

**دراسة تأثير العنصر النزر الرصاص في نمو نوعين من الطحالب *Microcystis sp.* & *Chroococcus sp.***

رؤى جعفر الخيرالله

قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعه ذي قار

**الخلاصه**

تضمنت الدراسه الحاليه تأثير اضافه معدن الرصاص وهو احد المعادن الثقيله في نمو نوعين من الطحالب الخضر المزرقه cyanophayta وهما : *Chroococcus sp.* & *Microcystis sp.* بالاعتماد على طريقه العد المباشر direct counting باستخدام شريحه العد chamber slide . تم اضافه المعدن بالتراكيز التاليه (0.5,1,2,4) % ملغم/لتر للوسط الزرعى وكان التركيز (4 % ) ملغم/لتر الاكثر سميّه لكلا الطحلبين اذ بلغت اقل قيمه لعدد المستعمرات في طحلب *Microcystis sp.* (66) مستعمره في المليلتر الواحد مقارنة بمعامله السيطرة ، وفي طحلب *Chroococcus sp.* بلغ اقل عدد للخلايا (62) في نفس التركيز .ومن خلال قياس معدل التنشيط لكلا الطحلبين وجد ان طحلب *Microcystis sp.* اكثر مقاومه لتراكيز الرصاص من الطحلب الاخر . لوحظ زياده السميّه بزياده فترة التعريض فكان التركيز 4% سام لكلا الطحلبين .

**الكلمات الافتتاحيه:** الرصاص ، *Chroococcus* ، *Microcystis* ، معدل نمو الطحالب ، معدل التنشيط.

**Effects of Heavy Metal (Pb) on the Growth of Algae *Microcystis sp.* & *Chroococcus sp.***

Roaa Jafar El-Khairalla

Dept. of Biology- College of Sciences .Thi- Qar University

**Abstract**

The Study dealing with the influence of heavy metal(Pb) separately in the growth of the algae *Microcystis & Chroococcus* (cyanophyta) under lab. Conditions, the parameters were total cell count by slid chamber. The results indicates that the toxic effect of studied heavy metals depend upon metal construction, lowest total cell count . lead ions was added to the culture media as a concentration (0.5, 1, 2,4)mg/l . the (4)mg/l concentration was more toxicity for both algae , the minimum chroococcus colonies count was (62) colony and (66) colony in microcystis at (4) mg/l concentration. By measuring inhibit rate for both algae, found , *Microcystis* was more resistant lead than other algae. Observed increase toxicity increased period was concentration of 4% toxicity for both algae.

**keyword:** Pb , *Microcystis sp.* , *Chroococcus sp.* , Growth rate , Growth Inhibition .

**١- المقدمة**

لفاعليات الإنسان وبالتالي فانه يسبب تغيرات في الانظمه البيئيه ويشكل خطوره على صحة الإنسان (Beiny et al.,1976) . وقد صنف (Round & Chapman , 1996) الملوثات الى ثلاث مجموعات هي ملوثات كيميائيه مثل المعادن الثقيله والهيدروكربونات النפטية والملوثات الفيزيائويه مثل الاشعه النوويه والملوثات الحيويه مثل البكتريا والفيروسات . تعد العناصر الثقيله من اخطر الملوثات المائيه . تتعرض الطحالب الى تأثيرات التلوث كما في الاحياء المائيه او يعد تأثير الملوثات ومنها المعادن الثقيله على الطحالب موضوعا مهما كونه يشكل بداية التأثير على اهم مكونات البيئه المائيه وهي سلسله الغذاء ) خصوصا اذا تعرضت هذه الطحالب الى خليط من المعادن ) .

يعرف التلوث بانّه التغير النوعي او الكمي في الصفات الكيميائيه او الفيزيائويه او الحيويه للعناصر البيئيه (Alashour,2002) ، او التغيرات غير المرغوب فيها التي تحصل في البيئه بصوره كليّه او بدرجه كبيره كنتاج عرضي لفاعليه الإنسان من خلال التأثير المباشر او الغير مباشر للتغيرات في شكل الطاقه ومستوى الاشعاع والمكونات الكيميائويه والفيزيائويه (Al-Khafaji,1996) . تعد مشكله التلوث من المشاكل التي تواجه العالم وخاصة التلوث المائي الذي يعرف بانّه التغير في ظروف مياه النهر بشكل مباشر او غير مباشر نتيجة

الموصده الكهربائيه Autoclave بدرجة حراره ١٢١ م وضغط (1.5) باوند/انج (ولمدة ٢٠ دقيقه .

جدول رقم (١) مكونات الوسط الزراعي Chu-10 المستخدم لتنمية الطحالب في دراسته الحاليه

التركيز غم/١٠٠ مل ماء مقطر	الاملاح
2.5	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O
5.76	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
1.585	NaHCO <sub>3</sub>
0.262	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>
0.146	FeCL <sub>3</sub>
0.318	Na <sub>2</sub> .EDTA
3.583	CaCL <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O
1	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0.0045	MnCL <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
0.0007	MoNa <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
0.0057	ZnSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O
0.002	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O
0.072	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
7.4	PH

### ٢-٣- عزل وتنقية الطحالب

لغرض الحصول على مزرعه وحيدة الطحلب Unialgal Culture أستخدمت طريقة تخطيط اطباق الاكار وبعد اجراء سلسله من التخافيف للحصول على مزارع وحيدة الطحلب. تم تنقية مزارع وحيدة الطحلب من الجراثيم طبقا الى ( Droop,1967;Weidman et al.,1984) الموضحة تفصيلها في (Anderson, 2005) .

### ٢-٤ تشخيص الطحالب

اعتمدت المصادر التاليه في تشخيص الانواع من الطحالب المستخدمه في دراسته

(Bourrelly,1980;Prescott,1975;Desikashary,1959):

حيث تم عزل الطحالبين والمبين تصنيفهما ادناه :

Division : Cyanophyta (Blue green algae)

Class: Cyanophyceae

Order: Chroococcales

Family:Chroococcaceae

Genus:Chroococcus sp. and Microcystis sp.

يتمثل تاثر الطحالب بالمعادن الثقيله بعدة اشكال منها مظهرية او فسلجيه او في المحتوى الكيمويوي . تمتلك الطحالب سلسله من اليات المقاومه لهذا التأثير ، وهناك العديد من الدراسات التي اهتمت بدراسة تواجد المعادن الثقيله في البيئه المائيه وتأثيرها على اعداد وتنوع الطحالب في تلك البيئه (Abaychi & A-Obaidy,1987; Kassim et al.,1997) . ان سمية المعادن الثقيله تكون اما سمية حاده Acute toxicity او سمية مزمنه Chronic toxicity ، يقصد بالسميه الحاده هي تلك السمية الناتجه عن تعريض الكائن الحي لجرعات كبيره من السموم لفته زمنيه قصيره غالبا ماتكون مميته ، اما السمية المزمنه فهي ناتجه عن تعريض الكائن الحي لجرعات قليله من السموم لفترات زمنيه طويله ويمكن ان تكون مميته او دون مميته ( Crompton & Consultan,1998)، يتدخل المعادن الثقيله جسم الطحلب بثلاث طرق :

١- البلع او الابتلاع Phagocytosis .

٢- الامتصاص Absorption عبر اغشية الخليه المعرضه للمياه المحيط بها .

٣- الادمصاص Adsorption حيث تتجمع المعادن الثقيله على سطح المناطق المعرضه

### ٢- مواد العمل وطرائقه

#### ٢-١ جمع العينات

جمعت العينات من المياه السطحيه لنهر الغراف في محافظه ذي قار من مناطق مختلفه بقناني بلاستيكيه نظيفه سعة ٥٠٠ سم<sup>3</sup> وجلبت الى المختبر ، اذ ثبت جزء العينه باستخدام الفورمالين بتركيز ٤% لغرض الفحص المجهرى بينما ترك الجزء الاخر دون تثبيت لغرض الاستزراع .

#### ٢-٢ الوسط الزراعي

استعمل الوسط الزراعي Chu-10 والمحور من قبل ( Al-Arajy & Al-saadi,1998) لتنمية العزلات الطحلبيه ( جدول ١ ) ، حضر الوسط الزراعي بشكل محاليل خزينه Stock Solution وحفظت بالتلاجه بدرجة حراره (٤ م) بدون تعقيم لحين استخدامها ، حيث يتم خلط كميات محدده منها عند تحضير الوسط الزراعي ويكمل الحجم المطلوب ويعدل الرقم الهيدروجيني بين ( ٧ - ٧,٤ ) عند زراعة الطحالب باضافة قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم ذو عياريه( 0.2 N ) . عقت الاوساط الزراعيه بعد ذلك باستخدام جهاز

## ٢-٥ تحضير محاليل المعادن الثقيله

حضرت المحاليل القياسيه بتركيز (١٠٠٠ ملغم/لتر ) لمعدن الرصاص وذلك باذابة املاح نقيه لخلات الرصاص  $Pb(CH_3COO)_2$  في الماء الخالي من الايونات وحضرت التراكيز باجراء التخفيف اللازم ، اذ تم تجهيز التراكيز (4-2-1-0.5) ملغم/لتر من الرصاص.

## ٢-٦ اضافة المعادن الثقيله

نعين العزلات باضافة (0.10) من المزرعه النقيه السائله كلقاح inoculums الى دوارق حجميه (250) مل حاويه على وسط زرعي مدعم بايونات العنصر الثقيل (4,2,1,0.5) ملغم/لتر من الرصاص وباستخدام ثلاث مكررات لكل تركيز ، حظنت بدرجه حراره (27±2) م مع فترة اضاءه (١٢ ساعه ضوء ٨: ساعه ظلام) مع رج الدوارق يوميا وكذلك تم زرع عينة بدون اضافة معدن الرصاص لها وذلك لاعتبارها عينة السيطرة control .

## ٢-٧ قياس معدل النمو

استخدمت لحساب او لعد الطحالب بطريقه شريحة العد Counting Chamber واستخدمت في هذه الطريقه سلايد المسمى Petroff – hausser slide وهي عباره عن شريحة مقسمه الى مربعات كبيره وصغيره يتم حساب الخلايا الطحلبيه فيها بعد اخذ حجم معلوم من العينه ووضعها في السلايد .

## ٢-٨ قياس معدل التثبيط

تم حساب معدل التثبيط حسب المعادله التاليه:

$$GI = (C-T)/C$$

GI: معدل التثبيط

C : عدد الخلايا لكل واحد مل في مزارع المعامله

T : عدد الخلايا لكل واحد مل في مزارع السيطرة (Nyholm,1985)

## ٣ - النتائج

اشارت نتائج تعريض طحلب *Chroococcus sp.* وطحلب *Microcystis sp.* الى تراكيز مختلفه من الرصاص (4,2,1,0.5) ملغم /لتر انخفاض في عدد الخلايا مع زياده التراكيز ويصوره تدريجييه خلال مده التعريض جدول رقم (٢) و(٣). اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنويه (  $p \leq 0.05$  ) بين المعاملات ووجود علاقه سالبه بين عدد الخلايا وزياده التراكيز وعلاقه موجبه بين معدل التثبيط والتراكيز لكل الطحلبين جدول (٤) (٥).

نلاحظ من خلال الجداول (٥,٤) ان طحلب *Microcystis sp.* ابدى مقاومه للرصاص اكثر من طحلب *Chroococcus sp.* حيث عند حساب معدلات التثبيط وجد ان اعلى نسبه تثبيط في طحلب *Chroococcus sp.* عند تعريضه للتراكيز المختلفه من الرصاص كانت 77% عند التركيز (4) ملغم /لتر في اليوم التاسع من الزراعه واول نسبه تثبيط كانت % (19) عند التركيز (0.5) ملغم/لتر في اليوم الثالث، اما طحلب *Microcystis sp.* فقد بلغ اعلى معدل للتثبيط % (69) عند التركيز (4) ملغم/لتر في اليوم التاسع ايضا واول تثبيط % (4) عند التركيز (0.5) ملغم/لتر في نفس اليوم .

جدول رقم (٢) تاثير الرصاص في اعداد خلايا طحلب *Chroococcus*

	1 day	3 day	5 day	7 day	9 day	L.S.D.
control	165Ae	185Ad	311Ac	379Ab	401Aa	4.77
0.5	100Bd	149Bc	146Bc	190Ca	189Bb	11.97
1	99Bc	113Cb	97Dc	98Ed	130Da	3.66
2	95Bb	110Cb	87Dc	97Ec	96Ec	11.86
4	85Cb	62Dc	78Dd	96Ec	90Ec	14.13
L.S.D.	10.1	15.35	15.99	3.37	13.98	

- الحروف الكبيره المتشابهه في نفس العمود تعني عدم وجود فرق معنوي لمعدل نمو الطحلب عند مستو احتماليه  $> 0.05$  .
- الحروف الكبيره المتشابهه في نفس الصف تعني عدم وجود فرق معنوي لمعدل نمو الطحلب عند مستو احتماليه  $> 0.05$  .

جدول رقم (٣) تاثير الرصاص في اعداد خلايا طحلب *Microcystis*

	1 day	3 day	5 day	7 day	9 day	L.S.D.
control	198Aa	240Aa	188Aa	176Aa	175Aa	59.26
0.5	155Ab	143Bb	178Bc	161Bb	105Bd	13.74
1	152Ab	141Bc	170Cd	156Ce	88Ca	8.42
2	136Ab	104Cc	142Dd	111De	86Ca	7.67
4	105Ab	92Dc	102Ee	86Ed	53Da	9.47
L.S.D.	59.57	5.78	8.26	2.83	14.17	

- الحروف الكبيره المتشابهه في نفس العمود تعني عدم وجود فرق معنوي لمعدل نمو الطحلب عند مستو احتماليه  $> 0.05$  .
- الحروف الكبيره المتشابهه في نفس الصف تعني عدم وجود فرق معنوي لمعدل نمو الطحلب عند مستو احتماليه  $> 0.05$  .

## ٤ - المناقشه

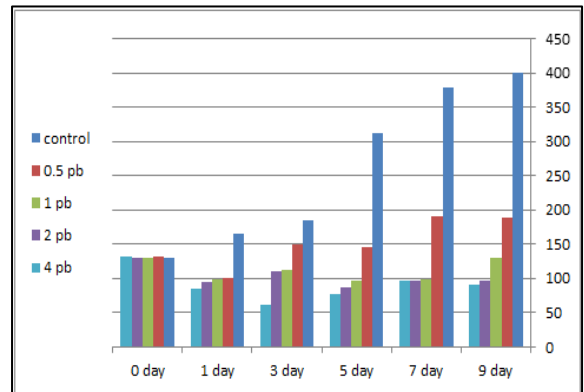
بينت نتائج العزل من بيئتنا المحليه انتشار انواع واجناس مختلفه وعديده من الطحالب اغلبها من الطحالب الخضر المزرقه والدايتومات ، ومن بين اكثر هذه الاجناس هو طحلب *Chroococcus sp.* وهو طحلب احادي الخليه يتجمع بشكل مستعمرات وتتميز الخلايا بشكلها الكروي وتكون محتويات الخليه متميزه الى منطقه داكنه ومنطقه فاتحه ومن اهم الانواع التابعه لهذا الجنس *C. minor* . اما الطحلب الاخضر المزرق *Microcystis* فهو ايضا يتواجد في بيئتنا الا انه يكون معدل نموه اطول من معدل نمو الكروكوكس ويتواجد بشكل مستعمرات ايضا لان مستعمرته تكون اما منتظمه او دائريه او متطاولة او غير منتظمه ويعتقد انه يسبب الموت للأسماك وذلك جعله من الطحالب السائده . ان الانتشار الواسع لهذين الجنسين في بيئتنا المحليه شجع على عزلها وتنقيتها ودراسة تأثير الرصاص الذي يعد من المعادن الاكثر سميته بين المعادن الثقيله على معدل نمو هذين الطحلبين . تتدخل المعادن الثقيله الى جسم الطحلب من خلال جدار الخليه والغشاء الخلوي ومن ثم تستقر داخل خلايا الطحلب فاذا كان تركيزها اعلى من الحد الطبيعي الذي تتواجد فيه فانها تحدث تغيرات ضاره في الخليه (Robinson,1989) . ولوحظت تغيرات في النظام الفجوي والبلاستيدات والمايتوكونديريا عند تعريض الخلايا الطحلبيه للمعادن الثقيله مثل الرصاص (Sick-Goad&Lazinsky,1981) ، والكروم (Fasulo et al., 1983) ، والنحاس (Brinkhuis & Chung, 1986) ، والزرنيخ (Pellegrin et al., 1990). وفي دراسته اخرى (Albergani et al.,1980) وجماعته الذين وجدوا ان التراكيز  $0.62-1.13 \text{ mg cd/L}$  من الرصاص يسبب تثبيط لعملية النمو في طحلب *Euglena gracilis* تتفق هذه النتيجة مع الدراسه الحاليه حيث ان تثبيط نمو الطحلبين حصل ايضا عند اضافه تراكيز مختلفه من الرصاص وازداد تثبيط النمو بزيادة تركيز الرصاص وطول فترة التعريض وقد يعود هذا الى تأثير الرصاص على الطحلب في طور النمو الاسي والذي يسبب تناقص في انقسام الخلايا في هذا الطور وبالتالي على معدل نمو الطحلب بشكل عام (Kessler,1986) . ومن تأثيرات الرصاص الاخرى هو تثبيط لعملية التصنيع الحيوي للبورفيرين (Hamp & Lendzein,1974). فان العلاقه عكسيه بين تراكيز الرصاص ومعدل النمو (Bajgoza,2000) ، اذ لاحظ ان معدل النمو لانواع من الطحالب الخضر المزرقه والاحمر قد تثبطت عند تعريضها

جدول رقم (٤) معدل التثبيط الحاصل لطحلب *Chroococcus sp.* المعرض لتراكيز مختلفه من الرصاص

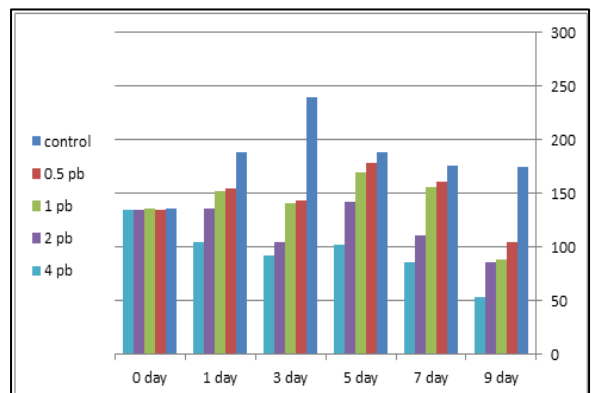
	0	1 day	3 day	5 day	7 day	9 day
control	0	0	0	0	0	0
0.5	0	39	19	53	49	52
1	0	40	38	68	74	67
2	0	42	40	72	74	76
4	0	48	66	74	74	77

جدول رقم (٥) معدل التثبيط لطحلب *Microcystis sp.* المعرض لتراكيز مختلفه من الرصاص

	0	1 day	3 day	5 day	7 day	9 day
control	0	0	0	0	0	0
0.5	0	21	40	15	8	4
1	0	23	41	9	11	49
2	0	31	56	24	36	50
4	0	52	61	45	51	69



شكل (١) تأثير اضافه معدن الرصاص في نمو طحلب *Chroococcus*



شكل (٢) تأثير اضافه معدن الرصاص في نمو طحلب *Microcystis sp.*

- free and immobilized cells of *Scenedesmus quadricauda*. *Ecotox. Environ.* 268-272.
- Bajgoza, A. (2000). Blockage of heavy metals accumulation in *Chlorella vulgaris* cell by 24-epibrassinolid- plant *physiol. Bioch.* (7): 797- 801.
- Bieny, C.D., Calama, D. and Moriea, P. (1996) Review of heavy metals. *Review of pollution in African Aquatic Enviroment*, 25:17.
- Bourrelly, P. (1980). *les Algues deuu douce*, initiation ala systematic, Soc. Nour. Edit. Boubee, Paris, 517 p. Cited by venkataraman and Beeker, 1985.
- Brinkhuis, B.H. and Chung I.K. (1986). The effects of copper on fine structure of the klep *Laminaria saccharina*.
- Cobbett, C. & Goldbrough, P. (2002). Phytochelatin and metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis, *Annu. Rev. plant Biol.* Volume: 53, pp. 159-182.
- Crompton, T.R. and Consultant, A.G. (1998). Toxicant in the aqueous ecosystem. -
- Desikashary, T. (1959). *Cyanophyta*. India council of agriculture Reaserch, New Delhi, 517 p.
- Droop, M. (1967). A producer for routin purification of algae culture with antibiotics. *Br. Phycol. Bull.* 3: 295-297.
- Fasulo, M.P.; Basst, M. and Donini, A. (1983). Cytotoxic effect of hexavalent chromium in *Euglena gracilis*.
- Hamp, R. and Lendzein, K. (1974). Effect of lead on chlorophylle synthesis. *Nature wisswnschaften.*, 61: 218-219.
- Kassim, T.L.; Al-Saad, H.A.; Al-Lami, A. and Al-Jabery, H.H. (1997). Heavy metal in water, suspended particales sediments and aquatic plants of the upper region of Euphrates river. *Iraq. J. Enviro. Sci. Health*, A32(9&8), 2497-2506.
- Kessler, E. (1986). Limits of growth of five *Chlorella* species in the presence of toxic heavy metals. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 73(1): 123-123.
- Nyholm, N. (1985). Response variable in algae growth inhibition test biomass or growth rate. *Water research*, 19(3): 273-279.
- Pellegrin, L.; Delivpopulos, S. and Pellagrini, M. (1990). Arsenic induced ultrastructural changes in vegetative cells of *Cytocera barbata* form *repens zinova et kalugina* (Fucophyceas, Fucales). *Biotonica mar.* 33: 229 – 234.
- Pistocchi, R.; Guerrini, F.; Balboni, V. and Boni, L. (1997). Copper toxicity and carbohydrate production in the micro algae *Cyldirothica*

لتراكيز مساويه من الرصاص او اكبر من ١٠ ملغم / لتر وهذا يتفق مع دراستنا الحاليه. تختلف الطحالب فيما بينها من حيث اليه المقاومه للعناصر الثقيله حيث تقوم بانتاج معقدات عضويه تقلل من اخذ العناصر الثقيله مما يخفض سميته هذه المواد بواسطه الارتباط بها وضعف فعاليه الايون ومن بين هذه المركبات العضويه الرابطة هي السكريات المتعدده التي تؤدي عمل كبيرا في ربط العناصر الثقيله لوجود التداخل الذي يحصل بسبب شحنتها السالبه والمعدن ولوحظ بان قابليه الربط تعتمد على التركيب الكيميائي للسكريات المتعدده (Pistocchi et al., 1997)، وهذا يتفق مع اختلاف استجابته الطحالب لتراكيز الرصاص المختلفه حيث ابدى طحلب *Microcystis* sp مقاومه للمعدن اكثر من الطحلب الاخر. وفي دراسته مشابهه اجريت على طحلب *Scenedesmus* له قابليه عاليه على تركيز الرصاص في خلاياه بزياده التراكيز وطول فتره التعريض وكذلك تزداد معدلات تثبيط نمو هذا النوع بزياده تراكيز العنصر وطول مده التعريض (Awasthi & Rai, 2007).

#### ٥ - المصادر

- Abaychi, J.K. and Al-Obaidy, S.Z. (1987). Concentration of trace elements in aquatic vascular plants from Shatt Al-Arab river. *iraq. water. Res.* 19(4): 457-462.
- Al-Aarajy, M.J. and Al-Saadi, H.A. (1998): Effect of heavy metals on physiological and biochemical features of *Anabaena cylindrica*. *DIRASAT, natural and engineering science*. 25(1): 160-166.
- Alashour, A.SH. (2002). Effect of heavy metals on physiological and biochemical feature of *Nostoc linckia*. Ms.c theses, Uni. of Basrah.
- Albergani, V.; Pissinni, E. and Coppellotti, O. (1980). Response to heavy metals in organism, excretion and accumulation of physiological metals in *Euglena gracilis*. *Comp. Bio. Chem. Physiol.*, 67: 121 – 127.
- Al-Khafaji, B.Y. (1996). Trace metals in water, sediment and fishes from shatt Al-Arab estuary north west Arabian Gulf. PH.D theseis, collage of education, Basrah. Univ, pp. 171.
- Anderson, R.A. (2005). *Algal culturing techniques*. Physiological society of America, Elsevier Academic press, pp. 578.
- Awasthi, M. and Rai, L.C. (2007). Toxicity of Nickel, Zinc and Cadmium to nitrate uptake in

fusiformis and Gymnodinium SP. Eur. J. Phycol., 32:125-132.

- Prescott ,G.(1975).Algae of the western Greet take areas. Ellion C. Brown Co. Phd, Lowa. Pp.977.
- Robinson,N.J.(1989). Algal metallothioneins : ssecondary metabolites and proteins .J.app.phycol.1:5-18.
- Round,F.E.&Chapman D.I.(1983) Progress in phicological research .Elselver Science publisher (1983).
- Sicko – Goad, L. and Lazinsky , D. (1981). Accumulation and cellular effect of heavy metals in benthics and planktonic algae . Great lakes research ,Univ. of Michigan, 3: 289 – 290.
- Weidman .V.;Walne , P. and Tinor ,F.(1984).A new technique for obtaining axenic culture of algae .Can. J.Bot.42:958-959.