تأثير بعض العناصر الثقيلة على النمو الخيطي وتكوين الاجسام الثمرية للفطر *Chaetomium atrobruneum*

مكية مهلهل الحجاج ، مصطفى عبد الوهاب الدوسري ، زينب فاضل منصور

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة البصرة

الملخص

تم دراسة استجابة الفطر *Ch. atrobruneum* من حيث تكوين الخيوط الفطرية والاجسام الثمرية وتكوين السبورات على وسط مدعم بايونات الكوبلت والكاديوم والفضة ولمدى واسع من التراكيز 25-1) (ppm . وقد اظهرت النتائج أن الكاديوم والفضة هما الاكثر تثبيطا بينما حفز الكوبلت تكوين الخيوط الفطرية والاجسام الثمرية في التراكيز القليلة (1 ppm) وقد وجد ان تأثير هذه الايونات يعتمد على التركيز ومدة التعريض.

المقدمة

تقسم العناصر الثقيلة الى قسمين بالنسبة لأهميتها للفطريات وهما العناصر الثقيلة الأساسية والعناصر غير الأساسية، فمن المعروف ان بعض الايونات الموجبة ثنائية الشحنة تدخل فى تفاعلات انزيمية مختلفة كعوامل مساعدة مثل (الزنك ،الكوبلت والنحاس) والتي تعتبر أساسية لنمو الفطريات بينما يعتبر العديد من العناصر الثقيلة الاخرى مثبط لنمو الفطريات حتى فى التراكيز القليلة (Fernandoوجماعته ، 1986؛ Baldrian وGabriel، 1997)، اما العناصر الثقيلة غير الاساسية فهي التي لا يعرف لها وظيفة بايولوجية معروفة وتعتبر مثبطة للنمو حتى فى التراكيز القليلة جدا (Barlocher وAbel، 1984) .

ان دراسة العلاقة بين العناصر الثقيلة والكائنات المجهرية يتضمن دراسة طبيعة العوامل الفيزياوية والكيمياوية للبيئة ووسط النمو(Gadd, 1983) ، وهناك بعض الحقائق تشير الى حصول تغيرات فى الشكل الخارجي والطبيعة الفسلجية لبعض الفطريات المدروسة والمتعرضة الى تراكيز مختلفة من العناصر الثقيلة (Baldrian وGabriel، 1997 ؛ Fernandoوجماعته ، 1986)، وقد ثبت أن بعض العناصر الثقيلة تثبط النمو الخضري وتكوين السبورات لبعض الفطريات المائية (Al-Rikabi، 1997).

إن الهدف من الدراسة الحالية هو معرفة تأثير تراكيز مختلفة من بعض العناصر الثقيلة وهى أيونات الكادميوم Cd ، الكوبلت Co والفضة Ag على النمو الخضرى وقابلية تكوين الاجسام الثمرية والسبورات للفطر الكيسي *Chaetomium atrobruneum* ، وقد استخدم هذا النوع الفطري لأن جنس *Chaetomium* يعتبر من الأجناس الواسعة الانتشار في البيئة والمعروفة بفعاليتها الأنزيمية وكان النوع المدروس قد تردد كثيرا خلال عمليات العزل والتصنيف إضافة الى أنه وحسب علمنا لا يوجد دراسة حول هذا النوع الفطري.

المواد وطرائق العمل

تم عزل الفطر *Ch. atrobruneum* من الرسوبيات السطحية لنهر شط العرب باستخدام طريقة التخفيف dilution plate method (Johnson وجماعته، 1959)، وقد صنف الفطر في المختبر بالاعتماد على المرجع Arx وجماعته ، (1986).

وفي التجارب المختبرية تم أخذ قطعة من حافة المستعمرة الفطرية النامية على وسط آكار خلاصة الشعير MEA وهي بعمر 7 ايام بواسطة ثاقب الفلين والذي قطره (6 mm) ونقلت هذه القطعة الى منتصف طبق زجاجي حاوي على 15 مل من وسط آكار خلاصة الشعير الحاوي على التراكيز 1، 5، 10 و 25 ملغم / لتر من آيونات العناصر الثقيلة التالية:

الكادميوم Cd بشكل $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ ، الكوبلت Co بشكل $Co(NO_3)_2.6H_2O$ والفضة Ag بشكل $AgNO_3$ ، وقد تمت هذه العملية تحت ظروف التعقيم واستخدمت ثلاثة مكررات لكل تركيز من أيونات العناصر الثقيلة المستخدمة إضافة الى معاملات السيطرة وحضنت جميع الأطباق في الحاضنة المختبرية تحت درجة حرارة $25C^o$ ، وتم قياس أقطار المستعمرات الفطرية النامية واستخدمت كمؤشر للنمو الخضري ، وكذلك تم متابعة ظهور الأجسام الثمرية والسبورات الناضجة وذلك بعد مرور فترات زمنية ثابتة هي 4، 8 و 12 يوم بعد الحضن.

ولقد تم تحليل النتائج باستخدام طريقة تحليل التباين (ANOVA) واستخدم اختبار أقل فارق معنوي معدل (RLSD) لمقارنة المتوسطات ومعرفة الاختلافات المعنوية بينها تحت مستوى الثقة 95%.

النتائج

بينت نتائج الدراسة الحالية أن آيونات العناصر الثقيلة المستعملة أظهرت درجات مختلفة من التثبيط للنمو الخضري ولتكوين الأجسام الثمرية والسبورات للفطر *Ch. atrobruneum* وذلك تبعا لنوع المعاملة لكل عنصر وفترة التعريض.

1- تأثير آيونات الكادميوم على الفطر *Ch. atrobruneum* :

أظهرت ايونات الكادميوم أقوى تثبيط للنمو الخضري للعزلة المدروسة (شكل،1). فالتركيز 1 ملغم / لتر أدى الى تقليل قطر المستعمرات النامية بصورة واضحة بعد أربعة أيام من الحضن بالمقارنة مع معاملة السيطرة ولوحظ أنه لا يوجد اختلاف معنوي واضح ($P > 0.05$) بين أقطار المستعمرات النامية والمتعرضة لنفس التركيز بعد مرور 8 و 12 يوم من الحضن. بينما أظهر التركيز 5 ملغم / لتر أقوى تثبيط للنمو الخضري خلال اليوم الرابع والذي يعتبر أقوى تثبيط ظهر خلال التجربة لنفس الفترة الزمنية بالمقارنة مع العناصر الأخرى ، وبعدها بدا التأثير يقل تدريجيا وتزايد قطر المستعمرات وصولا الى اليوم الثاني عشر من التعريض، أما في التركيز 10 ملغم / لتر فلم يكن هناك اختلاف معنوي واضح في التأثير على قطر المستعمرات بين اليومين الرابع والثامن ثم بدأ التأثير بالتناقص وصولا الى اليوم الثاني عشر، وأدى التركيز 25 ملغم / لتر الى تثبيط قطر المستعمرات النامية بشكل واضح خلال كافة أيام التجارب.

وأظهرت النتائج أن الأجسام الثمرية بدأت بالظهور خلال اليوم الثامن من التعريض في التركيز 1 ملغم / لتر بينما بدات السبورات بالظهور في اليوم الثاني عشر (جدول، 1). أما في التركيزين 5 و 10 ملغم / لتر فان الاجسام الثمرية بدات بالظهور خلال اليوم الثاني عشر ولم يكن هناك أي ظهور للسبورات ، وفي التركيز 25 ملغم / لتر لم يكن هناك أي ظهورللأجسام الثمرية أو السبورات.

2- تأثير آيونات الكوبلت على الفطر *Ch. atrobruneum* :-

لم يكن هناك فرق معنوي واضح بين أقطار المستعمرات المتعرضة الى تركيز 1 ملغم / لتر وبين معاملة السيطرة وذلك بعد مرور 4 و 8 أيام من التعريض إلا أنه هذا التركيز أدى الى تحفيز نمو المستعمرات بشكل واضح بالمقارنة مع معاملة السيطرة في اليوم الثاني عشر من التعريض (شكل،2).

أما التركيزان 5 و 10 ملغم / لتر فانهم أعطوا أقوى تأثير خلال اليوم الرابع من التعريض ثم بدأ التأثير بالتناقص وصولا الى اليوم الثاني عشر. وأظهرت النتائج أن التركيز 25 ملغم / لتر أدى الى تثبيط النمو الخضري بشكل كامل ولم تبدا المستعمرات بالظهور إلا في اليوم الثاني عشر وبشكل ضعيف.

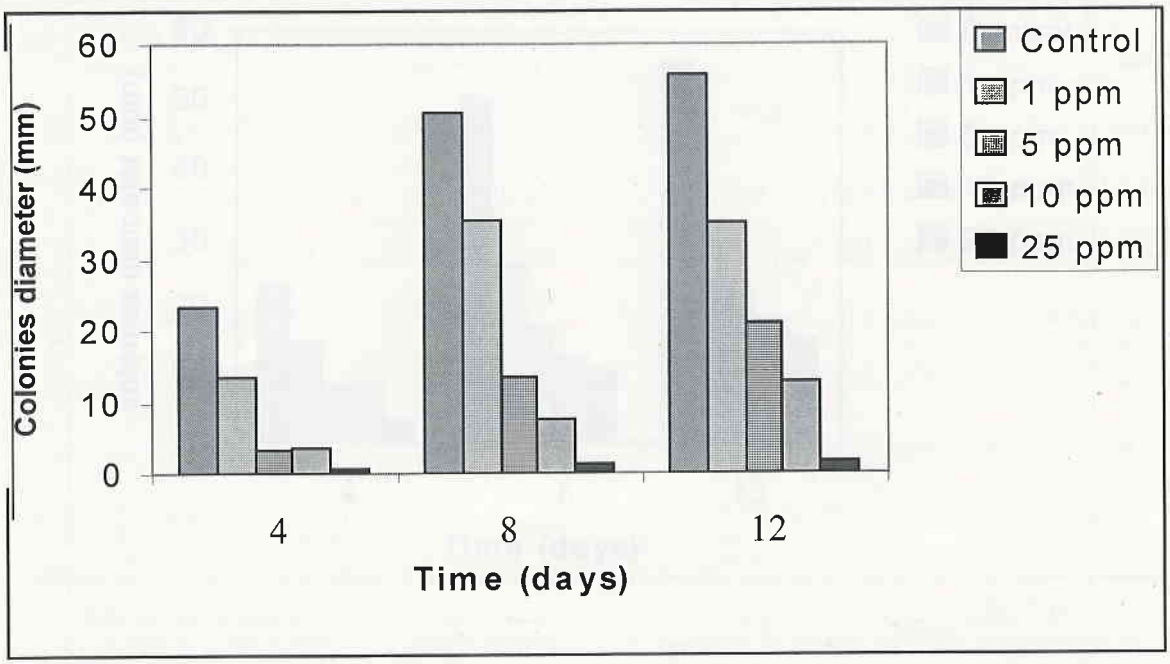
أما بالنسبة لظهور الأجسام الثمرية والسبورات فقد لوحظ أن الاجسام الثمرية فى التركيزين 1 و 5 ملغم /لتر بدات بالظهور منذ اليوم الثامن من المعاملة بينما السبورات لم تظهر الا في اليوم الثاني عشر(جدول ،1) بينما في التركيز 10 ملغم /لتر فان الاجسام الثمرية بدات فى الظهور فى اليوم الثاني عشر ولم يكن هناك اي ظهور للسبورات

وفي التركيز 25 ملغم /لتر لـم تظـهر ايـة اجسام ثمرية او سبورات طول فترة المعاملـة

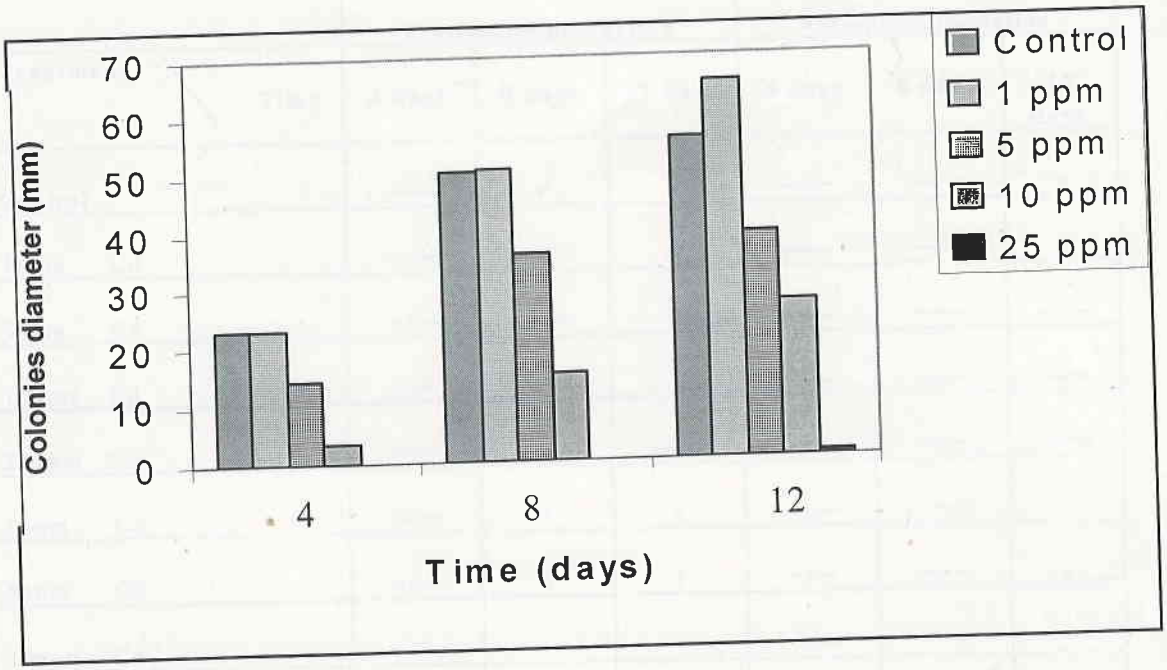
3- تاثير ايونات الفضة على الفطر *Ch. atrobruneum*:-

اظهرت النتائج ان التركـيز 1ملغـم /لتر من الفضة اعطى اقـوى تثبيـط للنمـو الخضرى بالمقارنة مع نفس التركيز للعناصر الاخرى (شكل ،3) حيث ظهر اقوى تاثير فى اليوم الرابع ثم بدا يتناقص مع مرور الوقـت، بينما التركيز 5 ملغم /لتر أظهر تثبيط فـى قطر المستعمرات النامية وعلى طول فـترة التعريض، وفى التركيز 10ملغم / لتر لم يكن هناك اختلاف معنوى بين قطر المسـتعمرات النامية خلال اليومين الرابع والثامن ولوحـظ ان التاثير بدا يقل وصولا الى اليوم الثـاني عشر . بينما فى التركيز 25ملغم / لتر فقـد تباينت اقطار المستعمرات مـا بيـن اليـوم الرابع والثاني عشر .

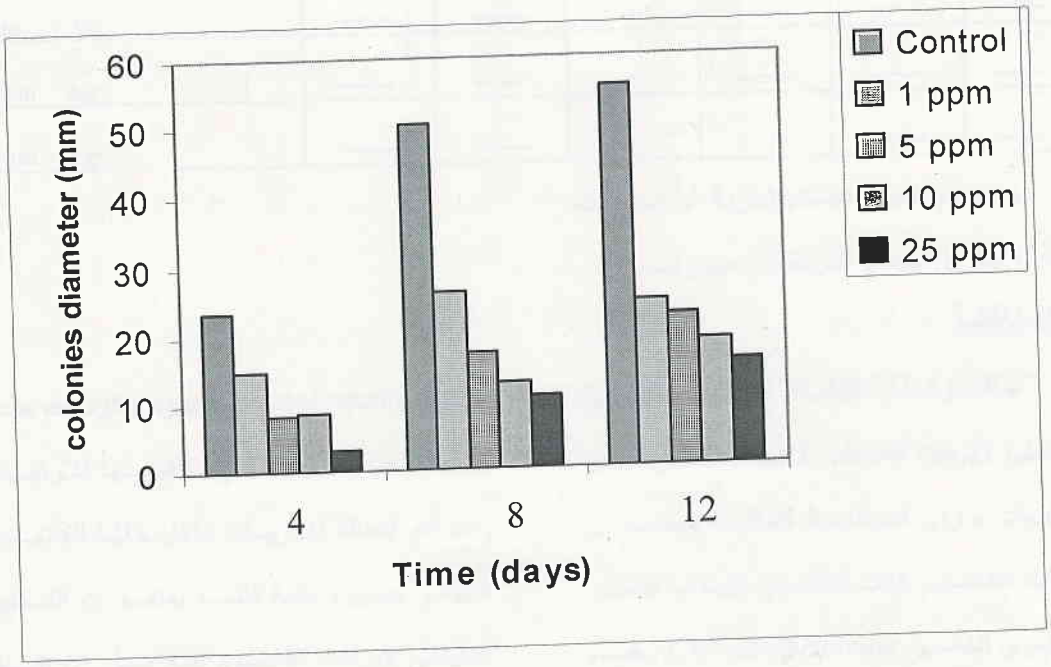
وبالنسبة لظهور الاجسام الثمرية فقد لوحـظ انها بدات بالظهور فى اليوم الثـانى عشـر ولجميع التراكيز ولم تظـهر سـبورات فـى جميع التراكيز المستعملة (جدول ،1).



شكل (1): تأثير ايونات الكادميوم على أقطار المستعمرات (mm) للفطر *Ch. atrobruneum*.



شكل (2): تأثير ايونات الكوبلت على أقطار المستعمرات (mm)
للفطر *Ch. atrobruneum*.



شكل (3): تأثير ايونات الفضة على أقطار المستعمرات (mm)
للفطر *Ch. atrobruneum*.

جدول (1): تأثير ايونات العناصر الثقيلة على تكوين الاجسام الثمرية والسبورات للفطر *Ch. atrobruneum*.

Treatment \ Time	Fruitbodies production			Ascospores formation		
	4 days	8 days	12 days	4 days	8 days	12 days
Control	---	+	+	---	---	+
1ppm Cd	---	+	+	---	---	+
5ppm Cd	---	---	+	---	---	---
10ppm Cd	---	---	+	---	---	---
25ppm Cd	---	---	---	---	---	---
1ppm Co	---	+	+	---	---	+
5ppm Co	---	+	+	---	---	+
10ppm Co	---	---	+	---	---	---
25ppm Co	---	---	---	---	---	---
1ppm Ag	---	---	+	---	---	---
5ppm Ag	---	---	+	---	---	---
10ppm Ag	---	---	+	---	---	---
25ppm Ag	---	---	+	---	---	---

--- : عدم تكون اجسام ثمرية أو سبورات.

+ : تكون اجسام ثمرية أو سبورات.

المناقشة

هناك دراسات قليلة اهتمت بالتاثير التثبيطى لايونات العناصر الثقيلة على نمو الفطريات ، وفى الدراسة الحالية وجدنا ان ايونات الكادميوم كانت الاكثر تثبيطا للنمو الخضرى للفطر *Ch. atrobruneum* وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه الباحثان Baldrian و Gabriel ، (1997) فى دراستهم على بعض الفطريات البازيدية، فأيونات الكادميوم تشابه ايونات الكالسيوم والزنك من حيث الحجم وتعمل على منافستها للارتباط بالمواقع الفعالة للانزيمات داخل خلايا الكائنات الحية و بصورة عامة فانه يعتقد ان التاثير التثبيطي لايونات الكادميوم ينتج من الارتباط الخاطي لهذه الايونات مع الانزيمات وبذلك فان الانزيمات تفقد فعاليتها الحيوية مما يؤدي الى

عرقلة نمو الكائنات الحية (Barlocher و Abel ، 1984؛ Macara، 1978).

كذلك فان التأثير التثبيطي لهذه الآيونات قد يعزى الى تأثيرها السام على بعض الانزيمات المصنعة داخل الخلايا والتي تعتبر ضرورية للنمو الخضري وتكوين الاجسام الثمرية (Tham وجماعته، a، b، 1999).

وقد لوحظ خلال الدراسة أن تأثير آيونات العناصر الثقيلة المدروسة غالبا ما يكون أشد ما يمكن بعد فترة تعريض أربعة أيام وكان هذا التأثير يبدأ بالتناقص تدريجيا مع زيادة مدة التعريض ويزداد النمو الخضري تبعا لذلك وهذه الظاهرة تتفق مع ما وجده Khudor، (2001) ، وقد تعزى هذه الظاهرة الى تمكن بعض الخلايا الفطرية من التكيف للمعيشة تحت هذه التراكيز من العناصر وبمرور الزمن تعاود نشاطها من جديد لذلك يظهر زيادة في النمو أو تتمكن من تكوين الأجسام الثمرية.

ووجد إن آيونات الكوبلت بتركيز 25 ملغم / لتر كانت الأكثر تثبيطا للنمو الخضري بالمقارنة مع بقية العناصر ، وهذا يختلف عما وجده Khudor وجماعته، (2002) حيث وجدوا أن الفضة كانت الأكثر تثبيطا وقد يعزى هذا الى اختلاف الكائنات المستخدمة أو اختلاف الوسط المستعمل.

فسمية بعض العناصر الثقيلة على الفطريات تعتمد على الوسط الزرعي المستخدم إذ أن العناصر الثقيلة قد ترتبط بالمكونات العضوية واللاعضوية للوسط الزرعي (Baath، 1991)، فقد وجد Macleod وجماعته (1997) أن العديد من مكونات الأوساط الزراعية للأحياء المجهرية مثل الآكار ، الببتون ومستخلص الخمائر تكون لها القدرة على الارتباط بكميات معينة من آيونات العناصر الثقيلة وبهذا تقلل من سمية تلك العناصر نتيجة هذا الارتباط ؛ إذ أن غالبية العناصر النزرة تكون سميتها أشد ما يمكن عندما تتواجد بصورة آيونات حرة.

كذلك لوحظ أن التركيز 1 ملغم / لتر من آيونات الكوبلت قد حفزت نمو المستعمرات أكثر من معاملة السيطرة وقد تعزى هذه الظاهرة الى استفادة الفطر من هذا التركيز القليل في النمو مما أدى الى تشجيع النمو الخضري ، فقد اشار Baldrian و Gabriel، (1997) الى أن الكوبلت يدخل في تفاعلات أنزيمية كعوامل مساعدة للنمو الفطري وبتراكيز محدودة مما يشجع على نمو الفطريات.

Effect of some heavy metals ions on mycelial growth and Fruitbodies production of *Chaetomium atrobruneum*

Makia M. Al-Hejuje & Moustafa A. Al-Dossare

Zainab F. Mansowr

Biology Department, College of ScienceBasrah University

Basrah-Iraq

ABSTRACT

Response of mycelia, fruitbodies production and ascospores formation to cadmium, cobalt and silver ions were examined over a wide range of concentrations (1-25ppm) in pure cultures. Cd and Ag were found to be highly inhibitory ions, but Co was stimulated the mycelia and fruitbodies formation at low concentration (1ppm). The effect of these ions were found to be dependent on their concentrations and exposure periods.

REFERENCES

Al-Rikabi, S. A. W. (1997). A study on the effect of Zn^{+2}, Pb^{+2} and Mn^{+2} on the vegetative and sporogenesis of *Achlya racemesa*. Al-Mustansiriya J. Sci. 8: 109-115.

Arx, J. A., Guarro, J & Figuaras, M. J. (1986). The ascomycete *Chaetomium*. Breh nova Hedwiga, 84, 162pp.

Baath, E. (1991). Tolerance of copper by entomogenous fungi and the use of copper-amended media for isolation of entomogenous fungi from soil. Moycol. Res. 95: 1140-1152.

Baldrian, P. & Gabriel, J. (1997). Effect of heavy metals on

the growth of selected wood-rotting Basidiomycetes Folia Microbiol. 42: 521-523.

Barlocher, F. & Abel, T. H. (1984). Effect of cadmium on aquatic hyphomycetes. Appl. Env. Micro. 48: 245-251.

Fernando, T. Jarvis, B. B. & Bean, G. (1986). Effects of micro-elements on production of roridin E by *Myrothecium noridum*, Astrain pathogenic to muskmelon (*Gucumis melo*). Trans. Br. Mycol. Soc. 86: 273-277.

Gadd, G.M. (1983). The use of solid medium to study effects of cadmium, copper and zinc on yeasts and yeast-like fungi applicability and limitations. J. Appl. Bact. 54: 57-62.

8-Johnson, L. E., Gurl, E. A., Bond, J. H. & Fribourgh, H. A. (1959). Methods for studying soil microflora-pant disease relationships. Burges Publ. Comp. Minnepolis.

Khudor, M. H. (2001). Effect of cadmium and zinc ions on the growth *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. Al-Qadisiya Sci. J. Vet. Med. (in press).

Khudor, M. H., Al-Hejuje, M. M. & Abdullah, F. A. (2002). The use of solid and liquid medium to study the effects of heavy metals on the growth of *Candida albicans*. (in press).

Macara, G. I. (1978). Accomodation of yeast to toxic levels of cadmium ions. J. Gen. Micro. 104: 321-324.

MacLeod, R. A., Kuo, S. C. & Gelinas, R. (1967). Metabolic injury to bacteria. II. Metabolic injury induced by distilled water of copper in the

planting diluent. J. Bact. 93: 961-969.

Tham, L. Matsuhashi, S. & Kume, T. (1999a). Growth and fruitbody formation of *Ganoderma lucidum* on media supplemented with vanadium, selenium and germanium. Mycoscience, 40: 87-92.

Tham, L. Matsuhashi, S. & Kume, T. (1999b). Responses of *Ganoderma lucidum* to heavy metals. Mycoscience, 40: 209-213.