

استجابة مزرعة الدايتوم *Nitzschia palea* للتراكيز المختلفة من النيتروجين والفسفور والسليكون

ثائر ابراهيم قاسم¹ حسين علي السعدي² جنان شاوي الحسائي²

¹معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد، بغداد، العراق

²قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، بغداد، العراق

القبول 2008/5/28

الاستلام 2007/11/22

الخلاصة

أختبر تأثير المغذيات الرئيسية (النيتروجين والفسفور والسليكون) في نمو الطحلب العصوي (الدايتوم) *Nitzschia palea* (Kuetz.) W. Smith المستزرع في ظروف مسيطر عليها (درجة الحرارة 25 م وشدة الإضاءة 260 مايكروانشتاين/م²/ثا) بإعتماد الوسط الغذائي Chu-10 المحوروسطاً للإستزراع. اتضح ان النترات هي الصورة الأفضل من بين صورالنيتروجين الأخرى (اليوريا والأمونيا) المؤثرة في النمو. استخدمت أربعة تراكيز مختلفة من النترات (15،20،30،40 ملغم/لتر) ممثلة بنترات الصوديوم فضلاً عن وسط السيطرة الذي يحتوي على 8.7 ملغم/لتر منها. كان التركيز 15 ملغم/لتر من النترات أفضل من التراكيز الأخرى المستخدمة لنمو الدايتوم والذي أعطى أعلى معدل للنمو(0.55 خلية/ساعة) وأقل زمن للتضاعف (12.95 ساعة). كما تم تنمية الطحلب في أربعة تراكيز مختلفة من الفوسفات (5،10،20،30 ملغم/لتر) فضلاً عن وسط السيطرة الذي يحتوي على 1.78 ملغم/لتر من الفوسفات. سجل التركيز 5 ملغم/لتر من الفوسفات أفضل نمو للدايتوم من التراكيز الأخرى، فقد بلغ أعلى معدل نمو 0.57 خلية/ساعة وأقل زمن للتضاعف 12.75 ساعة. أما عند إستخدام خمسة تراكيز مختلفة من السليكا (10،15،25،35،45 ملغم/لتر) السيطرة مقارنةً مع وسط ، فقد سجل أعلى معدل نمو 0.83 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 8.72 ساعة عند تركيز 10 ملغم/لتر وعليه تم إستنباط وسط غذائي جديد لهذا النوع من الدايتوم.

RESPONSE OF DIATOM *NITZSCHIA PALEA* CULTURE TO DIFFERENT CONCENTRATIONS OF NITROGEN, PHOSPHORUS AND SILICON

Thaer I. Kassim¹ Hussain A. Al-Saadi² Jennan S. Al-Hassany²

¹Genetic Engineering and Biotechnology Institute for Postgraduate Studies, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

²Department of Biology, College of Science for Women, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

Received 22/11/2007

Accepted 28/5/2008

ABSTRACT

The effect of essential nutrients (nitrogen, phosphorus and silicon) was tested on growth of algae (Bacillariophyceae) *Nitzschia palea* (Kuetz.) W. Smith under control conditions (temperature 25 °C and light intensity 260µE/m²/sec). Modified Chu-10 was used as growth medium. The results showed that nitrate was the best for algal growth than other nitrogen sources (urea and ammonia). Four different concentrations of nitrate (15,20,30,40mg/L) as well as control medium which contain 8.7mg/L of nitrate were tested. The highest growth rate (0.55 cell/h) and the lowest doubling time (12.95 h) were recorded in 15mg/L of nitrate. The diatom was cultivated also in four different concentrations of phosphorus (5,10,20,30mg/L) as well as 1.78mg/L of phosphate in control medium. The treatment of 5mg/L phosphate showed highest growth rate (0.57 cell/h) and lowest doubling time (12.75 h). The third essential element (silicon) of the diatom was tested in five concentrations (10,15,25,35,45mg/L) within the control treatment 5.7mg/L. The best for both growth rate (0.83 cell/h) and doubling time (8.72 h) were recorded at 10mg/L. So, new medium was suggested for cultivation of this alga.

Key words: Response, nitrogen, phosphorus, silicon, algae

المقدمة

للمغذيات النباتية دوراً كبيراً في نمو الطحالب ووجودها في مختلف البيئات، وهناك إختلاف كبير بين أنواع الطحالب في قابليتها على إستهلاك العناصر الأساسية، ويعد النيتروجين والفسفور والسليكون من العناصر الأساسية الكبرى لنمو الطحالب، إذ تتأثر الفعاليات الأيضية للأحماض الدهنية والبروتين بتركيز النيتروجين، فعند نقص النيتروجين في الوسط فإنه يقلل من تصنيع الدهون ويسبب منع إنقسام الخلايا (1). ويحدد النيتروجين نمو معظم الطحالب إذ إن أهميته كعامل محدد تتوقف على المتوافر منه في الوسط الغذائي وعلى ما يستهلكه الطحلب (2). تختلف الطحالب في استخدامها لصور النيتروجين اللاعضوي، فبعضها تفضل الأمونيا والآخرى تفضل النترات أو النتريت، كما أنها في ظروف معينة يمكن أن تفضل مركبات النيتروجين العضوية. أما بالنسبة للفسفور فإنه يسيطر على الفعاليات الأيضية للخلية وفي بناء الأحماض النووية (DNA و RNA) ومستوى إنتاج الطاقة والأغشية البلازمية في جميع الكائنات الحية ومن ضمنها الطحالب (3،4). ويعد الشكل الذائب اللاعضوي Orthophosphate الأكثر إستهلاكاً من قبل الطحالب إذ يمتص مباشرة من قبل الخلايا (5،6). كما تمتاز الطحالب بقدرتها على إستخدام التركيز الأمثل من الفسفور الموجود بإمتصاصه و تخزينه بتركيز تفوق إحتياجها وتفوق كذلك الموجود في الوسط وهذا ما يسمى بالأخذ الثري Luxury uptake (3،7) ، مما يمكنها من الإستمرار في النمو عند ظروف نقص تراكيز الفسفور في الوسط ولكن هذه الظاهرة لاتمنع من كون تركيز الفسفور قد يكون محدداً للنمو في الوسط الغذائي عند وجوده بتركيز قليلة، إذ يؤدي التركيز الواطيء إلى إنخفاض معدل النمو وبالعكس في حالة وجوده بتركيز عالية (8). ويعد عنصر السليكون من المغذيات الأساسية الكبرى لنمو الدايتومات بصورة خاصة لبناء هياكلها إذ إن زوج الهياكل السليكونية تمثل وحدة التركيب الأساسي للجدار الخلوي (6،9)، أي أن عنصر السليكون أساسي لنمو الدايتومات والذي لايمكن أن يحل محله أي عنصر آخر (10). توجد السليكا بأشكال لاعضوية مختلفة فهي أما بشكل Orthosilicic acid $Si(OH)_4$ وهو الشكل المفضل من قبل الدايتومات البحرية، أو بشكل $SiO(OH)_3$ وهو مفضل من قبل ديتومات المياه العذبة (11)، ويكون التركيز الأقل من 0.5 ملغم/لتر من السليكون محدد لنمو ديتومات المياه العذبة (12). تهدف الدراسة تحديد التركيز الأفضل من النيتروجين والفسفور والسليكون للحصول على أعلى معدل نمو للدايتوم *Nitzschia palea*.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على عزلة من الدايتوم *Nitzschia palea* (Kuetz.) W. Smith رقم (28) من وحدة زراعة الطحالب /مركز بحوث الأسماك (AUFRC). يعود هذا النوع من الطحالب إلى صف الدايتومات العسوية Bacillariophyceae رتبة الدايتومات الريشية Pennales. حضرت المغذيات الرئيسية (النيتروجين والفسفور) في أربعة تراكيز مختلفة والسليكون في خمسة تراكيز مختلفة وأضيفت إلى الوسط الغذائي Chu 10 المحور (13)

لتنمية الطحلب. أختبرت ثلاث صور من النيتروجين، الأولى هي النترات وحضرت من نترات الصوديوم NaNO_3 بالتركيز 15 و 20 و 30 و 40 ملغم/لتر، والصورة الثانية هي الأمونيوم وحضرت من موليبيدات الأمونيوم $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ بالتركيز 0.5 و 1 و 2 و 3 و 4 ملغم/لتر والثالثة اليوريا ممثلة بثنائي امينوكاربونيل $(\text{NH}_2)_2\text{-CO}$ بالتركيز 0.5 و 1 و 2 و 3 و 4 ملغم/لتر. استخدمت كذلك تراكيز مختلفة من الفوسفات (5 و 10 و 20 و 30 ملغم/لتر) من مركب فوسفات البوتاسيوم أحادي الهيدروجين K_2HPO_4 ، كما حضرت تراكيز مختلفة من السليكات (10 و 15 و 25 و 35 و 45 ملغم/لتر) من سليكات الصوديوم Na_2SiO_3 . تم تنمية الدايتوم في حاضنة نوع BDH بعد تثبيت درجة الحرارة ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) وشدة الأضاءة (260 مايكروانشتاين/م²/ثا) لمدة 14 يوماً (14) ولجميع التراكيز مع تعديل الرقم الهيدروجيني (6.8-7.0) للوسط الغذائي في جميع المعاملات، حُسب خلالها الزيادة في الخلايا بدلالة العدد بإستعمال شريحة حساب عدد كريات الدم البيض Haemocytometer وبدلالة الإمتصاصية Absorption في جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer وعلى الطول الموجي 540 نانوميتر، ومنهما تم حساب معدل النمو (K) وزمن التضاعف (G) كما موضح في Fogg (15) حسب المعادلات الآتية:

$$K = \frac{\log_{10} N_t - \log_{10} N_0}{t - t_0}$$

إذ أن N_0 = عدد الخلايا في بداية التجربة

N_t = عدد الخلايا بعد مدة زمنية

t_0 = الزمن في بداية التجربة

t = الزمن في نهاية التجربة

ومنه تم حساب زمن التضاعف

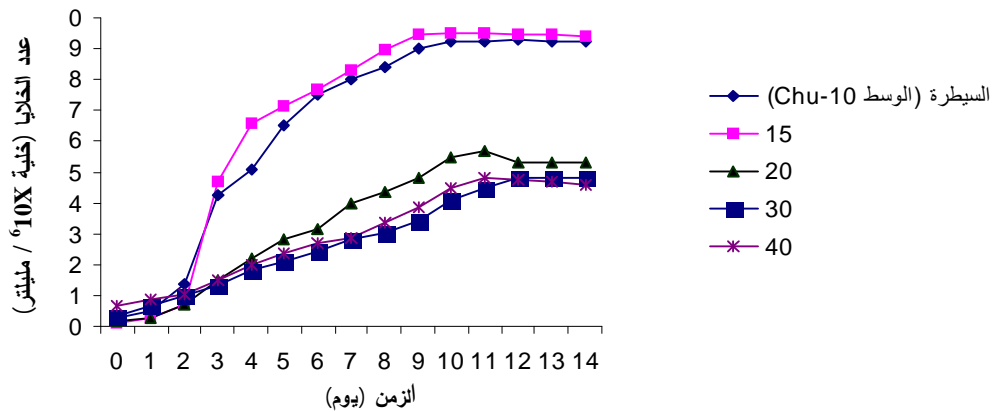
$$G = \frac{0.301}{K} \times 24$$

أعتمد تحليل التباين (ANOVA) لمعرفة معنوية تأثير المعاملات المختلفة، وأختبرت معنوية الفرق بين المعاملات بإستخدام إختبار دنكن Duncans.

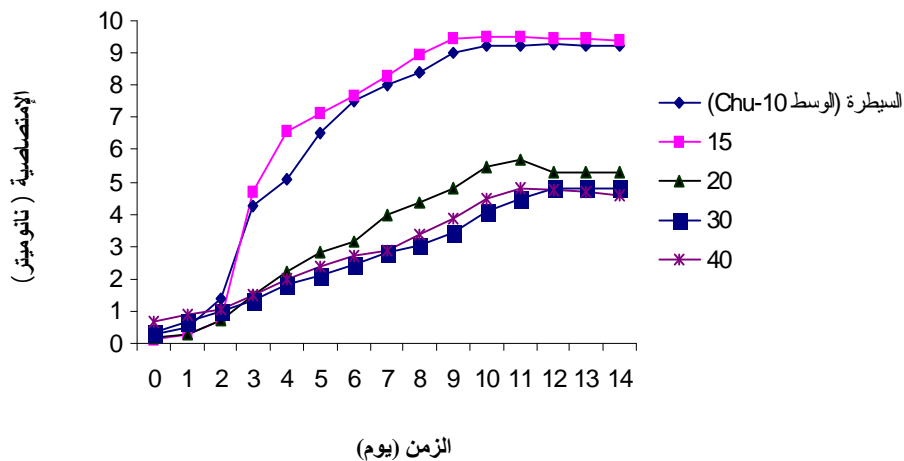
النتائج

سجل أعلى معدل نمو (0.55 خلية/ساعة) وأقل زمن تضاعف (12.95 ساعة) للطحلب *Nitzschia palea* عند إستخدام النترات مصدراً للنيتروجين بالتركيز 15 ملغم/لتر متوقفاً بذلك على معاملة السيطرة الممثلة بالوسط

Chu 10 المحور، إذ استغرقت المزرعة يوماً واحداً في طور التأقلم Lag phase، وإزداد كل من عدد الخلايا والإمتصاصية بشكل واضح في اليوم الثاني والذي مثل بداية طور الزيادة الأسية Exponential phase والذي استمر إلى اليوم العاشر مسجلاً أعلى عدد للخلايا ولإمتصاصية (10×9.5 خلية/مليالتر، 0.893 نانوميتر)، وصلت بعدها المزرعة إلى طور الإستقرار Stationary phase (الشكلان 1 و2)، بينما أعطت التراكيز الأخرى بشكل عام أقل أعداداً للخلايا وأقل إمتصاصية مما في معاملة السيطرة، وكان هناك فرق معنوي ($p < 0.05$) في معدلات النمو وزمن التضاعف بين معاملة السيطرة والتراكيز الأخرى من التترات (الجدول 1).



شكل (1): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة (15، 20، 30، 40 ملغم/لتر) من التترات ممثلاً بعدد الخلايا.



الشكل (2): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة (15، 20، 30، 40 ملغم/لتر) من التترات ممثلاً بالإمتصاصية.

جدول (1) : أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة من النترات خلال مدة التجربة. \pm الخطأ المعياري، عدد النماذج = 10.

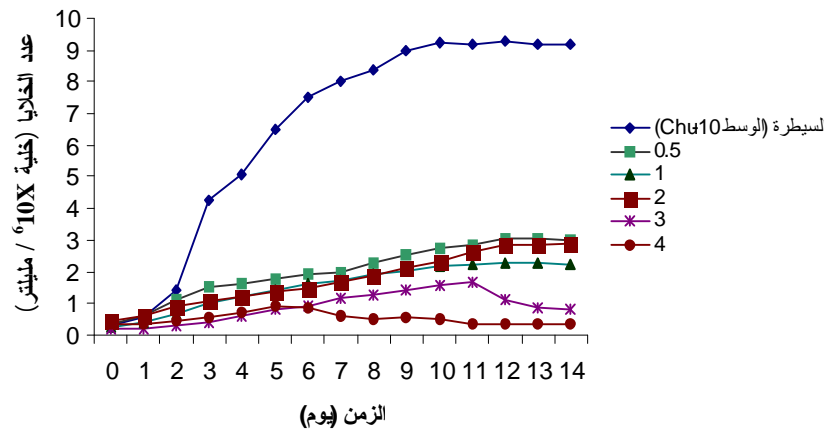
التركيز (ملغم/لتر)	عدد الخلايا (خلية $\times 10^6$ /مليتر)	الإمتصاصية (نانوميتر)	معدل النمو (خلية/ساعة)	زمن التضاعف (ساعة)
السيطرة* 8.7	^a 0.01 \pm 9.30 (12)	^a 0.01 \pm 0.78 (11)	^a 0.02 \pm 0.40 (3)	^d 0.90 \pm 18.1 (3)
15	^a 0.02 \pm 9.70 (9)	^a 0.01 \pm 0.88 (10)	^a 0.01 \pm 0.55 (3)	^c 0.35 \pm 12.9 (3)
20	^b 0.01 \pm 5.70 (11)	^{ab} 0.03 \pm 0.62 (11)	^c 0.00 \pm 0.34 (3)	^c 0.00 \pm 21.2 (1)
30	^b 0.03 \pm 4.80 (12)	^{ab} 0.02 \pm 0.64 (12)	^d 0.005 \pm 0.29 (1)	^b 0.45 \pm 24.4 (1)
40	^b 0.00 \pm 4.80 (11)	^b 0.16 \pm 0.52 (11)	^c 0.00 \pm 0.17 (1)	^a 0.00 \pm 42.4 (1)

- الحروف المتشابهة ضمن العمود نفسه تعني عدم وجود فرق معنوي ($P < 0.05$).
- * معاملة السيطرة تعني الوسط الغذائي Chu - 10 المحور الذي يحتوي على 8.7 ملغم/لتر من النترات مصدراً للنيتروجين.
- الرقم داخل القوس يعني اليوم الذي حدث فيه أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *N. palea* خلال 14 يوم.

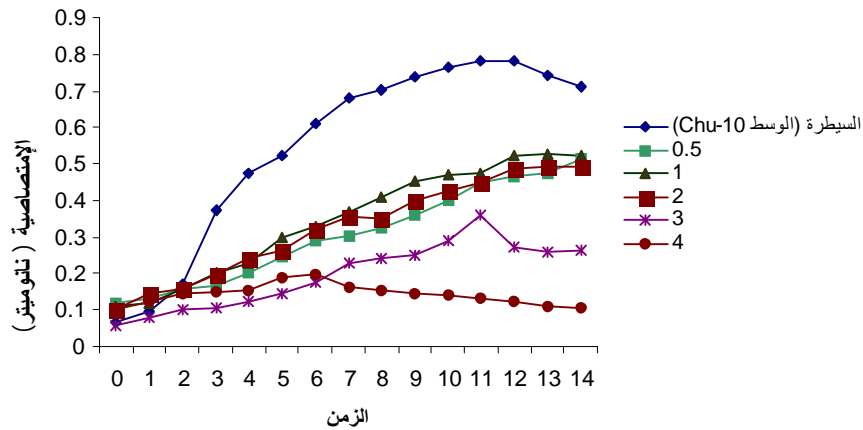
ولوحظ عند استخدام تراكيز مختلفة من الأمونيا (0.5 و 1 و 2 و 3 و 4 ملغم/لتر) فضلاً عن الوسط الغذائي Chu-10 المحور الذي يحتوي على نترات الصوديوم مصدراً للنيتروجين ان أعلى عدد للخلايا وللإمتصاصية كان عند معاملة السيطرة، ثم جاء بعده التركيزان 0.5 و 1 ملغم/لتر (الشكلان 3 ، 4) إذ أدت إضافة الأمونيا وبالتراكيز المذكورة إلى تقليل نمو الطحلب بالمقارنة مع معاملة السيطرة. ولم يكن هناك وضوح في أطوار نمو الطحلب في هذه التراكيز إذ بقيت المزرعة طوال مدة التجربة في طور الأقلمة مع زيادة ملحوظة في كل من عدد الخلايا والإمتصاصية بعد اليوم الخامس من التجربة.

وانعكس هذا على معدل النمو وزمن التضاعف (الجدول 2) فقد تراوح أعلى معدل للنمو بين 0.26 - 0.27 خلية/ساعة وأقل زمن للتضاعف بين 26.65 - 28.15 ساعة عند التركيزين 0.5 و 1 ملغم/لتر.

وكان هناك تثبيط في كل من معدل النمو وعدد الخلايا والإمتصاصية وزيادة في زمن التضاعف مع زيادة تركيز الأمونيا. وسجل فرق معنوي ($P < 0.05$) بين معاملة السيطرة ومعظم التراكيز الأخرى في جميع دلائل النمو المدروسة.



الشكل (3): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في تراكيز مختلفة (0.5، 1، 2، 3، 4، ملغم/لتر) من الأمونيا المضافة إلى الوسط الغذائي Chu-10 المحور الذي يحتوي على نترات الصوديوم ممثلاً بعدد الخلايا.



الشكل (4): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في تراكيز مختلفة (0.5، 1، 2، 3، 4، ملغم/لتر) من الأمونيا المضافة إلى الوسط الغذائي Chu-10 المحور الذي يحتوي على نترات الصوديوم ممثلاً بالإمتصاصية.

جدول (2): أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة من الأمونيا خلال مدة التجربة. \pm الخطأ المعياري، عدد النماذج = 12.

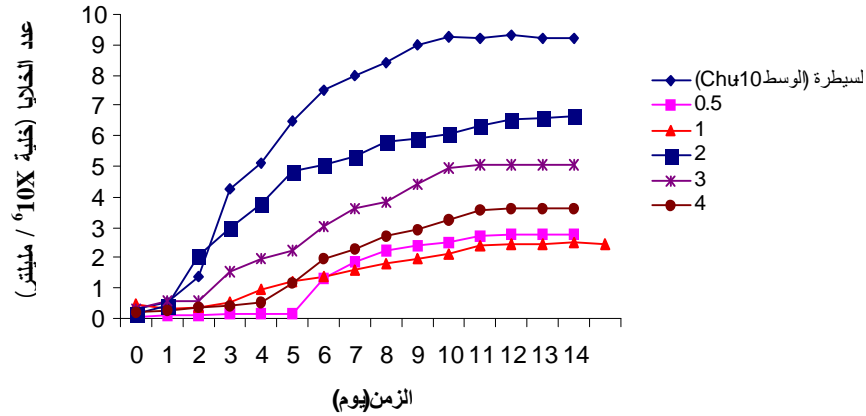
التركيز (ملغم/لتر)	عدد الخلايا (خلية $\times 10^6$ /مليلتر)	الإمتصاصية (نانوميتر)	معدل النمو (خلية/ساعة)	زمن التضاعف (ساعة)
السيطرة*	^a 0.01 \pm 9.3 (12)	^a 0.01 \pm 0.78 (11)	^a 0.02 \pm 0.40 (3)	^d 0.9 \pm 18.1 (3)
0.5	^b 0.03 \pm 3.1 (12)	^b 0.08 \pm 0.45 (12)	^b 0.02 \pm 0.27 (2)	^d 1.9 \pm 26.8 (2)
1	^c 0.00 \pm 2.3 (12)	^b 0.02 \pm 0.50 (13)	^b 0.03 \pm 0.26 (3)	^d 3.2 \pm 28.1 (3)
2	^b 0.00 \pm 2.9 (11)	^b 0.05 \pm 0.48 (12)	^c 0.00 \pm 0.17 (3)	^c 0.00 \pm 42.4 (3)
3	^c 0.00 \pm 1.55 (11)	^c 0.03 \pm 0.29 (11)	^c 0.00 \pm 0.12 (4)	^b 0.00 \pm 60.2 (4)
4	^d 0.01 \pm 1.0 (6)	^c 0.02 \pm 0.21 (4)	^d 0.01 \pm 0.09 (4)	^a 8.3 \pm 80.5 (4)

- الحروف المتشابهة ضمن العمود نفسه تعني عدم وجود فرق معنوي ($P < 0.05$).

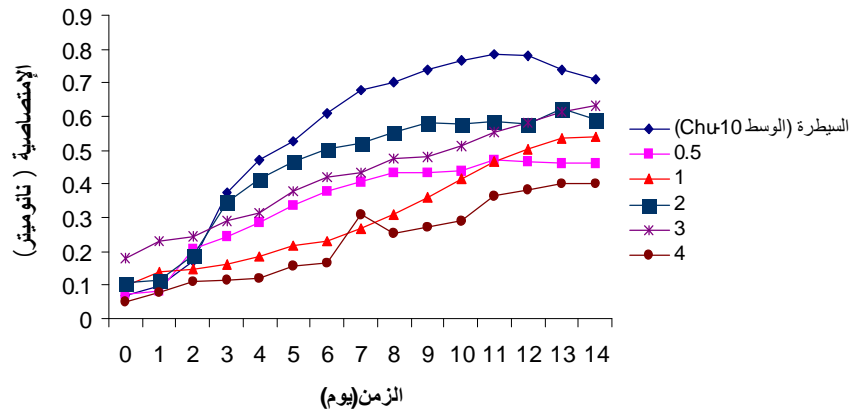
*معاملة السيطرة تعني الوسط الغذائي Chu 10 المحور الذي يحتوي على 8.7 ملغم/لتر من النترات مصدراً للنيتروجين.

- الرقم داخل القوس يعني اليوم الذي حدث فيه أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* خلال 14 يوماً.

عند استزراع الطحلب في تراكيز مختلفة من اليوريا (0.5 و 1 و 2 و 3 و 4 ملغم/لتر) المضافة إلى الوسط الغذائي Chu-10 المحور والذي يحتوي على نترات الصوديوم مصدراً للنيتروجين، سجل أعلى عدد للخلايا وأعلى إمتصاصية في معاملة السيطرة (الشكلان 5 و 6).



الشكل (5): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في تراكيز مختلفة (0.5، 1، 2، 3، 4، 0.5) ملغم/لتر) من اليوريا المضافة إلى الوسط الغذائي Chu-10 المحور الذي يحتوي على نترات الصوديوم ممثلاً بعدد الخلايا.



الشكل (6): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في تراكيز مختلفة (0.5، 1، 2، 3، 4، 0.5) ملغم/لتر) من اليوريا المضافة إلى الوسط الغذائي Chu-10 المحور الذي يحتوي على نترات الصوديوم ممثلاً بالإمتصاصية.

وأعطى التركيز 2 ملغم/لتر من البوريا أعلى عدد للخلايا والإمتصاصية من التراكيز المستخدمة إذ استغرقت المزرعة يوماً واحداً فقط للتأقلم ودخلت المزرعة خلال اليوم الثاني في طور التضاعف الأسّي حتى اليوم الخامس الذي يمثل بداية طور الإستقرار حتى نهاية التجربة. ثم جاء بعده التركيز 3 ملغم/لتر من حيث عدد الخلايا والإمتصاصية، واستغرقت المزرعة خمسة أيام للتأقلم في التركيزين 0.5 و 4 ملغم/لتر وكان هناك تداخل بين طوري التضاعف الأسّي والإستقرار. ومثل التركيز 2 ملغم/لتر أعلى معدل نمو 0.55 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 13.02 ساعة مقارنةً مع جميع المعاملات الأخرى بما فيها معاملة السيطرة (الجدول 3)، وسجل فرق معنوي ($P < 0.05$) بين معاملة السيطرة والتراكيز المستخدمة في دلائل النمو المدروسة.

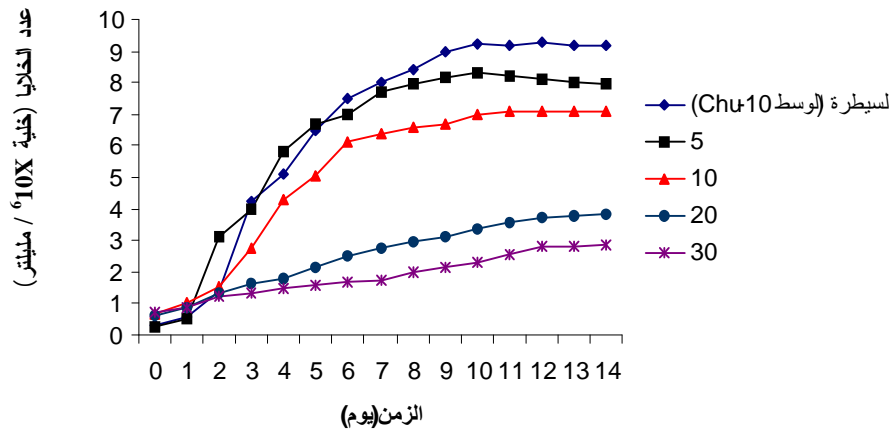
جدول (3): أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu 10 - المحور في تراكيز مختلفة من البوريا خلال مدة التجربة. \pm الخطأ المعياري، عدد النماذج = 12.

التركيز (ملغم/لتر)	عدد الخلايا (خلية $\times 10^6$ /لتر)	الإمتصاصية (نانوميتر)	معدل النمو (خلية/ساعة)	زمن التضاعف (ساعة)
السيطرة*	^a 0.01 \pm 9.30 (12)	^a 0.01 \pm 0.78 (11)	^b 0.02 \pm 0.40 (3)	^d 0.90 \pm 18.1 (3)
0.5	^c 0.03 \pm 2.50 (11)	^b 0.07 \pm 0.48 (11)	^d 0.002 \pm 0.18 (4)	^b 0.50 \pm 38.5 (4)
1	^c 0.02 \pm 2.80 (11)	^b 0.04 \pm 0.47 (11)	^{bc} 0.04 \pm 0.36 (4)	^{cd} 2.22 \pm 20.3 (4)
2	^{ab} 0.03 \pm 6.60 (12)	^b 0.05 \pm 0.57 (12)	^a 0.08 \pm 0.55 (2)	^c 0.61 \pm 13.0 (2)
3	^{bc} 0.02 \pm 5.10 (12)	^a 0.08 \pm 0.55 (12)	^c 0.02 \pm 0.31 (5)	^c 1.55 \pm 23.3 (5)
4	^{bc} 0.00 \pm 3.60 (12)	^c 0.02 \pm 0.37 (12)	^d 0.005 \pm 0.15 (6)	^a 1.53 \pm 46.6 (6)

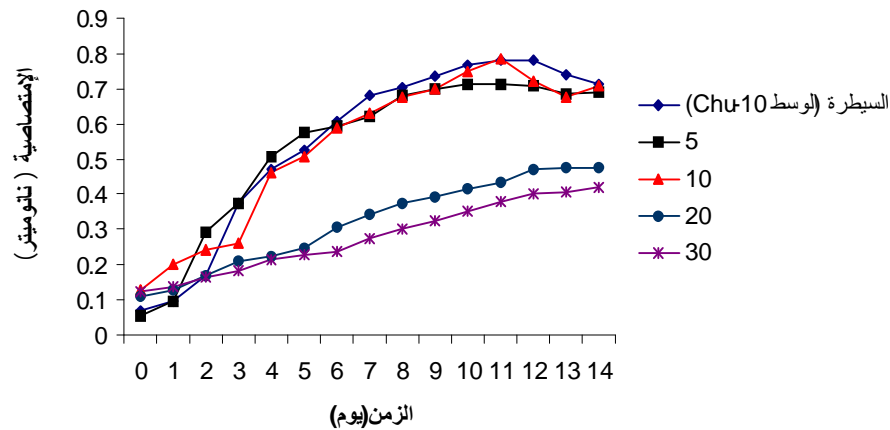
- الحروف المتشابهة ضمن العمود نفسه تعني عدم وجود فرق معنوي ($P < 0.05$).
- معاملة السيطرة تعني الوسط الغذائي Chu 10 الذي يحتوي على 8.7 ملغم/لتر من النترات مصدراً للنيتروجين.
- الرقم داخل القوس يعني اليوم الذي حدث فيه أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* خلال 14 يوماً.

أوضحت نتائج نمو الطحلب في تراكيز مختلفة من الفوسفات (5 و 10 و 20 و 30 ملغم/لتر) ان أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية كان عند معاملة السيطرة، وجاء التركيز 5 ملغم/لتر مقارباً جداً لمعاملة السيطرة مع

ملاحظة الزيادة الأسية السريعة في عدد الخلايا بعد 24 ساعة متفوقة خلال الخمسة أيام الأولى على معاملة السيطرة إذ مثل اليوم الأول مرور الطحلب بطور التأقلم بينما بدأ طور الزيادة الأسية في اليوم الثاني ولغاية اليوم العاشر، فقد بلغ أعلى عدد للخلايا 8.3×10^6 خلية/لتر وللإمتصاصية 0.71 نانوميتر، وكان اليوم الحادي عشر بدايةً لطور الإستقرار (الشكلان 7، 8).
ثم جاء بعده التركيز 10 ملغم/لتر وبنمط النمو نفسه للتركيز السابق (5 ملغم/لتر)، في حين أشارت النتائج إلى إنخفاض واضح في عدد الخلايا والإمتصاصية عند التركيزين 20 و 30 ملغم/لتر.



الشكل (7): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة (5، 10، 20، 30 ملغم/لتر) من الفوسفات ممثلاً بعدد الخلايا.



الشكل (8): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة (5، 10، 20، 30 ملغم/لتر) من الفوسفات ممثلاً بالإمتصاصية.

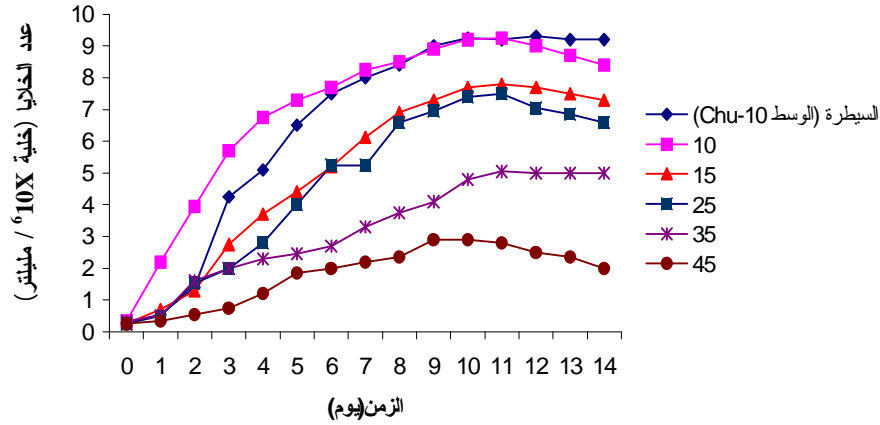
أما بالنسبة لمعدلات النمو فقد كانت أفضل في التركيز 5 ملغم/لتر من الفوسفات مما هو عليه في معاملة السيطرة والتراكيز الأخرى، إذ سجل أعلى معدل نمو 0.57 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 12.79 ساعة (جدول 4). وأوضح التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) بين التراكيز المختلفة من الفوسفات ومعاملة السيطرة في جميع دلائل النمو المدروسة.

جدول (4): أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة من الفوسفات خلال مدة التجربة. \pm الخطأ المعياري، عدد النماذج = 10.

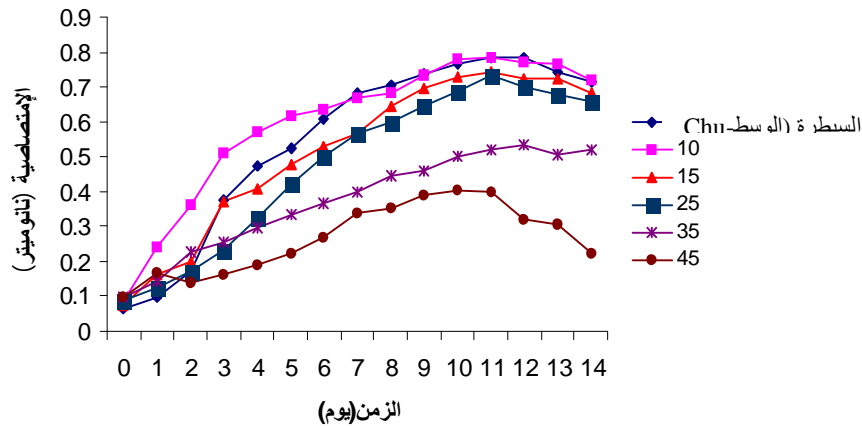
التركيز (ملغم/لتر)	عدد الخلايا (خلية $\times 10^6$ /لتر)	الإمتصاصية (نانوميتر)	معدل النمو (خلية/ساعة)	زمن التضاعف (ساعة)
السيطرة*	^a 0.01 \pm 9.30 (12)	^a 0.01 \pm 0.78 (11)	^b 0.02 \pm 0.40 (3)	^d 0.90 \pm 18.1 (3)
5	^a 0.04 \pm 8.40 (8)	^a 0.06 \pm 0.71 (8)	^a 0.005 \pm 0.57 (2)	^d 0.15 \pm 12.7 (2)
10	^a 0.03 \pm 7.10 (10)	^a 0.04 \pm 0.77 (10)	^c 0.005 \pm 0.25 (2)	^c 0.65 \pm 29.4 (2)
20	^b 0.03 \pm 3.70 (12)	^b 0.02 \pm 0.44 (12)	^d 0.00 \pm 0.17 (2)	^b 0.00 \pm 42.4 (2)
30	^b 0.02 \pm 2.90 (12)	^b 0.03 \pm 0.41 (12)	^d 0.02 \pm 0.13 (2)	^a 6.05 \pm 54.1 (2)

- الحروف المتشابهة ضمن العمود نفسه تعني عدم وجود فرق معنوي ($P < 0.05$).
- معاملة السيطرة تعني الوسط الغذائي Chu-10 الذي يحتوي على 1.78 ملغم/لتر من الفوسفات.
- الرقم داخل القوس يعني اليوم الذي حدث فيه أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* خلال مدة التجربة.

عند استزراع الطحلب في تراكيز مختلفة من السليكات (10 و 15 و 25 و 35 و 45 ملغم/لتر) ظهر تفوق التركيز 10 ملغم/لتر على معاملة السيطرة والتراكيز الأخرى إذ بدأت الزيادة في عدد الخلايا والإمتصاصية منذ اليوم الأول ممثلة في طور الزيادة الأسية والذي استمر إلى اليوم العاشر مسجلاً أقصى عدد للخلايا 10×9.2^6 خلية/مليتر ولالإمتصاصية 0.77 نانوميتر (الشكلان 9 ، 10).



الشكل (9): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة (10، 15، 25، 35، 45 ملغم/لتر) من السليكات ممثلاً بعدد الخلايا.



الشكل (10): منحنى النمو للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة (10، 15، 25، 35، 45 ملغم/لتر) من السليكات ممثلاً بالإمتصاصية.

لم يلاحظ مرور الطحلب في طور التأقلم والذي يبدو أنه استغرق بضعة ساعات. واستقر كل من عدد الخلايا والإمتصاصية في اليوم الحادي عشر الذي مثل بداية طور الإستقرار ثم انخفض عدد الخلايا في اليوم الثالث عشر مشيراً إلى بدأ طور الإنحدار، ثم تلتها معاملة السيطرة وبعدها التركيزين 15 و 25 ملغم/لتر.

ولم يعطي التركيزين 35 و 45 ملغم/لتر من السليكات الشكل العام لأطوار النمو، إذ إنخفض عدد الخلايا والإمتصاصية بشكل واضح عما في التراكيز الأخرى. ونتيجةً لذلك كان أعلى معدل نمو 0.83 خلية/ساعة عند التركيز 10 ملغم/لتر من السليكات وأقل زمن تضاعف 8.72 ساعة (جدول 5).

جدول (5): أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* المستزرع في الوسط الغذائي Chu-10 المحور في تراكيز مختلفة من السليكات خلال مدة التجربة. \pm الخطأ المعياري، عدد النماذج = 12.

التركيز (ملغم/لتر)	عدد الخلايا (خلية×10 ⁶ /لتر)	الإمتصاصية (نانوميتر)	معدل النمو (خلية/ساعة)	زمن التضاعف (ساعة)
السيطرة *	0.01 ± 9.30 ^a	0.01 ± 0.78 ^{ab}	0.02 ± 0.40 ^{bc}	0.90 ± 18.1 ^{bc}
5.7	(12)	(11)	(3)	(3)
10	0.78 ± 9.40 ^a	0.02 ± 0.79 ^a	0.04 ± 0.83 ^a	0.42 ± 8.72 ^d
	(11)	(11)	(1)	(1)
15	0.04 ± 7.80 ^{ab}	0.01 ± 0.74 ^b	0.05 ± 0.48 ^b	0.65 ± 15.1 ^c
	(11)	(11)	(1)	(1)
25	0.01 ± 7.60 ^b	0.02 ± 0.73 ^b	0.02 ± 0.41 ^{bc}	0.85 ± 17.6 ^{bc}
	(11)	(11)	(2)	(2)
35	0.08 ± 5.10 ^c	0.01 ± 0.53 ^c	0.05 ± 0.34 ^c	2.10 ± 21.1 ^b
	(11)	(12)	(2)	(2)
45	0.05 ± 3.00 ^d	0.20 ± 0.39 ^d	0.005 ± 0.19 ^d	0.94 ± 37.1 ^a
	(9)	(9)	(2)	(2)

- الحروف المتشابهة ضمن العمود نفسه تعني عدم وجود فرق معنوي ($P < 0.05$).
- معاملة السيطرة تعني الوسط الغذائي المحور Chu-10 الذي يحتوي على 5.7 ملغم/لتر من السليكات.
- الرقم داخل القوس يعني اليوم الذي حدث فيه أعلى معدل لعدد الخلايا والإمتصاصية ومعدل النمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* خلال 14 يوماً.

جاء بعدها التركيزين 15 و 25 ملغم/لتر من السليكات في حين انخفض معدل النمو بشكل واضح وازداد زمن التضاعف عند التركيزين 35 و 45 ملغم/لتر فضلاً عن معاملة السيطرة لكل من معدل النمو وزمن التضاعف، ولم يلاحظ فرق معنوي واضح في معدل عدد الخلايا والإمتصاصية بين التركيز 10 ملغم/لتر والتركيزين 35 و 45 ملغم/لتر.

بناءً على هذه النتائج أجريت تعديلات على تراكيز النيتروجين والفسفور والسليكون في الوسط الغذائي Chu-10 المحور وهي التراكيز التي أعطت أفضل معدل نمو وأقل زمن تضاعف ليكون الوسط الغذائي الموضح في الجدول (6) هو الأنسب لإستزراع الدايتوم *Nitzschia palea*.

جدول (6): مكونات الوسط الغذائي Chu-10 المعدل (المقترح) والوسط Chu-10 المحور من قبل *Kassim et al.* (13) والذي أعطى أعلى معدل نمو وأقل زمن تضاعف لإستزراع الدايتوم *Nitzschia palea* عند درجة حرارة 25 م وشدة إضاءة 260 مايكروانشتاين/م²/ثا.

الوزن (ملغم/لتر) المعدل Chu-10 (المقترح)	الوزن (ملغم/لتر) المعدل Chu-10	رمز الملح (المركب)	تسلسل المحلول الأساس
*91.06	53.3	NaNO ₃	.1
*28.0	10.0	K ₂ HPO ₄	.2
*43.49	25.0	Na ₂ SiO ₃	.3
25.0	25.0	MgSO ₄ .7H ₂ O	.4
20.0	20.0	NaCO ₃	.5
40.0	40.0	CaCl ₂	.6
31.8	31.8	EDTA-Na ₂	.7
0.8	0.8	FeCl ₂	.8
0.045	0.045	MnCl ₂ .4H ₂ O	.9
0.007	0.007	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	.10
0.056	0.056	ZnSO ₄ .7H ₂ O	.11
0.02	0.02	CuSO ₄ .5H ₂ O	.12
0.01	0.01	COCl ₂ .6H ₂ O	.13
0.72	0.72	H ₃ BO ₃	.14

*الوزن المعدل (المقترح) للمركبات التي تحتوي على النيتروجين والفسفور والسليكون.

المناقشة

أظهر استخدام تراكيز مختلفة من النترات (بوصفها مصدراً للنيتروجين) أن أعلى معدل نمو وأقل زمن تضاعف للطحلب *Nitzschia palea* سجل عند التركيز 15 ملغم/لتر، أما التراكيز الأعلى من ذلك فقد أدت إلى نقصان في عدد الخلايا وزيادة في زمن التضاعف والذي قد يعود إلى التأثير السمي للتراكيز العالية من النترات في نمو الطحلب، أو قد تسبب التراكيز العالية تثبيط في عملية تكوين صبغات البناء الضوئي كما لوحظ في الطحلب الأخضر *Dunaliella viridis* مسبباً في خفض معدل النمو (16).

أوضحت النتائج ان النترات هي الصورة المفضلة للطحلب مصدراً للنيتروجين، وهي نتيجة متفقة مع Stewart (2) الذي ذكر بأن النترات هي الصورة المفضلة لنمو الديتوم *Nitzschia sp.*

أما بالنسبة لليوريا والأمونيا فقد جاءت في الدرجة الثانية بعد النترات، وفي دراسات لبعض أنواع الدايتومات مثل *Chaetoceros calcitrans* (17) و *Nitzschia sp.* (18) و *Nitzschia laevis* (19) تم الحصول على أعلى معدل نموها في الوسط الذي يحتوي على النترات أو اليوريا أكثر مما في الأمونيا وقد يعزى سبب ذلك في خفض الرقم الهيدروجيني نتيجة لتمثيل أيون الأمونيوم الذي يكون تأثيره ضاراً لأغلب أنواع الطحالب (19). عند استخدام تركيز 2 ملغم/لتر من اليوريا المضافة إلى الوسط الغذائي Chu-10 المحور الذي يحتوي على نترات الصوديوم مصدراً للنيتروجين، أعطت هذه المعاملة أعلى معدل للنمو من بقية التراكيز الأخرى من اليوريا وقد يرجع سبب ذلك إلى أن الديتوم قد حصل على مصدر عضوي للنيتروجين فضلاً عن المصادر اللاعضوية (النترات والأمونيا) الموجودة أصلاً في الوسط الغذائي لذلك فقد إزداد معدل النمو وانخفض زمن التضاعف بشكل واضح عما هو عليه في معاملة السيطرة، كما لوحظ إنخفاض في معدل نمو الديتوم في الدراسة الحالية مع زيادة تركيز اليوريا وربما يعود سبب ذلك إلى التحلل المائي البطيء لليوريا والذي ينتج عنه تحرر غاز ثنائي أكسيد الكربون والأمونيا ويسبب الأخير إنخفاض الرقم الهيدروجيني في الوسط الغذائي (18) فيصبح الوسط الغذائي ذا تأثير سام للطحلب إذ سجل تثبيط في معدل نمو الديتوم *Nitzschia leavis* المستزرع في وسط يحتوي على تركيز عالي من اليوريا (19).

كما تبين الدراسة الحالية عند استخدام الأمونيا مصدراً للنيتروجين مع النترات من ان أعلى معدل نمو وأقل زمن تضاعف للديتوم *Nitzschia palea* كان عند تركيز 0.5 ملغم/لتر وهو أفضل من التراكيز الأخرى، إذ أشارت بعض الدراسات إلى زيادة في معدل إنقسام الخلايا في الوسط الذي يقل فيه تركيز الأمونيا عن 1 ملغم/لتر، أما التراكيز الأعلى من ذلك فأنها تسبب تثبيطاً في معدل إنقسام الخلايا وعملية البناء الضوئي وأيض الكربون لبعض الأنواع من الديتومات مثل *Chaetoceros sp.* و *Skeletonema costatum* (20، 21). وحصلت أعلى استجابة للطحلب عند استزراعها في تركيز 5 ملغم/لتر من الفوسفات من خلال الزيادة في معدل النمو وعدد الخلايا والإمتصاصية وهي النتيجة ذاتها التي توصل إليها حسن (22) الذي وجد ان أفضل نمو للطحالب التي تكون الديتومات الغالبية العظمى منها في بحيرة الرزازة كان بين 1 - 10 ملغم/لتر من الفسفور.

ويعد السليكون من العناصر المحددة لنمو ووجود الدايتومات لكونه أحد المكونات الأساسية لبناء هيكلها (6) ، (23)، وهذا ما أظهرته النتائج الحالية من أن أعلى استجابة للديتوم *N. palea* كان عند تركيز 10 ملغم/لتر، كما أشارت بعض الدراسات ان تركيز السليكات يقل بشكل كبير في الوسط الغذائي بعد ثلاثة أيام من استزراع الدايتوم *N. laevis* (24). وكما هو معروف تندمج السليكات مباشرة مع جدار الخلية لبناء زوج الهياكل السليكونية والتي تمثل وحدة التركيب الأساسي للجدار الخلوي، إذ أن الدايتومات لاتخزن السليكات بكميات كبيرة تفوق حاجتها ولم يلاحظ فيها ظاهرة الأخذ الثري Luxury uptake (6، 8). كما تأخذ الدايتومات السليكات بكميات أكثر من حاجتها لكون هذا العنصر يعمل على تنظيم عملية صنع DNA ولكونه يحفز فعالية أنزيم DNA- Polymerase، لذلك فقد سجل انخفاض في عدد الخلايا خلال الأيام الأخيرة من التجربة في الدراسة الحالية والذي ربما يعود إلى توقف عملية إنقسام الخلايا نتيجة لنضوب السليكات من الوسط مسبباً انخفاض في معدل النمو (8).

المصادر

- 1- Dempster, T.A. and Sommerfeld, M.R. (1998). Effect of Environmental conditions on growth and lipid accumulation in *Nitzschia communis* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 34(4): 712-721.
- 2- Morris, I. (1974). Nitrogen assimilation and protein synthesis. In: *Algal physiology and biochemistry*, (ed. W.D.P. Stewart), pp. 583-609. Botanical Monographs. California Univ. Press. Berkeley and Los Angeles.
- 3- Kuhl, A. (1974). Phosphorus. In: *Algal physiology and biochemistry*, (ed. W. D. P. Stewart), pp. 636-654. Botanical Monographs. California Univ. Press. Berkeley and Los Angeles.
- 4- Jarvis, P.J. (2000). *Ecological principles and environmental Issues*. Pearson Education, (T. J. International) Ltd., Padstow, Crnwall, pp. 361.
- 5- Fogg, G. E. (1973). Phosphorus in primary aquatic plants. *Wat. Res.* 7: 77-91.
- 6- Reynolds, C.S. (1984). *The ecology of fresh water phytoplankton*. Cambridge, Univ. Press, Cambridge, pp. 384.
- 7- Al-Mousawi, A. H. and Whitton, B. A. (1983). Influence of environmental factors on algae in rise field soil from the Iraqi Marshes. *Arab Gulf J. Sci. Res.* 1: 237-253.
- 8- Darly, W.M. (1974). Silicification and and calcification. In: *Algal physiology and biochemistry*, (ed. W.D.P. Stewart), pp.655-675. Botanical Monographs. California Univ. Press. Berkeley and Los Angeles.
- 9- موريس، آيان (1979). مقدمة الطحالب. ترجمة، حسين، عاصم محمود و السوفاجي، سالم. مطبعة جامعة الموصل، ص 323.
- 1- Del Amo, Y. and Brezezinski, M. A. (1999). The chemical form of dissolved Si taken by marine diatoms. *J. Phycol.* 35, 1162-1170.
- 2- Bony, A.D. (1975). *Phytoplankton*. Camlot Press Ltd. Southampton, pp. 116.

- 3- Kassim, T. I.; Al-Saadi, H. A.; Al- lami, A. A. and Alwan, Y. A. (1999). Spatial and seasonal variations of phytoplankton in Qadisia lake, Iraq. *Iraqi Atomic Energy Commission Sci. J.*, 1: 99-111.
- 4- Kassim, T. I.; Al-Saadi, H. A. and Salman, N. A. (1999). Production of some Phyto and zooplankton and their use as live food for fish larvae. *Iraqi J. Agric.* (Spical issue), 4(5): 188-201.
- 5- الحساني، جنان شاوي والسعدي، حسين علي و قاسم، ثائر ابراهيم (2007). تأثير بعض الظروف البيئية في نمو الدياتوم *Nitzschia palea*. مجلة علوم المستنصرية (فيد النشر).
- 6- Fogg, G. E. (1965). Algal culture and phytoplankton ecology. Univ. of Wisconsin Press, pp. 166.
- 7- Carlos, J. and Fixavier, N. (1991). Growth of *Dunaliella viridis* Trodoreco. Effect of salinity, temperature and nitrogen concentration. *J. Appl. Phycol.* 3: 319-327.
- 8- Abald, J.; Fidalgo, P.; Reiriz, S.; Cid; A. and Herrercó, C. (1993). The influence of nitrogen source on the production of the marine diatom *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano. *Natl. Congr.* 21:473-477.
- 9- Burford, M. A. and Pearson, D. C. (1998). Effect of different nitrogen sources on phytoplankton composition in aquaculture pond. *Aquat. Microb. Ecol.* 15: 277-284.
- 10- Wen, Z. Y. and Chen, F. (2001). Optimization of nitrogen sources for heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by the diatom *Nitzschia laevis*. *Enzyme. Microbiol. Technol.* 29: 341-347.
- 11- Zgurovskaya, L. N. and Kustenko, N.G. (1968). The action of ammonia nitrogen on cell division, photosynthesis and accumulation of pigments of *Skeletonema costatum* (Grev), Cl., *Chaetoceros* sp. and *Prorocentrum micans*. *Ecol.* 8 (1): 116-125.
- 12- Wang, Q.; Li, M.; Wang, S.; Ding, M.; Li, Y. and Chen, A. (1998). Studies on culture conditions of benthic diatoms for feeding abalone. II. Effects of salinity, pH, nitrogen and phosphate nutrients on growth rate. *Chinese J. Oceanol. Limnol.* 16 (1): 78-83.
- 13- حسن، فكرت مجيد (1998). تقييم الحالة الإغذائية لبحيرة الرزازة بدلالة الطحالب. اطروحة دكتوراه، جامعة بابل، ص 140.
- 14- Werner, D. (1977). Silicate metabolism. In: The biology of diatoms (ed. D. Werner), pp.1-17. Botanical Monographs, Univ. of Californi Press, Berkeley.
- 15- Wen, Z. Y. and Chen, F. (2000). Production potential of eicosapentaenoic acid by the diatom *Nitzschia laevis*. *Biotechnol. Lett.* 22: 727-733.