



متوفرة على الموقع: <http://www.basra-science-journal.org>



ISSN -1817 -2695

## دراسة سمية الطحلب الأخضر المزرق *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont وتأثيراته المرضية النسجية على غلاصم سمكة سيفية الذنب *Xiphophorus helleri*

أحمد محسن عذبي علي عبد اللطيف العلي يسرى طارق ياسين الرديني

قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة البصرة

الاستلام 2012-12-26 ، القبول 2013-3-14

### ملخص

تم دراسة سمية الطحلب الأخضر المزرق *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont المعزول من بعض المسطحات المائية في محافظة البصرة على اسماك *Xiphophorus helleri* بعد إكثاره باستعمال الوسط الزراعي المحور Ch-10. تم فصل المركبات السامة وتشخيصها باستعمال تقنية كروماتوغرافيا الغاز- طيف الكتلة Gas chromatography [ GC- Mass ] التي تمثلت بالمركب الفلويدي Thioura trimethyl والحامض الدهني غير المشبع 7- Hexadecenoic acid و المركب Cyclohexasilioxane, dodecamethyl. حددت الآثار السمية للطحلب على غلاصم الأسماك بعد تغذيتها عليه وفترات متعاقبة ابتداءً من خمسة أيام واستمرت لتشمل 10 و 15 و 20 و 25 و 30 و 40 و 50 و 60 و 70 وحتى 80 يوماً .

تبين من الدراسة النسجية أن هذا الطحلب يسبب تغيرات مرضية نسجية واضحة في الغلاصم تزداد شدتها وتنوعها مع طول مدة تناول الأسماك للطحلب إذ لم تسجل أي تغيرات مرضية نسجية بعد خمسة أيام من بدء التجربة لكن حدثت بعض التغيرات بعد 10 أيام تمثلت بانفصال detachment النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية وتغير شكلها المستقيم واتخاذها شكل الحرف L , وازدادت التغيرات بعد 15 و 20 و 25 يوماً والفترات اللاحقة وتمثلت بحدوث بدايات فرط تنسج hyperplasia بنمطين للصفائح الغلصمية الثانوية وتوسع aneurism واحتقان congestion الأوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية الثانوية والتصاق adhesion الصفائح الغلصمية الثانوية من النهايات الحرة وتجمع لخلايا الكلورايد بشكل غير منتظم ولوحظ في الفترات الأخيرة من التجربة تغيرات مرضية أشد وكان من بين تلك التغيرات حصول الوذمات Oedema وتخر necrosis الأوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية وتضمنت التغيرات في العظم حدوث ترقق العظم السمحاق osteoporosis المحيط باللب الغضروفي وتحلله osteomitosis الذي نتج عنه تقوس وانحناء الهيكل الساند للخيوط الغلصمي .

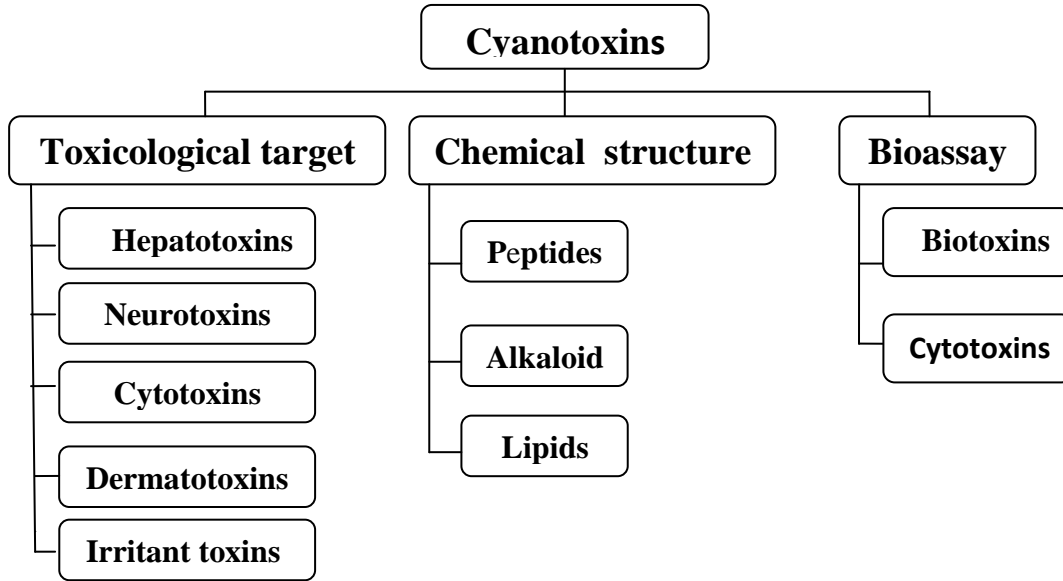
**الكلمات المفتاحية:** الطحلب الاخضر المزرق *Lyngbya martensiana* , التأثيرات السمية , *Xiphophorus helleri*, التغيرات المرضية النسجية.

## 1. المقدمة

كيميائية تستخدم لحماية الطحلب نفسه أو قد تمتلك هذه المركبات تأثير مؤذي على أسجة الكائنات الموجودة في النظام البيئي [11 و 12]. تختلف هذه السموم في تركيبها الكيميائي وتسبب العديد منها تأثيرات بيولوجية مختلفة للكائنات الحية [13 و 14]

أختلف الباحثون في تصنيف أنواع السموم التي تنتجها الطحالب الخضر المزرق فهي تصنف أما اعتماداً على الاختبارات الحيوية Bioassay [15] أو التركيب الكيميائي Chemical structure [16] أو على أساس هدفها السمي Toxicological target [17] (شكل 1) [18] Yadav , ومن أهم الأجناس المنتجة للسموم *Microcystis* و *Oscillatoria* و *Nostoc* و *Anabaena* و *Lyngbya* [25 و 26]

الطحالب الخضر المزرق Cyanophyta مجموعة من الكائنات الحية بدائية النواة Prokaryote لا تمتلك سيقاناً وجذوراً وأوراقاً حقيقية [1] تعود إلى مملكة الأوليات Monera [2], تستطيع هذه الأحياء العيش في بيئات مختلفة متحملة الظروف البيئية الصعبة [3 و 4]. تزدهر في البيئات المائية عند توفر عوامل بيئية ملائمة من درجة الحرارة وشدة الإضاءة والأس الهيدروجيني pH المناسب ووفرة المغذيات ومن أهمها النتروجين والفسفور مسببة مشاكل كثيرة [5 و 6] إذ تحرر بعض أنواعها سموماً للبيئة المائية تعرف بالسموم الطحلبية Cyanotoxins [7 و 8] وتعد هذه السموم نواتج أيضية ثانوية Secondary metabolites [9 و 10], قد تكون وظيفتها كمواد



[شكل 1] تصنيف السموم الطحلبية على اساس الاختبارات الحيوية و تركيبها الكيميائي و هدفها

السمي [18] Yadav

السام *Planktothrix rubescens* و لاحظ  
Rodger [30] موت الكثير من سمك السلمون المرقط  
البنّي *Salmo trutta* في إحدى البحيرات الاسكتلندية  
مع ازدهار الطحلب *Anabaena fiosaquae* وعند  
فحص الأسماك الميتة وأخذ مقاطع نسجية للعديد من  
بعض أعضائها وجد في كل من الغلاصم والكبد والكلية  
تغيرات مرضية خطيرة كانت السبب في موت تلك  
الأسماك. وبينت دراسة Al-Sultan and Al-Ali  
[31] حدوث تغيرات مرضية نسجية واضحة في أنسجة  
أسماك المولي الأسود *Poecilia sphenops* المغذاة  
على الطحلب السام *Hapalosiphon welwitscii*  
تمثلت بتضرر أنسجة الغلاصم والكبد وأظهرت دراسة [32]  
Al-Ali et al. إن الطحلب السام *Nostoc muscurum*  
سبب تأثيرات مرضية نسجية على  
أعضاء يافعات أسماك الكارب العشبي.  
ونظراً لأهمية الموضوع من الناحية البيئية والصحية  
كونه يؤثر بصورة مباشرة أو غير مباشرة على صحة  
الإنسان والكائنات الحية الأخرى وقلة الدراسات المحلية  
حول الطحالب السامة ومنها الطحالب الخضراء المزرققة إذ  
أن هناك القليل من الدراسات المحلية التي تناولت تأثير  
السموم الطحلبية على أنسجة الكائنات الحية لذا جاءت  
أهمية الدراسة الحالية في تحديد التأثيرات السمية  
للطحلب *L. martensiana* على غلاصم أسماك  
سيفية الذنب *Xiphophorus hellrei*.

يعد الجنس *Lyngbya* من الطحالب السامة  
المنتجة لأعداد كبيرة من المركبات الايضية الثانوية [19]  
و [20] وإن العديد منها مصدر قلق كبير على صحة  
الإنسان والحيوان إذ تسبب التسمم Intoxication  
والالتهابات الجلدية Dermatitis [21] والتهابات  
الجهاز الهضمي [22] وتكوين الأورام [23]. ويعد النوع  
*Lyngbya majuscula* Gomont و *Lyngbya*  
*wollei* Farlow ex Gomont من أكثر الأنواع التي  
أجريت الاختبارات الحيوية عليها، فقد تم عزل عدد من  
المركبات الايضية الثانوية من النوع *L. majuscula*  
منها المركبين Lyngbyabellin A and B وهي من  
السموم الخلوية Cytotoxins [24 و 25] كما تم عزل  
المركبين Lyngbyatoxin و Aplysiatoxin من هذا  
النوع وهي من السموم الجلدية dermatotoxins [26 و 22].  
أما النوع *L. wollei* وهو من طحالب المياه  
العذبة فقد تم عزل المركب Saxitoxin منه وهو من  
السموم العصبية Neurotoxins [27 و 28].  
أشارت الدراسات إلى وجود علاقة بين السموم  
المنتجة من الطحالب والعديد من التغيرات المرضية  
النسجية التي تصيب أنسجة الكائنات الحية ومنها  
الأسماك عندما تكون بتماس مع هذه السموم سواء  
أكانت على مستوى التجارب المختبرية أو البيئية إذ بينت  
دراسة Ernst [29] ظهور تأثيرات مرضية نسجية كبيرة  
في كل من كبد وكي وأمعاء السمك الأبيض  
*Coregonus lavaretus* بعد تغذيته على الطحلب

## 2 . توصيف تلك المزرعة

### 1 . 2 : جمع العينات

م<sup>2</sup>/ثا ولمدة 16:8 ساعة إضاءة : ظلام, رجت المزارع بأستمرار وحصدت في منتصف الطور المستقر Stationary phase بعدها جفدت العينات وحفظت في قناني زجاجية محكمة الغلق تحت درجة حرارة - 18م° [ 37 ] .

### 2 . 4 : قياس معدل النمو

تم تحديد منحى النمو بدلالة الوزن الجاف Dry weight من خلال زرع العزلات الطحلبية في عدد من أنابيب الاختبار وبوقت واحد إذ وضع في كل أنبوبة تسعة مليلتر من الوسط الزرعي وأضيف إليه واحد مليلتر من العزلة الطحلبية , حضنت الأنابيب في كابينة النمو تحت ظروف الزرع المذكورة في الفقرة [2-3] وتم تركيز العينات الطحلبية باستخدام جهاز الطرد المركزي, اخذ الراسب ووضع على ورقة ترشيح معلومة الوزن, ثم نقلت الى فرن كهربائي بدرجة حرارة 70 م° ولمدة 24 ساعة ثم تم وزنها بميزان حساس بعد إهمال وزن الورقة ,أخذت القراءات ابتداءً من وقت التلقيح ويمرور الزمن تم تحديد معدل النمو Growth rate والذي قدر بطريقة Fogg [38] .

### 2 . 5 : أستخلاص المركبات السامة من الطحلب

أتبعت طريقة [28]. Yin *et al.* في استخلاص المواد السامة إذ تم اخذ وزن قدره واحد غرام من المادة الطحلبية المجفدة ووضع في دورق زجاجي يحتوي على 50 مليلتر من الكحول الايثيلي تركيز 80 % والمضاف إليه حامض الخليك لتصبح درجة حامضيته 3.5 , مزجت العينات جيداً بأستعمال جهاز magnetic stirrer لمدة [ 1-3 ] ساعة في درجة حرارة الغرفة [ 30م] ثم نقلت العملية الى الثلجة بدرجة حرارة 4 م° لمدة [12] ساعة لغرض التشبع الكامل بعدها تم فصل الراسب عن الراشح بعملية الفلترة باستخدام قمع الفصل Buchner funnel بعدها جمع الراشح وركز باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator وحفظ تحت درجة حرارة - 18م° لحين الاستعمال.

جمعت العينات المائية بصورة عشوائية من مناطق مختلفة من شط العرب في محافظة البصرة لعزل الطحلب *L. martensiana* وجلبت مباشرة إلى المختبر للتحري عن النوع الطحليبي المراد عزله.

### 2 . 2 : عزل الطحالب وتنقيتها

فحصت العينات بأستخدام المجهر الضوئي للتأكد من النوع المراد عزله ثم زرع على الوسط الزرعي الصلب Solid media بأستعمال طريقتي التخطيط Streaking والنشر spreading ، وصولاً الى المزرعة وحيدة الطحلب Unialgal culture وحسب طريقة [33] Stein , وقد أستعمل الوسط الزرعي Chu-10 المحور من قبل [34] ALAarajy بعدها شخص الطحلب بالاعتماد على المصدر التصنيفي [ 35 ]

**Division: Cynophyta**

**Class: Cynophyceae**

**Order: Oscillatoriales**

**Family: Oscillatoriaceae**

**Genus: Lyngbya**

**Species : . Lyngbya martensiana**

**Menegh. ex Gomont**

للحصول على مزرعة نقية Axenic culture

أستعملت طريقة [ 36]. Weidman *et al.* والمتضمنة غسل الطحلب بالماء المقطر المعقم 12 مرة على الأقل وللتأكد من نقاوة العزلة زرعت على وسط الأكار المغذي Nutrient agar للتأكد من عدم وجود نمو للجراثيم على سطح الوسط المغذي .

### 2 . 3 : إكثار العزلات وحصادها

تم إكثار العزلات النقية بأستخدام مزارع الوجبات Batch cultures إذ تم تحضير الوسط الزرعي السائل Chu-10 ولقح بوساطة العزلات النقية ، وضعت الدوايق في كابينة النمو تحت درجة حرارة ( 2 ± 25 ) م° وإضاءة تراوحت بين 130-150 مايكرواينشتاين /

تركت الأسماك تحت ظروف التجربة المختبرية أعلاه وتم اخذ العينات على فترات زمنية متتالية بدأت من خمسة أيام بعد أول يوم تغذية واستمرت الى 10 و 15 و 20 و 25 و 30 و 40 و 50 و 60 و 70 و 80 يوماً .

## 2 . 8 : التحضير النسيجي

لغرض تحضير المقاطع النسجية تم تشريح ثلاث

عينات من الأسماك من كل فترة زمنية للحصول على الغلاصم وحسب طريقة [ 39 ] Humason, بعد عزل الغلاصم تم تثبيتها Fixation باستخدام مثبت بوبن Bouin's fixative لمدة 24 ساعة ثم غسلت بالكحول الايثيلي تركيز 50 % لعدة مرات و جرت عملية الأنكاز Dehydration بإمرار العينات في تراكيز تصاعديّة من الكحول الايثيلي [ 80 و 90 و 100% ] ثم روقت Clearing باستعمال الزايلين وتم التشريب Infiltration والطرر Embedding بشمع البارافين درجة انصهاره 58 م وقطعت sectioning العينات باستخدام المشراح الدوار Rotary microtome للحصول على مقاطع نسجية بسماك سبعة مايكروميتر, تم وضع المقاطع على شرائح زجاجية نظيفة بعد طليها بطبقة خفيفة من مادة زلال ماير وتم التصبغ Staining بأستعمال صبغة الهارس هيماتوكسلين والأيوسين كصبغة أساسية. تم تغطية الشرائح الزجاجية بأغطية زجاجية بعد إضافة مادة التحميل كندا بلسم وفحصت باستخدام المجهر الضوئي وصورت باستخدام الكاميرا الرقمية.

## 2 . 6 : تشخيص المركبات السامة بأستخدام جهاز

### كروموتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة GC- Mass

تم فصل بعض المركبات السامة المعزولة من الطحلب *L. martensiana* وتشخيصها باستعمال تقنية كروموتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة GC- Mass في مختبرات جامعة طهران في جمهورية إيران الإسلامية.

## 2 . 7 : تربية الأسماك وتغذيتها

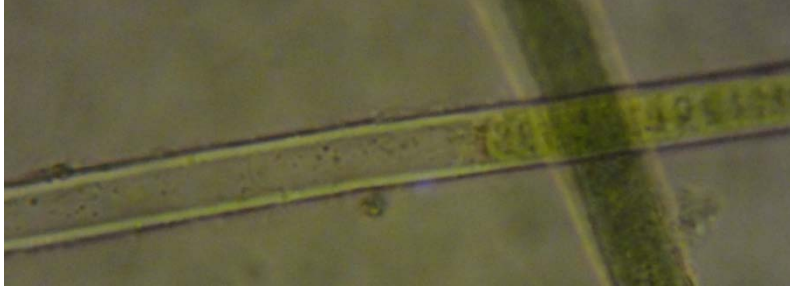
جلبت أسماك زينة ناضجة من نوع *Xiphophorus helleri* من محلات أسماك الزينة في محافظة البصرة الى المختبر وبأوزان تراوحت بين [ 2 - 3 غرام ], تركت الأسماك تحت الظروف المختبرية من ضوء ودرجة حرارة لمدة يومين قبل بدء التجربة ثم قسمت على ثلاثة مجاميع تضم كل مجموعة 25 سمكة وبواقع 20 أنثى و 5 ذكور. وضعت كل مجموعة في حوض زجاجي أبعاده 30 x 60 x 40 سنتيمتر يحتوي على 50 لتر من مياه R.O. ه تم ترشيحه وأستخدمت مضخات هواء كهربائية لتوفير الأوكسجين المذاب ,عرضت جميع الأحواض للظروف المختبرية المحيطة نفسها . غذيت المجاميع الثلاث لحد الإشباع إذ استعملت مزرعة طحلبية نقية للطحلب *L. martensiana* كغذاء لأسماك المجموعة الأولى بينما أستعمل خليط من المزرعة الطحلبية المجفدة والعليقة التجارية Aquafin [ المكونة من 38% بروتين خام و 3 % دهن خام و 5% ألياف خام ] بنسبة 1:1 كغذاء لأسماك المجموعة الثانية وأستعملت العليقة التجارية Aquafin كغذاء لأسماك المجموعة الثالثة وعدت كمجموعة سيطرة .

## 3 النتائج

### 3 . 1 : وصف الطحلب *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont

عرض الخلية بين 9- 10.5 مايكروميتر وطولها 2.5 - 3 مايكروميتر والخلايا القمية مستديرة بدون قلنسوة calyptras , يتواجد الطحلب في بيئة المياه العذبة ملتصقاً على الأسطح المغمورة وعلى الصخور الرطبة .

طحلب أخضر مزرق خيطي الشكل تكون خيوطه طويلة مستقيمة تنمو في خصلات كثيفة caespitose تحاط بغلاف جيلاتيني sheath عديم اللون مكون من طبقتين وممتد الى الأمام بشكل واضح جداً , يتراوح

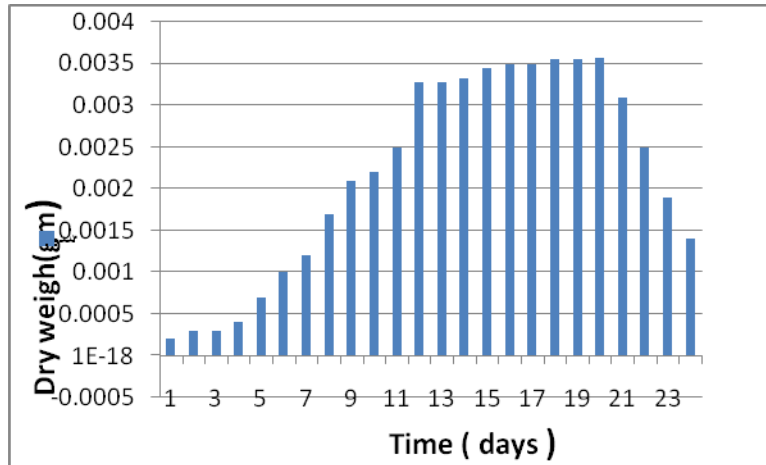


[شكل 2] الطحلب الاخضر المزرق *L. martensiana*

### 3 . 2 : معدل النمو Growth rate

التناقص Decline phase في اليوم الواحد والعشرين [شكل 3] لذلك تم حصاد الطحلب في منتصف طور الأستقرار أي في اليوم السادس عشر ولقد اظهر الطحلب ثابتاً للنمو مقداره 0.176 وزمن تكاثر الجيل مقداره 1.71.

لوحظ أن الطحلب يبدأ بالطور الأسي Log phase في اليوم الخامس من زراعته وبدأ بالزيادة المطردة في عدد خلاياه ويستمر حتى اليوم الثاني عشر إذ نهاية الطور الأسي وبداية طور الأستقرار Stationary phase الذي استمر الى اليوم العشرين ليبدأ طور



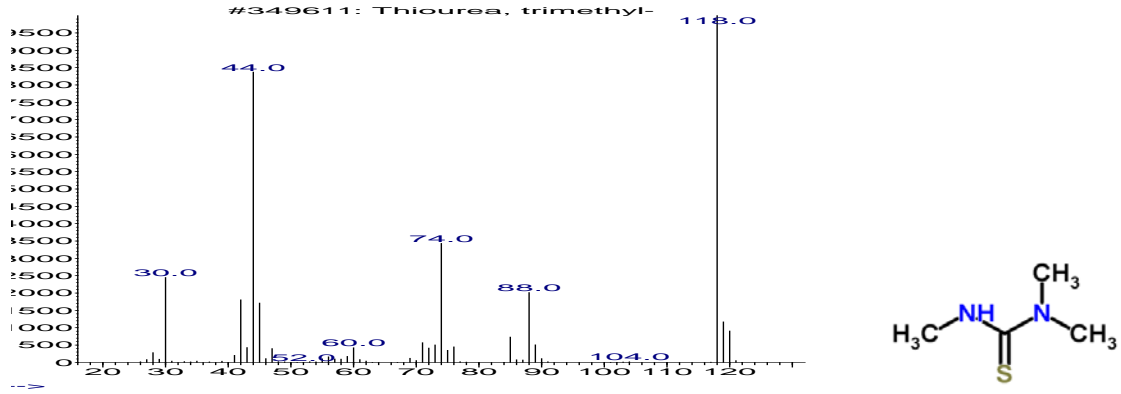
1

شكل 3 : منحنى النمو للطحلب الأخضر - المزرق *Lyngbya martensiana*

### 3 . 3 : طيف الكتلة للمركبات السامة المفصولة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز

في الجهاز ثبت انه المركب القلويدي Thiourea trimethyl الذي بلغ وزنه الجزيئي 118 دالتون وصيغته الكيميائية  $C_4H_{10}N_2S$  ويشغل مساحة قدرها 3.44 % من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة .

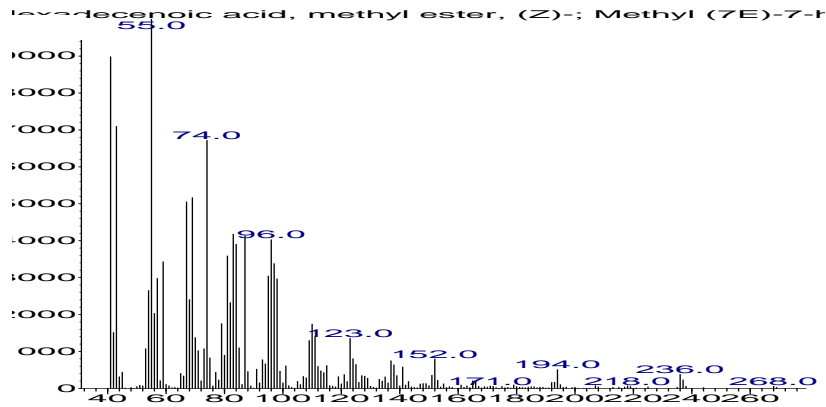
1 . طيف الكتلة للمركب رقم [ 1 ] : بين الشكل [ 4 ] طيف الكتلة للمركب القلويدي رقم [ 1 ] الذي فصل بتقنية كروماتوغرافيا الغاز بزمن احتباس قدره 14.8 دقيقة ومن خلال مطابقة هذه المركب مع قاعدة المعلومات حاسوبياً



شكل 4 : طيف الكتلة للمركب Thiourea trimethyl المعزول من الطحلب الاخضر المزرق *L. martensiana* مع تركيبه الكيميائي

في الجهاز ثبت انه المركب 7- Hexadecenoic acid الذي بلغ وزنه الجزيئي 236 دالتون وصيغته الكيميائية  $C_{17}H_{32}O_2$  ويشغل مساحة قدرها 13.46% من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة .

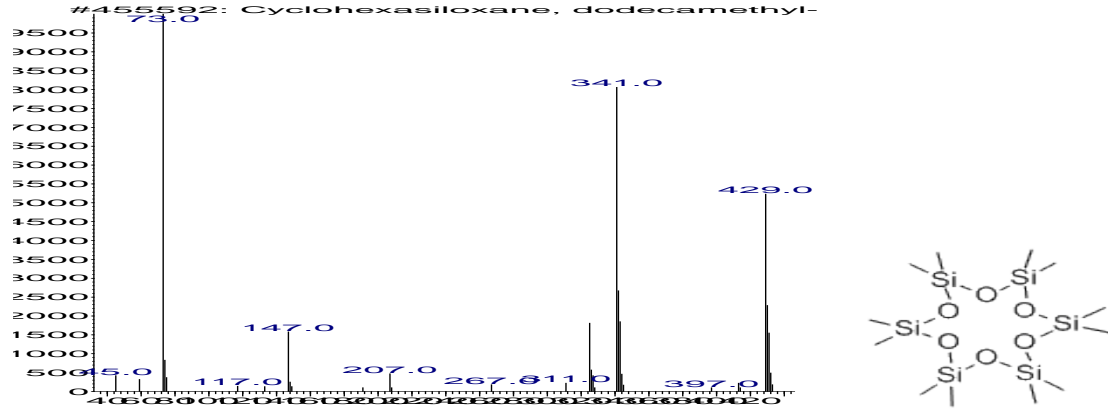
2 . طيف الكتلة للمركب رقم [ 2 ] :بين الشكل [ 5 ] طيف الكتلة للمركب رقم [ 2 ] الذي فصل بتقنية كروماتوغرافيا الغاز بزمن احتباس قدره 21.0 دقيقة ومن خلال مطابقة هذه المركب مع قاعدة المعلومات حاسوبياً



الشكل (5) طيف الكتلة للمركب 7- Hexadecenoic acid المعزول من الطحلب الاخضر المزرق *L. martensiana* مع تركيبه الكيميائي

dodecamethyl الذي بلغ وزنه الجزيئي 429 دالتون وصيغته الكيميائية  $C_{12}H_{36}O_6Si_6$  ويشغل مساحة قدرها 79.87% من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة .

3. طيف الكتلة للمركب رقم [ 3 ] : بين الشكل [ 6 ] طيف الكتلة للمركب رقم [ 3 ] الذي فصل بتقنية كروماتوغرافيا الغاز بزمن احتباس قدره 35.4 دقيقة ومن خلال مطابقة هذه المركب مع قاعدة المعلومات حاسوبياً في الجهاز ثبت انه المركب Cyclohexasiloxane,



شكل 6 : طيف الكتلة للمركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl المعزول من الطحلب الاخضر المزرق *L. martensiana* مع تركيبه الكيميائي

#### 4.3 : الدراسة النسجية

في الغلاصم كثيرة وللمجموعتين الأولى والثانية ، وبين الفحص النسجي أن التغيرات المرضية التي سجلت في أسماك المجموعة الأولى غالباً ما ظهرت في أسماك المجموعة الثانية .

تضمن تركيب الصفائح الغلصمية الثانوية أوعية شعرية دموية دقيقة تبطن بطبقة واحدة من خلايا ظهارية هي الأندوثيلية . ولوحظ في قاعدة كل خيط غلصمي أعداد قليلة جداً من خلايا الكلورايد التي تبدو مع صبغة الهيماتوكسلين والأيوسين بشكل خلايا كروية ذات مادة سايتوبلازمية تتقبل الصبغة الحامضية الأيوسينية وللخلايا نواة كروية واضحة ذات مادة كروماتينية كثيفة [ شكل 8 ] .

الثانوية الواقعة في وسط وقاعدة خيوط غلصمية أخرى [ شكل 9 ] . كما لوحظ في بعض أسماك المجموعتين تغير الشكل المستقيم لعدد من الصفائح الغلصمية الثانوية في مواقع متفرقة على الخيط الغلصمي متخذة أشكال مختلفة أغلبها تظهر بشكل يشبه الحرف L أو تكون بشكل زكرّك [ شكل 10 ] .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن الطحلب *L. martensiana* سبب تغيرات مرضية نسجية واضحة على غلاصم سمكة السوردتيل ولوحظ أن شدة التغيرات تزداد مع طول المدة الزمنية للتجربة وكان نوع التغيرات:

#### 1: بعد خمسة ايام من بدء التجربة:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية خلال هذه الفترة عدم تأثر تركيب الغلاصم وللمجموعتين الأولى والثانية وكانت مشابهة في التركيب لأسماك مجموعة السيطرة [ شكل 7 ] إذ ظهرت الخيوط الغلصمية للمجاميع الثلاث بشكل تراكيب خيطية مستقيمة هي وصفائحها الغلصمية الثانوية التي تفصلها عن بعضها البعض في الخيط الغلصمي الواحد مسافات ثابتة ومحددة ، ويظهر أن الخيط الغلصمي يسند بعظم غضروفي سميك يمتد على طول الخيط الغلصمي ويوازيه وعائيين دمويين كبيرين ، بينما

#### 2 : بعد 10 أيام من بدء التجربة :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تغيرات مرضية نسجية في بعض الخيوط الغلصمية تمثلت بانفصال Detachment طبقة النسيج الظهاري لعدد قليل من الصفائح الغلصمية الثانوية، وتباين موقع بدأ ظهور هذه التغيرات بين الخيوط الغلصمية ف لوحظت في الصفائح الغلصمية الثانوية القريبة من الطرف الحر لبعض الخيوط الغلصمية بينما ظهرت في الصفائح الغلصمية



### 3: بعد 15 و 20 و 25 يوماً من بدء التجربة:

وبين الفحص النسيجي للغلاصم الأسماك بعد 15 يوماً من بدء التجربة زيادة أعداد الخلايا الظهارية عند قاعدة الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 12 و 13 و 14 و 15] وهو يمثل بداية لظهور فرط التنسج Hyperplasia في الغلاصم إذ تشكل هذه الخلايا كتلة خلوية مفككة تشغل الثلث القاعدي للمسافة الفاصلة بين الصفائح الغلصمية الثانوية المتجاورة ويزداد توالد الخلايا في هذه الفسحة تدريجياً لتشغل نصف المسافة الفاصلة بين الصفائح الغلصمية الثانوية بعد 20 يوماً من بدء التجربة [شكل 11 و 16 و 18 و 20] بينما تصل الى نهاية الطرف الحر لتلك الصفائح بعد 25 يوماً من بدء التجربة [شكل 16 و 17] عندها يصعب تمييز حدود الصفائح الغلصمية الثانوية وتبدو مدمجة مع بعضها. كما لوحظ في بعض مناطق الخيط الغلصمي التصاق الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 20].

وأحياناً تصبح القضبان أطول من الصفائح الغلصمية الثانوية نفسها , ولوحظ في الخيط الغلصمي الواحد مراحل تكون تلك القضبان ويبدأ عادة بزيادة أعداد الخلايا في الثلث القاعدي للصفائح الغلصمية الثانوية عند منطقة اتصالها مع الخيط الغلصمي ومع استمرار توالد الخلايا تتجه الخلايا البنية الجديدة نحو الطرف الحر للصفائح الغلصمية الثانوية . وأظهرت دراسة المقاطع النسيجية توسع واحتقان الأوعية الشعرية الدموية وتركز حدوث ذلك في منطقة الطرف الحر للصفائح الغلصمية لثانوية وفي مناطق متفرقة على الخيط الغلصمي [شكل 21 و 25] كما لوحظ أن الصفائح الغلصمية الثانوية التي حدث فيها انفصال للنسيج الظهاري تلتصق مع بعضها البعض في مواقع الانفصال [شكل 24 و 28 و 29] التي تتميز أيضاً في بعض الاحيان بتجمع سوائل (وذمات) Oedema تنحصر بين الوعاء الشعري وطبقة النسيج الظهاري في مواقع انفصاله [شكل 29].

تنوعت التغيرات المرضية النسيجية خلال هذه الفترة أكثر فأضافة الى ظهور التغيرات المرضية النسيجية السابقة والمتمثلة بانفصال طبقة النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية الذي بدأ من الطرف الحر للصفائح الغلصمية الثانوية باتجاه قاعدتها وبشكل تدريجي [شكل 11 و 12 و 13 و 14] والنوع الذي بدأ من القاعدة باتجاه الطرف الحر [شكل 15 و 16] وتغير أشكالها المستقيمة الى ما يشبه الحرف L والزكزاك [شكل 11 و 17] , أظهرت دراسة المقاطع النسيجية احتقان الأوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 15 و 18] وانتفاخ بعض خلايا النسيج الظهاري بعد انفصاله [12].

ولوحظ انتشار واضح لخلايا الكلورايد في مناطق متفرقة على الخيوط الغلصمية إذ ظهرت بشكل تجمعات تركزت في منطقة النسيج الضام الساند للخيط الغلصمي أي في قواعد الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 19].

### 4: بعد 30 و 40 يوماً من بدء التجربة :

استمر ظهور جميع التغيرات المرضية النسيجية وبأنواعها المختلفة التي ظهرت في المرحلة السابقة ومنها تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 21 و 22 و 23] لكن لوحظ أن فرط التنسج في الغلاصم ظهر بنمطين الأول وكما هو الحال في المرحلة السابقة هو زيادة أعداد الخلايا وانتشارها في كل المسافة الفاصلة بين الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 22 و 23 و 24 و 25 و 26] أما النمط الثاني فتظهر فيه كتلة خلايا فرط التنسج بشكل قضيبي في المسافة الفاصلة بين الصفائح الغلصمية الثانوية ويفصل هذا القضيبي عن طبقة النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية المجاورة مسافة صغيرة جداً يمكن من خلالها تمييز حدود الصفائح الغلصمية الثانوية المجاورة [شكل 25 و 27], وكانت القضبان التي تشكلت من فرط التنسج بين الصفائح الغلصمية الثانوية لأسماك المجموعتين بعد 40 يوماً من بدء التجربة أطول من تلك التي تشكلت بعد 30 يوماً

**5: بعد 50 و 60 يوماً من بدء التجربة :**

بشكل قضبان بين الصفائح الغلصمية الثانوية المتجاورة مع ملاحظة اختفاء حالة فرط التنسج من النمط الأول [شكل 30 و 33 و 34] كما حصل تنخر في بعض الخلايا الظهارية للصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 32] .

ولوحظ أن العظم السمحافي الساند للخيط الغلصمي يعاني من قلة في سمكه وعدم استقامته [شكل 32 و 33] كما في مجموعة السيطرة [شكل 35] ويبدو أن ذلك حدث في مناطق متفرقة على الخيط الغلصمي الواحد .

فرط التنسج الذي ظهر بشكل قضبان بين الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 36 و 37 و 38] وتنخر واضح في الصفائح الغلصمية الثانوية [شكل 39] .

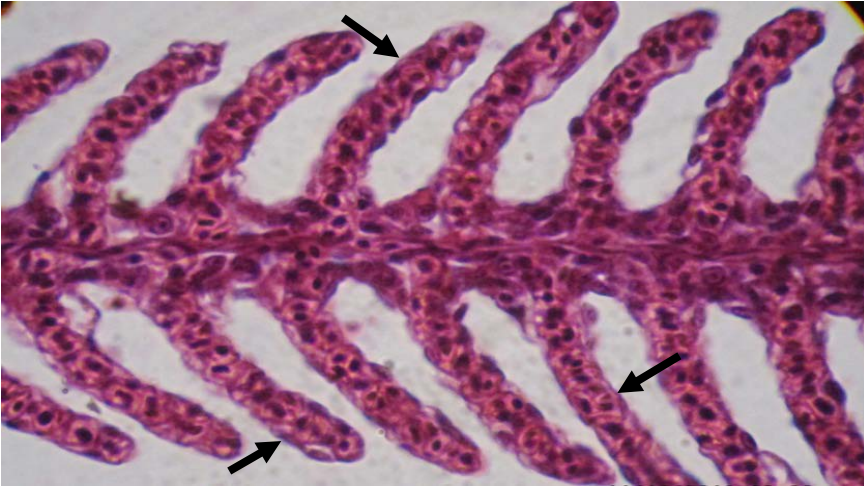
تمثلت التغيرات المرضية النسجية خلال هذه الفترة بتوسع واحتقان الأوعية الشعرية الدموية لبعض الصفائح الغلصمية الثانوية ولعدد قليل من الأسماك [شكل 30 و 31] بينما لوحظ زيادة أعداد الصفائح الغلصمية الثانوية - في الخيط الغلصمي الواحد - التي تعاني من تغير أشكالها [شكل 32] وانفصال طبقة النسيج الظهاري [شكل 33 و 34] ولوحظ ظهور هذه التغيرات في معظم الخيوط الغلصمية . وأظهرت دراسة المقاطع النسجية خلال هذه الفترة حدوث حالة فرط تنسج للصفائح الغلصمية الثانوية من النمط الثاني فقط أي الذي ظهر

**6 : بعد 70 و 80 يوماً من بدء التجربة**

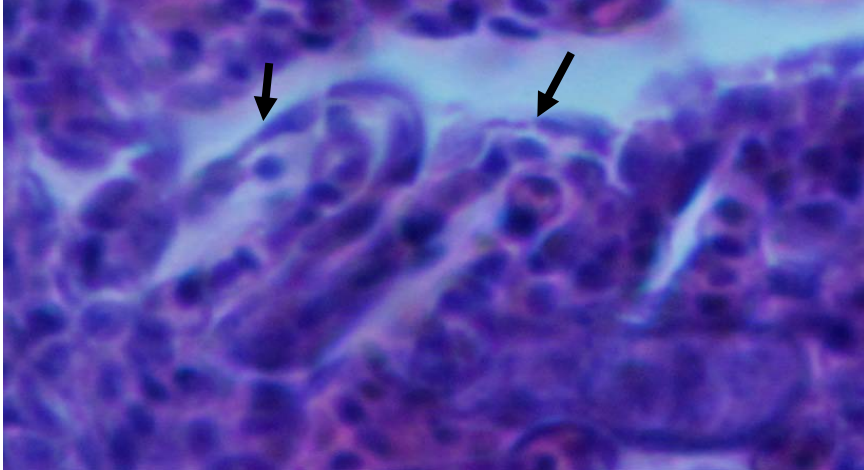
أظهرت دراسة المقاطع النسجية خلال هذه الفترة حدوث التغيرات المرضية النسجية نفسها التي ظهرت في المرحلة السابقة باستثناء احتقان الأوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية الثانوية . ولوحظ انتشار أكثر لحالة



(شكل 7) غلاصم أسماك مجموعة السيطرة توضح الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم). قوة التكبير X 400



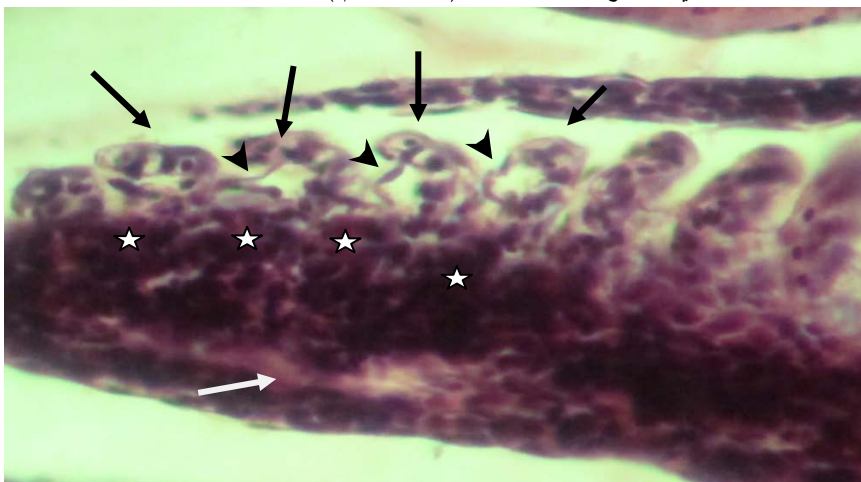
(الشكل 8) غلاصم أسماك بعد 5 أيام من بدء التجربة توضح الصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم). قوة التكبير X 400



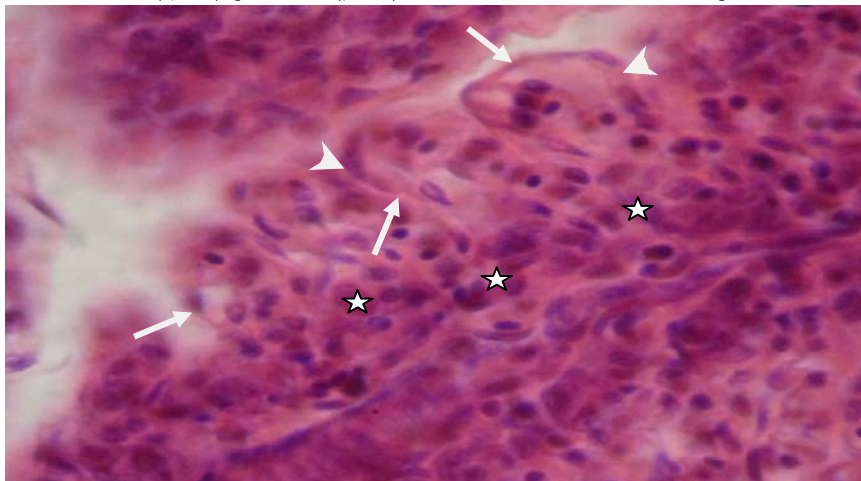
(الشكل 9) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 10 أيام من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم).  
قوة التكبير X 1000



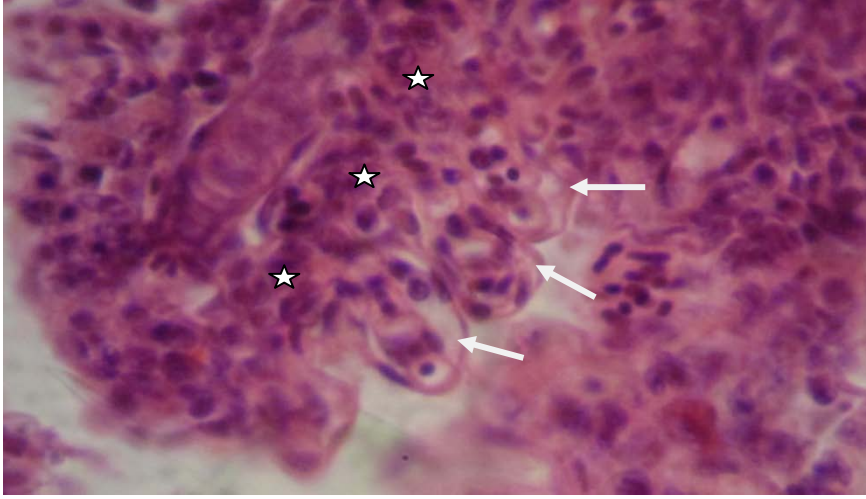
(الشكل 10) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 10 أيام من بدء التجربة توضح تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم) وبداية انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (رؤوس الأسهم). قوة التكبير X 400



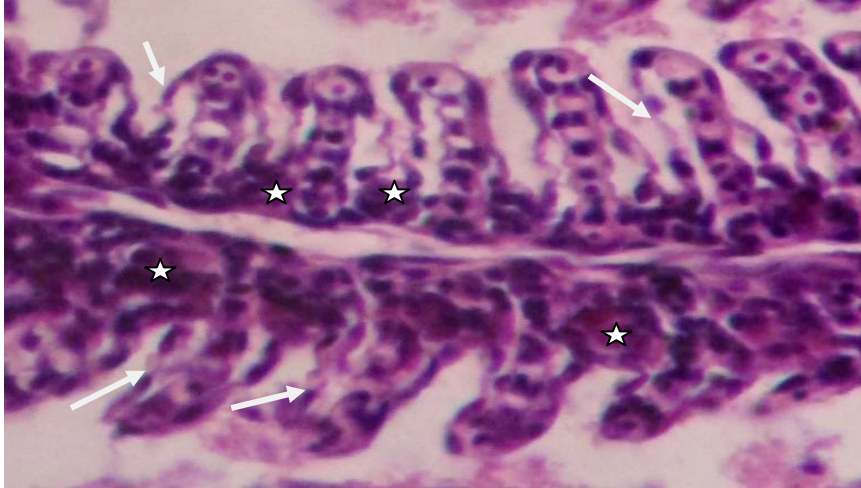
( الشكل 11) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 20 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (رؤوس الأسهم) وتغير أشكال الصفائح الغلصمية الثانوية لما يشبه الحرف L (الأسهم) وفرط التنسج (الانجم). قوة التكبير X 400



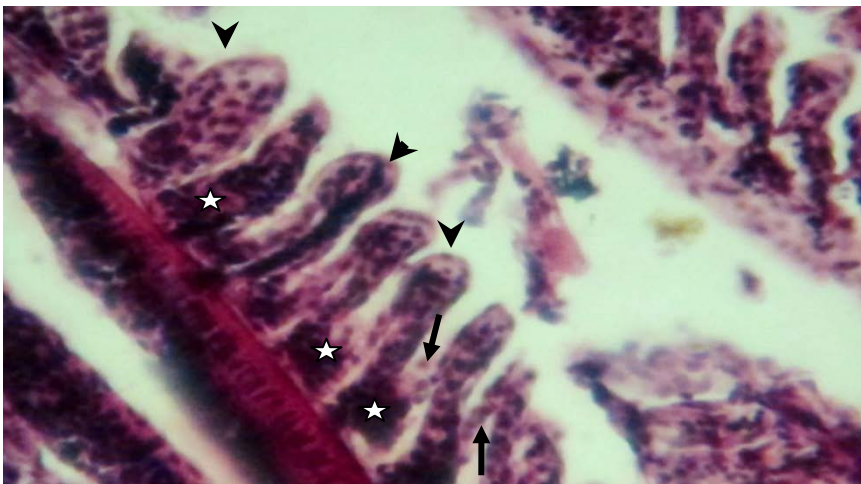
(الشكل 12) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 15 يوم من بدء التجربة توضح: انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية من الطرف الحر (الاسهم) فرط تنسج (الانجم) انتفاخ الخلايا الظهارية (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 400



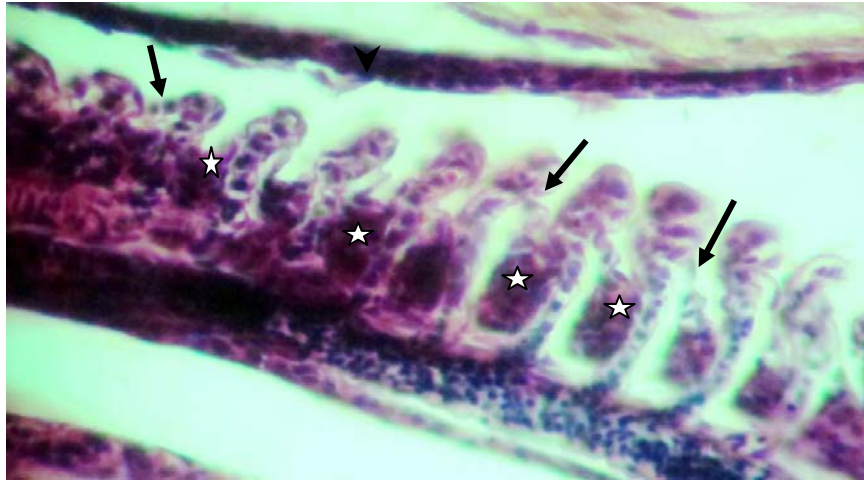
(الشكل 13) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 15 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية من الطرف الحر (الأسهم) فرط تنسج (الانجم). قوة التكبير X 400



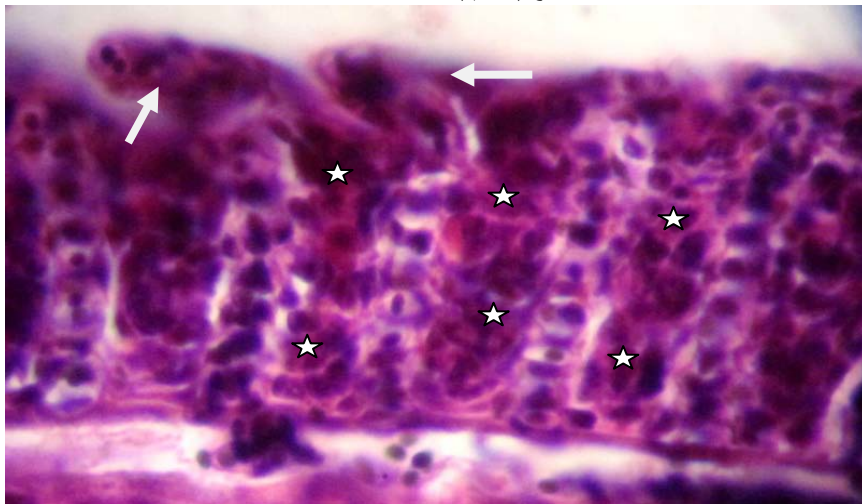
(الشكل 14) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 15 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم) فرط تنسج (الانجم) قوة التكبير X 400



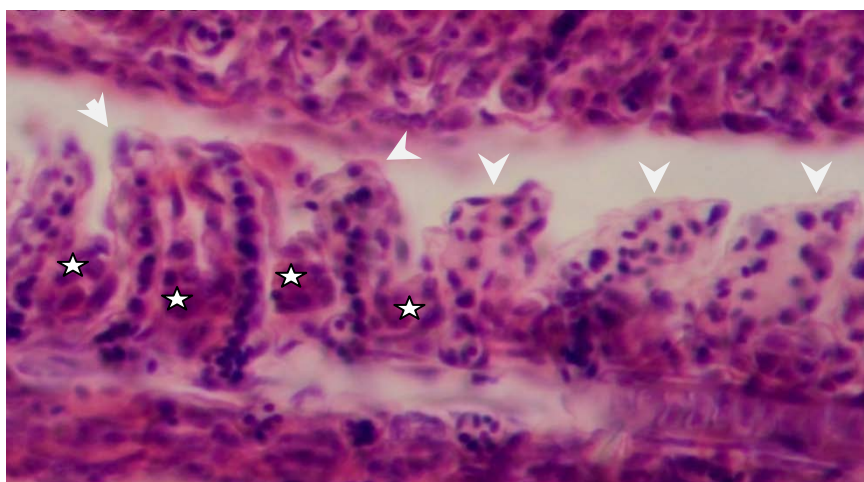
(الشكل 15) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 15 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم) و احتقان الاوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية الثانوية (رؤوس الأسهم) وبدائيات فرط تنسج (الانجم). قوة التكبير X 400



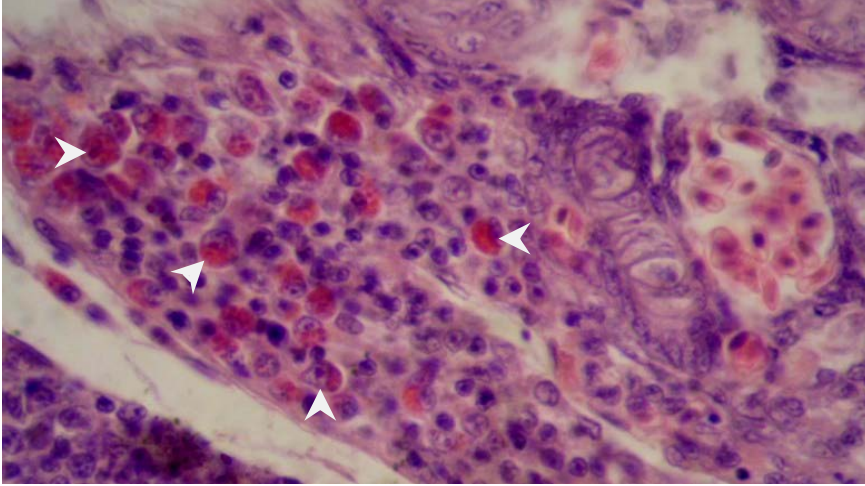
( الشكل 16 ) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 25 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم ) وفرط التنسج (الانجم) . قوة التكبير X 400



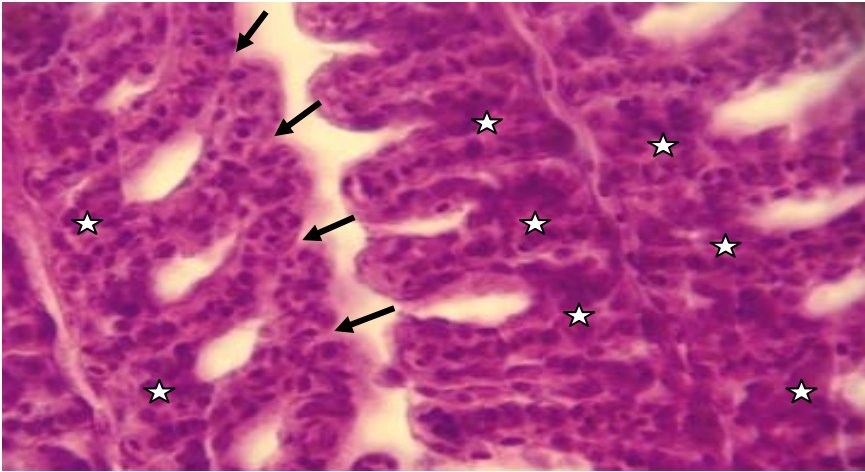
( الشكل 17 ) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 25 يوماً من بدء التجربة توضح تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية لما يشبه الحرف L (الأسهم) وفرط التنسج (الانجم) .. قوة التكبير X 1000



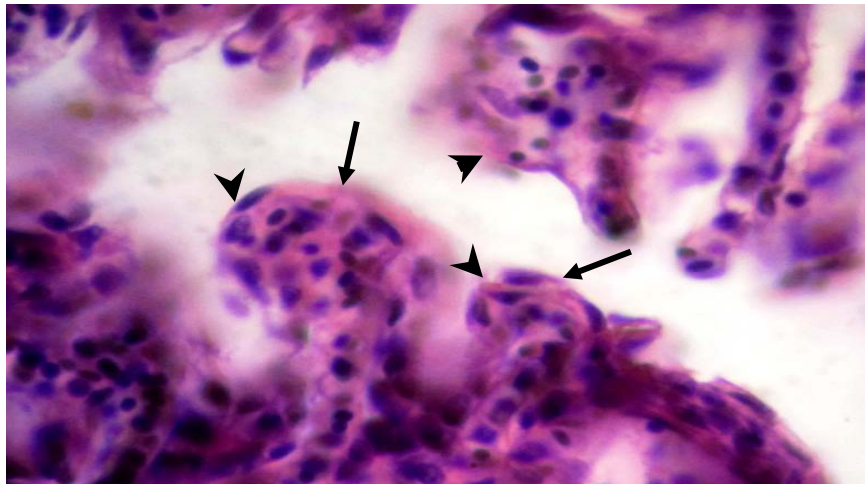
( الشكل 18 ) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 20 يوماً من بدء التجربة توضح: فرط تنسج (الانجم) واحتقان الاوعية الشعرية الدموية (رؤوس الأسهم) . قوة التكبير X 1000



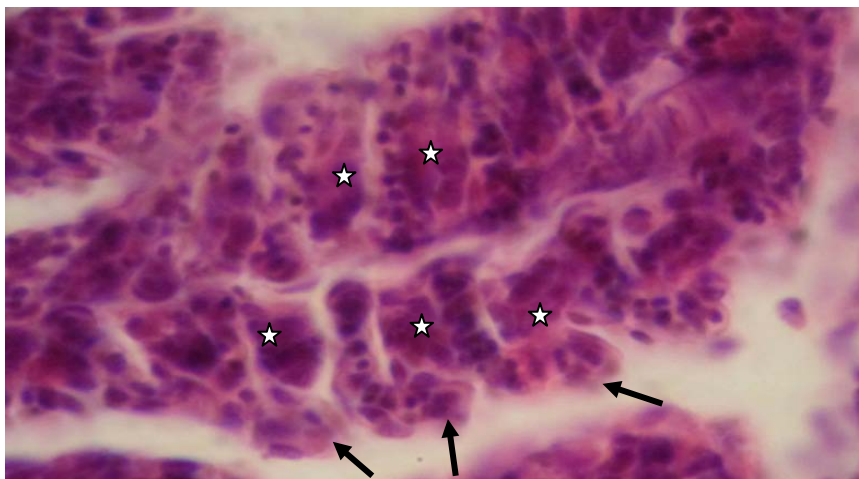
(الشكل 19) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 25 يوماً من بدء تجرية يوضح زيادة اعداد خلايا الكلورايد في منطقة الغلاصم (رؤوس الاسهم) . قوة التكبير X 1000



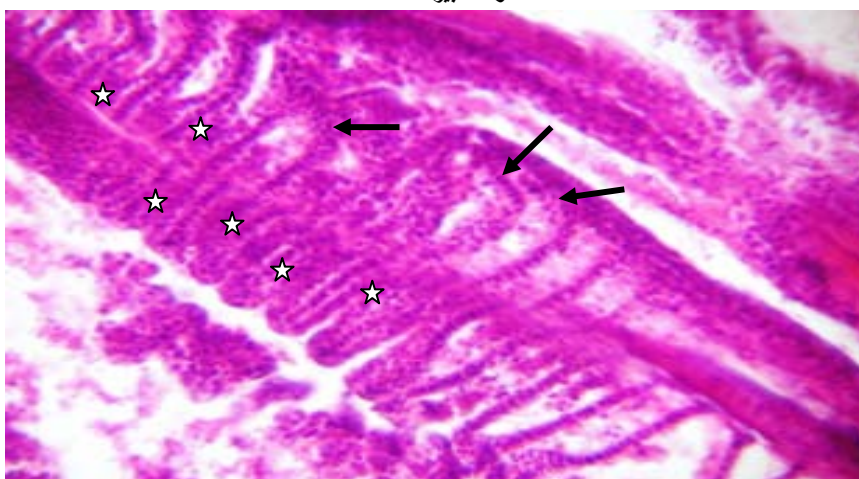
(الشكل 20) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 15 يوماً من بدء التجرية توضح التصاق الصفائح الغلصمية الثانوية من الطرف الحر (الاسهم) بداية فرط تنسج (الانجم) . قوة التكبير X 400



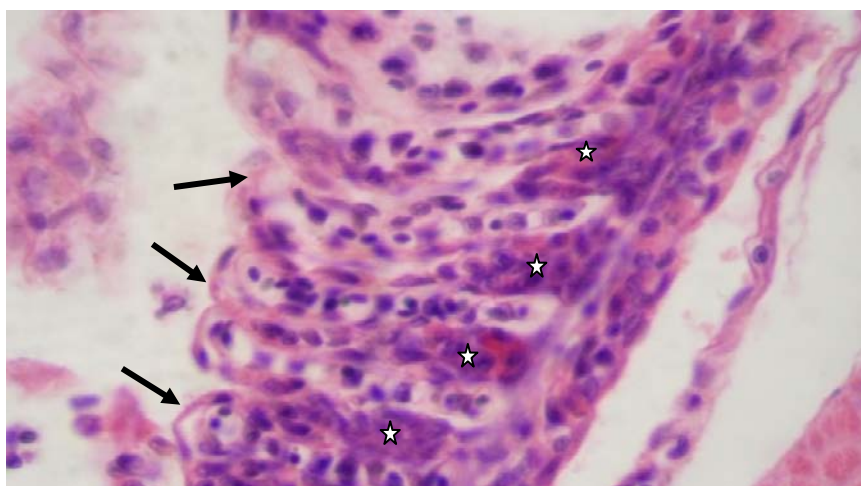
(الشكل 21) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 30 يوماً من بدء التجرية توضح تغير اشكال الصفائح الغلصمية الثانوية(الاسهم) واحتقان الاوعية الشعرية الدموية (رؤوس الأسهم). قوة التكبير X 1000



(الشكل 22) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 30 يوماً من بدء التجربة توضح تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم ) وفرط تنسج (الأنجم) .  
قوة التكبير X 400

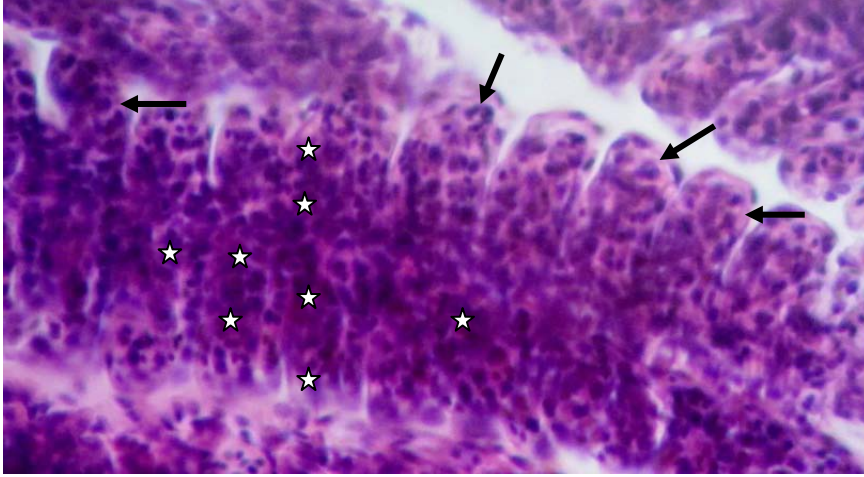


(الشكل 23) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 30 يوماً من بدء التجربة توضح تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم ) فرط تنسج (الانجم ) قوة التكبير X 400

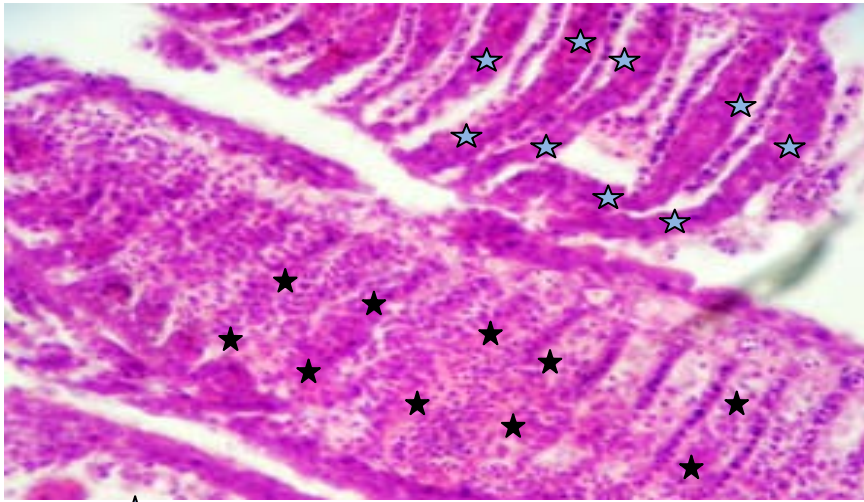


(شكل 24) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 30 يوماً من بدء التجربة توضح: انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم ) فرط تنسج (الانجم) . قوة التكبير X 400

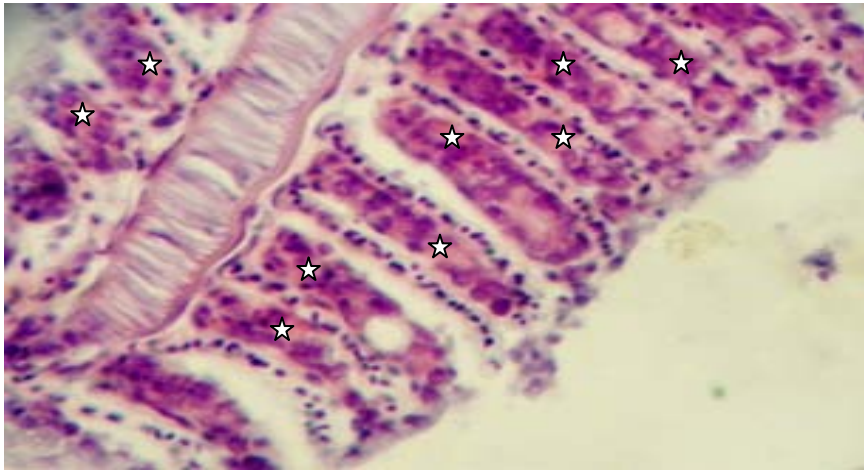




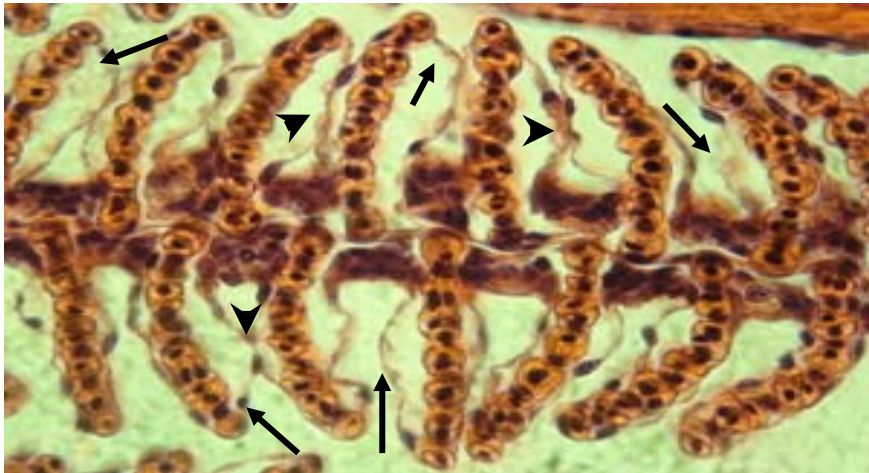
(الشكل 25) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 40 يوماً من بدء التجربة توضح احتقان الاوعية الشعرية الدموية من الطرف الحر للصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم) فرط تنسج (الانجم). قوة التكبير X 400



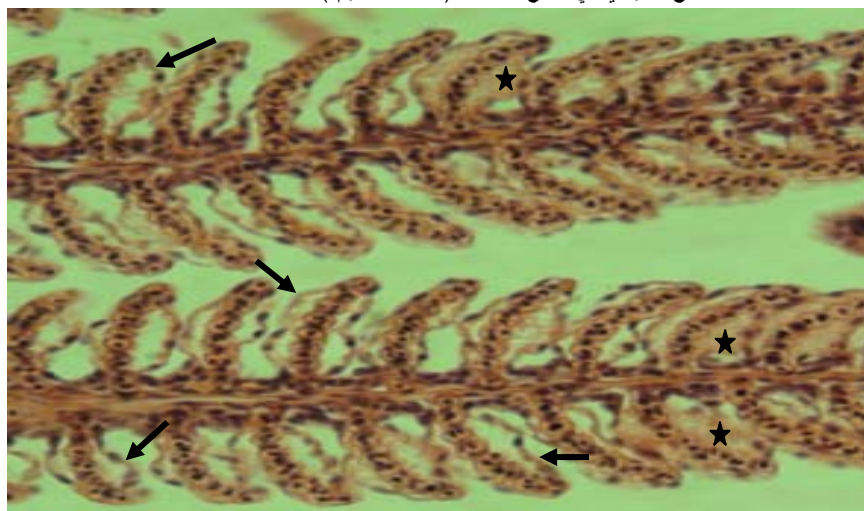
(الشكل 26) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 40 يوماً من بدء التجربة توضح: فرط تنسج من النوع القضباني (★) وفرط تنسج من النوع الذي يملأ المسافات بين الصفائح الغلصمية الثانوية (★). قوة التكبير X 400



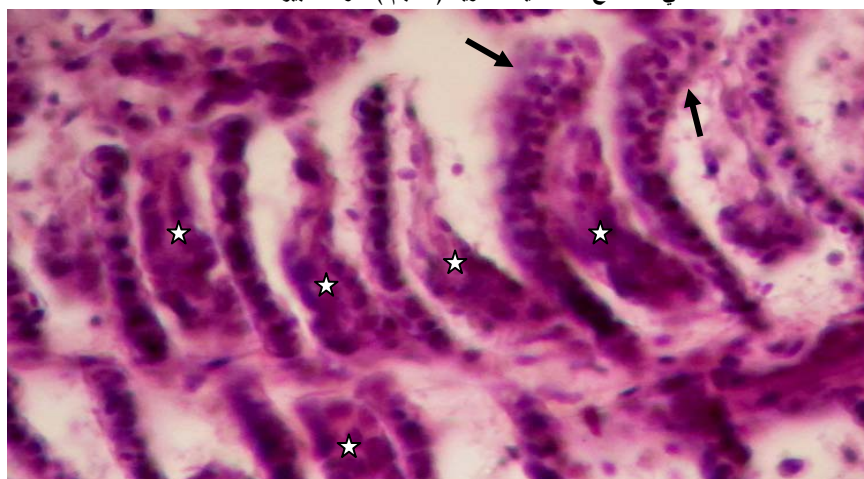
(الشكل 27) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 30 يوماً من بدء التجربة توضح: فرط تنسج من النوع القضباني (الانجم). قوة التكبير X 400



(الشكل 28 ) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 30 يوماً من بدء التجربة توضح: انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم ) والتصاق النسيج الظهاري في مواقع انفصاله (رؤوس الاسهم). قوة التكبير X 400



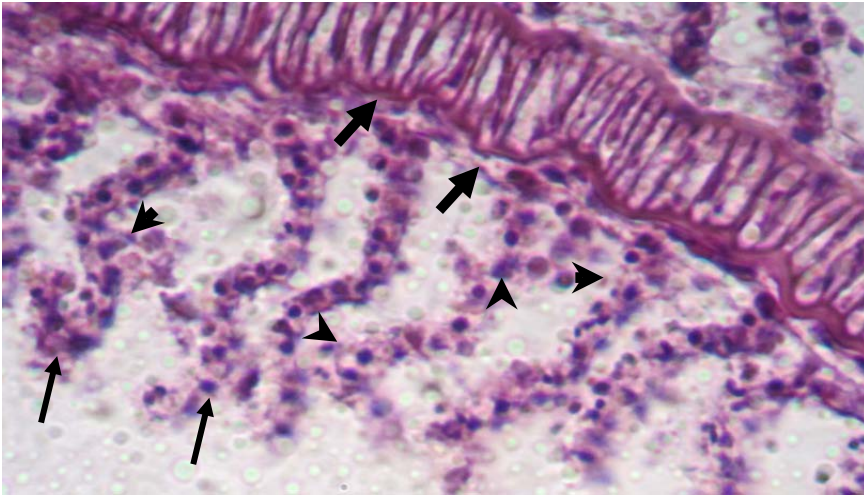
(الشكل 29 ) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 40 يوماً من بدء التجربة توضح: انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الاسهم ) وذمات في الصفائح الغلصمية الثانوية (الانجم). قوة التكبير X 200



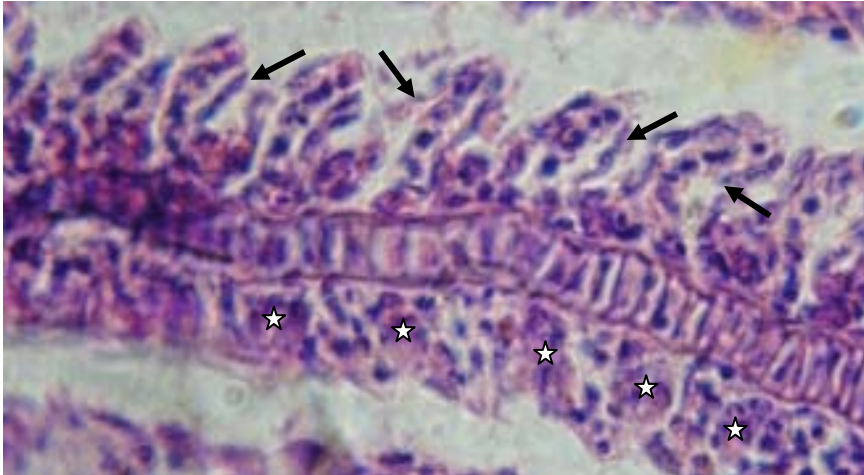
(الشكل 30 ) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 50 يوماً من بدء التجربة توضح: احتقان الاوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم) فرط تنسج (الانجم). قوة التكبير X 1000



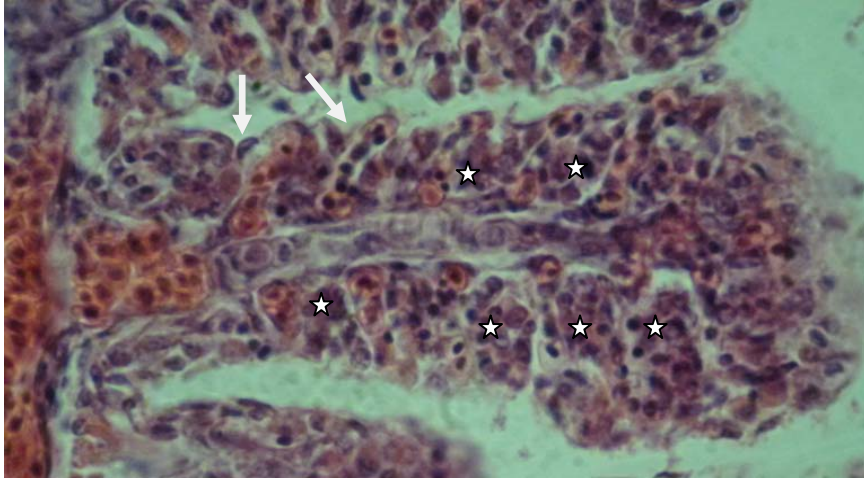
(الشكل 31) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 50 يوماً من بدء التجربة توضح احتقان الأوعية الشعرية الدموية للصفائح الغلصمية الثانوية (رؤوس الأسهم) تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم). قوة التكبير X 400



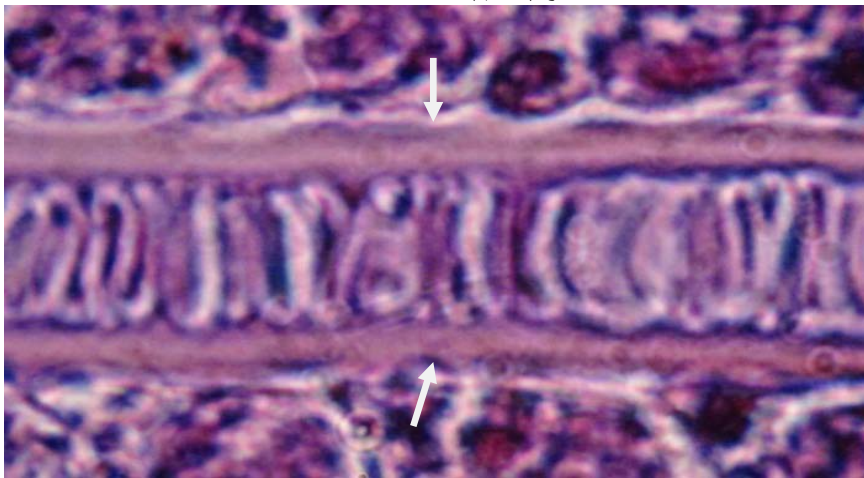
(الشكل 32) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 50 يوماً من بدء التجربة توضح تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم النحيفة) وترقق العظم (الأسهم الغليظة) وتنخر خلايا النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (رؤوس الأسهم). قوة التكبير X 400



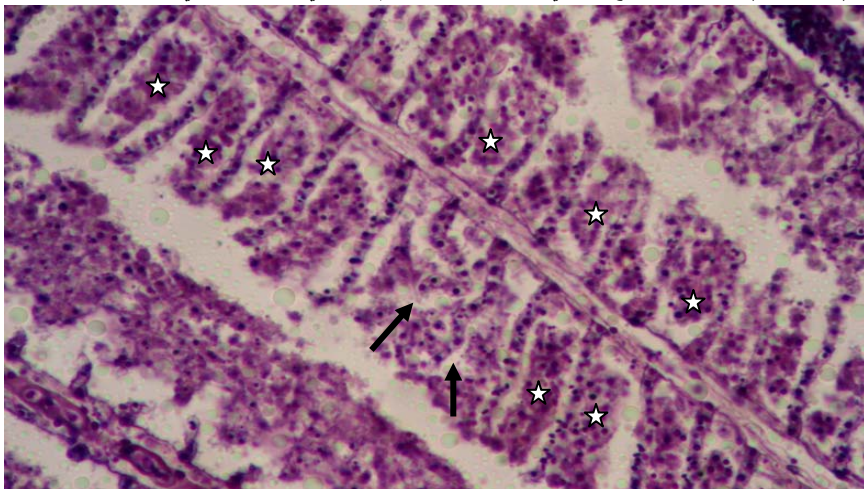
(الشكل 33) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 60 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم) فرط تنسج (الأنجم) وعدم استقامة النسيج الهيكل السائد المتمثل بالعظم السطحي للخيوط الغلصمي. قوة التكبير X 400



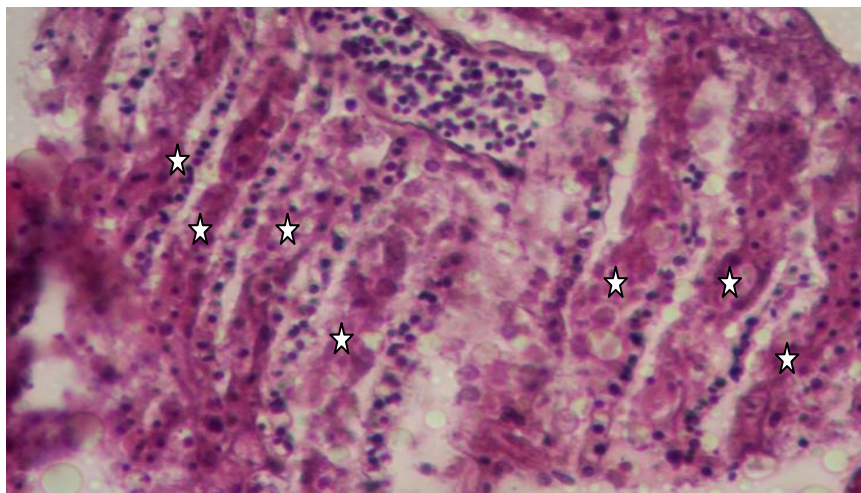
(الشكل 34) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 60 يوماً من بدء التجربة توضح انفصال النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم ) وفرط تنسج (الأنجم) . قوة التكبير X 200



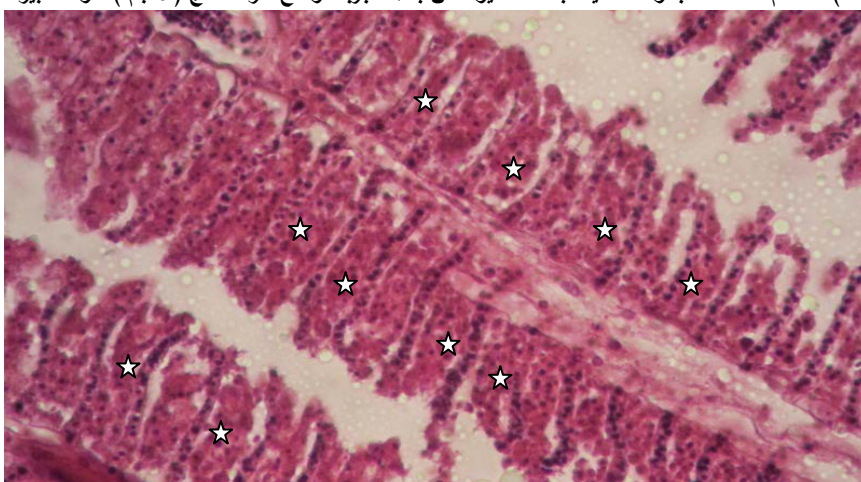
(الشكل 35) استقامة النسيج الهيكل الساند المتمثل بالعظم السطحي للخيط الغلصمي قوة التكبير X 400



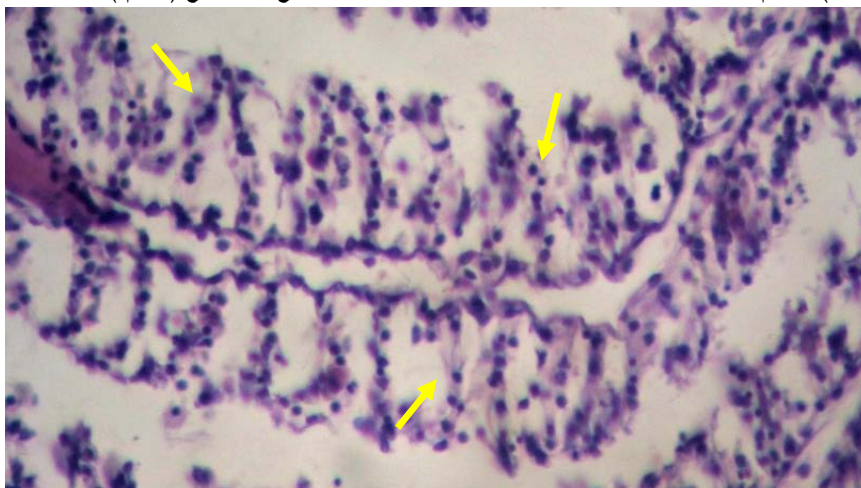
(الشكل 36) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 70 يوماً من بدء التجربة توضح تغير شكل الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم ) فرط تنسج (الأنجم) . قوة التكبير X 200



(الشكل 37) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 70 يوماً من بدء التجربة توضح فرط تنسج (الأنجم). قوة التكبير X 400



(الشكل 38) غلاصم أسماك المجموعة الثانية بعد 80 يوماً من بدء التجربة توضح فرط تنسج (الأنجم). قوة التكبير X 400



(الشكل 39) غلاصم أسماك المجموعة الأولى بعد 80 يوم من بدء التجربة توضح تنخر خلايا الصفائح الغلصمية الثانوية (الأسهم). قوة التكبير X 400

#### 4 طحالب الخضراء

#### 4 . 1 : الطحالب

على بقية متطلبات النمو ليبدأ طور الموت بعد ذلك. تم تجفيد المزارع الطحلبية بعد حصادها لغرض استخدامها في تحضير المستخلص الكحولي وقد استخدم جهاز GC- Mass لفصل وتشخيص المركبات السامة في هذا المستخلص ومن أهم هذه المركبات هو المركب القلويدي Trimethylthiourea والمركب -7 Hexadecenoic acid, methyl ester وهو من الأحماض الدهنية غير المشبعة ويعد من مكونات الأغشية الخلوية في البكتيريا ذاتية التغذية autotrophic bacteria ومنها الطحالب الخضراء المزرقة والمركب Cyclohexasiloxane, dodecamethyl .

تمتلك هذه المركبات الثلاث أكبر مساحة من المجموع الكلي لمساحة المركبات المشخصة بواسطة جهاز GC-Mass ومن المحتمل أنها سبب فعالية المستخلص والتي تشارك في الفعالية الحيوية للطحلب إذ أن المركب الذي يعطي أكبر مساحة يعزى إليه سبب التأثير السام [41] لذا تعد هذه المركبات هي السبب في التغيرات المرضية النسجية التي تحدث في الغلاصم .

يضم جنس *Lyngbya* أكثر من مئة نوع تقريباً وعلى الرغم من ذلك فإن الدراسات لم تتناول إلا عدد قليل منها لذا تم في الدراسة الحالية تنقية نوع واحد منه وهو *Lyngbya martensiana* من البيئة المائية المحلية. تم قياس معدل النمو بدلالة الوزن الجاف إذ بدأ الطور الآسي بعد خمسة أيام من زراعة الطحلب وأستمر لغاية اليوم الثاني عشر إذ تزداد الفعاليات الحيوية في هذا الطور المتمثلة بكمبر حجم الخلايا وانقسامها وتكاثرها [40] ومن ثم استهلاك كمية كبيرة من المغذيات الموجودة في الوسط الزراعي بعدها وصل النمو الى الطور المستقر في اليوم الثالث عشر واستمر لغاية اليوم العشرين حصدت المزرعة الطحلبية في منتصف هذا الطور أي في اليوم السادس عشر إذ لوحظ زيادة الوزن الجاف خلال الوقت المذكور بسبب زيادة حجم الخلايا نتيجة تراكم المركبات الكيميائية الناجمة من عملية الأيض والمواد الغذائية المصنعة بواسطة عملية التركيب الضوئي بعدها بدأ النمو بالتناقص بسبب استهلاك اغلب المغذيات وطرح بعض المركبات غير المرغوب فيها من قبل الطحلب نتيجة للفعاليات الايضية كما يحصل التنافس

#### 4 . 2 : الدراسة النسجية

الى أعضاء أخرى كالكبد الذي تخزن فيها أو تمرر الى الكلى أو الغلاصم لكي تطرح للخارج [ 46 و 47 ]. وعادةً ما تكون الغلاصم أكثر أعضاء السمكة تأثراً بالبيئة المحيطة كونها تكون على تماس مباشر معها لذلك ليس من الغريب أن تتعرض الى التأثيرات المرضية النسجية أسرع من غيرها من الأعضاء مما دفع البعض الى استخدام الحالة الصحية للغلاصم كدليل لصحة السمكة والبيئة المائية [ 48 و 49 ] .

تميزت الدراسة الحالية بمتابعة التغيرات والتبدلات التي تحدث في أشكال وأنماط التكيفات التي اعتمدها السمكة كردود فعل لتقليل التأثير السمي وان تغير شكل الصفائح الغصمية الثانوية الى شكل الحرف L استجابة

درس التأثير السمي للطحلب *Lyngbya martensiana* على غلاصم سمكة *Xiphophorus helleri* بعد تغذيتها على بعض المزارع الطحلبية إذ أظهرت نتائج الدراسة الحالية ازدياد شدة التغيرات المرضية النسجية مع زيادة طول فترة تغذية الأسماك على الطحلب ولكلا المجموعتين (الأولى والثانية ) وهذا ما لاحظته دراسات أخرى تناولت دراسة التأثير السمي لبعض المواد السامة على الأسماك [ 42 و 43 ] .

تدخل السموم الى داخل جسم الأسماك أما عن طريق الغلاصم لكونها عضو التنفس [ 44 و 45 ] أو تدخل عن طريق الأمعاء بعد تناول الأسماك للمواد السامة إذ تنقل بعد امتصاصها بواسطة الدورة الدموية

أنتقلت الدراسة الحالية مع الدراسات التي تؤكد إن منشأ فرط التنسج يبدأ من قاعدة الصفائح الغلصمية الثانوية ويمتد باتجاه طرفها الحر ليشمل لاحقاً كل الصفيحة الغلصمية الثانوية [ 58 و 59] وقد لاحظ [60] Bhatnagar [ 61] و Roberts and Rodger [ *et al.* هجرة الخلايا من مناطق مختلفة في الصفيحة الغلصمية الثانوية باتجاه النهاية البعيدة لها وتكدسها فيها مسبباً ظهور فرط التنسج في الصفيحة الغلصمية الثانوية. ذكر العلي [62] إن استمرارية تعرض السمكة للمادة المسببة لحدوث حالة فرط التنسج في الصفائح الغلصمية الثانوية ممكن إن يؤدي الى حدوث السرطان وأكد ذلك من خلال شكل الخلايا الظهارية في مناطق فرط التنسج وعلاقتها مع بعضها البعض إذ سجل استمرار في الانقسامات الخلوية في الثلث القاعدي ولاحظ فقدان الخلايا الظهارية لقطبيتها وأحتمال تكوين الخلايا اتصالات خلوية جديدة بينها لا علاقة لها مع تأدية الوظيفة وربما يفسر ذلك ما لوحظ في الدراسة الحالية في بعض مناطق فرط التنسج من النمط الثاني التي تبدو أطول من الصفيحة الغلصمية الثانوية وكل تلك الصفات تعد من صفات الخلايا في النسيج المتسرطن .

إن التضخم الذي لوحظ في بعض الخلايا الظهارية وخلايا الكلورايد ربما يدل على تغيرات في نفاذية الغشاء البلازمي في تلك الخلايا فقد تعمل المواد السامة على تغيير نفاذية أغشية الخلايا مما يفسر انتفاخها إذ أثبتت الدراسة الحالية إن بعض المواد السامة في الطحلب قيد الدراسة ذات أس هيدروجيني قاعدي وكردود فعل لمعادلة القاعدية تزداد المساحة السطحية لخلايا الكلورايد لتعزيز إفراز ما يعادل القاعدة [ 63] ومن ثم تغير في قاعدية الوسط المحيط مما ينعكس على وظيفة بروتينات الأغشية سالبة الشحنة [ 64] وكنتيجة طبيعية لأنتفاخ خلايا الكلورايد تزداد مساحتها السطحية لذلك يزداد إفراز هذه الخلايا لمعادلة الوسط القاعدي وربما تعمل هذه الظروف نفسها على زيادة أعداد خلايا الكلورايد [ 65] في الفترة 15 يوماً ونظراً لزيادة استمرار التأثير السمي للطحلب في الفترات اللاحقة من التجربة أصبحت خلايا

أولية للتغيرات في البيئة المائية بوجود المواد السامة [ 50] وفي الغالب تظهر تلك الاستجابة في الغلاصم على شكل تغيرات في النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية ربما لرقة وبساطة هذا النسيج في الغلاصم ولأنه يمثل الطبقة التي تكون يتماس مباشرة مع المواد السامة [ 51] وتتمثل تلك التغيرات بانفصال طبقة النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية والوذمات التي تشغل المساحة الفاصلة بين النسيج الظهاري والأوعية الدموية ويعد هذا التغير من الوسائل الدفاعية التي تعمل على أبطاء وتقليل التأثير السمي وذلك من خلال زيادة المسافة بين الدم في الأوعية الشعرية الدموية في الصفائح الغلصمية الثانوية والمواد السامة في البيئة الخارجية [ 52] و [ 53].

وتعد الألتصاقات التي حدثت في الصفائح الغلصمية الثانوية وسيلة دفاعية أخرى لحماية الغلاصم المتضررة إذ يؤدي الالتصاق بين الصفائح الغلصمية الثانوية الى تقليل دخول المادة السامة وقد لوحظ ذلك في اسماك أخرى تعرضت الى أنواع مختلفة من السموم [ 54 و 55] .

يعد فرط التنسج الذي تتبعته الدراسة الحالية فترات حدوثه ونمطه وسيلة دفاعية أخرى تعتمد على السمكة لتقليل المساحة السطحية للغلاصم المعرضة للمادة السامة وبالتالي إعاقة دخول المواد السامة [ 52 و 53] وحدثاً بشكل متتابع فيبدأ النمط الأول بعد 30 يوماً من بدأ التجربة ويقل حدوثه تدريجياً ويصعب ملاحظته في المقاطع النسجية في الفترات اللاحقة وليحل محله بشكل تدريجي النمط الثاني الذي أستمر ملاحظته في الغلاصم حتى نهاية التجربة ويبدو أن السمكة اعتمدت النمط الثاني كرد فعل لتعرضها المتواصل الى التأثير السمي كونه (النمط الثاني) يمثل اقل ضرراً من النمط الأول بالنسبة لها إذ إن فرط التنسج بشكل عام يعد سلاحاً ذا حدين إذ انه يؤدي الى زيادة سمك النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية لمنع أو لتقليل دخول المواد السامة الى مجرى الدم [ 56] ومن ثم تقليل فرصة التبادل الغازي بين الدم والأوكسجين المذاب الذي ينعكس على الحالة الصحية للأسماك [ 57].

وهذا يبين قدرة المركب على تثبيط عملية تصنيع البروتين من خلال تأثيره على إنزيم البروتين فوسفاتيز في المحيط الخلوي.

تميزت الدراسة الحالية عن غيرها من الدراسات السابقة التي تناولت تأثير المواد السامة للطحالب الخضر المزرق على الأسماك كونها تتبع التغيرات المرضية النسيجية على النسيج الضام الخاص في غلاصم السمكة إذ سجلت حالة ترقق العظم Osteomitosis في بعض الخيوط الغلصمية وللفترة الأخيرة من التجربة فقط ويرجع سبب حدوث ذلك الى تلف في معادن العظام بسبب تداخل المادة السامة مع العناصر المعدنية الأساسية في المغذيات أو تفاعل المادة السامة مع الكالسيوم في الهيكل العظمي مسبباً الحثل العظمي Osteodystrophies أو تثبيط عمل مضخة  $Ca^{2+}$  ATPase للغشاء البلازمي القاعدي لخلايا الكلورايد وبالتالي يسبب نقص الكالسيوم نتيجة طرحه خارج الجسم [ 60 و 61 ] ومن المعروف عند حدوث خلل في التوازن الطبيعي للكالسيوم في الجسم فأن عمليات وآليات التنظيم الأيضي في الجسم ستعمل على امتصاص  $Ca^{2+}$  واستخلاصه من العظم تعويضاً لذلك النقص [ 70 ].

الكلورايد غير قادرة على معادلة الوسط القاعدي ومن ثم فإن زيادة أعدادها أصبحت لا تجدي نفعاً تجاه زيادة الأس الهيدروجيني مما يفسر سبب عدم تسجيل زيادة في أعدادها في الفترات اللاحقة.

إن احتقان الأوعية الشعرية الدموية في الغلاصم تحصل كاستجابة التهابية [66] إذ تؤدي الالتهابات بشكل عام الى احتقان الأوعية الدموية أما بسبب الاضطرابات التي تحدثها مسببات الالتهاب في الآليات التي تحافظ على المستوى الطبيعي لضغط الدم أو نتيجة حدوث الضرر في نفس موقع الالتهاب [67] وربما يفسر ذلك حدوث الاحتقان والتوسع في أوعية الغلاصم إذ إن استمرار التعرض للمادة السامة يؤدي الى انسياب الدم في أوعية الغلاصم بكميات كبيرة كاستجابة التهابية لتعويض النقص الحاصل في الأوكسجين الملتقط نتيجة لحدوث فرط التنسج والتصاق الصفائح الغلصمية الثانوية [49] وقد لاحظ عدد من الباحثين إن تضرر خلايا Pillar في النسيج الظهاري للغلاصم يؤدي الى زيادة انسياب الدم في الأوعية الشعرية الدموية للغلاصم ومن ثم توسعها واحتقانها [ 68 و 69 ] . كما حدث تخر في الصفائح الغلصمية الثانوية في الفترة 70 - 80 يوماً

## References

1. Komárek, J.& Anagnostidis, K. (1986). Modern approach to the classification system of cyanophytes. *Arch. Hydrobiol.*, 157-226.
2. Schreiter, P. P. Y.; Gillor, O.; Post, A.; Belkin, S.; Schmid, R. D. & Bachmann, T. T. (2001). Monitoring of phosphorus bioavailability in water by an immobilized luminescent Cyanobacterial reporter strains Biosensors & Bioelectronics . 16: 811-818
3. Falconer, I.R.( 2005). Cyanobacterial toxins of drinking water supplies: cylindrospermopsins and microcystins. Boca Raton: CRC Press;
4. Whitton, B.A. & Potts, M.( 2000). The Ecology of Cyanobacteria Their Diversity in Time and Space; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht,
5. Soil & Water, (2005). The blue green algae (Cyanobacteria). ([www.Lakes.chebucto.org/cyano.html](http://www.Lakes.chebucto.org/cyano.html)).
6. Carmichael , W.W. ( 1994 ) . The toxin of the cyanobacteria . *Sci. Am.* Jan ., 270 : 78 - 86 .
7. Van Dolah, F.M., [2000]. Marine algal toxins: origins, health effects,



- and their increased occurrence. Environ. Health Perspect. 108 (S1), 133- 141.
8. Sivonen ,K. & Jones , G. [ 1999 ] . Cyanobacterial toxins In : Toxic cyanobacteria in water . eds.: I ., Chrus , and J. ,Barton . . Guide to their Public Health Consequences , p. 41 – 111
  9. Kalaitzis, J. A., Lauro, F.M., & Neilan B. A. [2009]. Mining cyanobacterial genomes for genes encoding complex biosynthetic pathways. Nat. Prod. Rep. 26, 1447-1465.
  10. Rastogi, R. P. & Sinha, R. P. [2009]. Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. Biotechnology Adv, 27: 521- 539.
  11. Carmichael, W.W. [1986] Isolation, culture and toxicity testing of toxic freshwater cyanobacteria (blue-green algae). In Shilov (ed.), Fundamental Research in Holmogenous Catalysis. Vol. 3. Gordon & Breach, New York, 1249–1262
  12. DeMott, W. R., Zhang, Q. X. & Carmichael, W. M. [1991]. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 36:1346– 57.
  13. Beltina, C. H.; Stefan, J. H. & Daniel, R. D. [2000]. Removal during water treatment and human risk assessment. J. Envir. Health presentation. 108: 133-122
  14. Palikova, M.; Navratil, S., Tichy, F.; Sterba, F.; Marsalek, B. & Blaha, L. [2004]. Histopathology of Carp (*Cyprinus carpio* L.) Larvae Exposed to Cyanobacteria Extract. Acta vet. brno 2004, 73: 253-257.
  15. Steffensen, D.; Burch, M.; Nicholson, B.; Drikas, M. & Baker, P. [1999]. Management of toxic Blue - green algae ( Cyanobacteria ) in Australia .Environ . Toxicol., 14:183-195.
  16. Höeger, S.J. [2003]. Problems during water treatment of cyanobacterial loaded surface waters: Consequences for human health . PhD. Dissertation an der Universtät Konstanz, Facultät für Biologie
  17. Wiegand, C. & Plugmacher, S. [2005]. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. Toxicol Appl Pharmacol, 203: 201-218.
  18. Yadav, S.; Sinha, R. P.; Tyagi, M. B. & Kumar, A. [2011]. Cyanobacterial secondary metabolites .International J. of Pharma. and Bio. Sci.. Vol. 2/Issu2
  19. Blunt, J. W., and Munro, M. H. [2008]. Dictionary of marine naturalproducts with CD-ROM. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, FL.
  20. Tan, L. T. [2007]. Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. Phytochemistry, 68: 954-979
  21. Osborne, N.J.; Webb, P. M. & Shaw, G. R. [2001]. The toxins of *Lyngbyamajuscula* and their human and ecological health effects. Environ Int 27(5):381–392.
  22. Cardellina, J. H.; Marner, F. J. & Moore, R. E. [1979]. Seaweed dermatitis: structure of lyngbya toxin A. Science 204:193–195.
  23. Arthur, K.; Limp us, C.; Balazs, G.; Capper, A.; Udy, J.; Shaw, G. Keuper-Bennett, U & Bennett, P. [2008a]. The exposure of green turtles (*Cheloniemydas*) to

- tumour promoting compounds produced by the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* and their potential role in the a etiology of fibropapillomatosis. Harmful Algae 7:114–125.
24. Luesch, H.; Yoshida, W. Y.; Moore, R. E.; Paul, V. J. & Mooberry, S. L [2000]. Isolation, structure determination, and biological activity of Lyngbyabellin A from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. J Nat Prod 63:611–615.
  25. Milligan, K. E.; Marquez, B. L.; Williamson, R. T & Gerwick, W. H. [2000b]. Lyngbyabellin B, a toxic and antifungal secondary metabolite from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. J Nat Prod 63:1440–1443.
  26. Mynderse, J.; Moore, R.; Kashiwagi, M. & Norton, T. [1977]. Antileukemia activity in the Oscillatoriaceae: isolation of debromoaplysiatoxin from *Lyngbya*. Science 196:538-540.
  27. Carmichael, W. W. [1997]. The Cyanotoxins. Adv. Bot. Res., 27:211- 256.
  28. Yin, Q.; Carmichael, W. W. & Evans, W. [1997]. Factors influencing growth and toxin production by cultures of freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* Farlow ex Gomant. J. Appl. Phyco., 9: 55-63.
  29. Ernst, B.; Hoeger, S. J.; O'Brien, E. & Dietrich, D. R. [2006]. Oral toxicity of the microcystin-containing cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in European whitefish (*Coregonus lavaretus*). Aquatic toxicology. v. 79 ( 1 ) :31–40
  30. Rodger, H. D.; Turnbull, T.; Edwards, C. and Cood, G. A. [1992]. Cyanobacterial (blue-green algal) bloom associated pathology in brown trout, *Salmo trutta* L., in Loch Leven, Scotland.
  31. Al-Sultan, E. Y. & Al-Ali, A. A. [2010]. Histopathological and biological effects of toxic algae *Hapalosiphon welwitscii* on molli fish *Poecilia sphenops* Valenc. Basrah J. Agric. Sci., 23 (special issue 2).
  32. Al-Ali, A. A.; Al-Sultan, E. Y. & Al-Sultan, F. A. [2011]. Histopathological effects of toxic alga *Nostoc muscurum* on juvenile grass carp fish (*Ctenopharyngodon idella* Val. 1844 ). Marsh Bulletin, 6(1):32-61.
  33. Stein, J. R. [1975]. Handbook of phycological method. Cambridge University press. Cambridge. 445 pp.
  34. AL-Aarajy, M. [1996]. Studies on the mass culture of some microalgae as food for fish larvae, PH.D Thesis, Univ. of Basrah.
  35. Desikachary, T. U. [1959]. Cyanophyta. Indian council of Agricultural research, New Delhi, 517 pp.
  36. Weideman, V. E.; Walne, P. R. & Tainor, F. R. [1984]. A new technique for obtaining axenic cultures of algae. Can. J. Bot., 42: 958-959
  37. Epply, R. [1977]. The growth and culture of Diatoms. 24-64. In (ed. Wenner, D) the biology of Diatoms. Botanical.
  38. Fogg, G. E. [1975]. Algal culture and phytoplankton ecology. 2<sup>nd</sup> ed. Univ. Wisconsin Press, Wisconsin, USA., 175 PP.
  39. Humason, G. L. [1972]. Animal tissue techniques 3<sup>rd</sup> ed.: W. H. Freeman and company, San Fran. 614 pp.
  40. Watanabe, M. F.; Harada, K. I.; Matsuura, K., & Suzuki, M. [1989]. Hepatopeptide toxin

- production during the batch culture of two *Microcystin sp.* (Cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.* 1:161-165
41. Manilal, A.; Sujith, S.; Seghal, G. and Seven, M. V. [2010]. Evaluation of seaweed bioactives on common aquatic floral and faunal weeds of shrimp ponds. *Int. J. Marine Sci.*, 27 (1): 47-56
42. Dhanapalkiam, P.; Sampoorani, V.; Kavitha, M.; Ramasamy, V. K. Chandrakala. A. & Aruna, K. C. [2004]. Gill lesion in the major carp, *Laboe rohita* exposed to lethal and sublethal concentrations of tannery effluent. *J. Environ. Biol.* 25(3): 333-336
43. Pathan, T.S.; Thete, P.B.; Shinde, S.E. ; Sonawane, D.L. & Khillare, Y.K. [2010]. Histopathological changes in the Gill of Freshwater Fish, *Rasbora daniconius* Exposed to Paper Mill Effluent. *Iranian Journal of Energy & Environment.* 1 (3):170-175
44. Adeogun, A. O. & Chukwuka, A. V. [2011]. Effect of textile factory effluent on otolith and somatic growth parameters in *Clarias gariepinus*. *The Zoologist* 9: 70-77.
45. Adeogun, A. O. & Chukwuka, A. V. [2012]. Altered reproduction in *Clarias gariepinus* exposed to Industrial Effluents. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 7(1): 61-70.
46. Zaccaroni, A. & Scarvelli, D. [2007]. Freshwater toxins in algal toxins ed. Evangelista, et al., Nature, occurrence. Effect and detection. CNR institute of Biophysics Pisa, Italy, pp 45-88.
47. Lindstoma-seppa, P. V.; Koivussri, D. O. & Hanninen, H. [1981]. Extrahepatic xenobiotic metabolism in north European freshwater fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 69-291.
48. Au, D.W.T. [2004]. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin* 48: 817-834
49. Fernandes, M. N. & Mazon, A. F.[2003]. Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val, A. L. & B. G, Kapoor [Eds]. *Fish adaptations*. Enfield, Sci. publishers, 203-231.
50. Hughes, G. H. & Perry, S. F.[1976]. *J. Exp. Biol.*,pp63-447.
51. Hughes, G. H. & Morgan, M. [1973]. *Biol. Rev.*, 48.
52. Fernandes, M. N. & Mazon, A. F. [2003]. *Sci. Publish.*, 203
53. Hinton, D. E. & Lauren, D. J. [1990]. In: J. F. McCarthy & Shugart [eds] *Boc. Rat. Lew. . Publish* [1990].
54. Morgan, N. & Tovell, P.W.A. [1973]. The structure of the gill of the trout *Salmo gairdneri* [Richardson].*Zell forch Mikrosk Anat.*142: 147-162.
55. Abdullah, [2001]. Histological changes induced by zinc ion in the gills of common carp, *Cyprinus carpio* (L.) juveniles. *Basrah J. Agric. Sci.*,14(2).
56. Lindstoma-seppa, P. V.; Koivussri, D. O. & Hanninen, H. [1981]. Extrahepatic xenobiotic metabolism in north European freshwater fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 69-291.
57. Gardener, G. R.& Yevich, P.P. [1970] *J. Fish Res. Bra. Can.*, 7, 2185.
58. Evans, D. (1987). *Environ. Health Prospect.*, 71, 47.
59. Eller, L. [1975]. In: the pathology of fishes (Ribelin, W. & Migaki, G. (eds.) , Madi., Uni. Wisconsin, Press, p:305-330

60. Robert, R.J. & Rodger, D. [2001].  
In: Robert, R.J.(ed.)London. WB.  
Saunders, p, 55.
61. Bahatnagar, C.; Bhatnagar,M.  
&Regar, B. C. (2007). Flour., 40-55.
62. العلي, علي عبد اللطيف عبد الحسن (2009)  
التغيرات المرضية النسجية لأسماك المولي  
الأسود وأجنتها المعرضة لتركيز مؤثر (تحت  
مميّت) من عنصر الكاديوم Poecilia  
sphenops . مجلة ابحاث البصرة (العلميات )  
العدد 35 الجزء 6.
63. Alper, S. L. [2009]. "Molecular  
physiology and genetics of Na<sup>+</sup> -  
independent SLC<sub>4</sub> anion  
exchangers". Journal of  
Experimental Biology **212**  
(11): 1672–1683
64. Nordberg, G. F., B. A. Fowler & M.  
Nordberg [2005]. Handbook on  
Toxicology of Metals. 3rd  
edition. 969pp
65. Sterling, D; Reithmeier, R. A. &  
Casey, J. R. [2001]. "A transport  
metabolon. Functional  
interaction of carbonic anhydrase II  
and chloride/bicarbonate  
exchangers". *J. Biol. Chem.* (United  
States) **276** (51): 47886–94.
66. Weissman, G.[1992]. Inflammation  
:historical perspective. In Gallin JI.  
Et al., (eds): Inflammation:  
Basic principles and clinical  
correlates, 2<sup>nd</sup> ed. New York.  
Ravenpress, pp. 5-13
67. Mallat, J. [1985]. Fish gill structural  
changes induced by toxicants and  
other irritants: A statistical  
review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42:  
630– 648.
68. Rosety-Roriguez, M;. Ordonez, F.  
J.; Rosety, M.; Rosety-Roriguez,  
J.M.; Ribelles, A. & Carrasco,  
C.[2002]. *Ecotoxicol., Envir.  
Safe.*,53-223.
69. Martinez, C. B. R.; Nagae, M. Y. ;  
Zaia, C.T.B.V. & Zaia, D. A. M.  
[2004]. *Brazil. J. Biol.*, 64-  
797.
70. Malley, D. (1996). *Cont. J. Fish.  
Aqua. Sci.*, 53, 1862.

**Study toxicity of green algae *Lyngbya martensiana* Menegh. Ex Gomont and its  
Histopathological effects on gills of swordtail fish  
*Xiphophorus helleri***

Ahmed Muhssin Athbi      Ali Abd Al-Llatif Al-Ali      Yusra Tarik Alrudainy

**Summary**

The toxicity of the blue green algae *Lyngbya martensiana* Menegh. ex Gomont which isolated from some water floats in Basrah city was studied on fishes *Xiphophorus helleri*. The algae used as food for fishes to study the effects left by it on gills of them. The effect of toxicity were studied at successive periods started from 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70 and up to 80 days. The toxic chemical compounds [Thiourea trimethyl, 7- Hexadecenoic acid and Cyclohexasiloxane, dodecamethyl] were isolated and identified from algae by used gas chromatography - mass technique [GC- Mass]. Histopathological changes were studied using tissue sections in the gills of different periods. It did not show any changes after 5 days, but after 10 days showed some changes represented by detachment of epithelial layer of the secondary gill lamellae and change in the straight shape of the secondary gill lamellae which have form of the letter L. The changes increased after 15, 20 and 25 days and subsequent periods, they were represented by hyperplasia in secondary gill lamellae, aneurism and congestion of blood capillary of secondary gill lamellae, adhesion of secondary gill lamellae from free ending, adhesion separated epithelial tissue of one secondary gill lamellae with separated epithelial tissue of neighboring secondary gill lamellae, aggregation and hypertrophy of chloride cells, presence of oedema, necrosis of the blood capillary. And changes included osteoporosis in the bone which surrounds the pulp cartilage and osteomitosis.

**Keywords:** Blue-green algae *Lyngbya martensiana*, Toxic effects, *Xiphophorus helleri*, Histopathological effects