

دراسة تأثير الكيروسين على بعض الفعاليات الفسلجية في *Oscillatoria splendida*

علي مؤيد سلطان¹، حميد سلمان خميس¹، ايمن عوني سليم²

¹قسم علوم الحياة، كلية التربية للبنات، جامعة تكريت، تكريت، العراق

²كلية الصيدلة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

الملخص

اختبر تأثير تراكيز مختلفة من الكيروسين على *Oscillatoria splendida* واعتمد قياس الكثافة البصرية للنمو وتركيز الكلوروفيل وصبغة الفايكوسيانين وتركيز البروتين كمؤشر على مدى تأثير هذا النوع فضلا عن التغيرات المظهرية، اذ سجل النمو في عينة السيطرة في اليوم الثلاثون (0.34) ككثافة بصرية في حين بلغ نمو هذا النوع تحت تأثير معاملة الكيروسين 0.25% (0.23)، اذ لوحظ تباطؤ النمو بارتفاع تركيز معاملة الكيروسين، فعند المعاملة 0.5% بلغت قمة النمو (0.08)، وقد قاوم هذا النوع تأثير معاملات الكيروسين 1% و 2% لكن بقي نمو منخفضة. ونجد ان تركيز صبغة الكلوروفيل تحت تأثير المعاملة 0.25% كان (0.32) ملغم/مل، لينخفض الى (0.165) ملغم/مل عند المعاملة 0.5% وقد تراجعت تراكيز الكلوروفيل الى الحد الأدنى تحت تأثير المعاملات 1% و 2%. وكان تركيز البروتين (0.215، 0.086) ملغم/مل تحت تأثير معاملات الكيروسين 0.25% و 0.5% على التوالي، وبالرغم من مضاعفة تركيز الكيروسين الى 1% و 2% الا ان قيم البروتين لم تختزل بشكل كامل، ولوحظت بعض التغيرات المظهرية منها ميل ألوان الخلايا الى الاصفرار مع زيادة طفيفة في طول الخلايا. ومن طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء لعينة الكيروسين بوجود *Oscillatoria splendida* يلاحظ استهلاك الحزم الواقعة عند الترددات (2870 سم⁻¹ و 2950 سم⁻¹)، وأيضا اختفاء الحزم الواقعة عند الترددات (2300 سم⁻¹)، (1500 سم⁻¹)، مع ظهور حزمة جديدة عند التردد (800 سم⁻¹) والتي قد تعزى الى استحداث مركب جديد لم يكن موجود في عينة الكيروسين.

الكلمات الدالة: *Oscillatoria splendida*، السيانوبكتريا، الكيروسين.

المقدمة

الكائنات الحية وبيئتها، وبالتالي يحدث خلل في توازن مكونات النظام البيئي مما يجعل الاعراض السلبية ظاهرة للعيان. ان المركبات المتاحة بايولوجيا Bioavailable هي المركبات التي تستطيع النفاذ Transporting عبر اغشية الاحياء الدقيقة وبالتالي يمكن تحليلها وتحويلها الى اشكال اخرى وهذه المركبات غالبا ما تكون مركبات قطبية قابلة الذوبان في الماء الا ان الهيدروكربونات مركبات غير قطبية Nonpolar شحيحة الذوبان في الماء Low solubility in water وسهلة الامتصاص من قبل مكونات التربة وبالتالي فهي غير متاحة حيويًا non bioavailable (8). أن عملية تحطيم الهيدروكربونات تتم بوجود الانزيمات المؤكسدة Oxygenase (13) والتي من اهم متطلباتها توفر الاوكسجين. اما المركبات الأروماتية Aromatic غالبا ما تتحطم بفعل الانزيمات الخارجية Dioxygenase enzyme، ويعتقد Cerniglia (3) امتلاك أنواع السيانوبكتريا المقاومة للهيدروكربونات كلا الانزيمين Oxygenase و Dioxygenase.

وتهدف الدراسة الحالية الى معرفة قابلية النوع *Oscillatoria splendida* كنموذج للسيانوبكتريا وقدرتها على تحليل المركبات الهيدروكربونية للتخلص من الاثار السلبية على الاحياء سواء كان في التربة او المياه اضافة الى التأثير السلبى للانظمة البيئية التي من الممكن ان تحدثها مثل هذه المركبات كالكيروسين وغيرها من المشتقات النفطية ان معرفة الالية والتغيرات البايوكيميائية التي تحصل

يعد النفط ومشتقاته من الملوثات الأساسية للبيئات اليابسة والمائية نتيجة لعمليات التنقيب واستخراج النفط والغاز الطبيعي أو منصات تعبئة أو نقل هذه المنتجات في المناطق البحرية أو المحاذية لها (1). ان أنواع السيانوبكتريا تنتشر في معظم البيئات المائية وفي معظم عينات التربة (2). وقد بين الباحث Fay بان بعض أنواعها قد تتواجد في بيئات منطرفة وهي ذاتية التغذية Photoautotrophs (6) وعند تواجد السيانوبكتريا بعيدة عن الضوء فإنها تبقى ساكنة الا ان بعض انواعها يمكنها تأييض بعض المركبات العضوية منها السكريات (14). ان من اسباب انتشارها الواسع امتلاكها آليات تكيفيه خاصة (5) وفي مقدمتها قدرتها على تحمل تأثير الملوثات ومنها المركبات النفطية الحاوية على طيف واسع من المركبات الهيدروكربونية وقد تلعب دورا مهما في عملية التحلل الحيوي لبعض المركبات النفطية (4). ويقدر بعض الباحثين في مجال البتروكيماويات بان عدد المركبات الهيدروكربونية في المشتقات النفطية قد يصل الى ثلاثة ملايين، ان المشتقات النفطية هي المزيج الاكثر تعقيدا للمركبات الهيدروكربونية التي تسبب مشكلة تلوث عالمية تطل التربة والماء والهواء وقد تنفذ الى المياه الجوفية وبدورها تختزل اعداد كبيرة من الاحياء الدقيقة المدورة للعناصر وبالتالي تدمر وتعطل السلاسل الغذائية وتعيق سريان الطاقة (13)، وللهيدروكربونات تأثيرات سمية بالغة Exhibit toxic فضلا عن كونها مسببات سرطانية Carcinogenic وأيضا مطفرات وراثية Mutagenic (9)، ان التلوث بالمركبات الهيدروكربونية يسبب تعطل العلاقات المتبادلة بين

BG11 المدرجة في الجدول 1 في الماء المقطر مع عملية التحريك المستمر باستخدام جهاز Magnetic Stirrer Hotplate نوع Gallen Kamp للحصول على ذوبان وتجانس كامل لمكونات الوسط، وضبط الأس الهيدروجيني الـ pH لهذا الوسط بحدود 7.6-7.8 باستخدام بيكربونات الصوديوم (NaHCO₃) و حامض الهيدروكلوريك المخفف (HCl) 0.1 عياري، وتمت عملية قياس الـ pH بواسطة جهاز قياس الدالة الحامضية pH meter نوع Oyster، حيث يؤخذ حجم (100) مل من الوسط ويوزع في دوارق ذات حجم 250 مل وتغلق فوهات الدوارق بسدادات معدة مسبقا من القطن الطبي والشاش، ثم تعقم باستخدام جهاز التعقيم الرطب Autoclave نوع Sanshe modl yx280B بدرجة حرارة 121 °م ولمدة 20 دقيقة تحت ضغط يبلغ 15 باوند/انج² لتصبح معدة لعملية الزرع، وللحصول على BG11 ذو القوام الصلب يضاف الاكار بنسبة 1% من مكونات الوسط.

للسيانوبكتريا من الممكن ان تؤدي الى استخدام تلك الكائنات لمعالجة التلوث البيئي بالمشثقات النفطية.

المواد وطرائق العمل

مواقع جمع العينات

جمعت العينات خلال شهري أيار وحزيران من مواقع مختلفة واقعة ضمن محافظة صلاح الدين وهي من مدينة تكريت وسامراء وبلد والدجيل، من نهر دجلة ومن بعض المستنقعات والحدائق، لضمان الحصول على انواع عديدة من افراد السيانوبكتريا، واشتملت العينات المجموعة على ماء وتربة ووضعت العينات المجموعة لغرض الدراسة في أكياس وقناني بلاستيكية معقمة تم إعدادها مسبقا لهذا الغرض لحين نقلها الى المختبر وزراعتها على أطباق حاوية على الوسط المغذي BG11.

الوسط الزراعي السائل BG11

يعد من أفضل الاوساط الانتقائية المتكاملة العناصر الغذائية التي توفر كافة متطلبات التغذية للسايانوبكتريا (15) أذيبت مكونات الوسط

جدول (1) يوضح مركبات وتراكيز الوسط BG11

الوزن	المادة	ت	الوزن	المادة	ت
6 mg	Citric acid	6	1.5 g	NaNO ₃	1
6 mg	Ferric ammonium citrate	7	0.075 g	MgSO ₄ •7H ₂ O	2
1 mg	Disodium EDTA	8	0.04 g	K ₂ HPO ₄	3
1 liter	Distilled Water	9	0.036	CaCl ₂ •2H ₂ O	4
1 ml	Trace metal mix A5	10	0.02 g	Na ₂ CO ₃	5
Trace metal mix A5					
الوزن	المادة	ت	الوزن	المادة	ت
0.079g	CuSO ₄ •5H ₂ O	5	2.86g	H ₃ BO ₃	1
0.049g	Co(NO ₃) ₂ •6H ₂ O	6	1.81g	MnCl ₂ •4H ₂ O	2
1 liter	Distilled Water	7	0.39g	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	3
7.1	يضببط على الاس الهيدروجيني	8	0.222g	ZnSO ₄ •7H ₂ O	4

بعد عزل وتنقية بعض الانواع، تم تنميتها على اوساط BG11 سائلة حاوية على الكيروسين وتم انتخاب *Oscillatoria splendida* كونه مقاوم، وتطلب تكيفه مدة زمنية طويلة من الزرع مع التعريض المستمر الهيدروكربونات امتدت الى ستة أشهر.

اختيار الكيروسين

مما لا شك فيه ان الكيروسين (النقط الابيض) من الملوثات الخطرة التي تهدد بيئتنا وقد استخدم أربعة تراكيز للكيروسين كما مبين في الجدول 2.

جدول (2) يوضح تراكيز الكيروسين المستخدمة

المعاملة	التركيز الأول	التركيز الثاني	التركيز الثالث	التركيز الرابع
الكيروسين	0.25%	0.5%	1%	2%

قياس النمو: تم تنمية *Oscillatoria splendida* على الوسط السائل BG11 لمدة 30 يوما، تحت ظروف التنمية المشار إليها انفا،

تنمية وعزل السيانوبكتريا

زرعت العينات التي جمعت من مناطق متعددة على أطباق حاوية على الوسط BG11 الصلب، ثم حضنت الأطباق في حاضنة مبردة Cooled Incubator بدرجة حرارة 25 °م مع تعريضها إلى إضاءة مستمرة بشدة 2500 لوكس، وبعد مرور مدة اسبوعين الى ثلاثة اسابيع لوحظت نموات دقيقة للسايانوبكتريا على شكل مستعمرات خضراء وبعضها مائل الى اللون البني، وتم تأشير المستعمرات المتميزة باستخدام القلم من اسفل الطبق بعد اجراء عملية تشخيص أوليه تحت المجهر الضوئي للمستعمرات النامية ونقلت الى أطباق بتري حاوية على الوسط الزراعي BG11 الصلب كمرحلة أولية من مراحل التنقية لتهيئة الأجناس الملائمة للدراسة، ثم نقلت المستعمرات النامية إلى دوارق ذات حجم 250 مل حاوية على 100 مل من الوسط الزراعي السائل، ثم حضنت في الحاضنة المبردة الهزازة Shaking Cooled Incubator 100 دورة/دقيقة.

اختيار أنواع السيانوبكتريا الملائمة للدراسة

استخدم المذيب العضوي رباعي كلوريد الكربون CCl_4 لإذابة المركبات العضوية المتبقية في الوسط الزرع BG11 في نهاية فترة التتمية وتم فصل المذيب عن سائل الوسط بواسطة قمع الفصل ثم وضع في انابيب بلاستيكية سعة 10 مل، واجري الفحص باستخدام جهاز طيف الأشعة تحت الحمراء FTIR نوع M.R.C LTD من خلال وضع قطرة على قرص بروميد البوتاسيوم KBr المضغوط ومن ثم توضع داخل جهاز ال IR المشار اليه في أعلاه واخذ القراءة اليا Computerize، ليتسنى لنا معرفة التغيرات التي طرأت على عينة الكيوسين، اما عينة السيطرة فهي عن 0.5 مل من الكيوسين موضوعة في 100 مل من الوسط الزرع BG11 ومحفوظة تحت تأثير نفس الظروف البيئية للمزارع النامية الا انها غير معاملة بأنواع السيانوبكتريا.

التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام برنامج Spss الاحصائي وتم إيجاد معامل الارتباط Correlations بين معاملات الكيوسين وبين النمو وتركيز الكلوروفيل والفايكوسيانين وتركيز البروتين عند مستوى المعنوية 0.05

النتائج والمناقشة

بينت نتائج تنمية النوع *Oscillatoria splendida* تحت تأثير تراكيز الكيوسين (0.25%، 0.5%، 1%، 2%) استجابات مختلفة على مستوى كل من النمو وتركيز الكلوروفيل وصبغة الفايكوسيانين، فضلا عن تركيز البروتين كما هو موضح في الاشكال المرقمة 2، 3، 4، 5 على التوالي. وتوضح الجداول 3، 4، 5، 6 معامل الارتباط بين الكثافة البصرية للنمو وتركيز الكلوروفيل وتركيز الفايكوسيانين ومحتوى البروتين وبين تراكيز المشتقات المستخدمة. في الشكل 2 نلاحظ ان نمو *Oscillatoria splendida* في عينة السيطرة كان منتظما في الايام (8، 16، 24، 30) حيث سجل (0.042، 0.09، 0.19، 0.34) وقد تآثر هذا النوع بشكل واضح عند معاملته بالكيوسين بالمقارنة مع عينة السيطرة، فعند معاملة هذا النوع بتركيز (0.25%) فان نموه يتأخر بشكل واضح حيث سجل في اليوم الثامن 0.01 وهذا ربع القيمة المسجلة في عينة السيطرة وكذا الحال في اليوم السادس عشر اذ لم يبلغ الا نصف القيمة المسجلة في عينة السيطرة، الا ان نموه قد سجل تقدما ملحوظا في اليوم الثلاثون لتبلغ كثافته الضوئية 0.23 أي ان هذه المعاملة اختزلت ثلث النمو تقريبا، وربما يعود هذا التباطؤ في الايام الاولى من فترة التتمية الى الطور التمهيدي الذي تتشغل فيه الخلايا في التعرف على الوسط والمغذيات المتاحة، وربما الى تصنيع البروتينات والانزيمات الملائمة لمقاومة التأثير السمي للمركبات الهيدروكربونية ويات معروفا حاجة السيانوبكتريا الى فترة تأقلم قبل البدء بالنمو على المواد العضوية (21)، وعلى غرار ذلك نلاحظ عند معاملة *Oscillatoria splendida* بتركيز اعلى من الكيوسين (0.5%، 1%، 2%) نجد تباطؤ النمو بشكل جلي ليسجل في اليوم الثلاثون من التتمية (0.08، 0.037، 0.028) على التوالي،

وقيس النمو ككثافة بصرية واجريت القياسات في الأيام الثامن والسادس عشر والرابع والعشرون واليوم الثلاثون من مدة الزرع من خلال اخذ حجم 5 مل من المزرعة وبدلالة الكثافة البصرية Optical density على الطول الموجي 436 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer نوع Lapo Med. inc (7).

قياس الكلوروفيل Chlorophyll a

تم قياس تركيز الكلوروفيل للنوع *Oscillatoria splendida* تبعا لطريقة Mackinney (11) بعد تعريضه لتأثير الكيوسين، ويتم القياس من خلال أخذ حجم 5 مل من المزرعة لليوم الثامن والسادس عشر والرابع والعشرين واليوم الثلاثون من مدة الزرع، ويحسب تركيز الكلوروفيل بوحدة ملغم/مل من خلال التطبيق بالمعادلة Chlorophyll a (mg/ml) = 12.7 x A663 - 2.69 x A645

تقدير كمية البروتين Protein Estimation

قدرت كمية البروتين تبعا لطريقة Lowry (14) من المحاليل الآتية:
1- محلول (A) 2% $NaCO_3$ مذابة في 0.1 مولار من (NaOH).
2- محلول (B) 0.5% $CuSO_4.5H_2O$.
3- محلول (C) 1% صوديوم بوتاسيوم تتراتات.
4- المحلول القاعدي: يحضر أنيا بواسطة مزج 50 مل من محلول (A) مع 0.5 مل من محلول (B) مع 0.5 مل من محلول (C).
5- محلول فولن (Folin-Ciocalteu reagent) بنسبة 1:1 مخفف بالماء المقطر.
6- البروتين القياسي (Standard protein) تم تحضير البروتين القياسي ألبومين البقر (BSA) Bovine Serum Albumin كما يأتي:-

A- محلول خزين Stock تركيزه 200 ملغم/لتر تم تحضيره بواسطة إذابة 5 ملغم من (BSA) في 25 مل من الماء المقطر.
B- من المحلول الخزين يتم تحضير التراكيز المطلوبة.

قياس Phycocyanin

تم قياس صبغة ال Phycocyanin من خلال اخذ حجم 5 مل من المزرعة النامية، حيث تعزل الخلايا عن سائل الوسط باستخدام جهاز الطرد المركزي Centrifuge نوع Hettich بسرعة 3500 دورة لمدة 10 دقائق، يهمل الراشح ويؤخذ الراسب الحاوي على الخلايا ويعلق في 5 مل من محلول منظم K_2HPO_4 (0.01 M phosphate buffer) بدالة حامضيه 7.0 pH (21)، تكسر الخلايا باستخدام جهاز ال Mixer نوع Griffin لمدة 20 دقيقة، ثم يرشح المحلول يهمل الراسب ويؤخذ الراشح، تقرأ الكثافة البصرية Optical density للراشح باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer نوع Lapo Med. inc، على الطولين الموجين A615، A652، نانوميتر (1).

Phycocyanin (mg/ml) = [A615 - 0.474(A652)] / 5.34

قياس العينات بجهاز امتصاص طيف الأشعة تحت الحمراء FTIR

في اليوم الثلاثون (0.324) ملغم/مل، وعند تعريضها الى (0.25%) من الكيروسين فان تراكيز البروتين تتأثر سلبا بشكل واضح في الأيام الأولى من فترة الزرع لكن نجد حدوث تقدم ملحوظ في اليوم الرابع والعشرون والثلاثون اذ بلغ تركيز البروتين (0.09 ، 0.215) ملغم/مل على التوالي، وربما تعلق قدرة بعض أنواع السيانوبكتريا على مقاومة تأثير الهيدروكربونات النفطية بسبب قدرتها على اكسدة الحديد من هذه المركبات تحت الظروف الضوئية وقد اشار Lee (18) في بحث اجراه على بعض أنواع السيانوبكتريا بانها استطاعت اكسدة المركبات الهيدروكربونية مثل naphthalene و methyl naphthalene (أكسدة الحلقة الأروماتية للنفثالين) علما انهما يصنفان ضمن المركبات الذائبة السامة، واكد Cerniglia (19) بان اكسدة السيانوبكتريا للمعدن methyl naphthalene مشابهة لآلية النظام الإنزيمي الموجود في الفطريات، وعند تعريض *Oscillatoria splendida* للكيروسين بتركيز (0.5% ، 1%) نلاحظ تأثر تركيز البروتين بشكل اكبر وربما تضاعف تركيز المعاملة يضاعف من السمية حيث بلغ في اليوم الثلاثون (0.086 ، 0.43) ملغم/مل على التوالي وهو اقل بكثير من المسجل في عينة السيطرة، ولم تسجل قيم معنوية بالمقارنة مع عينة السيطرة تحت تأثير التركيز (2%) من الكيروسين. توضح الصورة 1 نمو النوع *Oscillatoria splendida* تحت تأثير معاملة الكيروسين ولم يلاحظ تغير حقيقي في الخصائص المظهرية عند معاملة الكيروسين.

ان نتائج طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء باستخدام جهاز ال IR لعينات الكيروسين المعاملة بالنوع *Oscillatoria splendida* موضحة في الشكل 6. وتمثل عينة السيطرة 0.5 مل من الكيروسين في الوسط الزراعي خالي من وجود هذا النوع ومحضون لمدة 30 يوما تحت تأثير ظروف مماثلة للمزارع النامية، ليستنى معرفة مدى تأثير هذا النوع على عينة الكيروسين. ويلاحظ في طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء لعينة الكيروسين الغير معاملة بالسيانوبكتريا (السيطرة) التالي:

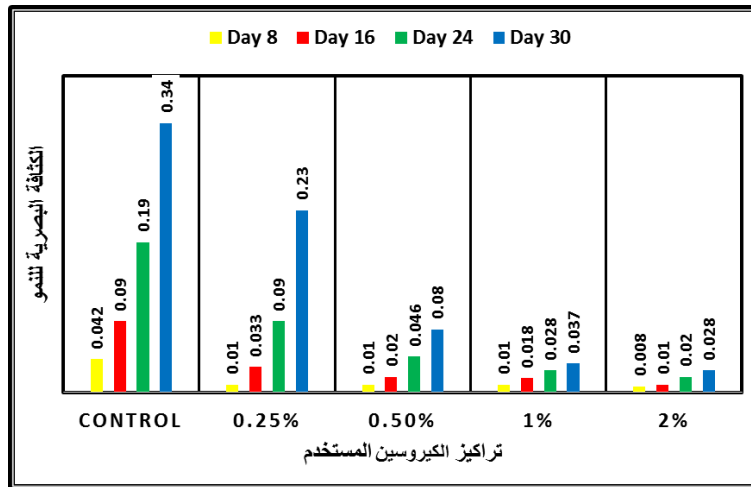
- 1- وجود حزمتان عند التردد (2870) سم⁻¹ و (2950) سم⁻¹ وهي حزمة امتصاص مجاميع المثلث الالفاتية مثل CH₃ والتي تظهر جزئياتها المط حيث تمثل الحزمة الأولى المط المتناظر والثانية المط غير المتناظر.
- 2- ظهور طيف امتصاص عند التردد (1640) سم⁻¹ يعزى الى امتصاص حزمة C=C الالفينية (الألكينات)، وتداخل مع التردد (1610) سم⁻¹ والذي يمثل امتصاص حزمة C=N مثل الامينات.
- 3- كذلك ظهور حزمتي انحناء عند التردد (1430) سم⁻¹ و (1380) سم⁻¹ يعزى الأولى الى الانحناء غير المتناظر لـ CH₃ وتعزى الثانية الى الانحناء المتناظر CH₃.

اما بوجود *Oscillatoria splendida* مع عينة الكيروسين فان حزم طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء تتغير بشكل جلي للعيان حيث

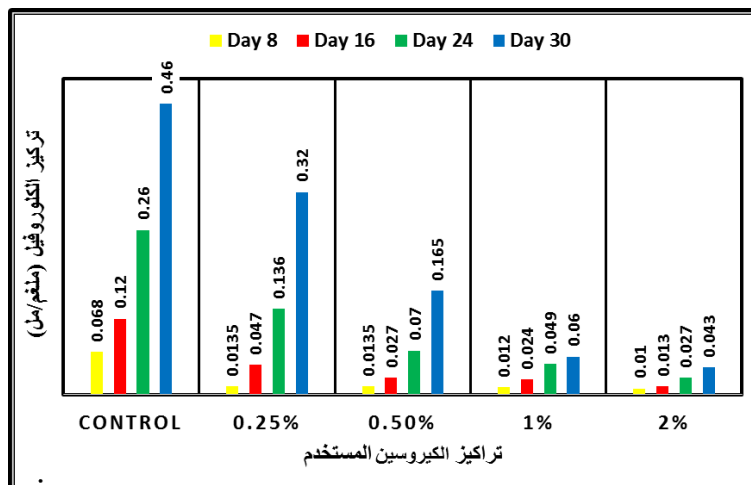
ومن جدول التحليل الاحصائي 4-6 نلاحظ ان العلاقة التي يبينها معامل الارتباط طردية تحت تأثير هذه المعاملات. وتعد معظم مركبات المشتقات النفطية من الملوثات الشائعة للتربة (5)، وقد تعزى قدرة السيانوبكتريا على المطاولة بسبب تميز جدرانها بالية خفض التبادل أي منع نفاذ بعض المركبات الهيدروكربونية الى داخل الخلية وبالتالي منع تداخلها مع المسارات الايضية (1). اما تركيز صبغة الكلوروفيل فهو موضح في الشكل 3، ففي عينة السيطرة نلاحظ ارتفاع محتوى الكلوروفيل بشكل متدرج اذ سجلت في الأيام (8 ، 16 ، 24 ، 30) التراكيز التالية وعلى التوالي (0.068 ، 0.12 ، 0.26 ، 0.46) ملغم/مل، ونجد ان تراكيز صبغة الكلوروفيل في *Oscillatoria splendida* سجلت قيم منخفضة في الأيام الأولى ولغاية اليوم السادس عشر عند معاملته بالكيروسين (0.25% ، 0.5%)، الا ان تراكيز الكلوروفيل ازدادت بشكل معنوي في اليوم الرابع والعشرين لكلا المعاملتين لتبلغ قيمة هذه الصبغة في نهاية فترة التتمية (0.32) ، (0.165) ملغم/مل على التوالي، اما عند معاملته (1% ، 2%) نلاحظ تقدم تراكيز الكلوروفيل نسبيا أي انها تزداد لكن بشكل بطيء وربما بسبب قدرة هذا النوع على تحمل ومقاومة تأثير الهيدروكربونات النفطية اذ كانت القيم منخفضة حيث سجلت في اليوم الثلاثون (0.06 ، 0.043) ملغم/مل. ان الباحثان Singh and Gaur (13) قاما بدراسة خمسة أنواع من مشتقات الكيروسين وهي مركبات البارافينات والاليفات والأروماتية ولاحظا تأثير كل مشتق بشكل منفرد على عملية تحرير الاوكسجين بعملية التركيب الضوئي وعلى التنفس في الظلام Dark respiration في النوع *Anabaena doliolum* واستنتجا ان المركبات الأروماتية والاليفاتية تثبط كلا عمليتا تحرير الاوكسجين والتنفس في الظلام بينما وجد ان البارافينات على العكس من ذلك حيث حفزت كلا العمليتين. وبالإشارة الى ملاحظات Narro (15) الذي بين ان الكيروسين ومشتقاته تثبط عملية التركيب الضوئي في الكائنات المنتجة حتى وان كان بتركيز واطنة، وربما هذا بسبب قدرة بعض المركبات الهيدروكربونية على حل الاغشية الحية. وعند قياس تركيز صبغة الفايكوسيانين في عينة السيطرة للنوع *Oscillatoria splendida* شكل 4 نجدها تسجل في اليوم الثامن والسادس عشر (3 ، 5.4) مايكروغرام/مل على التوالي لتبلغ في نهاية فترة الزرع (25) مايكروغرام/مل، وعند تعريض هذا النوع الى الكيروسين بالتركيز (0.25% ، 0.5%) تتخفض تراكيز هذه الصبغة في الأيام الأولى للتعرض الا انها تسجل قيم عالية نسبيا في اليوم الثلاثون من فترة التتمية لكلا المعاملتين (13.9 ، 7) على التوالي، ولم تسجل قيم واضحة لهذه الصبغة عند معاملتها (1% ، 2%) بالكيروسين، في دراسة Peng (17) ان بعض الهيدروكربونات النفطية تعمل على اختزال الصبغات التمثيلية وتيطى من امتصاص المغذيات وبعضها تخذل بتركيب الاغشية الحية. ان الشكل 5 يوضح تأثير المحتوى البروتيني في النوع *Oscillatoria splendida* حيث نلاحظ تطور المحتوى البروتيني بشكل منتظم في عينة السيطرة اذ بلغ

الحزم، وأيضاً ظهور حزمة جديدة عند التردد (800) سم⁻¹ تعزى الى استحداث مركب جديد لم يكن موجود في عينة الكيروسين.

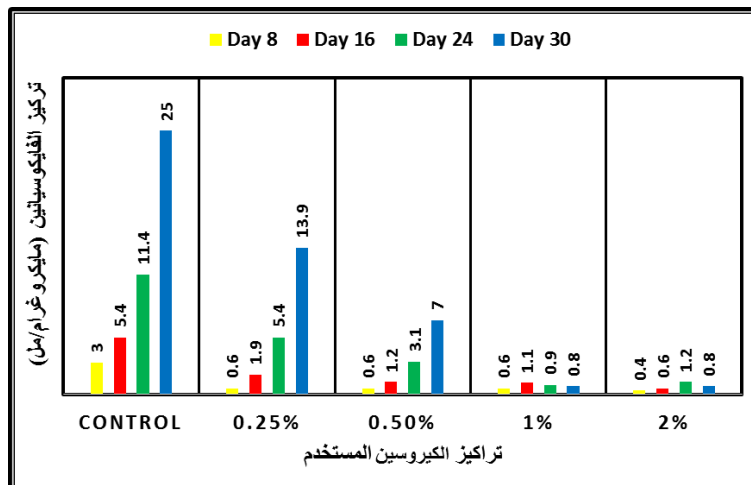
يلاحظ اختفاء الحزمة الواقعة عند التردد (2870) سم⁻¹ و (2950) سم⁻¹، وأيضاً اختفاء الحزم الواقعة عند الترددات (2300) سم⁻¹، (1500) سم⁻¹ وقد يعزى ذلك الى استهلاك تلك المركبات التي تمثل



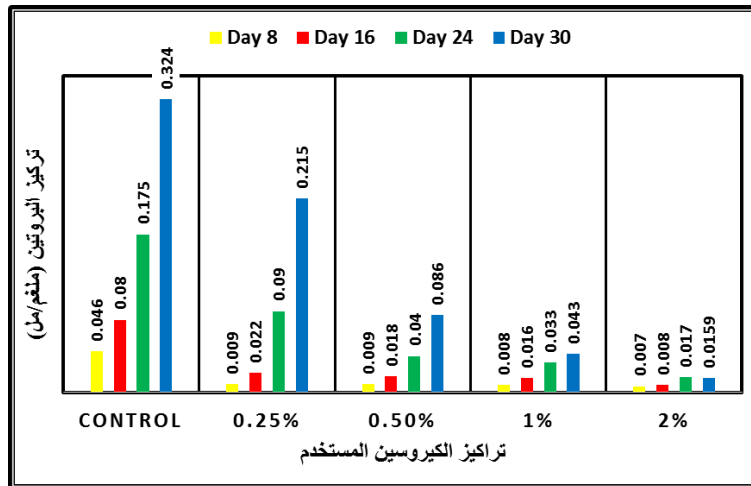
شكل 2 تأثير تراكيز مختلفة من الكيروسين على النمو في النوع *Oscillatoria splendida* على مدى (30) يوماً



شكل 3 تأثير تراكيز مختلفة من الكيروسين على تركيز الكلوروفيل في النوع *Oscillatoria splendida* على مدى (30) يوماً



شكل 4 تأثير تراكيز مختلفة من الكيروسين على صبغة الفايكوسيانين في النوع *Oscillatoria splendida* على مدى (30) يوماً



شكل 5 تأثير تراكيز مختلفة من الكيروسين على تركيز البروتين في النوع *Oscillatoria splendens* على مدى (30) يوما



صورة 1 *Oscillatoria splendens* بدون معاملة قوة التكبير x100

جدول 3 يوضح معامل الارتباط ما بين النمو ومعاملات الكيروسين (0.25% ، 0.5% ، 1% ، 2%) للنوع *Oscillatoria splendens*

ker_2 %	ker_1 %	ker_0.5 %	ker_0.25% %	Control		
.990(*)	.979(*)	1.000(**)	.990(**)	1	Pearson Correlation	Control
.010	.021	.000	.010		Sig. (2-tailed)	
4	4	4	4	4	N	

جدول 4 يوضح معامل الارتباط ما بين تركيز الكلوروفيل ومعاملات الكيروسين (0.25% ، 0.5% ، 1% ، 2%) للنوع

Oscillatoria splendens

ker_2 %	ker_1 %	ker_0.5 %	ker_0.25% %	Control		
.998(**)	.957(*)	.993(**)	.995(**)	1	Pearson Correlation	Control
.002	.043	.007	.005		Sig. (2-tailed)	
4	4	4	4	4	N	

جدول 5 يوضح معامل الارتباط ما بين الفايكوسيانين ومعاملات الكيروسين (0.25% ، 0.5% ، 1% ، 2%) للنوع

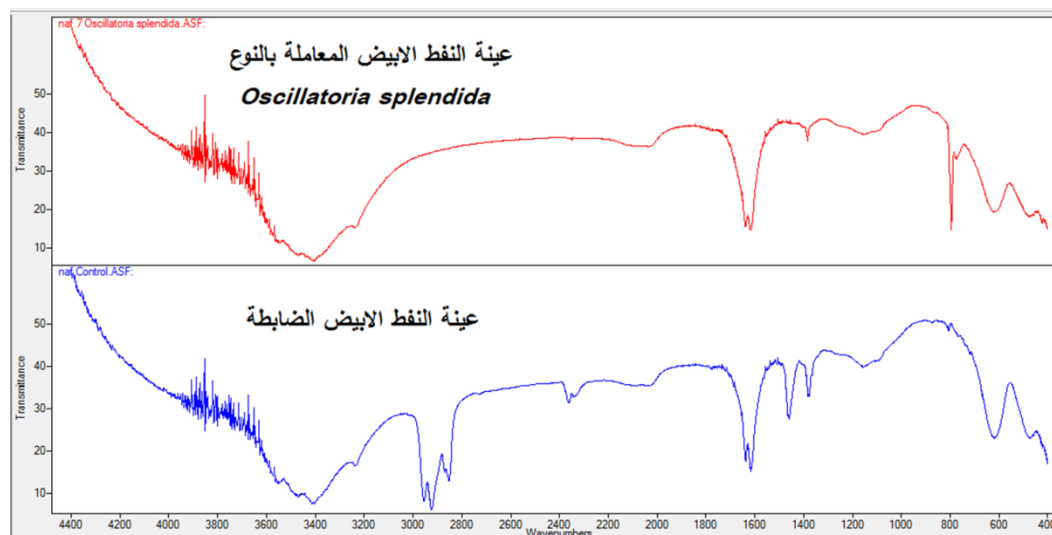
Oscillatoria splendens

ker_2 %	ker_1 %	ker_0.5 %	ker_0.25% %	Control		
.448	-.013	1.000(**)	1.000(**)	1	Pearson Correlation	Control
.552	.987	.000	.000		Sig. (2-tailed)	
4	4	4	4	4	N	

جدول 6 يوضح معامل الارتباط ما بين تركيز البروتين ومعاملات الكيروسين (0.25% ، 0.5% ، 1% ، 2%) للنوع

Oscillatoria splendida

ker_2 %	ker_1 %	ker_0.5 %	ker_0.25%	Control		
.826	.966(*)	.998(**)	.997(**)	1	Pearson Correlation	Control
.174	.034	.002	.003		Sig. (2-tailed)	
4	4	4	4	4	N	



شكل 6 يوضح طيف امتصاص الأشعة تحت الحمراء لعينة الكيروسين المعاملة بالنوع *Oscillatoria splendida*

المصادر

- 1- Wodzinski, R. S. and Coyle, J. E. (1974). Physical State of Phenanthrene for Utilization by Bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 27, 1081-1084.
- 2- Whitton, B. A. and Potts, M. (2002). The Ecology of cyanobacteria: their diversity in Time and Space. Kluwer Academic Press, Norwell, MA.
- 3- Cerniglia, C. E. (1992). Biodegradation of polycyclic hydrocarbons. Biodegradation, Vol. 3: 351-368.
- 4- Cerniglia, C. E., Gibson, D. T. and Van Baalen, C. (1979). Algal oxidation of aromatic hydrocarbons: Formation of 1-naphthol from naphthalene by *Agmenellum quadruplicatum*, strain PR-6. Biochem Biophys Res Comm 88: 50-58.
- 5- Huang, X.D., El-Alawi, Y., Penrose, D.M., Glick, B.R. and Greenberg, B.M. (2004). A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. Environmental Pollution, 130 (3): 465-476.
- 6- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K., Stackebrandt, E. (2006). The Prokaryotes, Third Edition. Springer Science + Business Media, LLC 4:1053-1073.
- 7- Fay, P. (1983). The blue-greens (cyanophyta – cyanobacteria). The institute of biology. Edward Arnold. pp. 1-88.
- 8- Gibson, C. E. and foy, R. H. (1983). The photosynthesis and growth efficiency of a plank tonic Blue Green Algae *oscillatoria redke*. Br phycol . J . 18: 39-4
- 9- Plohl, K. and Leskovsek, H. (2002). Biological degradation of motor oil in water. Acta. Chim. Slov., 49: 279-289.
- 10- Guha, S. and Jaffe, P. R. (1996). Bioavailability of Hydrophobic Compounds Partitioned into the Micellar Phase of Nonionic Surfactants. Environmental Science and Technology, 30, 1382-1391.
- 11- Juhasz, A. L., Britz, M. L. and Stanley, G. A. (1996). Degradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pseudomonas Cepacia*. Biotechnology Letters, 18, 5,577-582.
- 12- Stanier, R. Y., Kunisawa, R., Mandel, M. and Cohen Bazire, G. (1971). Purification and properties of unicellular bluegreen algae (Order Chroococcales). Bacteriol. Rev. 35: 171205.
- 13- Singh, A. K. and Gaur, J. P. (1988). Effect of assam crude on photosynthesis and associated electron transport system in *Anabaena doliolum*. Bull Environ Contam Toxicol 41:776-780

- 14- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. Vol. 75: 193-265.
- 15- Narro, M. L. (1987). Petroleum toxicity and the oxidation of aromatic hydrocarbons. In: Fay P and Van Baalen (Eds) The cyanobacteria (pp 491-511). Elsevier, Amsterdam.
- 16- Mackinney, G. (1941) Absorption of light by chlorophyll solutions. J Biol Chem 140: 315–322.
- 17- Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z. and Zhang, Z. (2009). Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis Jalapa L.* in a greenhouse plot experiment. Journal of Hazardous Materials, 168: 1490-1496.
- 18- Lee, R. E. (2008). Phycology, Fourth edition. Cambridge University Press, New York .p 24 33.
- 19- Cerniglia, C. E. (1984). Microbial Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Advances in Applied Microbiology, 30, 31-71. Stewart, W. D. (1973). Nitrogen fixation by photosynthetic microorganisms. Ann. Rev. Microbiol. Vol. 27: 283-316.
- 20- Zachleder, V. and Šetlik, I. (1982). Effect of Irradiance on the Course of RNA Synthesis in the Cell Cycle of *Scenedesmus quadricauda*. *Biologia Plantarum*, 24, 341-353.
- 21- Fay, P. (1965). Heterotrophy and nitrogen fixation in *Chlorogloea fritschii*. J. Gen. Microbiol. 39, 11-20. Tandeau de Marsac, N. and Houmard, J. (1993). Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. FEMS. J. Microbiology Reviews. Vol. 104: 119-190.

Study the effect of kerosene on some physiological activities in *Oscillatoria splendida*

Ali Muayad Sultan¹, Hammed S. Khamees¹, Ayman A. Saleem²

¹ Department of Biology, College of Education for Women, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

² College of Pharmacy, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

Abstract

The effect of different concentration of Kerosene had been examined upon *Oscillatoria splendida*, The optical density had been depended as measure for growth as well as chlorophyll *a* concentration, Phycocyanin pigment and protein concentration as an indicator of Kerosene effects, in addition to morphological changes. The optical density of growth in the control sample was (0.34), while it was (0.23) at 0.25% of kerosene concentration, It is noted slowing growth with high concentration of kerosene treatment, at 0.5% peak of growth was (0.08), and resisted the influence of the Kerosene transactions 1% and 2%, but with low growth values. concentration of chlorophyll pigment under effect of 0.25% was (0.32) mg /ml, for as low as (0.165) mg /ml at 0.5% of kerosene, Chlorophyll concentrations have fallen to the minimum under the influence of transactions 1% and 2%. Protein concentration was (0.215, 0.86) mg/ml under the influence of kerosene transactions 0.25% and 0.5% respectively, In spite of the doubling kerosene concentration to 1% and 2%, but the values of the protein did not reduced Completely. Some morphological changes were observed under the effect of kerosene such as yellowing of cells colors with a slight increase in the length of the cells. As well as the absorption spectrum infrared by FTIR show that the *Oscillatoria splendida* consume many of bundle such as (2870) cm^{-1} and (2950) cm^{-1} , also the disappearance 2300) cm^{-1} , 1500 cm^{-1} , with the appearance a new bundle at (800) cm^{-1} Attributed to the introduction of a new compound not found in control sample.