دراسات فسيولوجية وبيوكيميائية على تأثير البترول الخام واثنين من مشتقاته على بعض الطحالب الدقيقة

رسالة مقدمة إلى
كلية العلوم – جامعة الفيوم
للحصول على درجة دكتوراه الفلسفة في العلوم – نبات

مقدمة من
حنان عبدالله سعيد
ماجستير في العلم (نبات – طحالب) ٢٠٠١

تحت إشراف

الأستاذ الدكتور
رفعت محمد على
أستاذ فسيولوجيا النبات – قسم النبات
كلية العلوم - جامعة الفيوم

(المرحوم) الأستاذ الدكتور
محمود حافظ محمود
أستاذ علم الطحالب – قسم النبات
كلية العلوم - جامعة الفيوم

الأستاذ الدكتور
عبدالفتاح خليفة متولي
أستاذ علم الطحالب – قسم النبات
كلية العلوم – جامعة الأسكندرية

قسم النبات – كلية العلوم
جامعة الفيوم
٢٠٠٦

الملخص العربي

من المعروف أن الطحالب المائية تتأثر كثيرا بالتغيرات التي تحدث في البيئة المائية وخصوصا التغيرات التي تحدث من الملوثات الواردة إلى البيئة المائية من المصادر المختلفة. ويعتبر التلوث الوارد من البترول الخام من أخطر المصادر التي تلوث مياه البحار والمحيطات. وبما أن السفن هي الوسيلة الأساسية لنقل البترول الخام من مصادر إنتاجه إلى جهة الاستهلاك، فإن تلوث مياه البحار والمحيطات من هذا الملوث محتمل حدوثه. لذلك كان الهدف الأساسي من هذا البحث هو التركيز على تأثير تركيزات مختلفة من الملوثات الذائبة من البترول الخام ومشتقاته في مياه البحار على أيض إثنين من الطحالب البحرية الدقيقة – كلوريللا سالينا ونانوكلوروبسيس سالينا -- وهما من ضمن أهم الكائنات الهائمة لتغذية الأسماك

ويمكن تلخيص ما تم الحصول عليه من نتائج هذه الدراسة فيما يلي :-

١- اوضحت معدلات النمو المختلفة انه في حالة نمو الطحلبين في التجربة الضابطة وجود زيادة مطردة من بدء التجربة حتى نهايتها مع وجود مرحلة كمون قصيرة في بدء التجربة وأن الكائنين قد بلغا أعلى درجات معدلات النمو بعد اليوم الثامن من التجربة.

٢- أوضحت نتائج تأثير التركيزات المختلفة للمركبات الذائبة في الماء لكل من البترول الخام والبنزين والكيروسين أن نمو طحلب كلوريللا سالينا قد تأثر كثيرا من سمية هذه المركبات بالمقارنة بطحلب نانوكلوروبسيس سالينا وان كلا الطحلبين قد اجتازا مرحلة كمون طويلة نوعا ما (٤ أيام قبل الدخول في المرحلة اللوغاريتمية. كما أن سمية هذه المركبات تزداد أو تقل حسب:

أ- نوع المستخلص
ب- تركيز المستخلص
ج- طول فترة الاستزراع
د- نوع الكائن المستخدم في التجربة

٣- تبين من نتائج التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء وجود عدة مناطق امتصاص جديدة لم تكن موجودة أصلا في التجربة الضابطة (الكنترول) وهذه

المناطق تختلف حسب نوع المجموعة الكيميانية للمركبات المختلفة داخل خلايا الطحلبين. ويمكن تأكيد ذلك من وجود مناطق امتصاص اكثر في التجارب المعاملة بالمستخلصات بالمقارنة بالتجربة الضابطة وان هذه المناطق تزداد مع زيادة تركيز المستخلص.

٤- بنظرة فاحصة على قيم التحليل الكمي للكلوروفيللات في طحلبي كلوريللا و نانوكلوروبسيس في التجربة الضابطة يتضح أن كمية الكلوروفيللات ازدادت تدريجيا حتى بلغت ذروتها عند اليوم العاشر من الإستزراع ثم بدأت في النقصان التدريجي حتى نهاية التجربة. ولكن تحت تأثير التركيزات المختلفة لمستخلص الزيت الخام والبنزين والكيروسين فان النتائج اختلفت حسب نوع الطحلب ونوع المستخلص وتركيزه. فقد لوحظ أن محتوى طحلب كلوريللا من الكلوروفيللات الكلية قد تأثر كثيرا تحت تأثير سمية البترول الخام والكيروسين في حين أن محتوى الكلوروفيلات في طحلب نانوكلوروبسيس قد تأثرت كثيرا بالتأثير السام للبنزين بالمقارنة بطحلب الكلوريللا. كما لوحظ من التحليل الإحصائي أن الكلوروفيللات المختلفة قد تأثرت بدرجة معنوية عالية تحت التركيزات العالية في كلا الطحلبين تحت الدراسة ولكن تحت تأثير التركيزات المنخفضة تراوح التأثير السمي ما بين تاثير غير معنوي إلى تأثير معنوي وذلك حسب نوع الطحلب ونوع المستخلص المستخدم

٥- بخصوص المحتوى البروتيني فقد لوحظ من التجربة الضابطة أن كلا الطحلبين قد ازداد فيهما المحتوى البروتيني الذائب والغير ذائب مع تقدم فترة الإستزراع حتى اليوم السادس عشر ثم بدأ في الإنخفاض التدريجي حتى نهاية فترة الإستزراع.

٦- أوضحت نتائج تأثير المستخلص المائي للبترول الخام والبنزين والكيروسين على تخليق البروتين انه بزيادة تركيز المستخلص وفترة الإستزراع فان محتوى الطحلبين من البروتين الغير ذانب يقل بالتدريج وأن محتوى الطحلبين للبروتينات الذائبة قد ازداد بالمقارنة بالتجربة الضابطة. وأن تخليق البروتين في طحلب نانوكلور و بسيس وتأثر كثيرا من سمية المستخلصات بالمقارنة بطحلب كلوريللا.

٧- تحت ظروف المزرعة الضابطة وجد أن محتوى الطحلبين من المواد الكربوهيدراتية قد ازداد تدريجيا بزيادة فترة الإستزراع حتى اليوم الثاني عشر

ثم بدأ المحتوى يقل تدريجيا مع زيادة فترة الإستزراع. وقد لوحظ أن ذلك يتساير تماما مع حالة النمو في كلا الطحلبين تحت الدراسة.

٨- فيما يتعلق بتأثير التركيز المنخفض (٢٥%) لمستخلصات الزيت الخام والبنزين والكيروسين على المحتوى الكربوهيدراتي في كلا الطحلبين فقد لوحظ إحصائيا زيادة معنوية في المحتوى الكربوهيدراتي. وعلى العكس فإن سمية التركيزات العالية للمستخلصات المائية الثلاث قد أثرت إحصائيا بشكل معنوي عالي. كما لوحظ أن تأثير مستخلصات البترول الخام والكيروسين كان واضحا في الكلوريللا بالمقارنة بطحلب نانوكلوروبسيس وعلى العكس من ذلك فإن سمية مستخلص البنزين كان واضحا في نانوكلوروبسيس بالمقارنة بطحلب كلوريللا على بناء المواد الكربوهيدراتية.

٩- بخصوص محتوي الطحلبين من الأحماض الأمينية فقد لوحظ أن كلا الطحلبين احتوى على نفس العدد والنوع من الأحماض الأمينية (١٧ نوع) مع الإختلاف في المحتوى الكمي. كما لوحظ أن طحلب نانوكلوروبسيس أغنى من طحلب كلوريللا في المحتوى الكلي للأحماض الأمينية (٢,٤ مرة) كما وأن محتوي الطحلبين من الأحماض الأمينية الضرورية كان في طحلب نانوكلوروبسيس أعلى من طحلب كلوريللا. وهذا يثبت أن بروتين طحلب نانوكلوروبسيس أغنى من بروتين طحلب كلوريللا من الناحية الغذائية.

١٠. أوضحت نتائج تأثير المستخلصات المائية للبترول الخام والبنزين والكيروسين على محتوى الطحلبين من الأحماض الأمينية المختلفة أن التركيزات المختلفة قد ثبطت عملية بناء كل مجموعات الأحماض الأمينية في كلا الطحلبين ماعدا الحمض الأميني برولين كما لوحظ أن درجة التأثير المثبطة اختلفت حسب نوع الطحلب، نوع وتركيز المستخلص ومجموعة الأحماض الأمينية. وان حدة التأثير السام كانت عند ذروتها في التركيزات العالية (١٠٠٪) بمستخلصي البنزين والبترول الخام.

١١- عند تركيز (١٠٠%) للبترول الخام والبنزين لوحظ إحصائيا أن درجة التثبيط في كل من الأحماض الأمينية الحرة والمرتبطة والكلية كانت بدرجة معنوية عالية في طحلب نانوكلوروبسيس اما في حالة طحلب كلوريللا فقد كانت درجة التثبيط في حالة البترول الخام معنوية فقط وفي حالة البنزين كان التأثير بدرجة معنوية عالية. في حين أن أيض الأحماض الأمينية في كلا الطحلبين قد

تـأثر كثيـرا بمسـتخلص الكيروسـين وكـان التـأثير المثـبط فـي طحلـب نانوكلوروبسيس أعلى منه في حالة طحلب كلوريللا.

١٢- لوحظ أن المجموع الكلي للأحماض الأمينية التابعة لدورة كربس والتي تحتوي على معظم الأحماض الأمينية الضرورية قد انخفضت بنسبة ٥٠،٨% ، ٣٧,١٧% في حالة نانوكلوروبسيس والكلوريللا على التوالي. وهذا يؤكد أن القيمة الغذائية الطحلب نانوكلوروبسيس بالنسبة للأحماض الأمينية الضرورية قد انخفضت كثيرا. ويمكن ترتيب المستخلصات المائية الثلاث حسب درجة سميتها على أيض الأحماض الأمينية في كلا الطحلبين كالآتي:

البترول الخام < البنزين < الكيروسين.

وعلى العكس من ذلك فإن محتوي الطحلبين من الحمض الأميني برولين قد ازداد تحت تأثير المستخلصات الثلاث وأن الزيادة في طحلب نانوكلوروبسيس كانت اكثر وضوحا بالمقارنة بطحلب كلوريللا.

١٣. اثبتت تحليلات محتوى الطحلبين من الأحماض الدهنية تحت ظروف المزرعة الضابطة أن كلا الطحلبين قد احتويا تقريبا على نفس الأحماض الدهنية نوعيا ولكنهم اختلفوا كميا (١٨ حمض دهني في الكلوريللا، ١٧ حمض دهني في نانوكلورو بسيس). كما لوحظ أن محتوى الطحلبين من الأحماض الدهنية ازداد تقريبا مرتين عند استزراع الطحلبين لمدة ١٥ يوم بالمقارنة عند استزراعهما لمدة ٨ أيام. كما أن الحمض الدهني الوحيد غير المتشبع (CI6:1) والحمض الدهني عديد التشبع (C22:6) في كلا الطحلبين كانا الأكثر سيادة وأن طحلب نانوكلوروبسيس أغنى من طحلب كلوريللا بالنسبة للمحتوى الدهني الكلي.

١٤- أثبتت التجارب أن الثلاث مجموعات للاحماض الدهنية في كلا الطحلبين بعد استزراعهما لمدة ١٦ يوم بالنسبة للأربعة تركيزات المستخلصات الزيت الخام والبنزين والكيروسين قد تأثرت كثيرا من سمية هذه المستخلصات وكان التأثير أكثر وضوحا عند التركيزات العالية وان التركيز المثبط للمستخلصات الثلاث اختلف بالنسبة لنوع وتركيز المستخلص ومجموعة الأحماض الدهنية والكائن نفسه.

١٥. لوحظ أن كلا الطحلبين قد عانا كثيرا من التأثير السام للمستخلصات الثلاث على أيض الأحماض الدهنية لكن طحلب نانوكلوروبسيس كان اكثر حساسية لهذه المستخلصات بالمقارنة بطحلب كلوريللا وأن مستخلص الكيروسين كان أكثر سمية على أيض الأحماض الدهنية بالمقارنة بمستخلصات البنزين والبترول الخام.

١٦- لوحظ أن الأحماض الدهنية التابعة لمجموعة أوميجا-٣ في كلا الطحلبين عند التركيزات العالية للمستخلص المائي للبترول الخام والبنزين والكيروسين قد انخفضت انخفاضا ملحوظا. كما وجد أن حدة الإنخفاض ترتبط ارتباطا وثيقا بنوع وتركيز المستخلص ونوع الطحلب تحت التجربة حيث كان هذا التأثير اكثر وضوحا عند تركيز (١٠٠%) لكل من مستخلصي الكيروسين والبنزين بالمقارنة بالبترول الخام في حالة طحلب نانوكلوروبسيس عنه في حالة طحلب كلوريللا. كما أثبتت التجارب أن التأثير السام لكل من البترول الخام والبنزين والكيروسين أدى إلى فقدان القيمة الغذائية للطحلبين كمصدر للأحماض الدهنية الغير مشبعة وخصوصا الأحماض الدهنية التي تنتمي إلى مجموعة أوميجا-٣.

١٧- أوضحت نتائج حزم البروتين الذائب لكلا الطحلبين تحت تأثير تركيز (١٠٠%) من مستخلصات البترول الخام والبنزين والكيروسين أن بعض الحزم التي ظهرت في التجربة الضابطة قد اختفت مع ظهور حزم أخرى جديدة لم تكن موجودة في التجربة الضابطة وحزم أخرى ظلت بدون تغير في كلا التجربتين (التجربة الضابط والمعاملة) لكلا الطحلبين تحت تأثير المستخلصات الثلاث.

١٨- لوحظ أن معظم حزم البروتين التي اختفت تقع في المنطقة ذات الوزن الجزيئي العالي في حين أن الحزم التي ظهرت كانت تقع في المنطقة ذات الوزن الجزيئي المنخفض. كما أن ظهور أو اختفاء الحزم يعتمد أساسا على نوع الطحلب ونوع المستخلص وتركيزه.

١٩. اثبتت نتائج حزم البروتين أن طحلب كلوريللا ساالينا قد تحمل التأثير السام للمستخلصات الثلاث بدرجة أعلى من طحلب نانوكلوروبسيس ساالينا.

٢٠- أوضحت صور الميكروسكوب الإلكتروني أن خلايا كلا الطحلبين تحت تأثير المستخلص المائي لكل من البترول الخام والبنزين والكيروسين أن

مكونات خلايا كلا الطحلبين قد دمرت كثيرا من سمية المستخلصات. وان شدة التدمير كانت عالية جدا تحت تأثير سمية الكيروسين بالمقارنة بالبنزين والبترول الخام. وكان من أبرز مظاهر التدمير هو تفكك أغشية الكلوروبلاست وانكماش محتويات الخلايا بعيدا عن جدار الخلايا مع زيادة سمك الجدر وتعرجها.