عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لمياه نهرالحلة

عبدالرضا طه سرحان شيماء عبدالرسول عباس

قسم علوم الحياة ـ كلية مدينة العلم الجامعة ـ الكاظمية ـ بغداد

الملخص

أن الهدف من البحث هو عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لمياه نهر الحلة خصوصا" الفطريات البيضة التي تعد من الفطريات المائية المتطفلة على الأحياء المائية وبشكل رئيسي الأسماك، اختيرت أربع مواقع على نهر الحلة وهي : الأول/ منطقة الجميجمة (مدخل المدينة) ، الثاني / قرب مبنى المحافظة (مركز المدينة)، الثالث / منطقة المرانة (جنوب المدينة) والرابع / منطقة الطلائع (نهاية المدينة). لقد تم عزل الفطريات المائية باستخدام عدة أنواع من البذور منها (السمسم ، أنصاف الذرة ، الرشاد ، الشلب والدخن) لإنماء الفطريات. أظهرت النتائج وجود أربع فطريات مائية تعود للفطريات البيضية هي:

Saprolegnia, Dictyuchus, Aphanomyces , Achlya إضافة إلى ثلاثة من الفطريات الأخرى هي: , *Rhizoctonia , Pythium Fusarium* . كما بينت نتائج البحث أن أعلى تردد للفطريات كان في الموقعين الثاني والثالث مما يؤكد العلاقة بين تواجد الفطريات في مياه النهر وما يطرح إليه من مواد وفضلات وعناصر غذائية تساعد في نمو وتواجد الفطريات . لقد قيست بعض المحددات الفيزيائية والكيميائية لمياه نهر الحلة.

Isolation and Identification of Fungi Polluted the Water of Al – Hila Revere

A.R.T Sarhan , S.A. Abass

Department of Biology , University College of Madenat Al- Elem, Alkadymia , Baghdad, Iraq

Abstract

This research was conducted to survey the fungi located in the revere of Al – Hila city from November 2008 till April 2009. Four locations (Jumaijuma, City center, Marana and Taliaa) were selected represent the city center and different places from the Hila city. Results showed that there were 4 genera (aquatic fungi) belong to Oomyctes isolated from water of Hila revere and identified as : *Achlya* , *Aphanomyces* , *Dictyuchus* and *Saprolegnia* , in addition to 3 other genera belong to other groups isolated and identified as : *Fusarium* , *Pythium* and *Rhizoctonia* . City center regions (2 & 3) were recorded the highest level of fungi because of the high concentrations of nutrients and minerals came from the city to these regions. Some physical and chemical parameters of water were determined.

المقدمـة

تعود معظم الفطريات التي تتواجد في المياه إلى صنف الفطريات البيضية والتي تتضمن الأجناس *Dictyuchus, Saprolgenia* وسميت هذه الفطريات *Achyla* أعفان الماء ، يكثر تواجدها في المياه العذبة ويقل في المياه المويلحة ويكاد ينعدم في المياه البحرية واغلبها تعد فطريات مائية على الرغم من أن بعضها ينمو في التربة الرطبة . ولهذه الفطريات أهمية بيئية واقتصادية كبيرة إذ تعد من الكائنات المحللة من خلال معيشتها الرمية حيث تقوم باختزال وتحليل الأحياء الميتة من نباتات وحيوانات جنبا" إلى جنب مع البكتريا (1)، وتتطفل أيضا" على العوالق الحيوانية وبعض الطحالب والفطريات (2 ، 3) . وتأتي الأهمية الاقتصادية لهذه الفطريات من قدرتها على إصابة العديد من النباتات الاقتصادية كما أن للبعض من هذه الفطريات مثل *Saprolegnia parasitica* القدرة الفائقة على إصابة الأسماك وبيضوها مسببة خسائر اقتصادية مهمة (4). بالإضافة إلى هذه الفطريات هناك فطريات أخرى تعود إلى المجاميع الأخرى من الفطريات منها الكيسية Ascomycetes و الناقصة Deutromycetes ومن بين هذه الفطريات الأجناس *Aspergillus, Penicilium, Fusarium, Rhizoctonia* والتي تصل إلى مياه الأنهار من خلال عمليات بزل مياه السقي من الحقول إلى الأنهار . يهدف البحث الحالي إلى إمكانية التعرف على الفطريات التي تتواجد في نهر الحلة وتسبب تلوث مياه النهر .

المواد وطرق العمل

جمع عينات المياه

أخذت عينات المياه من أربعة مواقع على نهر الحلة هي : منطقة الجميجمة (مدخل النهر من شمال مدينة الحلة) ، قرب مبنى المحافظة (مركز المدينة) ، منطقة المرانة (نهاية النهر جنوب المدينة) قرب منطقة الطلائع (خارج مدينة الحلة) بواسطة قناني زجاجية معقمة سعة (250) مل حيث تم فتحها تحت سطح الماء بعمق (10-20) سم واحكم غلقها وهي تحت الماء ثم نقلت إلى المختبر في صندوق مبرد لإجراء التجارب المختبرية عليها .

عزل وتشخيص الفطريات

اتبعت الطريقة الواردة في (5) لعزل الفطريات المائية وذلك بتوزيع عينات الماء على أطباق بتري معقمة قطر(9سم) بواقع (25) مل للطبق الواحد ، ثم أضيف الطعم المتمثل ببذور السمسم أو أنصاف الذرة لتشجيع السبورات السابحة للفطريات المائية على الإنبات والنمو(6). عقمت بذور السمسم ، أنصاف الذرة ، الرشاد ، الشلب ، الدخن باستعمال جهاز التعقيم بالبخار عند درجة حرارة 121م وضغط 15باوند / انج2. لغرض التخلص من النمو البكتيري أستخدم المضاد الحيوي كلورامفنيكول المحضر بإذابة (250) ملغم كلورامفينيكول في (250) مل ماء مقطر معقم وأضيف منه (1) مل لكل طبق (7)، ووضعت في كل طبق خمسة بذور من الأنواع المذكورة أعلاه للسماح بنمو الأبواغ السابحة عليها ثم حضنت الأطباق في حاضنة مبردة بدرجة (18- 20) ° م و بعد مرور يومين فحصت لغرض ملاحظة نمو الخيوط الفطرية غير المقسمة وتمييزها عن الخيوط المقسمة التي تعود للفطريات الأخرى غير المائية . التقطت البذور المصابة وغسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم ثم نقلت إلى أطباق بتري معقمة حاوية (25) مل ماء مقطر معقم مع بذرتين من بذور السمسم أو أنصاف الذرة المعقمة المضاف إليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول وحضنت في الحاضنة لمدة يومين ثم أخذت مجموعة من الخيوط الفطرية النامية بواسطة إبرتين معقمتين ثم نقلت إلى أطباق بتري معقمة حاوية وسط مسحوق أكار الذرة (CMA) والمضاف إليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول. حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة (18- 20) ° م لمدة (4) أيام لحين نمو المستمرات . أخذت قطعة دائرية الشكل من حافة المستعمرة بقطر (7) ملم باستعمال الثاقب الفليني ووضعت في أطباق بتري معقمة وحاوية على ماء مقطر معقم مع بذرتين من الطعم والمضاد الحيوي ، حيث وضعت قطعة واحدة في كل طبق وبثلاث مكررات لكل عزلة (8). حضنت الأطباق وتم متابعة نمو المستعمرات وتكاثرها اللاجنسي والجنسي وشخصت باستخدام الفحص ألمجهري المباشر اعتمادا" على الصفات المظهرية والاستعانة بالمصادر العلمية المتخصصة (9 ، 10).

حفظ المزارع النقية

اتبعت طريقة دك (11) لحفظ المزارع النقية للفطريات، حيث أخذت قطعة من حافة مستعمرة الفطر باستخدام ثاقب فليني بقطر (8) ملم ووضعت في قنينة زجاجية معقمة سعة (25) مل حاوية على (15) مل ماء مقطر معقم مع بذرتين من بذور السمسم أو أنصاف الذرة المعقمة و(1) مل من المضاد الحيوي كلورامفينيكول وحضنت لفترة يومين بدرجة حرارة (18)°م بعدها نقلت إلى الثلاجة بدرجة (4)°م على إن يتم تجديدها كل شهر وبذلك يمكن الرجوع إليها عند الحاجة لغرض عمل المزارع الثانوية المائلة *Slant cultures* ، إضافة إلى طريقة الحفظ في أنابيب اختبار حاوية على وسط مسحوق أكار الذرة CMA .

قياس بعض الخصائص الفيزيائية للمياه

أجريت قياسات درجة الحرارة والأس الهيدروجيني والتوصيلية بالطرق المعتمدة من قبل (12)، حيث تم قياس درجة حرارة المياه مباشرة في مواقع الدراسة باستخدام محرار زئبقي مدرج بوحدات (1°م) بعد غمره في الماء لمدة (10- 15) دقيقة ثم سجلت قراءة المحرار . أما قياس الأس الهيدروجيني pH فتم إجراءه آنيا" بعد جلب العينات إلى المختبر باستخدام pH – meter في حين تم قياس التوصيلية بواسطة جهاز قياس التوصيل الكهربائي Conductivity meter .

قياس بعض الخصائص الكيميائية للمياه

تم تقدير الكالسيوم والمغنيسيوم وفق الطريقة الواردة في (13) ، وقدر البوتاسيوم باستخدام جهاز مطياف اللهب وفق الطريقة المذكورة في (14) . كما قيست كمية الأوكسجين المذاب D.O في المـاء وفق طريقة وينكلر الموضحة من قبل الباحث لند (13) ، فقد أخذت 250 مل من المياه في قنينة خاصة بهذا الفحص واجري الاختبار عليها أنيا" في المختبر بإضافة 2 مل من محلول كبريتات المنغنيز و 2 مل من محلول صوديوم – أزايد – القلوي إلى حجم العينة المذكور وأغلقت القنينة بإحكام ورجت قليلا ووضعت في مكان بارد حتى ترسب الشوائب إلى الأسفل بعدها أضيف 2 مل من كاشف النشا ثم تم تسحيحه مع محلول ثايوسلفات الصوديوم (0.025عياري) حتى الوصول إلى نقطة التعادل (اختفاء اللون الأزرق) واعتبر حجم ثايوسلفات الصوديوم المسحح هو كمية الأوكسجين المذاب وعبر عنها بوحدات (ملغم/ لتر) .

النتائـج والمناقشـة

يوضح جدول (1) الفطريات المعزولة من مياه الحلة في أربعة مواقع شملت مناطق مختلفة على النهر اثنان منها في أطراف المدينة واثنان في وسط المدينة. أظهرت النتائج وجود أربع فطريات مائية في مياه نهر الحلة هي: *Achlya Saprolegnia, Dictyuchus, Aphanomyces* ، كما بينت نتائج البحث أن أعلى تردد للفطريات كان في الموقعين الثاني والثالث مما يؤكد العلاقة بين تواجد الفطريات في مياه النهر وما يطرح إليه من مواد وفضلات وعناصر غذائية من مركز المدينة تساعد في نمو وتواجد الفطريات (15 ، 16) . إضافة إلى عدد من الفطريات الأخرى هي: *Rhizoctonia, Fusarium, Phythium,* . والتي قد تصل إلى مياه النهر من خلال عمليات بزل مياه السقي من الحقول إلى النهر، وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (17).

يوضح الجدول (2) نتائج قياسات المحددات الفيزيائية لنماذج المياه التي جمعت خلال فترة البحث حيث يلاحظ أن درجة الحرارة تراوحت بين 17 و 25 °م وعموما" فأن درجات الحرارة متقاربة في المواقع المدروسة باستثناء منطقة الموقع الثاني (مركز المدينة) حيث بلغت 25 °م ، وتعد درجة الحرارة أحد العوامل المؤثرة على النمو الفطري ولها تأثير عكسي على الأوكسجين المذاب والمتطلب الحيوي للأوكسجين (18). تراوحت قيم الأس الهيدروجيني بين 6,4 و 7,8 حيث يلاحظ أن أقل قيمة هي في العينة المأخوذة من الموقع الثاني (مركز المدينة) وقد يرجع السبب إلى إضافة حموضة نسبية للمياه من الفضلات التي تطرح من المدينة بشكل مباشر إلى النهر (19). أما قيم التوصيلية الكهربائية فقد تراوحت بين 0,95 و 1,23 ملي موز/ سم، حيث سجلت أعلى قيمة أيضا" في عينة الموقع الثاني مما يؤكد أن كميات كبيرة من الفضلات تضخ من مركز المدينة إلى النهر. يوضح جدول (3) نتائج الفحوصات الكيميائية لنماذج المياه، حيث شملت تراكيز الكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم التي لم تسجل فروقات كبيرة بين المواقع الأربعة فتراوحت مابين 21,2 - 25,8 و34,1 - 48,9 و2 ,4 – 9, 7 ملغم / لتر على التوالي. إضافة إلى قيم الأوكسجين المذاب في المواقع المائية المدروسة حيث سجلت أعلى قيم لها في الأشهر الباردة لوجود علاقة عكسية بينها وبين درجة الحرارة وخصوصا" في الموقع الثاني بسبب طرح الفضلات إلى النهر التي تؤدي إلى الإثراء الغذائي وانخفاض الأوكسجين المذاب نتيجة للتحلل الحيوي في هذا الموقع مقارنة بالمواقع الأخرى ، حيث تراوحت قيم الأوكسجين المذاب بين 1 ,5 – 9, 8 ملغم / لتر. نستنتج من نتائج البحث بأن مياه نهر الحلة ترتفع فيها نسب عدد من المحددات الفيزيائية والكيميائية مما يؤدي إلى توفير بيئة مناسبة لتواجد ونمو عدد من الكائنات الحية ومنها الفطريات التي تؤثر سلبيا" على طبيعة ونوعية المياه.

المصادر

1 . الحميم، **فريال** حميم إبراهيم (1986). علم المياه العذبة. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة البصرة : ص 218

2 .عبادي ، سعد عبد و محمد سليمان . (1990) الهندسة العلمية للبيئة . دار الحكمة للطباعة والنشر . جامع الموصل .

3. Czeczuga , B and Worrnwicz, L.(1994). Fungal parasites of algae in the waters of North Estren of Poland with reference to the environment. Acta Mycologica.29(1): 99 – 108.

4 Czeczuga ,B.and Godlweska, A. (1998). Chitinophilic zoosporic fungi in various types of water bodies. Acta Mycologica.33(1):43 – 56.

5. Czeczuga , B. (1996) Species of *Pythium* isolated from eggs of fresh – water fish . Acta Mycofluora , 31 (2) : 151-161 .

6. AL – Rekabi , S.A; Naeem , R.A and Butty , A.N (1993). Specificity of baits in isolating Saprolegniaceae. Al – Mustansiriya J.Sci. 7(1): 20 – 22.

7 .الطائي، شذى علي شفيق . (1999) . تأثير واستغلال النفط الخام وبعض مشتقاته في بعض الفطريات المائية المعزولة من نهر دجلة. رسالة ماجستير، كلية التربية – ابن الهيثم ، جامعة بغداد.

8.زيا . جارلس توما . (1985) دراسة تصنيفية وحياتية لبعض الفطريات المائية لشط العرب . رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة البصرة : ص 116 .

9. Cocker , W.C. 1965 . The Saproleginaceae with an other water molds . Univ. Notes pf N.C. Press Chapel Hill , North Carolina . 201pp.

10. Seymour , R.L. (1970) . The genus *Saprolegnia* Vevlag Von Cramer, Germany .124pp

11. Dick, M. W. (1965) . The maintenance of stock cultures of Saprolegniaceae.

12. WHO. (1996) . Guidelines for Drinking Water Quality. 2nd. Ed. Vol. 2. Geneva. Mycologia.57(5): 828 – 831.

13. Lind, O. T. (1979). Hand book of common methods in limnology. C. V. Mosby, St. Louis . pp. 286.

14. Moore, P.H. & Chapman, S.B. (19886). Methods in Plant Ecology. 2nd. Ed. Black Well Scientific Publication. pp . 589.

15 **.** فؤاد، منحر علكم و عبدالرضا طه سرحان (2001) . تلوث مياه نهر الديوانية وأثره على مواصفات مياه الشرب في محطتي إسالة ماء الديوانية والحمزة. مجلة القادسية، ،المجلد(6)،العدد(1):ص305-310.

16 . سرحان ،عبدالرضا طه، نبيل عبد عبدالرضا، حسن عباس حبيب، جواد كاظم زوري و عماد جاسم جواد(2002). دراسة كيمياوية وبايولوجية لواقع حال مياه مخلفات مصنع ألبان القادسية وأسلوب معالجتها . مجلة جامعة القادسية ،المجلد(7)،العدد(1): ص 151- 159.

17 . سرحان ،عبدالرضا طه(2002). شحة الموارد المائية وانعكاساتها على نوعية المياه وتلوثها. مجلة جامعة القادسية ،الجلد(7)،العدد(4):ص 133-148.

18. نعوم، سيماء ابراهيم (1998). دراسة مقارنة لتلوث مياه النهر والشرب لثلاث مواقع تابعة لإسالة ماء بغداد. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

19 .غالي،فائز صاحب، صاحب شنون و عبد الرضا طه سرحان (2003). دراسة مستوى تلوث نهر الديوانية خلال موسم الصيف. مجلة جامعة كربلاء.المجلد(1)، العدد(3) : ص 53-72 .

جدول 1 . الفطريات المعزولة من مياه نهر الحلة والنسب المئوية لترددها.

الفطريات المعزولة	الفترة الزمنية (شهر)						مواقع النهر المدروسة				المجموع الكلي لجنس الفطر	النسبة المئوية للتردد %
	ت2	ك1	ك2	شباط	آذار	نيسان	1	2	3	4		
Achlya	2	2	3	2	1	1	1	4	4	2	11	16,6
Aphanomyces	1	-	1	-	-	-	1	1	-	-	2	3 ,1
Dictyuchus	1	-	-	1	2	1	2	1	1	1	5	7 ,6
Saprolegnia	3	2	5	4	2	1	4	5	4	4	17	25,8
Fusarium	-	1	-	3	3	3	2	3	3	2	10	15,2
Pythium	2	3	1	-	3	3	3	4	3	2	12	18,2
Rhizoctonia	-	1	1	3	3	1	2	3	3	1	9	13,5
مجموع الفطريات	9	9	11	13	14	10	15	21	18	12	66	100,0

جدول 2 . بعض المحددات الفيزيائية لمياه نهر الحلة في عدد من المواقع على النهر.

رقم الموقع	المحددات الفيزيائية	الفترة الزمنية (شهر)					
		ت2	ك1	ك2	شباط	آذار	نيسان
1	درجة الحرارة	**24**	**20**	**18**	**20**	**21**	**22**
	الـ pH	7 ,6	7 ,1	7 ,2	7 ,4	7 ,8	7 ,5
	التوصيلية*	0 ,95	0 ,97	0 ,97	0 ,96	0 ,96	0 ,95
2	درجة الحرارة	25	23	17	19	20	22
	الـ pH	6 ,8	6 ,5	6 ,4	6 ,6	6 ,7	6 ,8
	التوصيلية	0 ,99	0 ,96	0 ,98	1 ,18	1 ,21	1,23
3	درجة الحرارة	25	22	21	22	24	25
	الـ pH	6 ,9	6 ,6	6 ,4	7 ,0	7 ,2	7 ,6
	التوصيلية	0 ,97	0 ,98	0 ,97	1 ,06	1 ,10	1 ,07
4	درجة الحرارة	24	22	19	19	21	23
	الـ pH	7 ,2	7 ,4	6 ,9	6 ,6	7 ,2	7 ,6
	التوصيلية	0 ,95	0 ,96	0 ,96	1 ,05	1 ,6	0 ,99

* وحدة التوصيلية (ملي موز/ سم)

جدول 3 . بعض المحددات الكيميائية لمياه نهر الحلة في عدد من المواقع على النهر.*

رقم الموقع	المحددات الكيميائية	الفترة الزمنية (شهر)					
		ت2	ك1	ك2	شباط	آذار	نيسان
1	كالسيوم	21 ,2	23 ,7	21 ,6	22 ,8	22 ,9	22 ,8
	مغنيسيوم	35 ,4	35 ,8	40 ,2	44 ,6	45 ,1	35 ,7
	بوتاسيوم	4 ,2	4 ,4	4 ,9	4 ,6	4 ,2	4 ,2
	D.O	6 ,2	7 ,4	8 ,9	6 ,6	6 ,1	5 ,7
2	كالسيوم	22 ,8	24 ,2	24 ,7	25 ,5	25 ,8	24 ,3
	مغنيسيوم	35 ,7	34 ,1	36 ,1	40 ,8	48 ,9	34 ,3
	بوتاسيوم	4 ,2	5 ,4	4 ,9	4 ,6	4 ,2	4 ,6
	D.O	5 ,2	6 ,6	7 ,9	6 ,5	5 ,7	5 ,1
3	كالسيوم	21 ,8	23 ,6	23 ,7	24 ,8	25 ,1	23 ,3
	مغنيسيوم	35 ,1	37 ,6	35 ,3	40 ,2	42 ,6	35 ,5
	بوتاسيوم	4 ,4	4 ,9	4 ,9	4 ,7	4 ,6	4 ,6
	D.O	5 ,1	7 ,3	8 ,4	6 ,2	6 ,2	6 ,1
4	كالسيوم	22 ,8	22 ,5	23 ,8	24 ,7	24 ,9	23 ,2
	مغنيسيوم	34 ,9	37 ,8	40 ,5	44 ,6	45 ,8	38 ,1
	بوتاسيوم	5 ,6	6 ,2	7 ,9	6 ,7	6,2	5 ,9
	D.O	5 ,1	7 ,4	8 ,1	6 ,2	6 ,2	6 ,1

- جميع الوحدات ملغم / لتر