دراسة تأثير المبيدات العشبية (Oxyfluofen, Down-up, Igran) في نمو طحلب *Senedesmus quadricuda* بوجود بعض المركبات العضوية.

م. م.عذراء خليل حسين
المعهد التقني /بابل

المستخلص :

تمت دراسة للكشف عن حساسية طحلب *Senedesmus quadricuda* لثلاث مبيدات عشبية شائعة الاستخدام وهي (اكران " تيربوترين" و داون- اب 48%، اوكسيفلورفين 24.9%) بتراكيز مختلفة بشكل منفرد او بوجود بعض المركبات العضوية (ايثانول 0.05%،فيتامين الرايبوفلافين(B2) بتركيز 0.01ملغ/لتر والحامض الاميني الارجنيين بتركيز0.2ملغ/لتر)وتم قياس سمية هذه المبيدات الثلاث بدلالة كل من التغيرات في أعداد الخلايا (معدل النمو) وقياس كمية الكلوروفيل (ا) في مزارع الطحالب المختبرة .

أظهرت النتائج ان سمية المبيدات الثلاث قد ازدادت بزيادة فترة تعرض الطحلب في الأوساط الزرعية المختبرة وكانت كالتالي الاوكسيفلورفين > اكران > داون - اب ، بينما تناقصت أعداد الطحالب وكمية الكلوروفيل المحسوبة. وقد أدت إضافة المركبات العضوية(الارجنين ، فيتامين(B2)) إلى تقليل التأثير السمي للمبيدات الثلاث ، ولم تؤدي إضافة المذيب العضوي الايثانول 0.05% الى التقليل من سمية المبيدات المختبرة معنويا ($p< 0.05$).

Abstract

The study was conducted to explore the relative sensitivities of *Senedesmus quadricuda* to three commonly used herbicide(Igran ,Oxyflufen 24% , dawn -up 48%)in different concentrations separated and in combination with three organic compounds (ethanol 0.05% ,vitaminB2 .01mg/l and arginine 0.2mg/l) . The toxicity of these herbicides was measured as a change in the cell count (growth rate) and in chlorophyll (a) content in cultures of the test organism.

The results showed that, the toxicities of these three herbicides increased with exposure time as bellow (Oxyflufen 24% > Igran > dawn -up 48%) in tested cultures while the density and chlorophyll (a) content of *S. quadricuda* was decreased. An addition of organic compound reversed the toxic effects of tested herbicides with arginin or vitaminB2 while an addition of ethanol didn't exhibit significantly any change in the toxicity of these herbicides.

المقدمة

تعد المبيدات من ابرز الملوثات المائية وذلك بسبب قله الوعي البيئي لدى المزارعين وسوء تصريفها في البيئات المختلفة [1] ، فقد استخدمت وبشكل واسع خلال العقود الأخيرة للقضاء على الأدغال التي تؤثر وبشكل سلبي في جودة وكمية المحاصيل الزراعية ، وبالتالي فأن كميات لا بأس بها من هذه المبيدات أو نواتجها تدخل البيئة المائية عن طريق السقي والأمطار أو الخاصية الشعرية [2] [3]. أن وجود المبيدات العشبية بالذات يمثل خطرا على الكائنات ضوئية التغذية photo autotrophy مما يؤدي إلى خفض مستوى الإنتاجية ألأولية للنظام البيئي وبالتالي التأثير السلبي بوظيفة الشبكة الغذائية [4] [5].

تشكل الطحالب الجزء الرئيسي والقاعدة الأساسية في السلسلة الغذائية للنظام البيئي المائي باعتبارها المنتجات الرئيسية في تلك السلسلة [6] [7] وتلعب دورا مهما في التوازن البيئي فهي تعتبر مصدرا رئيسا لغذاء الأسماك والقشريات وغيرها من الحيوانات الأخرى كما وأنها تقوم بأهم عملية كيميائية وهي عملية البناء الضوئي والتي تطرح من خلالها الأوكسجين المجهز للبيئة المائية وكذلك إنتاج مركبات ومواد عضوية (سكريات بصورة خاصة) [8] ولذلك أجريت العديد من الدراسات البيئية حول تأثير هذه المبيدات على فعالياتها الايضية كالتنفس و تكوين الكلوروفيل و فعالية ألأنزيمات الداخلة في تفاعلات البناء الضوئي و حجم الخلايا بالإضافة إلى معدلات النمو (كثافة الخلايا) [9] [10] [11]. وقد وجد[12] عند تعريض طحلب *Senedesmus quardricauda* لتركيز 1ملغم/لتر Atrazine ولمدة تسعة أيام فان معدل النمو قد ثبط بنسبة 60 % وثبط (الكلوروفيل أ) بنسبة 68% مقارنة مع معاملة السيطرة . واجريت دراسه عن تأثير الChlorate على عمليه البناء الضوئي باستخدام تراكيز واطئه على نوعين من الطحالب اذ ظهر تثبيطه لانقسام الخلايا وعمليه البناء الضوئي عند التركيز 3 ملغم/لتر بعد (48) ساعة من التعرض، في حين حدث تثبيط مباشر لعميله البناء الضوئي عند استعمال تركيز عالي (50) ملغم/لتر[13].

كما وأشار العديد من الباحثين إلى إن التأثير السمي للمبيدات العشبية يختلف باختلاف جنس ونوع الطحلب ومدة التعريض [14] و [15] فعندما قارن [14] بين نوعين من الطحالب *Skeletonema costatum* وهو من الدايتومات و *Selenastrum copricontum* وهو من الطحالب الخضراء، كان طحلب *Skeletonema* اكثر تحسسا لمبيد Glyphosat ب7-10 مرات من

طحلب *Selenastrum*. كما بينت الدراسة التي أجريت من قبل [16] (تأثير مبيد Irgaral 1051) حيث لوحظ تأثيره على عمليه البناء الضوئي إذ أدى إلى تثبيطه من خلال تثبيط سلسله نقل الالكترونات ، كذلك توثر من خلال كون هذه المبيدات تذوب في دهون أغشيه الخلايا ومن ثم تأثيرها على معدلات النمو والتسبب بنقص في كميه المواد الكاربوهيدراتيه داخل أجسام الخلايا، وقام [17] بدراسة تأثير مبيد (dichlorvos) وهو من عائلة المركبات Organophosphate على طحلب *Senedesmus acutus* فظهر إن استعمال هذا المبيد بتركيز (0.004 و 0.008 و 0.016 و0.032) مغلم/لتر أدى إلى تثبيط نمو الطحلب معنويا خلال 48 ساعة.

لقد نالت دراسة التداخل مابين العوامل المختلفة في نمو وازدهار الطحالب أهمية كبيرة من قبل العديد من الباحثين خاصة وان الطحالب تتواجد في بيئات تقع تحت تأثير أكثر من عامل واحد مما لفت الانتباه إلى التأثيرات المتداخلة للمبيدات وتلك العوامل [18] و [19] ، إذ أن لنوع الوسط ألزرعي ،قيمة الدالة الحمضية ، وفرة المواد العضوية أو وجود مواد كيماوية أخرى قد تعمل على زيادة التأثير السمي للمبيد أو قد تعمل على التقليل من تأثير ذلك المبيد[20] [21] [22]. وقد وجد [22]عند تعريض مجموعة من الطحالب لمبيد الاترازين Atrazine (وهو من عائلة methylthiotriazine) والمغذيات إن هناك تفاوت في مقدار الاستجابة ،فقد حصلت زيادة في حجم خلايا الطحالب الخضراء المزرقة و نقص في كمية الكلوروفيل – أ - ، أما طحلب *Navicula sp* فقد استجاب بشكل سلبي خلال 24 ساعة وزال التأثير بعد تعرضها للمغذيات. إن الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثير بعض أنواع الملوثات البيئية مثل المبيدات العشبية بصورة مفردة ودراسة التأثير المشترك للمبيدات والمركبات العضوية معا في نمو ومحتوى صبغة (كلوروفيل أ) لطحلب *Senedesmus quadricuda* .

المواد وطرق العمل

جمعت عينات الطحالب من نهر الحلة وذلك باستخدام شبكة هائمات ذات فتحات بقطر(20مايكرون) ثم ركزت باستخدام جهاز الطرد المركزي Auto bench centrifuge بسرعة (1000دورة/ دقيقة) ولمدة 4دقيقة ، ولغرض الحصول على مزرعة وحيدة الطحلب (Unialgal culture) والتي اعتمدت على طريقتي التخطيط والنشر(Streaking and spreading method) [23] باستعمال الوسط الزرعي الصلب كما استعملت طريقة التخفيف Dilution method وفيها تحضر سلسلة من التخافيف لحين الوصول إلى مزرعة وحيدة الخلية للنوع المراد دراسته ، وتم التشخيص بتحضير شرائح مؤقتة وفحصها على قوة تكبير 40X باستعمال المجهر المركب ومفتاح التشخيص الواردة في [24]pp280,Pl.64,fig.2 اذ يعود طحلب (*Senedesmus quadricuda*) الى شعبة الطحالب الخضراء Chlorophyta صنف Chlorophyceae رتبة Chlorococcales عائلة . Senedesmaceae وبعد الحصول على مزرعة نقية(axenic culture) أجريت عملية الاستزراع مرة أخرى باستخدام الوسط ألزرعي (chu.No.10) والموضحة مكوناته من قبل [25] كمزرعة احتياطية (stock culture) ونظمت درجة الأس الهيدروجيني7.5 .

أ- تأثير تراكيز مختلفة من المبيدات العشبية (بشكل منفرد):

استعملت في هذه التجربة ثلاثة أنواع من المبيدات العشبية وهي الاكران Igran " تيربوترين" من إنتاج شركة سنجنتا 6-(methylthio)1,3,5-triazine-2,4- diamine(CA)- إذ حضر منه التركيز (0.5 ملغم/لتر). والمبيد داون أب (down-up) من إنتاج شركة مصانع الأدوية البيطرية والزراعية فابكو وهو مبيد جهازي واسع الطيف من عائلة (Organophosphate) ، المادة الفعالة في هذا المبيد هي غلايفوسيت ملح ايسوبروبيل أمين 48 % (Isopropylamine Glyphosate salt of)، حضر منه التركيز (12.5 ملغم/لتر)، اما المبيد العشبي الثالث فهو اوكسيفلورفين(oxyfluorfen24.9%) من انتاج شركة دو اكروساينس ، مبيد انتقائي واسع الاستخدام في مكافحة الاعشاب الضارة وهو احد مركبات Diphenylether المادة الفعالة في هذا المبيد هي 2-chloro- α,α -trifluoro-p-toly-3-ethoxy-4-nitrophenyl ether وحضر منه التركيز(0.075 ملغم/لتر) بالإضافة إلى عينة السيطرة التي لم يضاف اليها اي تركيز من المادة الفعالة لهذه المبيدات ،اعتمادا على تركيز المادة الفعالة المثبت على عبوة كل واحدة منها ولأجل تحضير التراكيز المذكورة جرى إعداد سلسلة من التخافيف لكل مبيد وأخذ ألحجم المطلوب منه وأضيفت إلى مزرعة الطحلب ذات 500 مللتر ووضعت في حاضنة مضاءة شدة اضائتها (150 UEMS) و بدرجة حرارة (2±25م°) وبنظام إضاءة (10:14) إضاءة: ظلام مع مراعاة الرج اليومي للعينات (مرتين في اليوم) لمنع الترسبات بعدها تؤخذ عينة من كل مزرعة يوميا ولمدة 10 أيام لغرض حساب معدل النمو وعبر عن معدل النمو(growth rate) بثابت النمو μ وحسب المعادلة المذكورة في[26] :

$$\mu = \frac{\text{LogNt} - \text{LogN0}}{t}$$

اذ:

t : الزمن

N_t : المادة الطحلبية بعد الزمن t

N_0 المادة الطحلبية عند بداية التجربة .

أما زمن التضاعف (G) Doubling time (ساعة) فقد حسب من المعادلة الآتية:

$$G = \frac{0.301}{\mu}$$

وتم حساب معدل التثبيط للمعاملات كنسب مئوية للاستجابة [27]

Inhibiton% =[1- XT/ XC] ˣ100

حيث إن XT = عدد الخلايا لكل مليمتر من المزرعة.

XC = عدد الخلايا لكل مليمتر في معاملة المقارنة.

وحسب تركيز الكلوروفيل اعتمادا على معادلة (Lorenzen) الموضحة في [28] و حسب المعادلة :-

µg cha per sample = 11.9/2.43(Da – Db)/V/L

حيث أن

µg cha كمية كلوروفيل – أ- بوحدات مايكرو غرام في العينة.

Da :- الكثافة الضوئية قبل اضافة الحامض.

Db:- الكثافة الضوئية بعد اضافة الحامض .

V:- حجم الاسيتون المستعمل في الاستخلاص بوحدات ملميتر.

L:- طول الخلية الضوئية بوحدات سنتيمتر.

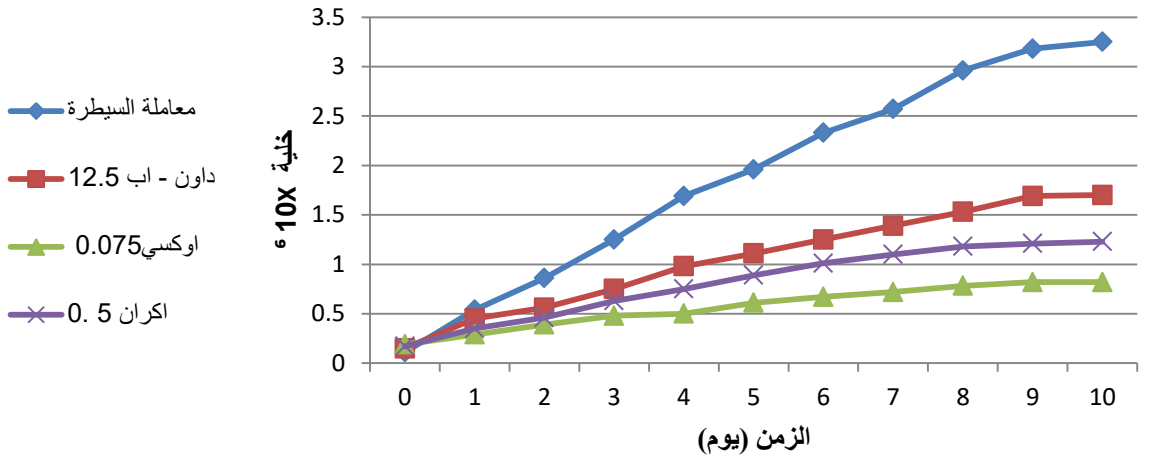
ب- تأثير التداخل بين المبيدات العشبية وبعض المركبات العضوية(ايثانول و الارجنين و الرايبوفلافين):

ولغرض توضيح تأثير التداخل بين المركبات العضوية تم تعريض هذا الطحلب إلى خليط من بعض المركبات العضوية والمبيدات المدروسة ، إذ تم اخذ 10مل من مزرعة العزلة النقية للطحلب والمنماة في الظروف المذكورة سابقا كلقاح إلى دوارق حجميه حاوية على الوسط ألزرعي (chu.No.10) مدعم التراكيز الآتية (ايثانول 0.05%+0.5ملغم/لتر مبيد اكران) و (فيتامين الرايبوفلافين(B2) 0.01 ملغم/لتر +0.5 ملغم/لتر مبيد اكران) و (الحامض الاميني الارجنين بتركيز 0.2 ملغم/لتر +0.5 ملغم/لتر مبيد اكران). وتم تعريض الطحلب لكل من المبيدين (داون - اب ذي التركيز 12.5 ملغم/لتر+ ايثانول0.05%) و(داون - اب ذي التركيز 12,5 ملغم/لتر+ فيتامين الرايبوفلافين (B2)0.01 ملغم/لتر) و (داون - اب ذي التركيز 12.5 ملغم/لتر+ الحامض الاميني الارجنين0,2 ملغم/لت و(الاوكسيفلورفين بتركيز0.075 ملغم/لتر) إلى ايثانول0.05% مرة و فيتامين الرايبوفلافين (B2)0.01ملغم/لتر مرة أخرى وأخيرا مع الحامض الاميني الارجنين0.2 ملغم/لتر وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وحضنت جميع العينات في الظروف القياسية السابقة وأخذت منها عينات لحساب عدد الخلايا وكمية (الكلوروفيل أ) أسوة بتجارب دراسة سمية المبيدات بصورة مفردة .

تم تحليل النتائج إحصائيا باستعمال تحليل التباين Analysis of variance (ANOVA test) لمعرفة معنوية تأثير المعاملات المختلفة واختبرت معنوية الفروق من المتوسطات باستعمال اختبار اقل فرق معنوي معدل (RLSD) Revised Least Significant Differences Test [29].

النتائج والمناقشة:

بينت النتائج بدلالة كل من إعداد الخلايا ومعدلات نمو طحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه إلى تراكيز مختلفة من المبيدات قيد الدراسة (اكران ، داون –اب ، اوكسيفلورفين 24.9%) وجود انخفاض معنوي ($p< 0.05$) بين تلك التراكيز ومعاملة السيطرة لمدة 10 أيام وكان الانخفاض أكثر وضوحا عند التركيز0.075 ملغم /لتر اوكسيفلورفين و 0.5 ملغم /لتر اكران و من ثم مبيد داون – اب ذي التركيز12.5 ملغم /لتر ،(الشكل1) و جدول (1)



شكل رقم (1) العدد الكلي لخلايا طحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه تراكيز مختلفة من مبيدات الأعشاب (الاكران و الاوكسيفلورفين وداون – اب)ملغم /لتر

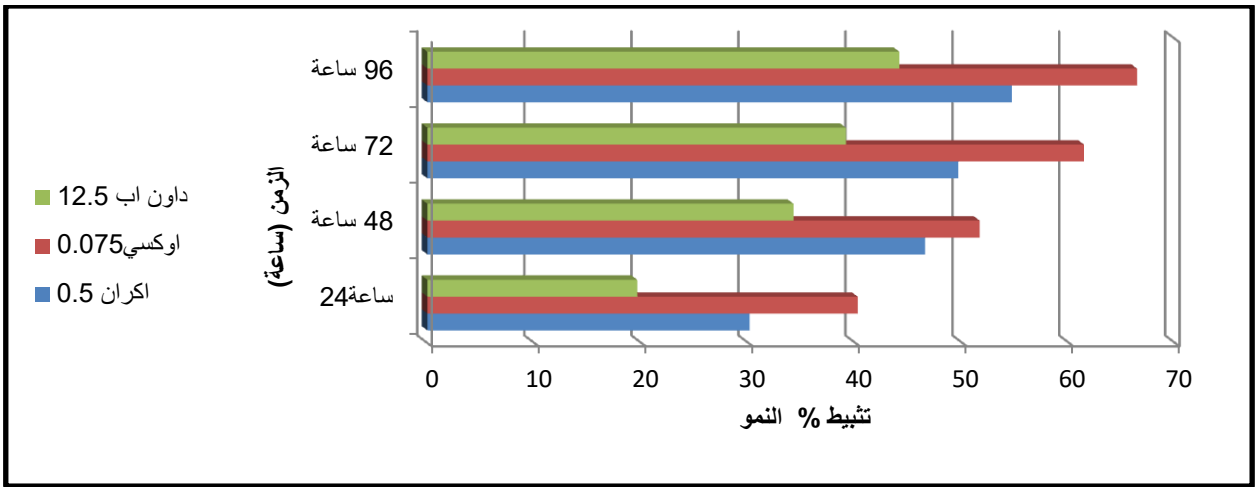
جدول(1) معدل النمو وزمن التضاعف لطحلب *Senedesmus quadricuda* اعتمادا على العدد الكلي للخلايا عند تعريضه تراكيز مختلفة من المبيدات . . ±Sd، n=12

تركيز المبيدات ملغم/ لتر	معدل النمو(μ)	زمن التضاعف G ساعة
0	0.011 ±0.147	.002± 2.047
الاكران0. 5	0.002 ±0.080	0.012± 3.54
اوكسيفلورفين0.075	0.004±0.072	0.013± 4. 583
داون- أب 12.5	.003 ±0.102	0.001± 2.047

LSD لمعدل النمو= 0.015 $p<(0.05)$ LSD لزمن التضاعف= 0.02

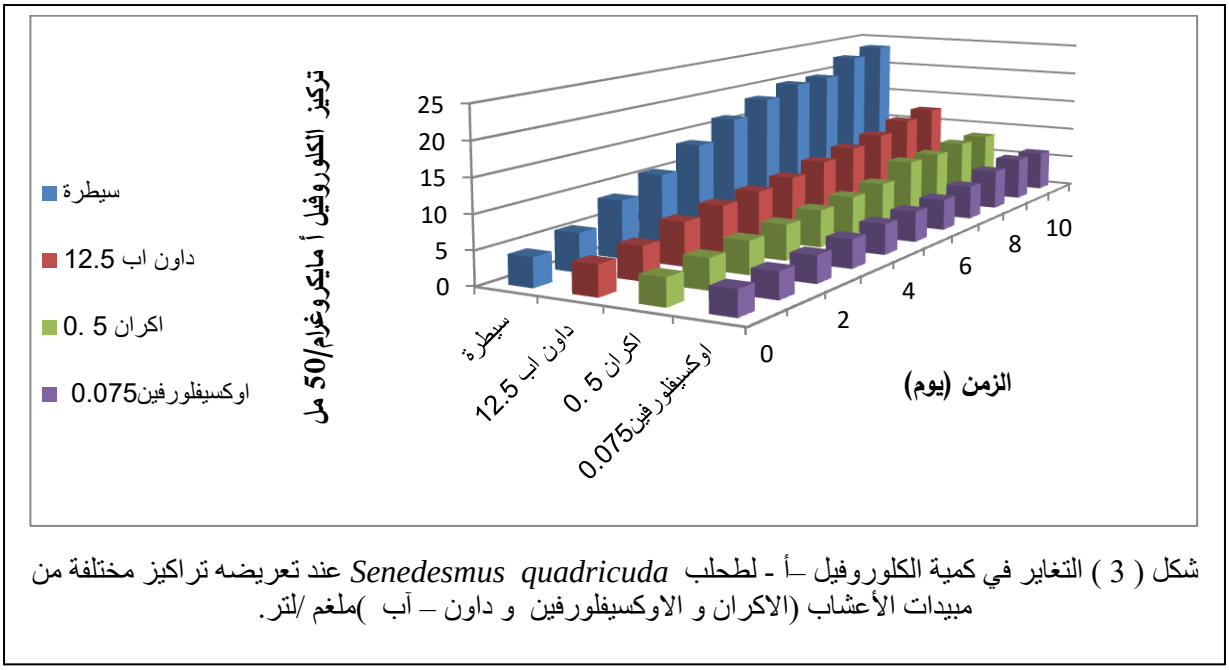
وقد اشار معامل الارتباط إلى وجود علاقة خطية سالبة بين تراكيز المبيدات المستخدمة ومعدلات النمو(r=-0.95) وأخرى موجبة بين التراكيز وزمن التضاعف(r = 0.99) وهذا يتفق مع العديد من الدراسات [9] [30] [31]. فقد أعزى[30] انخفاض عدد خلايا الطحلب بطول مدة التعرض إلى وجود تأثير سمي لهذه المبيدات لما لها من تأثير على العمليات الايضية للطحلب، ووجد [32] عند تعريض طحلب *Senedesmus acutus* إلى تراكيز مختلفة من مبيد الاترازين ان حجم خلايا الطحلب المعرضة كانت اكبر حجما من الحجم الطبيعي للخلايا في معاملة السيطرة وعزا ذلك إلى عدم قدرتها في أكمال عملية الانقسام لخلوي وبالتالي إلى انخفاض أعداد الخلايا، كما ويشير انخفاض معدل النمو وزيادة زمن التضاعف لنفس السبب ، وقد أوعز[33] انخفاض معدلات نمو طحلب*Senedesmus opoliensis* بعد تعريضه تراكيز مختلفة من مبيد كلوفوسنت الى التأثير السام الذي يتمثل بقدرته على تثبيط بناء البروتينات وكذلك التأثير على اطوار النمو ، في حين اشار[9] الى قدرة مبيد الاوكسيفلورفين على زيادة فعالية انزيم الكتاليز واكسدة الدهون وتثبيط متوسط كثافة خلايا الطحلب والكتلة الحية biomass .

وقد أظهرت نتائج الدراسة الى زيادة في معدلات تثبيط النمو بشكل تدريجي طوال فترة التعريض شكل (2) وقد أشارت معدلات التثبيط إلى وجود فروق معنوية ($p< 0.05$) بين المبيدات قيد الدراسة ، وقد تم الحصول على أعلى نسب تثبيط للمبيد الاوكسيفلورفين خلال 24 ساعة ولغاية 96 ساعة تراوحت بين (41.0 %-67.3 %) تلاه مبيد الاكران (30.1 % -54.6%) ومن ثم مبيد داون– اب (19.6 % -44.1 %) وهذا يتفق مع ما توصل إليه[34] و[35] فقد وجد[34] وجماعته ان مبيد الكلفوسنت و الاترازين قد عملا خلال12- 96 ساعة من تعريض طحلب *Chlorella vulgaris* لها على تثبط النمو بنسبة45.8% و56.1% للمبيدين على التوالي وقد أكدوا على مقدرة هذين المبيدين في إحداث تغيير في تركيبة البلاستيدات الخضراء من خلال اختزال الجينات المسئولة عنها.



شكل (2) معدلات تثبيط % نمو طحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه تراكيز مختلفة من مبيدات الأعشاب (الاكران و الاوكسيفلورفين و داون – آب)ملغم /لتر.

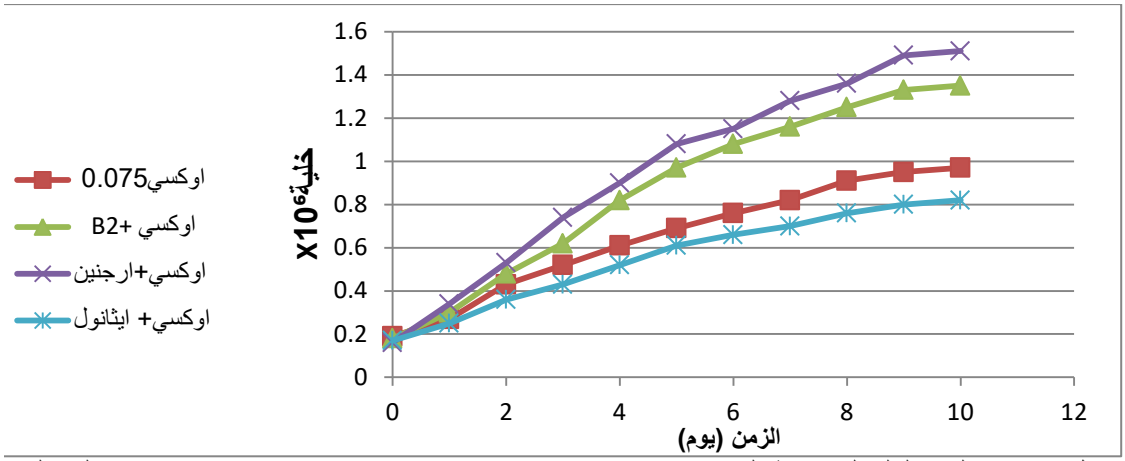
كشفت نتائج الدراسة الحالية انخفاض محتوى الكلوروفيل- أ- عند إضافة المبيدات العشبية وكالتالي الاوكسيفلورفين ثم الاكران وحل داون – اب بالمرتبة الثالثة شكل(3) إذ أدى ذلك التعرض الى انخفاض محتوى الكلوروفيل بشكل معنوي ($P<0.05$) بالمقارنة مع معاملة السيطرة ، وهو ايضا يتوافق مع ما لاحظه[12][36][37] الذين أكدا وجود علاقة ما بين المبيدات العشبية و تثبيط فعالية النظام الضوئي photo system II 2 و photo system I و تاثير المبيدات المدروسة على المكونات الداخلية للطحلب لانها تؤثر في تركيب الدهون خاصة المفسفرة والتي تغير الهدف الرئيسي لعملية التركيب الضوئي، واشار [35] عند تعريض طحلب *Senedesmus acutus* لمبيد الاوكسيفلورفين ان ذلك التعريض ادى الى التقليل من محتوى الكلوروفيل وعزا السبب في ذلك الى حساسية الإنزيمات المسئولة عن بناء صبغة الكلوروفيل تجاه ذلك المبيد.



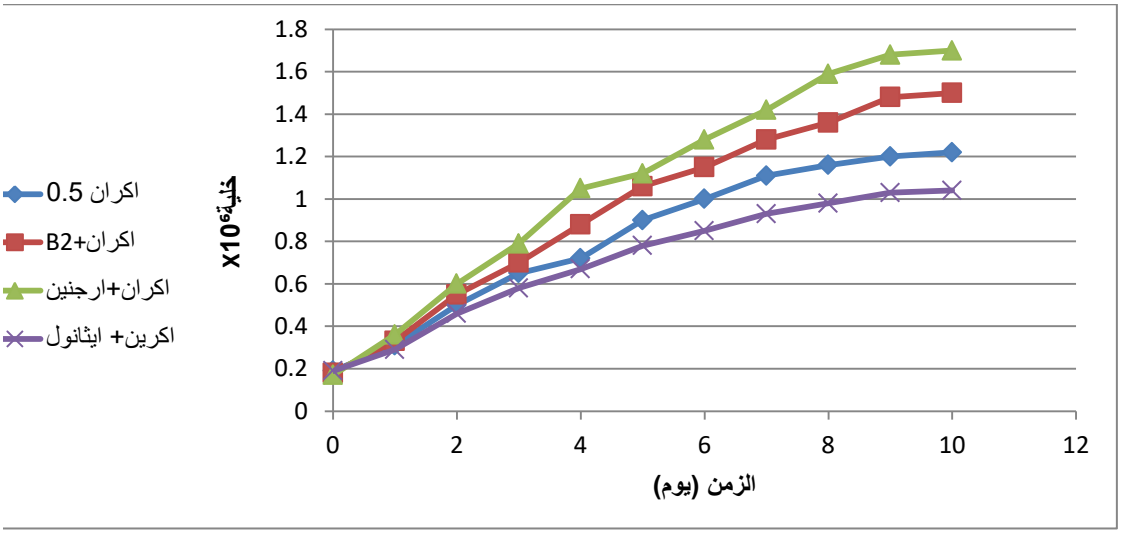
شكل (3) التغاير في كمية الكلوروفيل –أ - لطحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه تراكيز مختلفة من مبيدات الأعشاب (الاكران و الاوكسيفلورفين و داون – آب)ملغم /لتر.

ومن خلال ملاحظة نتائج التداخل بين المبيدات المدروسة واحد هذه المركبات العضوية (0.01 ملغم /لتر B2 او0.2 ملغم /لتر ارجنين اوميثانول 0.05ملغم /لتر) ، فقد وجدنا ان هناك تاثير ايجابي معنوي($p<0.05$) لكل من0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين) في تقليل سمية هذه المبيدات من خلال زيادة اعداد الخلايا وارتفاع معدلات النمو والتقليل من زمن التضاعف في حين كان لوجود الايثانول 0.05 % تأثيرا ضارا وان لم يختلف معنويا عن المعاملة المنفردة لكل من المبيدات (الاكران او الاوكسيفلورفين او داون – آب) ، شكل (4) وشكل(5) وشكل(6) ،وجدول(2)و(3)و(4) . تبين من نتائج شكل (7) تأثير التداخل بين المبيدات المدروسة والمركبات العضوية في محتوى الطحلب من صبغة كلوروفيل –أ- واثبت وجود فروق معنوية($p<0.05$) في معاملات التداخل (المبيد+0.2 ملغم /لتر من الحامض الاميني الارجنين) و (المبيد+0.01 ملغم /لتر فيتامين

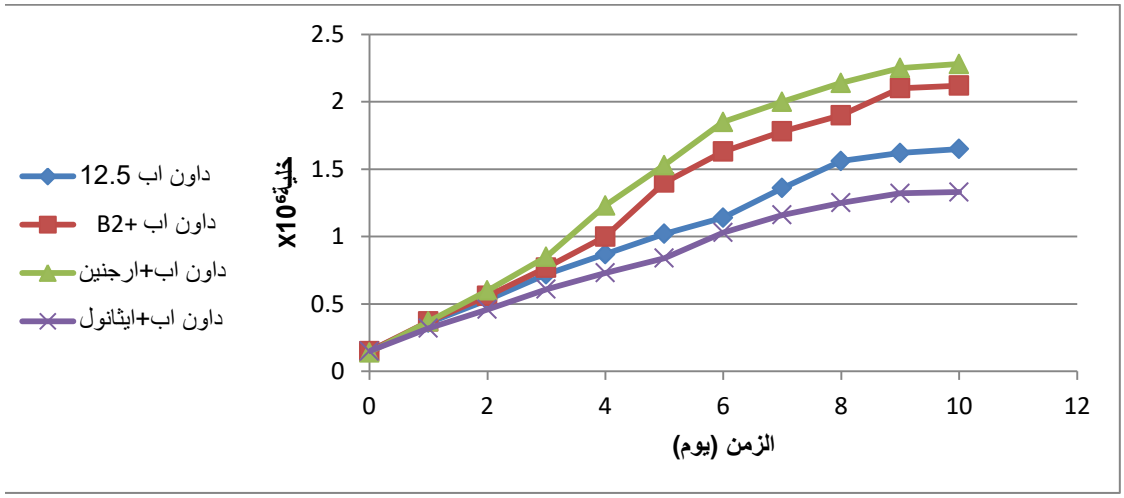
B2) بالمقارنة مع معاملة الطحلب بالمبيدات الثلاث(الاكران او الاوكسيفلورفين او داون – آب) لوحدها ،اذ تم الحصول على اعلى معدل عند المعاملة (12.5ملغم/لتر داون – اب +ارجنين) والذي بلغ(4.88 مايكروغرام/ مل كلوروفيل –أ- ومعاملة (اكران0.05 ملغم/لتر + ارجنين) وبلغت(4.32) مايكروغرام/ مل كلوروفيل –أ- و معاملة (اوكسي0.075 ملغم/لتر + ارجنين) وكانت (4.01) مايكروغرام/ مل، وكذلك ازدادت كميات صبغة الكلوروفيل – أ – في المعاملات (المبيدات المدروسة+0.01 ملغم /لتر فيتامين B2) ولم تختلف نتائجها معنويا($p<0.05$) عن معاملات(المبيد+0.2 ملغم /لتر ارجنين)، وكان هناك تاثير ايجابي اخر لكنه طفيف ولم يكن معنويا في زيادة كمية صبغة الكلوروفيل – أ– عند تعريض الطحلب لمعاملات (المبيدات +0.05% ايثانول) .



شكل رقم (4) العدد الكلي لخلايا طحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه تركيز 0.075 ملغم /لتر من مبيد الاوكسيفلورفين بوجود كل من 0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين ايثانول 0.05% (كل على حدا) مبيد ملغم/ لتر.



شكل رقم (5) العدد الكلي لخلايا طحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه لتركيز 0.5 ملغم /لتر من مبيد الاكران بوجود كل من 0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين و ايثانول 0.05% (كل على حدا).



شكل رقم (6) العدد الكلي لخلايا طحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه تركيز 12.5ملغم/ لتر من مبيد داون - اب بوجود كل من (0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين وايثانول 0.05% (كل على حدا).

جدول(2) معدل النمو وزمن التضاعف لطحلب *Senedesmus quadricuda* اعتمادا على العدد الكلي للخلايا عند تعريضه تركيز 0.075 ملغم /لتر من مبيد الاوكسيفلورفين بوجود كل من 0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين ايثانول 0.05% (كل على حد) مبيد ملغم/ لتر. ±Sd، n=12

تركيز المبيدات ملغم/ لتر	معدل النمو(µ)	زمن التضاعف G ساعة
اوكسيفلورفين 0.075	0.02±0.072	0.01±4.239±0.01
اوكسي0.075 +B2	0.003±0.087	0.14±3.457±0.12
اوكسي0.075 +ارجنين	0.022±0.097	0.05±3.103±0.05
اوكسي0.075 +ايثانول	0.001±0.068	0.03±4.426±0.03

LSD لمعدل النمو=0.017 p<(0.05) LSD لزمن التضاعف= 0.124

جدول(3) معدل النمو وزمن التضاعف لطحلب *Senedesmus quadricuda* اعتمادا على العدد الكلي للخلايا عند تعريضه لتركيز 0. 5 ملغم /لتر من مبيد الاكران +(0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين وايثانول 0.05% (كل على حدا). ±Sd، n=12

تركيز المبيدات ملغم/ لتر	معدل النمو(µ)	زمن التضاعف G ساعة
اكران 0.5	0.001±0.08	0.01±3.762
اكران0.5 + B2	0.007±0.092	0. 2±3.271
اكران0.5+ ارجنين	0.003±0.101	0.03±2.98
اكران0.5 + ايثانول	0.002±0.073	0. 11±4.123

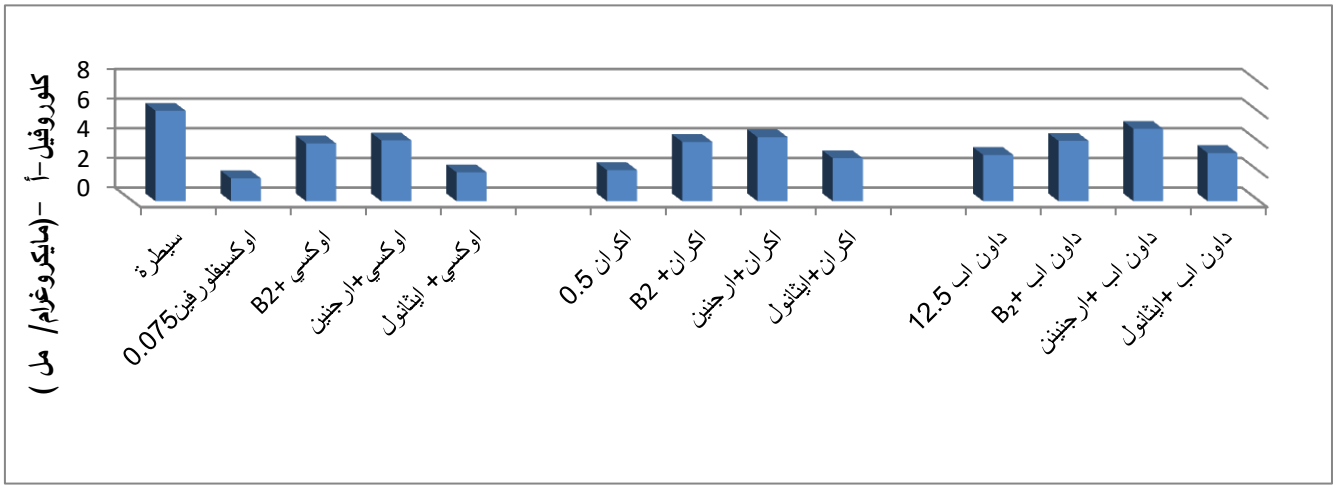
LSD لمعدل النمو0.013 p<(0.05) LSD لزمن التضاعف=0.137

جدول(4) معدل النمو وزمن التضاعف لطحلب *Senedesmus quadricuda* اعتمادا على العدد الكلي للخلايا عند تعريضه تركيز 12.5ملغم/ لتر من مبيد داون -اب بوجود كل من (0.01 ملغم /لتر B2 و0.2 ملغم /لتر ارجنين وايثانول 0.05% (كل على حدا). ±Sd، n=12

تركيز المبيدات ملغم/ لتر	معدل النمو(µ)	زمن التضاعف G ساعة
داون -اب 12.5	0.003±0.102	0.13±2.894
داون- اب12.5 +B2	0.001±0.115	0.21±2.617
داون - اب12.5+ارجنين	0.002±0.121	0.15±2.487
داون -اب12.5+ ايثانول	0.005±0.095	0.18±3.168

L.S.D لمعدل النمو0.008 p<(0.05) LSD لزمن التضاعف=0.34

وجاءت هذه النتيجة موافقة للعديد من الدراسات السابقة والتي تؤكد قابلية العديد من المركبات العضوية اما في التقليل او في زيادة التأثير السمي للمبيدات ، وباقي الملوثات[21] [38] [39] [40][41] ، فقد وجد[37]Paydey ان اضافة الاحماض الامينية (الاسبارتك اسد او الارجنين)الى مزرعة طحلب *Nostoc Calcicola* معرضة للمبيد ستيم(اف34) بروبانول قد عمل على عكس التأثير السام للمبيد ووزيادة معدلات النمو. وكذلك عمل فيتامين C في حماية صبغة كلوروفيل – أ- لطحلب *Senedesmus acutus* من تأثير مبيد الاوكسيفلورفين[41] ، اما [39] فقد اشار الى ان اضافة المادة العضوية perfluorooctane (PFOS) الى مزرعة طحلب *Senedesmus obliquus* معرض لمبيد الاترازين ادى الى تقليل التأثير المثبط للنمو بالمقارنة مع معاملة الطحلب بالمبيد لوحده ، وعند تعريض طحلب *Senedesmus obliquus* الى (فيتامين2B+Cocl2)و(فيتامين2B+ Nicl2) مرة اخرى كان هناك تأثير ايجابي تمثل بزيادة في اعداد الخلايا ومحتوى الصبغات الضوئية مقارنة مع معاملة الطحلب بالمعادن الثقيلة لوحدها [40].اما تأثير المذيب العضوي الايثانول مع الاترازين فقد كان تعاضدي ضعيف في نمو طحلب*Selenastrum copricontum* لجميع التراكيز وتضادي مع تراكيز معينة في نمو طحلب *Chlorella vulgarsi* [21] وعليه يمكن الاستنتاج ان هذه المبيدات المدروسة قد عملت على تثبيط نمو ومحتوى صبغة الكلوروفيل أ للطحلب وكان لإضافة الارجنين و الرايبوفلافين الاثر الايجابي في التخفيف من ذلك التأثير، ولذا نوصي بالتوسع في دراسة تأثير انواع اخرى من المبيدات وتأثير تداخلها مع عوامل بيئية وملوثات على انواع مختلفة من الطحالب الشائعة في بيئتنا لاسيما ذات الاهمية الاقتصادية.



شكل (7) تأثير التداخل بين المبيدات العشبية و المركبات العضوية (0.01 ملغم/لتر فيتامين الرايبوفلافين2 B،0.2 ملغم/لتر الحامض الاميني الارجنين ،المذيب العضوي ايثانول 0.05% في كمية صبغة كلوروفيل – أ - لطحلب *Senedesmus quadricuda* عند تعريضه لها مدة 10 أيام .

Referance:

1-Peterson, H.G. ; Boutin, C. ; Freemark, K.E. and Martin, P.A. (1997). Toxicity of hexazinone and diquat to green algae , diatoms , cyanobacteria and Duckweed. Aquat. Toxicol. , 39 : 111-134.
2- Huber, A.; Bach, M. & Frede, H.G. (2000). Pollution of surface waters with pesticides in Germany:modeling non-point source inputs.*Agriculture, Ecosystems and Environment,*80, 191-204.
3-Cedergreen, N. & Streibig, J.C. (2005). The toxicity of herbicides to non-target aquatic plants and algae: assessment of predictive factors and hazard. *Pestic. Manag. Science*, 61, 1152-1160.
4-DeLorenzo, M.E.; Scott, G. I. & Ross, P.E. (1999). Effects of the agricultural pesticides atrazine, deethylatrazine, endosulfan, and chlorpyrifos on an estuarine microbial food web. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2824-2835.
5-Bester ,K. ; Hühnerfuss H. ; Brockmann U. ; Rick H. J. (1995). Biological effects of triazine herbicide contamination on marine phytoplankton. Archives of Environ.l Contam. and Toxicology,. 29, (3) : 277-283.
6-Lavens, P. and Sargeloos, P. (1996) Manual on the production and use of live food for Aquaculture. Food and Agriculture Organization of the united nations .:16-50.
7-Barghani,R.;Rezaei,K. And Javanshir, A. (2012). Inestigation The Effects Of Several Parameters On The Growth Of *Chorella Vulgaris Using Taguchis Experimental Approach*
InternationalJournal of Bioltechnology For Wellenss Industriess, (1): 128-133.
8 - Wetzel,R.(2001).Limnology,Lake and river Ecosystems, Academic Press. San Diego,California.
9-Kotrikl,A.;Gatidou,G;Lekkas,T.D.(1999)Toxic Effects Of Atrazine,Deethyl-Atrazine, Deisopropyl-Atrazine And Metolachlor On *Chlorella* Fusca Var-Fusca.Global Nest:Int.J. 1(1): 39.
10 - Geoffroy L, Dewez D, Vernet G, Popovic R. (2003) Oxyfluorfen toxic effect on S. obliquus evaluated by different photosynthetic and enzymatic biomarkers. Arch . Environmental Contamination and Toxicology,45(4):445-452.
11 - Rioboo C, O'Connor JE, Prado R, Herrero C, Cid A. .2009. Cell proliferation alterations in Chlorella cells under stress conditions. Aquat Toxicol., 14 (3):229-237.
12- Tang ,J.X.; Hoagland ,K. D.; Siegfried, B. D(1997). Differential toxicity of Atrazine to sensitivity of freshwater Alga.Bulletin of Environmental Contamination and Toxicol., 59: 631-637.
13- Stauber , J.L. (1997) . The effect of culture medium on the metal toxicityto th marine diatom , *Nitzchia closterium* and fresh water green alga *Chorella pyrenoidosa.* . Wat. Res. , 23(7) :907-911.
14-Martin,T.k.;Tsui ,LM. Chu. (2003).Aquatic toxicity of Glyphosate-based formulation: different organisms and The effect of Environmental factors. Chemospher,52:1189-1197.Available: www.elsevier.com/ locate/ chemosphere.
15- Lockret,C.K.; Hoagland ,Kyle D; Siegfried, Blair D . (2006),Comparative sensitivity of freshwater Alga to Atrazine. Bull. of Enviro. Contam. and Toxicol., 76: 73-79. Available: http://www.springerlink.com/content/101156.
16- Nystrom,B.;VanSlooten,K.B.;Berard,A.;Grandjean,D.;Druart,J. Leboulanger,C. (2002).
Toxic effects of Irgaral 1051 on Phytoplankton and macrophytes in Lake Geneva. Water.Res. ,36:2020-2028.
17- Zehra Firat A.; Kadri Cetin. (2009). Effect of dichlorvos on growth of *Scenedesmus acutus*. *Journal of Applied Biological Sciences, 3 (1): 41-43.*
18 -Ma, J. (2002). Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two green
algae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidos Bulletin of Environ. Contam. and Toxicology*, 68: 275-281.
19-Tubea ,B.; Hoagland ,Kyle D; Siegfried, Blair D.(1981). The effect of nutrient, PH and herbicide levels on algal growth rate . Hydrobio., 79:221-227.
20- Nie X, Wang X, Chen J, Zitko V, An T. (2008). Response of the freshwater Alga *chlorella vulgaris* to trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin. Environ. Toxicol., 27(1):168-173.
21- El jay,A (1996) Effects of organic solvents and solvent-atrazine interactions on two algae, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum.* Bulletin of Environmental Contam. and Toxicol., l. (36): 807-814.

22- Murdock,J.N.; Wetzel,D.L. (2012) Macromolecular response ofndividual algal cel to nutrient and Atrazine mixture within biofilms. Aquat Toxicol., 103(1-2): 9-17.
23 - Stein, J.R. (1973). Hand book of phycological methods. Cambridge Unv. Press. Cambridge , U.K.
24 - Prescott,G.W. (1982).Algae of the western Great lake areas .William, C.,Brown Co.,publishers , Dugugue ,Iowa., Pp 977.
25- Fabregas, J. and Herrero, C. (1985). Marine microalgae as potential source ofsingle cell protein. Microbiol. Biotechnol. , 23 :110-11.
26 - Fogg, G.E. (1975). Algal culture and phytoplankton ecology. 2 nded.Universityof.Wisconsin Press Wisconsin , USA. Pp :175.
27- Nyholm,N. (1985). Response variable in algae growth inhibition test biomass or growth rate. Wat. Res. , 19(3) :273-279.
28- Vollenwieder, R. (1974). A manual on methods for measuring primary production in Aquatic environment. IBP hand book . 12 Oxford 213 .
29- الراوي،خاشع محمود وخلف الله،عبد العزيز(1980).تصميم وتحليل التجارب الزراعية مطابع مديرية دار الكتب للطباعة والنشر.جامعة الموصل.155-170 .
30 - Adel A. Fathe.(2003)Some metabolic activities in the green alga *Senedesmus bijuga* as affected by the insecticide trichlorfon. Protistology, 3(2):92-98.
31- González-Barreiro O, Rioboo C, Herrero C, Cid A. 2006. Removal of triazine herbicides from freshwater systems using photosynthetic microorganisms. Environ. Pollut.,144(1):266- 271.
32-Cetin, A.K. ;Mert ,N.(2006),Growth rate of *Senedesmus acutus* in cultures exposed to Trifluralin. Polish J. of Environ. Stud., 15(4):631-633.
33- Laszlo, Fodorpatak; Bartha,Csaba; Keresztes,Z.G.(2009). Stress- physiological reaction of the green algae *Senedesmus opoliensis* to wate*r* Pollution with herbicides.Tom.,XVI/1:51-56.
34-Qian, H.;Chnw,Sheng,GD.;Xu,X. ;Lu,W.(2008). Effect of Glufosinate on antioxidant enzymes, sub cellular structure ,and gen expression in the *Chlorella vulgaris*. Aquat Toxicol. 88(4):301-307.
35-Couderchet,M.; vernt,G. (2003), Pigments as biomarker of exposure to the herbicide flazasulfuron in freshwater algae . Ecotoxl .Environ Saf.; 55(3):271-77.
36-Srinivas ,sura;marley,waiser ;Vijay, Tumber; lowrence,J.R. (2012). Effects of Glyphosate and tow herbicide mixture on microbial communities in wetlande ecosystems. Environ.Quality, 41(3):732-743.
37 -Paydey ,A.K.; Virba,S.; Tiwari, D. (1984). Toxicity of the herbicide stam f(34) propanol *on Nostoc Calcic* . Mikroiologia,24(6):369-376.
38-Walsh,GE.Yodier,Mj; Mclaugulin,L.; Lores,EM. (1987).Responses of mirine unicellular algae to brominted organic compound in six growth media. Ecotoxl Environ Saf., 14(3):215-222. Available: http:// dx. doi.org/10.1016/.0147-6513(87).90064-9.
39-Liu ,W.; Zhang, YB.; Quan,X. ; Jin, YH.;Chen,S. (2009). Effects of perfluorooctane Sulfonate on toxicity and cell uptake of other compound. *J Agric. Food Chem.*, 57(6) : 2087-2095.
40- Desouky,S.A.(2011). response of vitamins on growth criteria and same metabolic activities of Stressed *Senedesmus opoliensis cultures .Australian Jour. of Basic and Applied Sciences,5(6):89-99.*