التراكم الحيوي لبعض المعادن الثقيلة في طحلب Chlorella vulgaris

① بتول زينل علي، ② مكية مهلهل الحجاج، ② عبد الأمير تعوبي

① جامعة بغداد ـ كلية التربية ابن الهيثم

② جامعة البصرة ـ كلية العلوم

الخلاصة

أثبتت هذه الدراسة قابلية طحلب Chlorella vuglaris على تراكم أيونات المعادن الثقيلة Cu^{+2}، Cd^{+2}، Zn^{+2}، Pb^{+2} عند إضافتها بصورة منفردة ومزدوجة ومجتمعة إلى الوسط الغذائي. حدث هذا التراكم أما عن طريق دخول أيونات هذه المعادن إلى داخل الخلية أو ادمصاصها على سطح الخلية مما أدى إلى تقليل تراكيزها في الوسط الغذائي. اختلفت الكميات المتراكمة من المعادن باختلاف تركيز ونوع المعدن وفترة التعريض.

المقدمة

تتواجد المعادن الثقيلة في المياه الطبيعية بتراكيز منخفضة جداً عندما تكون هذه المياه بعيدة عن مصادر التلوث. كما تتواجد هذه المعادن في أجسام الكائنات الحية بتراكيز منخفضة أيضاً، بعضها ضروري لإدامة حياة الكائنات الحية كافة، وتؤدي زيادة تراكيز هذه المعادن عن حدود معينة إلى حدوث أضرار فسلجية أو هلاك تلك الأحياء. لقد درس تأثير تراكيز المعادن الثقيلة على بعض الفعاليات الأيضية للطحالب في البيئة المائية وقد وجد بأنها تؤثر على عملية تكوين كلوروفيل أ (1) ومعدل التنفس (2) وفعالية إنزيم النايتروجينيز ومعدل إختزال الأسيتيلين (3) وتفاعلات البناء (4) إضافة إلى تأثير هذه المعادن على معدلات النمو والتغيرات المظهرية (5).

تمتلك بعض الأحياء المائية ومنها الطحالب قابلية على زيادة تراكيز المعادن الثقيلة في أجسامها مقارنة بتراكيزها في وسط النمو، وتعتمد الكميات المتراكمة من المعادن الثقيلة في الطحالب على عدد من العوامل منها نوع الطحلب، الحالة الفسلجية له، آليته في مقاومة سمية هذه المعادن، نوع وتركيز المعدن في وسط النمو وفترة التعريض إضافة إلى تأثير الملوحة والدالة الحامضية والمواد العضوية في وسط النمو.

استهدفت هذه الدراسة الكشف عن قابلية طحلب Chlorella vulgaris على امتصاص المعادن الثقيلة من الوسط المحيط به وزيادة تراكيزه داخل الخلية عند إضافة هذه المعادن بصورة منفردة ومجتمعة معاً، وذلك قد يعطي إشارة إلى إمكانية استخدام هذا الطحلب لتنقية أو تقليل تلوث المياه بالمعادن الثقيلة.

المواد وطرق العمل

C. vulgaris Beyerinck (1980) والذي ينتمي إلى قسم الطحالب الخضر تم عزله من نهر شط العرب (6).

المعادن الثقيلة

تم تحضير محاليل قياسية بتركيز (1000) ملغم/لتر لأيونات المعادن Cu^{+2}، Cd^{+2}، Zn^{-2}، Pb^{+2} وذلك بإذابة الأملاح النقية $CuSO_4.5H_2O$، $Cd(NO_3)_2\ 4H_2O$، $ZnSO_4.7H_2O$، $Pb(NO_3)_2$ على التوالي في الماء الخالي من الأيونات وحضرت التراكيز المطلوبة بإجراء التخفيف اللازم.

زراعة الطحلب

زرع الطحلب وذلك بإضافة (10) مليلتر من المزرعة النقية السائلة كلقاح والحاوي على ($(5-4) \times 10^5$) خلية/مليلتر إلى دوارق قمعية حاوية على وسط زرعي سائل (Chu-10D) (7) مدعم بأيونات المعادن الثقيلة وباستخدام المكررات، حضنت الدوارق بدرجة حرارة (21)°م مع فترة إضاءة لمدة (16) ساعة ضوء و (8) ساعات ظلام ورج يومي ولمدة (7) أيام. أخذ بعد ذلك حجم (50) مليلتر من مزرعة الطحالب بعد خلطها بشكل متجانس ثم ركزت باستخدام الطرد المركزي

بسرعة (3000) دورة/دقيقة لمدة (10) دقائق، وحفظ الراشح لغرض قياس تراكيز أيونات المعادن الثقيلة فيه. وغسل الراسب ثلاث مرات بالماء الخالي من الأيونات وتم التخلص من ماء الغسل بالطرد المركزي، ووضعت العينة المترسبة في جفنة خزفية موزونة وجففت بدرجة حرارة (105)°م لمدة (48) ساعة وحفظت لقياس تراكيز أيونات المعادن الثقيلة فيها.

استخلاص أيونات المعادن الثقيلة من الطحالب

اتبعت طريقة (8) حيث تم أخذ (0.01-0.09) غم وزن جاف من الطحالب وأضيف إليها (1) مليلتر من حامض النتريك المغلي لكل عينة وتركت لمدة (5) دقائق بدرجة حرارة (70)°م يصبح المحلول رائقاً وأكمل الحجم النهائي إلى (5) مليلتر بالماء الخالي من الأيونات، وقيست تراكيز أيونات المعاد الثقيلة فيه باستخدام جهاز طيف الامتصاص الذري اللهبي Flame Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS) أحادي الشعاع نوع (Pye Unicam) واستخدمت المعادلة التالية لاستخراج تراكيز أيونات المعادن الثقيلة

$$E_{con} = \frac{A - B}{D} \cdot 1000$$

E_{con} = تركيز العنصر في الطحلب (مايكروغرام/غرام زن جاف).

A = تركيز العنصر المستخرج من منحنى المعايرة (ملغم/لتر).

B = الحجم النهائي للعينة (مليلتر).

D = الوزن الجاف لعينة الطحالب (غم).

استخلاص أيونات المعادن الثقيلة من الوسط الزرعي

أخذ الراشح بعد تجفيفه بدرجة حرارة (70)°م إلى ما قبل الجفاف وأضيف له (1) مليلتر من حامض النتريك المركز و (5-10) مليلتر ماء خالي من الأيونات وترك المحلول لإكمال الإذابة وأكمل الحجم النهائي إلى (25) مليلتر ماء خالي من الأيونات وحفظ في قناني بلاستيكية لقياس تراكيز أيونات المعادن الثقيلة فيه بجهاز الـ FAAS وتم حساب التركيز باستخدام المعادلة السابقة.

النتائـــج

أظهرت نتائج معاملة الطحلب بأيونات النحاس بصورة منفردة إلى حصول زيادة في كميات النحاس المتراكمة في جسم الطحلب (شكل 1 أ) بزيادة التراكيز المضافة منه وزيادة فترة التعريض وبلغت أعلى معدلاً (21.602) ملغم/غم عند المعاملة (2) ملغم/لتر بعد أن كانت غير محسوسة (حساسية الجهاز 0.13 ملغم/لتر) في معاملة السيطرة، وبالمقابل انخفضت تراكيز النحاس المتبقية في الوسط الزرعي (شكل 2 أ) بشكل تدريجي ولكافة المعاملات، كذلك ازدادت الكميات المتراكمة من الكادميوم عند إضافته بصورة منفردة بزيادة التراكيز المضافة وبزيادة فترة التعريض (شكل 1 ب) وبلغ أعلى معدل للكميات المتراكمة منه (22.753) ملغم/غم عند المعاملة (2) ملغم/لتر. كما انخفضت تراكيز الكادميوم المتبقية في الوسط الزرعي (الشكل 2 ب) ولكافة التراكيز. أما بالنسبة للخارصين فأظهرت النتائج زيادة معدلات الكميات المتراكمة منه في الطحلب بزيادة التراكيز المضافة منه (شكل 1 ج) وبلغ أعلى معدلاً لتراكمه (125.767) ملغم/غم وزن جاف عند المعاملة (5) ملغم/لتر وانخفضت الكميات المتراكمة منه في الطحلب بعد تسعة أيام من التعريض. وبالمقابل انخفضت التراكيز المتبقية من الخارصين في الوسط الزرعي بزيادة فترة التعريض (شكل 2 ج). أما الرصاص فقد ازدادت الكميات المتراكمة منه أيضاً بزيادة التراكيز المضافة وبلغ أعلى معدلاً لها (369.793) ملغم/غم في المعاملة (30) ملغم/لتر مقارنة بمعاملة السيطرة ذات المعدل غير المحسوس (شكل 1 د) وانخفضت التراكيز المتبقية منه في أغلب المعاملات في اليوم الثاني عشر باستثناء المعاملات (20، 25، 30) ملغم/لتر والتي أظهرت انخفاضاً في اليوم السابع من المعاملة. وانخفضت التراكيز المتبقية منه في الوسط الزرعي ولجميع المعاملات (شكل 2 د) لا سيما في اليوم الثالث وارتفعت التراكيز المتبقية منه في الوسط الزرعي للمعاملات (20، 25، 30) ملغم/لتر منذ اليوم السابع من التعريض كذلك ارتفعت التراكيز المتبقية منه في الوسط الزرعي لجميع المعاملات في اليوم الثاني عشر.

تراكم أيونات المعادن الثقيلة مزدوجة ومجتمعة في الطحلب

عند تعريض الطحلب لتراكيز مختلفة من أيونات المعادن الثقيلة مزدوجة ومجتمعة ولمدة سبعة أيام، أظهرت نتائج إضافة النحاس والكادميوم إلى زيادة الكميات المتراكمة من النحاس زيادة معنوية ($P < 0.01$) عند زيادة تراكيز الكادميوم لكافة المعاملات (شكل 3 أ) وبلغ أعلى معدل لها (7.375) ملغم/غم عند المعاملة (0.5 Cu، 1 Cd) ملغم/لتر. كذلك ازدادت الكميات المتراكمة من الكادميوم في الطحلب بزيادة التراكيز المضافة من النحاس وبلغ أعلى معدل لها (5.631) ملغم/غم عند المعاملة (0.5 Cu، 1 Cd) ملغم/لتر. ومن ناحية أخرى انخفضت تراكيز النحاس المتبقية في الوسط الزرعي انخفاضاً كبيراً عند زيادة التراكيز المضافة من الكادميوم إلى المعاملات (شكل 4 أ) كذلك الحال في تراكيز الكادميوم المتبقية في الوسط الزرعي عند زيادة تراكيز النحاس المضافة إلى المعاملات.

أما إضافة النحاس مع الخارصين فقد ازدادت الكميات المتراكمة من النحاس بشكل معنوي عند المعاملة (0.25 Cu، 2 Zn) وانخفضت في المعاملة (0.5 Cu، 5 Zn) ملغم/لتر مقارنة بالكميات المتراكمة منه في المعاملة (5 Zn) ملغم/لتر ولم تختلف الكميات المتراكمة من النحاس والخارصين في بقية المعاملات (شكل 3 ب). وانخفضت التراكيز المتبقية من النحاس في الوسط الزرعي عند إضافته مع الخارصين (شكل 4 ب) وقل هذا الانخفاض بزيادة تراكيز الخارصين. كذلك انخفضت التراكيز المتبقية من الخارصين في الوسط الزرعي عند المعاملة (0.5 Cu، 2 Zn)، (0.25 Cu، 5 Zn)، (0.5 Cu، 5 Zn) مقارنة بالمعاملة (2 Zn، 5 Zn) ملغم/لتر.

كذلك ازدادت الكميات المتراكمة من النحاس في الطحلب عند إضافته مع الرصاص (شكل 3 ج) في أغلب المعاملات ولم تختلف معنوياً في الأخرى. وانخفضت الكميات المتراكمة من الرصاص عند أغلب المعاملات أيضاً ولم تختلف بالأخرى مقارنة بإضافة العنصر بصورة مفردة. كذلك انخفضت تراكيز النحاس المتبقية في الوسط الزرعي انخفاضاً كبيراً عند إضافته مع الرصاص

بصورة مجتمعة (شكل 3 جـ) في أغلب المعاملات ولم تختلف في الأخرى. أما عند إضافة النحاس والكادميوم والخارصين بصورة مجتمعة (شكل 3 د) فقد ازدادت الكميات المتراكمة من النحاس زيادة معنوية وبلغ أعلى معدل لها (3.694) ملغم/غم عند المعاملة (0.25 Cu، 25 Pb، 5 Zn) ملغم/لتر، وانخفضت الزيادة في تراكم النحاس عند المعاملة (0.25 Cu، 25 Pb، 0.5 Cd) ملغم/لتر. كذلك ازدادت الكميات المتراكمة من الكادميوم عند إضافته مع بقية المعادن وبلغ أعلى معدل له (4.626) ملغم/غم عند المعاملة (0.25 Cu، 5 Zn، 0.5 Cd) ملغم/لتر. أما الكميات المتراكمة من الخارصين في الطحلب فقد انخفضت بشكل معنوي عند إضافته بصورة مجتمعة مع المعادن الأخرى، وازدادت الكميات المتراكمة من الرصاص في الطحلب عند إضافته بصورة مجتمعة مع المعادن الأخرى لا سيما عنصر الخارصين وبلغ أعلى معدل له (3.22962) ملغم/غم عند المعاملة (25 Pb، 5 Zn، 0.5 Cd). وانخفضت تراكيز النحاس المتبقية في الوسط الزرعي عند إضافته بصورة مجتمعة مع بقية المعادن (شكل 4) حتى أصبحت تراكيزه غير محسوسة. كذلك انخفضت تراكيز الكادميوم المتبقية في الوسط الزرعي وبلغ أدنى معدل لها (0.087) ملغم/لتر عند المعاملة (0.25 Cu، 5 Zn، 0.5 Cd) ملغم/لتر. أما تراكيز الخارصين في الوسط الزرعي فقد انخفضت تراكيزه بعد فترة التعريض كذلك تراكيز الرصاص المتبقية في الوسط الزرعي وبلغ أدنى معدل له (1.046) ملغم/لتر عند المعاملة (25 Pb، 5 Zn، 0.5 Cd) ملغم/لتر.

المناقشة

أشارت العديد من الدراسات إلى أن سطح الأحياء المائية ولا سيما النباتات النباتية تلعب دوراً مميزاً من حيث الارتباط بالمعادن الثقيلة وذلك لألفته العالية للارتباط بهذه المعادن (9، 10، 11)، ويعتقد أن تراكم المعادن الثقيلة في الطحالب يكون ناتجاً عن عمليات فيزيائية-كيميائية تحدث في سطوح الخلايا (9).

إن اختلاف الكميات المتراكمة من أيونات المعادن الثقيلة في الطحالب يعزى إلى اختلاف المعدن الثقيل وتركيزه المضاف ونوع الطحلب وفترة

التعريض. وهذا يتفق مع عدد من الدراسات (2، 12، 13، 14) ونتيجة لذلك انخفضت تراكيز تلك المعادن في الوسط الزرعي. إن زيادة الكميات المتراكمة من الخارصين مقارنة بالكميات المتراكمة من المعادن الأخرى قيد يعزى إلى الألفة العالية لأيونات الخارصين للارتباط بجدار الخلية وهذا يتفق مع (9، 15) أو قد يعود لاحتياج الخلايا لهذا المعدن في العديد من الفعاليات الآيضية أو إلى الآلية التي يستخدمها الطحلب لمقاومة سمية الخارصين، فقد وجد (16) إلى أن خلايا الطحالب تعمل على إزالة سمية الخارصين داخل الخلايا Internal detoxification) بدلاً من استبعاده (exclusion) خارج الخلية، بينما تقوم بمقاومة سمية النحاس والكادميوم بعملية الاستبعاد (4، 16، 17).

إن زيادة تراكم أيونات أيونات المعادن الثقيلة في طحلب C. vulgaris عند إضافتها بصورة مجتمعة قد يعزى إلى قيام أحد العناصر بتحفيز الخلايا على أخذ أيونات العنصر الآخر وهذا يتفق مع ما وجده (18)، كما أشار (19) إلى أن إضافة بعض الأيونات بتراكيز معينة قد يزيد من نفاذية غشاء الخلية للأيونات الأخرى الحاملة لنفس الشحنة عند وجود حالة التأثير التعاوني. أما الانخفاض في تراكم المعادن الثقيلة في الطحالب عند إضافتها بصورة مجتمعة فقد يعزى إلى تعطيل أو منع نفاذية غشاء الخلية لمعدن ما بوساطة معدن أخر عند وجود حالة التأثير المتضاد. وقد يحصل تنافس بين أيونات المعادن الثقيلة للارتباط بالمواقع الفعالة لغشاء الخلية نتيجة لاختلاف ألفة المعادن لتلك المواقع (19).

REFERENCES

1- Sunda, W. G. (1990). "Trace metal interactions with marine phytoplankton". Biol. Oceano., 6: 411-442.

2- Hart, B. A. and Scaife, B. D. (1977). "Toxicity and bioaccumulation of Cadmium in Chlorella pyrenoidosa". Env. Res., 14; 401-413.

3- Whitton, B. A. (1980). Zinc and plants in rivers and streams. 363-400 pp in: Niriagu, J. O. (ed.). Zinc in the environment, Part 2: Wiley-Interscience, New York, 480 pp.

4- Twiss, M. R. and Nalewajko, C. (1992). Influence of phosphorus nutrition on copper toxicity to three strains of Scendesmus acutus (Chlorophyceae). J. Phycol., 28: 291-298.

5- Rosko, J. J. and Rachlin, J. W. (1977). The effect of Cadmium, Copper, Mercury, Zinc and Lead on cell division, growth and chlorophyll a content of the chlorophyte Chlorella vulgaris. Bill. Torrey Bot., 104: 226-233.

6- Al-Hejuje, M. M. K. (1997) distribution of heavy elements in water and sediments from Sl-Ashar and Al-Khandak canals connected with Shatt-Al-Arab River and their effects on algae. M.Sc. thesis. Univ. of Basrah.

7- Al-Delaimy, O. M. (1990). Ecophysiological studies on algae in rice fields in Iraq. M.Sc. thesis. Univ. of Basrah.

8- Shehata, F. H. A. (1981). Physiological studies on heavy metals and blue-green algae. Ph.D. thesis. Durham Univ. 284 pp.

9- Fayed, S. E.; Abdel-Shafy, H. I. and Khalifa, N. M. (1983). Accumulation of Cu, Zn, Cd and Pb by Scendesmus obliquus under non-growth conditions. Envir. Intern. 9: 409-414.

10- Vymazal, J. (1987). Zn uptake by Cladophora glomerata. Hydrobiol. 148: 97-101.

11- Xue, H. B. and Sigg, L. (1990). Binding of Cu(II) to algae in a metal buffer. Wat. Res. 24(9): 1129-1136.

12- Whitton, B. A.; Gale, N. L. and Wixson, B. G. (1981). Chemistry and plant ecology of zinc-rich wastes dominated by blue-green algae. Hydrobiol. 83: 331-341.

13- Vymazal, J. (1984). Short term uptake of heavy metals by periphyton algae. Hydrobiol. 119: 171-179.

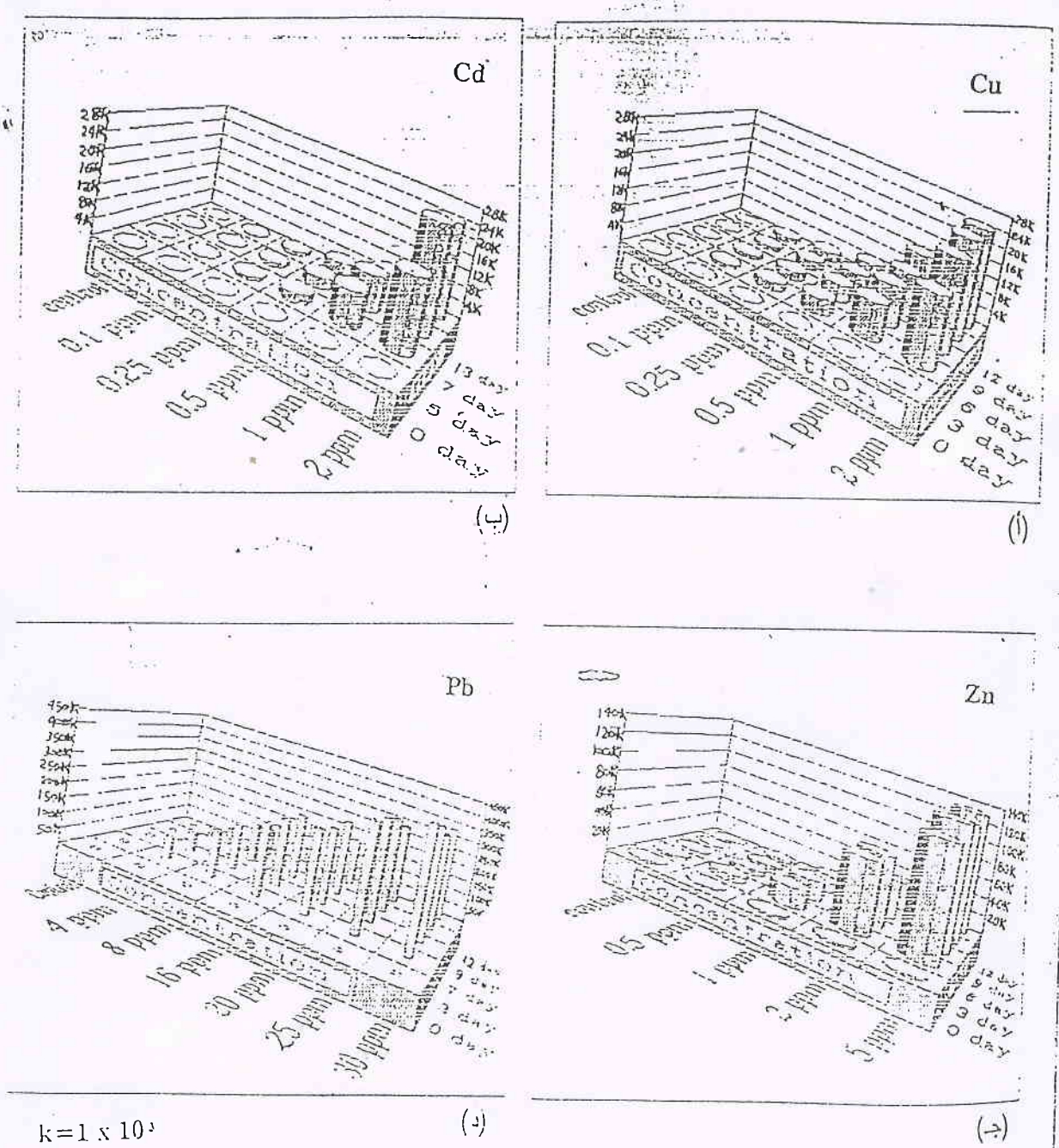
14- Kessler, E. (1986). Limits of growth of five Chlorella species in the presence of toxic heavy metals. Arch. Hydrobiol. Suppl. 73(1): 123-128.

15- Munda, I. M. (1984). Salinity dependent accumulation of Zn, Co and Mn in Scytosiphon lomentaria (Lyngb).

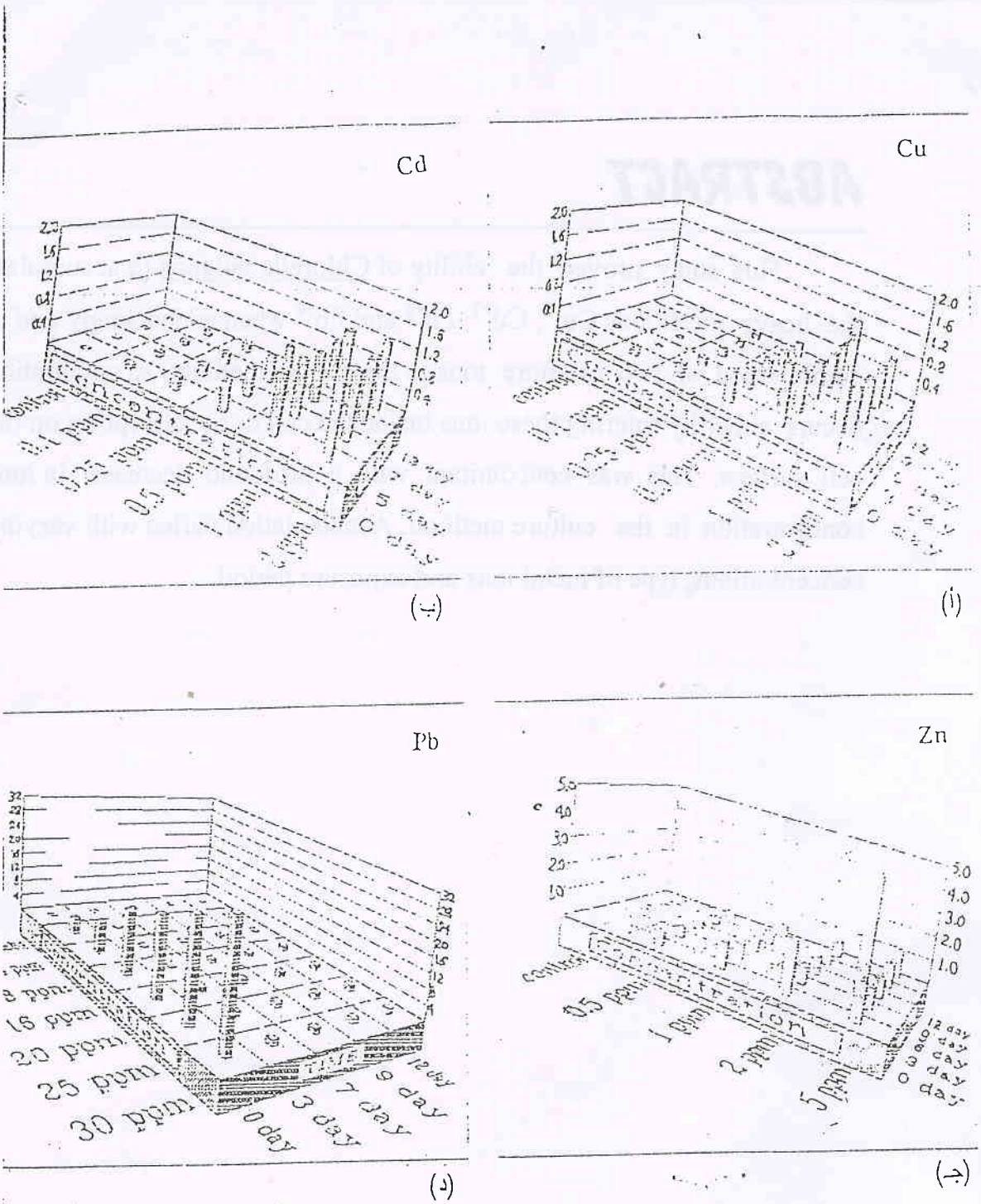
16- Patterson, G. (1983). Effects of heavy metals on fresh water chlorophyta. Ph.D. thesis. Durham Univ. 212 pp.
17- Steemann-Nielsen, E. and Kamp-Nielsen, L. (1970). Influence of deleterious concentrations of copper on the growth of Chlorella pyrenoidosa. Physiol. Plant. 23: 828-840.
18- Okamura, H. and Aoyama, I. (1994). Interactive toxic effect and distribution of heavy metals in phytoplankton. J. Envi. Toxicol. Wat. Qual. 9: 7-15.
19- Mohammed, A. A. K. (1985). "Plant physiology". Part I. 532 p.

ABSTRACT

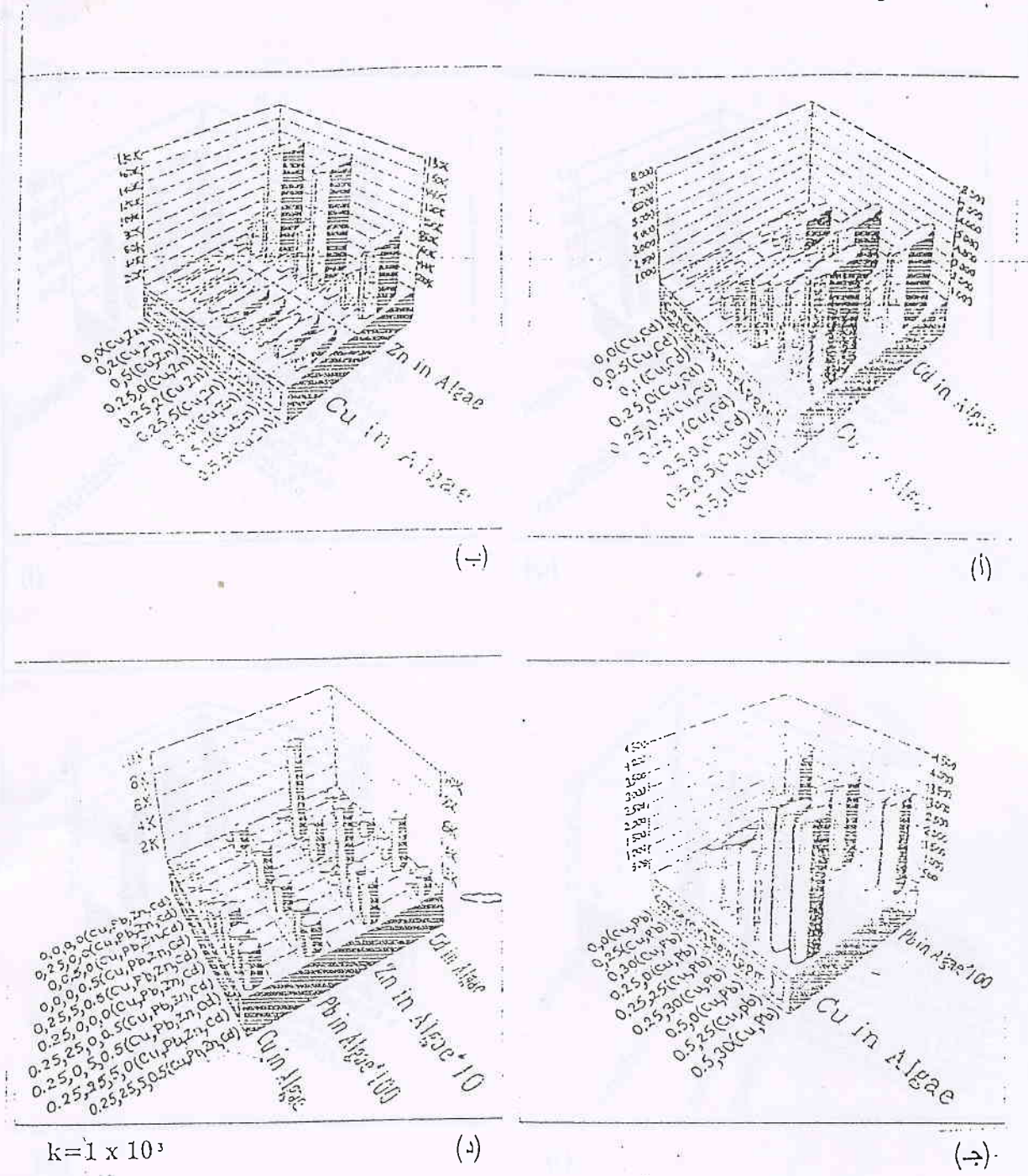
This study proved the ability of Chlorella vulgaris to accumulate the heavy metal ions Cu^{+2}, Cd^{+2}, Zn^{+2} and Pb^{+2} when added singly and in combination of two or more ions to the culture medium. Accumulation occurs either by entering these ions inside the cell or by adsorption on the cell surface. This was concomitant with a profound decrease in ions concentration in the culture medium. Accumulation varied with varying concentrations, type of metal ions and exposure period.



الشكل 1): تراكيز ايونات العناصر الثقيلة (مايكغم/غم وزن جاف) المتراكمة في الطحلب C. vulgaris بعد تعريضه لتراكيز مختلفة منها (بصورة منفردة) ولفترات زمنية مختلفة.



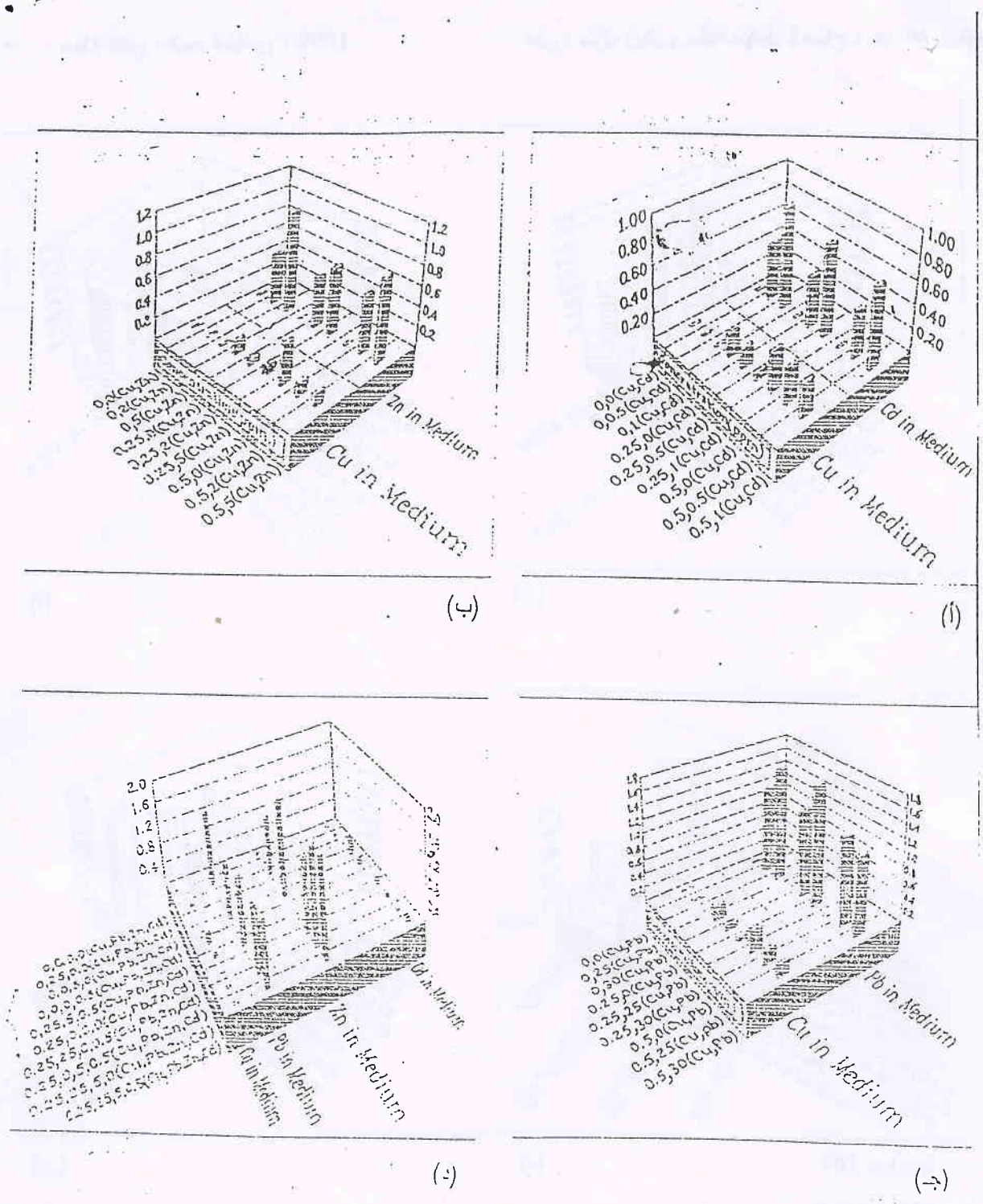
الشكل (2 ا: تراكيز ايونات العناصر الثقيلـــة (ملغم/لتر) المتبقية في الوسط الزرعي بعد تعريض الطحلب C. vulgaris لتراكيز مختلفة منها (بصورة منفردة) ولفترات زمنية مختلفة.



k=1 x 10³

* علامة الضرب

الشكل (3 ا: تراكيز ايونات العناصر الثقيلـــة (مايكغم/غم وزن جاف) المتراكمـــة في الطحلب C. vulgaris بعد تعريضه لتراكيز مختلفة منها (بصورة مجتمعة) ولفترة سبعة أيام.



الشكل (4): تراكيز ايونات العناصر الثقيلـــة (ملغم/لتر) المتبقية في الوسط الزرعي بعد تعريض الطحلب C. vulgaris لتراكيز مختلفة منها (بصورة مجتمعة) ولفترة سبعة أيام.