مطالعه، استفاده از مخلوط باکتری‌ها به منظور ارزیابی اثرات مهارکننده بر جلبک نودولاریا بوده است. نتایج نشان داد که هنگام استفاده از مخلوط گونه‌های سودوموناس، روند کاهش جلبک به طور معنی‌داری بهتر از سایر تیمارها به‌جز تیمار آئروجینوزا بوده است.

- Kang, Y.K., Cho, S.Y., Kang, Y.H., Katano, T., Jin, E.S., Kong, D.S. and Han, M.S., 2008.** Isolation, identification and characterization of algicidal bacteria against *Stephanodiscus hantzschii* and *Peridinium bipes* for the control of freshwater winter algal blooms. *Journal of Applied Phycology*, 20(4):375-386.  
DOI:10.1007/s10811-10007-19267-10813.
- Kim, M.J., Jeong, S.Y. and Lee, S.J., 2008.** Isolation, identification, and algicidal activity of marine bacteria against *Cochlodinium polykrikoides*. *Journal of Applied Phycology*, 20(6):1069-1078.
- Kodani, S., Imoto, A., Mitsutani, A. and Murakami, M., 2002.** Isolation and identification of the antialgal compound, harmane (1-methyl- $\beta$ -carboline), produced by the algicidal bacterium, *Pseudomonas* sp. K44-1. *Journal of Applied Phycology*, 14(2):109-114.
- Kristyanto, S. and 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.
- Maldonado Garcia, G., 2018.** Harmful Algal Blooms in the Face of Climate Change (Doctoral dissertation).
- Mayali, X. and Azam, F., 2004.** Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms 1. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2):139-144.  
DOI:10.1111/j.1550-7408.2004.tb00538.x
- بررسی شکوفایی جلبکی مضر (کشند قرمز) *Cochlodinium polykrikoides* در آبهای خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳ (۴): ۴۹-۶۰.  
DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110176
- مخلوق، آ.، نصراله زاده ساروی، ح.، روحی، ا.، آقایی مقدم، ع. ع. و کیهان ثانی، ع.، ۱۴۰۰. تعیین پتانسیل شکوفایی جلبکی و کیفیت آب بر اساس غلظت کلروفیل-آ، تراکم و زی توده فیتوپلانکتون در مناطق ساحلی حوزه جنوبی دریای خزر (۹۸-۱۳۹۷). مجله علمی شیلات ایران، ۳۰ (۱): ۹۳-۱۰۵.  
URL: <http://isfj.ir/article-1-2410-fa.html>
- Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Smith, N.R., 1957.** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, the Williams and Wilkins Co. Baltimore, American Society of Microbiology.
- Canelhas, M.R., 2011.** The biocontrol potential of lytic bacteria against cyanobacterial blooms. Degree project in biology, Master of science. Uppsala University.
- Giordano, D., Coppola, D., Russo, R., Denaro, R., Giuliano, L., Lauro, F.M., di Prisco, G. and 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
- Jung, S.W., Kim, B.H., Katano, T., Kong, D.S. and Han, M.S., 2008.** *Pseudomonas fluorescens* HYK0210-SK09 offers species-specific biological control of winter algal blooms caused by freshwater diatom *Stephanodiscus hantzschii*. *Journal of Applied Microbiology*, 105(1):186-195.  
DOI:10.1111/j.1365-2672.2008.03733.x

- Mulderij, G., Smolders, A.J. and Van Donk, E.L.L.E.N., 2006.** Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton. *Freshwater Biology*, 51(3):554-561.  
DOI:10.1111/j.1365-2427.2006.01510.x
- 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.
- 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 Microbiology and Biotechnology*, 26(3): 465-472.
- Roth, P., Twiner, M., Mikulski, C.M., Barnhorst, A.B. 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.  
DOI:10.1016/j.hal.2008.02.002
- Seong, K.A. and Jeong, H.J., 2013.** Interactions between marine bacteria and red tide organisms in Korean waters. *Algae*, 28(4): 297-305.
- 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.
- 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.  
DOI:10.1016/j.biocontrol.2010.10.004
- Wang, H., Liu, L., Liu, Z. and Qin, S., 2010.** Investigations of the characteristics and mode of action of an algalytic bacterium isolated from Tai Lake. *Journal of Applied Phycology*, 22(4): 473-478.
- Yamamoto, Y., Miura, Y., Higuchi, M., Kinoshita, Y. and Yoshimura, I., 1993.** Using lichen tissue cultures in modern biology. *Bryologist*, 384-393.
- Zhao, P., Pu, Y.P. and Yin, L.H., 2005.** Development of research on algicidal bacteria and its evaluation. *Journal Southeast Univ*, 24(3): 202-206.  
10.22092/ISFJ.2017.110176.

## Use of different species of *Pseudomonas* to reduce *Nodularia spumigena* algae in laboratory scale

Safari R.<sup>1\*</sup>; Yaghoubzadeh Z.<sup>1</sup>

\*safari1351@gmail.com

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

### Abstract

In recent years the incidence of algal blooms caused by *Nodularia* to become one of the serious problems and is threated life of aquatic organisms in the southern Caspian Sea. *Nodularia* is Blue - green algae (cyanobacteria phylum) and due to production of nodularin toxin is importance. In this study, the first, three species of *Pseudomonas* including *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida* and *P. fluorescens* were isolated from Tajan river estuary and identified using biochemical tests and compared to standard species. The trend of *Nodularia spumigena* biomass (log 5) and *Pseudomonas* species (log 7 and 8) were examined in 30 treatments for 10 days in aquarium scale.

The results showed that the decline trend of *Nodularia* in *P. aeruginosa* and mixed species treatments were better than other treatments and log 8 of bacterium was also more inhibitory effect than to log 7. Similar results were observed in double layer on agar medium and latter treatments had algaecide effect on nodularia. However, *P. putida* and *P. fluorescens* treatments had algaestatic properties.

The conclusion showed that different strains of *Pseudomonas* are able to reduce the population of algae *N. spumigena* in aquarium scale and the results observed in combination treatment were better than other treatments.

**Keywords:** *Nodularia* spp., *Pseudomonas* spp., Algal bloom, Biological control

---

\*Corresponding author