



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة البصرة / كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة



تقييم بعض أنواع الطحالب الخضر-المزرقاة المعزولة من
التربة - جنوب العراق في انتاجها للسموم الكبدية وتأثير طحلب
Oscillatoria pseudogeminata في نمو نبات الطماطة
Lycopersicon esculentum Mill.

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة البصرة

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

مصطفى طاهر حاتم

بكالوريوس (علوم الحياة)

2007

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سُورَةُ النَّحْلِ الْآيَةُ / ١٣

الإهداء

إلى ... مَنْ أناروا طريقي بالعلم والمعرفة أساتذتي إجلالاً وتقديراً

أهدي هذا الجهد المتواضع

الشكر والتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

وانا أضع اللمسات الأخيرة لهذه الرسالة، يسرني أن أتقدم بأسمى آيات الشكر والعرفان إلى الاستاذ المساعد الدكتور عماد يوسف عواد السلطان وذلك لإخلاصه وجهده في الاشراف على انجاز الدراسة .

كما أتقدم بعميق الشكر والامتنان الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة البصرة ورئاسة قسم علوم الحياة لكل ما بذلوه من جهود ازاء رؤيتهم ورسالتهم الانسانية الواضحة في المتابعة وتلبية الأحتياجات والرعاية الابوية .

كما اتقدم بالشكر والامتنان الى الاستاذ الدكتور حسين خلف زاير والاستاذ الدكتور احمد محسن عذبي والاستاذ المساعد الدكتورة لمى حسين عبد القادر والدكتور مرتضى حسين فياض لما ابدوه من مساعدة ومشورات وملاحظات علمية قيمة أغنت موضوع الدراسة والى جميع أساتذتي الافاضل في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة البصرة الذين لم يبخلوا علي بجهد.

كما أتقدم بالشكر الجزيل الى الست سعاد مسؤولة الدراسات العليا التي عملت ولا زالت تعمل بكل جد واخلاص .

كما اتقدم بالشكر والتقدير الى زملائي طلاب الدراسات العليا في كلية الزراعة /جامعة البصرة ولاسيما الزميل حيدر محسن والزميل حيدر قاسم والزميل علي حسين علي والزميل اسعد شامل لما ابدوه من تعاون وتسهيلات في مجال زراعة النبات متمثلة بتوفير بعض المصادر والمواد وتحليل التربة .

كما اتقدم بالشكر والتقدير الى زملائي في كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة كل من الزميل حامد منصور والزميلة نور جاسم والزميلة انتصار قاسم لمساندتهم ودعمهم المعنوي وشكر خاص الى الصديق والزميل العزيز علي كاطع في قسم الكيمياء لتوفير بعض المواد الكيميائية .

الباحث

شكرا لكم جميعا

الخلاصة Summary

تضمنت هذه الدراسة عزل وتشخيص ثلاثة انواع من الطحالب الخضراء- المزرقة Cyanophyta من التربة في محافظتي البصرة وميسان جنوب العراق وتنقيتها واكثارها والتي تمثلت بالانواع *Oscillatoria* و *Microcystis flos-aque* و *Aphanothece clathrata*، ثم تحديد قابليتها على انتاج السموم الكبدية *pseudogeminat*، اذ قيس منحنى النمو للأنواع الثلاثة المعزولة والمنقاة بعد تنميتها في الوسط الزراعي السائل BG-11 اذ بلغ كل من ثابت النمو (k) Growth constant و 0.211 و 0.175 و 0.144 وزمن تكاثر الجيل (G) Generation time و 1.425 و 1.718 و 2.09 يوم للأنواع على الترتيب .

عزلت السموم الكبدية من الانواع الثلاثة للطحالب المعزولة والمنقاة في الدراسة الحالية وشخصت كماً ونوعاً بوساطة تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)، اذ أظهر الطحلب الاخضر- المزرق الخيطي *O. pseudogeminat* قابلية اعلى لإنتاج السموم الكبدية بتركيز بلغ 1.47 مايكروغرام / لتر/ 50 مليغرام من الوزن الجاف للطحلب تلاه الطحلب *M. flos-aque* بتركيز بلغ 0.734 مايكروغرام / لتر/ 50 مليغرام من الوزن الجاف للطحلب في حين تبين ان الطحلب *A. clathrata* هو الأقل انتاجية لتلك السموم مقارنة بالنوعين السابقين اذ بلغ تركيز السم فيه 0.324 مايكروغرام/ لتر / 50 مليغرام وزن جاف ويعد تشخيص قابلية هذا الطحلب لإنتاج السموم الكبدية الاولى من نوعها محلياً.

بينت الدراسة الحالية تأثير السموم الكبدية المعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminat* على انبات بذور نبات الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. وبتراكيز مختلفة بعضها محاكي للبيئة اضافة الى بيان تأثير تلك السموم على بعض الصفات المظهرية والمكونات الكيميائية للنبات بعمر شهرين بعد زراعته وتنميته مختبرياً.

عولمت بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة MCs من الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata* لمدة سبعة ايام تمثلت بالتراكيز (0.5 و 3 و 6) مايكروغرام / لتر اضافة الى مجموعة السيطرة التي عولمت بالماء المقطر، اذ بلغت نسبة الانبات 0 % في اليوم الاول والثاني في التراكيزين (3 و 6) مايكروغرام / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة والتراكيز 0.5 مايكروغرام / لتر، اذ بلغت نسبة الانبات فيهما 26.6 %، اما في اليوم الثالث من التعرض للسموم الكبدية فقد وصلت نسبة الانبات الى 3.3 % عند التعرض للتراكيز 6 مايكروغرام

/ لتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغت نسبة الانبات فيها 83.3% ولوحظ بزيادة الفترة الزمنية للتعرض للسموم الكبدية ازدادت نسبة الانبات ابتداء من اليوم الرابع الى اليوم السابع اذ بلغت نسبة الانبات 100 % ولجميع المعاملات ما عدا البذور المعرضة للتركيز 6 مايكروغرام / لتر، اذ بلغت نسبة الانبات فيه 86.6 % . كما بينت النتائج انخفاض معنوي $p \leq 0.05$ في معدل سرعة الانبات ومعدل طول الجذير و الرويشة ووزنهما الرطب والجاف بأزدياد تركيز السموم الكبدية.

عومل نبات الطماطة بعمر شهرين بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية ولمدة اربعة وعشرين يوما تمثلت بالتركيز (0 و 0.5 و 3 و 6) مايكروغرام / لتر المستخلصة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* ، اذ تبين ان اعلى معدل لتركيز ومراكمة تلك السموم وجدت في مجموعة النباتات المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر، اذ بلغ 12.278 مايكروغرام / لتر في جسم النبات باكملة وبمعدل تراكم يومي بلغ 0.511 مايكروغرام / لتر وان اعلى معدل لمراكمة السموم لوحظ في اجزاء مجموعة النباتات المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر ، اذ بلغ معدله في الجذر 4.818 مايكروغرام / لتر تلاه الساق بتركيز 4.091 مايكروغرام / لتر ثم الاوراق التي بلغ معدل مراكمة السموم فيها 3.369 مايكروغرام / لتر ، اما المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/لتر فقد بلغ معدل مراكمة السموم في جسم النبات باكملة 3.856 مايكروغرام / لتر وبمعدل تراكم يومي بلغ 0.16 مايكروغرام / لتر اذ بلغت معدلات المراكمة للسموم الكبدية 1.717 مايكروغرام / لتر في الجذر و 1.499 مايكروغرام / لتر في الساق و 0.640 مايكروغرام / لتر في الاوراق ، اما اقل التراكيز للسموم الكبدية المتراكمة فقد وجد في مجموعة النباتات المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر ، اذ بلغ معدل تراكم السموم في جسم النبات باكملة 1.670 مايكروغرام / لتر وبمعدل تراكم يومي بلغ 0.069 مايكروغرام / لتر / اليوم ، اذ لوحظ ان اعلى معدل لمراكمة السموم الكبدية بلغ 0.687 مايكروغرام / لتر في الجذر ايضا تلاه الساق بتركيز 0.558 مايكروغرام / لتر ثم الاوراق بتركيز 0.425 مايكروغرام / لتر، اذ لوحظ ان بزيادة تركيز السموم الكبدية المعامل بها النبات تزداد قابليته على مراكمة تلك السموم في انسجته عند مقارنتها بمجموعة السيطرة وكانت الجذور والسيقان هي الاكثر مراكمة للسموم الكبدية من الاوراق في كل المجاميع المعرضة لتلك السموم .

كذلك اوضحت النتائج ان معاملة نبات الطماطة بالتراكيز اعلاه للسموم الكبدية المعزولة قد سببت تغيرات معنوية $P \leq 0.05$ سلبية في مؤشرات النمو الخضري تمثلت في انخفاض معدل ارتفاع سيقان نبات الطماطة واقطارها وطول الجذور والمساحة السطحية للأوراق والاوزان الرطبة والجافة والتي ظهرت بشكل واضح في نبات الطماطة عند تعرضه للسموم الكبدية المنقاة والتي تناسبت عكسيا مع

تركيز تلك السموم، اضافة الى ذلك ظهر لون اخضر شاحب Chlorosis على أوراق نبات الطماطة التي تعرضت لتراكيز متزايدة من المايكروسستينات ، كما بينت نتائج الدراسة انخفاضاً معنوياً $P \leq 0.05$ في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي والكاربوهيدرات الذائبة الكلية بزيادة التعرض لتراكيز عالية من السموم الكبدية المعزولة .

الفصل الاول : المقدمة و استعراض المراجع		
	المقدمة و استعراض المراجع	1
1	المقدمة	1-1
5	أستعرض المراجع	2-1
5	انواع السموم من الناحية الوظيفية	1-2-1
5	المايكروسستينات (MCs) Microcystins	2-2-1
8	ميكانيكية عمل السموم الكبدية MCs	
9	تأثير السموم الكبدية MCs على المحاصيل الزراعية	4-2-1
11	تأثير السموم الكبدية MCs على النباتات المائية	5-2-1
12	التراكم الحيوي للسموم الكبدية MCs في النباتات و الطحالب الخضراء	6-2-1
13	تأثير السموم الكبدية MCs على الانسان	7-2-1
14	تأثير السموم الكبدية على الحيوانات	8-2-1
14	تأثير السموم الكبدية MCs على الهائمات الحيوانية	9-2-1
15	التأثيرات النسيجية والوظيفية للسموم الكبدية MCs في الكائنات الحية	10-2-1
16	العوامل المؤثرة في انتاج السموم الكبدية MCs	11-2-1
17	طرق الكشف عن السموم الكبدية MCs	12-2-1
18	اهمية نبات الطماطة <i>Lycopersicon spp.</i>	13-2-1
الفصل الثاني : مواد العمل و طرائقه		
19	تنظيف و تعقيم الزجاجيات	1-2
19	تحضير الوسط الزراعي السائل و تعقيمه	2-2
20	تحضير الوسط الزراعي الصلب و تعقيمه	3-2
20	جمع عينات الطحالب الخضراء-المزرقة من التربة	4-2
20	قياس الصفات الفيزيائية والكيميائية	5-2
20	درجة حرارة الهواء والتربة	1- 5 - 2
21	الأس الهيدروجيني pH	2 - 5 - 2
21	التوصيلية الكهربائية (EC) Electrical Conductivity	3- 5 - 2
21	الملوحة	4- 5 - 2
21	طريقة عمل راسح التربة	1-4-5-2
22	عزل الطحالب الخضراء-المزرقة من التربة	6 - 2
23	تنقية العزلات	7 - 2
23	تصنيف الطحالب المعزولة	8 - 2
23	قياس منحني النمو	9 - 2
25	تنمية مزارع الطحالب النقية واكثارها	10 - 2
25	الحصاد و تحضير الكتلة الحية للمزارع النقية للطحالب	11 - 2
26	أستخلاص السموم	12 - 2
27	تنقية السموم الكبدية MCs	13 - 2
27	تشخيص السموم الكبدية MCs	14 - 2
27	التشخيص الكمي و النوعي للسموم الكبدية باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA – Kit)	1-14-2
27	طريقة العمل	1-1-14-2
30	دراسة تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحالب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> على بذور نبات الطماطة	15-2

30	تأثير السموم الكبدية MCs على انبات بذور نبات الطماطة	1- 15 - 2
31	حساب نسبة الانبات (%)	2 - 15 - 2
31	سرعة الإنبات (بذرة / يوما)	3 - 15 - 2
32	طول الجذير و الرويشة	4 - 15 - 2
32	الوزن الرطب للجذير و الرويشة	5 - 15 - 2
32	الوزن الجاف للجذير و الرويشة	6 - 15 - 2
33	تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> على المجموع الخضري والجذري لنبات الطماطة	16-2
34	تأثير السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> على بعض صفات النمو الخضري لنبات الطماطة	17-2
34	ارتفاع النبات	1-17-2
35	قطر الساق	2-17-2
35	المساحة الورقية	3-17-2
35	عدد الأوراق	4-17-2
35	الوزن الجاف والرطب للمجموع الجذري والخضري	5-17-2
35	تحديد تراكيز السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> في انسجة نبات الطماطة	18-2
36	تأثير السموم الكبدية MCs المعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> على بعض المعايير الفسلجية في اوراق نبات الطماطة	19-2
36	تركيز الكلوروفيل الكلي	1-19-2
36	تركيز الكاربوهيدرات الذائبة الكلية	2-19-2
37	المحاليل المستعملة	1- 2-19-2
37	طريقة العمل	2-2-19-2
37	تحضير المنحنى القياسي للكلوكوز	3-2-19-2
39	التحليل الإحصائي Statistical analysis	20-2
الفصل الثالث : النتائج		
40	تشخيص الطحالب الخضر-المزرق المعزولة من التربة وتنقيتها	1-3
41	تصنيف العزلات المنقاة	1-1-3
41	وصف الانواع المعزولة	2-1-3
41	الطحلب الاخضر- المزرق <i>Aphanothece clathrata</i>	1-2-1-3
43	الطحلب الاخضر- المزرق <i>Microcystis flos-aque</i>	2-2-1-3
45	الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i>	3-2-1-3
49	قياس منحنى النمو للطحالب المنقاة في المزارع السائلة	2-3
52	التقدير الكمي و النوعي للسموم الكبدية Microcystins	3-3
53	التجربة المختبريه	4 - 3
53	تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق <i>O. pseudogeminata</i> على النسبة المئوية لإنبات بذور نبات الطماطة <i>L. esculentum</i> Mill	1- 4 - 3

54	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل طول الجذير لنبات الطماطة	2-4-3
55	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> المعزول من التربة في معدل طول الجذير لنبات الطماطة	3-4-3
56	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل طول الرويشة	4-4-3
57	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الرطب للجذير	5-4-3
58	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الرطب للرويشة	6-4-3
59	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الجاف للجذير	7-4-3
60	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الجاف للرويشة	8-4-3
61	قابلية نبات الطماطة على مراكمة السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i>	5-3
63	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O.pseudogeminata</i> على النمو الخضري في نبات الطماطة	6-3
63	معدل ارتفاع النبات	1- 6-3
65	معدل قطر الساق لنبات الطماطة	2- 6-3
66	معدل الوزن الرطب لساق نبات الطماطة	3- 6-3
67	معدل الوزن الجاف لساق نبات الطماطة	4- 6-3
68	معدل طول الجذر لنبات الطماطة	5- 6-3
69	معدل الوزن الرطب لجذر نبات الطماطة	6- 6-3
70	معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة	7- 6-3
71	معدل عدد اوراق نبات الطماطة	8- 6-3
72	معدل المساحة الورقية لنبات الطماطة	9- 6-3
73	معدل الوزن الرطب لأوراق نبات الطماطة	10- 6-3
74	معدل الوزن الجاف لأوراق نبات الطماطة	11- 6-3
75	معدل تركيز الكلوروفيل الكلي لأوراق نبات الطماطة	12- 6-3
76	معدل تركيز الكاربوهيدرات الذائبة الكلية في اوراق نبات الطماطة	13- 6-3
الفصل الرابع : المناقشة		
78	المناقشة	4
78	عزل الطحالب وتنقيتها	1-4
79	منحنى النمو	2-4
80	التشخيص الكمي والنوعي للسموم الكبدية Microcystins بوساطة تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم Enzyme Linked (ELISA) Immunosorbent Assay Technique	3-4
81	تأثير السموم الكبدية في نسبة انبات البذور وسرعة الانبات وطول الرويشة والجذير والوزن الرطب والجاف لهما .	4-4
82	تراكم السموم في النبات وتأثيرها على معدلات النمو الخضري	5-4

88	الاستنتاجات
89	التوصيات
90	المراجع العربية
92	المراجع الاجنبية

الجداول

رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
22	بعض العوامل البيئية التي قيست خلال مدة جمع العينات من التربة	1
34	بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل قبل الزراعة	2
34	بعض صفات ماء السقي	3
38	تحضير التراكيز القياسية للكلوز مقدرا بوحدات مايكروغرام/مليتر	4
40	انواع الطحالب الخضر المزرقة المعزولة والمنقاة واشكالها الخضرية وطريقة جمعها وعزلها ومنطقة الجمع	5
50	اطوار النمو للطحالب الخضر - المزرقة المعزولة من التربة ومدة الحصاد وقيم ثابت النمو وزمن تكاثر الجيل .	6
54	تأثير معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة في معدل سرعة الانبات	7

الاشكال

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
7	التركيب الكيميائي العام في السم الكبدية Microcystin .	1
29	المنحنى القياسي لتراكيز السموم الكبدية باستخدام برنامج Curve expert	2
39	المنحنى القياسي لتقدير الكاربوهيدرات الذائبة الكلية بطريقة الفينول- حامض الكبريتيك .	3
50	منحنى النمو للطحلب الاخضر - المزرق <i>A. clathrata</i> .	4
51	منحنى النمو للطحلب الاخضر - المزرق <i>M. flos-aque</i> .	5
51	منحنى النمو للطحلب الاخضر - المزرق <i>O. pseudogeminata</i> .	6
52	تركيز السموم الكبدية Microcystin المنقاة والمعزولة من الطحالب الخضر - المزرقة مقدرا بوحدات المايكروغرام/ لتر / 50 مليغرام / وزن جاف	7

53	النسبة المئوية لانبات بذور نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. Pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام .	8
55	معدل طول الجذير في بذور نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام .	9
56	معدل طول الرويشة في بذور نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام ..	10
57	معدل الوزن الرطب لجذير نبات الطماطة المعامل بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام ..	11
58	معدل الوزن الرطب لرويشة نبات الطماطة المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام ..	12
59	معدل الوزن الجاف لجذير نبات الطماطة المعامل بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام ..	13
60	معدل الوزن الجاف لرويشة نبات الطماطة المعامل بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق <i>O. pseudogeminata</i> لمدة سبعة ايام ..	14
62	معدل تركيز السموم الكبدية المنقاة MCs المتراكمة في جسم نبات الطماطة كله مقدرًا بوحدة المايكروغرام/ لتر لكل 750 ملغرام وزن جاف .	15
62	معدل تراكيز السموم الكبدية MCs المتراكمة في اجزاء جسم نبات الطماطة مقدرًا بوحدة المايكروغرام/ لتر لكل 250 ملغرام وزن جاف .	16
63	معدل التراكم اليومي للسموم الكبدية MCs في جسم نبات الطماطة مقدرًا بوحدة المايكروغرام/ لتر لكل 750 ملغرام وزن جاف .	17
64	معدل ارتفاع نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة .	18
65	معدل قطر الساق لنبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة .	19
66	معدل الوزن الرطب لساق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i> .	20
67	معدل الوزن الجاف لساق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر- المزرق <i>O.pseudogeminata</i> .	21
68	معدل طول الجذر لنبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة .	22
69	معدل الوزن الرطب لجذر نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة .	23
70	معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة .	24

71	معدل عدد اوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة .	25
72	معدل المساحة الورقية نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية.	26
73	معدل الوزن الرطب لأوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs .	27
74	معدل الوزن الجاف لأوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs .	28
75	تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي في أوراق نبات الطماطة .	29
77	معدل تركيز الكربوهيدرات الذائبة الكلية في أوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i>	30

الصور

رقم الصفحة	العنوان	رقم الصورة
19	الوسط الزراعي الجاهز BG-11	1
21	المحرار الزئبقي المدرج Soil thermometer والمستعمل في قياس درجة حرارة التربة .	2
25	نمو الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i> بواسطة انابيب الاختبار Test tube .	3
26	الكتلة الحية الرطبة A والمجفدة B للطحلب الاخضر – المزرق <i>O. pseudogeminata</i> المعزول والمنقى خلال هذه الدراسة	4
29	المحاليل الجاهزة ELSA- Kits المستعملة في التقدير الكمي والنوعي للسموم الكبدية Microcysti والمصنعة في شركة Abraxis الامريكية	5
31	غلاف بذور نبات الطماطة نوع <i>L. esculentum</i> صنف هجين هدى Hoda هولندية المنشأ من شركة دبانة الزراعية	6
32	انبات بذور الطماطة في اطباق بتري قطر 9 سنتيمتر تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المعزولة من الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i>	7
42	المزرعة السائلة النقية للطحلب الاخضر المزرق <i>A. clathrata</i> بعد مدة استزراع 25 يوما .	8
42	الطحلب الاخضر المزرق <i>A. clathrata</i> تحت المجهر على قوة تكبير 100x	9
43	المزرعة السائلة النقية للطحلب الاخضر المزرق <i>M. flos-aque</i> بعد مدة استزراع 25 يوما	10
44	الطحلب الاخضر المزرق <i>M. flos-aque</i> تحت المجهر على قوة تكبير 10x	11

44	الطحلب الاخضر المزرق <i>M. flos-aque</i> تحت المجهر على قوة تكبير 40x .	12
45	الطحلب الاخضر المزرق <i>M. flos-aque</i> تحت المجهر على قوة تكبير 100x	13
46	المزرعة السائلة النقية للطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i> بعد فترة استزراع 25 يوما .	14
47	الطحلب الاخضر المزرق <i>O. pseudogeminata</i> تحت المجهر على قوة تكبير 10x .	15
47	الطحلب الاخضر المزرق <i>O. pseudogeminata</i> تحت المجهر على قوة تكبير 40x .	16
48	الطحلب الاخضر المزرق <i>O. pseudogeminata</i> تحت المجهر على قوة تكبير 100x .	17
48	نهاية الخيط للطحلب الاخضر المزرق <i>O. pseudogeminata</i> تحت المجهر على قوة تكبير 100x .	18
64	ارتفاع نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i> .	19
76	تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر- المزرق <i>O. pseudogeminata</i> في لون أوراق نبات الطماطة A مجموعة السيطرة B المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر	20

الفصل الأول

المقدمة و استعراض المراجع

Introduction and Literature review

1 : المقدمة واستعراض المراجع Introduction & literatures review

1 - 1 : المقدمة Introduction

الطحالب الخضراء - المزرققة Blue-green alga أو Cyanophyta والتي تعرف بالسيانوبكتيريا (البكتيريا الزرقاء) Cyanobacteria التي تنمو في المياه العذبة والمالحة والمولحة والتربة على حد سواء وهي شبيهة بالطحالب الخضراء Chlorophyta من حيث البيئة والمظهر الخارجي والقدرة على تمثيل الضوء بعملية البناء الضوئي Photosynthesis ولكنها تعد بكتيريا حقيقية True bacteria بدائية النواة ويبدو شكلها على هيئة خلايا مفردة Single cells أو خيطية Filamentous متفرعة (حقيقية او كاذبة التفرع) أو غير متفرعة أو على هيئة مستعمرات Colonies او تجمعات باليميلية كما أن لبعض أنواعها القدرة على تثبيت النيتروجين Nitrogen fixation اذ تثبت اكثر من 35 مليون طن من النيتروجين سنوياً لذلك تلعب دوراً مهماً في زيادة خصوبة التربة وبالتالي زيادة انتاجية المحاصيل ولذلك فهي تؤدي دوراً مهماً في السلسلة الغذائية Food chain والتي تعد صفة مميزة لها عن بقية اقسام الطحالب (Ling , 2000 ; Bullerjahn and Post,2014)

تتواجد الطحالب الخضراء - المزرققة في بيئات مختلفة متحملة الظروف البيئية القاسية (Whitton and Potts , 2000 ; Falconer 2005) فهي قادرة على العيش في بيئات ذات مدى واسع من الملوحة والحرارة والحمضية فضلاً عن المغذيات (Chorus and Bartram , 1999) وتوجد في البيئات اليابسة في التربة وعلى الصخور والرمال والطين ايضاً كما يمكن أن توجد متعايشة Symbiosis مع بعض انواع الفطريات والنباتات والحيوانات (Baracaldo) (et al., 2005 ; Thajuddin and Subramanian, 2005 ; Bacher et al., 2015) .

ينعدم التكاثر الجنسي في الطحالب الخضراء - المزرققة اذ تتكاثر خضرياً ولا جنسياً ويكون التكاثر عن طريق الانشطار البسيط Binary Fission وتكوين Hormogonia فضلاً عن تكاثرها بوساطة السبورات (Meeks and Elhai, 2002 ; Bell and Cobb, Spores) ولا تمتلك الطحالب الخضراء - المزرققة أعضاء للحركة والمتمثلة بالأهداب والأسواط (1994) ولكن بعض انواعها الخيطية تستطيع أن تتحرك حركة خاصة تعرف بالحركة الترحليية Gliding movement أما الأنواع أحادية الخلية فان لها القدرة على تغيير موقعها ضمن عمود الماء بوساطة الطفو Buoyancy نتيجة امتلاكها الحويصلات الغازية Gas vacuoles ويكون تغيير

الموقع حسب طبيعة الظروف البيئية من شدة الاضاءة و درجة الحرارة ووفرة المغذيات (Kim ; 1995, Yu, 1997, et al.).

أثبتت الدراسات قابلية بعضها على إنتاج السموم (McElhiney and Lawton , 2005; Rastogi et al., 2014 ; Harke et al., 2016 ; Shams et al., 2015) منها دراسة في إيطاليا و Heath et al., (2014) في نيوزلندا و (Nyenje et al ., 2010) في أفريقيا و السلطان (2007) في العراق و (Mohamed and Al Shehri , 2007) في المملكة العربية السعودية و (Carmichael and Li , 2006) في الولايات المتحدة الامريكية و (Kankaanpaa , 2005) في استراليا و (Irisarri ., et al , 2001) في الأوروغواي و Hitzfeld et al ., (2000) في وديان ماكموردو في القارة القطبية الجنوبية وتنتج الطحالب الخضر- المزرقه مدى واسعا من المركبات السامة التي تعد جميعها نواتج أيضية ثانوية التي تدعى Cyanotoxins ويرى كثير من العلماء أنها تشكل خطرا حقيقيا يهدد صحة المجتمع في عدة أنحاء من العالم (Carmichael, 1997; Addico et al ., 2017).

ان ازدهارات الطحالب الخضر- المزرقه غالبا ما يرافقه إنتاج مجموعة متنوعة من تلك السموم التي تصنف اعتمادا على العضو الذي تستهدفه كالسموم الكبدية Hepatotoxins والتي تسبب اعتلال الكبد والسموم العصبية Neurotoxins التي تؤثر في الجهاز العصبي والسموم الجلدية Dermatotoxins التي تسبب تحسس الجلد والسموم الخلوية Cytotoxins التي لها تأثير على الخلايا المنماة في المختبر، اذ كشف عن وجود تلك السموم في جميع أنحاء العالم وقد وجد أن السموم الكبدية المايكروسستينات (MCs) Microcystins هي الأكثر شيوعا من بين تلك السموم اذ تشكل نسبتها بين (50-75) % من السموم التي تنتجها الطحالب الخضر- المزرقه وإن تلوث المياه السطحية بتلك السموم يمكن أن يسبب مشكلات في جودة المياه و صيد الأسماك وتربية الأحياء المائية والزراعة وتهدد صحة الانسان والحيوان ، اذ ابلغ عن العديد من حالات نفوق الحيوانات في مناطق مختلفة من العالم بسبب التماس المباشر مع الطحالب الخضر-المزرقه في اشارة الى انتشار تلك الظاهرة في انحاء مختلفة من العالم (Codd et al., 2005; Falconer,) (2005) ، وبينت بعض الدراسات أن تلك السموم ممكن ان تتراكم في الفقاريات التي تعيش في المياه مثل الاسماك واللافقاريات مثل المحار والعوالق (Kotak et al., 1996; Prepas et al., 1997; Watanabe et al., 1997; Williams et al., 1997) ، مما يشكل خطرا على صحة الإنسان والحيوانات التي تستهلك تلك الاحياء المائية غذاء (Carmichael and Falconer, 1993; Ibelings and Chorus, 2007; Smith et al., 2008) .

بينت دراسة (Xiao *et al.*, 2009b) أن معظم ازدهارات الطحالب الخضراء-المزرقة تحدث في النظم المائية المفتوحة مثل المحيطات والأنهار والبحيرات والبرك وغيرها ، إلا أنها ممكن أن تظهر في المياه المخصصة لري النباتات أيضا ومنها نباتات المحاصيل الزراعية ولهذا السبب فقد افترض أنه يمكن للمايكروسستينات ان تتجمع وتتراكم في أنسجة النباتات الصالحة للغذاء ومن ثم فهي تشكل خطرا محتملا على سلامة الأغذية وصحة الإنسان الذي تصله عن طريق السلسلة الغذائية وفي هذا الصدد عثر على السموم الكبدية (MCs) في مياه ري حقول نبات كستناء الماء *Eleocharis dulcis* اذ وصل تراكيزها فيه إلى 7 مايكروغرام / كيلوغرام من الوزن الجاف كما وجد في حقول نبات الطماطة وان تركيز السموم الكبدية المتراكم في الثمار وصل الى 1.16 مايكروغرام / كيلوغرام (Romero-oliva *et al.*, 2014) . ووجد التراكم في العديد من المحاصيل النباتية الأخرى التي سقيت بمياه جوفية ملوثة ، اذ تراوح تركيز السموم فيها بين (70 - 1200) مايكروغرام / كيلو غرام من الوزن الرطب (Mohamed and Al 2009) (Shehri, 2008) ، وقد أظهرت دراسة (Crush *et al.*, 2008) المختبرية أن نبات البرسيم *Trifolium repens* والسلجم *Brassica napa* والخس *Lettuce sativa* قد تراكمت فيهما السموم بمقدار (0.2 – 1.45) ملغم / كيلوغرام من الوزن الجاف عند التعرض لتركيز 2.1 ملغم / لتر من تلك السموم ولمدة 15 يوما .

ان الآثار السلبية لسموم الطحالب الخضراء- المزرقة في نباتات المحاصيل الزراعية يمكن أن تسبب انخفاضا للنمو ومعدلات الإنتاجية وجودة المحاصيل وفي هذا الجانب أظهرت دراسة (Kós *et al.*, 1995) أن التعرض لتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs ثببت نمو نبات الخردل الابيض *Sinapis alba* فضلا عن ذلك لوحظ تثبيط النمو في محاصيل زراعية أخرى نتيجة التعرض لتلك السموم (El Khalloufi *et al.*, 2012 ; Pereira *et al.*, 2009) . كما بينت بعض الدراسات أن لتلك السموم تأثيرا سلبيا في إنبات البذور وتطور الجذور (Máthé *et al.*, 2009) اذ ثبت مؤخرا أنها تمنع التعقيد ونمو البكتريا الحرة المثبتة للنتروجين *Rhizobia* مع احتمال حدوث انخفاض في امتصاص النيتروجين في المحاصيل البقولية (El Khalloufi *et al.*, 2012 ; Lahrouni *et al.*, 2012) .

أظهرت دراسة وبائية أن الإفراط في حدوث الشلل الرعاشي The excessive incidence of amyotrophic lateral sclerosis في سكان جزر غوام Islands of Guam في المحيط الهادئ كان مرتبطا باستهلاك بذور السيكاد *Cycas Linnaeus* الملوثة بالسم العصبي β -Methylamino-L-alanine (BMAA) الذي تنتجه بعض انواع الطحالب الخضراء-المزرقة التي تعود الى الجنس *Nostoc.sp* الذي يعيش في حالة تكافل مع جذور ذلك النبات , Cox *et al.*,

(2003) ولم يقتصر تحديد هذا السم في الانسان او الحيوانات التي تتغذى على بذور السيكا بل وجد في عينات المياه التي تحوي تلك الطحالب ايضا (Metcalf *et al.*, 2008; Esterhuizen and Downing, 2008) .

اما الدور الحيوي لتلك السموم فما زال محل جدل و لكن هذا لا يمنع من ظهور فرضيات عدة تفسر السبب الذي يستحث الطحلب لينتج هذه المركبات ومن هذه الفرضيات ان السموم تعد وسيلة دفاعية ضد العواشب كالهائمات الحيوانية والاسماك وكذلك وسيلة تنافسية ضد الاجناس الاخرى من الطحالب فضلا عن النباتات للظفر بالحيز والمورد (Rohrlack *et al.*,2013) .

ونظرا لقلة الدراسات المتعلقة بتأثير السموم الكبدية MCs في النباتات محليا وخصوصا المحاصيل الخضرية وتحديد انواع الطحالب الخضر-المزرقة التي تقطن البيئة اليابسة فقد ارتئيت في هذه الدراسة تحقيق الاهداف الاتية :

1) عزل بعض أنواع الطحالب الخضر – المزرقة السامة من التربة وتشخيصها وتنقيتها وإكثارها .

2) قياس منحنى النمو للطحالب السامة المعزولة مختبريا باستخدام طريقة قياس الوزن الجاف بعد إكثارها في وسط زرعى سائل مناسب .

3) استخلاص السموم الكبدية من الأنواع الطحلبية المعزولة وتنقيتها وتشخيصها وتحديد تركيزها باستخدام طريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA- Kits) .

4) دراسة تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المعزولة من الطحلب *Oscillatoria pseudogeminata* على نبات الطماطة المزروع مختبريا من حيث نسبة وسرعة الانبات والصفات الخضرية لنبات الطماطة .

5) دراسة قابلية نبات الطماطة على مراكمة السموم الكبدية المعامل بها مسبقا في أنسجتها والمتمثلة بالجذر والساق والأوراق .

6) تأثير السموم الكبدية في محتوى الاوراق من الكلوروفيل ومحتوى الاوراق من الكاربوهيدرات.

2-1: استعراض المراجع literatures review

1 - 2 - 1: أنواع السموم من الناحية الوظيفية

من الناحية الوظيفية تقسم السموم التي تنتجها الطحالب الخضراء - المزرقية إلى نوعين من السموم هي السموم الكبدية Hepatotoxin والسموم العصبية Neurotoxins (Carmichael, 1992; Codd et al., 1999).

تعد السموم الكبدية مركبات ببتيدية Heptapeptide وهي الأكثر شيوعاً من بين سموم الطحالب الخضراء - المزرقية ولها تأثير سمي شديد ولكنه يستغرق وقتاً أطول إذا ما قورن بالسموم العصبية وقد يحدث الموت خلال مدة تتراوح بين خمسة إلى بضعة أيام بالاعتماد على عدة عوامل منها حجم الحيوان ونوع السم والجرعة ، وقد صنفت تلك السموم إلى ثلاثة أقسام هي Microcystins و Nodularins و Cylindrospermopsins (Steffensen et al., 1999).

أما السموم العصبية فهي مركبات قلوية Alkaloids ذات تأثير سمي سريع جداً ويكون مميتاً في كثير من الأحيان إذ يسبب شلل العضلات الهيكلية المحيطية يتبعها شلل العضلات التنفسية الذي يؤدي إلى عدم القدرة على التنفس ثم الموت وهي على عدة أنواع Anatoxin-a و Anatoxin-a(s) و Homoanatoxin و Paralytic Shellfish poisons (PSPs) ومن الأجناس الشائعة في إنتاج هذه السموم هي *Anabaena* ، *Nostoc* ، *Merismopedia* ، *Trichodesmium* ، *Oscillatoria* ، *Aphanizomenon* ، *Stigonema* و *Phormidium* ، *Pseudanabaena* ، *Lyngbya* ، *Microcystis* ، (Wiese et al., 2010; Ruiz et al., 2013) و عبيد (2017).

2-2-1: المايكروستينات (MCs) Microcystins

المايكروستينات MCs هي سموم كبدية تتكون من مجموعة من الحلقات الأحادية Monocyclic لسبعة حوامض أمينية Heptapeptide التي تنتج من أنواع مختلفة من الطحالب الخضراء - المزرقية (Carmichael, 1992 ; Puddick et al., 2015). وتوصف تلك السموم بأنها ببتيدات حلقة Cyclic peptides منخفضة الوزن الجزيئي (800 – 1100) دالتون وان تركيبها الكيميائي العام هو :

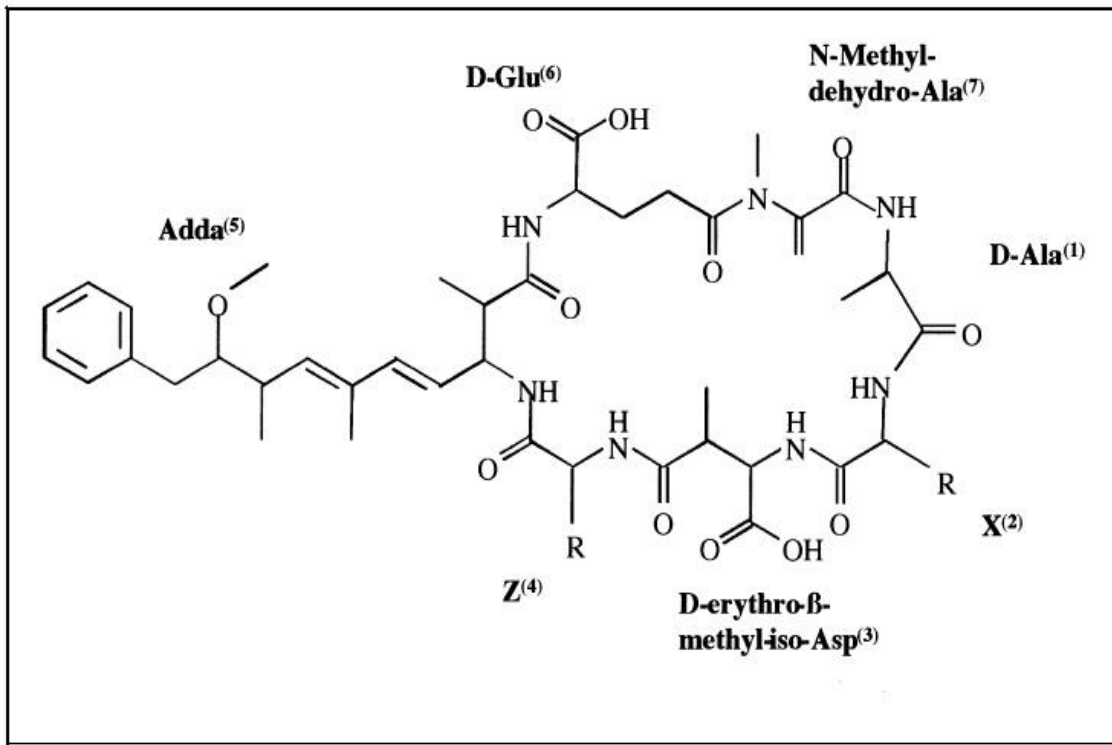
Cyclo - [-D-Ala-L-X-D-MeAsp-L-Z-Adda-D- Glu -Mdha]- وهنالك موقعان متغايران للحوامض الأمينية تؤديان دورا في نوعية السموم الكبدية هما الموقعان (X , Z) اللذان ترتبط بهما أحماض أمينية من نوع L-amino acids . تتكون المايكروسستينات من ثلاثة أحماض أمينية نوع D-amino acids هي Alanine (Ala) و (MeAsp) Methylaspartic acids والحامض الاميني (Glu) Glutamic acid زيادة على حامضين أميين غير أساسيين هما N- Methyldehydroalanin (Mdha) والحامض الأميني 3-amino-9-methoxy-2,6,8,-trimethyldeca-4,6-dienoic acid ويرمز له اختصارا (Adda) الذي تعود إليه الفعالية البايولوجية لجميع السموم الكبدية. تختلف السموم الكبدية بصورة مبدئية من حيث وجود نوعين من الحوامض الأمينية نوع L-amino acids في الموقعين (X , Z) واللذين يعزى إليهما تسمية نوع السموم الكبدية ، كما وجد أن بعض العزلات السامة من الطحالب تنتج أكثر من نوع واحد من السموم الكبدية المايكروسستينات (Sivonen and Jones, 1999) . و شخص الى ما يقارب 100 نوع من السموم الكبدية Microcystins تنتجها انواع مختلفة من الطحالب الخضر المزرقه (Puddick et al., 2015) (; Niedermeyer et al., 2014) شكل (1) .

ان تركيب المايكروسستينات الجزيئي جعلها مستقرة جدا ومقاومة للكثير من انزيمات الكائنات الحية حقيقية النواة والبكتريا ولكن يمكن كسر ذلك التركيب بواسطة بعض انواع البكتريا في البيئة المائية التي توجد فيها الطحالب الخضر المزرقه او سمومها ايضا مثل الانهر و خزانات المياه ويتطلب تحلل السموم مدة زمنية طويلة على مرحلتين ، اذ يحدث تحلل قليل جدا يستمر من يومين الى ثلاثة اسابيع تليها مرحلة تحلل نشطة تستمر من يومين الى عشرة ايام تزال خلالها اكثر من 90% من تلك السموم ومدة هاتين المرحلتين تعتمد على الظروف البيئية وتركيز المايكروسستينات بصورة عامة وجد ان تلك البكتريا لها القدرة على تحليل المايكروسستينات بكفاءة عالية (Cousins et al., 1996; Lahti et al., 1997a; Lahti et al., 1997b) وقد سجل عدد من الاجناس البكتيرية المائية التي تعمل على تحليل السموم الكبدية منها *Arthrobacter sp.* و *Brevibacterium sp.* و *Rhodococcus sp.* و *Sphingomona sp.* (De la Cruz et al., 2011; Han et al., 2012) .

تعد السموم الكبدية مثبطات لإنزيمي protein phosphatases 1A and 2A (Carmichael , 1997) ومسببة بذلك نزيفا في الكبد وأعراضا عدة منها التقيؤ والإسهال وبرودة الأطراف وتنتج الطحالب الخضر المزرقه نوعين من السموم الكبدية هي المايكروسستينات Microcystins والنوديولارينات Nodularins (Rinehart et al., 1994) وأثبتت

الدراسات ان المايكروستينات تنتجها بعض الأنواع التابعة للأجناس *Microcystis* و *Anabaena* و *Nostoc* و *Nodularia* و *Oscillatoria* و *Merismopedia* و *Lyngbya* و *Pseudanabaena* و *Phormidium* و *Stigonema* و *Hapalosiphon* و *Calothrix* و *Kotak et al.*,) فقط *Nodularia* من أنواع الجنس *Nodularin* الكبدية السموم التي تنتجها في حين ينتج السموم الكبدية *Nodularin* من أنواع الجنس *Nodularia* فقط (*Kotak et al.*, 1999; Bolch et al., 1995) و (السلطان ، 2007 ، عبيد ، 2017).

شخصت سموم الطحالب الخضر المزرقة منذ زمن طويل على أنها مسببة للأمراض المرتبطة بالمياه Water - based disease التي تسبب الأمراض والموت للحيوان إذ ثبت أن السموم الحيوية مثل *Microcystin* و *Nodularin* تسبب التهاب الكبد Hepatotoxicity وتعد محركا للسرطانات Tumor promoter في الفئران والجرذ المختبري (*Grosse., et al*) (IARC, 2006 ; 2006).



شكل (1) التركيب الكيميائي العام في السم الكبدي *Microcystin*
(Yalcin,2012)

3-2-1 : ميكانيكية عمل السموم الكبدية MCs

إن دخول السموم الكبدية Microcystins إلى الخلايا الكبدية في الكبد أو أي نسيج آخر مستهدف يكون بواسطة التخصص الواسع للنظام الأيوني الناقل لأملاح الصفراء Broad Specificity anion transport bile acid carrier كما لوحظ زيادة كمية البروتين المفسفر Phosphorylated protein في المزارع النسيجية وفي الخلايا الكبدية نتيجة تثبيط فعالية إنزيمات Phosphatase المتمثلة بإنزيمات 1A و 2A Protein phosphatases وأن ذلك التثبيط لتلك الإنزيمات لا يقتصر على خلايا اللبائن ولكنه يثبط إنزيمات الفسفرة في النباتات الراقية أيضا وبذا فإن السموم الكبدية تعد من المثبطات العامة لتلك الأنزيمات في جميع الكائنات الحية الحقيقية النواة ولكن ذلك يعتمد على قابلية السم على الدخول إلى تلك الخلايا (Oberholster et al., 2004).

ترتبط السموم الكبدية MCs تساهميا مع إنزيمات Protein phosphatases (PP) وتقوم بتثبيط عملها مما يؤدي إلى إيقاف عملية إزالة الفسفرة Dephosphorilation المسؤولة عن صنع البروتينات مما يؤثر في بروتينات الهيكل الخلوي Cytoskeleton proteins وان الأكثر تضررا من بروتينات الهيكل الخلوي هي البوليمرات Polymers المعروفة باسم الخيوط الوسطية Intermediate filaments إذ يحصل بلمرة لها وفي الوقت نفسه يمكن ملاحظة فقدان الاتصال بين الخلايا الكبدية Cell - Cell connection وحصول تحلل للمنطقة الفاصلة بين الخلايا الكبدية وأن ذلك الضرر يسبب الموت في حالات الإصابة الحادة بالسموم الكبدية نتيجة النزف الدموي Haemorrhage الذي يؤدي إلى فقدان كميات كبيرة من الدم . وكذلك يحدث تقلص خيوط الأكتين Microfilaments وتكورها وتشكلها على هيئة فقاعات (Carmichael, 1994) ، إذ أن تكوين الخيوط الوسطية وبناءها يحدث من خلال التوازن بين زيادة الوحدات الفرعية في تلك الخيوط وفقدان وتجمع خيوط الأكتين وتفككها يتحكم في ذلك التوازن من خلال عمل بروتين الفوسفاتيز (PP) Protein phosphatase الذي يزيل مجموعة فوسفات وعمل بروتين الكاينيز (PK) Protein kinases الذي يضيف مجموعة فوسفات و من ثم فان تثبيط عمل بروتين الفوسفاتيز PP يؤدي إلى زيادة معدل الفسفرة phosphorylation وتفكك الوحدات الفرعية للخيوط الوسطية وفقدانها (Carmichael, 1994).

ثبت منذ زمن طويل ان السموم الكبدية MCs محرك للسرطانات Tumors promoter وفي الحقيقة ان دور إنزيمات PP و PK ليس في البناء الخلوي فقط بل في تنظيم تكاثر الخلايا أيضا من خلال تعزيز دور انقسام الخلايا بواسطة إنزيم PK وتثبيط انقسامها بواسطة إنزيم PP

أي منع تحفيز انقسام الخلايا من ثم يجب ان تصنف السموم الكبدية MCs على انها محركات للسرطان (Carmichael, 1994; Sivonen and Jones, 1999).

ان للسموم الكبدية MCs هدفا اخر ايضا في داخل الخلية متمثلا بوحدات بناء مركبات الطاقة ATP والمتمثلة بانزيم β -Subunit of ATP synthase ، اذ تسبب موتا مبرمجا للخلايا في حالة التعرض لتراكيز عالية من المايكروسستينات وقد ثبت كذلك ان السموم الكبدية تعزز الاجهاد التأكسدي من خلال تكوين جذور حرة وبذلك سوف يفقد غشاء الماييتوكوندرية قدرته على النفاذية ونقل وتنشيط بروتين Calpain وبروتين (CaM) Ca^{2+} /Calmodulin الذي يعتمد على انزيم Protein kinase II وان كل تلك التأثيرات تؤدي الى الموت المبرمج للخلايا (Mikhailov *et al.*, 2003; Piyathilaka *et al.*, 2015).

1-2-4 : تأثير السموم الكبدية MCs على المحاصيل الزراعية

اهتمت بعض الدراسات حول آثار التراكيز المختلفة لسموم الطحالب الخضر-المزرقة في النباتات وتأثير تلك السموم في نمو بعض تلك النباتات وتطورها وتراكم السموم في أنسجتها (Codd *et al.*, 1999; Crush *et al.*, 2008) وان اكثر الدراسات قد ركزت في المايكروسستينات بسبب سميتها العالية مقارنة بسموم الطحالب الخضر المزرقة الاخرى وكثيرا ما وجدت تلك الدراسات ان تركيز تلك السموم في المياه السطحية قد تجاوز 1 مايكروغرام/لتر وهو الحد الذي تسمح به منظمة الصحة العالمية (WHO) World Health Organization (Chorus and Bartram, 1999) وقد يصل تركيز تلك السموم الى 100 مايكروغرام / لتر (Corbel *et al.*, 2014a).

ومن جانب اخر فان المياه المستخدمة في الري غالبا ما تأتي من نظم مياه طبيعية او برك شيدت لأغراض زراعية ولا تخضع للفحص والمعالجة او رصد للسموم الكبدية زيادة على ذلك فان التركيب الحلقي لتلك السموم يوفر استقرارا كيميائيا عاليا لها مع قدرتها على البقاء في التربة مدة طويلة اذ وجد في الآونة الاخيرة ان نصف عمر تلك السموم في التربة الزراعية يقدر بنحو 56 يوما (Corbel *et al.*, 2014b) وبناء على ذلك فإن استمرار وجود تلك السموم في كل من مياه الري والتربة يمكن أن يكون له تأثير كبير في الكائنات الحية و كذلك على نمو نباتات المحاصيل الزراعية وتطورها (Corbel *et al.*, 2014a) .

ربطت الآثار السمية للمايكروسستينات في النباتات بالتأثيرات المثبطة للأنشطة الأنزيمية في تلك النباتات ومن الأمثلة على ذلك انخفاض في أنشطة انزيمات البروتين فوسفاتيز

Proteins Phosphatase 2A (PP2A) و Proteins Phosphatase 1 (PP1) في نبات السلجم نوع *Brassica napus* L عند تعرضها لتلك السموم (Mackintosh *et al.* , 1990) وانخفاض في نشاط انزيم بناء السكروز فوسفات Sucrose-phosphate synthase ناتج من تثبيط انزيمي PP1 و PP2A بواسطة المايكروسستينات نوع MC-LR في أوراق نبات السبانخ نوع *Spinacia oleracea* L سواء في التجارب المختبرية ام الحقلية ما تسبب في انخفاض كل من البناء الحيوي للسكروز وعملية البناء الضوئي (Siegl *et al.*, 1990) .

وأظهرت دراسات سابقة أن سموم الطحالب الخضر المزرقة يمكن أن يكون لها آثار سلبية في النباتات (MacKintosh *et al.*,1990 ; Chen *et al.* ,2004) . وان التعرض لتلك السموم يمكن أن يسبب تثبيط النمو في مجموعة متنوعة من نباتات المحاصيل الزراعية (Kos *et al.* ,2003 , Hamvas *et al.* ,1995) . إذ اثرت تلك السموم في نمو أعضاء النبات وتطورها وفي عملية البناء الضوئي والإنتاجية في كل من نبات القمح نوع *Triticum durum* ونبات الذرة نوع *Zea Mays* ونبات البازلاء نوع *Pisum sativum* ونبات العدس نوع *Lens exculenta* ، كما كشف عن أصناف أخرى تأثرت سلبا عند تعرضها لتلك السموم إذ استخلصت منها السموم الكبدية MCs خصوصا النوع MC-LR (Saqrane *et al.*, 2009) ، كذلك بينت دراسة (Abe *et al.* , 1996) ، على الأوراق الفلقية لنبات الفاصولياء *Phaseolus vulgaris* إن تعرض النبات لتراكيز واطئة من السموم الكبدية قد سبب تحطيمها في أنظمة التمثيل الضوئي من ثم تثبط عملية البناء الضوئي .

كما اوضحت بعض الدراسات ان السموم الكبدية التي تنتجها الطحالب الخضر-المزرقه والمعروفة بتأثيراتها في عدد من الفعاليات داخل الأنسجة النباتية، ان وجودها في المياه المستخدمة لري بعض نباتات المحاصيل الزراعية قد يكون ذا تأثير سلبي كبير في نمو تلك النباتات وتطورها ، إذ كشف عن تلك السموم في أنسجة النباتات المعرضة لها وان الإقبال على تلك النباتات التي تستخدم غذاء قد يكون له انعكاسات كبيرة على صحة الإنسان بسبب تراكم السموم فيها ويوجد الان الكثير من المعلومات حول تأثير السموم الكبدية في الحيوانات البرية والمائية ولكن المعلومات المتوفرة حول آثارها في النباتات ما تزال نادرة (Dawson,1998) .

ذكر (O'Neil *et al.* , 2012) في دراسته انه من المتوقع أن تتفاقم مشكلة زيادة وفرة سموم الطحالب الخضر-المزرقه اساسا بسبب عمليتين متواصلتين هما تغير المناخ والإغناء البشري للبيئات المائية بالملوثات . وكذلك ذكر (Carmichael and Boyer, 2016) في دراسته ان مياه الري التي تأتي من مصادر حاوية ازدهارات الطحالب الخضر-المزرقه او سمومها ، مثل

خزانات المياه التي شيدت لأغراض زراعية لا تخضع لأي علاج أو سيطرة على سموم الطحالب الخضراء-المزرقة MCs زيادة على الآثار الضارة في نمو النباتات قد يؤدي التراكم الأحيائي لتلك السموم في الأنسجة النباتية الصالحة للغذاء إلى تلوث السلسلة الغذائية ما يؤدي إلى مخاطر كبيرة على صحة الإنسان .

1-2-5 : تأثير السموم الكبدية MCs على النباتات المائية

تعد دراسة (Yamasaki, 1993) الدراسة الأولى التي أجريت حول آثار ازدهار الطحالب الخضراء المزرقة في النباتات المائية وكانت على نبات القصب نوع *Phragmites australis* في بحيرة عالية التغذية وسط اليابان ، إذ أظهرت النباتات التي تقع ضمن حدود الازدهار الطحلي انخفاضاً معنوياً في طول الساق و الوزن الرطب مقارنةً بنوع النبات نفسه الذي يقع خارج حدود ازدهار الطحالب الخضراء المزرقة . كذلك بينت دراسة (Pflugmacher 2002) أن السموم الكبدية Microcystin تعمل على تثبيط نشاط أنزيم Glutathione S-transferase وقلة كفاءة عملية البناء الضوئي من خلال إضرارها لصبغات التركيب الضوئي فضلاً عن انخفاض كمية الأوكسجين المتحررة والنمو وبينت أن تركيز السموم الكبدية نوع MC-LR ما بين (0.1 - 5) مايكروغرام/لتر كافٍ لتثبيط النمو في نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* ، إذ أن التعرض لذلك النوع من المايكروسستينات بتركيز أعلى من 5 مايكروغرام / لتر ولمدة 24 ساعة أدى إلى موت النباتات في حين أن التعرض لتركيز أقل من 5 مايكروغرام / لتر سبب انخفاضاً واضحاً في نمو ذلك النبات .

بينت دراسة (Pietsch et al., 2001) أن تعرض نبات الشمبلان مثل النوع *Ceratophyllum demersum* لخليط من مستخلص السموم الكبدية بتركيز 0.25 مايكروغرام / لتر أدى إلى انخفاض واضح تحرير الأوكسجين من عملية البناء الضوئي ، في حين أن تثبيطاً قليلاً جداً حدث عند التعرض للسم الكبدية النقي نوع MC-LR فقط وقد ذكر (Saqrane et al., 2007) في دراسته أن تعرض نبات عدس الماء (لمنة محدبة) نوع *Lemna gibba* للسموم الكبدية أدى إلى تأثيرات سلبية في النمو واعتمدت تلك التأثيرات بشكل كبير على مقدار تركيز السموم الكبدية ومدة التعرض إضافة إلى أنها سببت انخفاضاً في محتوى الكلوروفيل a و b في أوراق النبات إلى حد كبير إذ وصل إلى نسبة 65 % عند التعرض لتركيز 0.3 مايكروغرام / لتر من السموم الكبدية MCs .

6-2-1 : التراكم الحيوي للسموم الكبدية MCs في النباتات والطحالب الخضراء

هنالك العديد من البحيرات وخزانات المياه في جميع أنحاء العالم تعاني ظاهرة الأثرء الغذائي مما يعزز من نمو الطحالب الخضراء- المزرقمة وازدهارها والتي بدورها تهدد صحة الإنسان (Fadel et al., 2014) ، ومثال على ذلك المشكلات الاقتصادية التي سببتها مياه بحيرة الكرعون الملوثة بالطحالب الخضراء-المزرقمة التي يستخدمها المزارعون في لبنان لغرض ري المحاصيل الزراعية (Slim et al., 2014) .

ان السموم التي تعقب ازدهارات الطحالب الخضراء المزرقمة من الممكن ان تمتصها جذور النباتات وتنقل من خلال السيقان لتتراكم في مختلف انسجة النباتات ، اذ ذكرت العديد من الدراسات حول امكانية تراكم سموم الطحالب الخضراء- المزرقمة في انسجة بعض النباتات مثل الطمطة (El Khalloufi et al., 2012) والخس (Crush et al., 2008) والذرة الصفراء (Saqrane et al., 2009 ; El-Sheekh et al., 2013) و البازلاء والقمح والعدس (Saqrane et al., 2009) والبرسيم (Crush et al., 2008) و السلجم (Crush et al., 2008 ; 2004) والرز (Chen et al., 2004) والبروكلي والخردل (Chen et al., 2004 ; 2008) وسيقان اشجار التفاح (Järvenpää 2007) . وان تراكم تلك السموم في الأنسجة النباتية قد يؤدي الى مخاطر صحية خطيرة على الانسان في حالة وصولها اليه عن طريق السلسلة الغذائية (Chong et al., 2002) ، اذ أشارت العديد من الدراسات إلى قابلية السموم الطحلبية على التراكم الحيوي في الكائنات الحية المائية وهذا ممكن ان يزيد من مخاطر يتعرض لها الحيوان الاعلى منها في السلسلة الغذائية (Sipia et al., 2001) .

سلطت دراسة Pflugmacher et al., (2001) الضوء حول احتمالية امتصاص سموم الطحالب الخضراء المزرقمة من النباتات المائية ولاسيما نبات القصب *Phragmites australis* اذ اظهرت الدراسة توزيع واضح للسموم الكبدية MCs وخصوصا النوع MC-LR في مختلف اجزاء النبات بعد التعرض لتركيز 0.5 مايكروغرام \ لتر من تلك السموم وظهر ان اعلى امتصاص للسموم وجد في السيقان ثم الجذور ، كما بينت دراسة Mitrovic et al., (2005) على نبات عدس الماء *Lemna minor* ان تراكم المايكروستين نوع MC-LR بلغ 0.288 نانوغرام \ مليغرام من الوزن الرطب للنبات بعد خمسة ايام من التعرض لذلك السم بتركيز 20 مايكروغرام \ لتر وبمعدل تراكمي بلغ 0.058 نانوغرام / مليغرام في اليوم الواحد . وفي دراسة على نبات كستناء الماء *Trapa natans* التي جمعت من بحيرة تاي Lake Tai في الصين وجد ان

المايكروسستينات قد تراكمت فيها الى مستويات عالية وصلت الى 7.02 نانوغرام \غرام (Xiao et al., 2009a).

ان الدراسات حول احتمالية تراكم سموم الطحالب الخضراء-المزرقة في خلايا الطحالب الخضراء نادرة جدا في حالة تعرضها لتلك السموم ، اذ بينت دراسة (Mitrovic et al., 2005) ان هنالك تراكما للمايكروسستينات وخصوصا النوع MC-LR في الطحلب الاخضر الخيطي *Chladophora fracta* وبتركيز بلغ 0.042 نانوغرام / مليغرام من الوزن الرطب للطحلب خلال خمسة ايام من بدء التجربة وبمعدل تراكم 0.0084 نانوغرام \ ملغرام في اليوم الواحد وكذلك دراسة (Mohamed (2008) التي اوضحت أن كميات قليلة من المايكروسستينات كشف عنها في خلايا الطحلب الاخضر *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus quadricauda* خلال أول ثلاثة أيام فقط من التعرض لتلك للسموم الطحلبية .

7-2-1 : تأثير السموم الكبدية MCs على الانسان

ان تعرض جسم الانسان لتراكيز قليلة من السموم الكبدية Microcystins يؤدي الى ظهور اعراض تتمثل بالتهاب الكبد وتضخمه والتهاب الكلى والأمعاء و ضعف الشهية وفقدانها والصداع وآلام المعدة وشحوب الأغشية المخاطية والتقيؤ والنزيف البولي وبرودة الأطراف والإسهال (Carmichael, 1992 , 1994, 1997, 2001; Al-Sultan et al,2015) . اما عند التعرض لمستويات مرتفعة من السموم وفي غضون ساعات قليلة من التعرض يمكن ان يحدث الموت بسبب نزيف داخل الكبد ونقص حاد في الدم (Carmichael and Falconer, 1993; Carmichael, 1992 , 1994, 1997, 2001) .

شخصت الكثير من الحالات المتعلقة بالتعرض للسموم الكبدية Hepatotoxins من خلال شرب المياه الملوثة بالسموم بصورة مباشرة أو من خلال الالعب المائية الترفيهية كالسباحة والتجديف والحالة الأولى تعود الى تقارير في عام 1844 في بريطانيا اذ كانت هنالك امرأة تعاني من ألما شديدا في البطن وعند إجراء الفحوصات والكشف عنها في احدى مستشفيات لندن وجد ان السبب يعود الى وجود الطحلب الأخضر المزرق *Oscillatoria Sp.* في المستقيم (Zaccaroni and Scaravelli, 2008) . وفي عام 1974 ظهرت أعراض تمثلت بالقشعريرة والحمى وآلم عضلي والغثيان والتقيؤ وانخفاض ضغط الدم لدى 23 مريضا من سكان مدينة واشنطن في الولايات المتحدة الأمريكية اذ كشف عن مستويات عالية من السموم في مياه الشرب بالتزامن مع وجود الطحالب الخضراء المزرقة في تلك المياه (Hindman et al., 1975) .

8-2-1 : تأثير السموم الكبدية على الحيوانات

ان أول تسجيل لظاهرة إنتاج السموم من الطحالب الخضر المزرقة يعود الى العام 1878 للباحث Francis الذي اشار الى حدوث حالات تسمم عن طريق شرب مياه من بحيرة Alexandrina في استراليا حاوية الطحلب الاخضر المزرق *Nodularia spumigena* اذ سجلت خسائر كبيرة في الأغنام والخيول والخنزير والكلاب (Carmichael , 1994) .

وقد اشار بعض الباحثين انه قبل أكثر من مئة عام حدثت حالات هلاك لكثير من الحيوانات ولاسيما الطيور والاسماك متزامنة وظهور ازدهارات بعض أنواع الطحالب الخضر- المزرقة التابعة لجنسي *Oscillatoria* و *Microcystis* (Chorus and Bartram, 1999 ; Yu , 1995) فالكثير من تلك الحيوانات عرضة لشرب المياه الملوثة بالخلايا الطحلبية السامة أو عن طريق التغذية عليها أو على الهائمات الحيوانية Zooplankton التي سبق أن تغذت على تلك الطحالب السامة (Ibelings and Chorus , 2007 ; Humbert et al., 2001) وتعد الطحالب الخضر-المزرق من أهم المجاميع الطحلبية المسببة لسمية المياه العذبة (Codd et al., 2005) و(الشاهين ، 2002) .

9-2-1 : تأثير السموم الكبدية MCs على الهائمات الحيوانية

تعد الهائمات الحيوانية مصدر الغذاء الاوول للعديد من كائنات السلسلة الغذائية العليا في البيئة المائية وأن لسموم الطحالب الخضر- المزرقة تأثيراً مباشراً على كثافة و وجود تلك الهائمات ومن ثم فأنها تختزل مستوى مهما من مستويات النظام البيئي ضمن البيئة المائية (Ger, 2014) وان الحيوانات التي تقطن البيئة المائية ممكن أن تأخذ سموم الطحالب الخضر-المزرق وتراكمها عبر طريقين رئيسيين هما ، اخذ السموم المذابة عن طريق الجلد أو ابتلاعها عن طريق تناولها غذاء مثل متفرعة اللوامس الدافنيا *Daphnia.sp* والرخويات (المحار) *Mussels* وكذلك الهائمات الحيوانية التي تتغذى مباشرة على الطحالب الخضر المزرقة السامة بوساطة التغذية المرشحة Filter feeding (Kurmayer, 2001; Pires et al., 2004; Rohrlack et al., 2005) ، اذ شخّصت تلك السموم في مستويات غذائية أعلى وربما قد وصلت إلى تلك الكائنات الحية من خلال النقل المتجه Vectorial transport عبر الشبكة الغذائية وهو مفهوم معروف في البيئة البحرية (Tester et al., 2000) .

10-2-1:التأثيرات النسيجية والوظيفية للسموم الكبدية MCs في الكائنات الحية

أشارت الدراسات الى وجود علاقة بين السموم المنتجة من الطحالب والعديد من التغيرات النسيجية المرضية التي تصيب أنسجة الكائنات الحية عندما تكون بتماس مع تلك السموم سواء كانت على مستوى التجارب المختبرية ام البيئية ، اذ لوحظ في صيف عام 2011 تسمم أعداد من الكلاب وذلك نتيجة ازدهار طحلب المياه العذبة *M. aeruginosa* المنتج للسموم في بحيرة ميلفورد بولاية كنساس الأمريكية إذ شخضت السموم الكبدية MCs في البحيرة وتمثلت تلك التأثيرات السامة بتجلط الدم وفشل الكبد وتنخر حاد فيه ونزف واضح مع فقدان كامل للخلايا الكبدية الحية في معظم فصيصات الكبد وتنخر في خلايا النسيج الظهاري للنبيبات الكلوية وأختفاء الأنوية في الخلايا أو تكون ممزقة Karyorrhexis التي فسرت على انها تنخر تجلطي حاد Acute coagulative necrosis والتهاب ونزيف واسع في الطبقة المصلية Serosa للمعدة والأمعاء و نزيف حاد في المساريق mesentery المحيطة بالبنكرياس والأغشية المخاطية للرحم والحجاب الحاجز Diaphragm وعضلة القلب وكيس التامور وورم دموي Hematoma في العقيدات الكروية في الطحال (Merwel et al.,2012) .

وبينت دراسة الحلفي (2007) التأثير الكبير للمايكروستيتينات المستخلصة من طحلب الاخضر المزرق *Microcystis aeruginosa* في أنسجة الفئران المعاملة وقد شمل التأثير عدة أجزاء في الجسم إذ ظهرت حالات تضخم Hypertrophy وتورم في الكبد وتحلل سايتوبلازم الخلايا الكبدية وتنخرها واحتقان الأوردة كما لوحظ موت الخلايا بعملية الموت الخلوي المبرمج Apoptosis أما الطحال فبدا ذا مظهر مفكك الخلايا كما لوحظ اختلال في توزيع الخلايا اللمفية ونزف واحتقان في النسيج اللمفاوي الظهاري , أما الكلية فظهرت بها حالات انكماش وتنخر الكبيبات و احتقان بعض النبيبات وتطلها ولوحظ أن الرئة تميزت بتجمع الخلايا اللمفية بشكل كبير حول القصيبات وداخلها وحول الأوردة زيادة على حالات فرط التنسج Hyperplasia .

وأظهرت دراسة (2011) Al-Ali et al., ان الطحلب السام *Nostoc muscorum* له تأثيرات نسيجية مرضية في يافعات أسماك الكارب العشبي بعد تغذية الاخيرة عليه بصورة مباشرة , اذ كان للطحلب تأثير سمي في أعضاء الأسماك التي تمثلت بالغلاصم والأمعاء والكبد والكلية اذ تركزت في منطقة الغلاصم على خلايا النسيج الظهاري للصفائح الغلصمية الثانوية وشمل كل من شكلها وتركيبها أما في الأمعاء فقد امتدت التغيرات في المدة الأخيرة من التجربة لتشمل معظم طبقات جدار الأمعاء وكانت التغيرات المرضية النسيجية في كلى الأسماك أشد مما ظهرت عليه في منطقة الكبد .

وتناولت دراسة (Athbi et al., 2013) عزل الطحلب الاخضر- المزرق *Lyngbya martensiana* وتشخيصه من نهر كرامة علي وشط العرب في محافظة البصرة وتشخيصه وتنقيته وإكثاره ثم دراسة التأثيرات السمية للطحلب على كبد سمكة سيفيه الذنب *Xiphophorus helleri* وغلصمها وأمعانها وكلاها وأجنحتها ، ودراسة الطائي (2014) التي تناولت استخلاص المركبات السامة من الطحلب الأخضر المزرق *Lyngbya aeruginosa Menegh.ex Albino mice mus* ودراسة تأثيراته النسجية المرضية على ذكور الفئران المختبرية *mus musculus* .

11-2-1 : العوامل المؤثرة في إنتاج السموم الكبدية MCs

تشير الدراسات إلى ان حجم الخلية الطحلبية يتغير مع التغيرات البيئية الفيزيائية وبذلك سوف تختلف كمية السم إلى حد ما داخل الخلية إذ تتفاعل العديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية لتعزيز زيادة السمية لأنواع الطحالب الخضراء-المزرق (Flynn, 2002) . إن تلك العوامل البيئية والمتمثلة بدرجة الحرارة والضوء والرغم الهيدروجيني والمغذيات لا تؤثر في عملية التمثيل الضوئي والنمو للطحالب فقط بل تؤثر في النشاطات الايضية للخلية و تكوينها أيضا (Wood et al.,2017) . إذ ان قلة الضوء أو حجبها يؤدي إلى انخفاض معدل نمو الطحالب وهذا بدوره يؤدي الى قلة محتواها من السموم مقارنة مع الخلايا الطحلبية التي تنمو بمعدل إضاءة أعلى ، إذ أظهرت دراسة كل من (Rapala et al ., 1997 ؛ الركابي ، 2002) ان لدرجة الحرارة تأثيرا مهما في السمية إذ ان الدرجة المثلى للحصول على أعلى تراكيز للمايكروسستينات هي 25°م من طحلي *Microcystis sp. , Anabaena sp.* .

وبينت دراسة (Lürling et al., 2017) ايضا أن الاثراء الغذائي المصاحب لارتفاع درجة الحرارة يزيد من الكتلة الحيوية للطحالب الخضراء المزرق من 8 الى 26 مرة وبذلك يزداد تركيز السموم في المياه 24 مرة اكثر من نسبتها الطبيعية في البيئة .

اما دراسة (Wenmin et al.,2014) أظهرت أن اضافة اليوريا بتركيز 2.5 و 12.5 و 250 مليغرام / لتر فإن الطحلب *M. aeruginosa* يستخدمه كمصدر للنيتروجين إذ سجلت الدراسة ارتفاعا في معدل كل من البناء الضوئي للطحلب وإنتاج السموم الكبدية بزيادة تركيز النيتروجين .

اما الرقم الهيدروجيني pH فانه يؤدي دورا مهما من خلال تأثيره في كمية السم المنتج إذ ان اكبر كمية سم تنتج عندما يصل الرقم الهيدروجيني الى pH = 9 (Vezie et al ., 1998) .

12-2-1: طرق الكشف عن السموم الكبدية MCs

هناك ثلاث طرائق اختبار معتمد عليها للكشف عن وجود السموم وتقدير تراكيزها وتتضمن : الاختبار الكيميائي Chemical assay والاختبار الحيوي Bioassay والاختبار المناعي Immunoassay يقوم الاختبار الكيميائي على تقنيات يسيرة مثل الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography (TLC) أو تقنيات التحليل الآلي مثل جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) High Performance Liquid Chromatography وتقنية الترحيل الكهربائي الدقيقة (CE) Capillary Electrophoresis وجهاز كروماتوغرافيا الغاز- طيف الكتلة (GC-mass) اما الاختبار الحيوي فيستعمل فيه العديد من الأحياء مثل الفئران والجرذان والأسماك والحشرات والطيور والجراثيم والهائمات الحيوانية والنباتات والطحالب ويعد هذا الاختبار جيدا من ناحية سهولة تقنيته وقلة كلفته والحصول على النتائج في وقت قصير لكنه ليس باستطاعته تحسس التراكيز الواطئة من السموم ، إما الاختبار المناعي فهو من الاختبارات الحساسة جدا التي باستطاعتها تحسس كميات واطئة من السموم تصل الى اقل من 1 مايكروغرام / لتر او اقل من ذلك ويشمل اختبار المعايير الامتصاصية المرتبط بالإنزيم Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) واختبار تثبيط البروتين فوسفاتيز (PPIA) Protein Phosphatase Inhibition assay (Bouaiacha et al., 1996; Harada et al., 1998).

13-2-1: اهمية نبات الطماطة *Lycopersicon spp.*

تعد الطماطة واحدة من أهم الخضّر والمنتجات المزروعة في العالم ، وهي تعود الى الجنس *Lycopersicon* عائلة Solanaceae وموطنها الأصلي هو أمريكا اللاتينية (Benton, 1998). الاسم العلمي للطماطم هو *Lycopersicon esculentum* ولها استخدامات مختلفة فهي تؤكل طازجة او مطبوخة او لإعداد السلطة وعصير الطماطة الذي يكاد يكون استخدامه هو الاكثر شيوعا في العراق (FAO , 2005) . وتتميز ثمار الطماطة بقيمتها الغذائية العالية اذ تعد مفيدة للصحة وخصوصا عند تزايد الامراض المزمنة Chronic diseases (Leonardi, et al., 2000) ، اذ ان اللايكوبين والكاروتين في الثمار لها القدرة على التغلب على انواع مختلفة من السرطانات وتؤدي الى التخلص من الجذور الحرة ما ينتج منها تخفيض خطر السرطانات (Nguyen and Schwartz , 1999) . وتأتي ثمار الطماطة في المرتبة الاولى من بين محاصيل الخضر من حيث المساحة المزروعة سنويا والانتاج والاستهلاك (حسن، 1998) . تبلغ

المساحة المزروعة لمحصول الطماطة في العراق لسنة 2015 (92000) دونم وبانتاج كلي بلغ
388700 طن وبمعدل انتاج 4.225 طن / دونم (الجهاز المركزي للإحصاء 2016) .

الفصل الثاني

مواد العمل و طرائقه

Materials and Methods

2 : مواد العمل وطرائقه Materials and Methods

2 - 1 : تنظيف الزجاجيات وتعقيمها

غسلت جميع الزجاجيات المستعملة في هذه الدراسة التي تمثلت بأطباق بتري ودوارق بأحجام مختلفة ومصاصات وانابيب اختبار بالماء الجاري ثم بالمنظفات العادية وعقمت بعدها بالكحول الميثانولي بتركيز 70% ، غسلت بعد ذلك بماء الحنفية الجاري Tap water ثم بالماء المقطر Distal water عدة مرات وعقمت باستعمال فرن كهربائي نوع TEL- Unitemp في درجة حرارة 150 °م لمدة ساعتين .

2 - 2 : تحضير الوسط الزراعي السائل وتعقيمه

استعمل الوسط الزراعي BG-11 من انتاج شركة Phytotechnology Laboratories صورة (1) لتنمية العزلات الطحلبية واكثرها ، اذ وزن 1.68 غرام من الوسط الزراعي الصلب واذيب في لتر من الماء المقطر ومن ثم عقم الوسط الزراعي بعد تحضيره باستعمال الموعدة الكهربائية Autoclave نوع TLE – Danger 300 في درجة حرارة 121 °م وضغط 15 باوند /أنج² لمدة 20 دقيقة ، ترك بعدها الوسط الزراعي لكي يبرد في درجة حرارة المختبر.



صورة : (1) الوسط الزراعي الجاهز BG-11 .

2 - 3 : تحضير الوسط الزراعي الصلب و تعقيمه

حضر الوسط الزراعي الصلب Nutrient Agar بإذابة 2 غرام من مادة الاكار في 100 مليلتر من الوسط الزراعي السائل BG-11 المحضر في الفقرة في اعلاه (2-2) وعقم في جهاز الموصل الكهربائي نوع TLE – Danger 300 وتحت درجة حرارة 121 °م وضغط 15 باوند /أنج² لمدة 20 دقيقة ، صب الوسط الزراعي قبل أن يتصلب في أطباق بتري معقمة بقطر 9 سنتيمتر و ترك ليتصلب و حفظت الأطباق في الثلاجة بوضع مقلوب الى حين الاستعمال في درجة حرارة - 8 °م .

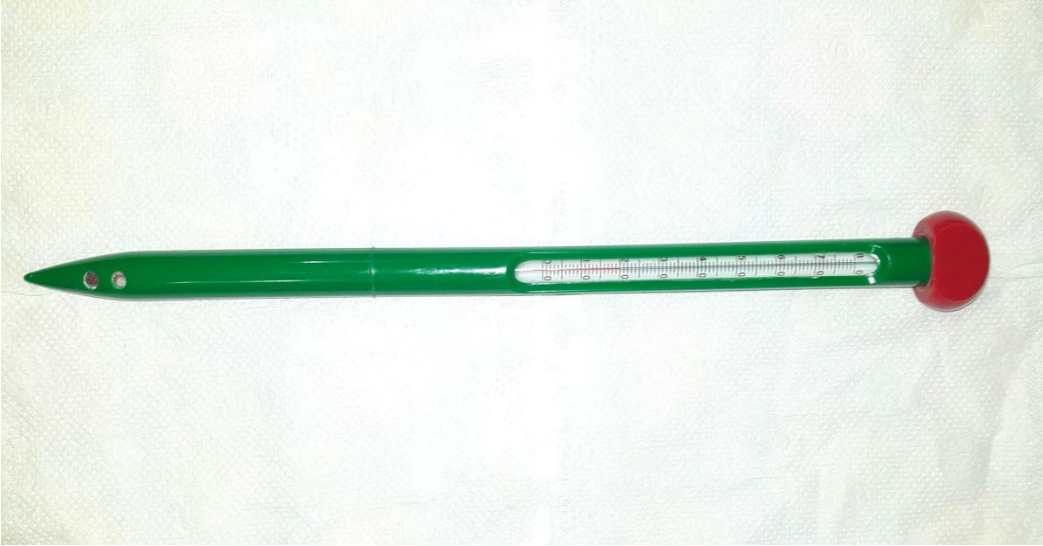
2 - 4 : جمع عينات الطحالب الخضر-المزرقه من التربة

جمعت عينات التربة الرطبة الحاوية على الطحالب النامية من منطقتين احدهما تمثلت ببساتين الدفاس التي تقع محاذية لنهر دجلة في قضاء العمارة / محافظة ميسان والثانية من ناحية كرمة علي في محافظة البصرة موقع جامعة البصرة ، اذ استعملت اكياس بلاستيكية أعدت لهذا الغرض واطباق بتري بلاستيكية لجمع العينات من التربة وذلك بقشط الطبقة السطحية للتربة الحاوية الطحالب على النامية بوساطة مجرفة صغيرة اعدت لهذا الغرض وعلى عمق 3 سنتيمتر من سطح التربة ، جلبت العينات مباشرة إلى المختبر للتحري عن الأنواع الطحلبية المراد عزلها و سجل كل من وقت جمع العينة وتاريخ الجمع و درجة حرارة الهواء والتربة واخذت عينة من التربة لغرض قياس درجة الحامضية والتوصيلية والملوحة لها كما موضح في جدول رقم (1)

2 - 5 : قياس الصفات الفيزيائية والكيميائية

2 - 5 - 1 : درجة حرارة الهواء والتربة

قيست درجة حرارة الهواء حقليا باستعمال محرار زئبقي مدرج لأعشار الدرجة الى 100م اذ قيست درجة حرارة الهواء في الظل لمدة 5 دقائق ، اما التربة فقد قيست درجة حرارتها باستعمال محرار زئبقي Soil thermometer مدبب النهاية مدرج لأعشار الدرجة الى 80 م° صورة (2) بعد غرس المحرار في التربة الى عمق 5 سنتيمتر لمدة 5 دقائق ايضا الى حين ثبوت درجة الحرارة وعبر عن الناتج بالدرجة المثوية .



صورة (2) المحرار الزئبقي المدرج Soil thermometer والمستعمل في قياس درجة حرارة التربة .

2 - 5 - 2 : الأس الهيدروجيني pH

قيس الأس الهيدروجيني لراشح التربة باستخدام جهاز قياس الأس الهيدروجيني نوع CRNING-ion analyzer 250 بعد معايرته بالمحاليل القياسية .

2 - 5 - 3 : التوصيلية الكهربائية (EC) Electrical Conductivity

قيست التوصيلية الكهربائية باستخدام جهاز قياس التوصيل الكهربائي E.C. meter نوع E.C 3033XL وقدرت بوحدات ديسيمنز/متر.

2 - 5 - 4 : الملوحة

قدرت الملوحة من خلال قيم التوصيل الكهربائي على وفق طريقة (Mackereth et al ., 1978) ، إذ قيست الملوحة بدلالة التوصيلية الكهربائية وذلك باستعمال المعادلة الآتية: $S\% = EC * 0.640$ و عبر عنها بوحدات جزء بالألف (ppt) .

2-4-5-1 : طريقة عمل راشح التربة

1 - وزن 50 غرام من التربة المجففة و المنخولة بمنخل حجم فتحاته 2 ملليمتر و اضيف لها حجم قدره 50 مليلتر من الماء المقطر .

2 - مزج محلول التربة جيدا وذلك بوساطة الهزاز الميكانيكي Shaker لمدة نصف ساعة .

3 - رشح محلول التربة بوساطة ورق ترشيح Millpore filter paper حجم فتحاته (0.45) مايكرو وباستعمال دورق زجاجي سعة 100 مليلتر واجريت عليه بعد ذلك التحاليل المطلوبة التي تمثلت بقياس الملوحة والتوصيلية ودرجة الحموضة pH .

جدول (1) بعض العوامل البيئية التي قيست خلال مدة جمع العينات من التربة

المنطقة	وقت الجمع	درجة حرارة التربة (°م)	الاس الهيدروجيني	درجة حرارة الهواء (°م)	الملوحة غم / لتر ppt	التوصيلية ديسيمنز / متر
بساتين الدفاس	2/10/2016 10:48 صباحا	20	7.2	30	2.3	3.7
الكرمة	28/10/2016 11:33 صباحا	18	7.6	27	3.9	6.1

2 - 6 : عزل الطحالب الخضراء-المزرققة من التربة

بعد أن جلبت العينات الى المختبر لغرض الحصول على العزلات الطحلبية اخذ 1 غرام من عينة التربة ومزج مع 10 مل ماء مقطر ووضع في انبوبة اختبار ثم ادخلت في جهاز الطرد المركزي Centrifuge نوع TLE-Danger بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق وبعد ذلك فصل الراشح عن الراسب وقشطت الطحالب من سطح الراسب واطيف عليها 10 مل من الماء المقطر الى الراسب بعدها أخذت عدة قطرات منه لغرض عمل شرائح زجاجية من كل عينة لتشخيص محتواها من الأنواع الطحلبية أذ فحصت باستخدام المجهر الضوئي نوع Olympus CX21 وتحت القوى X4 وX10 وX40 وX100 على الترتيب ، ثم أخذ بعد ذلك من كل عينة حجم 5 مليلتر وغسل عدة مرات بالماء المقطر باستخدام جهاز الطرد المركزي Centrifuge

نوع TLE-Danger بسرعة 3000 دورة / دقيقة و لمدة 10 دقائق لغرض التخلص من دقائق التربة والعوالق والشوائب وبعدها اخذ 1 مل ووضع في انبوبة اختبار واكمل الحجم الى 5 مل من الوسط الزراعي السائل وبواقع ثلاثة مكررات وتركت في كابينه الحضانة لمدة تراوحت (7 - 10) ايام بعدها اخذت الطحالب النامية على الجدران ، اعتمدت طريقتي التخفيف Dilution Method والتخطيط Streak Plate Method على الوسط الزراعي الصلب للحصول على العزلات وحيدة الطحالب Unialgal culture (Stein,1975) .

2 - 7 : تنقية العزلات

بعد الحصول على مزارع وحيدة الطحالب في الفقرة اعلاه استعملت طريقة (Weidman et al., (1964) للحصول على مزارع نقية Axenic culture لانواع الطحالب التي استزرعت ، إذ غسلت المزارع وحيدة الطحالب Unialgal cultures بالماء المقطر المعقم ثم أدخلت بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق ، أهمل الراشح وأعيد مزج الراسب مع الماء المقطر المعقم مرة ثانية وكررت هذه العملية 10 مرات . وللتأكد من نقاوة العزلات أتبعنا الطريقة الموضحة في (Stien , 1975) والمتضمنة فحص العزلات بعد زراعتها على وسط الأكار المغذي Nutrient agar وحضنت في درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم وجود نمو البكتيريا و لمدة 7 ايام للتأكد من عدم نمو الفطريات .

2 - 8 : تصنيف الطحالب المعزولة

اعتمدت المصادر الاتية لغرض تشخيص الطحالب في هذه الدراسة (Desikachary,1959 ; Prescott,1975) .

2 - 9 : قياس منحنى النمو

اتبعت طريقة Stein (1975) في قياس منحنى النمو بدلالة الوزن الجاف للطحلبين *Aphanothece clathrata* و *Microcystis flos-aque* . أذ ملئت الدوارق الزجاجية سعة 2 لتر بالوسط الزراعي بحوالي 1600 مليلتر من الوسط الزراعي السائل BG-11 أي بنسبة 80 % من حجم الدورق ولقحت بحجم 40 مليلتر أي بنسبة 2.5 % حجم/حجم من المزارع النقية لكلا النوعين على حده وحضنت في درجة حرارة 25 ± 2 م° وشدة إضاءة تراوحت ما بين (130 - 150) مايكرو آينشتاين / م² / ثا وبواقع 16 : 8 ساعة ضوء/ ظلام على التوالي وتركت

لتنمو ، رسم منحني النمو للعزلات الطحلبية المنقاة خلال مدة زمنية امتدت لشهرين (60 يوم) وذلك بقياس الوزن الجاف لكل طحلب كل 48 ساعة باستخدام الميزان الحساس نوع Kern ABS وذلك بحصد حجم قدره 50 مليلتر من المزرعة باستعمال جهاز الطرد المركزي ووضع الراسب (الوزن الرطب للطحلب) على ورقة ترشيح معلومة الوزن ثم نقلت الورقة ومحتوياتها الى فرن كهربائي في درجة حرارة 40 م° ولمدة 24 ساعة ثم وزنت بميزان حساس بعد إهمال وزن الورقة وهي فارغة .

اما الطحلب الاخضر- المزرقة *Oscillatoria pseudogeminata* فقد قيس منحني النمو له ايضا من خلال الوزن الجاف ولكن بعد زراعته في عدد من أنابيب الاختبار في وقت واحد وبواقع 60 انبوبة اختبار حجم 60 مليلتر وضع في كل أنبوبة 19 مليلتر من الوسط الزراعي BG-11 واضيف عليه واحد مليلتر من المزرعة الطحلبية صورة (3) ، حضنت الأنابيب بعدها في كابينة النمو في ظروف الزرع المذكورة سابقا وسجلت القراءات كل 48 ساعة ابتداء من بداية التجربة اذ رشحت المزارع بوساطة جهاز الترشيح نوع Vacuum Pressure Station المصنع في شركة Barnant وباستعمال أوراق الترشيح Whatman (GF/A) بقطر 7 سنتيمتر و تركت لتجفف باستخدام تيار هوائي جاف ثم نقلت ورقة الترشيح ومحتوياتها الى فرن كهربائي في درجة حرارة 40 م° ولمدة 24 ساعة بعدها قيس الوزن الجاف للكتلة المجففة للطحلب وذلك بعد اهمال وزن ورقة الترشيح .

حسب ثابت معدل النمو وزمن التضاعف بالاعتماد على طريقتي (1965) Fogg و (1975) Stein وعلى النحو الاتي :

$$K = \log N_e - \log N_o / T$$

أذ أن :

K : ثابت النمو

N_e : القراءة اللاحقة بعد 48 ساعة

N_o : القراءة الأولى عند بدء التجربة

T : الزمن كل 48 ساعة

أما زمن تضاعف الجيل (G) فقد حسب من المعادلة الاتية : $G = 0.301 / K$



صورة (3) نمو الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata*

بواسطة انابيب الاختبار Test tube .

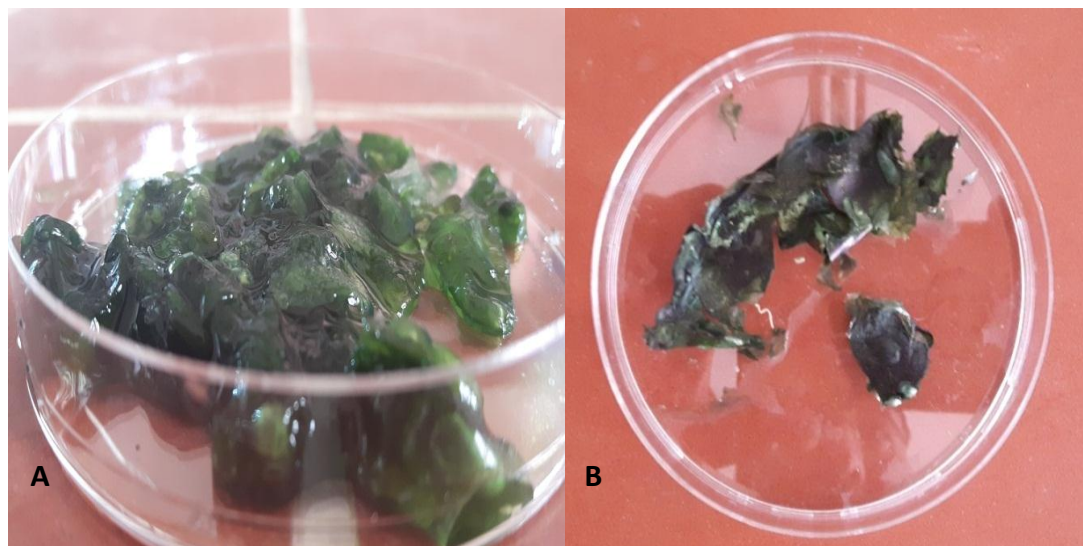
2 - 10 : تنمية مزارع الطحالب النقية واكثارها

نميت العزلات النقية لانواع الطحالب الخضري- المزرقه وتم اكثارها في دوارق زجاجية معقمة بأحجام مختلفة ، اذ ملئت بالوسط الزرعي BG-11 بنسبة 80 % بعدها لقت الأوساط الزرعية بزيادة 1 % حجم / حجم من المزارع النقية بعد وصولها الى منتصف الطور اللوغاريتمي Logarithmic phase ، وضعت المزارع الفتية بعد ذلك في كابينه الزرع تحت شدة إضاءة تراوحت (130 – 150) مايكرو آينشتاين / م² / ثا بواقع 16 : 8 ساعة ضوء/ ظلام على التوالي ، اذ قيست شدة الإضاءة باستعمال جهاز قياس شدة الإضاءة نوع Lux - meter PU 150 في درجة حرارة 25 ± 2 ° .

2 - 11 : الحصاد و تحضير الكتلة الحية للمزارع النقية للطحالب

حصدت المزارع الطحلبية السائلة بعد اكثارها وعند دخولها في طور الاستقرار Stationary phase باستخدام جهاز الطرد المركزي نوع Hermle من انتاج شركة Labnet الالمانية و بسرعة 6000 دورة / دقيقة و لمدة 10 دقائق للطحالبين *Aphanothece clathrata* و *Microcystis flos-aque* وكذلك باستخدام جهاز الترشيح Vacuum Pressure للطحلب *Oscillatoria pseudogeminata* اذ جمعت الكتلة الحية للطحالب المحصودة كلا على حده

في أطباق بتري معقمة وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة -8 م° ، جفدت العينات بعد ذلك بجهاز التجفيد Freezing Drier نوع (18) LAB ConCO ، ثم طحنت الكتلة المجفدة باستخدام الهاون الخزفي وحفظت بعدها في قنار زجاجية نظيفة ومعقمة محكمة الغلق في الثلاجة بدرجة حرارة -8 م° الى حين استخدامها لاحقا في التجارب المختبرية صورة (4) .



صورة (4) الكتلة الحية الرطبة A والمجفدة B للطحلب الاخضر – المزرقي *O. pseudogeminata* المعزول والمنقى خلال هذه الدراسة .

2 - 12 : أستخلاص السموم

اتبعت طريقة (Luukkainen et al., (1993) في استخلاص السموم الكبدية ، اذ أخذ وزن 50 مليغرام من الكتلة الحية المجفدة في الفقرة السابقة (2-11) ثم خلطت مع محلول الاستخلاص Methanol : n-Butanol : Water (MBW) بنسبة (15 : 1 : 4) مليلتر على التوالي في دوارق زجاجية حجم 100 مليلتر سدت فوهاتها بورق القصدير والقطن لمنع التبخر ، مزجت العينات جيدا بعد ذلك باستعمال جهاز Magnetic stirrer لمدة ساعة كاملة ، جمع الراشح بعد ذلك بواسطة الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق ، كررت العملية ثلاث مرات ، جمع الراشح الكلي وركز الى 5 مليلتر باستخدام تيار هوائي جاف .

2 - 13 : تنقية السموم الكبدية MCs

اتبعت طريقة (Namikoshi *et al.*, 1993) المحورة في تنقية السموم الكبدية باستعمال كروماتوغرافيا العمود Column chromatography فقد استخدم عمود زجاجي أبعاده 15×2 سم لغرض تنقية السموم الكبدية MCs ملئ بمادة السليكا جل ذات حجم حبيبات تتراوح من (100-200) مايكرو حملت العينة المستخلصة والمركزة في الفقرة السابقة (2-12) في عمود الفصل وغسلت بثلاثة مذيبات هي الماء المقطر الخالي من الأيونات، ميثانول 20% و ميثانول 80 % على التوالي بمعدل جريان (3 مليلتر / دقيقة) ، أهملت نواتج الفصل للمذيب الأول والثاني اعتمد على نواتج الفصل بالمحلول الثالث ، جفدت المادة الأخيرة وحفظت في درجة حرارة (- 8 م °) الى حين تشخيصها باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (Enzyme linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) لغرض تقدير تركيز السموم الكبدية نوعا وكما .

2 - 14 : تشخيص السموم الكبدية MCs

2-14-1 : التشخيص الكمي و النوعي للسموم الكبدية باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA – Kit)

شخصت السموم الكبدية Microcystins المستخلصة والمنقاة من الانواع الثلاثة من الطحالب الخضراء-المزرقة كماً و نوعاً باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم و اعتمد على عدة محاليل جاهزة ELSA- Kits المصنعة في شركة Abraxis صورة (5) واستعمل جهاز ELISA Reader نوع Biotek بالاعتماد على طريقة (Fischer *et al.*, 2001) وحسب الخطوات الموضحة في الفقرة الاتية .

2-14-1-1 طريقة العمل

1- اخذ حجم 100 مايكروليتر لكل من عينات السموم الكبدية المستخلصة والمنقاة من الطحالب قيد الدراسة ومحاليل السيطرة والمحاليل القياسية الاخرى واضيفت في حفر الاختبار بواقع مكررين لكل عينة .

2- اضيف 50 مايكروليتر من محلول Enzyme conjugate solution في الحفر Wells تباعا باستخدام ماصة دقيقة Micropipette .

3 - اضيف بعدها 50 مايكروليتر من محلول الأجسام المضادة Antibodies solution على كل الحفر تباعا باستخدام ماصة دقيقة Micropipette ثم غطيت بعد ذلك بوساطة اوراق القصدير ومزجت المحتويات عن طريق تحريك حامل الحفر (صفيحة الاختبار) في حركة دائرية باتجاه عقرب الساعة على المنضدة لمدة 30 ثانية مع الحرص على عدم تسرب محتوياتها الى خارج الحفر تركت الصفيحة لمدة 90 دقيقة في درجة حرارة الغرفة .

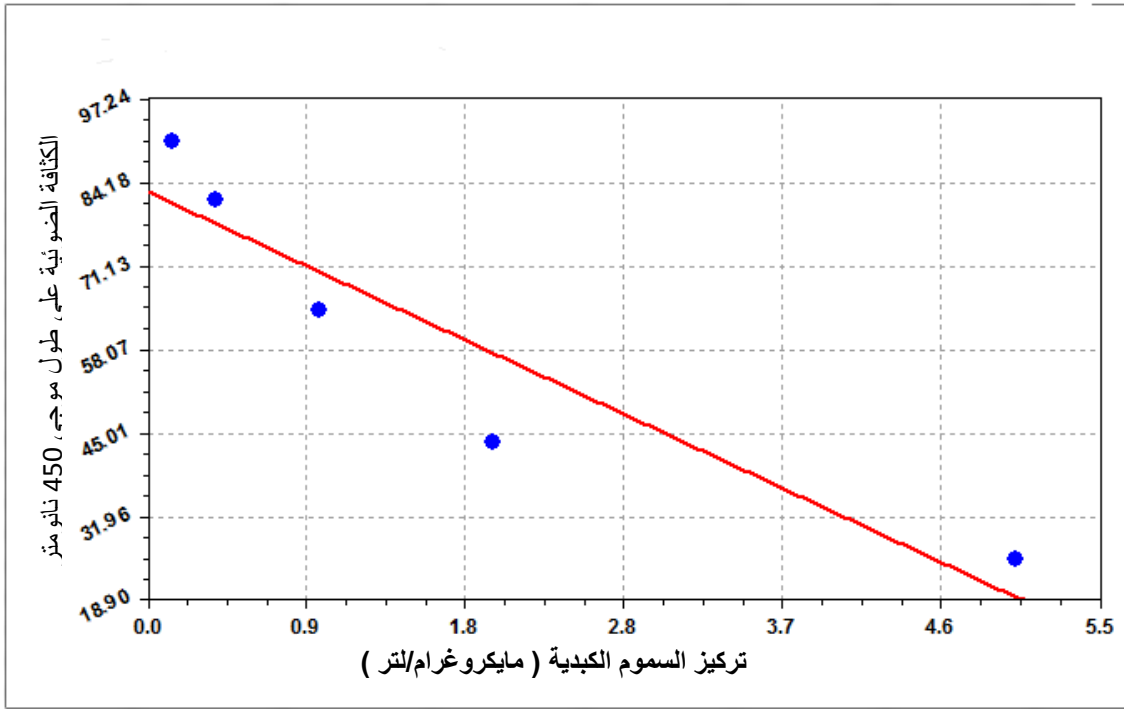
4- ازيل الغطاء وصبت محتويات الحفر في الحوض للتخلص منها ومن ثم غسلت الحفر ثلاث مرات باستخدام محلول الغسل Wash buffer بعد تخفيفه بنسبة 1:5 بالماء المقطر المعقم وجففت الحفر بوساطة المناشف الورقية .

5- أضيف 150 مايكروليتر من المحلول اللوني Substrate color solution على الحفر تباعا باستخدام ماصة دقيقة Micropipette ثم غطيت الحفر بوساطة القصدير ثم مزجت المحتويات عن طريق تحريك حامل الحفر (صفيحة الاختبار) في حركة دائرية باتجاه عقرب الساعة على المنضدة لمدة 30 ثانية . مع الحرص على عدم تسرب محتوياتها ايضا حضنت الصفيحة بعد ذلك لمدة 20-30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم لتجنب اشعة الشمس والاضاءة المباشرة .

6 - أضيف 100 مايكروليتر من محلول التوقف Stop solution بوساطة ماصة دقيقة Micropipette الذي يتكون من حامض الهيدروكلوريك المخفف .

7 - قُرأت الامتصاصية عند الطول الموجي 450 نانومتر باستخدام جهاز Microplate ELISA photometer بعد مرور 15 دقيقة من اضافة محلول التوقف .

8 - رُسم المنحنى القياسي لتراكيز السموم الكبدية القياسية ثم استخرجت تراكيز العينات المقاسة مقدره بوحدات مايكروغرام/لتر وذلك باستخدام برنامج Curve expert شكل (2) .



شكل (2) المنحنى القياسي لتراكيز السموم الكبدية باستخدام برنامج Curve . expert



صورة (5) المحاليل الجاهزة ELISA- Kits المستعملة في التقدير الكمي والنوعي للسموم الكبدية Microcysti والمصنعة في شركة Abraxis الامريكية .

15-2 : دراسة تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة من والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* في بذور نبات الطماطة

2 - 15 - 1 : تأثير السموم الكبدية MCs في انبات بذور نبات الطماطة

جهزت بذور نبات الطماطة نوع *Lycopersicon esculentum* صنف هدى *Hoda* هولندية المنشأ من شركة دبانة الزراعية في محافظة بغداد صورة (6) ، اذ عقت البذور بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم Sodium hypochlorite تركيز 5 % لمدة 5 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر بعد ذلك زرعت على ورق ترشيح Filter paper في أطباق بتري (12 طبق) نظيفة ومعقمة بقطر 9 سنتيمتر وبواقع 10 بذرات لكل طبق وقسمت إلى اربع مجاميع ، ثلاث منها عوملت بمستويات مختلفة من تراكيز السموم الكبدية المعزولة من الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata* (وذلك لأنه الطحلب الاكثر انتاجا للسموم الكبدية المستخلصة من الطحالب المعزولة والمنقاة قيد الدراسة) وتمثلت بالتراكيز 0.5 , 3 , 6 مايكروغرام / لتر، اذ حضر المحلول الخزين للسموم الكبدية Stock بوزن 0.35 ملغرام من الوزن الجاف للطحلب واستخلصت منه السموم الكبدية بتركيز 10.29 مايكروغرام/لتر وحضرت منه التراكيز الاخرى حسب قانون التخفيف، اذ استخدم تركيز 0.5 مايكروغرام / لتر وهو تركيز اقل من التراكيز المسموح بها عالميا بحسب تصنيف منظمة الصحة العالمية (WHO 1999) وكذلك استخدمت تراكيز اعلى من ذلك تمثلت بالتركيزين 3 و 6 مايكروغرام / لتر لمعرفة تأثير التراكيز الواطنة والعالية للسموم الكبدية في نمو النباتات ولاسيما نبات الطماطة واستخدمت تلك التراكيز بواقع ثلاثة مكررات (أطباق) لكل معاملة أما المجموعة الرابعة فتمثلت بمجموعة السيطرة Control التي عوملت بالماء المقطر، اذ اضيف 5 مليلتر على كل من التراكيز في اعلاه وغطيت الاطباق بأغطيتها الخاصة وحسبت نسبة الانبات يوميا لمدة سبعة ايام من تاريخ بدء التجربة وقيست نسبة الانبات وسرعته وطول الجذير والرويشة والوزن الرطب والجاف لهما صورة (7) .



صورة (6) غلاف بذور نبات الطماطة نوع *L. esculentum* صنف هجين هدى *Hoda*

2 - 15 - 2 : حساب نسبة الانبات (%)

حددت نسبة الانبات يوميا لمدة سبعة ايام من تاريخ بدء التجربة بالاعتماد على طريقة

Lee and Woolhouse (1969) وحسب المعادلة الاتية :

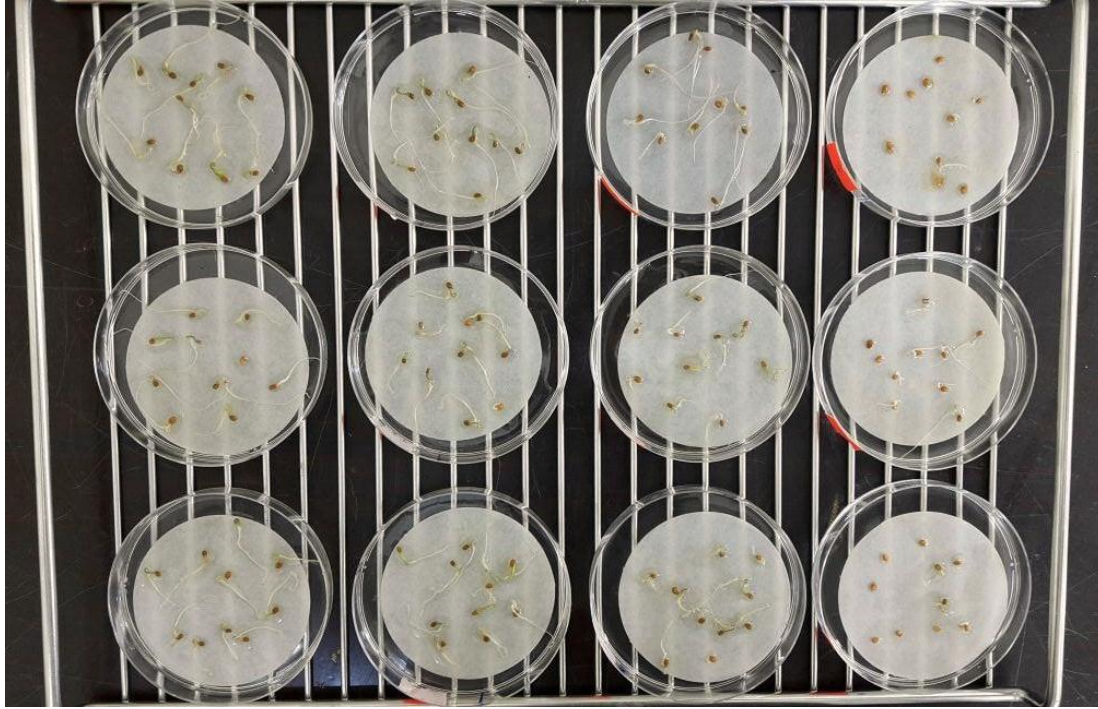
$$\text{نسبة الانبات} (\%) = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

2 - 15 - 3 : سرعة الإنبات (بذرة / يوم)

قيست سرعة الإنبات يوميا لمدة سبعة ايام من تاريخ بدء التجربة اعتمادا على طريقة

Camargo and Vanghan, (1973) وبحسب المعادلة الاتية :

$$\text{سرعة الانبات (بذرة / يوم)} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد الايام منذ بداية الزراعة}} .$$



Control

0.5 مايكروغرام/لتر

3 مايكروغرام/لتر

6 مايكروغرام/لتر

صورة (7) انبات بذور الطماطة في اطباق بتري قطر 9 سنتيمتر تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata*.

2 - 15 - 4 : طول الجذير والريشة

قيست اطوال الجذير و الريشة باستخدام مسطرة قياس مدرجة لأعشار السنتمتر في نهاية التجربة (اليوم السابع) وعبر عن الطول بوحدات السنتمتر .

2 - 15 - 5 : الوزن الرطب للجذير والريشة

سجل الوزن الرطب للجذير والريشة باستخدام الميزان الحساس نوع Kern ABS في نهاية التجربة (اليوم السابع) وعبر عن الوزن بوحدات المليغرام .

2 - 15 - 6 : الوزن الجاف للجذير والريشة

جففت عينات الجذير والريشة للمعاملات المختلفة في الفرن الكهربائي في درجة حرارة 65° م ولمدة 72 ساعة ، حددت اوزانها بعد وزنها بالميزان الحساس نوع Kern ABS واهمال ورق الترشيح المستخدم في قياس الوزن وعبر عن الناتج بوحدات المليغرام .

16-2 : تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-

المزرق *O. pseudogeminata* في المجموع الخضري والجذري لنبات الطماطة :

اجريت تجربة استزراع نبات الطماطة في مختبر الطحالب كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة البصرة للموسم الربيعي الاول 2017 في ظروف مختبرية مسيطر عليها ، جهزت بذور الطماطة *L. esculentum* Mill صنف هدى *Hoda* هولندية المنشأ من شركة دبانة الزراعية في بغداد .

اذ اختيرت ثلاثة تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* والتي تمثلت بالتراكيز (0.5 و 3 و 6) مايكروغرام / لتر لسقي نبات الطماطة دوريا وعلى مدى ريه كل ثلاثة ايام اعتمادا الى السعة الحقلية ولمدة 24 يوما بعد بلوغ النبات شهرين من العمر فضلا عن مجموعة السيطرة التي سقيت بالماء (RO) . Reverse Osmosis

زرعت البذور في اطباق فلينية تحتوي على 99 عينا قطر العين 4 سنتيمتر وبارتفاع 6 سنتيمتر ملئت بمادة البتموس وزرعت بذرة واحدة في كل عين بتاريخ 2017/3/10 ووضعت على حامل داخل المختبر . وبعد وصولها الى مرحلة البادرات نقلت وزرعت في سنادين بقطر 12.8 سنتيمتر وارتفاع 11 سنتيمتر تحوي تربة طينية رملية معقمة مع مادة البتموس Peat moss بمقدار 1:1 (500 غرام من المزيج) سممت الشتلات برشها باليوريا بتركيز 0.5 غرام / لتر عند عمر 16 و 23 يوماً من الزراعة، تم وقايتها من مرض ذبول الشتلات Damping off برشها بمبيد رادوميل جولد Ridomil Gold بتركيز 0.5 مليلتر/ لتر عند عمر 10 أيام من الزراعة تم وقايتها من الديدان القارضة من خلال رشها بمبيد ماتش Match بتركيز 0.4 مليلتر/ لتر عند عمر 19 يوماً من الزراعة . شملت التجربة أربع مجاميع كل مجموعة تحوي ثلاثة مكررات (كل مكرر يحوي ثلاث نباتات) ، ثلاث مجاميع عوملت بتراكيز السموم الكبدية المذكورة في اعلاه فضلا عن مجموعة السيطرة غير المعاملة بالسموم الكبدية . ويبين جدول (2) و (3) بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة المستخدمة في الزراعة والمياه المستخدمة للسقي على التوالي التي حللت في مختبرات قسم التربة والموارد المائية كلية الزراعة - جامعة البصرة .

جدول (2) بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل قبل الزراعة.

القيمة	وحدة القياس	الصفة
1.11	غرام/كيلو غرام	N النتروجين الكلي
0.25	مليغرام/كيلو غرام	P الفسفور الكلي
7.3	مليغرام/كيلو غرام	K البوتاسيوم
6.73		الاس الهيدروجيني pH
تربة طينية رملية		نسجة التربة
35%	نسبة مئوية	الرمل Sand
26%	نسبة مئوية	غرين Silt
39%	نسبة مئوية	طين Clay
2.1	ديسي سيمنز / متر	EC التوصيل الكهربائي
2.16 %	نسبة مئوية	المادة العضوية Organic Matter

جدول (3) بعض صفات ماء السقي

6.4	الاس الهيدروجيني PH
0.38 دي سي سيمنز / متر	درجة التوصيل الكهربائي EC

17-2: تأثير السموم الكبدية المنقاة والمغزولة من الطحلب الاخضر-المزرق

O. pseudogeminata في بعض صفات النمو الخضري لنبات الطماطة :-

1-17-2 : ارتفاع النبات

قيس ارتفاع النبات في نهاية التجربة لكل المعاملات ابتداء من موضع اتصال النبات بسطح التربة الى القمة النامية للنبات واحتسب المعدل بالاعتماد على طريقة (1996) IPGRI وعبر عنه بوحدات (السنتيمتر) .

2-17-2 : قطر الساق

قيس قطر الساق لكل النباتات في نهاية التجربة ايضا ولجميع المعاملات من موضع اتصال النبات بسطح التربة بواسطة القدمة (Vernier) واحتسب المعدل مقدرا بوحدة (مليمتر) .

3-17-2 : المساحة الورقية

اتبعت طريقة لطفي (1986) في حساب المساحة الورقية في نهاية التجربة عن طريق أخذ أفراس معلومة المساحة من كل ثلاث أوراق كاملة النمو ولكل معاملة جففت بعدها في فرن حراري في درجة حراره 75° م ولمدة 48 ساعة الى حين ثبوت الوزن وحسبت مساحة النبات الورقية مقدرا بوحدة (ديسيمتر مربع) كما في المعادلة الآتية : -

المساحة الورقية المعلومة دسم² × الوزن الجاف لأوراق النبات الكلي (غم)

$$\frac{\text{المساحة الورقية}}{\text{الوزن الجاف للمساحة الورقية المعلومة (غم)}} = \text{المساحة الورقية (ديسيمتر²)}$$

4-17-2 : عدد الأوراق

حُسب عدد الأوراق لكل النباتات المعاملة بما فيها الاوراق المتساقطة واحتسب المعدل .

5-17-2 : الوزن الجاف والرطب للمجموع الجذري والخضري

قدر الوزن الجاف والرطب للمجموع الجذري والخضري في نهاية التجربة اذ قلعت النباتات مع جذورها وغسلت جيدا بماء الحنفية الجاري ثم بالماء المقطر ثم فصل المجموع الجذري عن الخضري وكذلك جُزء المجموع الخضري الى ساق و اوراق وحسب الوزن الرطب لها مباشرة وجففت الاجزاء هوائيا لغرض حساب الوزن الجاف واحتسب المعدل وعبر عن الوزن بالغرام .

2-18: تحديد تراكيز السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-**المزرق *O. pseudogeminata* في انسجة نبات الطماطة**

جُزء النباتات الى جذر وساق و اوراق ولجميع المعاملات وتركت لتجف في الهواء الطلق ثم طحنت بالمطحنة الكهربائية واخذ 250 مليغرام لكل جزء نباتي واستخلصت منها السموم الكبدية MCs بشكل منفصل لكل جزء من اجزاء النبات بعد هرسها جيدا بهاون خزفي بالطريقة المتبعة في الفقرة (2-12) و (2-13) وقدرت السموم الكبدية بالطريقة المتبعة في الفقرة (2-14).

19-2: تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة والمغزولة من الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata* في بعض المكونات الكيميائية لأوراق نبات الطماطة .

1-19-2 : تركيز الكلوروفيل الكلي

قُدر تركيز الكلوروفيل الكلي في أوراق نبات الطماطة بالاعتماد على طريقة Davis, (1976) ، اذ أخذت عينه من أوراق النباتات الرطبة بصورة عشوائية و بوزن 0.5 غرام ثم هرست في جفنة خزفية واضيف عليها 10 مليلتر من الأسيتون 80 % ، أجريت بعدها عملية طرد مركزي للمستخلص لمدة 3 دقائق بجهاز Centrifuge نوع TLE-Danger ، اخذ الجزء الرائق وقرئت الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer نوع PD-303 المصنع من شركة APEL اليابانية على طول موجي 652 نانوميتر وقد حسب الكلوروفيل الكلي وعبر عن الناتج بوحدات مليغرام / 100 غرام وزن طري بحسب المعادلة الاتية :-

$$\text{Total chlorophyll} = \frac{O.D \times 1000}{34.5} \times \frac{V}{1000 \times W}$$

اذ إن :

O. D تمثل قراءة الجهاز (الكثافة الضوئية) Optical density .

W = وزن العينة (غرام)

V = حجم الاسيتون (10) مليلتر

1000 = معامل التحويل .

2-19-2 : تركيز الكربوهيدرات الذائبة الكلية

قدرت السكريات الكلية بالاعتماد على طريقة الفينول – حامض الكبريتيك المعدلة Phenol-sulphuric acid colorimetric method modification التي وصفها Doboiss ., et al (1956) وذلك بجمع الورقة البالغة الرابعة قرب القمة النامية للنبات في جميع المكررات وتنظيفها وتجفيفها لمدة 48 ساعة الى حين ثبوت الوزن في درجة حرارة 70 م° ، طحنت بالمطحنة الكهربائية ثم اتبعت الخطوات الاتية :-

2-19-2-1 : المحاليل المستعملة

1- محلول الكلوكوز الخزين 100 مايكروغرام / مليلتر.

أذيب 10 مليغرام من الكلوكوز في الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى 100 مليلتر ليصبح

التركيز 100 مايكروغرام/مليلتر وحضرت التراكيز الاخرى منه كما موضح جدول (4).

2- محلول الفينول تركيز 5% .

أذيب 5 غرام من الفينول في 80 مليلتر من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى 100مليلتر.

3 - حامض الكبريتيك المركز 98%.

2-19-2-2 : طريقة العمل

1- اخذ وزن 0.5 غرام من الاوراق الجافة ولكل معاملة من المعاملات الثلاث فضلا عن مجموعة السيطرة ووضعت في أنابيب اختبار منفصلة .

2- اضيف 75 مليلتر من الماء المقطر الى كافة المعاملات ثم سدت الأنابيب وسخت في حمام مائي في درجة حرارة 70 م لمدة ساعة كاملة وبعدها بردت في درجة حرارة الغرفة.

3 - رشح المحلول من خلال ورق ترشيح واخذ حجم قدرة 5 مليلتر من الراشح واضيف عليه 25 مليلتر من الماء المقطر، اخذ 1 مليلتر منه واضيف عليه 1 مليلتر من الفينول مع 5 مليلتر من حامض الكبريتيك المركز 98% وبرد في درجة حرارة الغرفة.

4- قيست الامتصاصية الضوئية على طول موجي قدره 490 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer نوع PD-303 المصنع من شركة APEL اليابانية .

5- قدرت تراكيز الكربوهيدرات الذائبة الكلية بالاعتماد على المنحنى القياسي الذي حضر من عدة تراكيز لسكر الكلوكوز كما هو موضح تفاصيله في جدول (4) وشكل (3) .

2-19-2-3 : تحضير المنحنى القياسي للكلوكوز

1- وضعت حجوم مختلفة من محلول الكلوكوز القياسي في أنابيب اختبار بواقع أنبوتين لكل حجم كالاتي (0 , 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 , 0.6 , 0.7 , 0.8 , 0.9 , 1) مليلتر ثم أكمل الحجم في كل أنبوبة إلى 1مليلتر بالماء المقطر.

2- اضيف 1 مليلتر من محلول الفينول تركيز 5% مع الرج الشديد.

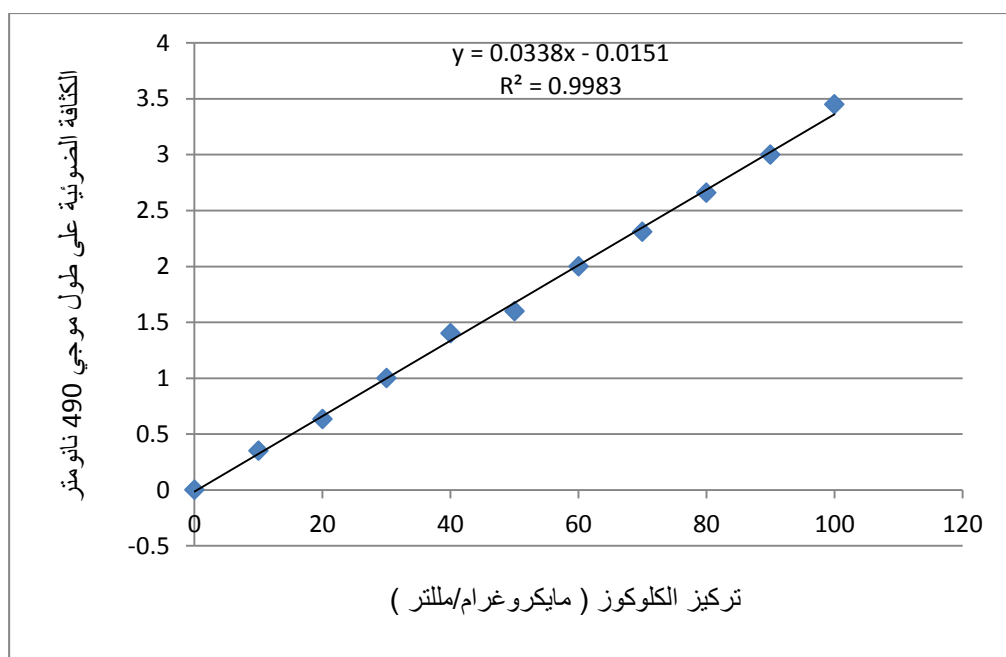
3- اضيف 5 مليلتر من محلول حامض الكبريتيك المركز 98% مع الرج الشديد ثم تركت الأنابيب لتبرد إلى درجة حرارة الغرفة.

4- قرأت الامتصاصية على الطول الموجي 490 نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي .

5- حدد المنحنى القياسي برسم العلاقة بين تركيز الكلوكوز وقراءة الامتصاص .

جدول (4) تحضير التراكيز القياسية للكلوكوز مقدرًا بوحدات مايكروغرام/مليلتر

رقم الأنبوب	حجم المحلول السكري (مليلتر)	حجم الماء المضاف (مليلتر)	التركيز مايكروغرام/مليلتر
1	0.0	1.0	0
2	0.1	0.9	10
3	0.2	0.8	20
4	0.3	0.7	30
5	0.4	0.6	40
6	0.5	0.5	50
7	0.6	0.4	60
8	0.7	0.3	70
9	0.8	0.2	80
10	0.9	0.1	90
11	1.0	0.0	100



شكل (3) المنحنى القياسي لتقدير الكربوهيدرات الذائبة الكلية بطريقة الفينول- حامض الكبريتيك

20-2: التحليل الإحصائي Statistical analysis

استعمل البرنامج الاحصائي الجاهز (SPSS) Statistical Package for Social Sciences (Version 22) في تحليل البيانات احصائيا باستعمال التحليل العشوائي الكامل (C.R.D.) Complete Randomized Design اذ استعمل تحليل التباين باتجاه واحد One-Way Anova والاختبار البعدي توكي Tukey واستخرجت قيمة اقل فرق معنوي معدل (R.L.S.D) عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$ للمقارنة بين المتوسطات الحسابية للمعاملات بالاعتماد على قيم F الجدولية الراوي وخلف الله (1980).

الفصل الثالث

النتائج

Results

3 : النتائج

3- 1 : تشخيص الطحالب الخضراء-المزرقة المعزولة من التربة وتنقيتها

عزلت وشخصت ونقيت ثلاثة أنواع تابعة لثلاثة أجناس من الطحالب الخضراء-المزرقة من التربة في محافظتي البصرة وميسان ، تمثلت بالأنواع الطحلبية *Oscillatoria* و *Microcystis flos-aque* و *Aphanothece clathrata* و *pseudogeminata* جدول (5) .

جدول (5) انواع الطحالب الخضراء- المزرقة المعزولة والمنقاة واشكالها الخضرية وطريقة جمعها وعزلها ومنطقة الجمع

منطقة جمع العينة	طريقة العزل	طريقة الجمع	الشكل الخضري للطحلب	الطحالب المعزولة
محافظه ميسان / بساتين الدفاس على نهر دجلة	طريقة التخفيف	الجمع المباشر طريقة القشط	خلايا مفردة او ثنائية على شكل قضبان قصيرة	<i>A. clathrata</i>
محافظه البصرة / كرمه علي	التخطيط على الوسط الصلب	الجمع المباشر طريقة القشط	مستعمرات بالميلية	<i>M. flos-aque</i>
محافظه ميسان / بساتين نهر دجلة	طريقة التخفيف	الجمع المباشر طريقة القشط	طحلب خيطي غير متفرع	<i>O.pseudogeminata</i>

1-1-3: تصنيف العزلات المنقاة

شخصت الطحالب بالاعتماد على المصادر التصنيفية (1959) Desikachary و

Prescott (1975) وموقع Soft-bodied Stream Algae of California

www.dbmuseblade.colorado.edu

Division : Cyanophyta

Class : Cyanophyceae

Order (1) : Chroococales

Family : Chroococaceae

Genus (1) : *Aphanothece*

Species : *Aphanothece clathrata* (West & G.S.West)

Genus (2) : *Microcystis*

Species: *Microcystis flos-aque* (Witir.) kirchner

Order (2) : Oscillatoriales

Family : Oscillatoriaceae

Genus : *Oscillatoria*

Species : *Oscillatoria pseudogeminata* G. Schmidle

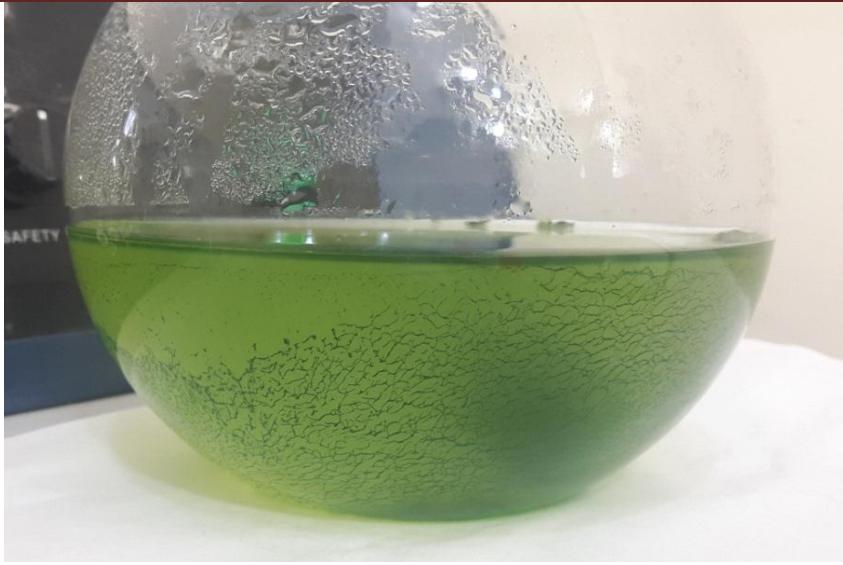
3 2-1-2: وصف الانواع المعزولة**3-1-2-1: الطحلب الاخضر- المزرق *Aphanothece clathrata***

طحلب اخضر- مزرق ذا لون اخضر شاحب يظهر تحت المجهر على هيئة خلايا مفردة او

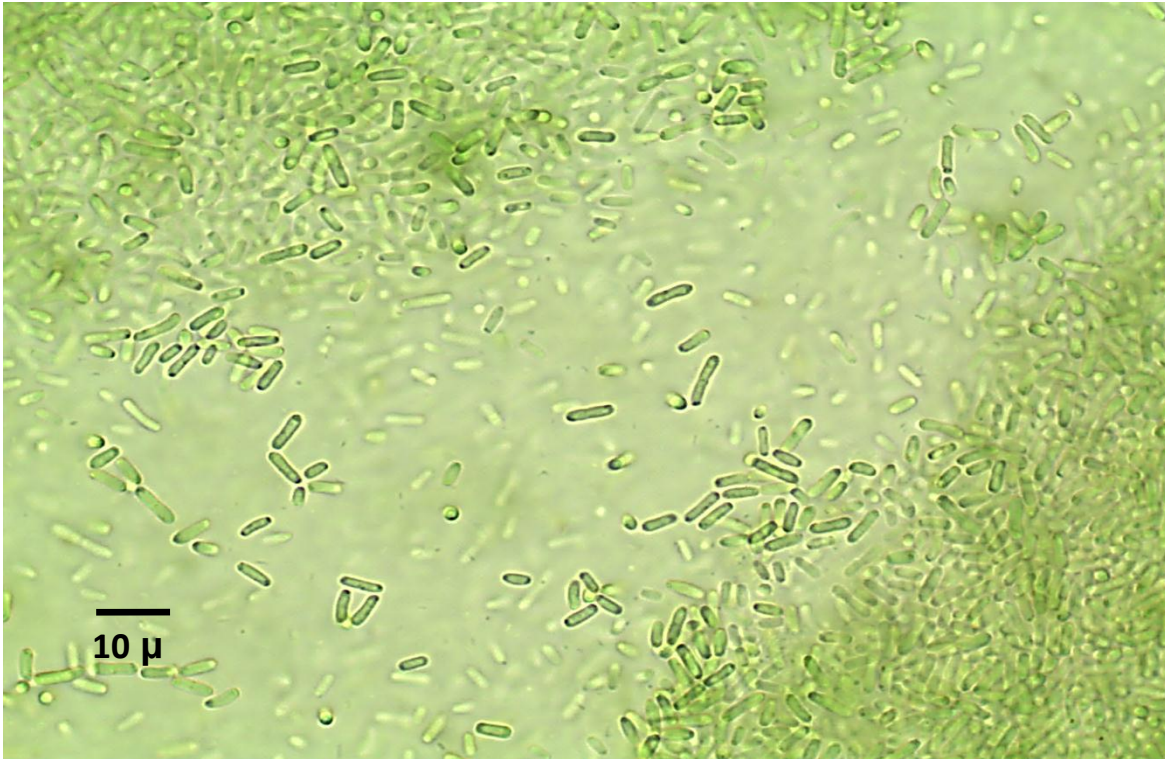
ثنائية على شكل قضبان قصيرة تراوح طول الخلية بين (1 - 8) مايكرومتر وعرضها بين

(0.7- 2) مايكرومتر ينمو بشكل ملتصق على جدران الدوارق الزجاجية بشكل شبكة صورة

(8 ، 9) .



صورة (8) المزرعة السائلة النقية للطحلب الاخضر المزرق *A. clathrata* بعد مدة استزراع 25 يوما .



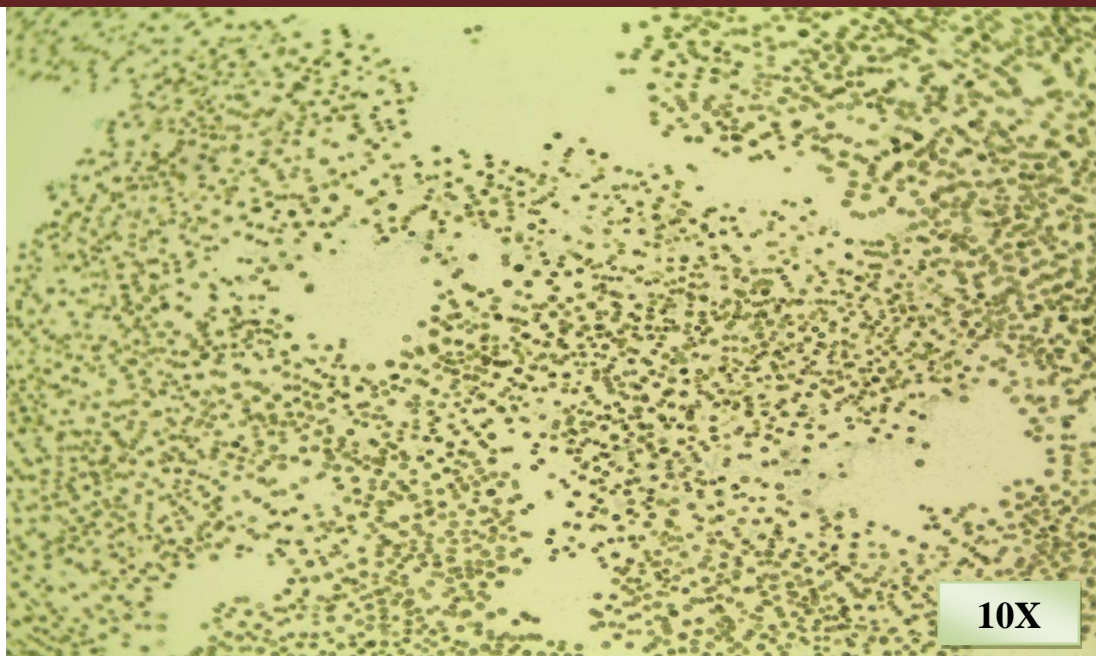
صورة (9) الطحلب الاخضر المزرق *A. clathrata* تحت المجهر على قوة تكبير 100x.

3-1-2-2: الطحلب الاخضر- المزرق *Microcystis flos-aque*

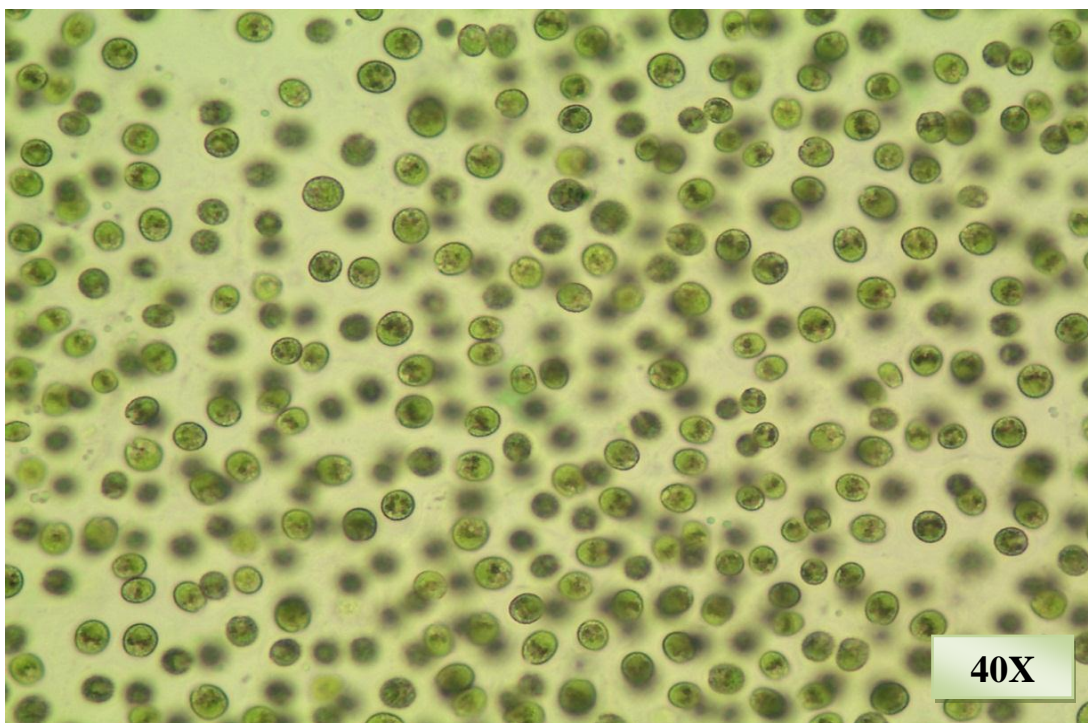
طحلب أخضر- مزرق احادي الخلية يميل الى تكوين مستعمرات غير منتظمة Palmelloid Colonies خلايا هذا النوع كروية الشكل معدل اقطارها يراوح ما بين 4.2 - 6.6 مايكرو وتمتاز بوجود الحويصلات الغازية Gas Vacuoles التي تظهر في سايتوبلازم الخلية بشكل واضح بهيأة نقاط سوداء و تمتاز بوجود مادة مخاطية واضحة تحيط بالخلايا صورة (10 ، 11 ، 12 ، 13) .



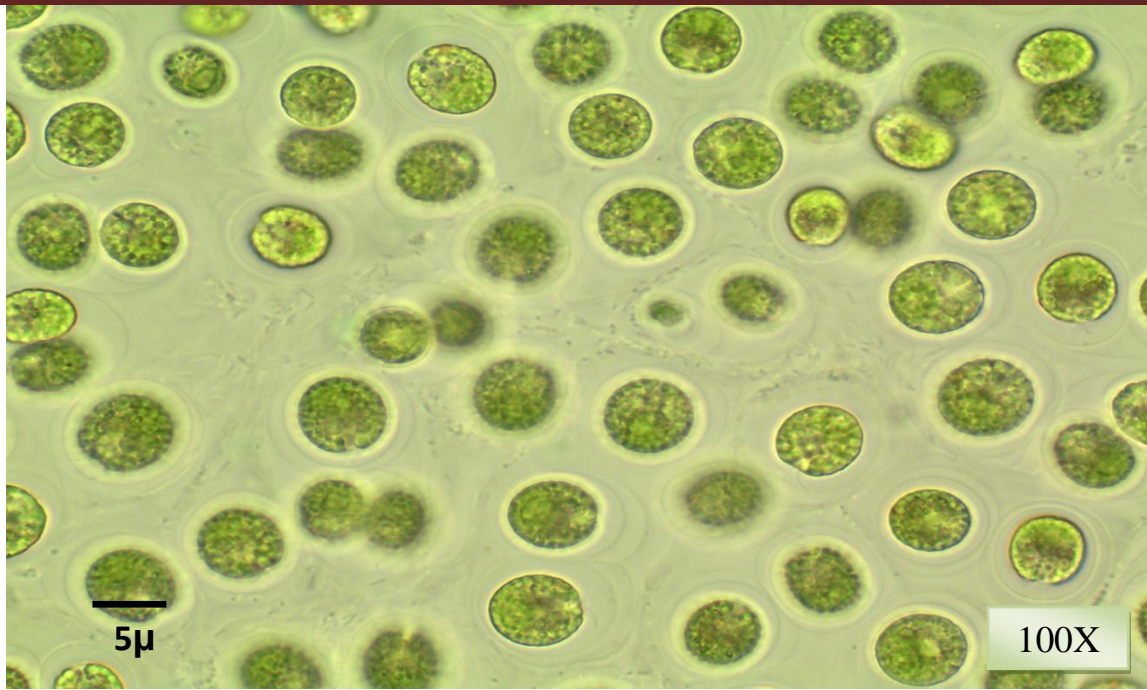
صورة (10) المزرعة السائلة النقية للطحلب الاخضر المزرق *M. flos-aque* بعد مدة استزراع 25 يوما .



صورة (11) الطحلب الاخضر المزرق *M. flos-aque* تحت المجهر على قوة تكبير 10x



صورة (12) الطحلب الاخضر المزرق *M. flos-aque* تحت المجهر على قوة تكبير 40x .



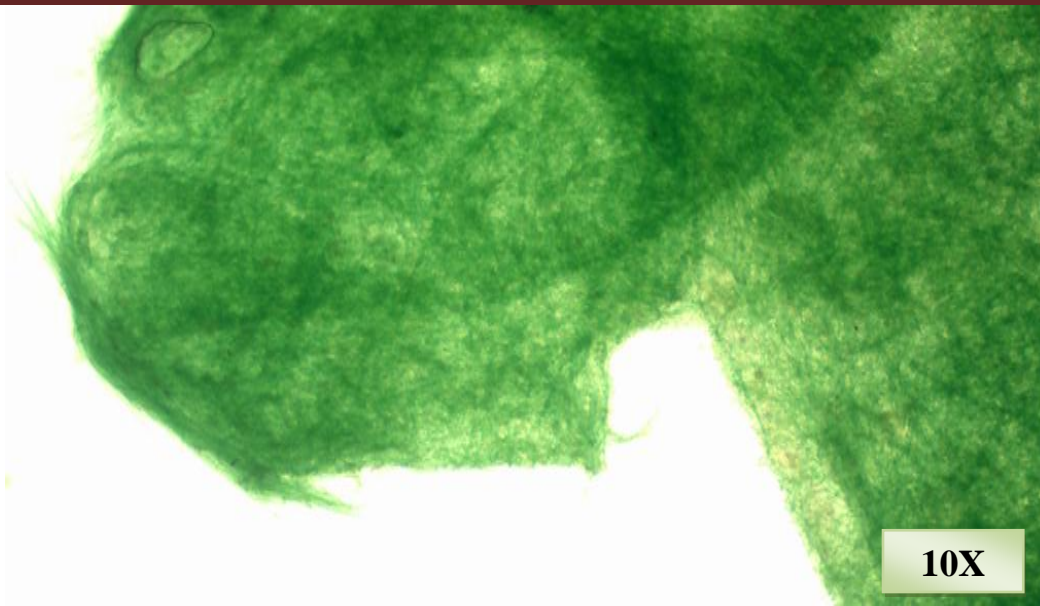
صورة (13) الطحلب الاخضر المزرق *M. flos-aque* تحت المجهر على قوة تكبير 100x.

3-2-1-3: الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata*

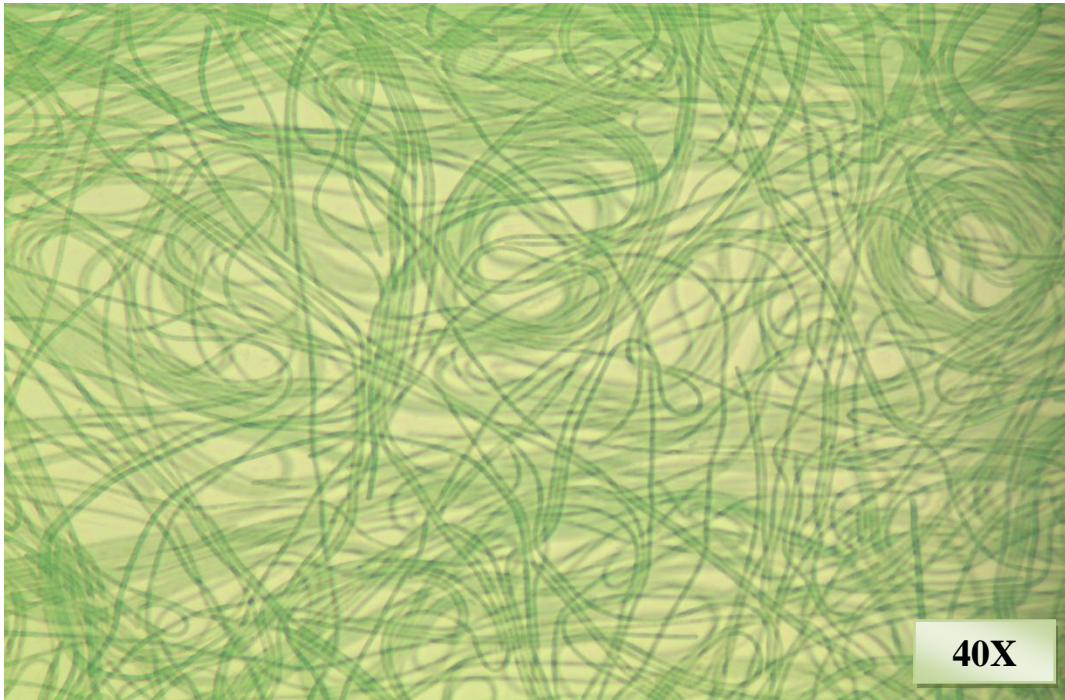
طحلب أخضر- مزرق خيطي يقطن الترب الرطبة ، الخيوط طويلة ملفوفة بشكل غير منتظم ومتشابكة و غير متحركة وخلايا الخيط ذات حدود واضحة وتظهر الخيوط تحت المجهر الضوئي بلون اخضر . تمتاز الخيوط باحتواء سايتوبلازمها على الحويصلات الغازية Gas Vacuoles المنتشرة بانتظام في سايتوبلازم الخلية التي تظهر بهيأة نقاط سوداء على الحدود الفاصلة بين الخلايا المكونة للخيط الطحلي وينتهي الخيط بخلية مستديرة الشكل Arround shape . يتراوح طول الخلايا المكونة للطحلب بين (2.3 - 3) مايكرومتر وعرضها يتراوح (1.1 - 1.4) مايكرومتر صورة (14 ، 15 ، 16 ، 17 ، (18) .



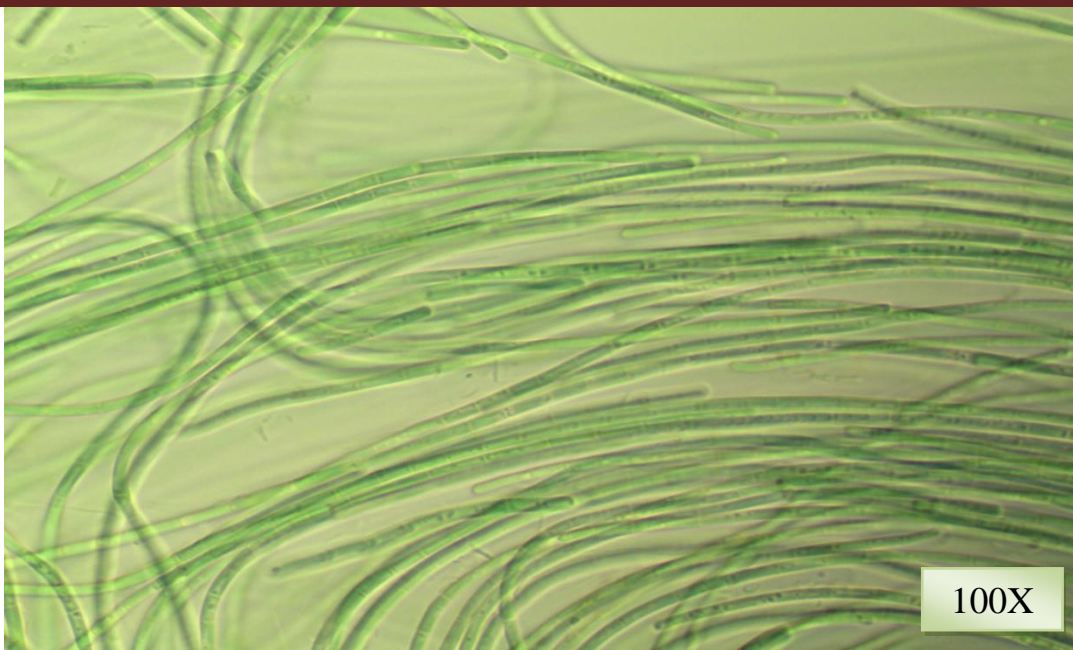
صورة (14) المزرعة السائلة النقية للطحلب الاخضر - المزرق
O. pseudogeminata بعد فترة استزراع 25 يوما .



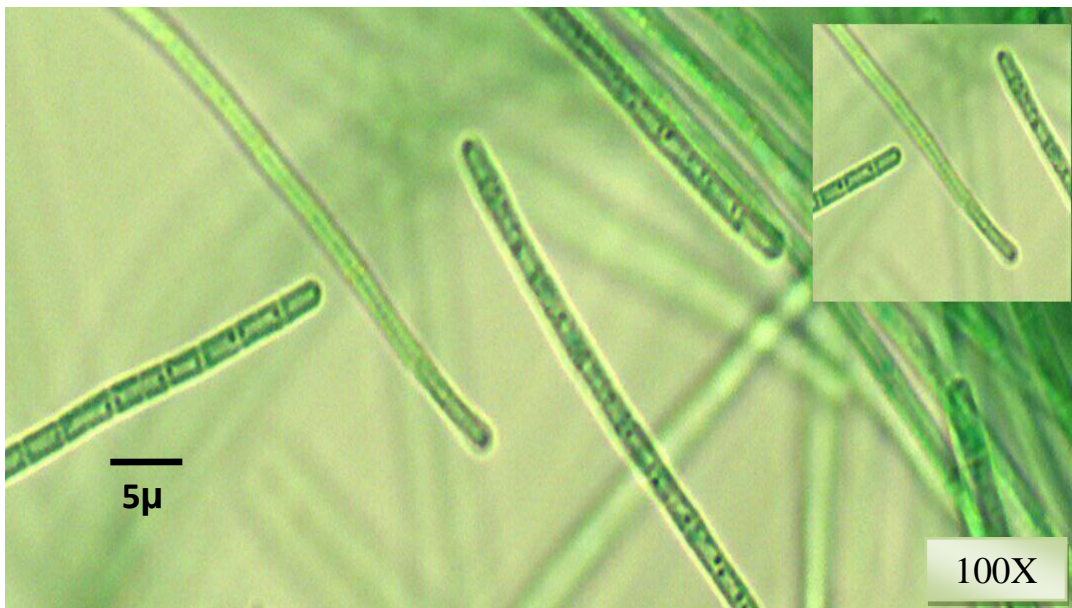
صورة (15) الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* تحت المجهر
على قوة تكبير 10x .



صورة (16) الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* تحت المجهر على قوة
تكبير 40x .



صورة (17) الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* تحت المجهر على قوة تكبير 100x.



صورة (18) نهاية الخيط للطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* تحت المجهر على قوة تكبير 100x.

2-3 : قياس منحى النمو للطحالب المنقاة في المزارع السائلة

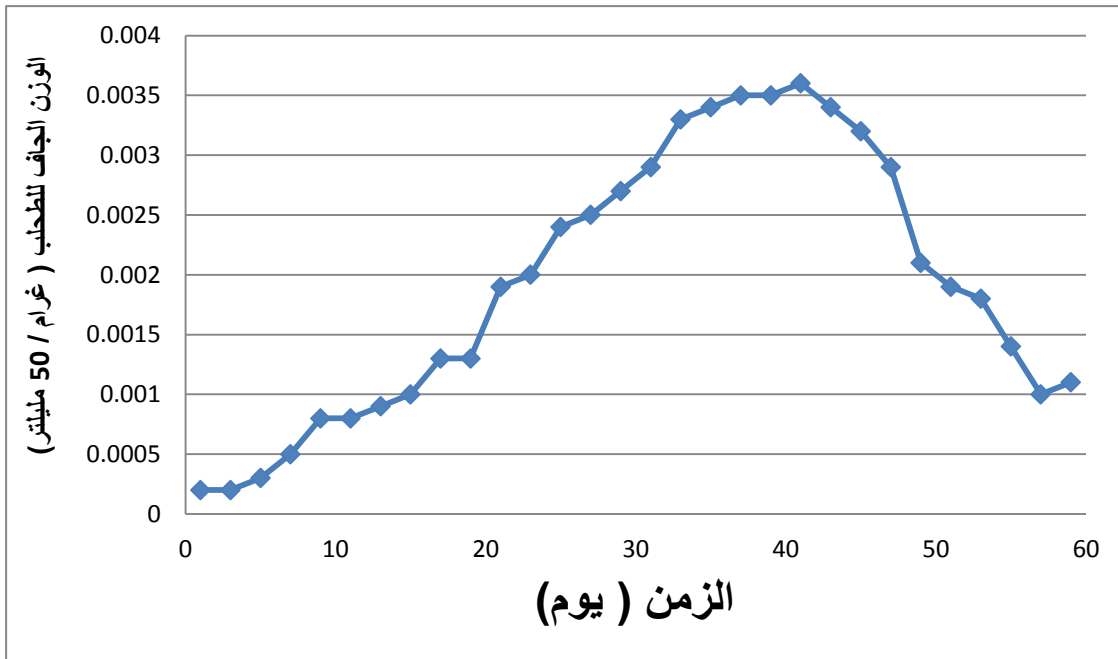
تم تحديد منحى النمو للأنواع الثلاثة المعزولة من التربة والمنقاة خلال هذه الدراسة بدلالة الوزن الجاف Dry weight اذ اظهرت النتائج ان الطور التمهيدي للطحلب الاخضر- المزرق *A. clathrata* استغرق خمسة أيام ومدة طور النمو الاسي بلغت ثلاثون يوماً وهما الاطولان مقارنة بطحالب الدراسة الاخرى قبل الدخول في طور الثبات الذي أمتد لأربعة عشر يوماً من اليوم الخامس والثلاثين الى اليوم التاسع والاربعين واعتمادا على ذلك فقد حصرت مدة حصاد المزرعة ما بين اليوم التاسع والثلاثين الى اليوم الثالث والاربعين وقد بلغ ثابت النمو $K=0.211$ و زمن التكاثر $G = 1.425$ يوم شكل (4) و جدول (6) .

اما الطور التمهيدي للطحلب الاخضر-المزرق *M. flos-aque* فقد استغرق يومين و طور النمو الاسي استمر اربعة وعشرين يوماً لتصل المزرعة بعد اليوم السادس والعشرين من عمرها الى طور الثبات الذي أمتد لستة عشر يوماً و بذلك حصرت مدة حصاد المزرعة ما بين اليوم الثاني والثلاثين و اليوم السادس والثلاثين من عمرها وقد سجل كل من ثابت النمو $K = 0.175$ و زمن التكاثر $G = 1.718$ يوم شكل (5) و جدول (6) .

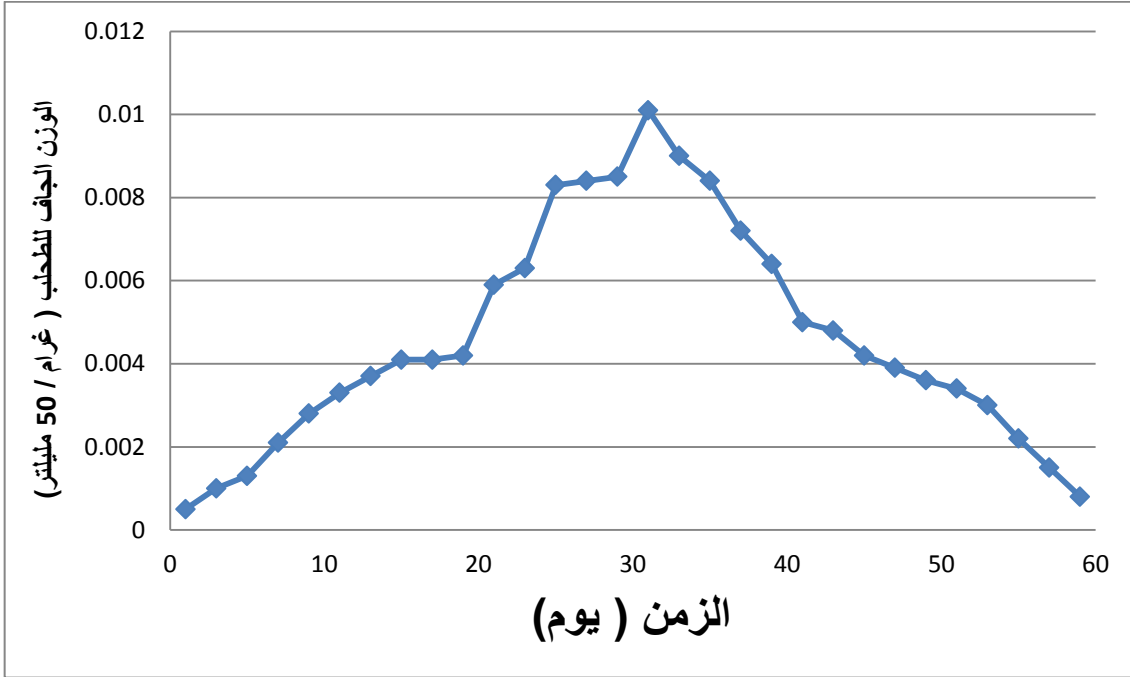
اما الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* فقد استغرق الطور التمهيدي ثلاثة ايام بعدها بدأ طور النمو الأسي Log phase الذي استغرق سبعة وعشرين يوماً اذ لوحظ زيادة مطردة في النمو التي استمرت الى اليوم الثلاثين بعدها بدأ طور الاستقرار Stationary phase الذي استمر الى اليوم السابع والاربعين وهو الاطول مقارنة بطحالب الدراسة الاخرى ثم بدأ طور التناقص Decline phase في اليوم الثامن والاربعين الى اليوم الستين ولذا حُصِدَ الطحلب في منتصف طور الاستقرار أي ما بين اليوم الثالث والثلاثين الى اليوم الاربعين وبلغ الطحلب ثابتاً للنمو $K = 0.144$ و زمن تكاثر الجيل مقداره $G = 2.09$ يوم شكل (6) و جدول (6) .

جدول (6) يوضح اطوار النمو للطحالب الخضراء - المزروعة المعزولة من التربة ومدة الحصاد وقيم ثابت النمو (K) Growth constant و زمن تكاثر الجيل (G) . Generation time

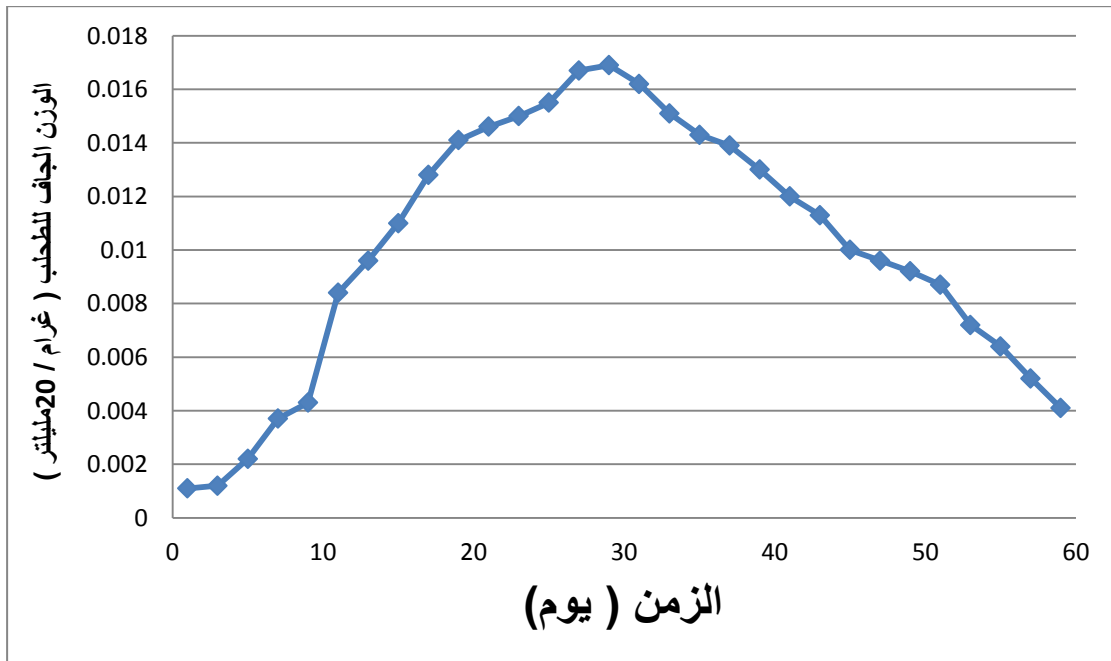
انواع الطحالب الخضراء المزروعة المعزولة من التربة	مدة طور النمو التمهيدي (يوم)	مدة طور النمو الأساسي (يوم)	مدة الطور المستقر (يوم)	مدة الحصاد (يوم)	ثابت النمو (K)	زمن تكاثر الجيل (G)
<i>A. clathrata</i>	5	30	14	39-43	0.211	1.425
<i>M. flos-aque</i>	2	24	16	32-36	0.175	1.718
<i>O.pseudogeminata</i>	3	27	17	33 -40	0.144	2.09



شكل (4) منحنى النمو للطحلب الاخضر - المزرق *A. clathrata* .



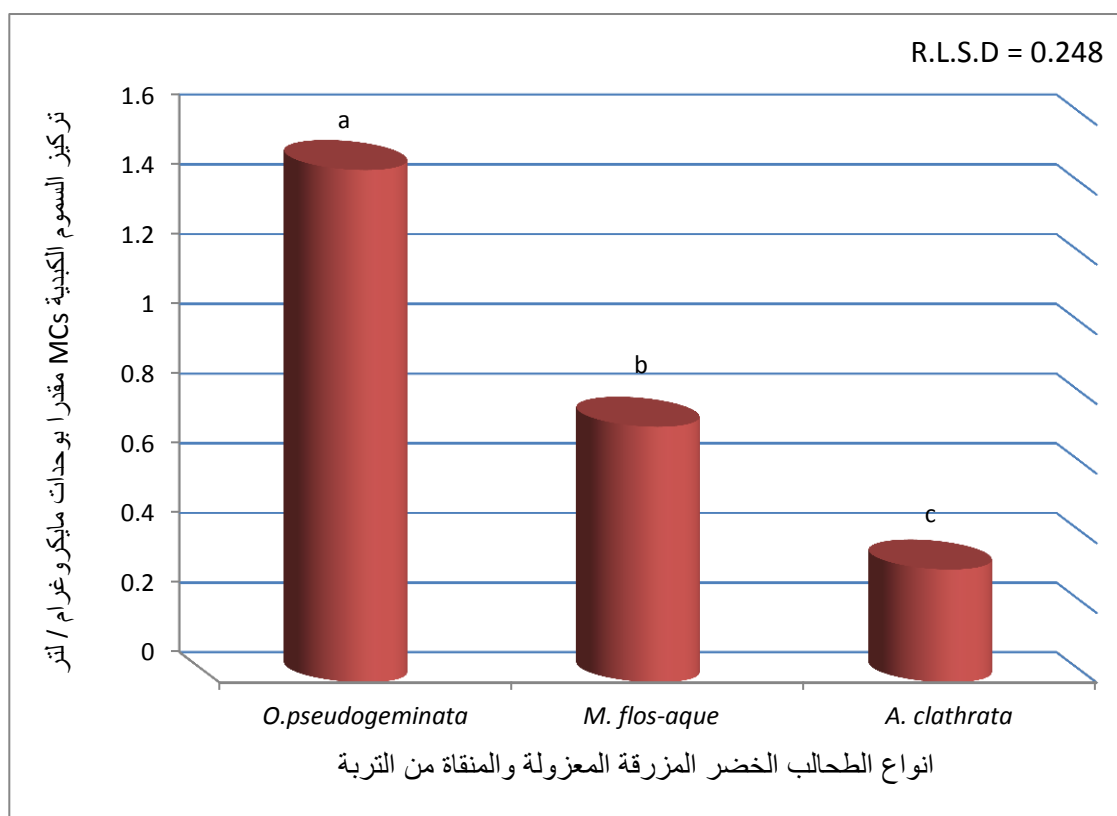
شكل (5) منحنى النمو للطحلب الاخضر - المزرق *M. flos-aque*.



شكل (6) منحنى النمو للطحلب الاخضر - المزرق *O. pseudogeminata*.

3-3 : التقدير الكمي و النوعي للسموم الكبدية Microcystins

قدرت السموم الكبدية MCs نوعا وكما بعد تنقيتها للأنواع الثلاثة باستعمال تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (Enzyme linked Immunosorbent assay (ELISA). وبينت النتائج الموضحة في شكل (7) ان هنالك فروقا معنوية $P \leq 0.05$ واضحة جدا في قابلية انتاج السموم الكبدية MCs بين الانواع الثلاثة اذ أظهر الطحلب الاخضر المزرق الخيطي *O.pseudogeminata* أعلى قابلية لإنتاج السموم الكبدية Microcystins ، اذ بلغ معدل تركيزها 1.47 مايكروغرام / لتر / 50 مليغرام وزن جاف تلاه الطحلب *M. flos-aqu* اذ بلغ معدل تركيزها 0.734 مايكروغرام / لتر / 50 وزن جاف في حين كان الطحلب *A. clathrata* هو الأقل انتاجية للسموم الكبدية مقارنة بالنوعين الاخرين اذ بلغ معدل تركيز السم فيه 0.324 مايكروغرام / لتر / 50 مليغرام وزن جاف .

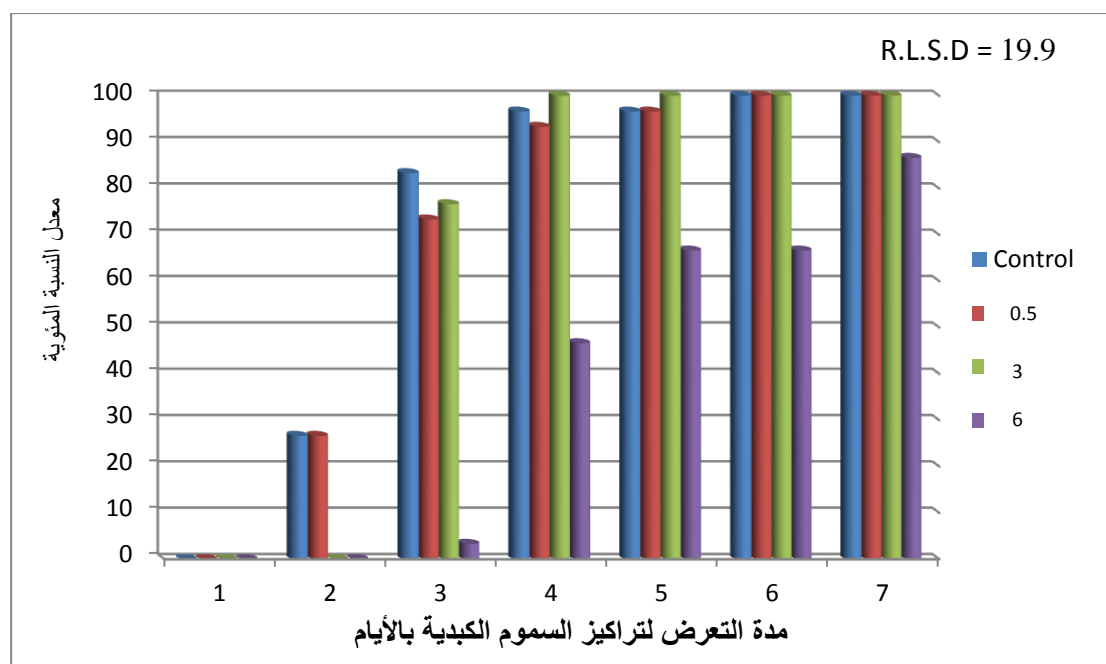


شكل (7) تركيز السموم الكبدية Microcystin المنقاة والمعزولة من الطحالب الخضراء-المزرقه مقدرًا بوحدات المايكروغرام/ لتر / 50 مليغرام / وزن جاف (الاعمدة التي تأخذ حروف مختلفة تختلف معنويًا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

4-3: التجربة المختبرية

1-4-3: تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* في النسبة المئوية لإنبات بذور نبات الطماطة *L. esculentum* Mill

بينت الدراسة ان معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة ادت الى التقليل بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في نسبة الانبات في اليوم الاول والثاني ولاسيما في التركيزين 3 و 6 مايكروغرام / لتر ، اذ بلغت نسبة الانبات فيهما 0 % مقارنة بمجموعة السيطرة والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر اذ بلغت نسبة الانبات فيهما 26.6 % ولم يظهر التركيز 0.5 مايكروغرام / لتر أي تأثير معنوي طول ايام التجربة مقارنة بمجموعة السيطرة ، اما في اليوم الثالث من التعرض للسموم الكبدية فقد وصلت نسبة الانبات الى 3.3 % عند التعرض للتركيز 6 مايكروغرام / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغت نسبة الانبات فيها 83.3 % وكذلك مقارنة بالتركيزين الاخرين 0.5 و 3 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل نسبة الانبات فيهما 73.3% و 76.6% على التوالي وباستمرار التعرض للسموم ازدادت نسبة الانبات ابتداء من اليوم الرابع الى السابع الذي بلغت نسبة الانبات فيه 100 % ولجميع المعاملات ما عدا التركيز 6 مايكروغرام / لتر التي بلغت نسبة الانبات فيه 66.6% في اليوم السادس و 86.6% في اليوم السابع شكل (8)



شكل (8) النسبة المئوية لانبات بذور نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* لمدة سبعة ايام .

2-4-3: تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata* في معدل سرعة انبات بذور نبات الطماطة .

تشير النتائج الموضحة في جدول (7) ان معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة ادت الى بطئ في معدل سرعة انبات البذور بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في اليوم الاول والثاني ولاسيما في التركيزين الاعلى (3 و 6) مايكروغرام/لتر اذ بلغ معدل سرعة الانبات فيهما 0 بذرة / اليوم مقارنة بمجموعة السيطرة والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر التي بلغ معدل سرعة الانبات فيهما 1.3 بذرة / اليوم ، اما في اليوم الثالث من التعرض للسموم الكبدية فقد انخفض معدل سرعة الانبات الى 0.11 بذرة / اليوم عند التعرض للتركيز 6 مايكروغرام / لتر مقارنة بمعدل سرعة انبات البذور المعرضة للتراكيز الاخرى ومجموعة السيطرة التي بلغت سرعة الانبات فيها بين (2.4 - 2.7) بذرة / اليوم ، وباستمرار التعرض للسموم ازداد معدل سرعة الانبات ابتداء من اليوم الرابع الى اليوم السابع من بدء التجربة اذ بلغ 1.42 بذرة / باليوم ولجميع المعاملات ما عدا التركيز الاعلى للسموم الذي بلغ معدل سرعة الانبات فيه 1.23 بذرة / اليوم ، اذ تبين ان التركيز 6 مايكروغرام/لتر قد سبب انخفاضا معنويا في سرعة الانبات ابتداء من اليوم الاول للتجربة الى اليوم السادس مقارنة مع بقية التراكيز ومجموعة السيطرة اذ لم تظهر فروق معنوية في سرعة الانبات في اليوم السابع .

جدول (7) تأثير معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogemina* في معدل سرعة الانبات .

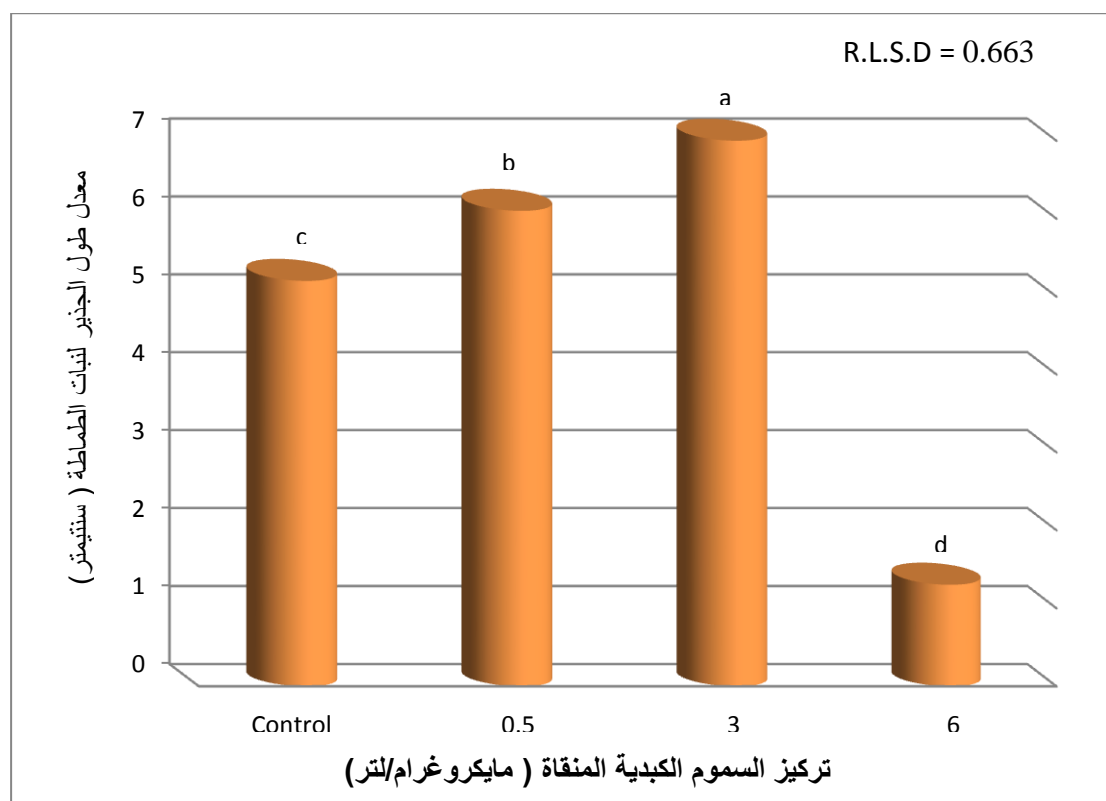
متوسط تأثير السموم الكبدية	المدة الزمنية للتعرض (يوما)							تراكيز السموم مايكروغرام/لتر
	اليوم 7	اليوم 6	اليوم 5	اليوم 4	اليوم 3	اليوم 2	اليوم 1	
1.62	1.42	1.66	1.9	2.4	2.7	1.3	0	Control
1.56	1.42	1.66	1.9	2.3	2.4	1.3	0	0.5
1.44	1.42	1.66	2	2.5	2.5	0	0	3
0.70	1.23	1.11	1.33	1.16	0.11	0	0	6

$$RLSD = 0.29$$

3-4-3: تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل

طول الجذير لنبات الطماطة

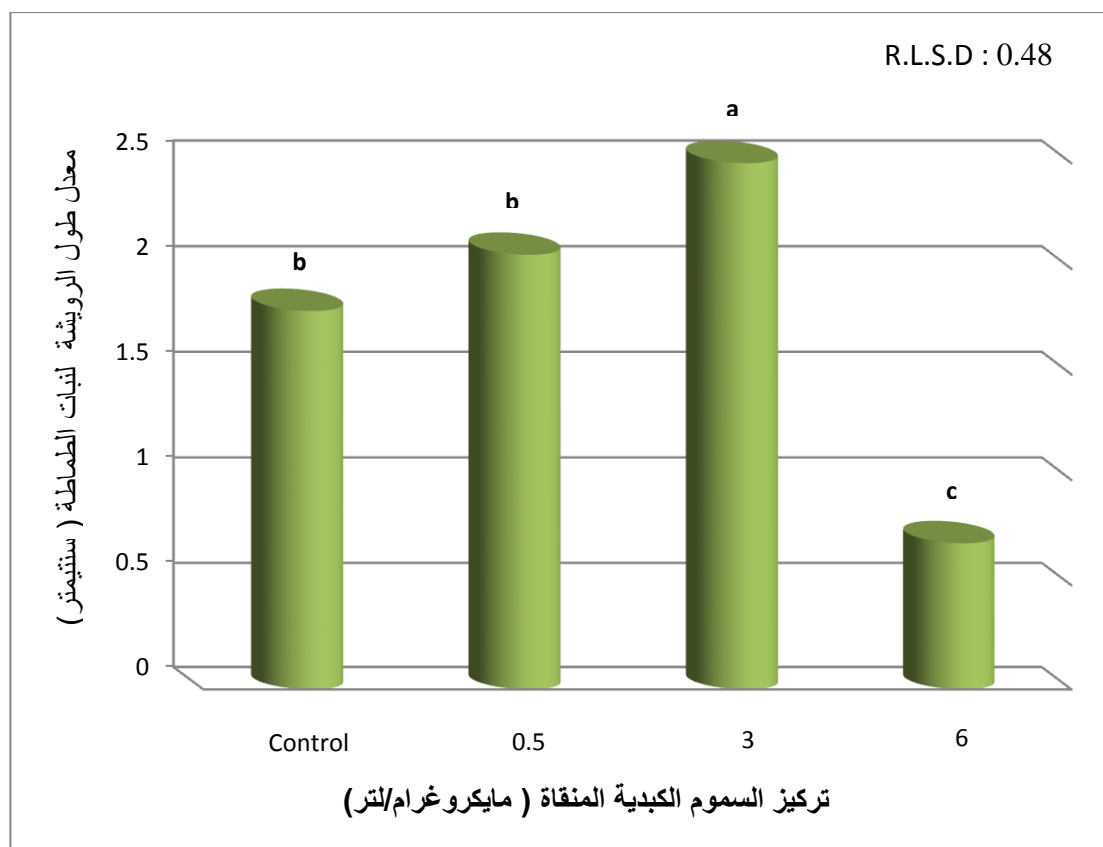
بينت الدراسة ان معاملة بذور نبات الطماطة بتركيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة لمدة سبعة ايام ادى الى تقليل معدل طول الجذير بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في المجموعة المعاملة بالتركيز الاعلى 6 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل طول الجذير فيها 1.3 سنتيمتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ معدل طول الجذير فيها 5.2 سنتيمتر والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر التي بلغ معدل طول الجذير فيها 6.1 سنتيمتر ، اما معاملة النبات بتركيز 3 مايكروغرام / لتر من السموم الكبدية المنقاة احدثت زيادة معنوية في معدل طول الجذير للنبات اذ بلغ 7 سنتيمتر مقارنة بمجموعة السيطرة كذلك لوحظ ان التركيز 0.5 مايكروغرام / لتر قد سبب زيادة معنوية في معدل طول الجذير ايضا مقارنة بمجموعة السيطرة شكل (9) .



شكل (9) معدل طول الجذير في بذور نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ حروف مختلفة تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

4-4-3: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل طول الرويشة

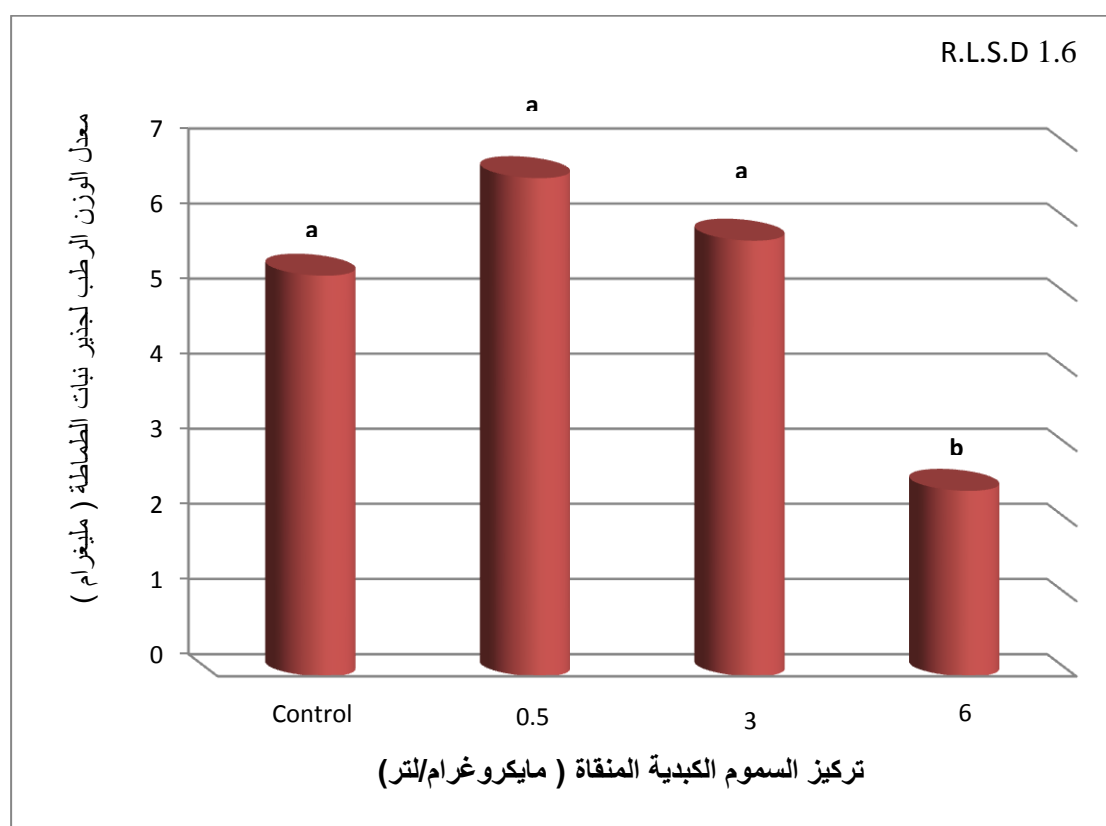
اظهرت نتائج الدراسة ان معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية ولمدة سبعة ايام ادى الى التقليل بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في معدل طول الرويشة في المجموعة المعاملة بالتركيز الاعلى 6 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل طول الرويشة فيها 0.7 سنتيمتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ معدل طول الرويشة فيها 1.8 سنتيمتر والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر التي بلغ معدل طول الرويشة فيها 2.066 سنتيمتر والتركيز 3 مايكروغرام/ لتر الذي سببت زيادة معنوية في معدل طول الرويشة اذ بلغ 2.5 سنتيمتر مقارنة ببقية المعاملات بما فيهما مجموعة السيطرة شكل (10) .



شكل (10) معدل طول الرويشة في بذور نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعوذلة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-4-5: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الرطب للجذير

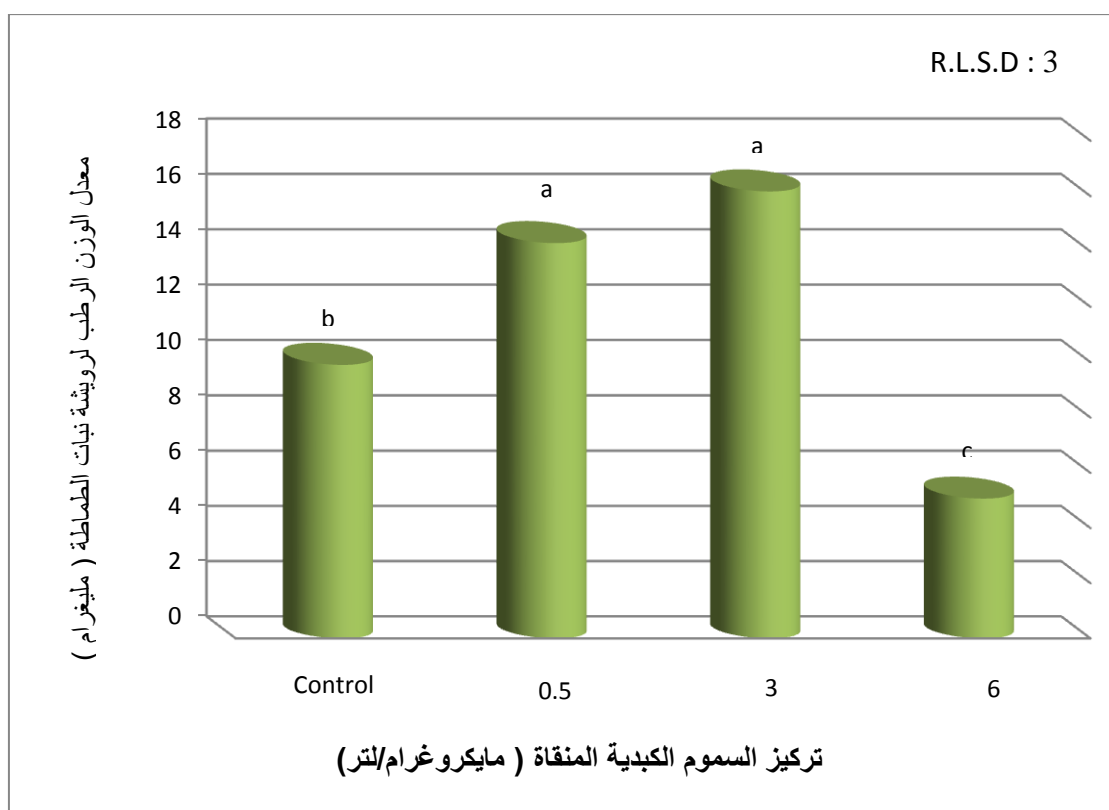
بينت النتائج الموضحة في شكل (11) ان تعرض بذور نبات الطماطة لتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة لمدة سبعة ايام ادى الى انخفاض في معدل الوزن الرطب للجذير بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في المجموعة ذات التركيز الاعلى 6 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل الوزن الرطب فيها 2.466 مليغرام مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ 5.333 مليغرام والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر التي بلغ فيها 6.633 مليغرام والتركيز 3 مايكروغرام / لتر التي بلغ الوزن الرطب للجذير فيها 5.8 مليغرام والتي لم تظهر فروقا معنوية فيما بينهما.



شكل (11) معدل الوزن الرطب للجذير لنبات الطماطة المعامل بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

6-4-3: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الرطب للرويشة

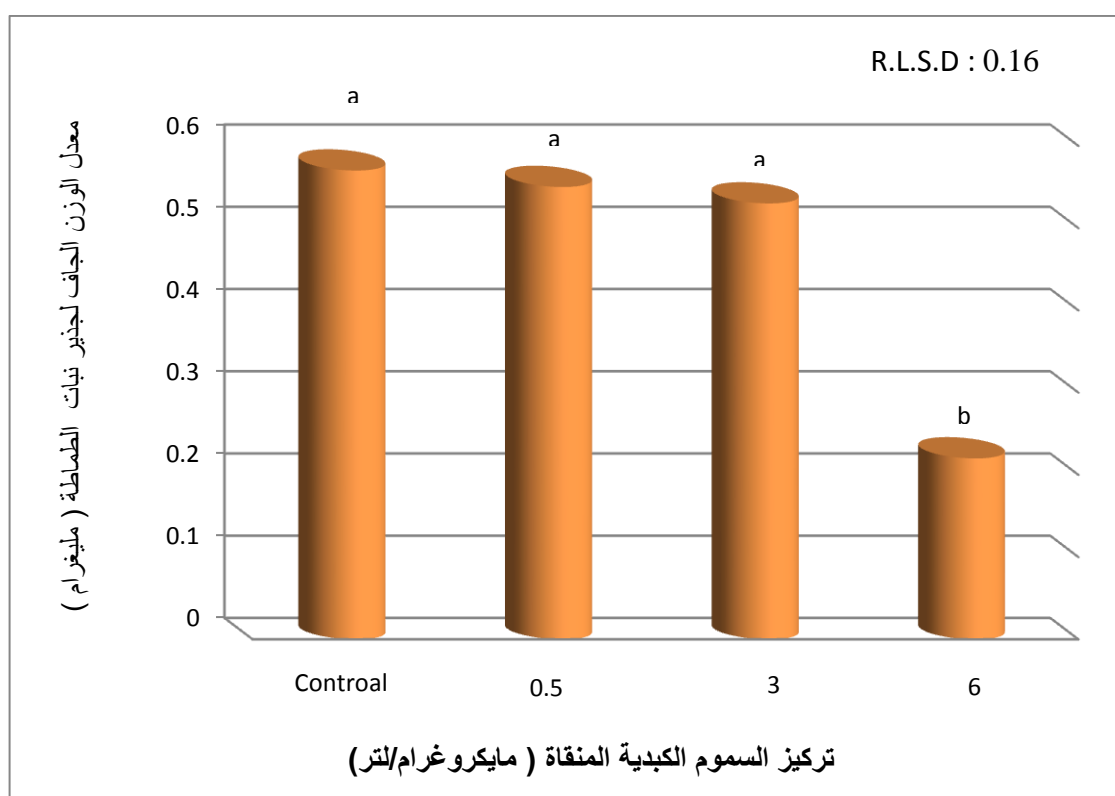
بينت الدراسة ان معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية ولمدة سبعة ايام ادت الى انخفاض في معدل الوزن الرطب للرويشة بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في التركيز الاعلى 6 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل الوزن الرطب فيها 5.066 مليغرام مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ 9.9 مليغرام والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر التي بلغ معدل الوزن الرطب فيها 14.3 مليغرام والتركيز 3 مايكروغرام / لتر التي بلغ معدل الوزن الرطب للجذير فيها 16.166 مليغرام اذ حدثت زيادة معنوية في معدل الوزن الرطب للتركيزين 0.5 و 3 مايكروغرام/لتر مقارنة بمجموعة السيطرة شكل (12) .



شكل (12) معدل الوزن الرطب لرويشة نبات الطماطة المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

7-4-3: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الجاف للجذير

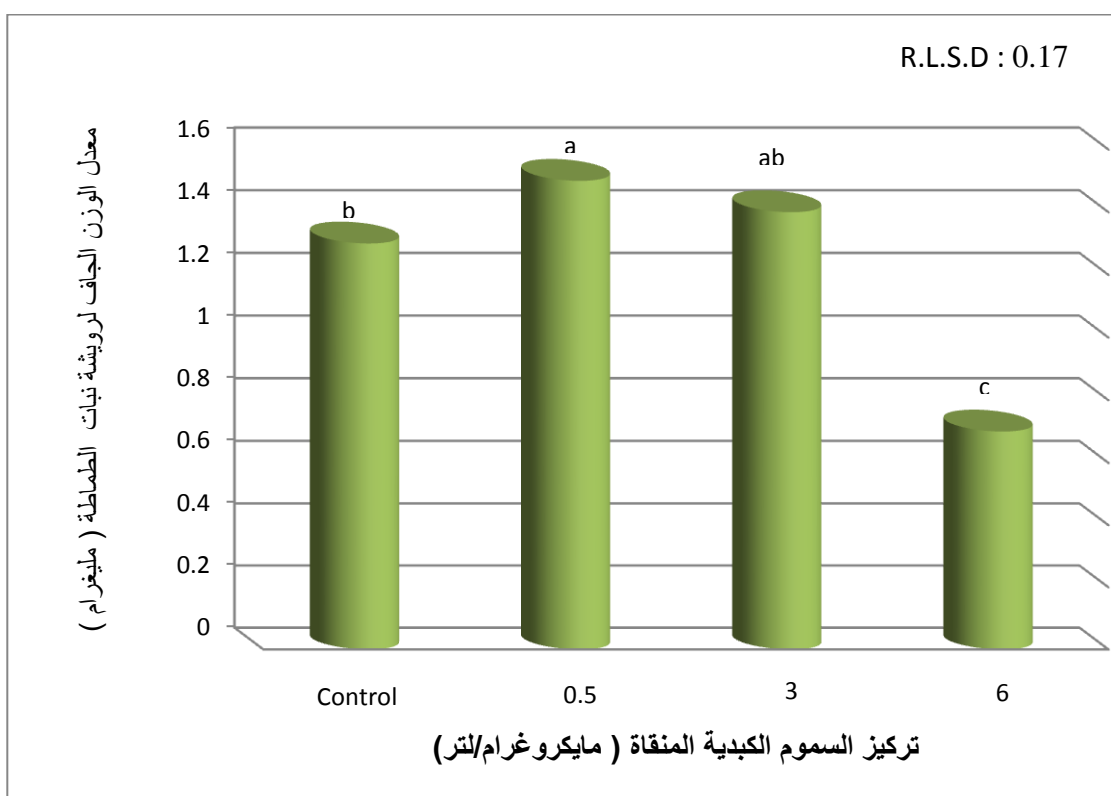
بينت النتائج الواردة في شكل (13) ان هناك فروقا معنوية $P \leq 0.05$ بين معاملات بذور نبات الطماطة التي عوملت بمستويات مختلفة من تراكيز السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب - الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* المعزول من التربة ولمدة سبعة ايام ، اذ سبب التركيز الاعلى 6 مايكروغرام / لتر انخفاضاً في الوزن الجاف للجذير اذ بلغ معدل وزنه 0.22 مليغرام مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ 0.57 مليغرام والمجاميع الاخرى اذ بلغ معدل الوزن الجاف 0.55 مليغرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر و 0.53 مليغرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر واللذان لم يظهرهما فروقا معنوية فيما بينهما ومجموعة السيطرة ايضا .



شكل (13) معدل الوزن الجاف لجذير نبات الطماطة المعامل بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-4-8: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة في معدل الوزن الجاف للرويشة

بينت الدراسة ان معاملة بذور نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية ولمدة سبعة ايام ادت الى انخفاض في الوزن الجاف للرويشة بشكل معنوي $P \leq 0.05$ في المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر من السموم الكبدية اذ بلغ معدل الوزن الجاف للرويشة فيها 0.7 مليغرام مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ 1.3 مليغرام والتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر الذي اظهر زيادة معنوية في معدل الوزن الجاف للرويشة اذ بلغ معدله 1.5 مليغرام ، في حين المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر بلغ معدل الوزن الجاف للجذير فيها 1.4 مليغرام اذ لم تظهر أي فروق معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة شكل (14) .

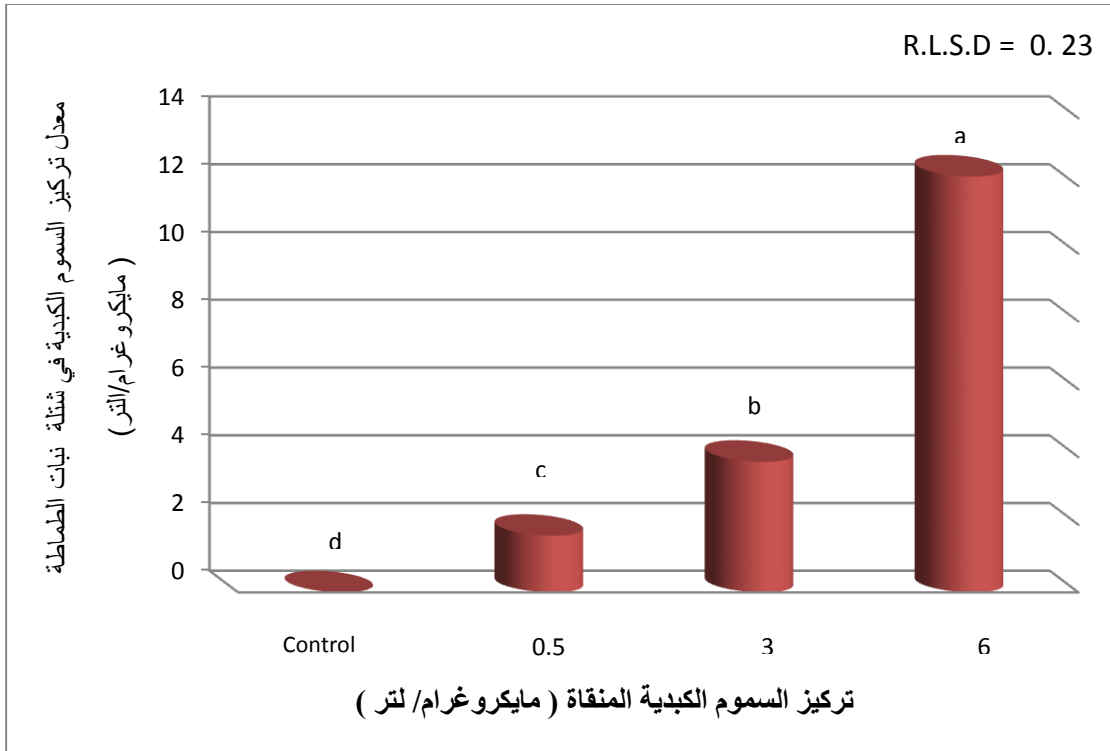


شكل (14) معدل الوزن الجاف لرويشة نبات الطماطة المعامل بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

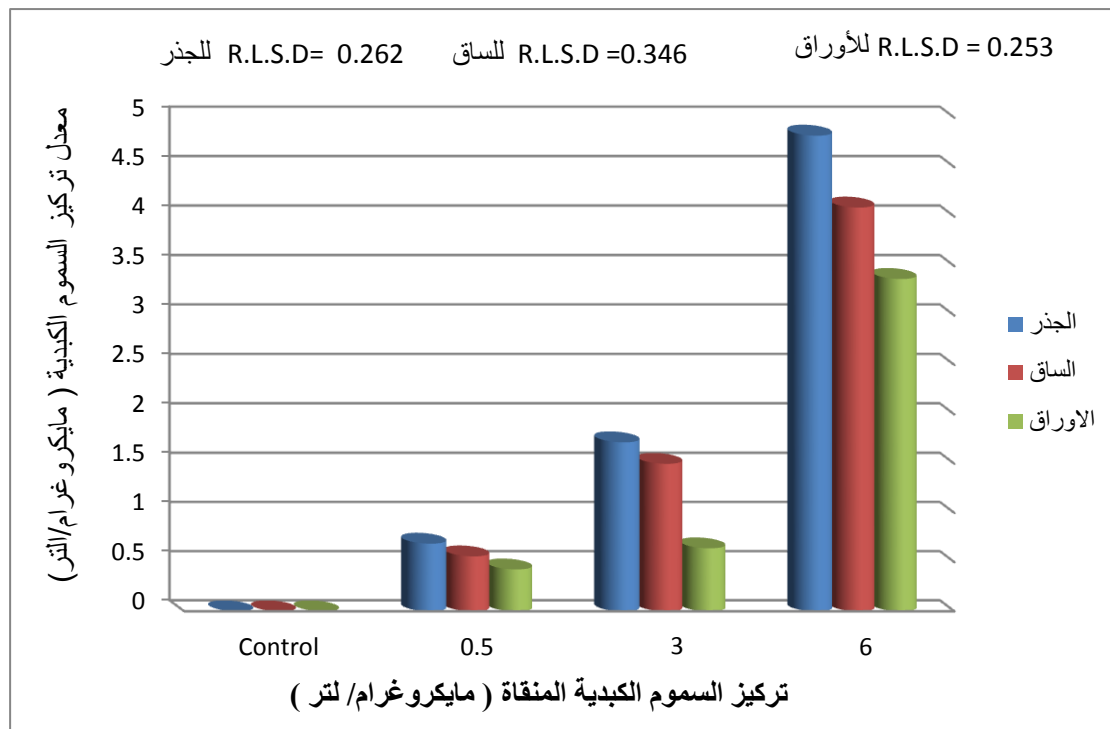
3-5: قابلية نبات الطماطة على مراكمة السموم الكبدية MCs المنقاة والمغزولة من

الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata*

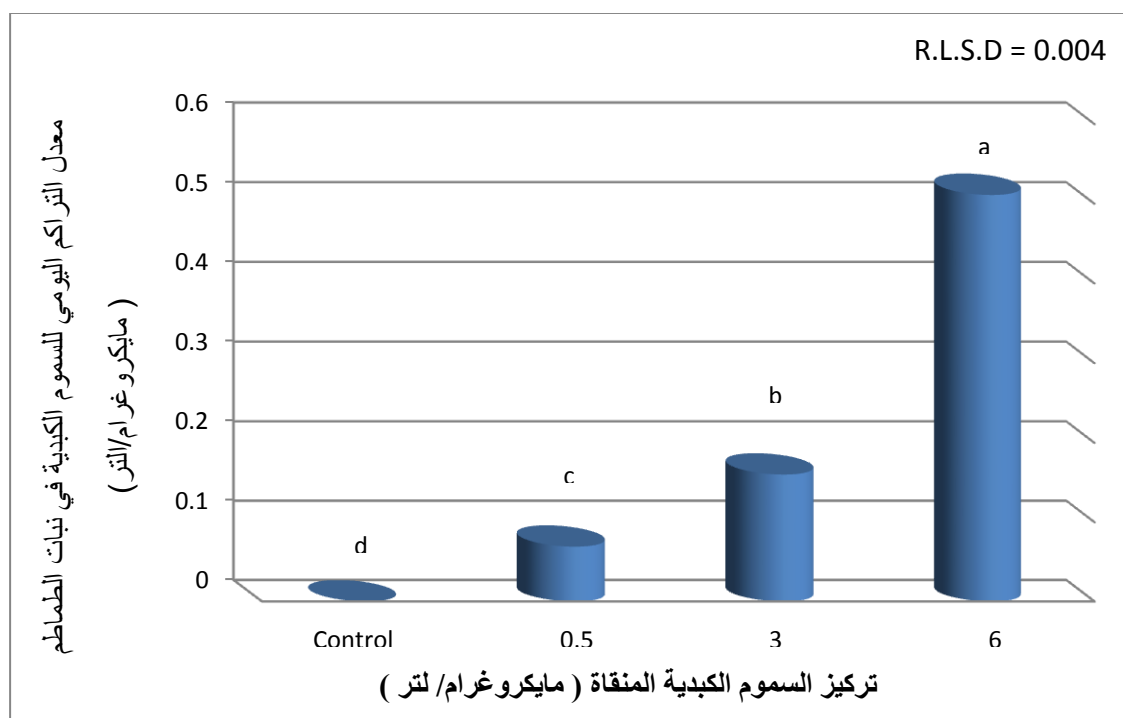
بينت النتائج الموضحة في شكل (15) و (16) و (17) ان هنالك فروقا معنوية $P \leq 0.05$ واضحة جدا بين مجاميع نبات الطماطة المعاملة بتركيز مختلف من السموم الكبدية MCs المنقاة والمغزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* لمدة اربعة وعشرين يوما من التعرض لتلك السموم وان اعلى معدل لتركيزها وجد في نباتات المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر اذ بلغ معدل التركيز 12.278 مايكروغرام /لتر في جسم النبات كله وبمعدل تراكم يومي بلغ 0.511 مايكروغرام / لتر في اليوم وان اعلى معدل تركيز في اجزاء نباتات المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر وجد في الجذر اذ بلغ معدله 4.818 مايكروغرام / لتر تلاها الساق بتركيز 4.091 مايكروغرام / لتر ثم الاوراق التي بلغ معدل التركيز فيها 3.369 مايكروغرام / لتر ، اما المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/لتر فقد بلغ معدل التركيز في جسم النبات كله 3.856 مايكروغرام / لتر وبمعدل تراكم يومي بلغ 0.16 مايكروغرام / لتر في اليوم اذ بلغت معدلات التراكيز 1.717 مايكروغرام / لتر في الجذر و 1.499 مايكروغرام / لتر في الساق و 0.640 مايكروغرام / لتر في الاوراق مايكروغرام / لتر اما اقل التراكيز للسموم الكبدية المتراكمة فقد وجد في مجموعة النباتات المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر بتركيز 1.67 مايكروغرام / لتر في جسم النبات كله وبمعدل تراكم يومي بلغ 0.069 مايكروغرام / لتر في اليوم اذ بلغ اعلى معدل تركيز للسموم الكبدية 0.687 مايكروغرام / لتر في الجذر ايضا تلاه الساق بتركيز 0.558 مايكروغرام / لتر ثم الاوراق بتركيز 0.425 مايكروغرام / لتر ، اذ لوحظ ان بزيادة تركيز السموم الكبدية المعامل بها النبات تزداد قابليته على مراكمة تلك السموم في انسجته عند مقارنتها بمجموعة السيطرة وكانت الجذور والسيقان هي الاكثر مراكمة للسموم الكبدية من الاوراق في كل المجاميع المعرضة لتلك السموم .



شكل (15) معدل تركيز السموم الكبدية المنقاة MCs المتراكمة في جسم نبات الطمطة كله مقدرا بوحدهات المايكروغرام/ لتر لكل 750 مليغرام وزن جاف (الاعمدة التي تأخذ حروف مختلفة تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).



شكل (16) معدل تراكم السموم الكبدية MCs المتراكمة في اجزاء جسم نبات الطمطة مقدرا بوحدهات المايكروغرام/ لتر لكل 250 ملغرام وزن جاف.



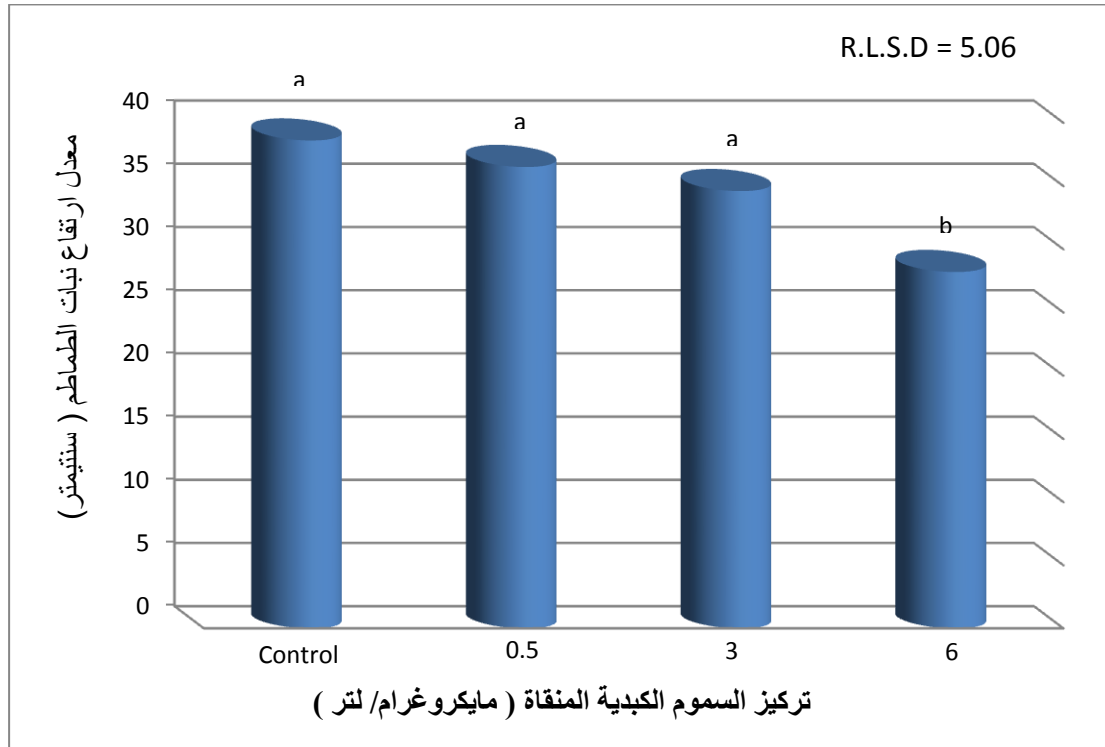
شكل (17) معدل التراكم اليومي للسموم الكبدية MCs في جسم نبات الطماطة مقدرًا بوحدة المايكروغرام/ لتر لكل 750 ملغرام وزن جاف (الاعمدة التي تأخذ حروف مختلفة تختلف معنويًا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3 - 6: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* في النمو الخضري في نبات الطماطة

3- 6- 1: معدل ارتفاع النبات .

يتضح من شكل (18) وصورة (19) ان معاملة نبات الطماطة بتراكيز متزايدة من السموم الكبدية المعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* قد احدثت تأثيرًا معنويًا $P \leq 0.05$ في معدل ارتفاع النبات بعد مدة سقي امتدت اربعة وعشرين يوما اذ انخفض معدل ارتفاع النباتات في المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر فقط اذ بلغ معدل ارتفاعها 28.2 سنتيمتر مقارنة بمجموعة السيطرة والمجاميع الاخرى التي لم تسجل فروقا معنوية في ما بينها ففي مجموعة السيطرة بلغ معدل ارتفاع النباتات 38.6 سنتيمتر ومجموعة

المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/لتر بلغ معدل ارتفاع النبات 34.6 سنتيمتر اما المجموعة المعاملة بتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر فقد بلغ معدل ارتفاع النبات 36.5 سنتيمتر .



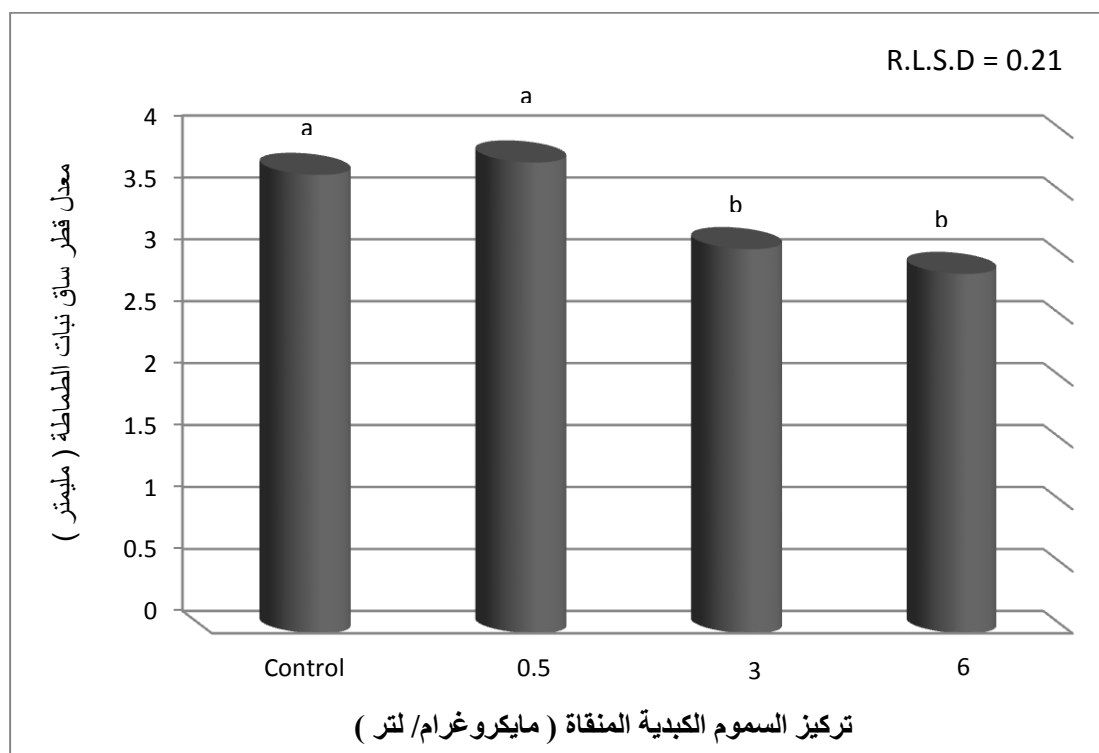
شكل (18) معدل ارتفاع نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).



صورة (19) توضح ارتفاع نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* .

3 - 6 - 2 : معدل قطر الساق لنبات الطماطة

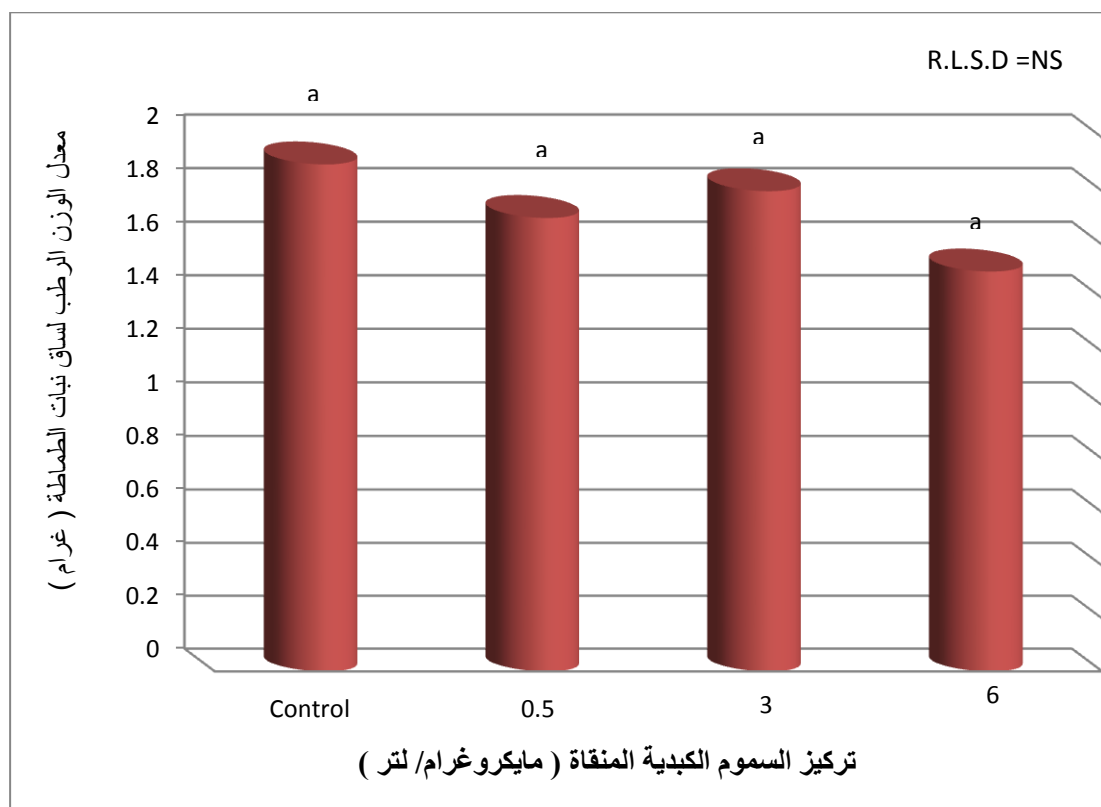
يتضح من الشكل (19) ان للزيادة في تركيز السموم الكبدية المنقاة تأثيرا معنويا $P \leq 0.05$ في معدل قطر ساق نبات الطماطة اذ انخفض معدل قطر الساق في المجموعة المعاملة بالتركيزين 3 و 6 مايكروغرام / لتر الى 3.1 و 2.9 ملليمتر على التوالي مقارنة بمجموعتي السيطرة والمجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام/ لتر التي لم تسجل فروقا معنوية في ما بينهما ففي مجموعة السيطرة بلغ معدل قطر الساق 3.8 ملليمتر والتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر بلغ معدل قطر الساق 3.7 ملليمتر .



شكل (19) معدل قطر الساق لنبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند

3- 6 - 3 : معدل الوزن الرطب لساق نبات الطماطة

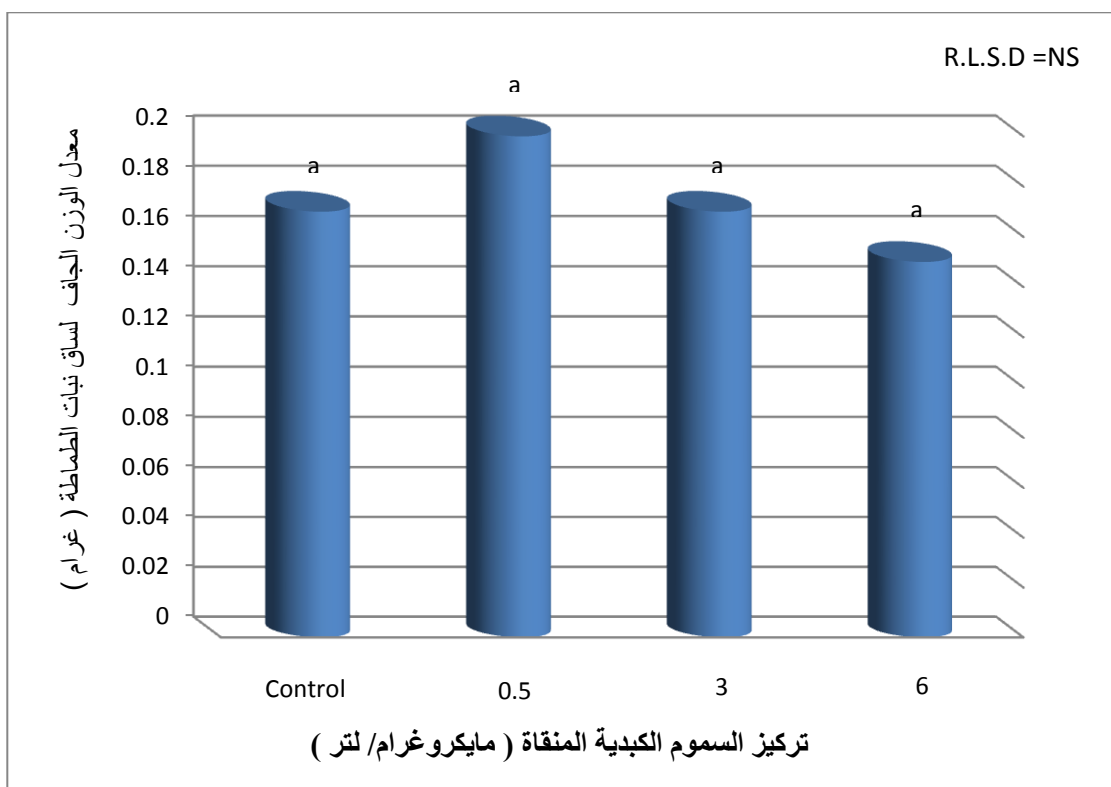
بينت نتائج الدراسة انه يوجد انخفاض غير معنوي $P \geq 0.05$ في معدل الوزن الرطب لساق نبات الطماطة بعد معاملتها لمدة اربعة وعشرين يوما بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة ولاسيما عند المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل الوزن الرطب 1.5 غرام و 1.8 غرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر و 1.7 غرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ معدل الوزن الرطب للساق فيها 1.9 غرام شكل (20) .



شكل (20) معدل الوزن الرطب لساق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى

3-6-4 : معدل الوزن الجاف لساق نبات الطماطة

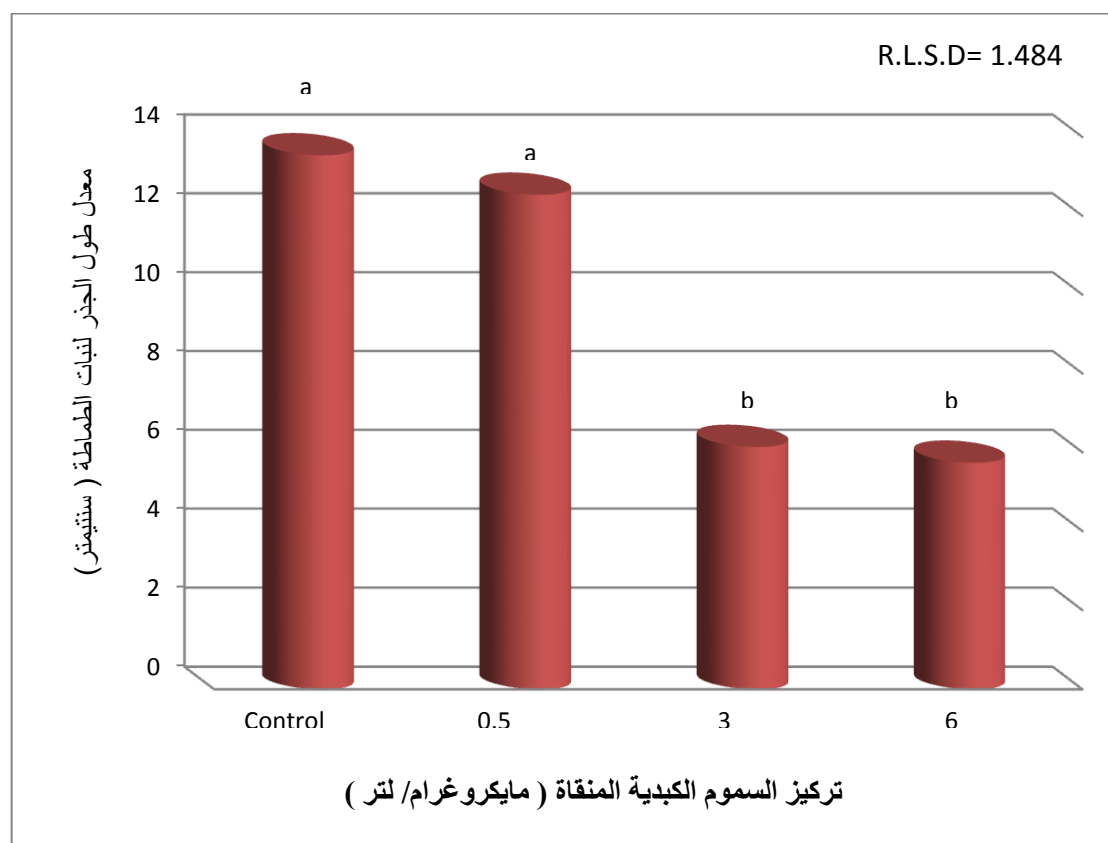
وضحت نتائج الدراسة ان هنالك انخفاضا غير معنوي $P \geq 0.05$ في الوزن الجاف لساق نبات الطماطة بعد معاملتها لمدة اربعة وعشرين يوما بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة ولاسيما عند المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل الوزن الجاف 0.15 غرام و 0.17 غرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر في حين بلغ معدل الوزن الجاف للساق 0.2 غرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ معدل الوزن الجاف لساق نبات الطماطة فيها 0.17 غرام (شكل (21) .



شكل (21) معدل الوزن الجاف لساق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر- المزرق *O.pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية

3- 6 - 5 : معدل طول الجذر الوتدي لنبات الطماطة

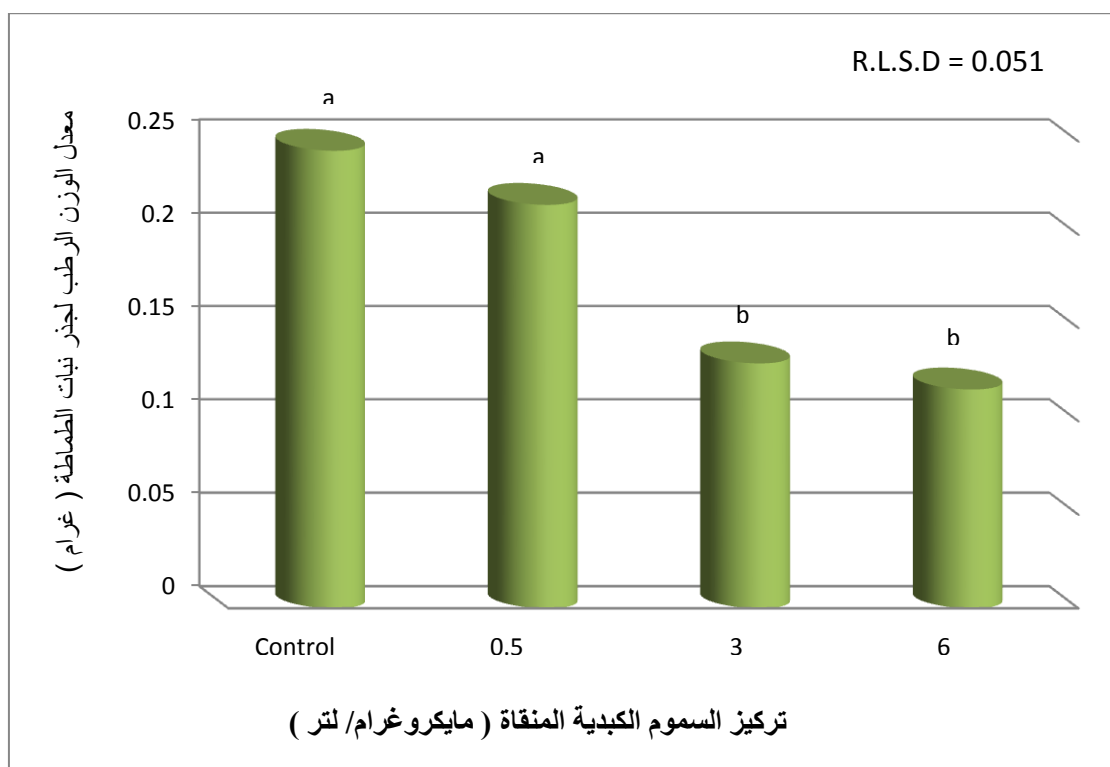
بينت النتائج الموضحة في الشكل (22) ان التراكيز المتزايدة للسموم الكبدية احدثت فروقا معنوية $P \leq 0.05$ في معدل طول الجذر لنبات الطماطة اذ انخفض معدل طول الجذر في المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر الى 5.73 سنتيمتر و 6.13 سنتيمتر في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر في حين بلغ معدل طول الجذر 12.53 سنتيمتر في المجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر اذ سجلت زيادة معنوية في معدل طول الجذر مقارنة بالتراكيز الاخرى للسموم الكبدية في حين انها لم تسجل فرقا معنويا مع معدل طول الجذر في مجموعة السيطرة التي بلغ معدل الطول فيها 13.53 سنتيمتر .



شكل (22) معدل طول الجذر لنبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-6-6 : معدل الوزن الرطب لجذر نبات الطماطة .

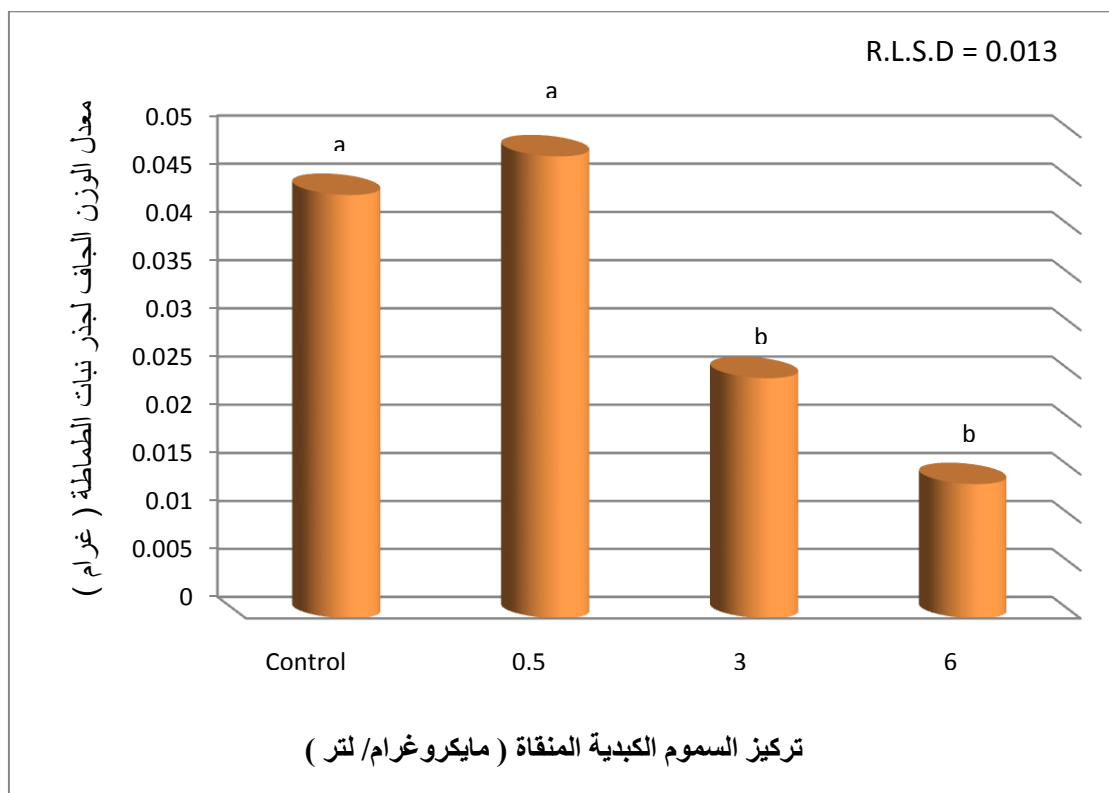
أظهرت نتائج الدراسة ان التراكيز المتزايدة للسموم الكبدية احدثت نقصان معنوي $P \leq 0.05$ في معدل الوزن الرطب لجذر نبات الطماطة بعد معاملتها لمدة اربعة وعشرين يوما بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة اذ لوحظ انخفاض معدل الوزن الرطب للجذر في المجموعة المعاملة بالتراكيز 6 مايكروغرام / لتر الى 0.117 غرام كذلك في المجموعة المعاملة بالتراكيز 3 مايكروغرام / لتر اذ بلغ معدل الوزن الرطب للجذر فيها 0.131 غرام مقارنة بمجموعة السيطرة في حين لم تسجل المجموعة المعاملة بالتراكيز 0.5 مايكروغرام/لتر فروقا معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة اذ بلغ معدل الوزن الرطب لجذر نبات الطماطة فيهما 0.245 و 0.216 غرام على التوالي شكل (23) .



شكل (23) معدل الوزن الرطب لجذر نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$) .

3-6-7 : معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة

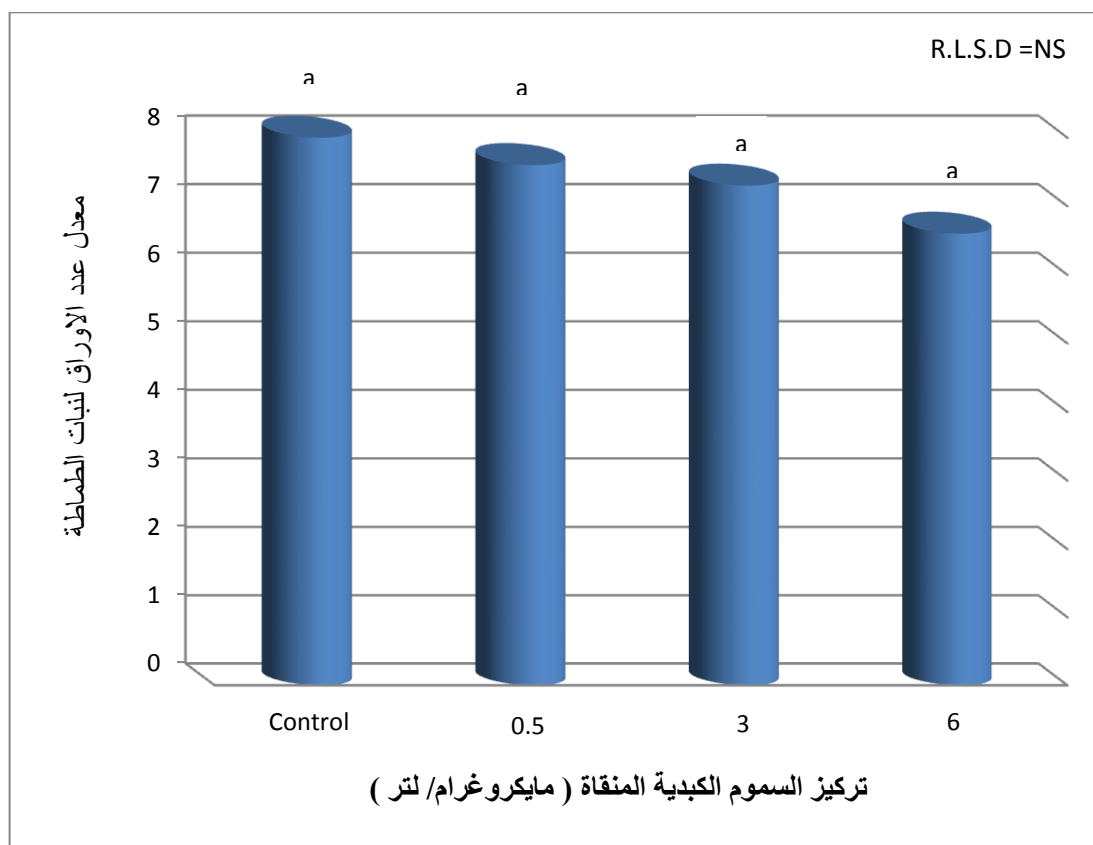
يتضح من شكل (24) ان للتراكيز المختلفة من السموم الكبدية المنقاة تأثيرا معنويا $P \leq 0.05$ في معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة بعد معاملتها لمدة اربعة وعشرين يوما بتلك السموم اذ انخفض معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة في المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر الى 0.014 غرام والمجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/لتر الى 0.025 غرام مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ المعدل فيها 0.044 غرام والمجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر التي لم تسجل فروقا معنوية مع مجموعة السيطرة اذ بلغ معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة فيها 0.048 غرام .



شكل (24) معدل الوزن الجاف لجذر نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-6-8 : معدل عدد اوراق نبات الطماطة

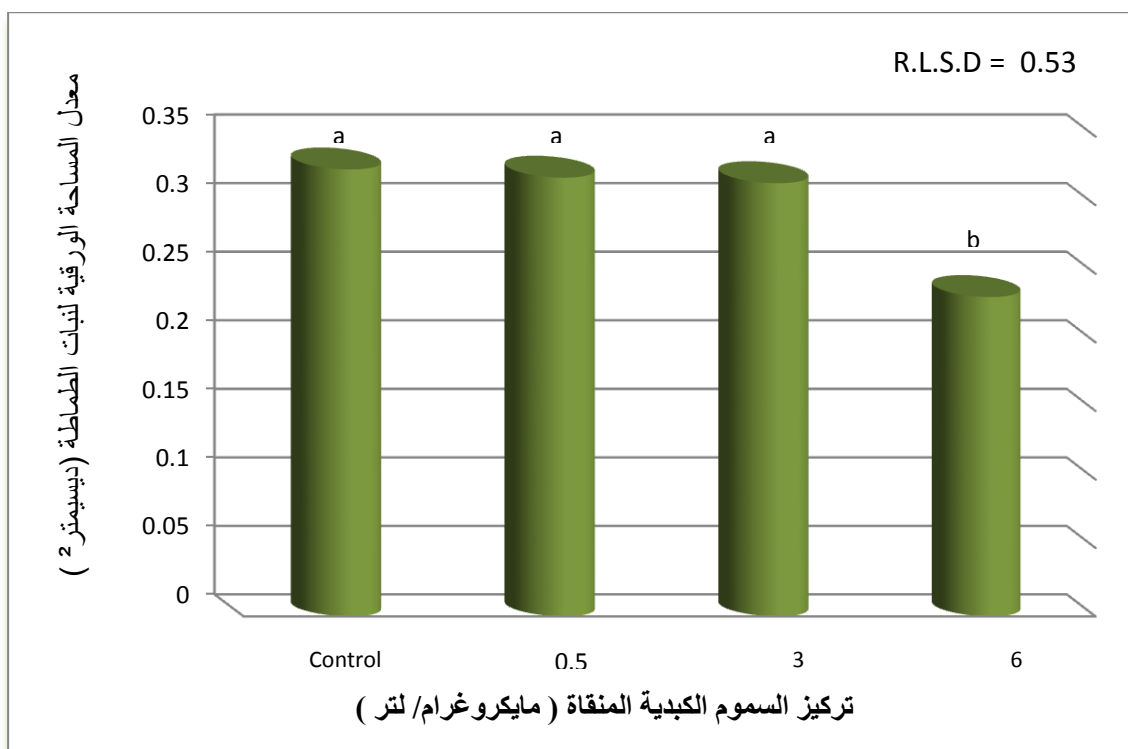
لوحظ انخفاض في معدل عدد الاوراق لنبات الطماطة عند تعرضها لمدة اربعة وعشرين يوما لتراكيز مختلفة من السموم الكبدية لكنه لم يصل الى مستوى المعنوية $P \geq 0.05$ اذ بلغ معدل عدد الاوراق 6.6 ورقات في مجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر و 7.3 ورقات في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر و 7.6 ورقات في المجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ عدد الاوراق فيها 8 ورقات شكل (25).



شكل (25) معدل عدد اوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-6-9 : معدل المساحة الورقية لنبات الطماطة

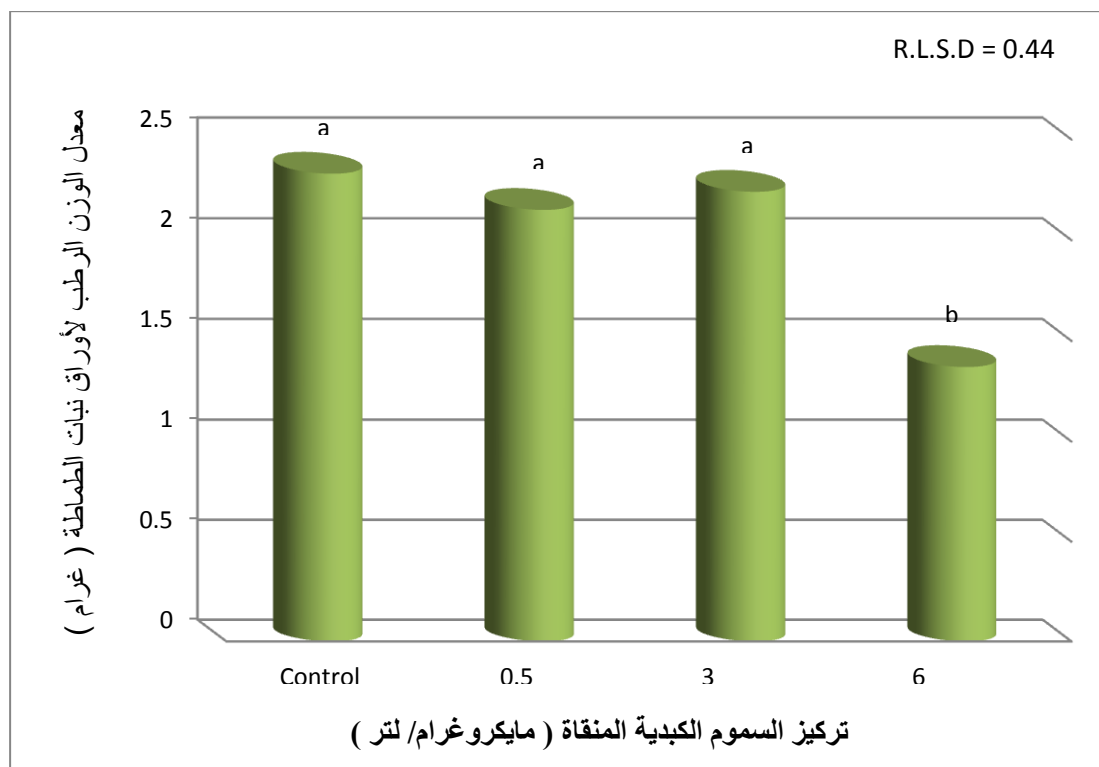
تشير النتائج المبينة في الشكل (26) ان تعريض نبات الطماطة لتراكيز مختلفة من السموم الكبدية المنقاة احدث فروقا معنوية $P \leq 0.05$ في معدل المساحات السطحية لأوراق نبات الطماطة اذ انخفض معدل المساحة السطحية في نباتات المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر فقط الى 0.233 ديسيمتر مربع مقارنة بالمجاميع الاخرى التي لم تسجل فروقا معنوية في ما بينها ففي مجموعة السيطرة بلغ معدل المساحة السطحية لأوراق النباتات فيها 0.326 ديسيمتر مربع وبلغ 0.316 ديسيمتر مربع في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر في حين بلغ 0.32 ديسيمتر مربع في المجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر .



شكل (26) معدل المساحة السطحية لأوراق نبات الطماطة تحت تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-6-10 : معدل الوزن الرطب لأوراق نبات الطماطة

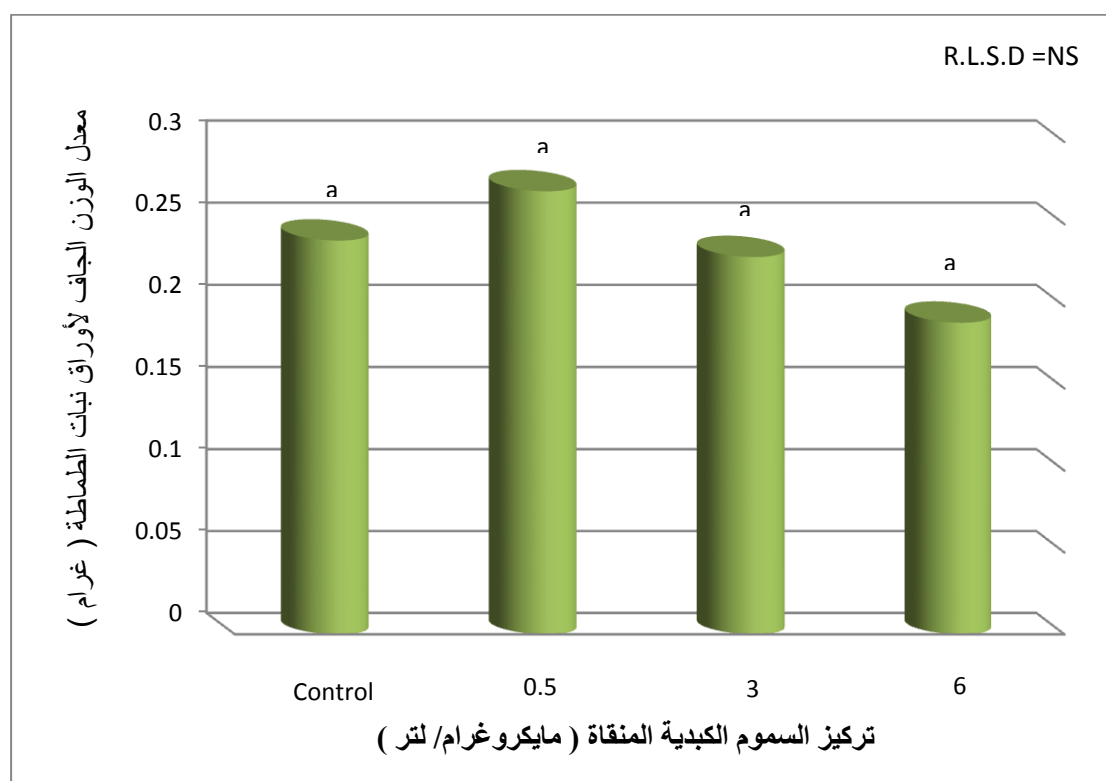
يتضح من شكل (27) ان التعرض لتراكيز متزايدة من السموم الكبدية المنقاة تأثيرا معنويا $P \leq 0.05$ في معدل الوزن الرطب في اوراق نبات الطماطة عند معاملتها لمدة اربعة وعشرين يوما بتلك السموم ، اذ انخفض معدل الوزن الرطب لأوراق النبات في المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر الى 1.37 غرام مقارنة بمجموعة السيطرة 2.33 غرام والمجاميع الاخرى التي لم تسجل اي فروق معنوية في ما بينها اذ بلغ 2.24 غرام في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/ لتر في حين بلغ معدل الوزن الرطب للأوراق 2.15 غرام للنباتات المعاملة بتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر .



شكل (27) معدل الوزن الرطب لأوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3- 6 - 11 : معدل الوزن الجاف لأوراق نبات الطماطة

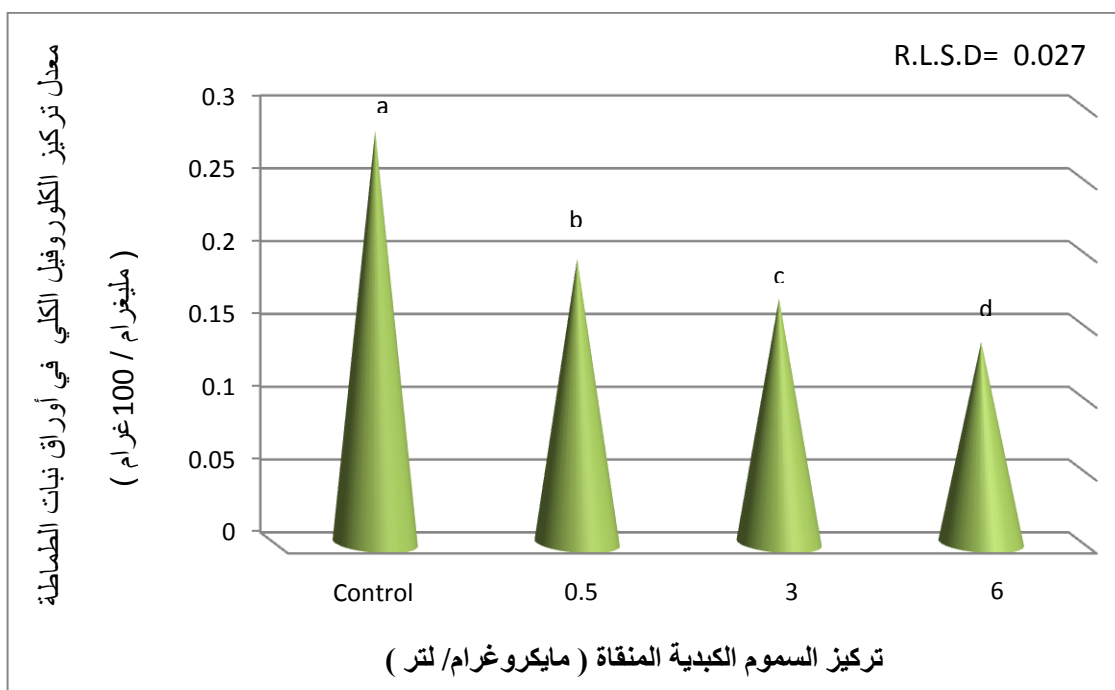
اظهرت نتائج الدراسة ان هنالك انخفاضا في معدل الوزن الجاف لأوراق نبات الطماطة عند معاملتها لمدة اربعة وعشرين يوما بتركيز مختلف من السموم الكبدية ولاسيما في المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر فقط اذ بلغ المعدل 0.19 غرام لكنه لم يرتق الى مستوى المعنوية $P \geq 0.05$ مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغ معدل الوزن الجاف لأوراق نبات الطماطة فيها 0.24 غرام والمجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام / لتر التي بلغ المعدل فيها 0.23 غرام والمجموعة المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر التي بلغ المعدل فيها 0.27 غرام شكل (28) .



شكل (28) معدل الوزن الجاف لأوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MCs من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* (الاعمدة التي تأخذ نفس الحرف لا تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

3-6-12 : معدل تركيز الكلوروفيل الكلي لأوراق نبات الطماطة

بينت النتائج في شكل (29) ان معاملة نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية ولمدة اربعة وعشرين يوما كان له تأثيرٌ معنويٌّ $P \leq 0.05$ في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي اذ ان جميع المعاملات المعرضة للسموم الكبدية MCSs انخفض فيها معدل تركيز الكلوروفيل مقارنة بمجموعة السيطرة وان اقل معدل تركيز للكلوروفيل الكلي وجد في نباتات المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر الذي انخفض الى 0.138 مليغرام / 100غرام وزن رطب تلاه التركيز في المجموعة المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/لتر من السموم الكبدية بمعدل تركيز بلغ 0.168 مليغرام / 100غرام وزن رطب تلاه المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر بمعدل تركيز بلغ 0.195 مليغرام / 100غرام وزن رطب مقارنة بمعدل تركيز الكلوروفيل البالغ 0.283 مليغرام / 100غرام وزن رطب في مجموعة السيطرة ، اذ انخفض معدل تركيز الكلوروفيل الكلي بزيادة تركيز السموم الكبدية المنقاة ، كما ظهر لون شاحب على اوراق نبات الطماطة في المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر كما موضح في صورة (20) .



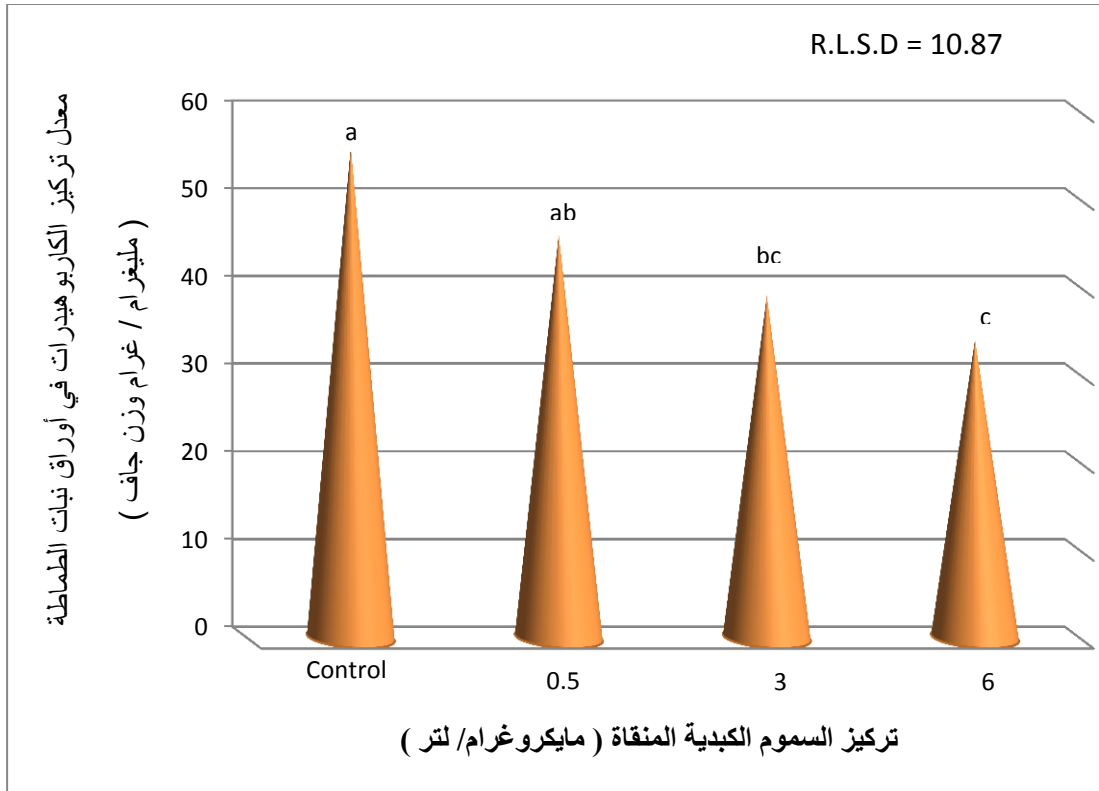
شكل (29) تأثير السموم الكبدية MCSs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي في أوراق نبات الطماطة (الاعمدة التي تأخذ حروف مختلفة تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).



صورة (20) تبين تأثير السموم الكبدية MCs المنقاة والمغزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* في لون أوراق نبات الطماطة A مجموعة السيطرة B المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر .

3- 6 - 13 : معدل تركيز الكربوهيدرات الذائبة الكلية في اوراق نبات الطماطة

بينت نتائج الدراسة ان معاملة نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية ولمدة اربعة وعشرين يوما كان له تأثيرٌ معنويٌّ $P \leq 0.05$ في معدل تركيز الكربوهيدرات الكلي اذ انخفض تركيزها عند المعاملة بالتركيزين 3 و 6 مايكروغرام/ لتر مقارنة بمجموعة السيطرة وان اقل معدل تركيز الكربوهيدرات وجد في نباتات المجموعة المعاملة بالتركيز الاعلى 6 مايكروغرام/لتر والذي انخفض الى 33.64 مليغرام/غرام وزن جاف ثم تلاها المعاملة بالتركيز 3 مايكروغرام/لتر بتركيز 38.73 مليغرام/غرام وزن جاف اما المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر كان معدل تركيز الكربوهيدرات فيها 45.94 مليغرام/غرام وزن جاف على الرغم من الانخفاض الواضح في التركيز لكنه لم يسجل فرقا معنويا مع مجموعة السيطرة التي بلغ معدل تركيز الكربوهيدرات فيها 55.95 مليغرام/غرام وزن جاف اذ لوحظ انخفاض معدل تركيز الكربوهيدرات بزيادة تركيز السموم الكبدية شكل (30) .



شكل (30) معدل تركيز الكربوهيدرات الذائبة الكلية في أوراق نبات الطماطة تحت تأثير تراكيز مختلفة من السموم الكبدية MGS المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق (*O. pseudogeminata*) الاعمدة التي تأخذ حروف مختلفة تختلف معنويا فيما بينها وحسب اختبار R.L.S.D وعند مستوى معنوية $P \leq 0.05$).

الفصل الرابع

المناقشة

Discussion

4 : المناقشة Discussion 1-4 : عزل الطحالب وتنقيتها

أظهرت نتائج العزل والتنقية في هذه الدراسة وجود أجناس مختلفة من الطحالب الخضراء- المزرقة في بيئتنا المحلية وامكانية عزلها من التربة وقدرة انواعها على إنتاج السموم الكبدية Hepatotoxins اذ عزلت ثلاثة أنواع وشخصت ونقيت وأكثر وهي تابعة لثلاثة أجناس من الطحالب الخضراء- المزرقة من التربة في محافظتي البصرة وميسان ، تمثلت بكل من الطحالب الاخضر- المزرق *A. clathrata* و *M. flos-aque* و *O. pseudogeminata* ولم يسجل سابقا عزل طحالب خضراء- مزرقة من التربة وتنقيتها واكتاها في القطر قبل هذه الدراسة لذا يمكن عدّها الدراسة الأولى التي نقيت فيها السموم الكبدية وقدرت تراكيزها وبيان تأثيرها في نبات الطماطة نوع *L. esculatum* Maill ، اذ اقتصرّت الدراسات السابقة على عزل الطحالب الخضراء- المزرقة من البيئة المائية وتنقيتها كدراسة الركابي (2002) حول قابلية الطحالب *M.aeruginosa* على إنتاج السم الكبدى Microcystin - LR ومدى تأثير العوامل البيئية مختبريا في كمية المادة السامة المنتجة وكذلك الدراسة البيئية والبايوكيميائية للشاهين (2002) حول تكوين السموم النوعية في محطات مياه الشرب في محافظة البصرة وتشخيص خمسة انواع من الطحالب الخضراء- المزرقة المعروفة بقابليتها على إنتاج السموم و دراسة الحلفي (2007) التي تضمنت دراسة بعض التأثيرات النسيجية والحيوية للسم المنتج من الطحلب *M.aeruginosa* في الفئران المختبرية ودراسة السلطان (2007) التي تضمنت عزل اربعة انواع من الطحالب الخضراء- المزرقة و تشخيصها و تنقيتها وهي كل من الطحالب الخضراء- المزرقة *Calothrix parietina* و *Microcystis flos-aque* و *Microcystis aeruginosa* و *Hapalosiphon Welwitschii* فضلا عن تنقية السموم الكبدية وتشخيصها كما ونوعا وتحديد سميتها باستخدام تقنية HPLC واختبار طيف الاشعة فوق البنفسجية و تحت الحمراء، و كذلك دراسة الرديني (2013) التي تضمنت دراسة التأثير السام لطحلب *Lyngbya martensiana* في سمكة *Xiphophorus helleri* و دراسة طالب (2013) التي تضمنت دراسة تأثير السم الكبدى المنتج من الطحلب *Nostoc carneum* في نوعين من الاسماك هما سمكة الخشني *Liza abu* و سمكة الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* ، و دراسة محمود (2014) التي تضمنت تشخيصا كميًا ونوعياً للهائمات النباتية في بعض محطات تصفية مياه الشرب في محافظة البصرة جنوب العراق وقياس تركيز بعض المغذيات و تحديد تركيز كلوروفيل a- وتقدير تركيز السموم الكبدية المنتجة من بعض

الطحالب السامة في تلك المحطات و باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم ELIZA ودراسة عبيد (2017) التي تضمنت دراسة ثمانية انواع من الطحالب الخضر-المزرقة وبيان قابليتها في انتاج السموم الكبدية والعصبية من بعض المسطحات المائية في محافظة البصرة جنوب العراق . لذا بينت هذه الدراسة ان التربة تعد بيئة مناسبة لنمو انواع مختلفة من الطحالب الخضر – المزرقة التي قسم منها له القابلية على انتاج السموم الكبدية MCs وامكانية عزلها مختبريا وتشخيصها وتنقيتها واكثرها .

2-4 : منحنى النمو

اظهرت الدراسة أن هنالك تفاوتاً في ثابت النمو وزمن تكاثر الجيل بين الانواع المعزولة والمنقاة في هذه الدراسة اذ سجل الطحلب الاخضر المزرق *A. clathrata* أعلى ثابت نمو بلغ $K=0.211$ مقارنة بالانواع الاخرى اما زمن تضاعف فقد استغرق $G=1.425$ ساعة . اما الطحلب *M. flos-aque* فقد سجل ثابت نمو $K= 0.175$ وزمن تضاعف $G=1.718$ ، اذ سجل ارتفاعاً في ثابت النمو ووقت اقل لتكاثر الجيل مقارنة بدراسة السلطان (2007) على ذات الطحلب المعزول من نهر العشار الذي سجل ثابت نمو $K= 0.149$ وزمن تضاعف $G=2.1$ وربما يعود ذلك الاختلاف الى نوع الوسط الزراعي المستخدم اذ استخدم الوسط الزراعي BG-11 في هذه الدراسة اما في دراسة السلطان فقد استخدم الوسط الزراعي Chu10 او ربما يعود الى اختلاف البيئة التي جمع منها الطحلب او ظروف الزرع ، لكنها اتفقت الى حد ما ودراسة عبيد (2017) على ذات الطحلب المعزول من بعض المسطحات المائية في محافظة البصرة اذ سجل ثابت نمو بلغ $K = 0.197$ وزمن تكاثر الجيل بلغ $G = 1.527$.

في حين اظهر الطحلب الخيطي *O. pseudogeminata* ثابت نمو بلغ $K= 0.144$ وزمن تضاعف استغرق $G=2.09$ ساعة وهذه النتيجة مقاربة لدراسة طالب (2013) في رسم منحنى النمو للطحلب الخيطي *N.carnenum* بثابت نمو بلغ $K=0.146$ و زمن تكاثر للجيل بلغ $G=2.06$ لكنها اختلفت عن دراسة عبيد (2017) على الطحلب *O. pseudogeminata* وربما يعود ذلك الاختلاف الى نوع الوسط الزراعي المستخدم اذ استخدم الوسط الزراعي BG-11 في هذه الدراسة اما في دراسة عبيد فقد استخدم الوسط الزراعي Chu10 او ربما يعود الى اختلاف البيئة التي جمع منها الطحلب او ظروف الزرع او ربما زراعته في انابيب اختبار ادت الى الحد من النمو بسبب ضيق المساحة السطحية للأنابيب مقارنة بالدوارق .

3-4 : التشخيص الكمي والنوعي للسموم الكبدية Microcystins بوساطة تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم Enzyme Linked Immunosorbent Assay المرتبط بالانزيم Technique (ELISA)

تبين من نتائج هذه الدراسة أن هنالك تفاوتاً ملحوظاً في قابلية الطحالب لإنتاج السموم الكبدية بتثبيت كل من العوامل البيئية المختبرية و الوسط الزراعي ووزن الكتلة الحية المستخلصة منها و قد يعزى هذا التفاوت الى الاختلافات الوراثية والوظيفية لكل نوع طحلي، إذ أظهرت النتائج أن الطحلب الاخضر- المزرق *A. clathrata* ذي التركيز 0.324 مايكروغرام/ لتر لكل 50 مليغرام وزن جاف هو الاقل انتاجية للسموم الكبدية مقارنة بالطحالب الاخرى المعزولة خلال الدراسة ، ومن الجدير ذكره ان قياس تركيز السموم الكبدية لهذا الجنس والنوع تعد الاولى من نوعها محليا .

كما ان تركيز السموم المنقاة من 50 مليغرام من الكتلة الحية للطحلب الاخضر- المزرق *O. pseudogeminata* قد بلغ 1.47 مايكروغرام / لتر وهذه النتيجة غير متفقة مع دراسة عبيد (2017) إذ ان تركيز السموم الكبدية في الطحلب المعزول من مياه شط العرب بلغ 3.855 مايكروغرام/لتر وربما يعود ذلك الاختلاف الى نوع الوسط الزراعي المستخدم في التتمية إذ استخدم الوسط الزراعي BG11 في هذه الدراسة اما في دراسة عبيد (2017) فاستخدم الوسط الزراعي Ch10 او الى اختلاف البيئة التي عزل منها الطحلب . في حين اتفقت الدراسة المذكورة انفاً مع تركيز السموم الكبدية المستخلصة من 50 مليغرام من الكتلة الحية للطحلبين الخيطيين *Stigonema informe* و *Lynngbya rubida* المعزولين من مياه شط العرب في محافظة البصرة جنوبي العراق و بالاعتماد على عملية التشخيص باستعمال تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم ELISA قد بلغ 1.753 و 1.309 مايكروغرام/لتر على التوالي .

كما بلغ تركيز السموم الكبدية 0.734 مايكروغرام / لتر في الطحلب الاخضر- المزرق *M. flos-aque* وان هذا التركيز للسموم الكبدية مقارب لدراسة عبيد (2017) في تقديره للسم الكبدي إذ بلغ تركيز السم المستخلص من 50 مليغرام من الكتلة الحية المجفدة للطحلب الاخضر- المزرق *M. flos-aque* 0.973 مايكروغرام/لتر . وهذا يدل على ان النوع الواحد وان اختلفت البيئة المتواجد فيها فانه يمتلك نفس القدرة لإنتاج ذلك النوع من السموم .

4-4: تأثير السموم الكبدية في نسبة انبات البذور وسرعة الانبات وطول الرويشة والجذير والوزن الرطب والجاف لهما

لقد أدى تعرض بذور نبات الطماطة نوع *L. esculatum* للسموم الكبدية MCs المنقاة من الطحلب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* الى التقليل بشكل معنوي $P \leq 0.05$ من نسبة الانبات اذ انخفض معدل انبات البذور وأثر في سرعة انباتها وفي نمو الجذير والرويشة وتطورهما والوزن الرطب والجاف لهما ايضا . وتتفق هذه النتائج مع دراسة (El Khalloufi et al (2012) عند معاملته بذور نبات الطماطة والشتلات بمستخلص الطحالب الخضراء-المزرق الحاوية على السموم الكبدية MC، واتفقت مع دراسات أخرى أيضا في أن إنبات بذور عدة أنواع من النباتات وهي العدس نوع *Lens esculenta* والسلمج نوع *Brassica napus* والارز نوع *Oryza Sativa* و القمح نوع *Triticum duru* والذرة الصفراء نوع *Zea mays* والبقوليا نوع *Pisum sativum* والخس نوع *Lactuca sativa* قد تأثرت سلبا بمستخلصات الطحالب الخضراء-المزرق الحاوية السموم الكبدية نوع MCs (Chen et al., 2004; Saqrane et al., 2008; Corbel et al., 2015 ; Bittencourt-Oliveira et al., 2014) ، كذلك بينت نتائج هذه الدراسة أن التراكيز المختلفة من السموم الكبدية التي اثرت سلبا في معدل انبات البذور كان تأثيرها يتناسب عكسيا مع زيادة تركيزها وهذه النتيجة اتفقت مع دراسة (Sengar et al (2010) ايضا في أن نقع بذور نبات الماش نوع *Vigna radiata* في مستخلص الطحلب الاخضر-المزرق *M. aeruginosa* قد سبب انخفاضاً في نمو الجذور بطريقة نسبية مع زيادة تركيز المستخلص اذ انه كلما زاد التركيز انخفض النمو . واتفقت نتائج هذه الدراسة ايضا مع دراسة Pflugmacher, 2007b اذ ذكر ان تعريض بذور نبات الذرة الصفراء نوع *Zea mays* لـ 5 مايكروغرام/لتر من السموم الكبدية قد اثر في معدل الانبات وطول الجذر والساق ومعدل الكلوروفيل الكلي Total chlorophyll content (a+b) .

كما ذكر الباحثون ايضا Pflugmacher et al., 2006 ان تعريض نبات البرسيم الحجازي نوع *Medicago sativa* لـ 5 مايكروغرام/لتر من السموم الكبدية نوع MCs قد اثر في معدل الانبات وطول الجذر بشكل معنوي .

وقد يعزى السبب في ذلك الى ان السموم الكبدية MCs تقلل من امتصاص النباتات للماء مما أدى إلى الحد من النمو (El Khalloufi et al., 2012 ; Wang et al., 2011) . وان الماء يعد احد المتطلبات الرئيسية لانبات البذور فأدما عجزت البذرة عن الحصول على الكمية الملائمة للماء فان

ذلك يؤثر سلبا في انباتها (Creelman *et al* , 1990) . وربما يعود السبب في قلة امتصاص الماء من قبل جذور نبات الطماطة الى تثبيط نموها بفعل تأثير السموم الكبدية كما وجد في هذه الدراسة .

4-5: تراكم السموم في النبات وتأثيرها على معدلات النمو الخضري

يمكن أن يكون لوجود الطحالب الخضراء-المزرقة او سمومها في مياه الري وفي التربة واستمرارها أثر سلبي كبير على الكائنات الحية الموجودة في التربة وكذلك في نمو النباتات المزروعة فيها وتطورها ، ولغرض تقييم المخاطر الناجمة عن تأثير تلك السموم من المهم أن نتعرف فيما إذ كان بمقدورها ان تنتقل وتتراكم تلك السموم في انسجتها الصالحة للتغذية نتيجة تعرضها للري بمياه ملوثة بالطحالب الخضراء-المزرقة او بتراكيز مختلفة من سمومها .

في هذه الدراسة قيم التراكم الحيوي لسموم الطحالب الخضراء المزرقة نوع MCs في مختلف اجزاء نبات الطماطة بعمر شهرين بعد الري لمدة 24 يوما بمياه تحتوي على تراكيز مختلفة من تلك السموم وتميزت هذه الدراسة عن اغلب الدراسات الاخرى بانها ابتعدت عن التراكيز العالية واستخدمت تراكيز تحاكي البيئة الطبيعية تمثلت بالتركيز (0 و 0.5 و 3 و 6) مايكروغرام / لتر والمنقاة من الطحالب الاخضر المزرق *O. pseudogeminata* لانه انتج اعلى تركيز للسموم الكبدية المستخلصة من بين الطحالب الخضراء-المزرقة المعزولة والمنقاة قيد هذه الدراسة اذ استخدم التركيز 0.5 مايكروغرام / لتر وهو تركيز اقل من التراكيز المسموح بها عالميا وبالباغة 1 مايكروغرام/لتر حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية (WHO,1999) لمعرفة تأثيره في نمو نبات الطماطة بمجموعه الجذري والخضري وانبات البذور ، وكذلك استخدمت تراكيز اعلى من ذلك تمثلت بالتركيزين 3 و 6 مايكروغرام / لتر لمعرفة تأثير التراكيز الاعلى والأوطأ من الحد المسموح به للسموم الكبدية ومدى تأثيرها في نمو النباتات ولاسيما على نبات اقتصادي مهم تمثل بنبات الطماطة نوع *L. esculentum* Maill. وقد استخلصت تلك السموم وقيست تراكيزها ومراكمتها حيويا في أنسجة النبات ، اذ اتفقت هذه النتيجة ومجمل الدراسات السابقة التي نصت على ان سموم الطحالب الخضراء-المزرقة ، ولاسيما المايكروستيتينات يمكن أن تتراكم حيويا في مختلف المحاصيل الزراعية المروية بالمياه الملوثة بالطحالب الخضراء المزرقة او سمومها (Codd *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2004; Jarvenpaa *et al.*, 2007; Crush *et al.*, 2008; Mohamed and Al Shehri, 2009; Hereman and Bittencourt- Oliveira, 2012; Gutierrez-Praena *et al.*, 2014; Bittencourt-Oliveira *et al.*, 2016; Cordeiro-Araújo *et al.*, 2016; Machado *et al.*, 2017) .

ان الآلية الرئيسية لعمل السموم الكبدية في كل من الحيوانات والنباتات الراقية هي تثبيط كل من بروتينات Serine/threonine protein phosphatases 1 and 2A (PP; PP1 and PP2A) بواسطة الارتباط بأواصر تساهمية (MacKintosh *et al.*, 1990; Dawson, 1998) . وعلى الرغم من أن الجزيئات المستهدفة تبدو هي نفسها في كل من الحيوانات والنباتات الراقية ، لكن آلية امتصاص النباتات لسموم الطحالب الخضر-المزرقة MCs غير مستكشفة الى الان ولم يتعرف بعد حوامل محددة لتلك السموم في النباتات . ومع ذلك من الممكن ان تكون تلك الحوامل مقاربة لتلك التي تنقل البيبتيدات والحوامض الأمينية في النباتات (Tegeder and Rentsch, 2010) وبما ان المايكروستستينات هي مركبات ببتيدية منخفضة الوزن الجزيئي ، فمن الممكن طرح فرضية أن ناقلات البيبتيد ممكن أن تشارك في نقل المايكروستستينات في النباتات والمساعدة في مراكمتها (Fischer *et al.*, 2005).

بينت نتائج هذه الدراسة ان بعد معاملة نبات الطماطة بتراكيز مختلفة من السموم الكبدية مختبريا ولمدة اربعة وعشرين يوما ان اعلى تركيز لتلك السموم وجد في نباتات المجموعة المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام / لتر تلتها المعاملات الاخرى ، اذ لوحظ انه بزيادة تركيز السموم تزداد قابلية النبات على مراكمة السم في انسجته عند مقارنتها بمجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق ودراسة Hereman and Bittencourt- Oliveira, (2012) اذ وجد ان كمية التراكيز المقاسة في النباتات تعتمد على كمية التراكيز الموجودة في المياه المستخدمة للري . وكذلك في دراسة اخرى وجد ان بعد 7 أيام فقط من ري نبات الخس بحجم 100 مليلتر من المياه التي تحتوي على 10 ميكروغرام / لتر من السموم الكبدية نوع MC-LR في ظروف مختبرية ، ان تراكيز تلك السموم في أنسجة اوراق الخس قد وصلت إلى 100 ميكروغرام / كيلوغرام من الوزن الرطب (Cordeiro-Araújo *et al.*, 2016) كذلك بينت نتائج هذه الدراسة ان هنالك اختلافات في مراكمة السموم الكبدية MCs في الاجزاء المختلفة لنبات الطماطة وان اعلى معدل لتراكمها الحيوي وجد في النباتات المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر وتحديدًا في الجذر اما اقل التراكيز فوجدت في اجزاء النباتات المعاملة بالتركيز 0.5 مايكروغرام / لتر و وجد بان الجذر هو اكثر اجزاء النبات مراكمة للسموم الكبدية ولجميع التراكيز مقارنة بالساق والاوراق على الرغم من ان جذر نبات الطماطة ليس هو الجزء المستخدم للتغذية من الانسان لكن يوجد الكثير من النباتات التي يكون فيها الجذر هو الجزء الصالح للغذاء ما يزيد من مخاطر التسمم بالسموم المتراكمة في جذور النباتات المعرضة للري بمياه حاوية طحالب خضر-مزرقة او سمومها ، لذا تعد التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة سامة للنبات والحيوان

والانسان ولاسيما ان التعرض اليومي المسموح به من السموم الكبدية الذي وضعته منظمة الصحة العالمية (WHO) (1998) هو 0.04 ميكروغرام / كغم من وزن الجسم / اليوم .

وهذه النتائج اتفقت ودراسة (Gutiérrez-Praena *et al.*, (2014) اذ وجد بعد سقي نبات الطماطة كل ثلاثة ايام بحجم 500 مللتر من المياه الحاوية 100 ميكروغرام / لتر من السموم الكبدية الخام ولمدة اسبوعين ان تركيز السم قد تراكم في الجذور بمقدار 1635.21 ميكروغرام / كيلوغرام من الوزن الرطب وهو التركيز الاعلى مقارنة بالأجزاء الاخرى.

كذلك أظهرت الدراسات على نبات البروكلي الاخضر Broccoli و نبات الخردل الابيض Mustard نوع *Sinapis alba* أن السموم الكبدية وجدت فقط في جذور تلك النباتات وبتراكيز منخفضة تراوح ما بين (0.9 - 2.4) ميكروغرام / كيلوغرام للقمبيط و (2.5 - 2.6) ميكروغرام / كيلوغرام من الوزن الرطب للخردل بعد تعريضها للسموم الكبدية بتركيزين (1 و 10) مايكروغرام / لتر لمدة (20 و 19) يوما على التوالي (Järvenpää *et al.*, 2007) .

كذلك بين (Machado *et al.*, (2017) في دراسته ان تراكم السموم الكبدية نوع MC-LR في نبات الجزر Carrots نوع *Daucus carota* قد بلغ 5 مايكروغرام / كيلوغرام من الوزن الرطب عند تعريض النبات للسموم الكبدية نوع MCs بتركيز (10 و 50) ميكروغرام / لتر لمدة 32 يوما بعد بلوغه عمر الشهر من الزراعة . وبما ان الجذر هو الجزء الصالح للأكل في نبات الجزر اذن هنالك مخاوف من امكانية انتقال السموم عبر السلسلة الغذائية وتهديده لصحة الانسان .

وكذلك اشار (Mohamed and Al Shehri (2009) في دراسته الى ان المحاصيل الزراعية المختلفة في الحقل والمروية بالمياه الجوفية الملوثة بتراكيز من السموم الكبدية MCs ما بين (0.3 - 1.8) ميكروغرام / لتر قد تراكت ما بين (50 و 1200) ميكروغرام / كغم من الوزن الرطب وقد بين ان معدل السموم الكبدية MCs في كل من أوراق النباتات وجذورها التي فحصت بصورة عشوائية وقد تراكت السموم الكبدية في جذورها بتراكيز أعلى مقارنة بالأوراق ومن تلك المحاصيل نباتات الفجل والجزر والبطاطا والبنجر وان الجزء الصالح للتغذية في تلك النباتات هو الجذر ما يؤلف خطرا أكبر، وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة في ان الجذر هو الجزء الذي يراكم السموم بدرجة عالية مقارنة مع بقية الاجزاء الاخرى للنبات وربما يعود السبب الى ان الجذر هو الجزء الذي يكون بتماس مباشر مع تلك السموم او قد توجد اليات دفاعية تحد من صعود السموم الى الاجزاء الاعلى او ربما تكون طبيعة تكوين انسجته لها القابلية على مراكمة السموم اكثر من انسجة الاجزاء الاخرى او ربما.

زيادة على التأثير المثبط للسموم الكبدية المنقاة في إنبات البذور وتراكمها الحيوي في اجزاء النبات المختلفة فإن تغيرات في النمو الخضري ظهرت بشكل واضح في نبات الطماطة عند تعرضه لسموم الطحالب الخضر-المزرقة MCs تمثلت بانخفاض في ارتفاع النبات وقطر الساق وطول الجذور وحجم الأوراق و الاوزان الرطبة والجافة . وهذه النتيجة تتفق مع دراسة (Dao et al., 2014) على الرغم من استخدامه تراكيز مرتفعة من السموم الكبدية ، اذ بين ان تأثيرات سموم الطحالب الخضر-المزرقة عند تركيز (20 و 200) مايكروغرام / لتر في نمو شتلات نبات الشلغم نوع *Brassica rapa* ونبات اللهانة الصينية المسطحة *Tatsoi* نوع *B. narinosa* ونبات الجرجير نوع *Nasturtium officinale* ادت الى حدوث انخفاض في الوزن الرطب وطول الساق والجذر ووجد أن التراكيز العالية من سموم الطحالب الخضر المزرقة كان لها التأثير الاكبر في الوزن الرطب عند تعرض النباتات لتلك السموم كذلك ثبت نمو الجذر في نبات الخس نوع *Lactuca sativa* عند تعرضه لمستخلص السموم الكبدية MCs بتراكيز من 5.9 إلى 56.4 ميكروغرام/ لتر (Pflugmacher et al., 2009) وحدث انخفاض في عدد الاوراق في النبات المائي *Spirodela oligorrhiza* ايضا (Pereira al., 2002) ونبات *Lemna gibba* (Romanowska-Duda and M. Tarczyńska , 2002) وانبخاخ نوع *Spinacia oleracea* (Saqrane et al., 2007) وانخفاض حجم اوراق نبات السبانخ نوع *var. Ballat* بشكل واضح جدا عند تعرضها لمستخلص الطحالب الخضر-المزرقة الحاوية للسموم الكبدية MCs (Pflugmacher et al., 2007a).

زيادة على التغيرات في النمو الخضري ، ظهر لون اخضر شاحب Chlorosis ايضا على أوراق نبات الطماطة التي تعرضت لتراكيز متزايدة من السموم الكبدية MCs وانخفاض في معدل تركيز الكلوروفيل والكاربوهيدرات . اذ تؤكد بعض الدراسات أن ظهور اللون الاخضر الشاحب وبداية التئخر مرتبط باضطرابات في عملية التمثيل الغذائي للنباتات المعرضة لتلك السموم ، مثل تثبيط التمثيل الضوئي والحد من محتوى الكلوروفيل وتفاوت تراكيز الكلوروفيل في نسيج أوراق الطماطة عكسيا مع تركيز المايكروسستينات المعرضة لها النبات واتفقت هذه النتائج وتلك الدراسات اذ بين El Khalloufi et al., 2013 في دراسته ان تعريض نبات البرسيم الحجازي نوع *Medicago sativa* لتراكيز (5 - 20) مايكروغرام / لتر من مستخلص السموم الكبدية الخام قد اثر في محتوى معدل الكلوروفيل الكلي .

وذكر (El Khalloufi et al., 2012) ايضا أن معاملة أوراق نبات الطماطة

L. esculentum بالمايكروسستينات بتراكيز راوحت بين (2.22 - 22.24) مايكروغرام / مليلتر

أدى إلى ظهور تنخر في أنسجة اوراق نبات الطماطة وانخفاض في محتوى كلوروفيل a و b ، وتبعه انخفاض في التمثيل الضوئي بنسبة 50 % .

وقد حصل على نتائج مماثلة على أوراق نبات التبغ نوع *Nicotiana tabacum* بعد تعرضها لتراكيز (60 و 120) ميكروغرام / مليلتر من المايكروسستينات نوع MC-RR ما أدى إلى موت الخلايا المبرمج Apoptosis للخلايا المعرضة للتركيز المنخفض ، وتنخر للنباتات التي عوملت بالتركيز الاعلى (Huang *et al.*, 2009) .

وربما يعود السبب في ظهور اللون الشاحب على اوراق نبات الطماطة بسبب انخفاض محتوى الكلوروفيل بفعل تأثير السموم الكبدية اذ سببت اضرارا في خلايا انسجة الجذور مما ادى الى تثبيط نموها وقلة امتصاص الماء من قبلها والذي بدوره ربما يؤدي الى نقص في المغذيات المعدنية الضرورية للنبات وخاصة العناصر الاساسية في بناء الكلوروفيل مثل المغنسيوم Mg وبذلك سوف تقل كفاءة عملية البناء الضوئي مما يقلل من الكربوهيدرات الذائبة الامر الذي له انعكاسا سلبيا على بعض مؤشرات النمو الخضري وكما وجد في هذه الدراسة . وان بعض الدراسات ذكرت ان تعرض النباتات الى اجهاد تأكسدي بفعل السموم او غيرها يسبب قلة في عنصر المغنسيوم (Cakmak & Marschner, 1992) .

اما بالنسبة للزيادة الحاصلة في بعض اجزاء نبات الطماطة عند تعرضها لتراكيز من السموم الكبدية فيوجد دراسات تؤكد أن بذور النباتات وشتلاتها التي تتعرض لسموم الطحالب الخضري-المزرق MCs تحفز الإجهاد التأكسدي وهو امر يتطلب التعاون بين مختلف اشكال انزيمات مضادات الأكسدة لإزالة الإجهاد الذي هو مسار محدد لإزالة السموم والذي ربما تعزى اليه الزيادة المعنوية في بعض مؤشرات النمو الخضري للنباتات عند تعرضها لتراكيز معينة من سموم الطحالب الخضري-المزرق ولاسيما التراكيز القليلة وكما وجد في هذه الدراسة .

وان الاجهاد التأكسدي يحدث من خلال انتاج جذور الاوكسجين التفاعلية (ROS) التي ربما قد تكون آلية بيوكيميائية مهمة نتجت بفعل سمية MC-LR في كل من الثدييات والخلايا النباتية (Pflugmacher, 2004; Pflugmacher *et al.*, 2006, 2007a, b; Pichardo and Pflugmacher, 2011; Zegura *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2015) .

وقد وجد (Azevedo *et al.*, 2014) في دراسته ان النباتات تنتج عدة مركبات بايوكيميائية Biochemical compounds ضد ظروف الإجهاد بشكل عام وزيادة السموم الكبدية على وجه الخصوص، مثل Osmolyte proline والمركبات الفينولية Phenolic compounds وقد ذكر

ايضا ان من اكثر الآثار ارتباطا مع التعرض لسموم الطحالب الخضراء المزرققة هو تعزيز الإجهاد التأكسدي في النباتات Oxidative stress .

كذلك ذكرت بعض الدراسات ان هنالك حدوث إجهاد تأكسدي واكسدة للدهون Oxidative

stress and lipid peroxidation (Saqrane *et al.*, 2008; Prieto *et al.*, 2011) .

وقد بينت بعض الدراسات أن النباتات تحفز ردود فعل دفاعية ضد الإجهاد التأكسدي من خلال تفعيل أيوض ثانوية مضادة للأكسدة التي تحد من الجذور الحرة التي تظهر بعد التعرض لسموم الطحالب الخضراء-المزرققة . فقد ذكر Pflugmacher *et al.*, 2007a في دراسته ان معاملة أصناف مختلفة من السبانخ *Spinacia oleracea* بتركيز 0.5 مايكروغرام/لتر من سموم الطحالب الخضراء-المزرققة ولمدة 6 أسابيع قد احدث زيادة في نشاط الانزيمات المضادة للأكسدة في كل من الانزيم catalase (CAT) وانزيم peroxidase (POD) وانزيم Superoxide dismutase (SOD) مقارنة بنباتات مجموعة السيطرة .

كذلك وجد El Khalloufi *et al.*, (2012) في دراسته ان هنالك زيادة في المركبات الفينولية ونشاط انزيم Peroxidase في نبات الطماطة المعرض لسموم الطحالب الخضراء-المزرققة اذ يمكن أن تكون تلك الزيادة مرتبطة بعملية إزالة السموم Detoxification process . وذكر ايضا Bittencourt-Oliveira *et al.* (2016) في دراسته أن نباتات الخس المعرضة الى تراكم منخفضة من سموم الطحالب الخضراء المزرققة النقية MCs كانت قادرة على السيطرة على الجهد التأكسدي Oxidative stress عن طريق استخدام انزيم glutathione-S-transferase (GST) كما أشار الى وجود زيادة معنوية لنشاط الانزيم في الجذور .

وعلى هذا الاساس فقد بينت هذه الدراسة ان سموم الطحالب الخضراء-المزرققة MCs تؤثر بشكل مباشر في إنبات البذور وتطور نمو النباتات ، ويمكن أن يؤدي تعرض البذور والشتلات للمياه الحاوية الطحالب الخضراء-المزرققة او سمومها الى آثار سلبية في دورة حياة النبات ولاسيما الطماطة مما قد يسبب ضررا على المحاصيل الزراعية وجودتها وبذلك فإن ري المحاصيل الزراعية عن طريق المياه الملوثة بالطحالب الخضراء-المزرققة او سمومها لا يثير مشكلات اقتصادية وبيئية فحسب ، بل مشكلات صحية لمستهلكي تلك المحاصيل أيضا ما يهدد الامن الغذائي وصحة المجتمع .

الاستنتاجات

و

التوصيات

Conclusions

&

Recommendations

الاستنتاجات

- 1- بينت الدراسة ان الانواع الثلاثة للطحالب الخضراء- المزرقة المعزولة والمنقاة من التربة خلال هذه الدراسة لها القدرة على انتاج السموم الكبدية Microcystins بتركيز عالية نسبيا ولاسيما الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata*.
- 2- بينت الدراسة ان معاملة بذور نبات الطماطة بالسموم الكبدية MCs المنقاة والمعزولة من الطحلب الاخضر-المزرق *O. pseudogeminata* ولاسيما التركيز 6 مايكروغرام/لتر قد سبب تأثيرا معنويا في التقليل من نسبة انبات البذور وسرعة الانبات وطول الرويشة والجذير والوزن الرطب والجاف لهما .
- 3- تبين ان نبات الطماطة له القدرة على مراكمة السموم الكبدية MCs في اجزائه ولاسيما الجذور ثم السيقان والاوراق وبتراكيز عالية وان لذلك التراكم تأثيرا معنويا في المجموع الجذري والخضري لنبات الطماطم وخصوصا عند المعاملة بالتركيز 6 مايكروغرام/لتر
- 4- ان معاملة نبات الطماطة بالسموم الكبدية المنقاة قد سببت تأثيرا معنويا سلبيا في معدل تركيز الكلوروفيل الكلي ومعدل تركيز الكاربوهدرات المخزونة وقد ازدادت التأثيرات بزيادة تركيز السموم الكبدية .

التوصيات

- توصي هذه الدراسة بتوجيه الاعتناء بدراسة شاملة للترب في مناطق اخرى وخاصة الزراعية منها لغرض تشخيص انواع جديدة من الطحالب الخضر- المزرقه و بيان قدرتها على انتاج السموم الكبدية والعصبية وغيرها من السموم لما له من اهمية بيئية واقتصادية وصحية .
- تحث الدراسة على مراقبة المياه التي تستعمل لري المحاصيل الزراعية ورصدها واختبار مدى جودة تلك المياه وملائمتها للري وتقدير تركيز السموم الطحلبية في تلك المياه لما لها من اهمية بيئية واقتصادية وصحية للبلد .
- توصي الدراسة ايضا بتوجيه الاعتناء بدراسة التأثيرات المظهرية والوظيفية للسموم الكبدية في نباتات اخرى غير نبات الطماطة وكذلك اختبار تأثير السموم الاخرى التي تنتجها الطحالب الخضر المزرقه مثل السموم العصبية على النباتات .
- توجيه الاعتناء بإجراء دراسة جينية لمعرفة الجينات المسؤولة عن انتاج السموم من الطحالب الخضر- المزرقه في بيئتنا المحلية في التربة والمياه باستخدام تقنيات متقدمة مثل PCR .
- توصي الدراسة بتوجيه الاعتناء بإقامة دورات توعية للمزارعين حول وجود الطحالب المنتجة للسموم في مياه الري او التربة الزراعية وتأثيراتها في النباتات والحيوانات .

المراجع العربية

Arabic

References

المراجع العربية

- الحلبي،** وصال عودة حسن (2007). دراسة بعض التأثيرات الحيوية للسم المنتج من الطحلب *M. aeruginosa* . رسالة ماجستير . كلية العلوم- جامعة البصرة .
- الجهاز المركزي للإحصاء** (2016) . انتاج المحاصيل والخضروات لسنة 2015 ، مديرية الاحصاء الزراعي ، وزارة التخطيط ، العراق.
- الرديني،** يسرى طارق ياسين (2013). عزل وتشخيص الطحلب الأخضر المزرق *Lyngbya martensiana Menegh. ex Gomont* ودراسة تأثيراته المرضية النسيجية على سمكة سيفيه الذنب *Xiphophorus helleri* وأجنثها . رسالة ماجستير . كلية التربية - جامعة البصرة .
- الركابي،** واثق جاسم محمد (2002). تأثير درجة الحرارة وشدة الاضاءة في بعض الخصائص الفسلجية للطحلب *Microcystis aeruginosa* . رسالة ماجستير . كلية العلوم - جامعة بابل .
- الراوي،** خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل . 488 ص .
- السلطان،** عماد يوسف عواد (2007). الاختبارات الحيوية لبعض أنواع الطحالب المجهرية السامة . أطروحة دكتوراه . كلية التربية - جامعة البصرة .
- الشاهين،** ميثم عبد الله (2002) . التكوين النوعي للطحالب وقابليتها على انتاج السموم في محطات مياه الشرب في مدينة البصرة . رسالة ماجستير . كلية العلوم - جامعة البصرة .
- الطائي،** أساور سليم محمد (2013) . استخلاص المركبات السامة من الطحلب الأخضر المزرق *Lyngbya aeuginosa Menegh* ودراسة تأثيراته النسيجية المرضية على ذكور الفئران المختبرية . *Albino mice musculus* . رسالة ماجستير . كلية التربية - جامعة البصرة .
- حسن،** احمد عبد المنعم. (1988) البصل والثوم. سلسلة العلوم والممارسة في المحاصيل الزراعية . الطبعة الاولى الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة - مصر.
- طالب،** سجي جعفر (2013) . دراسة تشريحية مقارنة لبعض الاعضاء لنوعين من الاسماك العظمية المغذات على الطحلب الاخضر المزرق (*Nostoc carneum* (Agardh,1884) . رسالة ماجستير. كلية التربية - جامعة البصرة .
- عبيد،** مروة عبد الكريم (2017) . قابلية بعض الطحالب الخضراء - المزرق المعزولة من بعض المسطحات المائية في محافظة البصرة / جنوب العراق على انتاج السموم . رسالة ماجستير . كلية التربية - جامعة البصرة .
- لطفى،** السعيد السيد فتحي لطفى (1986). تأثير صور النتروجين ومستويات الكالسيوم المختلفة في المحاليل المغذية على نمو وحاصل نبات الطماطة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة - جامعة بغداد .

محمود، جنائن يعرب (2014) . دراسة بيئة الهائمات النباتية في بعض محطات تصفية مياه الشرب في محافظة البصرة وتقدير تراكيز السموم الكبدية فيها . رسالة ماجستير . كلية التربية - جامعة البصرة .

المراجع الأجنبية

Foreign

References

المراجع الاجنبية

- Abe, T., Lawson, T., Weyers, J.D.B., Codd, G.A.** (1996). Microcystin-LR Inhibits photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* primary leaves: Implications for current spray irrigation practice. *New Phytologist*, 133: 651–658.
- Addico, G., Lawton, L., & Edwards, C.** (2017). Hepatotoxic-microcystins in two drinking water reservoirs in the Central Region of Ghana. *Toxicology and Forensic Medicine*, 2:1-11.
- 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.
- AL-Sultan, E., AL-Majeed, M., and Abbas, A.** (2015). Study of physiological and histological effects under very low concentration of cyanobacterial toxin MC-LR on Lab. Mice (*Mus musculus*). *Research J.of pharmaceutical, biological and chemical sciences*,5:546-670.
- AL-sultan, E.Y., Aubaeed, M. A.** (2017)a Extraction and purification of neurotoxin 9Anatoxin-a) from blue green alga *Pseudoanabaena limnetica* and indicating its histopathological effects on the brain of male laboratory mice (*Mus Musculus* L.). *J.of Biology Agriculture and Healthcare*, 7(18):77-87.
- AL-sultan, E.Y., Aubaeed, M. A.** (2017)b. solation four new species of blue-green algae and diagnosis, purification, cultivation from the Shatt Al-Arab waters in Basra, southern of Iraq, and evaluation their ability to produce neurotoxins (Anatoxin-a) and hepatotoxin (Microcystins). *Journal of Basra Research. (Sciences)*, 43:125-14.

- Athbi, A. M., Al-Ali, A.A., Alrudainy, Y.T. (2013).** Study toxicity of green algae *Lyngbya martensiana* Menegh. Ex Gomont and its Histopathological effects on gills of swordtail fish *Xiphophorus helleri*. *Journal of Basrah Researches (Sciences)*, 39(2): 42-70.
- Azevedo, C.C., Azevedo, J., Osorio, H., Vasconcelos, V., Campos, A. (2014).** Earlyphysiological and biochemical responses of rice seedlings to low concentration of microcystin-LR. *Ecotoxicology*, 23 (2): 107–121.
- Bacher, L., Manassaram-Baptiste, D., Leprell, R., Balton, B. (2015).** Cyanobacteria and green algae blooms ;a review of health and environmental data from the harmful algal bloom related illness surveillance system (HABISS). *Toxins*,7(4): 1048-1064.
- Baracaldo, P.S., Hayes, P.K., & Blank, C.E. (2005).** Morphological and habitat evolution in the cyanobacteria using a compartmentalization approach. *Geobiology*, 3:145–165.
- Bell, S.G., and Cobb, G.A. (1994).** Cyanobacterial toxins and human health. *Reviews in Medical Microbiology*. 5:256–64.
- Benton, Jones J Jr. (1999).** Tomato plant. Culture in the field, greenhouse, and home garden.
- Bittencourt-Oliveira, M. C., Hereman, T. C., Macedo-Silva, I., Cordeiro-Araújo, M. K., Sasaki, F. F. C., & Dias, C. T. S. (2015).** Sensitivity of salad greens (*Lactuca sativa* L. and *Eruca sativa* Mill.) exposed to crude extracts of toxic and non-toxic cyanobacteria. *Brazilian Journal of Biology*, 75(2): 273-278.

- Bittencourt-Oliveira, M.C., Cordeiro-Araújo, M.K., Chia, M.A., Arruda-Neto, J.D.T., Oliveira, T., Santos, F. (2016).** Lettuce irrigated with contaminated water: photosynthetic effects, antioxidative response and bioaccumulation of microcystin congeners. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128: 83–90.
- Bolch, C.J.S., Orr, P.T., Jones, G.J., Blackburn, S.J. (1999).** Genetic, morphological and toxicologic variation among globally distributed strains of *Nodularia* (Cyanobacteria). *Phycology*, 35:339–55.
- Bouaiacha, N., Via-Ordorika, L., Vandeveld, T., Fauchon, N. and Puiseux – Dao, S. (1998).** Toxic cyanoprokaryotes in resource. water: monitoring of their occurrence and toxin detection Interlaken, OECD work shop molecular methods for safe drinking water :1-19.
- Bullerjahn, G. S., Post, A. F. (2014).** Physiology and molecular biology of aquatic cyanobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 5:359.
- Cakmak, I., & Marschner, H. (1992).** Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant physiology*, 98(4), 1222-1227.
- Camargo, C.P. and C.E. Vanghan. (1973).** Effect of seeds vigor and field performance and yield grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.) .Proce . Assos. Of Seed Anal. 63:135-147.
- Carmichael, W. W. (1997).** The Cyanotoxins, *Advances in Botanical Research*, 27: 1–256.

- Carmichael, W. W.** (2001) Health Effects of Toxin-Producing Cyanobacteria, “the Cyanohabs”, *Human and Ecological Risk Assessment*, **7**: 1393–1407.
- Carmichael, W.W.** and Falconer, I.R. (1993). Diseases Related to Freshwater Blue-Green Algal Toxins, and Control Measures, in: *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*, I. Falconer, Academic press. London, UK, pp. 187–209.
- Carmichael, W.W.** (1992). Cyanobacteria Secondary Metabolites—the Cyanotoxins, *Journal of applied bacteriology* **72**: 445–459.
- Carmichael, W.W.** (1994). The Toxins of Cyanobacteria, *Scientific American* **270**: 78–86.
- Carmichael, W.W.**, Azevedo, S., An, J. S., Molica, R. J. R., Jochimsen, E.M., Lau, S., Rinehart, K.L., Shaw, G.R. and Eaglesham, G. K. (2001). Human Fatalities from Cyanobacteria: Chemical and Biological Evidence for Cyanotoxins, *Environ Health Perspect* **109**: 663–668.
- Carmichael, W.W.**, Li, R.H. (2006). Cyanobacteria Toxins in the Salton Sea. *Saline Systems*, **2**(5): 1-13.
- Carmichael, W.W.**, Boyer, G.L. (2016). Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. *Harmful Algae*, **54**:194–212.
- Chen, J.**, Dai, J., Zhang, H., Wang, C., Zhou, G., Han, Z., Liu, Z. (2010). Bioaccumulation of microcystin and its oxidative stress in the apple (*Malus pumila*). *Ecotoxicology*, **19**(4), 796–803.

- Chen, J., Song, L., Dai, J., Gan, N., Liu, Z.** (2004). Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape (*Brassica napus* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Toxicon* 43:393–400.
- Chong, M.W.K., Wong, B.S.F., Lam, P.K.S., Shaw, G.R. and Seawright, A.A.** (2002). Toxicity and uptake mechanism of cylindrospermopsin and lophyrotomin in primary rat hepatocytes. *Toxicon*, 40(2): 205–11.
- Chorus, I. and Bartram, J.** (1999). *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*, Spon, E. Spon, F.N., London, UK, 416 pp.
- Codd, G.A., Metcalf, J.S., Beattie, K.A.** (1999). Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. *Toxicon* 37:1181–1185.
- Codd, G.A., Morrison, L.F. and Metcalf, J.S.** (2005). Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203:264-272.
- Codd, G., Bell, S., Kaya, K., Ward, C., Beattie, K., Metcalf, J.** (1999). Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health. *European Journal of Phycology*, 34: 405–415.
- Corbel, S., Mougin, C., Bouaïcha, N.** (2014a). Cyanobacterial toxins: modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. *Chemosphere*, 96: 1–15.
- Corbel, S., Bouaïcha, N., Mougin, C.** (2014b). Dynamics of the toxic cyanobacterial microcystin-leucine-arginine peptide in agricultural soil. *Environmental Chemistry Letters*, 12(4):535–541.

- Cordeiro-Araújo, M.K., Chia, M.A., Arruda-Neto, J.D.T., Tornisielo, V.L., Vilca, F.Z., Bittencourt-Oliveira, M.C. (2016).** Microcystin-LR bioaccumulation and depuration kinetics in lettuce and arugula: human health risk assessment. *Science of The Total Environment*, 566-567:1379-1387.
- Cousins, I.T., Healing, D.J., James, H.A. and Sutton, A. (1996).** Biodegradation of Microcystin-Lr by Indigenous Mixed Bacterial Populations. *Water Research*, 30: 481–485.
- Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J. (2003).** Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 1380–1383.
- Creelman, R.A.; H.S. Mason ; R.J. Bensen ; J.S.Boyer and E.E.Mellet. (1990) .** Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedling . *Plant Physiology*, 92 : 205 – 214.
- Crush, J.R.; Briggs, L.R.; Sprosen, J.M.; Nichols, S.N.(2008).** Effect of irrigation with lake water containing microcystins on microcystin content and growth of ryegrass, clover, rape, and lettuce. *Environmental Toxicology*, 23: 246–252.
- Dao, T.S., Le, T.H., Pham, T.L., Do-Hong, L.C., and Nguyen. P.D. (2014).** Influences of Cyanobacterial Toxins Microcystins on the Seedling of Plants. *Journal of Environmental Protection*, 05(01):35–41.
- Davis, B.H. (1976).** Carotenoids. In: *Chemistry and Biochemistry of plant pigments*, T.W. Goodwin (ed.), 2:38-165. **(cited by:** Bakiyaraj, R., Baskaran, L. and Senthilkumar, T. (2014).

Isolation and identification of cyanobacteria (*Oscillatoria pseudogeminata* G.schmid) from marine water and its potential on remediation of pesticide. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3): 256-267.

Dawson, R.M. (1998). The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 36: 953–962.

De la Cruz, A., Antoniou, M., Hiskia, A. (2011). Can We Effectively Degrade Microcystins ? - Implications on Human Health. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11: 19-37.

Desikachary, T.U. (1959). Cyanophyta. Indian council of agricultural research , NewDelhi , 73:517-44.

Dobois, M. K., Crilles, K.A., Hamiltor, J.K., Rebers, D.A. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and substance *Analytical chemistry*, 28: 350-365.

El Khalloufi, F., El Ghazali, I., Saqrane, S., Oufdou, K., Vasconcelos, V., Oudra, B. (2012). Phytotoxic effects of a natural bloom extract containing microcystins on *Lycopersicon esculentum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79: 199–205.

El Khalloufi, F., Oufdou, K., Lahrouni, M., Faghire, M., Peix, A., Ramírez-Bahema, M., Vasconcelos, V., Oudra, B. (2013). Physiological and antioxidant responses of *Medicago sativa*-rhizobia symbiosis to cyanobacterial toxins (Microcystins) exposure. *Toxicon*, 76: 167–177.

- El-Sheekh, M.,** Khairy, H. and EL-Shenody, R. (2013). Effects of crude extraxt ok *Microcystis aeruginosa* Kutz on germination, growth and chlorophyll content of *Zea Mays* L. *Bangladesh Journal of Botany*, 42: 295–300.
- Esterhuizen, M. & Downing, T. G.** (2008). β -*N*-methylamino-L-alanine (BMAA) in novel South African cyanobacterial isolates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 309-313.
- Fadel, A.,** Atoui, A., Lemaire, B., Vincon-Leite, B. & Slim, K. (2014). Dynamics of the toxin cylindrospermopsin and the cyanobacterium *Chrysochloris* (*Aphanizomenon*) ovalisporum in a Mediterranean eutrophic reservoir. *Toxins (Basel)*, 6(11):3041–3057.
- Falconer, I.R.** (2005). Cyanobacterial toxins of drinking water supplies: *Cylindrospermopsins* and *Microcystins*. CRC Press, Boca Raton, FL pp. 263.
- Fischer, W. J.,** Garthwaite, I., Miles, C.O., Ross, K. M., Aggen, J. B., Chamberlin, A. R., Towers, N. A., Dietrich, D. R. (2001). Congener-Independent Immunoassay for Microcystins and Nodularins. *Environmental Science & Technology*, 35: 4849-4858.
- Fischer, W. L.,** Altheimer, S., Cattori, V., Meier, P. J., Dietrich, D. R., Hagenbuch, B. (2005). Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203 (3): 257–263.
- Flynn, K. J.** (2002). Toxin production in migrating dinoflagellates: a modelling study of PSP producing *Alexandrium*. *Harmful Algae*, 1:147–155.

- Fogg, G. E.** (1965). Algal cultures and phytoplankton. Ecology University of Wisconsin press .
- Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO** (2005). Available online at: www.fao.org
- Ger, K. A., Hansson, L. A., Lürling, M.** (2014). Understanding cyanobacteria–zooplankton interactions in a more eutrophic world. *Freshwater Biology*, 59: 1783–1798.
- Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B., El Ghissassi, F., & Cogliano, V.** (2006). Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *The Lancet Oncology*, 7(8): 628-629.
- Gutierrez-Praena, D., Campos, A., Azevedo, J., Neves, J., Freitas, M., Guzman-Guillen, R., Cameán, A. M., Renaut, J., and Vasconcelos, V.** (2014). Exposure of *Lycopersicon esculentum* to microcystin-LR: Effects in the leaf proteome and toxin translocation from water to leaves and fruits. *Toxins*, 6(6): 1837–1854.
- Hamvas, M., Mathe, C., Papp, M., Grigorszky, I., Molnar, E., Vasas, G., Borbely, G.** (2003). Microcystin-LR alters growth, anthocyanin content and single-stranded DNase enzyme activities in *Sinapis alba* L. seedlings. *Aquatic Toxicology*, 62: 1–9.
- Han, J., Jeon, B., Park, H.** (2012). Cyanobacteria cell damage and cyanotoxin release in response to alum treatment Water Science & Technology: *Water Supply*. 12(5): 549-555.
- Harada, K. I. , Tsuji , K., Watanabe, M. F. and Konoto, F.** (1996). Stability of Microcystins from cyanobacteria . III. Effect of pH and temperature, *Journal of Phycology*, 35:83-88.

- Harke**, M., Steffen, M., Gobler, C., Otten, T., Wilhelm, S., Wood, S.A., Pearl, H. A. (2016). Review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* *Journal of Harmful Algae*. 54: 4–20.
- Heath**, M.W., Wood, S.A., Barbieri, R.F., Young, R.G., Ryan, K.G. (2014). Effects of nitrogen and phosphorus on anatoxin-a, homoanatoxin-a, dihydroanatoxin-a and dihydrohomoanatoxin-a production by *Phormidium autumnale*. *Toxicon*, 92:179-185.
- Hereman**, T. C. and Bittencourt-Oliveira, M. d. C. (2012). Bioaccumulation of Microcystins in Lettuce, *Journal of Phycology*, 48(6): 1535-1537.
- Hindman**, S. H., Favero, M. S., Carson, L. A., Petersen, N. J., Schonberger, L. B. and Solano, J. T. (1975). Pyrogenic Reactions During Haemodialysis Caused by Extramural Endotoxin, *Lancet* 2: 732–734.
- Hitzfeld**, B. C., Lampert, C. S., Spaeth, N., Mountfort, D., Kaspar, H. and Dietrich, D. R. (2000). Toxin production in cyanobacterial mats from ponds on the Mcmurdo ice shelf, Antarctica. *Toxicon*, 38: 1731-1748.
- Huang**, W., Xing, W., Li, D., and Liu. Y. (2009). Morphological and ultrastructural changes in tobacco BY-2 cells exposed to microcystin-RR. *Chemosphere*, 76(7) :1006–1012.
- Humbert**, J. F., Bérard, A., Leboulanger, C. (2001). Impact Écologique Des Cyanobactéries Des Eaux Douces Et Saumatres, in: *Toxines D’algues Dans L’alimentation*, J. M. Frémy and P. Lassus, Ifremer.
- IARC**, (2006) *Ingested nitrates and nitrites, and cyanobacterial peptide toxins*. International Agency for Research on Cancer.

- Ibelings, B. W. and Chorus, I. (2007).** Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater "Seafood" and its consequences for public health: A review. *Environmental Pollution*, 150: 177–192.
- IPGRI . (1996) .** Descriptors for tomato (*Lycopersicon* Sp.) International Plant Genetic Resources Institute ,Rome, Italy . pp. 44 .
- Irisarri, P., Gonnet, S., Monza, J. (2001).** Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen. *Journal of Biotechnology*, 91: 95-103.
- Jarvenpaa, S., Lundberg-Niinisto, C., Spoof, L., Sjoval, O., Tyystjarvi, E., Meriluoto, J. (2007).** Effects of microcystins on broccoli and mustard, and analysis of accumulated toxin by liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon*, 49(6): 865–874.
- Kankaanpaa, H. T. Holliday, J., Schroder, H., Goddard, T. J., von Fister R and Carmichael, W. W. (2005).** Cyanobacteria and prawn farming in northern New South Wales, Australia – a case study on cyanobacteria diversity and hepatotoxin accumulation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203: 243-256.
- Kim, B.H., Choi, M. k., Chung, Y.T., Lee, J. B. and Wui, I. S. (1997).** Blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kutz in Natural medium. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 35-43 .
- Kos, P., Gorzo, G., Surányi, G., Borbély, G. (1995).** Simple and efficient method for isolation and measurement of cyanobacterial hepatotoxins by plant tests (*Sinapis alba* L.). *Analytical Biochemistry*, 225: 49–53.

- Kotak, B. G., Lam, A. K. Y., Prepas, E. E., Kenefick, S. L., and Hurdey, S. E. (1995).** Variability of the hepatotoxin microcystin-LR in hypertrophic drinking water lakes. *Journal of Phycology*, 31:248–63.
- Kotak, B. G., Semalulu, S., Fritz, D. L., Prepas, E. E., Hrudey, S. E. and Coppock, R. W. (1996).** Hepatic and Renal Pathology of Intraperitoneally Administered Microcystin-Lr in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Toxicon*, 34: 517–525.
- Kurmayer, R. (2001).** Competitive ability of Daphnia under dominance of non-toxic filamentous cyanobacteria. *Hydrobiologia*, 442(1-3): 279-289.
- Lahrouni, M., Oufdou, K., Faghire, M., Peix, A., El Khalloufi, F., Vasconcelos, V., Oudra, B. (2012).** Cyanobacterial extracts containing microcystins affect the growth, nodulation process and nitrogen uptake of faba bean (*Vicia faba* L., Fabaceae). *Ecotoxicology*, 21: 681–687.
- Lahti, K., Niemi, M. R., Rapala, J. and Sivonen, K. (1997)a.** *Biodegradation of Cyanobacterial Hepatotoxins – Characterization of Toxin Degrading Bacteria*, Proceedings of the VII International Conference on Harmful Algae.
- Lahti, K., Rapala, J., Färdig, M., Niemelä, M. and Sivonen, K. (1997)b.** Persistence of Cyanobacterial Hepatotoxin, Microcystin-Lr, in Particulate Material and Dissolved in Lake Water. *Water Research*, 31: 1005–1012.
- Lee, J. and Woolhouse, H.W. (1969).** A comparative study of bicarbonate inhibition of root growth in calcicole and calcifuge grasses . *New Phytologist*, 68:1-11.

- Leonardi, C.,** Ambrosino, P., Esposito, F., & Fogliano, V. (2000). Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10): 4723-4727.
- Ling, B.** (2000). Health impairments arising from drinking water polluted with domestic sewage and excreta in China. *Schriftenreihe Verein Wasser Boden Lufthygiene*, 105: 43-46.
- Lürling, M.,** Oosterhout, F., Faassen , E. (2017). Eutrophication and Warming Boost Cyanobacterial Biomass and Microcystins. *J.of Toxins*, 9: 64-78.
- Luukkainen, R.,** sivonen, K., Namikoshi, M., Farding, M., Rinehart, K. L. and Niemeta, S. (1993). Isolation and identification of eight Microcystins from thirteen *Oscillatoria agardhii* strains and structure of new Microcystin. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 2204 - 2209.
- Machado, J.,** Azevedo, J., Freitas, M., Pinto, E., Almeida, A., Vasconcelos, V., and Campos, A. (2017). Analysis of the use of microcystin-contaminated water in the growth and nutritional quality of the root-vegetable, *Daucus carota*. *Environmental science and pollution research international*, 24(1): 752–764.
- Mackereth, J. H.,** Heron, J. and Taliny, J. F. (1978). Water analysis. Some revised method for limnologists, *Sci. publ. fresh water Bio. Assoc*,36:1-120.
- MacKintosh, C.,** Beattie K., Klumpp, S., Cohen, P., Codd, G. (1990). Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Letters* 264:187–192.

- Mathe, C., Beyer, D., Erdodi, F., Serfozo, Z., Szekvölgyi, L., Vasas, G., Hamvas, M. (2009).** Microcystin-LR induces abnormal root development by altering microtubule organization in tissue-cultured common reed (*Phragmites australis*) plantlets. *Aquatic Toxicology*, 92:122–130.
- McElhiney, J. and Lawton, LA. (2005).** Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins. *Toxicology and Applied Pharmacology* 203: 219-230.
- Meeks, J. C. and Elhai, J. (2002).** Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in freeliving and plant-associated symbiotic growth states. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66:94–121.
- Merwel, D. V., Sebbag, L., Nietfeld, J. C., Aubel, M. T., Foss, A. and Carney, E. (2012).** Investigation of a *Microcystis aeruginosa* cyanobacterial freshwater harmful algal bloom associated with acute microcystin toxicosis in a dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24 (4): 679-687.
- Metcalf, J. S., Banack, S. A., Lindsay, J., Morrison, L. F., Cox, P. A. & Codd, G. A. (2008).** Co-occurrence of β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid with other cyanobacterial toxins in British waterbodies. *Environmental Microbiology*, 10: 702-708.
- Mikhailov, A., Harmala-Brasken, A. S., Hellman, J., Meriluoto, J. and Eriksson, J. (2003).** Identification of Atp-Synthase as a Novel Intracellular Target for Microcystin-Lr. *Chem.Biol. Interact.* 142: 223–237.

- Mitrovic, S.M., Allis, O., Furey, A., James, K. J. (2005).** Bioaccumulation and harmful effects of microcystin-LR in the aquatic plants *Lemna minor* and *Wolffia arrhiza* and the filamentous alga *Chladophora fracta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61: 345–352.
- Mohamed, Z. A. (2008).** Polysaccharides as a protective response against microcystin induced oxidative stress in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* and their possible significance in the aquatic ecosystem. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 17:504-516.
- Mohamed, Z. A., and Al Shehri, A. M. (2009).** Microcystins in groundwater wells and their accumulation in vegetable plants irrigated with contaminated waters in Saudi Arabia. *Journal of Hazardous Materials*, 172, 310–315.
- Mohamed, Z. A. and Al Shehri, A. M. (2007).** Cyanobacteria and their toxins in treated-water storage reservoirs in Abha city, Saudi Arabia. *Toxicon* 50: 75-84.
- Namikoshi, M., Choi, B. W. Sun, F. and Rinehart, K. L. (1993).** Chemical characterization and toxicity of Dihydro Derivatives of Nodularin and Microcystin - LR potent cyanobacterial cyclic peptide hepatotoxins . *Chemical Research in Toxicology*, 92:151 - 158 .
- Nguyen, M. L. and Schwartz, S. J. (1999).** Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technology*, 53: 38–45.
- Niedermeyer, T., Prinsep, M. R., Wood, S. A., Kaufononga, S. A. F., Cary, S. C., Hamilton, D. P. (2014).** High levels structural diversity observed in microcystins from *Microcystis* CAWBG11 and

- characterization of six new microcystin congeners. *Marine Drugs* 12: 5372–5395.
- Nyenje, P. M., Foppen, J. W., Uhlenbrook, S., Kulabako, R., Muwanga, A.** (2010). Eutrophication and nutrient release in urban areas of sub-Saharan Africa – A review. *Science of the Total Environment* 408: 447-455.
- O’Neil J., Davis T. W., Burford M. A., Gobler, C.** (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae*, 14:313–334.
- Oberholster , P. J., Botha, A. M. and Grobbelaar, J. U.** (2004). *Microcystis aeruginosa* : Source of toxic microcystins in drinking water. *African Journal of Biotechnology*, 3 (3) : 159 -168.
- Pereira, S. M. Saker, M. L., Vale, M. and V. M. Vasconcelos.** (2009). Comparison of sensitivity of grasses (*Lolium perenne* L. and *Festuca rubra* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.) exposed to water contaminated with microcystins., *Bull. Environ. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83(1): 81–4.
- Pflugmacher, S., Wiegand, C., Beattie, K. A., Krause, E., Steinberg, C. E. W., Codd, G. A.** (2001). Uptake, effects, and metabolism of cyanobacterial toxins in the emergent reed plant *Phragmites australis* (cav.) trin. ex steud. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (4): 846–852.
- Pflugmacher, S.** (2002). Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology*, 17: 407–413.
- Pflugmacher, S.** (2004). Promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of

the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Aquatic Toxicology*, 70 (3): 169–178.

Pflugmacher, S., Jung, K., Lundvall, L., Neumann, S. and Peuthert, A. (2006). Effects of cyanobacterial toxins and cyanobacterial cell-free crude extract on germination of alfalfa (*Medicago sativa*) and induction of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.* 25: 2381-2387.

Pflugmacher, S., Aulhorn, M., Grimm, B. (2007a). Influence of a cyanobacterial crude extract containing microcystin-LR on the physiology and antioxidative defence systems of different spinach variants. *New Phytologist*, 175 (3): 482–489.

Pflugmacher, S. (2007b). Reduction in germination rate and elevation of peroxidase activity in *Zea mays* seedlings due to exposure to different microcystin analogues and toxic cell free cyanobacterial crude extract. *J. Appl. Bot. Food* 81 (1), 45–48.

Pichardo, S., Pflugmacher, S. (2011). Study of the antioxidant response of several bean variants to irrigation with water containing MC-LR and cyanobacterial crude extract. *Environ. Toxicol.* 26 (3), 300–306.

Pietsch, C., Wiegand, C., Ame, M. V., Nicklisch, A., Wunderlin, D. and Pflugmacher, S. (2001). The Effects of Cyanobacterial Crude Extract on Different Aquatic Organisms: Evidence for Cyanobacterial Toxin Modulating Factors. *Environmental Toxicology*, 16(6): 535- 542.

Pires, L. D., Karlsson, K. M., Meriluoto, J. A. O., Kardinaal, E., Visser, P. M., Siewertsen, K., ... & Ibelings, B. W. (2004). Assimilation and

deuration of microcystin–LR by the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology*, 69(4): 385-396.

Piyathilaka, M.A.P.C., Pathmalal, M. M., Tennekoon, K. H. (2015). Microcystin-LR-induced cytotoxicity and apoptosis in human embryonic kidney and human kidney adenocarcinoma cell lines . *Microbiology*, 161(4):819–828.

Prepas, E. E., Kotak, B. G., Campbell, L. M., Evans, J. C., Hrudey, S. E. and Holmes, C. F. B. (1997). Accumulation and Elimination of Cyanobacterial Hepatotoxins by the Freshwater Clam *Anodonta Grandis Simpsoniana*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 41–46.

Prescott, G .W. (1975). Algae of the western great lake area . 6th ed. , William C. Brown Co. Publishers . Dubuque , Iowa , PP 977.

Prieto, A., Campos, A., Cameán, A., Vasconcelos, V. (2011). Effects on growth and oxidative stress status of rice plants (*Oryza sativa*) exposed to two extracts of toxinproducing cyanobacteria (*Aphanizomenon ovalisporum* and *Microcystis aeruginosa*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 (7): 1973–1980.

Puddick, J., Prinsep, M., Wood, S. (2015). Further Characterization of Glycine-Containing Microcystins from the McMurdo Dry Valleys of Antarctica. *J.of Toxins*. 7: 493-515.

Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C. & Niemela, S. I. (1997). Variation of Microcystins , Cyanobacterial hepatotoxins , in *Anabaena sp.* as function of growth stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 2206 – 2212.

- Rastogi, R. P., Sinha, R. P., Incharoensakdi, A. (2014).**The cyanotoxin-microcystins:current over view. *Reviews In Environmental Science And Bio-Technology /Technolgy* 13:215–249.
- Rinehart, K., Namikoshi, M., Choi, B. (1994).** Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *Journal of Applied Phycology*, 6: 159 176.
- Rohrlack, T., Christoffersen, K., Dittmann, E., Nogueira, I., Vasconcelos, V., & Börner, T. (2005).** Ingestion of microcystins by Daphnia: intestinal uptake and toxic effects. *Limnology and oceanography*, 50(2), 440-448.
- Rohrlack, T., Christiansen, G., Kurmayer, R. (2013).** Putative antiparasite defensive system involving ribosomal and nonribosomal oligopeptides in cyanobacteria of the genus *Planktothrix*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79: 2642–2647.
- Romanowska-Duda, Z. and Tarczyńska, M. (2002).** The influence of microcystin-LR and hepatotoxic cyanobacterial extract on the water plant *Spirodela oligorrhiza*. *Environmental Toxicology*, 17(5): 434–40.
- Romero-Oliva, C.S., Contardo-Jara, V., Block, T., Pflugmacher, S.(2014)** Accumulation of microcystin congeners in different aquatic plants and crops A case study from lake Amatitlán, Guatemala. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102: 121–128.
- Ruiz, M., Galanti, L., Ruibal, A. L., Rodriguez, M. I., Wunderlin, D. A., Amé, M.V. (2013).** First report of microcystins and anatoxin-a co-occurrence in San Roque Reservoir (Córdoba, Argentina). *Toxicon*, 224(6):1593.
- Saqrane, S. I. El Ghazali, Y. Ouahid, M. El Hassni, I. El Hadrami, L. Bouarab, F. F. del Campo, B. Oudra, and V. Vasconcelos. (2007).** Phytotoxic effects of cyanobacteria extract on the aquatic plant

Lemna gibba: microcystin accumulation, detoxication and oxidative stress induction.” *Aquat. Toxicol.*, vol. 83, no. 4, pp. 284–94.

Saqrane, S. I., El Ghazali, B., Oudra, L., Bouarab, and V. Vasconcelos. (2008). Effects of cyanobacteria producing microcystins on seed germination and seedling growth of several agricultural plants. *Journal of Environmental Science and Health*, 43(5): 443–51.

Saqrane, S. Y., Ouahid, I., El Ghazali, B., Oudra, L., Bouarab, and del Campo, F. F. (2009). Physiological changes in *Triticum durum*, *Zea mays*, *Pisum sativum* and *Lens esculenta* cultivars, caused by irrigation with water contaminated with microcystins: a laboratory experimental approach. *Toxicon*, 53(7–8): 786–96.

Sengar, R. M. S., Bhadauria, S. and Sharma, P. (2010). The effect of cyanobacterial toxin on seed germination, *Indian Journal of Scientific Research*, 1: 41–45.

Shams, S., Capelli, C., Cerasino, L., Ballot, A., Dietrich, D. R., Sivonen, K.; Salmaso, N. (2015). Anatoxin-a producing of *Tychonema sp.* (cyanobacteria) in European water bodies. *Toxicon*, 69:68-79.

Siegl, G., MacKintosh, C., Stitt, M. (1990). Sucrose-phosphate synthase is dephosphorylated by protein phosphatase 2A in spinach leaves: evidence from the effects of okadaic acid and microcystin. *FEBS Letters*, 270: 198–202.

Sipiä, V. O., Kankaanpää, H. T., Flinkman, J., Lahti, K., & Meriluoto, J. A. (2001). Time-dependent accumulation of cyanobacterial hepatotoxins in flounders (*Platichthys flesus*) and mussels (*Mytilus edulis*) from the northern Baltic Sea. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 16(4): 330-336.

- Sivonen, K.** and 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 .
- Slim, K., Fadel, A., Atoui, A., Lemaire, B. J., Vinçon-Leite, B. and Tassin, B.** (2014). Global warming as a driving factor for cyanobacterial blooms in Lake Karaoun, Lebanon. *Desalination and Water Treatment*, 52: 2094–2101.
- Smith, M. J., Shaw, G. R., Eaglesham, G. K., Ho, L., Brookes, J. D.** (2008). Elucidating the factors influencing the biodegradation of cylindrospermopsin in drinking water sources. *Environmental Toxicology*, 23: 413–421.
- Steffensen, D., Burch, M., Nicholson, B., Drikas, M. and Baker, P.** (1999). Management of toxic Blue - green algae (Cyanobacteria) in Australia. *Environmental Toxicology*, 14:183-195 .
- Stein, J. R.** (1975). Handbook of phycological method. Cambridge University press . Cambridge . 445 pp.
- Tegeder, M., Rentsch, D.** (2010). Uptake and partitioning of amino acids and peptides. *Molecular Plant*, (3) 997–1011.
- Tester, P. A., Turner, J. T., & Shea, D.** (2000). Vectorial transport of toxins from the dinoflagellate *Gymnodinium breve* through copepods to fish. *Journal of Plankton Research*, 22(1): 47-62.
- Thajuddin, N. and Subramanian, G.** (2005). Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. *Current science*, 89: 47–57.

- Vezie** , C., Brient , L ., Sivonen , K ., Berteu , G ., Lefeuvre, J . C. & Salkinoja – Saloney, M. (1998). Variation of Microcystin content of Cyanobacterial blooms and isolated strains in lake Grand – Lien (France). *Microbial Ecology*, 35: 126 – 135.
- Wang, Z.**, B. Xiao, L., Song, X., Wu, J., Zhang, and C. Wang. (2011). Effects of microcystin-LR, linear alkylbenzene sulfonate and their mixture on lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds and seedlings. *Ecotoxicology*, 20(4): 803–814.
- Watanabe**, M. F., Park, H. D., Kondo, F., Harada, K., Hayashi, H. and Okino, T. (1997). Identification and Estimation of Microcystins in Freshwater Mussels. *Natural Toxins*, 5:31–35.
- Weideman** , V. E., walne, P. R., Tainor, F. R. (1964). A new technique for obtaining axenic cultures of algae. *Canadian Journal of Botany*, 42: 958-959.
- Wenmin**, H., Yonghong, Bi., Zhengyu, H. u. (2014). Effects of Fertilizer-Urea on Growth, Photosynthetic Activity and Microcystins Production of *Microcystis aeruginosa* Isolated from Dianchi Lake . *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92:514–519.
- Whitton**, B. A. and Potts, M. (2000). The Ecology of Cyanobacteria Their Diversity in Time and Space; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherland,; p. 669.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO.** (1998). *Cyanobacterial toxins: microcystin-LR guidelines for drinking-water quality*. Geneva: World Health Organization. pp. 95-110.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO.** (1999). Toxic cyanobacteria in water : A guide to their public health consequences , monitoring and management .

- Wiese, M., Troco, K., Mihali, M., Moffitt, C., Brett, A.** (2010). Neurotoxic Alkaloids: Saxitoxin and Its Analogs. *Marine Drugs*, 8(7): 2185–2211.
- Williams, D. E., Dawe, S. C., Kent, M. L., Andersen, R. J., Craig, M. and Holmes, C. F. B.** (1997). Bioaccumulation and Clearance of Microcystins from Salt Water Mussels, *Mytilus Edulis*, and *in Vivo* Evidence for Covalently Bound Microcystins in Mussel Tissues, *Toxicon* 35: 1617–1625.
- Wood, S.A., Borges, H., Puddick, J., Biessy, L., Atalah, J., Hawes, I., Dietrich, D.R., Hamilton, D.P.** (2017). Contrasting cyanobacterial communities and microcystin concentrations in summers with extreme weather events: Insights into potential effects of climate change. *Hydrobiological*, 785: 71–89.
- Xiao, F. G., Zhao, X. L., Tang, J., Gu, X. H., Zhang, J. P., Niu, W. M.** (2009a). Determination of microcystin-LR in water from lake Tai, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82: 230–233.
- Xiao, F. G., Zhao, X. L., Tang, J., Gu, X. H., Zhang, J. P., Ni, W. M.** (2009b). Necessity of screening water Chestnuts for microcystins after cyanobacterial blooms break out. *Archives Environmental Contamination and Toxicology*, 57 (2): 256–263.
- Yalçın, S.** (2012). The regulation of microcystin biosynthesis pathways and genetic mechanisms. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(3):169 – 178.
- Yamasaki, S.** (1993). Probable effects of algal bloom on the growth of *Phragmites australis*. *Journal of Plant Research*, 106: 113–120.

-
- Yu, S. Z.** (1995). Primary prevention of hepatocellular Carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*,10: 674- 682 .
- Zaccaroni, A., & Scaravelli, D.** (2008). Toxicity of fresh water algal toxins to humans and animals. In *Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection*. Springer, Dordrecht, pp. 45-89.
- Zegura, B., Straser, A., Filipič, M.** (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins – a review. *Mutation Research*, 727: 16–41.
- Zhou, M., Wei-wei, Tu, Xu, J.** (2015). Mechanisms of microcystin-LR-induced cytoskeletal disruption in animal cells. *Toxicon*, 101: 92–100.

Summary

This current study included the isolation, identification, purification and cultivation of three species of blue-green algae from the soil of Basra and Maysan Governorate /Southern Iraq, represented by *Aphanothece clathrata*, *Microcystis flos-aque*, and *Oscillatoria pseudogeminata*. The study was the first of its kind in isolation, purification and cultivation of blue-green algae from the soil and measuring their susceptibility to the production of microcystins. The growth curve of the three isolated and purified species was measured after their cultivation in the liquid medium (BG-11). The growth constant (k), which measured 0.211, 0.175, and 0.144 and generation time (G), which reached 1.425, 1.718 and 2.09 day for algal species respectively.

Hepatotoxins (Microcystins) were purified from the three algal species isolated and purified during the current study and diagnosed quantitatively and qualitatively by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). The filamentous alga *O. pseudogeminata* showed higher susceptibility to produce hepatotoxins (microcystins) produce of 1.47 $\mu\text{g} / \text{L}$ per 50 mg of weight of alga, then *Microcystis flos-aque* of 0.734 $\mu\text{g} / \text{L}$,While *A. clathrata* was found to be the lowest production of microcystins reach 0.324 $\mu\text{g} / \text{L} / 50$ mg dry weight compared with the previous two species. And the diagnosis and ability of this species to produce this toxin is considered the first of its kind locally and globally.

The present study was concerned with the effect purified microcystins on the seeds germination of the tomato plant *Lycopersicon esculentum* at different concentrations, in addition to the effect of these toxins on some of the morphological and physiological characteristics of the plant after two month of cultivation and growing in laboratory.

Tomato seeds were treated with different concentrations of purified MCs from *O. pseudogeminata* for seven days, with concentrations of 0.5, 3 and 6 $\mu\text{g} / \text{L}$, in addition to the control group treated with distilled water. The germination percentage was 0% on the first and second day under highest concentration of 3 and 6 $\mu\text{g} / \text{L}$ compared to control group and concentration 0.5 $\mu\text{g} / \text{L}$ of 26.6%,While on the third day of exposure to hepatotoxicity, germination percentage decreased to 3.3% at 6 $\mu\text{g} / \text{L}$ compared to the control group which

reached germination where 83.3% .Then the increasing period of exposure to purified hepatotoxins MCs increase the germination percentage starting Where germination percentage reach 100% for all treatments, except the seeds which exposed to 6 µg/L / of purified microcystins which was 86.6%. The results showed a significant decrease $p \leq 0.05$ in the rate of germination speed, the rate of length of the root and the feather and their weight wet and dry with increased concentration of purified microcystins.

The two-month-old tomato plant was treated with different concentrations of purified microcystins for 24 days. The concentrations of 0.5, 3 and 6 µg / L were extracted from the *O.pseudogeminata* . It was found that the highest concentration and accumulation of these toxins was found in the group plants treated with 6 µg /L (12.27 µ/L) in all plant body (Whole plant).With a daily accumulation rate of 0.511 µg/L The highest rate of accumulation of toxins was observed in the parts of the plants of the treated group at a concentration of 6 µg/L was as follow : the highest concentrations found in the roots (an average 4.818 µ/L)followed by the stem with a concentration of 4.091 µg/L , Finally le leaves (with a concentration 3.369 µg/L. In the plants group treated with 3 µg/L, the whole plant concentration of toxins was 3.856 µg/L with daily accumulation rate of 0.16 µg/L. The accumulation of microcystins was reached 1.717 µg/Lin the root, 1.499 µg / L in the stem and 0.640 µg / L in the leaves. While the lowest concentrations of accumulated microcystins were found in the plant group treated with 0.5 µg / L. A total of 1.670 µg / L and with the daily accumulation rate of microcystins was 0.0.69 µg / L ,Where the highest concentrations of microcystins 0.687 µg / L in the root, followed by the stem at a concentration of 0.558 µg / L and then the leaves at a concentration of 0.425 µg / L. Where the plant increases its ability to accumulate those toxins in the tissues when compared to the control group and the roots and stems are the most accumulated of hepatic toxins from the leaves in all groups exposed to those toxins.

The results showed that the treatment of the tomato plant with the above concentrations of purified microcystins was cause a decrease significant changes $p \leq 0.05$ in the vegetative growth indicators were the decrease in the rate of height of tomato plant , length of stems ,diameter and root length , surface area of leaves and wet and dry weights, which appeared clearly in tomato plant at when exposed to purified microcystins , which was inversely proportional to the concentration of

these toxins in addition to some morphological changes, as the color of pale green Chlorosis on the leaves of tomato plant, which was exposed to increased concentrations of microcystins, and the results of the study showed significant decrease $p \leq 0.05$ in total chlorophyll and total carbohydrate concentration by increasing exposure to increased concentration of purified hepatotoxins (MCs).



**Evaluation of some Blue-green alga species isolated
from soil - Southern Iraq to produce hepatotoxins
(Microcystins) and effects of alga *Oscillatoria
pseudogeminata* on growth of tomato plant
Lycopersicon esculentum Mill**

A thesis Submitted to the

College of Education for Pure Sciences - University of Basra

**In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master
in Biology**

By

Mustafa Taher Hatem

B.Sc. Biology

2007

March 2018

Rajab 1439