# نقش باکتری پسودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) در توسعه کشت جلبک

**محمدرضا حسن‌نیا**
mrhnia@yahoo.com
**بخش شیلات، مرکز آموزش امام خمینی، تهران صندوق پستی: ۴۹۸-۱۳۱۴۵**
**تاریخ دریافت : آبان ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش : تیر ۱۳۸۱**

## چکیده

این تحقیق به منظور تعیین اثر باکتری پسودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) بر افزایش میزان جلبکهای مورد استفاده در آبزی‌پروری، از قبیل کتوسروس (*Chaetoceros*)، اسکلتونما (*Skeletonema*)، تتراسلمیس (*Tetraselmis*) و کلرلا (*Chlorella*) به اجرا درآمد. برای این منظور ابتدا باکتری مورد نظر از آب استخرهای مولدین کارگاه تکثیر و پرورش میگوی کلاهی با کمک محیطهای کشت افتراقی و Zobell2216E استخراج، خالص‌سازی و سپس تولید انبوه گردید. جلبکهای مورد نظر با محیط کشت کانوی (Conway) تکثیر شده و در مرحله شکوفایی با باکتری فوق در آزمایشات گوناگون در قالب تیمارهای متفاوت و بصورت کشت ترکیبی مورد بررسی قرار گرفتند. مطالعات صورت گرفته نشان داد که با درصدهای مختلف از باکتری فوق می‌توان بعنوان جایگزین بخشی از محیط کشت جلبک استفاده نمود. نتایج حاصله تاثیر قوی و مثبت باکتری مزبور را بر رشد جلبکهای پرورشی نشان می‌دهد. به گونه‌ای که می‌توان به تنهایی از باکتری پسودوموناس فلورسنس در تکثیر جلبک و به میزان ۵۰ تا ۱۵۰ میلیگرم در لیتر استفاده نمود. این امر یک ره‌آورد جدید در پرورش جلبک تلقی می‌گردد. این باکتری به تنهائی می‌تواند برای جلبکهای کتوسروس و تتراسلمیس بصورت محیط کشت جدید معرفی گردد، در حالیکه برای جلبک اسکلتونما توانایی عملکرد بصورت یک محیط مستقل را ندارد.

**لغات کلیدی:** باکتری، پسودوموناس فلورسنس، کشت جلبک

## مقدمه

باکتریها و جلبکهای ریز فراوانترین میکروارگانیسم‌های موجود در محیطهای آبی هستند. تحقیقات متعددی اثرات محرک و یا بازدارندگی آنها را بر یکدیگر نشان داده است (Jones, 1982).

باکتریها را بعنوان تجزیه کننده، خرد کننده و معدنی کننده مواد آلی می‌شناسند (Ehrlich, 1985 cited in Inriago & Jones, 1993). باکتریها اثرات مثبتی در تغذیه دیگر موجودات دارند. آنها ممکن است مواد مغذی را فراهم آورده و یا می‌توانند پلی‌سارکاریدها و پروتئین‌ها را تجزیه و قابل استفاده سازند (Brown *et al.*, 1989 ; Williams, 1981 cited in Inriago & Jones, 1993).

جلبکهای ریز در تمامی مراحل رشد دوکفه‌ایها، مراحل لاروی بعضی از سخت‌پوستان و ماهیان پرورشی مصرف می‌گردند. جلبکهای فوق توسط زئوپلانکتونهایی نظیر روتیفرها و آرتمیا مصرف می‌گردند، که بعنوان غذای زنده مناسبی در اغلب مراحل پرورشی آبزیان بکار برده می‌شوند. شکل، اندازه، سمیت، قابلیت هضم و ترکیب بیوشیمیایی جلبکهای ریز می‌تواند بر ارزش غذایی آنها بعنوان غذا اثر بگذارد (Webb & Chu, 1983 ; Brown *et al.*, 1989). با وجود این اصلاح ترکیب بیوشیمیایی گونه‌های جلبکی ریز با بهینه کردن شرایط زیست محیطی، می‌تواند امکان‌پذیر گردد. بعنوان مثال ترکیب بیوشیمیایی آنها تحت تاثیر عواملی مانند نور، شوری، درجه حرارت و مواد غذایی (Richmond, 1986) و میزان رشد (Saoudi-Hetis *et al.*, cited in Renaud *et al.*, 1995) تاثیر می‌پذیرد.

غالباً باکتریها موادی از قبیل ویتامینها را از خود ترشح می‌کنند که برای فیتوپلانکتونها بعنوان عامل رشد عمل می‌نمایند (Hainse & Guillard, 1974). پسودوموناس فلورسنس یک باکتری گرم منفی بوده و اسپور تولید نمی‌نماید و می‌تواند قندها را بعنوان یک عامل اکسید کننده، تجزیه کند (جاوتز و همکاران، ۱۹۹۸). برای مثال در تحقیقی که توسط Riquelme و همکاران در سال ۱۹۸۸ به منظور بررسی ساختار باکتریایی قبل و بعد از شکوفایی جلبک *Asterionella glacialis* انجام شد، مشخص گردید که قبل از شکوفایی، تراکم‌های بالایی از

باکتری *Pseudomonas sp.* بوجود آمده بودند که با ترشح گلیکوپروتئین بعنوان عامل شکوفایی جلبک عمل کردند، درحالیکه جلبک فوق در محیط استریل شکوفایی نداشت. مطالعات اخیر نیز نقش باکتریها بر رشد جلبکهای ریز را به اثبات رسانده است (Fukami *et al.*, 1997).

در این تحقیق باکتری پسودوموناس فلورسنس بعنوان یکی از عوامل بالقوه تغییر دهنده محیط کشت پرورش انبوه جلبکهای ریزی نظیر *Chaetoceros sp.*، *Chlorella sp.*، *Skeletonema sp.* و *Tetraselmis sp.* مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

به منظور جداسازی و انبوه‌سازی باکتری، نمونه‌های آب از محل استخرهای مولدین و تفریخگاههای مربوط به کارگاه تکثیر و پرورش میگوی کلاهی، با استفاده از شیشه‌های استریل یک لیتری درپیچ‌دار تهیه و درکنار یخ به آزمایشگاه میکروب‌شناسی منتقل گردید. نمونه‌های آب ابتدا با استفاده از محیط کشت جامد Zobell 2216E کشت گردید. آب دریای مصنوعی حاوی ۲۷ گرم کلرورسدیم، ۲/۵ گرم کلرور منیزیم و ۰/۷۵ گرم کلرور پتاسیم در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در آزمایشگاه تهیه شد (Gorospe *et al.*, 1996) و در موقع استفاده به نسبت سه به یک با آب مقطر (۷۵۰ میلی‌لیتر آب دریا با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) مخلوط گردید. پرگنه‌های ایزوله و سلولهای آنها مطالعه میکروب‌شناسی شده و سپس با استفاده از آزمایشهای استاندارد مورد شناسائی قرار گرفتند. از میان باکتریهای موجود، باکتری پسودوموناس فلورسنس جدا و خالص‌سازی شد. باکتری فوق از کلنی خالص به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط Zobell broth منتقل و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد بمدت ۲۴ ساعت، گرمخانه‌گذاری گردید. سپس یک میلی‌لیتر از میکروب کشت شده در لوله آزمایش به ارلن‌های استریل ۲۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت مایع زوبل منتقل و در دستگاه شیکر با دور rpm ۲۰۰ در حرارت اطاق کشت و انبوه‌سازی شد. سلولهای انبوه‌سازی شده در مرحله رشد کامل از طریق سانتریفوژ ۴۵۰۰ دور در دقیقه بمدت ۳۰ دقیقه در چهار نوبت جمع‌آوری و در لوله‌های درپیچ‌دار تا موقع مصرف در حرارت ۱ تا ۲ درجه سانتیگراد

نگهداری شدند (Rodina, 1972).

آماده‌سازی محیط کشت جلبکها، در آزمایشگاه مرجع کارگاه تکثیر و پرورش میگوی کلاهی به کمک محیطهای کشت کانوی (Palanisamy *et al.*, 1991) و TMRL (Liao & Huang, 1973) انجام گرفت و طی آن چهار گونه جلبک *Chaetoceros sp.*، *Chlorella sp.*، *Skeletonema sp.* و *Tetraselmis sp.* تکثیر گردیدند. بدین منظور در یک ظرف دو لیتری روی پلیت داغ و باکمک همزن مغناطیسی، مواد شیمیایی مورد نظر مخلوط شدند. کلیه محلولها بجز ویتامینها توسط اتوکلاو در ۱۲۵ درجه سانتیگراد با فشار یک اتمسفر در سانتیمترمربع به مدت ۳۰ دقیقه استریل گردیدند. سپس محلول‌های اصلی در یخچال نگهداری شدند. همچنین از لام هماتوسیتومتر برای شمارش سلولهای جلبک استفاده گردید (Stappen, 1996).

در کلیه آزمایشات این بررسی، از طرح بلوکهای کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. در کلیه حالات با استفاده از نرم‌افزار استات گراف، کلیه تیمارها آنالیز واریانس یکطرفه شده و نتایج در سطح اعتماد ۹۵ درصد بررسی شدند. برای تفکیک میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. به منظور مقایسه تغییرات تیمارهای مختلف با تیمار شاهد، از فرمول نسبی (A-B)/A (نیکوکار و عربزاده، ۱۳۷۶) با پارامترهای زیر استفاده شد :

$$\text{درصد تغییرات} = \frac{\text{تعداد جلبک حاصل از تیمارهای مختلف} - \text{تعداد جلبک تیمار شاهد}}{\text{تعداد جلبک تیمار شاهد}}$$

در تحقیق حاضر از چهار سری آزمایش مختلف به شرح زیر در حالی استفاده شد که میزان نور، ساعات نوردهی، دمای آب، هوادهی و سایر فاکتورها در کلیه تیمارها ثابت بوده است.

الف ـ محیط کشت ثابت ـ تراکم باکتری متغیر: به منظور تعیین سطح بهینه افزودن باکتری پسودوموناس فلورسنس به محیط کشت کانوی جلبکهای کتوسروس و اسکلتونما، از تیمارهای زیر استفاده شد:

تیمار یک (شاهد) : محیط کشت جلبک

تیمار دو : محیط کشت جلبک + ۲۵ میلی‌گرم باکتری

تیمار سه : محیط کشت جلبک + ۵۰ میلی‌گرم باکتری
تیمار چهار : محیط کشت جلبک + ۷۵ میلی‌گرم باکتری
تیمار پنج : محیط کشت جلبک + ۱۱۰ میلی‌گرم باکتری
تیمار شش : محیط کشت جلبک + ۲۲۰ میلی‌گرم باکتری

ب ـ درصد محیط کشت متغیر ـ تراکم باکتری متغیر: در این آزمایش تغییرات محیط کشتها به همراه تغییرات تراکم باکتری با استفاده از تیمارهای زیر در مورد جلبکهای کتوسروس، تتراسلمیس و کلرلا مورد بررسی قرار گرفت.

تیمار یک (شاهد) : محیط کشت کانوی ۱۰۰ درصد
تیمار دو : ۷۵ درصد محیط کشت کانوی به همراه ۵۰ میلی‌گرم باکتری
تیمار سه : ۵۰ درصد محیط کشت کانوی به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم باکتری
تیمار چهار : ۲۵ درصد محیط کشت جلبکی به همراه ۱۵۰ میلی‌گرم باکتری

ج ـ جایگزینی کامل باکتری با محیط کشت: اثرات جایگزینی کامل باکتری پسودوموناس بر جلبکهای کتوسروس، اسکلتونما، تتراسلمیس در سه تیمار بررسی شد.

تیمار یک (شاهد) : محیط کشت جلبکی کانوی ۱۰۰ درصد همراه با مکملهای آن
تیمار دو : ۷۵ درصد محیط کشت کانوی + ۵۰ میلی‌گرم باکتری
تیمار سه : صرفاً از ۱۵۰ میلی‌گرم باکتری در هر لیتر استفاده گردید.

د ـ تراکم اولیه جلبک متفاوت ـ تراکم باکتری متغیر (درصد محیط کشت جلبک ثابت): به منظور تعیین سطح جبران جلبک کتوسروس توسط باکتری پسودوموناس فلورسنس در شرایطی که میزان تراکم ذخیره اولیه متفاوت باشد، آزمایشاتی با تیمارهای ذیل به مرحله اجرا درآمد.

تیمار یک (شاهد) : با ذخیره اولیه ۲۷۵۰۰۰ سلول جلبک کتوسروس در هر میلی‌لیتر که محیط کشت کانوی را به تمامی دریافت نمودند (بدون افزودن باکتری).

تیمار دو : با ۷۵ درصد ذخیره اولیه تیمار شاهد یعنی با ۲۰۶۵۰۰ عدد جلبک کتوسروس در هر میلی‌لیتر به همراه ۵۰ میلی‌گرم باکتری

تیمار سه : با ۵۰ درصد ذخیره اولیه تیمار شاهد یعنی با ۱۳۷۵۰۰ عدد جلبک کتوسروس در هر میلی‌لیتر به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم باکتری

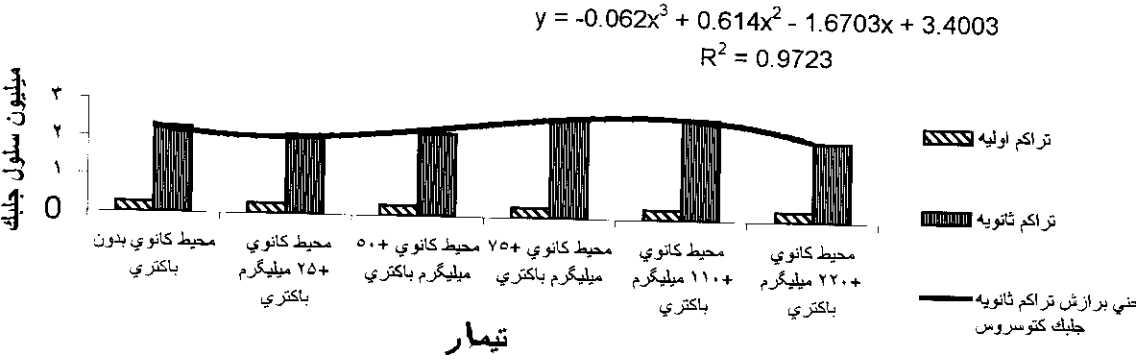
تیمار چهار : ۲۵ درصد ذخیره اولیه تیمار شاهد یعنی ۶۸۷۵۰ عدد جلبک کتوسروس در هر میلی‌لیتر به همراه ۱۵۰ میلی‌گرم باکتری

## نتایج

همانطوریکه از ارقام جدول ۱ مشخص می‌باشد، در آزمایش محیط کشت ثابت ـ تراکم متغیر باکتری، تعداد جلبک کتوسروس در تیمارهای چهار و پنج تفاوت معنی‌داری با هم نداشته و تیمار پنج نسبت به تیمار شاهد، ۱۷ درصد افزایش را نشان می‌دهد ($P<0/05$). تیمارهای یک، دو، سه و شش تفاوت معنی‌داری با هم نداشته، هر سه تیمار با تیمار چهار و پنج در سطح اطمینان فوق متفاوت هستند. جلبک اسکلتونما در تیمار پنج، ۱۶ درصد بیش از تیمار شاهد افزایش داشته که این تفاوت در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار خواهد بود ($P<0/05$). معادله درجه سوم زیر با ضریب تعیین بسیار بالای ۹۷ درصد می‌تواند استفاده از باکتری را در مقادیر مختلف این بازه آسانتر سازد (نمودار ۱).

جدول ۱: تغییرات تعداد جلبکهای کتوسروس و اسکلتونما در میلی‌لیتر در آزمایش محیط کشت ثابت ـ تراکم باکتریایی متغیر

| تیمارها | تیمار یک (شاهد) | تیمار دو | تیمار سه | تیمار چهار | تیمار پنج | تیمار شش |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تراکم اولیه کتوسروس | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ |
| تراکم ثانویه کتوسروس | ۲۲۶۷۰۰۰ | ۲۰۷۵۰۰۰ | ۲۱۷۱۰۰۰ | ۲۶۰۵۰۰۰ | ۲۶۵۳۰۰۰ | ۲۰۸۴۰۰۰ |
| تراکم اولیه اسکلتونما | ۲۷۵۰۰۰ | — | — | — | ۲۷۵۰۰۰ | — |
| تراکم ثانویه اسکلتونما | ۴۰۲۵۰۰ | — | — | — | ۴۶۶۹۰۰ | — |




نمودار ۱: تغییرات تعداد جلبک کتوسروس بر اثر افزودن باکتری به محیط کشت آنها

در آزمایش درصد محیط کشت متغیر ـ تراکم باکتری متغیر (جدول ۲) میان تیمارهای دو و سه و همچنین تیمارهای یک و چهار جلبک کتوسروس تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. تیمار سه نسبت به تیمار شاهد ۳۶ درصد افزایش تولید را به همراه داشته است.

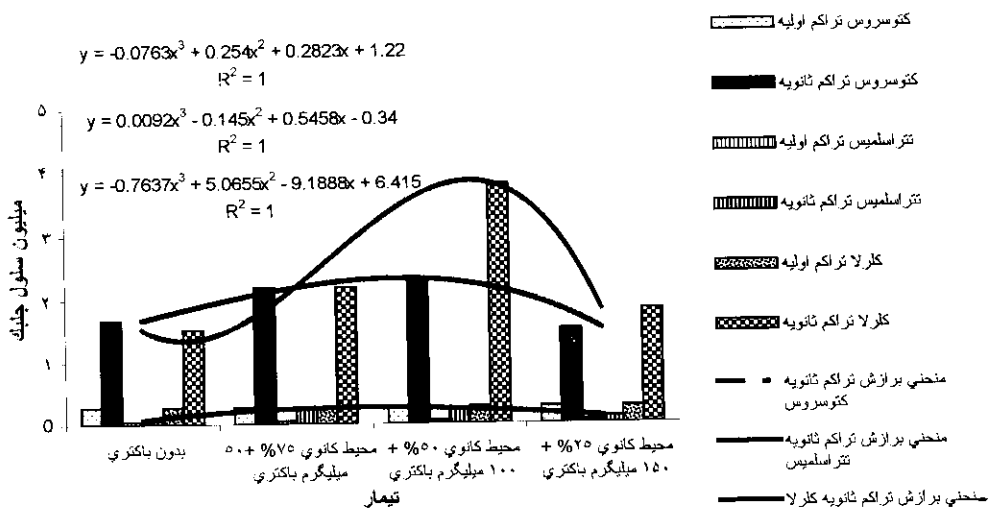
در جلبک تتراسلمیس بین تیمارهای دو و سه و همچنین تیمارهای یک و چهار تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. تیمار دو نسبت به تیمار شاهد ۲۵۰ درصد تولید بیشتری را نشان می‌دهد.

در جلبک کلرلا تیمار سه با بقیه تیمارها در سطح اعتماد ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری دارد. تیمارهای دو و چهار با هم تفاوت معنی‌داری نداشته ولی این دو تیمار با تیمار یک در سطح اعتماد ۹۵ درصد متفاوتند. تیمار سه نسبت به تیمار شاهد ۱۵۰ درصد تولید بیشتری را ایجاد کرده است.

استفاده از سه معادله درجه سوم که براساس برازش داده‌های این تحقیق برای سه نوع جلبک کتوسروس، تتراسلمیس و اسکلتونما با ضریب تعیین صد در صد راهنما و ضریب اطمینانی برای استفاده دقیق‌تر این باکتری در آبزی‌پروری است (نمودار ۲).

جدول ۲: تغییرات تعداد جلبکهای کتوسروس، تتراسلمیس و کلرلا در میلی‌لیتر در آزمایش محیط کشت متغیر - تراکم باکتری متغیر

| تیمارها | تیمار یک (شاهد) | تیمار دو | تیمار سه | تیمار چهار |
|---|---|---|---|---|
| تراکم اولیه کتوسروس | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ |
| تراکم ثانویه کتوسروس | ۱۶۸۰۰۰۰ | ۲۱۹۰۰۰۰ | ۲۲۹۲۰۰۰ | ۱۵۲۸۰۰۰ |
| تراکم اولیه تتراسلمیس | ۵۰۰۰۰ | ۵۰۰۰۰ | ۵۰۰۰۰ | ۵۰۰۰۰ |
| تراکم ثانویه تتراسلمیس | ۷۰۰۰۰ | ۲۴۵۰۰۰ | ۲۴۰۰۰۰ | ۱۱۰۰۰۰ |
| تراکم اولیه کلرلا | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ |
| تراکم ثانویه کلرلا | ۱۵۲۸۰۰۰ | ۲۱۹۰۰۰۰ | ۳۸۱۹۰۰۰ | ۱۸۳۳۰۰۰ |




نمودار ۲: تغییرات تعداد جلبکها بر اثر اعمال تیمارهای مخلوط محیط کشت کانوی با باکتری

در آزمایش جایگزینی کامل باکتری با محیط کشت بین تیمارهای دو و سه جلبک کتوسروس در سطح ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری وجود نداشته ولی هر دوی آنها با تیمار شاهد متفاوت بودند. تیمار دو ۵۰ درصد بیشتر از تیمار شاهد بر تعداد جلبکها افزوده است (جدول ۳).

**جدول ۳: تغییرات تعداد جلبکهای کتوسروس، اسکلتونما و تتراسلمیس در میلی‌لیتر در آزمایش جایگزینی کامل باکتری با محیط کشت**

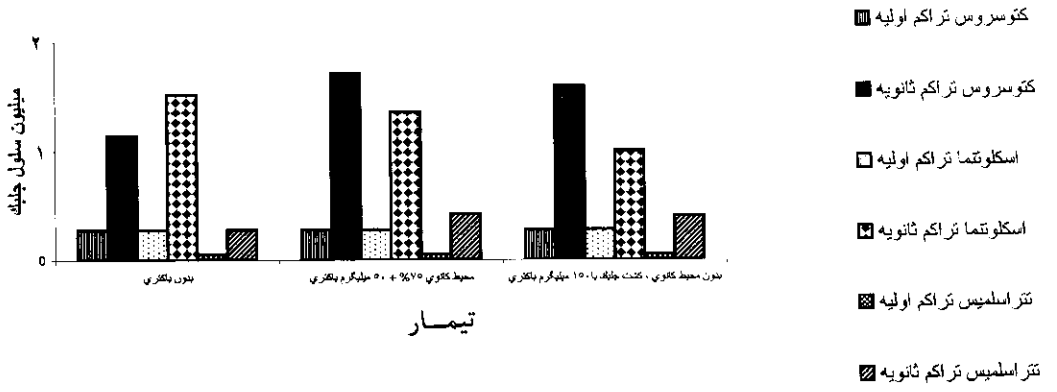
| تیمارها | تیمار یک (شاهد) | تیماردو | تیمار سه |
|---|---|---|---|
| تراکم اولیه کتوسروس | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ |
| تراکم ثانویه کتوسروس | ۱۱۴۰۰۰۰ | ۱۷۱۰۰۰۰ | ۱۵۹۶۰۰۰ |
| تراکم اولیه اسکلتونما | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۷۵۰۰۰ |
| تراکم ثانویه اسکلتونما | ۱۵۱۲۰۰۰ | ۱۴۸۵۰۰۰ | ۱۱۰۰۰۰۰ |
| تراکم اولیه تتراسلمیس | ۵۰۰۰۰ | ۵۰۰۰۰ | ۵۰۰۰۰ |
| تراکم ثانویه تتراسلمیس | ۲۷۷۵۰۰ | ۴۲۲۵۰۰ | ۴۰۰۰۰۰ |

در جلبک اسکلتونما بین تیمارهای یک و دو تفاوت معنی‌داری در سطح اعتماد ۹۵ درصد وجود ندارد و هر دوی آنها با تیمار سه متفاوت هستند. در تیمار سه تعداد جلبکها ۲۵ درصد کمتر از شاهد بود. استفاده از ۵۰ میلیگرم باکتری به همراه ۷۵ درصد محیط کشت کانوی تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱۰۰ درصد محیط کانوی به همراه مکمل‌های آن ندارد ($P<0/5$).

در مورد جلبک تتراسلمیس بین تیمارهای دو و سه در سطح اطمینان ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود و هر دو تیمار در سطح اطمینان مورد نظر با تیمار یک متفاوت هستند ($P<0/5$).

در این آزمایش بین تیمارهای دو و سه تفاوت معنی‌داری در سطح اعتماد ۹۵ درصد وجود نداشته و هر دوی آنها با تیمار یک متفاوتند. استفاده از ۱۵۰ میلیگرم باکتری به تنهائی می‌تواند تولید جلبک را به مقدار ۴۴ درصد بیشتر از تیمار شاهد ایجاد نماید. استفاده از ۵۰ میلیگرم

باکتری به همراه ۷۵ درصد محیط کشت کانوی می‌تواند ۵۲ درصد تولید بیشتری نسبت به تیمار شاهد ایجاد نماید (نمودار ۳).



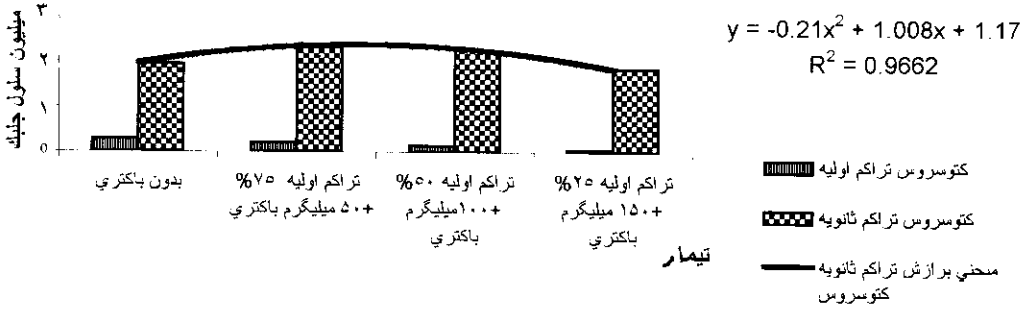

نمودار ۳: تغییرات جایگزینی انحصاری باکتری با محیط کشت جلبکها

در آزمایش تراکم اولیه جلبک متفاوت ـ تراکم باکتری متغیر، بین تیمارهای دو و سه و تیمارهای یک و چهار تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. تیمار دو از نظر مقدار نسبت به تیمار شاهد ۲۳ درصد افزایش تولید داشته است (جدول ۴).

جدول ۴: تغییرات تعداد جلبک کتوسروس در میلی‌لیتر در آزمایش تراکم اولیه جلبک متفاوت ـ تراکم باکتری متغیر (درصد محیط کشت جلبک ثابت)

| | تیمار یک (شاهد) | تیمار دو | تیمار سه | تیمار چهار |
|---|---|---|---|---|
| تراکم اولیه | ۲۷۵۰۰۰ | ۲۰۶۵۰۰ | ۱۳۷۵۰۰ | ۶۰۷۵۰ |
| تراکم ثانویه | ۱۹۵۰۰۰۰ | ۲۴۰۰۰۰۰ | ۲۲۵۰۰۰۰ | ۱۸۶۰۰۰۰ |

معادله درجه دوم برازش شده با ضریب تعیین ۹۶ درصد برای سطح جایگزین باکتری در هنگام کاهش تراکم اولیه می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (نمودار ۴).




نمودار ۴: تغییرات تعداد جلبک کتوسروس با تغییر تراکم اولیه

## بحث

باکتریهای گرم منفی توانائی بالائی در انباشته نمودن پروتئینهای اتصالی برای سوبستراهای بخصوص نظیر آمینواسیدها، قندها، ویتامین‌ها و یونها و همچنین آنزیم‌های هیدرولیتیک و سم‌زدا در فضای پری پلاسمیک داشته که می‌تواند در مجموع ۲۰ تا ۴۰ درصد حجم سلولی را شامل گردد (جاوتز و همکاران، ۱۹۹۸). این پدیده می‌تواند مقادیر زیادی مواد مغذی در اختیار جلبکها قرار دهد. احتمالاً به همین لحاظ افزودن ۵۰ تا ۷۵ میلیگرم باکتری، سبب افزایش معنی‌دار تعداد جلبکهای کتوسروس و اسکلتونما در سری اول آزمایش شد. بنابر اطلاعات این تحقیق استفاده از ۵۰ تا ۷۵ میلیگرم باکتری پسودوموناس فلورسنس می‌تواند ۱۷ درصد تولید جلبک کتوسروس و ۱۶ درصد اسکلتونما را افزایش دهد.

با تغییر درصد محیط کشت و تغییر تراکم باکتری می‌توان سطح بهینه رشد جلبکهای کتوسروس، تتراسلمیس و کلرلا را بدست آورد، بنحوی که ۵۰ میلیگرم باکتری پسودوموناس فلورسنس با ۷۵ درصد محیط کشت می‌تواند ۲۵۰ درصد بر تولید جلبک تتراسلمیس بیفزاید. استفاده از ۱۰۰ میلیگرم باکتری مذکور به همراه ۵۰ درصد محیط کشت می‌تواند تولید جلبک

کلرلا را تا ۱۵۰ درصد افزایش دهد.

نتایج نشان داد که باکتری پسودوموناس فلورسنس در دوره شکوفایی می‌تواند برای جلبکهای کتوسروس و تتراسلمیس به صورت محیط کشت جدید معرفی شود. این باکتری برای جلبک اسکلتونما توانایی محیط مستقل بودن را نداشته ولی می‌تواند به همراه محیط کشت کانوی موجبات افزایش تولید را فراهم آورد.

باکتری پسودوموناس فلورسنس می‌تواند در صورت کمبود ذخیره اولیه تا ۷۵ درصد مقدار شاهد، با تسریع در شکوفائی، تولید را حتی ۲۳ درصد بیش از تیمار شاهد ایجاد نماید. همچنین نتایج نشان داد که اگر مقادیر محیط کشت جلبک به ۵۰ درصد مقادیر خود کاهش یابد، استفاده از ۱۰۰ میلیگرم باکتری پسودوموناس فلورسنس می‌تواند تولید را به میزان ۳۶ درصد افزایش دهد.

Hirayama و Suminto در سال ۱۹۹۷ توانستند تولید جلبک کتوسروس را با استفاده از فلاوباکتریوم به مقدار زیادی افزایش دهند ولی ایشان علل این پدیده را ناشناخته ذکر کرده و چنین بیان کردند که ممکن است بعضی باکتریها، رشد جلبکها را از طریق تولید مواد زایشی، رقابت با دیگر سویه‌های باکتری‌های همزیست و تولید مواد محرک رشد (از قبیل ویتامینها و گلیکوپروتئین‌ها) تسریع نمایند. این محققین افزودن $10^6$ باکتری در هر میلی‌لیتر را بعنوان تیمار برتر ارائه نمودند ولی ارائه معیار وزنی همچنانکه در تحقیق حاضر بیان گردیده است، کاربردی‌تر می‌باشد.

از میان ۱۴۹ گونه گزارش شده از پسودوموناسها، تعداد اندکی از سویه‌های بیمارستانی آن می‌تواند در انسان بیماری ایجاد نماید (Frankel *et al.*, 1970). طی زمان استفاده از باکتری *Pseudomonas fluorescens* در این تحقیق، هیچگونه عوارض بیماریزایی مشاهده نگردید.

## تشکر و قدردانی

جای آن دارد که از همکاری‌های صمیمانه کارکنان زحمتکش کارگاه کلاهی بالاخص همکار بسیار عزیز جناب آقای مهندس محمدرضا کامران حسینی تشکر و قدردانی گردد.

## منابع

جاوتز؛ ملنیگ و آدلبرگ، ۱۹۹۸. میکروب‌شناسی پزشکی. جلد اول باکتریولوژی (مترجمین: پ. رحیم‌زاده؛ ف. نورایی و ن. خطیبی، ۱۳۷۸). چاپ اول، نشر سماط، ۴۱۸ صفحه.

نیکوکار، م. و عربزاده، ب.، ۱۳۷۶. آمار و احتمالات کاربردی. انتشارات آزاده تهران. ۴۳۶ صفحه

**Brown, M.R. ; Jeffry, S.W. and Garland, C.D. , 1989.** Nutritional aspects of microalgae used in mariculture, a litrature review, CSIRO Marine Laboratory, Report 205, Australia 1989.pp.1-44.

**Ehrlich, H.L. , 1985.** The position of bacteria and their products in food webs. *In:* Bacteria in nature. (Eds. E.R. Leadbeter and J.S. Poindexter), Vol. 1. Bacteria activities in perspective. Plenum Press, London. pp.199-219. *In:* Inriago, P. and Jones, D.A. , 1993. Bacteria as food for Artemia. Aquaculture, Vol. 113, pp.115-127.

**Frankel, S. ; Reitman, S. and Sonnenwirth, A.C. , 1970.** Gradwohl methods and diagnosis (seventh edition). The C.V. Mosby Company. pp.1291-1296.

**Fukami, K. ; Nishijima, T. and Ishida, Y. , 1997.** Stimulative and inhibitory effects of bacteria on the growth of micro algae, Hydrobiologia. Vol. 358, pp.185-191.

**Gorospe, J.N. ; Nakamura, K. ; Abe, M. and Higashi, S. , 1996.** Nutritional contribution of *Pseudomonas sp. In*: Artemia culture, Fisheries Science, Vol. 62,

No. 6, pp.914-918.

**Haines, K.C. and Guillard, R.R.L. , 1974.** Growth of vitamine B12-requiring marine diatoms in mixed, laboratory culture with vitamine B12- producing marine bacteria. J. Phycol. Vol. 10, pp.242-252.

**Jones, A.A. , 1982.** The interaction of algae and bacteria. *In:* Microbial interactions and communities, 1. Eds. A.T. Bull and J.H. Slater. Academic Press, London. pp.189-247. *In*: Hydrobiologia. Vol. 358, pp.185-191.

**Liao, I.C. and Huang, T.L. , 1973.** Experiments on propagation and culture of prawns in Taiwan in coastal aquaculture in the Indo-pacific region, Edr. T.V.R. Pillay, Fishing News Books, Farnham, Surrey, England, 328 P.

**Palanisamy, V. ; Latif, F.A. and Resat, R.B.M. , 1991.** A guide on the production of algal culture for use in shrimp hatcheries. Department of Fisheries Ministery of Agriculture, Malaysia. pp.1-33.

**Renaud, S.M. ; Zhou, H.C. ; Parry, D.L. ; Thin, L.V. and Woo, K.C. , 1995.** Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis sp.*, *Nitzshia paleacea* and commercial species *Isochrysis sp.* (Clone T. ISO), J. of Applied Phycology. Vol. 7, pp.595-602.

**Richmond, A. , 1986.** Outdoor mass culture of microalgae. *In:* Handbook of microalgal mass culture, ed. A. Richmond. C.R.C. press, Florida, U.S.A. pp.285-329.

**Riquelme, C. ; Fukami, K. and Ishida, Y. , 1988.** Effects of bacteria on the growth of

a marine diatom, *Asterionella glacilis*. Bull. Japan. Soc. Microb. Ecol. Vol. 3, pp.29-34.

**Rodina, A.G. , 1972.** Methods in aquatic microbiology, translated. Eds. Rita R. Colwel and Michael S. Zambruski. University Park Press, Baltimore, Butterworth and Co. LTD, London, U.K.

**Saoudi-Hetis, L. ; Dubacq, J.P. ; Marty, Y. ; Samain, J.F. and Gudin, C. , 1995.** Influence of growth rate on pogment and lipid composition of the microalga *Isochrysis aff. galbana*, Clon T. Iso.

**Stappen, G.V. , 1996.** Artemia (intorduction, biology and ecology of Artemia on the production and use of live food for aquaculture. Eds. P. Lavens and P. Sorgeloos. Technical paper, FAO, pp.9-85.

**Suminto and Hirayama, K. , 1997.** Application of a growth-promoting bacteria for stable mass culture of three marine microalgae, Hydrobiologia, Vol. 358, pp.223-230.

**Webb, K.L. and Chu, F.E. , 1983.** Phytoplankton as a food sources for bivalve larvae. *In:* Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition. Biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition, Lewes/Rehoboth Beach, Delaware, October 27-29, 1981. Eds. G.D. Pruder ; C.J. Langdon ; Conklin, D.E. Louisiana State University, Division of Continuing Education. pp.272-291.

**Williams, P.J. 1981.** Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. Kieler Meeeresforsch. Sonderh., A;1-28 *In:*

Inriago, P. and Jones, D.A. , 1993. Bacteria as food for Artemia, Aquaculture, 113, pp.115-127.

# The Role of *Pseudomonas fluorescense* Bacteria in Developing of Algae Culture

**Hassanniya M.R.**

mrhnia@yahoo.com

Imam Khomeini Higher Education Center, P.O.Box: 13145-498 Tehran, Iran

Received : November 2001 Accepted : July 2002

**Key words :** Bacteria, *Pseudomonas fluorescense*, Algae culture

## ABSTRACT

This project was conducted to determine the effect of *Pseudomonas fluorescense* bacteria on increasing the growth rates of some species of algae namely *Chaetoceros sp.*, *Skeletonema sp.*, *Tetraselmis sp.*, *Chlorella sp.*

In this order, the mentioned bacteria were extracted by separator and Zobell 2216E media from prawn broodstock ponds, then purified and mass cultured. The algae selected mass, were cultured in Conway media and then these bacteria were investigated at the blooming phase in the several experiments of various treatments in combined culture method. The results revealed that the mentioned bacteria could apply as a partial substitution body of aglae media and it could be used as a new media in various percentages. The results indicated, the very positive effect of bacteria on cultured algae. Therefore, *Pseudomonas fluorescense* can be used in algae cultured in 50-150 mg\lit density as a new method for algae culture. This bacterium could be a new media for *Chaetoceros sp.*, and *Tetraselmis sp.*, but for *Skeletonema sp.*, other percentages of media should be used.