دراسة قابلية بعض الطحالب المحلية على تحمل بعض العناصر الثقيلة

يوسف جبار ألشاهري **بشرى عصام كامل**

قسم علوم الحياة / كلية التربية

جامعة الموصل

الاستلام **القبول**

٢٧ / ٠٢ / ٢٠١١ ٢٦ / ٠٦ / ٢٠١١

Abstract

In this study Three genera of common algae isolated from local *e*nvironment in Mosul city were tested for their ability to utilize heavy metals *Oscillatoria angustissima*, *Fragellaria vaucheria* and *Lyngbya tylorii* were isolated and grown under effect of five different concentrations of heavy metals cupper chloride $CuCl_2$, cobalt chloride $CoCl_2$ and nickel chloride $NiCl_2$, and assayed for the rate of daily growth, biomass and final pH of growth medium after fifteenth days of incubation. The results showed, that the highest growth of algae was achieved at zero concentration for all treatments, while there was adecrease in growth rate and biomass production with increase of the concentration of heavy metals which were used in the experiments. All algal genera revealed tolerant capability in high concentration of heavy metals relatively. The results also showed, that *Oscillatoria angustissima* could tolerate high concentration especially nikel and the growth rate could not be affected sharply with high concentration of nikel in the growth medium.

الخلاصة

تم في هذه الدراسة اختبار قابلية ثلاثة اجناس من الطحالب الشائعة والمعزولة من البيئة المحلية لمدينة الموصل على استغلال المعادن الثقيلة إذ تم عزل الطحالب *Fragellaria vaucheria, Lyngbya tylorii, Oscillatoria angustissima*, من البيئة المحلية لمدينة الموصل وتنميتها تحت تأثير خمس تراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة ، وهي كلوريد النحاس CuCl2، كلوريد الكوبلت CoCl2، كلوريد النيكل NiCl2. وتم قياس معدل

النمو اليومي والكتلة الحيوية والأس الهيدروجيني النهائي لوسط النمو لجميع أجناس الطحالب بعد مرور 15 يوم من التحضين ولجميع المعاملات.

بينت النتائج إلى أن أعلى نمو للطحالب تحقق عند التركيز الصفري ولجميع المعاملات، كما لوحظ الانخفاض في معدل النمو والكتلة الحيوية لأجناس الطحالب بزيادة التركيز للمعادن الثقيلة المستخدمة في التجربة.

أظهرت جميع أجناس الطحالب إمكانية تحملها للتراكيز المرتفعة نسبياً من المعادن الثقيلة كما بينت النتائج بان لطحلب *Oscillatoria angustissima* القابلية على تحمل التراكيز المرتفعة من عنصر النيكل إذ لم يتأثر نمو الطحلب بدرجة كبيرة مع الزيادة في تركيز النيكل في وسط النمو.

المقدمة

تقع الطحالب ضمن مجموعة النباتات اللازهرية (الثالوسية) والتي لا يتميز فيها جسم النبات إلى جذور وسيقان وأوراق[1] وتعد الطحالب سبباً للكثير من الأضرار سواء للبيئة المائية أو حياة الكائنات المائية بل حتى على حياة الإنسان، إذ يكفي أنها تعد من المصادر الخطيرة الملوثة للمياه وخاصة مياه الإسالة مما يؤدي إلى الإضرار بحياة الملايين من سكان الكرة الأرضية. إضافة إلى إفرازها للسموم والتي تعمل على موت الكائنات المائية كالأسماك واللافقاريات وغيرها من الكائنات . وبالتالي تؤثر على حياة الإنسان عند تناوله لهذه الكائنات [2].

من جانب آخر فللطحالب فوائد جمة لا مجال لحصرها ، إذ تعد الطحالب الدقيقة مصدراً لإنتاج العديد من المواد المهمة اقتصادياً ، الأمر الذي شجع على زراعتها وإنتاج الكتلة الحيوية. فقد استخدمت لإنتاج مواد دوائية، مستحضرات مختلفة ومواد صناعية أخرى ،فضلا عن أعلاف الحيوانات وإضافات غذائية لغذاء الإنسان[3]. كما أنها سواء كانت في البيئة أو في المزارع المختبرية تطرح إلى محيطها العديد من المواد مثل السكريات البسيطة والمتعددة و كحولات و أنزيمات، وبعضها تفرز مواد ذات تأثير قاتل للبكتريا أو مواد مثبطة لنمو البكتريا[4].

أما من الناحية الغذائية ،ففضلا عن قيمتها الغذائية مثل جنس *Chlorella* و *Spirullina* فإنها استخدمت بوصفها غذاء لزيادة الوزن كما يعد تقدير الكتلة الحيوية Biomass لها ذا أهمية كبيرة في البيئة المائية . واستخدمت لهذا الغرض م ؤشرات عديدة منها الوزن الجاف، عدد الخلايا، المحتوى الكلوروفيلي ومحتوى الكاربون العضوي إضافة إلى مؤشرات أخرى مثل محتوى البروتين [5]. ومن جانب آخر استخدمت الطحالب في السنوات الأخيرة للتخلص من التأثيرات السامة للملوثات في البيئة المائية [6] وخاصة المعادن الثقيلة .إذ تلجأ

الأحياء المائية ومنها الطحالب للعديد من الآليات للتخلص من التأثيرات السمية لبعض المعادن الثقيلة، وتختلف آليات المقاومة باختلاف نوع الطحلب ونوع المعدن، وقد أظهرت بعض أنواعها قدرتها على إفراز مركبات خارج خلوية Extracellular compounds لها القدرة على الارتباط بالمعدن. وكما هو معلوم فأن للمعا دن وأيوناتها قابلية الاتحاد مع المجاميع الوظيفية أو الروابط التي توجد بالجزيئات الفعالة حيوياً مثل ((SH , OH , NH_4 , COOH , PO_4. وتحويلها للأشكال التي لا يمكنها ا لدخول إلى الخلية أو تخفض فعالية الأيون أو من خلال التحكم في نفاذية غشاء الخلية أو امتلاكها لمواقع فعالة على جدار الخلية لربط ايونات هذه المعادن بجدار الخلية.

إن هذه الآليات التي تستخدمها الطحالب في مقاومة التأثير السمي للمعادن أو منعها من الدخول إلى الخلية تعرف بالإقصاء أو الأبعاد [7 و 8]، كما أن للعديد من أنواع الطحالب القدرة على إزالة التأثير السمي داخل الخلية Intracellular بتكوينها مركبات ببتيدية غنية ب (SH) تدعى .Y-Glutamyl-cystinil في حالة التعرض للتراكيز الحادة من المعادن . أما عند مستوى التراكيز دون المميتة فيمكن ان تكُو ن مركبات Y-Glutamyl-cystinil-cystinil (GSH) وفي كلتا الحالتين تعرف مثل ه ذه المركبات الببتيدية او البروتينية بالمركبات المخلبية النباتية Phytochelating compounds وهي غنية بالحامض الأميني السستين Cystine ولها القدرة على ربط ايونات المعاد ن بتراكيبها الجزيئية عند مواقع SH الموجودة ضمن تركيبها الكيميائي منتجة بذلك معقدات المعادن [9 و 10].

ويمكن القول من وجهة نظر أخرى إن صفة التراكم قد تعطي حلول وذلك باستغلال كائنات مجهريه لها القدرة التكيفية على تحمل هذه النسب العالية من الملوثات وتركيزها في أجسامها وبالتالي العمل على تخليص البيئة منها ، وهذا ما يدعو إلى التفكير بجدية باستخدام هذه الكائنات كمعالجات أحائية أو كدلائل للتلوث حسب حساسيتها مثل الطحالب التي تمتلك كما كبيراً من الأنواع والأجناس والذي يعطي طيفاً واسعاً عن التحسس أو التحمل لهذه الملوثات ولكن لابد من توفير كائنات أو سلالات معينة قابلة للاستخدام ألمختبري من خلال إيجاد عزلات نقية باعتماد تقنية زراعة الطحالب [6] إذ تستخدم بعض أنواع الطحالب في صناعة منتجات لإزالة الزئبق من المياه الجوفية [11] مما يجعل للامتصاص الحيوي دوراً هاماً في حل مشكلة تلوث المياه من العناصر الثقيلة والناتجة عن الفعاليات الصناعية حيث أن لها القدرة على ذلك . ومن هنا يمكن البحث عن أجناس تقوم بهذا العمل بشكل فعال . لذلك جاءت هذه الدراسة لغرض التعرف على إمكانية استغلال المعادن الثقيلة من قبل بعض أجناس الطحالب المعزولة من البيئة المحلية والواسعة الانتشار.

المواد وطرائق العمل

الطحالب المستخدمة:

تم في هذه الدراسة استخدام عزلات محلية من الطحالب
Fragillaria vaucheria, (Bacillariophycophyta), *Ocillatoria angustissima*. و *Lyngbya tylorii* (Cyanophycophyta)

اذ تم عزل هذه الطحالب من البيئة المحلية لمدينة الم وصل (محطة الغابات) على نهر دجلة.

تم حفظ الطحالب المستخدمة في الدراسة وذلك بتنميتها على وسط Chu 10 في أطباق بتري ثم حفظها في الثلاجة بدرجة حرارة (4° م)، وتم تنشيط الطحالب وذلك بإعادة زراعتها كل أسبوع على وسط Chu 10 وحضن عند درجة حرارة (28° م).

الوسط الزرعي والعزل :

زرعت العينات في الوسط ألزرعي Chu 10 والذي يتكون من المواد التالية وبالتراكيز إزاء كل منها غم/ لتر.

1. $Ca(NO3)2$, 0.04
2. K_2HPO_4 , 0.01
3. $MgSO_4.7H_2O$, 0.025
4. Na_2CO_3 , 0.02
5. Na_2SiO_3 , 0.025
6. $FeCl_2$, 0.02

وبعد التحضير يضبط الأس الهيدروجيني للوسط بين (7.6_7.8) باستخدام محلول $NaHCO_3$ و HCl ويعقم عند (121° م) وضغط (1 جو) بجهاز المعقام لمدة 20 دقيقة.

اما الوسط Chu 10 الصلب فيحضر باضافة Agar بنسبة 1% الى الوسط Chu 10 السائل وبعد التعقيم يصب الوسط في اطباق بتري وتستخدم لاحقاً في عزل وتنمية الطحالب المطلوبة للدراسة.

تم زرع العينات تحت ظروف معقمة على وسط Chu 10 الصلب في اطباق بتري اذ نشرت قطرات قليلة من عينات الماء او كمية قليلة من التربة او قطع صغيرة من سطح الصخور التي تم جلبها من المحطة المدروسة ثم تم تحضين الأطباق في حاضنة تحت ظروف اضاءة مستمرة (2500 لوكس) ودرجة حرارة (28° م) ولمدة (6– 4) أسابيع بعدها تم ملاحظة مستعمرات الطحالب النامية بالعين المجردة ثم يتم فحصها مجهرياً لتحديد أنواع المستعمرات النامية. وتم نقل كل مستعمرة على حدة إلى طبق بتري حاوي على وسط Chu 10 الصلب لتنمو بمفردها للحصول على مزرعة نقية وتترك لمدة أربعة أسابيع لكي تنمو، بعدها يتم التأكد من أن

المزارع نقية وإذا كان هناك أكثر من نوع ينقل كل نوع الى طبق بتري مستقل لكي يتم ضمان الحصول على مزرعة نقية من كل من الطحالب المستخدمة في الدراسة (*Fragillaria, Ocillatoria angustissima, Lyngbya tylorii vaucheria*) وبعد ملاحظة النمو بشكل جيد يتم نقل المزارع من طبق بتري الى وسط Chu 10 السائل المعقم في دوارق زجاجية حجم (250 مل) الحاوية على (100 مل) من الوسط Chu 10 بأخذ كمية مناسبة من المزارع وإضافتها الى الوسط السائل تحت ظروف معقمة حيث توضع الدوارق الزجاجية الحاوية على وسط Chu 10 السائل في حاضنة هزازة (100 دورة/دقيقة) وإضاءة (2500 لوكس) وعند درجة حرارة (28°م) لحين الحصول على النمو المناسب . وبهذه الطريقة تم الحصول على لقاح الطحالب والذي استخدم في التجارب اللاحقة من خلال تلقيح الدوارق الزجاجية سعة (250 مل) والحاوية على (100 مل) من وسط Chu 10 السائل المعقم وبنسبة (5%) من اللقاح لكل دورق. وتم إجراء التجارب كافة بمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة.

طرائق التحليل:

قياس معدل النمو للطحالب المستخدمة في الدراسة:

زرعت العزلات المحلية للطحالب بأخذ (5 مل) من اللقاح الخاص لكل طحلب وزرعها في دوارق حجميه سعة (250 مل) حاوية على الوسط ألزرعي Chu 10 السائل بحجم (95 مل) وحضنت بدرجة حرارة (28°م) وبشدة إضاءة (2500 لوكس) لفترة 12:12 ساعة ضوء: ساعة ظلام داخل الحاضنة الهزازة وبسرعة (100 دورة/دقيقة). وتم قياس النمو والأس الهيدروجيني النهائي مباشرة لكل دورق لمدة (17) يوماً من تأريخ زراعتها إذ تم اخذ (2 مل) من المزروع يومياً وتقاس الكثافة البصرية Optical density على طول موجي (436 نانوميتر) مستخدماً جهاز المطياف الضوئي (Spectro Sc. Labomed. Inc. USA) [6]

تقدير الكتلة الحيوية للطحالب المستخدمة في الدراسة:

تم تقدير الكتلة الحيوية للطحالب المستخدمة في الدراسة وذلك من خلال ترشيح المزرعة بعد نهاية فترة التحضين باستعمال أوراق ترشيح Withmant No.1 معلومة الوزن، وبعد تجفيف العينات باستخدام الفرن بدرجة حرارة (60° م) ثم وزنها ثانية والفرق بين الوزنين يمثل الكتلة الحية الجافة للطحلب.

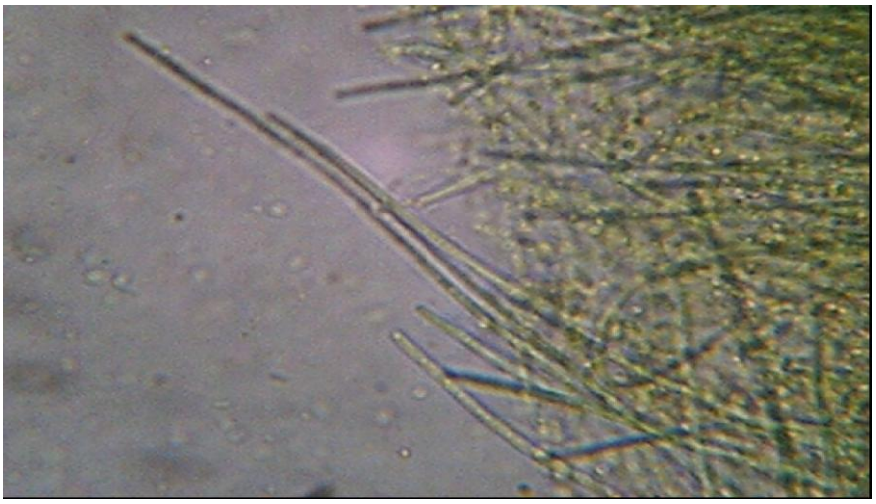
النتائج والمناقشة

تشخيص الطحالب المستخدمة في الدراسة:

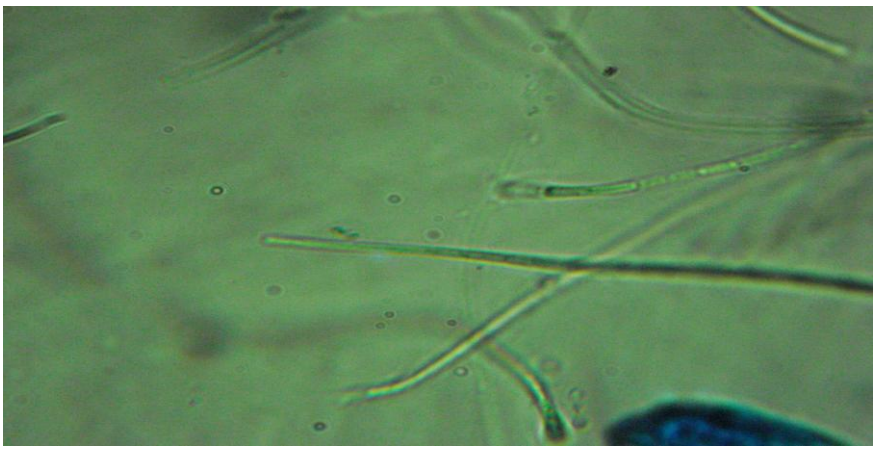
عزلت المستعمرات التي تمتاز بلونها الأخضر المزرق ، اذ ان الطحلبين *Oscillatoria angustissima, Lyngbya tylorii* يمتازان بلونهما ا لأخضر المزرق. وتم فحص الطحالب مجهرياً بوساطة الميكروسكوب المركب ، إذ إن طحلب *Oscillatoria angustissima* يتميز بشكله الخيطي غير المتفرع، ويكون الغلاف الهلامي غير واضح ويفتقر الى الخلية الساكنة Akinet والحويصلة المغايرة Heterocyst ويحتوي الخيط على اقراص الفصل Separation Disks ويكون الترايكوم متطاول غير مستدق عند القمة . والخلية النهائية مستديرة وعديمة القلنسوة والخلايا ذات قطر (1 µ) وغير متخصرة عند الجدران الخلوية (صورة 1). وبالاعتماد على البيانات أعلاه نستطيع الجزم بأن العزلة المستحصل عليها هي عزلة نقية للطحلب .*Oscillatoria angustissima* اعتماداً على المراجع [15,14,13,12].

أما طحلب *Lyngbya taylorii* يتميز أيضا بشكله الخيطي الغير متفرع والمتوازي . وقد يكون الطحلب ملتصق بالأجسام المغمورة أو طافي في الماء . إن الغلاف الهلامي لهذا الطحلب واضح ومميز عكس ما يلاحظ في طحلب *Oscillatoria angustissima* ويفتقر الطحلب الى الخلية الساكنة والحويصلة المتغايرة ولا تتميز أقراص الفصل ويكون الترايكوم متطاول وغير مستدق عند القمة والخلايا ذات قطر (4.7 µ) وغير متخصرة عند الجدران الخلوية (صورة 2) وبالاعتماد على البيانات أعلاه يمكن الجزم بأن العزلة المستحصل عليها هي عزلة نقية للطحلب *Lyngbya tylorii* اعتماداً على المراجع [15,14,13,12].

اما طحلب *Fragellaria vaucheria* فقد عزلت المستعمرات ذات اللون ا لبني إذ أن اغلب الدايتومات ذات لون مائل الى البني الترابي . الطحلب *Fragellaria vaucheria* يتميز بالمصراع المتطاول ألرمحي والجدار الخلوي يكون مستدير في نهايتيه ويح وي رافي كاذب ويتراوح عدد الحزوز بين 12_19 حز لكل 10 مايكروميتر (صورة 3). هذه المميزات تبين بوضوح أن هذه العزلة هي طحلب *Fragillaria vaucheria* اعتماداً على المراجع [15,14,13,12].



صورة رقم (١) : مجموعة خيوط لطحلب *Oscillatoria angustissima* عند القوة (40X)



صورة رقم (٢) : مجموعة خيوط لطحلب *Lyngbya tylorii* عند القوة (40X)

صورة رقم (٣) : تجمع لخلايا طحلب *Fragellaria vaucheria* عند القوة (40X)

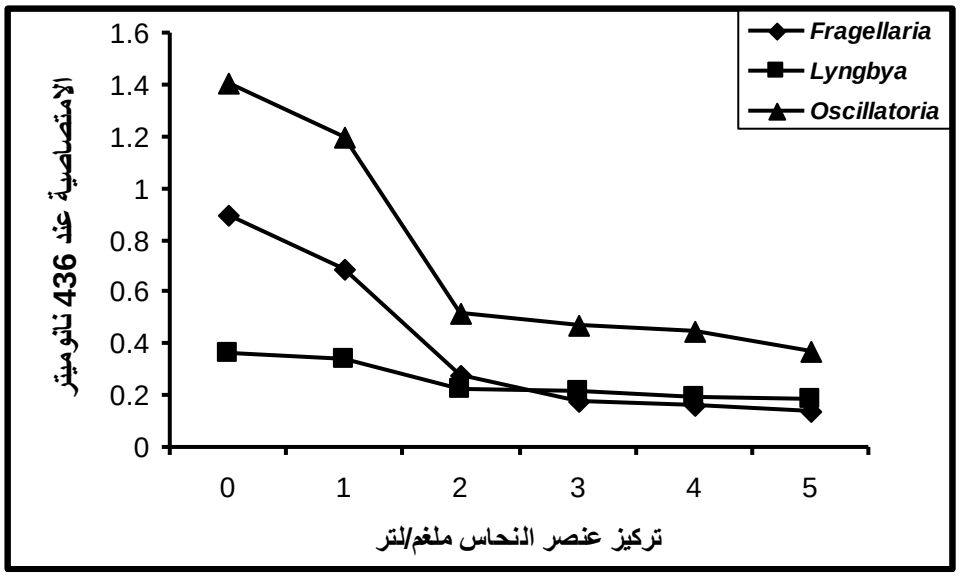
تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النحاس على النمو والكتلة الحيوية للطحالب المدروسة:

زرعت الطحالب (*L. tylorii* ، *F. vaucheria*، *O. angustissima*) تحت تأثير تراكيز مختلفة من النحاس:

(0.00, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 ملغم/ لتر) وتم قياس النمو والكتلة الحيوية والرقم الهيدروجيني النهائي للوسط بعد خمسة عشر يوماً من التحضين ولجميع المعاملات المستخدمة.

بينت النتائج (شكل1) إن أعلى نمو للطحالب تحقق عند استخدام التركيز (0.0 ملغم/لتر) من عنصر النحاس بينما انخفض النمو عند استخدام تراكيز متدرجة من عنصر النحاس اذ انخفض النمو للطحالب مع زيادة تركيز النحاس وتم الحصول على أعلى نمو للطحلب *F. vaucheria* (0.9) ككثافة بصرية عند عدم إضافة عنصر النحاس بينما بلغ النمو (0.690) ككثافة بصرية عند استخدام (1.0 ملغم/لتر) من عنصر النحاس ثم انخفض إلى (0.140) ككثافة بصرية عند استخدام التركيز (5.00 ملغم/لتر). أما طحلب *L. tylorii* فقد سجل اعلى نمو (0.361) ككثافة بصرية عند التركيز صفر ، أما عند استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) من عنصر النحاس فكان النمو (0.341) ثم انخفض النمو إلى (0.183) عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر).

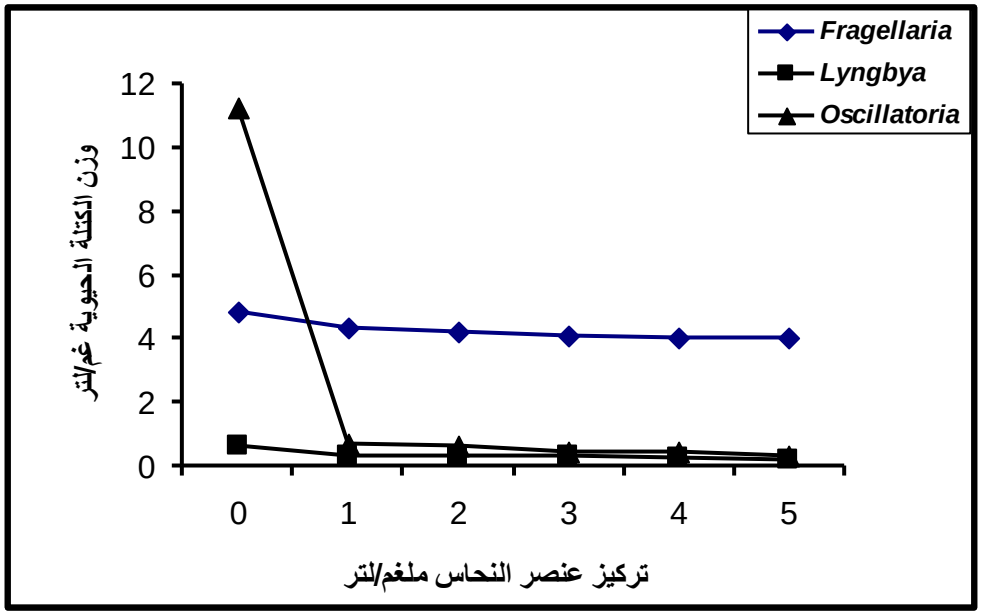
اما طحلب *O. angustissima* فقد سجل اعلي نمو (1.41) ككثافة بصرية عند عدم إضافة عنصر النحاس، بينما بلغ النمو (1.196) عند استخدا م التركيز (1.0ملغم /لتر) ثم انخفض أيضا النمو حتى وصل (0.370) ككثافة بصرية عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر)



شكل (1) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النحاس على معدل النمو للطحالب المدروسة

بينت النتائج إن إضافة عنصر النحاس إلى الوسط أدى الى حدوث انخفاض في نمو الطحالب عموماً، إذ ان الطحالب المدروسة بينت أن لها القابلية على تحمل تراكيز منخفضة من عنصر النحاس أي أن لها القابلية على استغلال تراكيز محددة في وسط النمو بحيث لا تصبح سامة على فعالية العمليات الأيضية للخلايا . إذ انه على الرغم من كون عنصر النحاس من العناصر الغذائية الضرورية للنمو وإدامة الكائنات الحية وبضمنها الإنسان إلا إن تعريض الكائن الحي لتراكيز أعلى مما يحتاجه للنمو بشكل طبيعي فانها تصبح سامة [16] وهذا يتوافق ايضاً مع نتائج اخرى[17] اذ بينوا ان لعنصر النحاس تأثير في الخواص الفسيولوجية لطحلب *Anabena cylindrica* اذ ثبطت التراكيز المنخفضة نسبياً من هذا العنصر عملية اخذ المغذيات النتروجينية ، وجاءت هذه النتيجة ايضاً متوافقة مع نتائج اخرى[6].

الكتلة الحيوية كانت أيضا مترادفة مع معدل النمو للطحالب عموماً (شكل2، جدول1) فتحقق اعلي وزن للكتلة الحيوية عند استخدام التركيز (٠.٠) ملغم/لتر لعنصر النحاس ثم انخفض وزن الكتلة الحيوية مع زيادة تراكيز عنصر النحاس المستخدمة. وهذه النتيجة متوافقة مع النتائج التي تم الحصول عليها من قبل [6] فقد تم الحصول على اعلي وزن للكتلة الحيوية (4.82 غم/لتر) لطحلب *F. vaucheria* عند عدم استخدام عنصر النحاس . بينما كان وزن الكتلة الحيوية (4.35 غم/لتر) عند استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) ثم انخفض النمو الى (4.02 غم/لتر) عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر) من عنصر النحاس . هذا الأمر أيضا متشابه مع طحلب *L. tylorii* اذ تحقق أعلى وزن للكتلة الحيوية (0.63 غم/لتر) عند مجموعة السيطرة (التركيز 0.0 ملغم/لتر) لعنصر النحاس ثم انخفض الوزن مع زيادة تركيز عنصر النحاس إذ بلغ (0.33 غم/لتر) عند استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) وانخفض وزن الكتلة الحيوية للطحلب الى (0.18 غم/لتر) عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر) من النحاس. طحلب *O. angustissima* لم يختلف عن الطحلبين السابقين إذ بلغ أعلى وزن للكتلة الحيوية (11.27 غم/لتر) عند التركيز (0.0 ملغم/لتر) بينما كان وزن الكتلة الحيوية للطحلب (0.72 غم/لتر) عند استخدام النحاس بتركيز (1.0 ملغم/لتر) وانخفضت الكتلة الحيوية الى الحد (0.32 غم/لتر) عند استخدام تركيز (5.0 ملغم/لتر). من خلال هذه النتائج يتبين لنا ان طحلب *F. vaucheria* هو اكثر الطحالب المستخدمة تحملا للتراكيز العالية نسبيا من عنصر النحاس .



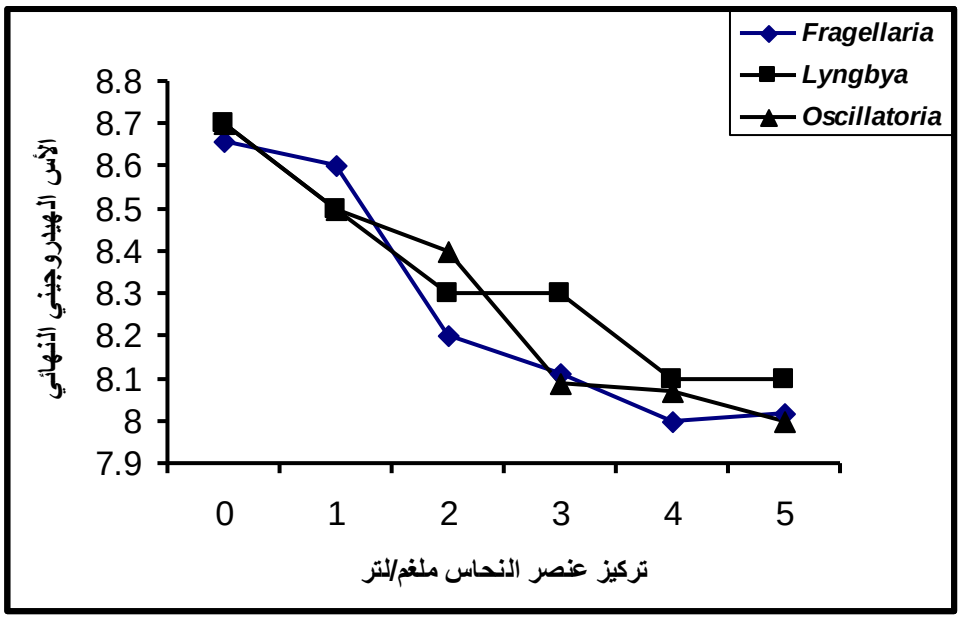
شكل (2) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النحاس على وزن الكتلة الحيوية للطحالب المدروسة

الرقم الهيدروجيني النهائي للمزرعة أيضا كان متوافقاً مع نمو الطحالب إذ كان الارتفاع واضحاً في الرقم الهيدروجيني النهائي عن الرقم الهيدروجيني الأولي عند استخدام التركيز الصفري من عنصر النحاس للطحالب المستخدمة عموماً ثم كان الارتفاع في الرقم الهيدروجيني النهائي اقل مما سبق عند استخدام التراكيز المتدرجة من عنصر النحاس (شكل 3) إذ بلغ الأس الهيدروجيني النهائي لمزرعة طحلب *F. vaucheria* (8.66) عند استخدام التركيز الصفري ثم انخفض الارتفاع في الأس الهيدروجيني مع استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) من النحاس اذ بلغ (8.60) واستمر الانخفاض في قيمة الأس الهيدروجيني النهائي حتى وصل (8.02) عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر) من عنصر النحاس.ايضاً طحلب *L. tylorii* سجل أعلى قيمة للأس الهيدروجيني النهائي (8.90) عند التركيز الصفري ثم انخفض (8.50) عند استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) من النحاس واستمر الانخفاض حتى وصل الأس الهيدروجيني الى الحد (8.10) عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر) من النحاس.طحلب *O. angustissima*. أيضا كانت اعلي قيمة فيه للأس الهيدروجيني (8.70) عند استخدام التركيز الصفري ثم انخفضت قيمة الأس الهيدروجيني (8.50) عند استخدام التركيز (1.0ملغم/لتر) من النحاس واقل قيمة للأس الهيدروجيني كانت (8.00) عند استخدام التركيز (5.00 ملغم/لتر) من النحاس . ان الارتفاع في قيمة الأس الهيدروجيني النهائي للمزار ع الطحلبية عموماً عن الأس الهيدروجيني الهيدروجيني الأولي ظاهرة شائعة في الكثير من الطحالب ويعود السبب في ذلك إلى أن الأس الهيدروجيني يتأثر بصورة مباشرة بعملية التركيب الضوئي والتي تستهلك CO_2، اذ ان استمرار

استهلاك CO_2 ولاسيما في حالة النمو المرتفع للطحلب يؤدي إلى زيادة تكوين المسببات القاعدية واطلاقها كما في المعادلات التالية: [١٩].

$$2HCO_3 \longleftrightarrow CO_2 + CO_3^{-} + H_2O$$
$$CO_3 + H_2O \longleftrightarrow CO_2 + 2HO$$

ومع انخفاض النمو نلاحظ انخفاض أيضا في قيمة الأس الهيدروجيني النهائي. وهذه النتيجة تتوافق مع ما أشارت إليه بحوث أخرى [18 و 19].



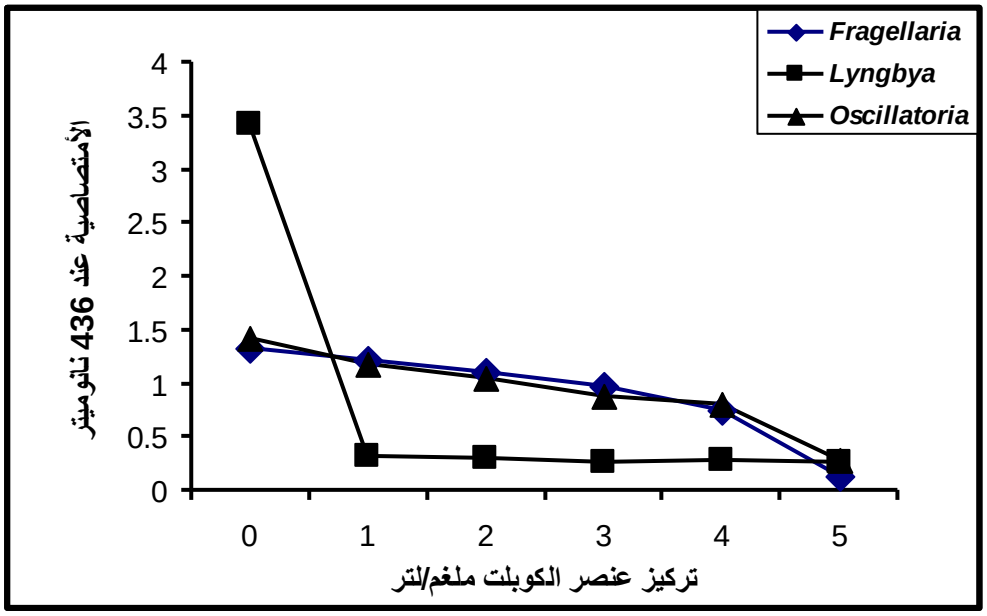
شكل (3) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النحاس على قيم الأس الهيدروجيني النهائي لوسط النمو للطحالب المدروسة

تأثير تراكيز مختلفة من عنصر الكوبلت على النمو والكتلة الحيوية للطحالب المدروسة:

زرعت الطحالب (*O. angustissima* , *L. tylorii* , *F. vaucheria*) تحت تاثير تراكيز مختلفة من عنصر الكوبلت (0.0 , 1.0 , 2.0 , 3.0 , 4.0 , 5.0 ملغم/لتر) وتم قياس النمو والكتلة الحيوية والرقم الهيدروجيني النهائي للوسط الزرعي بعد خمسة عشر يوماً من التحضين ولجميع المعاملات المستخدمة . بينت النتائج (شكل 4) ان اعلى نمو للطحالب المستخدمة في الدراسة تحقق عند استخدام التركيز (0.0 ملغم/لتر) من عنصر الكوبلت اذ بلغت قيم الامتصاصية للنمو (1.33، 0.34، 1.41) ككثافة بصرية للطحالب (*O.angustissima* , *L. tylorii* , *F. vaucheria*)

على التوالي عند استخدام التركيز (0.0 ملغم/لتر (من عنصر الكوبلت في حين بلغ النمو (1.22،0.31،1.18) ككثافة بصرية للطحالب المدروسة عند استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) من الكوبلت أي ان طحلب *L. tylorii* كان اكثر الطحالب حساسية لعنصر الكوبلت من خلال القيمة المنخفض ة للنمو المتحقق، ثم استمر الانخفاض في معدل النمو مع

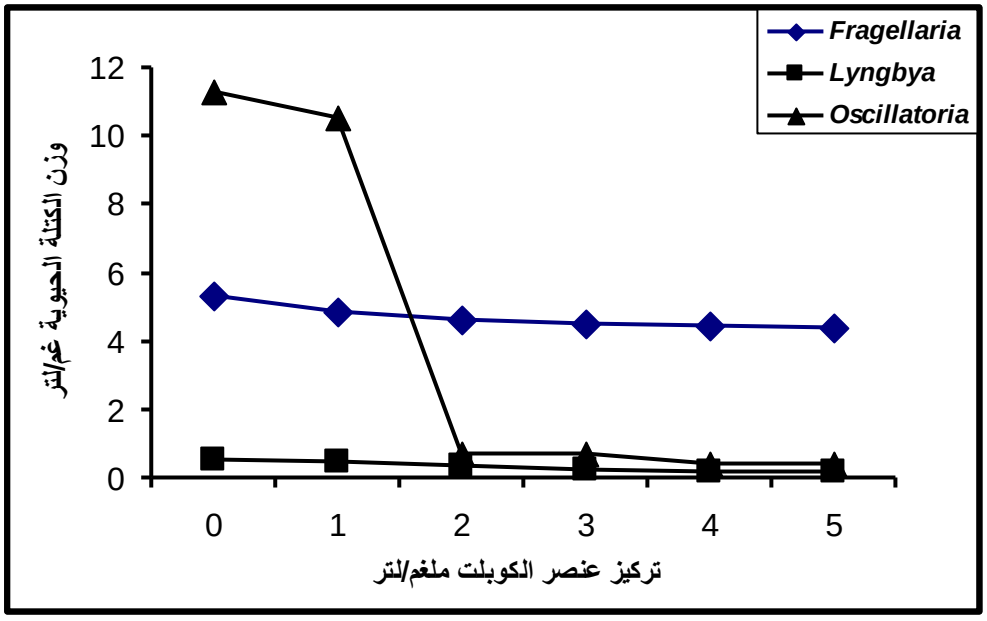
زيادة تركيز عنصر الكوبلت حتى وصل (0.12، 0.27، 0.28) ككثافة بصرية للطحالب *F. vaucheria* ، *L.tylorii* و *O. angustissima* على التوالي عند استخدام التركيز (5.0ملغم/لتر) لعنصر الكوبلت.



شكل (4): تأثير التراكيز المختلفة من عنصر الكوبلت على معدل النمو للطحالب المدروسة

ان الكوبلت من العناصر التي تؤثر على معدل النمو اذ يؤدي الى زيادة النمو في التراكيز المنخفضة بينما في التراكيز العالية نسبياً فانه يؤدي الى الأنخفاض في النمو اذ تحاول الطحالب التي تعيش تحت تأثير التر اكيز المرتفعة من الكوبلت البقاء في مدى معين من النمو وكلما زاد التركيز زاد التأثير السمي على النمو وهذا ما اشار اليه Smith وآخرون [20] اذ ان عنصر الكوبلت يعد منشطاً معدنياً لعدد من الأنزيمات مثل Phospho or monoestrase أي انه محفزاً بتراكيز معينة ومثبطاً بتراكيز عالية نسبياً فوق حاجة الطحلب [22،21].

الكتلة الحيوية للطحالب عموماً (شكل 5) كانت مرتفعة في معاملة السيطرة اذ كان وزن الكتلة الحيوية للطحالب *F. vaucheria* ، *L. tylorii* ، *O. angustissima* هي (5.3 ، 0.52 ، 11.2 غم/لتر) على التوالي بينما انخفض وزن الكتلة الحيوية مع أول تركيز مستخدم من عنصر الكوبلت (1.0 ملغم/لتر) اذ بلغت (10.5, 0.48, 4.86) غم/لتر للطحالب المستخدمة في الدراسة على التوالي اذ ان طحلب *L. tylorii* كان اكثر الطحالب حساسية للكوبلت من خلال القيمة المنخفضة في وزن الكتلة الحيوية، واستمر الانخفاض في وزن الكتلة الحيوية مع زيادة التراكيز المستخدمة من الكوبلت حتى وصلت الاوزان (0.4 , 0.19, 4.38) غم/لتر للطحالب المستخدمة على التوالي عند التركيز 5.0 ملغم/لتر من الكوبلت.

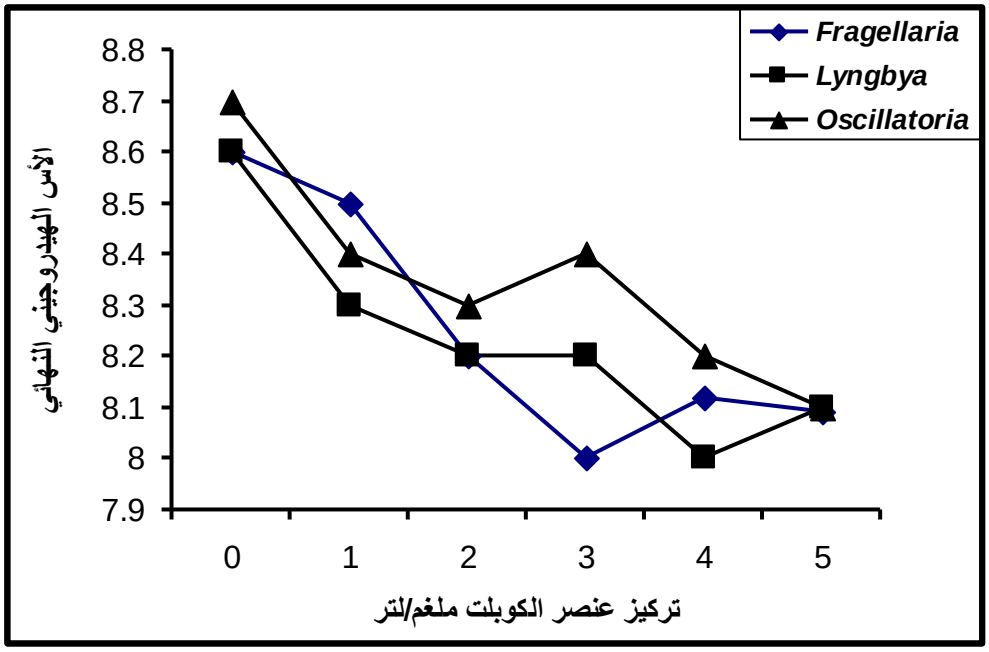


شكل (5): تأثير التراكيز المختلفة من عنصر الكوبلت على وزن الكتلة الحيوية للطحالب المدروسة

هذه النتائج تشير الى الارتباط الواضح لمعدل أوزان الكتل الحيوية للطحالب مع معدل النمو وأيضا تشير النتائج الى ان الطحالب المدروسة لها القابلية على استغلال تراكيز محددة نسبياً من عنصر الكوبلت في النمو وهذا يتوافق مع ما اشار ت اليه هالة [6] عند دراسة تأثير عدد من المعادن الثقيلة على النمو والفعاليات الحيوية لطحلب *Anabena oryza*.

الرقم الهيدروجيني النهائي (شكل 6) ارتفع عن الرقم الهيدروجيني ا لاولي لجميع المزارع الطحلبية المدروسة، وسجل اعلى ارتفاع عند استخدام التركيز الصفري من الكوبلت ، فقد بلغ الاس الهيدروجيني النهائي (8.72 , 8.60 , 8.69) للطحالب *F. vaucheria* ، *L. tylorii* ، *O. angustissima* على التوالي ثم انخفض الارتفاع في قيمة الأس الهيدروجيني النهائي مع زيادة تركيز عنصر الكوبلت حيث بلغ الرقم الهيدروجيني النهائي (8.4, 8.3, 8.5) للطحالب المدروسة على التوالي عند استخدام التركيز (1 ملغم/لتر) من الكوبلت ثم استمر الانخفاض في قيمة الأس الهيدروجيني النهائي حتى وصل (8.10, 8.10, 8.09) للطحالب المدروسة على التوالي عند استخدام التركيز (5.0 ملغم/لتر) من الكوبلت.

ان الارتفاع في قيمة الأس الهيدروجيني النهائي للمزارع الطحلبية عموماً ظاهرة شائعة في الكثير من الطحالب وكما أشارت الى ذلك الكثير من الدراسات [24،23].

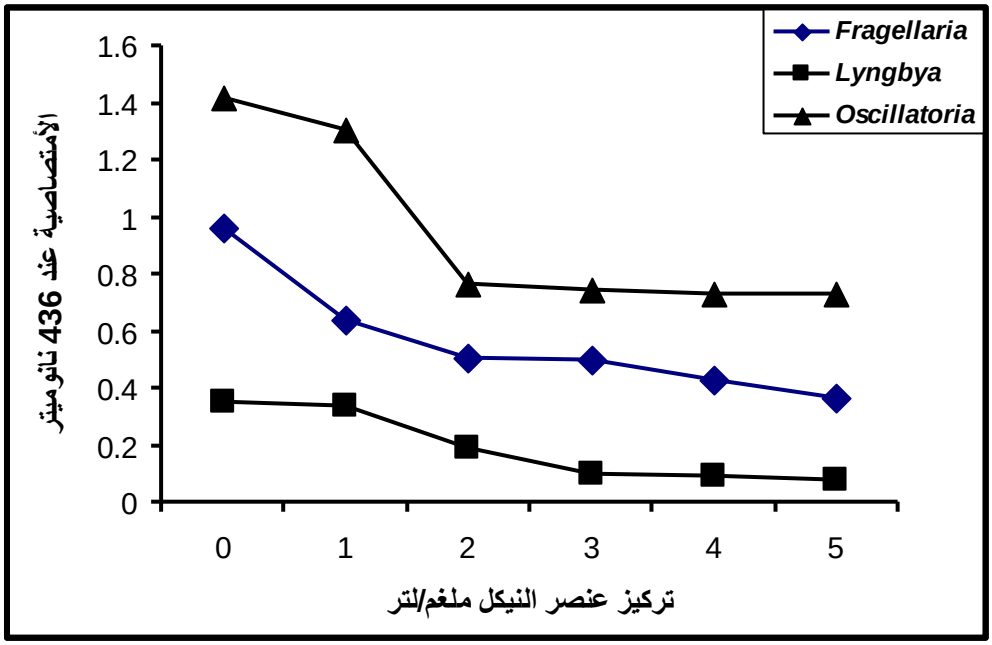


شكل (6) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر الكوبلت على قيم الأس الهيدروجيني النهائي لوسط النمو للطحالب المدروسة.

تأثير تراكيز مختلفة من عنصر النيكل على النمو والكتلة الحيوية للطحالب المدروسة:

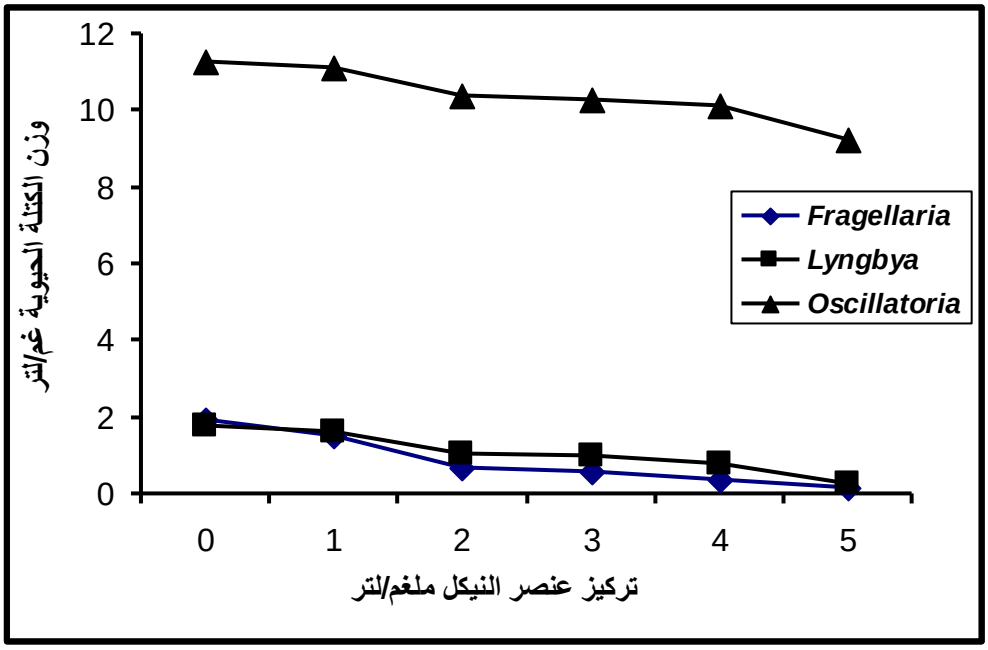
زرعت الطحالب (*O. angustissima* , *L. tylorii* , *F. vaucheria*) تحت تاثير تراكيز مختلفة من عنصر النيكل (0.00 , 1.00 , 2.00 , 3.00 , 4.00 , 5.00) ملغم/لتر وتم قياس النمو والكتلة الحيوية والرقم الهيدروجيني النهائي للوسط ألزرعي بعد خمسة عشر يوماً من التحضين ولجميع المعاملات المستخدمة.

بينت النتائج (شكل 7) ان أعلى نمو للطحالب تحقق عند استخدام المقارنة اذ كان النمو ككثافة بصرية للطحالب (0.96, 0.35, 1.41) ، *F. vaucheria*، *L. tylorii*، *O. angustissima* على التوالي، بينما انخفض النمو مع زي ادة تركيز النيكل في الوسط الزرعي، اذ كانت قيم الا متصاصية للنمو (0.63, 0.33, 1.30) ككثافة بصرية للطحالب المدروسة على التوالي عند استخدام التركيز (1.0 ملغم/لتر) من الكوبلت اذ كان طحلب *O. angustissima.* اقل الطحالب تأثرا في نموه بعنصر الكوبلت بينما طحلب *F. vaucheria* كان اكثر الطحالب تأثرا في نموه بعنصر النيكل واستمر الانخفاض في النمو حتى وصلت قيم الامتصاصية (0.36, 0.07, 0.72) ككثافة بصرية للطحالب المدروسة على التوالي عند استخدام التركيز 5.0 ملغم/لتر من النيكل.



شكل (7) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النيكل على معدل النمو للطحالب المدروسة

ان النيكل يعد من العناصر الثقيلة وهو يؤثر على معدل النم و وبتراكيزه المختلفة، ان التراكيز القليلة نسبياً من النيكل يكون فيها نمو الطحالب جيداً نوعاً ما . اما مع ارتفاع تركيز النيكل في الوسط الزرعي نلاحظ انخفاض واضح في النمو مع بقاء الطحالب المدروسة ضمن مدى معين ومحدد من النمو وهذا يفسر بمقدرة الطحالب على التأقلم مع تلك التراكيز العالية .وبما ان ايونات النيكل هي عوامل مساعدة أساسية Essential cofactors لبعض الانزيمات (مثل انزيم Hydrogenase) فان بعض الطحالب تعتمد في نموها على وجود نسبة محددة من ايونات النيكل في الوسط الزرعي وخصوصاً الطحالب الخضر المزرقة [25] وتوافقت النتائج المستحصل عليها مع النتائج المشار لها من قبل [6] عند دراسة تاثير بعض المعادن الثقيلة على بعض الفعاليات الفسيولوجية لطحلب *Anabena oryza*. الكتلة الحيوية للطحالب المدروسة توافقت مع مستوى نمو هذه الطحالب (شكل 8) اذ كانت اعلى القيم عند استخدام التركيز المقارنة اذ بلغت (11.27, 1.77, 1.91) غم/لتر للطحالب المدروسة على التوالي.اما عند استخدام التركيز 1.0 ملغم/لتر من النيكل كانت قيم الكتل ا لحيوية للطحالب المدروسة على التوالي (11.1, 1.62, 1.51) غم/لتر ثم استمر الانخفاض في قيم الكتلة الحيوية مع زيادة تركيز النيكل حتى وصلت القيم (9.23, 0.28, 0.17)غم/لتر عند استخدام التركيز 5.0 ملغم/لتر.

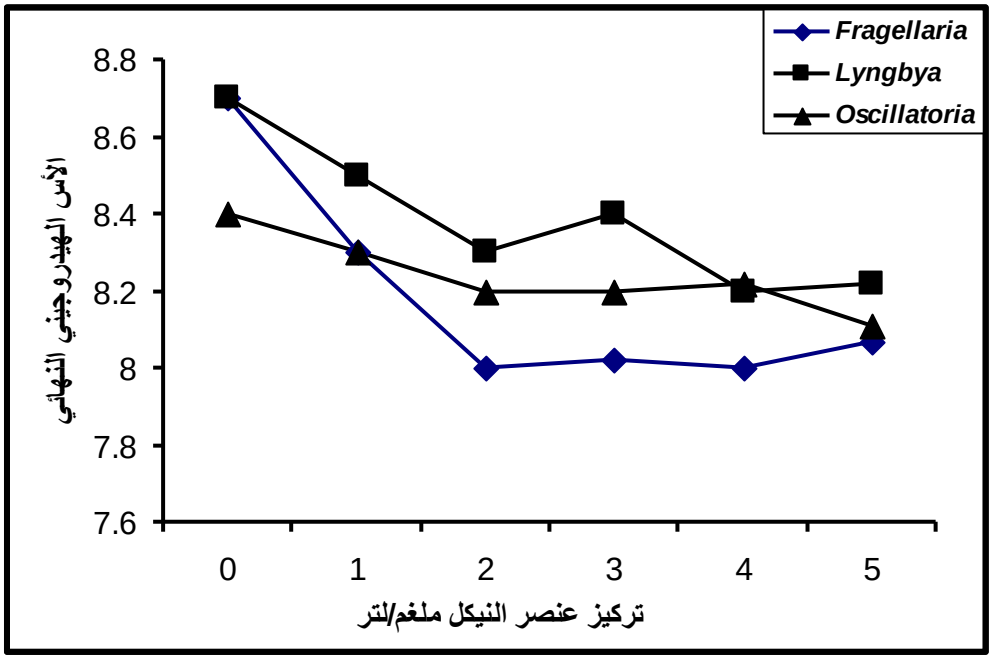


شكل (8) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النيكل على وزن الكتلة الحيوية للطحالب المدروسة

نلاحظ هنا ان طحلب *O. angustissima.* له القابلية على تحمل التراكيز المرتفعة من النيكل اذ ان النمو والكتلة الحيوية لم تتأث ر بصورة كبيرة مع زيادة تركيز النيكل في الوسط الزرعي.

الرقم الهيدروجيني النهائي للوسط ألزرعي ارتفع أيضا عن الرقم الهيدروجيني الأولي ولجميع الطحالب المدروسة مما يتوافق مع النمو لهذه الطحالب اذ كانت أعلى قيم للأس الهيدروجيني عند استخدام التركيز الصفري من النيكل اذ بلغت (8.4, 8.7, 8.3) للطحالب المدروسة على التوالي ثم استمر الانخفاض في الرقم الهيدروجيني النهائي مع زيادة تركيز النيكل اذ كانت قيم الاس الهيدروجيني النهائي عند استخدام التركيز 1.0 ملغم/لتر هي (8.3, 8.5, 8.3) للطحالب المدروسة على التوالي ، وانخفض الرقم الهيدروجيني النهائي مع زيادة تركيز النيكل حتى بلغت القيم (8.11, 8.22, 8.07) للطحالب المدروسة على التوالي عند استخدام التركيز 5.0 ملغم/لتر.

إن الارتفاع في قيم الأس الهيدروجيني النهائي عن الأس الهيدروجيني الأولي للطحالب المدروسة يعود الى ان الاس الهيدروجيني يتأثر بعملية التركيب الضوئي والتي تستغل CO_2. ان الاستغلال المستمر لهذا الغاز يؤدي الى زي ادة اطلاق المسببات القاعدية مما يتوافق مع زي ادة النمو [19,18].



شكل (6) : تأثير التراكيز المختلفة من عنصر النيكل على قيم الأس الهيدروجيني النهائي لوسط النمو للطحالب المدروسة.

من خلال النتائج المستحصل عليها من هذه الدراسة يتبين ان الطحالب المدروسة لها القابلية على النمو والبقاء مع تراكيز مرتفعة من العناصر الثقيلة مما يشير إلى إمكانية تحملها لهذه العناصر وبتراكيز عالية نسبياً . إذ ان لها القدرة التكيفية على تحمل هذه النسب العالية من الملوثات وتركيزها في أجسامها وبالتالي العمل على تخليص البيئة منها ، وهذا ما يدعو إل ى التفكير بجدية باستخدام مثل هذه الطحالب وإجراء دراسات على طحالب أخرى لاستخدامها كمعالجات إحيائية او كدلائل للتلوث حسب حساسيتها . اذ ان الطحالب تمتلك كماً كبيراً من الأنواع والأجناس والذي يعطي طيفاً واسعاً من التحسس او التحمل لهذه الملوثات، وهذا يستوجب توفير سلالات معينة قابلة للاستخدام المختبري من خلال إيجاد عزلات نقية بالاعتماد على تقنية زراعة الطحالب.

المصادر:

1) Bold, H.C. & Wynne, M.J. Introduction to The Algae Structure and Reproduction.2nd ed. Prentice – Hall, Inc. Englewood Cliffs. New Jersey, USA.1985.

٢) بهرام، خضر مولود . نضال، ادريس سليمان . توفيق، ابراهيم. الطحالب والاركيكونيات . (1990). مطبعة دار الحكمة. بغداد. العراق.

3) Grima, F.; Fernaandes, F; Cama cho, F. & Chisti, Y. (1990). Bioreactors: Light regine, mass transfer, and scalen P.J. Biotech.70. 231-247.

4) Falquet, J. (1997). The nutritional aspect of *Spirulina,* Anten. Technol. 10. 1-23.

5) Dillorn, J. & Phan, P. (1993). *Spirulina* as asource of proteins in humman.nutrition Bulletin de I in stitut occanographique, Monaco, 12. 103-107.

٦) هالة، علي ارشد . تأثير بعض المعادن الثقيلة على بعض الفعاليات الحيوية في السيانو بكتريا *Anabena oryzae* المثبتة للنتروجين الجوي .2000. رسالة ماجستير . جامعة تكريت. العراق.

7) Tomsett, A. B. and Thurman, D. A. (1988). Molecular biology of metal of plants. Plant cell Environ, 11. 383-394.

8) Ross, S. M. & Kaya, K.I. (1994). Toxic Metals in Soil Plant System. Jhoni wily and sons. NewYork. USA.

9) Rijstenbil, J.W.; Sadee, A.; Van, D. (1994). Introduction of toxic trace metals and mechanisim of detoxification in planctonic diatom *Ditylum brightwellii* and and *Thalassiosira psendonano* (FEMS) Microbiology Reviews. 14,1615-1625.

10) Robinson, N. J.; Tommey, A. M.; Kuske, G. (1993). Review article plant metalloth ionein. Biochem. J. 295: 1_10

11) Barkly, N. P. (2004). Extraction of mercury from ground water using immobilized algae. U.S.E. Environmental protection Agency, Cincinnati Ohio, USA.

12) Hadi, R. A. M., Azhar Al-Saboonchi and Yosif Haroon, A. K. (1984) "Diatoms of the Shatt al –Arab River", Iraq, Nova Hedwigia, B and XXXIX: 513-557.

13) Patrick, R. & Rimer, C. W. (1975). The diatoms of the United states. Philadelphia, Monograph. USA.

14) Desikachary, T. V. (1959). Cyanophyta. India Council of Agricultural Research. New Delhi. Academic press. Newyork and London.

15) Prescott, G. W. (1973). Algae of the Western Great Lakes area. William C. Brown Co, Publishers, Dubuqu, Iowa. USA.

16) Al-Saadi, H. A.; Saadalla, H. A. & Al_Noor, T. (1995). On the spatial and seasonal variation of heavy metal of the Razzazah lake. Iraqe. Intern. J. 48. 41- 47.

17) Al_Aarajy, M. J. & Al_Saadi, A. (1998). Effect of heavy metals on physiological and biochemical features of *Anabena cylindrica*. Dirasat Natural and Engineering sciences, 25: 160 - 166.

18) Cilia, Y. C. and Edward, G. D. Mar. Ecol. Prog. Ser. (1994). Vol.109: 83- 94.

١٩) الشاهري، يوسف جبار و اسماعيل، محمد بشير و الصوفي ، بلقيس عيسى (2008). تأثير الإضاءة وتركيز النتروجين والفسفور على النمو والمحتوى البروتيني لطحلب *Oscillatoria angustissima*. مجلة التربية والعلم، 23: ٢٣– ٣٢.

20) Smith, E.; Hill, R. and Lettman, R. (1981). Principiles of Biochemistry General Aspects. third. Johan willy and Jons. USA. 261-275.

21) Genter, R. B.; Cherry D.; Smith, E. (1987). Algal Periphyton Population and Community change from zinc stress in stream mesocosms. Hydrobiol. 153:75-80.

22) Wong, P; Chaw, Y.; Luxon, P. (1978). Toxicity of mixture of metal on fresh water algae. J. fish. Res. 35. 497- 481.

٢٣) الشاهري، يوسف جبار و اسماعيل ، محمد بشير و خميس، حميد سلمان (2008). قياس النمو وفعالية البيروكسيديز والمحتوى البروتيني لعزلة محلية من طحلب *Chlorella vulgare*. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، المجلد 14_العدد 2: ١٢–١٧.

24) Al-Shahrii, Y. J. I (2008). Estimation of growth rate, biosilica, protein and lipid content in locally isolated *Fragellaria vaucheria*. J. of Education and Science, Vol. 21, No. 3: 72- 81.

25) Daday, A.; Mackerras, A. and smith, H. (1988). "Arole for nickel in cyanobacterial nitrogen fixation and growth via cyanophycea metabolism" J. of Microbiol. Vol. 134 : 2659- 2663.