ISSN: 2222-8373

مجلة ديالى

للعلوم الصرفة

مجلة علمية محكمة تصدرها كلية العلوم جامعة ديالى

DIYALA JOURNAL FOR PURE SCIENCES
DJPS
DIYALA UNIVERSITY
COLLEGE OF SCIENCE
DIYALA UINVERSITY COLLEGE OF SCIENCE

كانون الاول 2012

المجلد : 8 العدد: 4

تأثير الأشعة فوق البنفسجية على النمو وصبغات التركيب الضوئي والمحتوى البروتيني في الطحالب الخضراء المزرقة أنبينا*Anabaena sp*

د. سعيد حميد محمد عبدال

كلية التربية الأساسية/جامعة ديالى

الخلاصة

تقوم الطحالب الخضراء المزرقة من نوع الأنبينا *Anabaena sp* بتثبيت كمية كبيرة من النيتروجين الجوي الغازي وتحويله إلى الأمونيوم NH_4 الذي يدخل في تصنيع البروتين ضمن السلسلة الغذائية. لقد تم عزل هذا النوع من الطحالب من بعض البرك الضحلة القريبة من المناطق الساحلية في ليبيا ، وجرى دراسة تأثر الأشعة فوق البنفسجية ذات النمط والتردد (uv-B:-285-320nm) على النمو و صبغات التركيب الضوئي والمحتوى البروتيني في هذه الطحالب . و قد بينت نتائج معدلات النمو إلى أن *Anabaena sp* شديدة الحساسية اتجاه أشعة UV-B حيث لوحظ موت جميع الخلايا بعد التعرض لهذه الأشعة لمدة 150 دقيقة ، كما تبين تحلل صبغات التركيب الضوئي خاصة الفايكوسيانين Phycocyanin في الخلايا الطحلبية بفعل تأثير الأشعة. كما لوحظ أن المحتوى البروتيني لخلايا ينخفض بشكل متزامن مع ازدياد فترة التعرض لهذه الأشعة.

كلمات مفتاحية:طحلب الأنبينا،أشعة فوق بنفسجية،صبغات التركيب الضوئي،محتوى بروتيني

المقدمة

تعمل طبقة الأوزون (0_3) الجوي على منع وصول الأشعة فوق البنفسجية من نمط (uv-B:-285-320nm) ذات التأثير الضار بالكائنات الحية إلى الأرض. إلا أن ازدياد التأكل في طبقة الأوزون في العقدين الاخيرين بسبب انطلاق المزيد من غازات الكلور و الفلور و الكاربون (CFC_S) (12) أدى إلى وصول المزيد من هذه الأشعة وظهور تأثيرها المدمر على العديد من الكائنات الحية على سطح الأرض (10). وللأسف فإن معدل التأكل في طبقة الأوزون لايزال مرشحا للازدياد . وتشير التقديرات إلى أنه مع توقف انبعاث جميع أشكال الغازات الملوثة لن يكون بمقدور طبقة الأوزون أن تتعافى و ترمم نفسها قبل عام 2065(13).

تعتبر الطحالب الخضراء المزرقة احدى مجموعات الأحياء الدقيقة في الأراضي الرطبة(نباتات مائية) و تقوم بالتركيب الضوئي وتحرر الأوكسجين اللازم لتنفس الكائنات الحية (20،22). كما أ نها تكتسب أهمية بالغة في دورة النتروجين كونها تستطيع تثبيت غاز النتروجين من الجو مباشرة ، حيث تقوم بتثبيت حوالي 35 مليون طن من هذا الغاز سنويا (9,11) وتحويله إلى أشكال كيميائية قابلة للامتصاص والأستخدام من قبل النباتات الراقية، لذا يشار إليها في كثير من الأحيان كمخصبات حيوية طبيعية للتربة (16) وتقوم الطحالب الخضراء المزرقة بفضل احتوائها على نوعين من الانزيمات وهي نترات ونتريت ريدوكتيز بتحويل النتروجين في النهاية إلى أمونيوم (NH_4) الذي يعد المركب النتروجيني الجاهز للدخول مباشرة في عمليات الأيض الحيوي وانتاج البروتينات في الخلايا الحية.

لقد تبين أن زيادة معدلات الأشعة فوق البنفسجية أدى- وما يزال- إلى حدوث أضرار مضاعفة لدى العديد من الكائنات الحية، على الرغم من أن عددا من هذه الكائنات (كالطحالب الخضراء المزرقة) تقوم بتصنيع الأصبغة الواقية (كالميكوسبورين شبيه الاحماض الامينية MYcosporine-like amino acids (MASS) و سيكتونيمين

Scytonemin) التي تعمل على امتصاص الاشعة فوق البنفسجية من نمط (UV-A، UV-B) والتقليل من تأثيرها المدمر على الخلايا، حيث لوحظ أن هذه الأصبغة تتركز في الطبقة المخاطية أو خلايا الغمد التي تحيط بخلايا هذه النباتات وأن تعرض الخلايا لهذه الاشعة يعمل على تحفيز صنع هذه الأصباغ (18،19).

تتجلى الاثار السلبية للأشعة الفوق البنفسجية بأشكال عديدة لدى الكائنات الحية مثل تقطيع سلاسل المادة النووية (DAN) (7) ، تخريب العديد من البروتينات البنائية أو الانزيمية ومنها انزيمات الأيض النيتروجيني (6,8) وتناقص كمية Co_2 المثبت وبالتالي تناقص انتاجية النبات (18)، وتحطيم العديد من الأصباغ المساهمة في التركيب الضوئي وخاصة تلك الموجودة في الفايكوبلينات Phycobillin لدى الأحياء الدقيقة ذوات التركيب الضوئي (19).

الهدف من البحث

يهدف البحث إلى دراسة تأثير الاشعة فوق البنفسجية على النمو وصبغات التركيب الضوئي والمحتوى البروتيني في طحلب (*Anabaena sp*) التي تنمو طبيعيا على الترب الرطبة وفي المستنقعات الضحلة ، حيث تعمل على اغناء التربة بالمركبات النتروجينية مما يساهم في نمو النباتات الراقية بشكل أفضل ، ويعمل على ازدهار الغطاء النباتي في تلك التربة أو في محيط تلك المستنقعات.

الأجهزة والمواد المستعملة

تم الحصول على طحالب *Anabaena sp* من بعض المستنقعات الضحلة القريبة من المناطق الساحلية في ليبيا في شهر أيلول عام 2009 حيث كانت البرك و المنخفضات في اوج تعرضها لضوء الشمس خلال العام. وجرى العزل عن طريق غسل العينات الطحلبية عدة مرات بالماء المقطر . ثم جرى توزيعها على اطباق بتري تحتوي على 1.5% من وسط الاجار تحت شروط معقمة ، تم حفظها في الحاضنة لمدة 10 أيام في درجة حرارة 25م° شدة اضاءة (14واط/م^2). ثم بعد ذلك اختيار بعض المستعمرات المعزولة وتم نقلها بواسطة إبرة العزل وتحت شروط معقمة الى دورق زجاجي حاوي محلول نمو مغذ للعالمين (14). جرى حفظ الدورق في الحاضنة لمدة 7 أيام ثم جرى بعد ذلك ترسيب العينة (10min;1500RPM). وحل الراسب بقليل من السائل المغذي. بعد ذلك تم توزيع المزيج الكثيف على أطباق بتري حاوية على الأجار بنفس الطريقة السابقة، وفحصت الاطباق مجهريا، فوضعت اشارات على خلايا *Anabaena sp* المعزولة التي نمت بعد 7 ايام من الحفظ معطية مستعمرات. ثم تحت شروط معقمة نقلت المستعمرات النقية قبل اجراء التجارب عليها الى دوارق خاصة (اوعية ارلنماير) حاوية على 40% من حجمها على محلول النمو المعقم(محلول Murashige&Skoog)، حيث كان الوزن الاولي للطحالب في الاوساط السائلة حوالي 0.15ملغ/ مل محلول وجرى حفظ الاوعية في الحاضنة تحت نفس الشروط السابقة ثم تم اجراء جميع التجارب اللاحقة على العينات الطحلبية بعد 4أيام من نقلها الى الدوارق الخاصة وتضمنت التجارب مايلي:-

أ- تعريض الطحالب للأشعة فوق البنفسجية ، حيث تم توزيع العينات (2 -5 x 10^4 خلية/مل) في أطباق بتري ووضعت الأطباق على جهاز هزاز Shaker لمنع تراكم الخلايا فوق بعضها ، ثم جرى تعريضها للأشعة فوق البنفسجية المنتجة من نمط (UV-b) الصادرة عن شمعة نيون UV خاصة (UV-B Lamp ; output at 320nm ; Philips)(١٠).

ب- تحديد نسب المستعمرات الحية والمحتوى البروتيني:- حيث تم اخذ 0.05مل من محلول الخلايا المعرضة في اطباق بتري للاشعة فوق البنفسجية وذلك بفترات زمنية محددة، ثم جرى توزيعها على اطباق بتري الحاوية على الاجار وبعد يومين تم ملاحظة وتعداد المستعمرات الحية الموجودة على الاجار لاجل تحديد نسبة الخلايا الحية المتبقية بعد التعريض للاشعة فوق البنفسجية وتحديد المحتوى البروتيني الكلي للخلايا وفق طريقة (3) .

ج- تحديد كميات الاصباغ ومعدلات الامتصاص الضوئي:- فقد تم تحديد شدة الامتصاص الضوئي وكمية الاصباغ باستخدام جهاز مقياس الطيف (1)حيث تم ترسيب الخلايا بعد تعريضها لفترات محددة للاشعة فوق البنفسجية، ثم جرى حلها بالماء المقطر وتعبئتها في خلايا كوارتيزية سعة2 مل . بعدها تم قياس شدة الامتصاص الضوئي بقياس الطيف للعينة عند أمواج ضوئية مختلفة(٢٥٠-٧٥٠nm)

النتائج

ا-النمو و المحتوى البروتيني:- تم تحديد معدلات النمو عن طريق قياس المحتوى البروتيني الكلي في خلايا الانابينا الذي يعتبر عاملا محددا ومؤشرا رئيسيا على النمو وانتاجية النبات (17,15) لقد أظهرت النتائج ان النمو كان متماثلافي اليومين الاولين لدى جميع انواع خلايا الانابينا المعرضة والغير معرضة للاشعة، واعتبارا من اليوم الثالث ظهر التباين في النمو باختلاف الجرعات المعرضة لها العينات، حيث بلغ معدل النمو في اليوم الخامس حوالي 50% (مقارنة بالخلايا غير المعرضة للأشعة) عند الخلايا التي تم تعريضها لمدة (1ساعة)، وبلغ حوالي 15% عند الخلايا التي تعرضت لمدة (2ساعة)، كما في الجدول(1). وكان معدل النمو في الفترة ما بين اليومين السابع والتاسع عند الخلايا التي تعرضت للأشعة لمدة(2ساعة) منخفضة وشبه مستقرة عند 20%(تركيزمستوى النمو)، بينما استمرت الخلايا التي تعرضت للأشعة لمدة (1ساعة) بمعدل نمو اعلى خلال نفس الفترة.

ب- نسب المستعمرات الحية:- كان يجرى تعريض العينات الطحلبية للاشعة فوق البنفسجية (UV-B) لفترات زمنية مختلفة، ثم يجري بعدها مباشرة تعداد المستعمرات الحية التي استطاعت تحمل فترة التعريض حيث يظهر الجدول(2) ان70% من المستعمرات التي جرى تعريضها للأشعة لمدة (0.5 ساعة) استمرت حية واستطاعت تحمل فترة التعريض ،و50 % من المستعمرات استمرت حية بعد التعريض للاشعة لمدة (1ساعة) و 10% بعد (1.5ساعة) تعريض للاشعة، بينما لم يبقى اكثر من 5% من المستعمرات بعد التعريض لمدة (2ساعة) متواصلة. وكانت جميع المستعمرات تموت بعد التعريض للاشعة لمدة (2.5ساعة).

ت- معدلات الامتصاص الضوئي :- لقد أظهرت الخلايا انخفاض عاما في معدلات الامتصاص الضوئي بعد تعريضها للاشعة فوق البنفسجية (UV-B)،و الجدول (3) يوضح معدلات الامتصاص بوجود 4 قمم امتصاص رئيسية في المجال المرئي عند الامواج الضوئية 435 , 485 , 620 , 670 نانو متر، وتبين انه مع ازدياد فترة تعرض العينات للاشعة ينخفض معدل امتصاصها للضوء بشكل حاد، ولكن بالمقارنة بين القمم الامتصاصي الاربعة يتضح انه يحدث انخفاض كبير وملحوظ عند الموجة ذات الطول الموجي 620 نانومتر، وهي الموجة التي يكون فيها امتصاص صبغات الفايكوسيانين للضوء كبيرا، وفي هذا اشارة واضحة الى تأثر هذه الصبغات وتحطمها بفعل الاشعة فوق البنفسجية بشكل اكبر بكثير من تأثر بقية صبغات التركيب الضوئي مثل كلوروفيل أ (Chlorophyll a) حيث الامتصاص الاكبر عند (435 , 670 نانو متر) والكاروتينويدات Carotenoids يكون الامتصاص الاكبر عند (٤٨٥نانومتر).

جدول(1) يبين معدل نمو عينات طحالبAnabaena sp متمثلة بكمية البروتين الكلي مقاسا بالمايكوجرام/مل في الوسط السائل بعد التعرض للاشعة فوق البنفسجية (UV-B) لمدة 1 ساعة أو 2 ساعة.

فترة التعرض للأشعة(ساعة)	كمية البروتين (مايكرو جرام/ مل) / يوم				
	1	3	5	7	9
0	4	30	80	125	150
1	4	6	45	60	70
2	4	5	15	30	30

جدول (2) يبين النسبة المئوية لمستعمرات *Anabaena sp* الحية بعد تعرضها للأشعة فوق البنفسجية (UV-B) لفترات زمنية مختلفة.

النسبة المئوية للمستعمرات الحية / التعريض للاشعة	مدة التعرض للأشعة (ساعة)					
	0	0.5	1	1.5	2	2.5
بدون التعرض Control	%100	%100	%100	%100	%100	%100
التعرض لـ UV-B	_ _ _	%70	%50	%10	%5	%1

جدول (3) يبين معدلات الامتصاص الضوئي لخلايا Anabaena sp بعد تعريضها لأشعة (UV-B) لفترات زمنية مختلفة.

الطول الموجي (نانومتر)	مدة التعرض (ساعة) / شدة الامتصاص			
	0 ساعة	1 ساعة	2 ساعة	3 ساعة
250	0.15	0.14	0.14	0.10
300	0.07	0.02	0	0
350	0.10	0.07	0.05	0.05
400	0.18	0.14	0.12	0.12
435	0.23	0.18	0.17	0.16
450	0.18	0.14	0.11	0.11
500	0.10	0.07	0.06	0.05
550	0.07	0.04	0.03	0.03
600	0.13	0.05	0.04	0.02
650	0.07	0.03	0.02	0.02
700	0.13	0.07	0.06	0.06
750	0	0	0	0

المناقشة

تبين نتائج الدراسة بأن طحالب الأنابينا *Anabaena sp* تعد شديدة الحساسية عند الأشعة فوق البنفسجية من نمط (UV-B)، وهي أكثر حساسية باتجاه هذه الأشعة من بقية أجناس الطحالب الخضراء المزرقة مثل النوستوك Nostic sp (5)،و ربما يعود ذلك إلى غياب الغمد المخاطي عند Anabaena sp الموجودة عند Nostic sp، حيث تبين أن هذا الغمد يحتوي على مجموعة من الصبغات الواقية من أشعة (UV-B) كالسكيتونمين Scytonemin (19).

تحمل أشعة (UV-B) طاقة عالية، ويعتقد كثير من الباحثين أن التأثير الأولي لهذه الأشعة على الخلايا يظهر في تحطيم بعض البروتينات التركيبية للغشاء البلازمي، مما يؤدي إلى إحداث خلل في نفاذية هذا الغشاء (2,21)، وتموت جميع الخلايا عندما تكون فترات التعرض لهذه الأشعة طويلة، ويعزى الموت في هذه الحالة إلى تحطم وتوقف عدد كبير من العمليات الحيوية في الخلايا بشكل متزامن (8,2).

تؤكد هذه الدراسة على تأثر صبغة phycocyanin وتحطمها في طحالب الأنابينا بفعل (UV-B) بشكل أشد من بقية صبغات البناء الضوئي كالكلوروفيلات والكاروتينويدات وهذا متوافقا مع دراسات (4) على أنواع اخرى من الطحالب الخضراء المزرقة كطحلب كربتوموناس Cryptomonas sp (7). حيث تعمل الجرعات العالية من أشعة (UV-B) على أكسدة هذه الصبغات ضوئيا، الأمر الذي يؤدي إلى شحوبها وتحطمها، كما يمكن أن تعمل هذه الأشعة للحيلولة دون البناء الحيوي للكلوروفيل والصبغات الكاروتينية. وتشير نتائج الدراسة الحالية إلى تثبيط عملية بناء البروتين في خلايا Anabaena sp بفعل أشعة (UV-B)، حيث لوحظ ازدياد معدلات انخفاض في المحتوى البروتيني الكلي للخلايا بشكل متزامن ومتوازي مع ازدياد فترة التعرض للأشعة.

الاستنتاجات

إن الاستمرار في تآكل طبقة الأوزون سيؤدي إلى زيادة معدلات أشعة (UV-B) الشمسية الواصلة إلى سطح الأرض، التي ستؤثر سلبا على الطحالب الخضراء المزرقة مثل *Anabaena sp* بشكل خاص، الأمر الذي سينعكس سلبا على انتاجية ووجود هذه الطحالب التي تعتبر شديدة الأهمية في السلسلة الغذائية، ولا يقتصر التأثير السلبي على هذه الطحالب وغيرها من الكائنات الدقيقة بل انه امتد ويمتد تدريجيا إلى المحيط الحيوي من النباتات والحيوانات التي تعيش فيه هذه الطحالب، الأمر الذي سيؤدي في النهاية إلى تهديد وجود الأنسان ذاته. لذا لابد من العمل على المستوى العالمي لمنع انبعاث الغازات الملوثة كغازات الكلوروفلوروكاربون (CFCs) حتى نفسح المجال أمام طبقة الأوزون لترميم نفسها ولو بعد عدة عقود، بحيث تعود قادرة على حماية الأرض من هذه الأشعة المدمرة، وحتى نؤمن لأطفالنا بيئة نمكنهم فيها الاستمرار بالحياة.

References

1- *Bradford , M .A. (1976)Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding. Analyt . Biochem .Vol .72,248-254.*

2- *CALDWELL , M(1981) . PLANT response to solar ultraviolet radiation . encyclopedia of plant physiology .Vol 12A ,169-197 .*

3- *Chapman ,H ,D ,and PRATT ,P ,F .(1961),Method of analysis of soil ,plant and water.Univ of California,Division of agric science U,S,A.*

4- *DONKOR,V,HAEDER .D.P(1991)Effects of solar and ultra violet radiation on motility, photomovement and pigmentation in filamentous, gilding cyanobacteria,FEMS Microbiol,ecol,vol 86,168.*

5- *GARCIA-PICHEL,F,CASTENHOLZ,R,W.(1991)Characterisation and biological implication of scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment .J.Phycol.vol.27,395-409.*

6- *GARCIA-SANCHEZ,M.J,FERNADEZ,J,A,NIELL,F,X.(1993)Biochenical and physiological responses of Gracillaria tenuistipitata under two different nitrogen tretments,physiol,plant,vol.88, 631-637.*

7- *HAEBERLEiN,A,HAEDER,D,p.(1992)UV effects on photosynthetis oxygen production and chromoprotein composition in a freshwater flagellate CryptomonaA.AETA protozool,vol,31, 85-92.*

8- *HAEDER,D,P,WORREST,R,C.(1992)Effects of enhanced solar-ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. Photochem, photobiol, vol, 53, 717-725.*

9- *HAEDER,D,PWORREST,R,C,KUMAR,H,D.(1989)Aquatric ecosystems.UNEP Environmental effects panel Report,39-48.*

10-KLISCH,M,HAEDER,D,P.0(2001)(Effects of UV radiation on phytoplankion. Trends in photochemistry&photobiology,VOL8, 137-143.

11- KUHLBUSCH,I,A,LOBERT,J,M,CRUTZEN.P.J,WARNECK,P.١٩٩),(1991)olecular nitrogen emissions from dentritification biomass burning.Nature, VOL,351

,135-137.

12- LUBIN,D,JENSEN,E,H.(1995),effects of clouds and stratospheric ozone depletion on ultraviolet radiation trends,Nature,VOL377, 701-713.

13- MADRONICH ,R,L,MCKENIZIE,L,O, BIORN,M,CALDWELL,M(1998) Changes in piologically active ultraviolet radiation reaching the earth's surface.j.photochem.photobio.VOL,46, 5-19.

14- Marashing&skoog(1962),essential element need to preparation media Of tissue calturehundbook.newyork.USA.

15- PARKER,B,C,HEISKELL,L,E,THOMPSON,W,J.(1987). Non-biogenic fixed nitrogen in antractica and some ecologicaL implications.nature. VOL271 ,651- 652.

16- SINHA,R,P,HAEDER,D,P,(1996),photobiology and ecophysiology of rice field cyanobasteria.photochem.photobiol.VOL,64, 887- 896.

17- *SINHA,R,P,KRYWULT,M,HAEDER,D,(1998),Effects of ultraviolet monochromatic PAR wavebond on nitrat redectase activity and pigmentation in a rice field cyanobacterium, Anabaena sp, Aeta, hydrabiol, VOL,40, 105 - 112.*

18- *SINHA,R,P,KLISCH,M ,VAISHAMPAYAN,A,HAEDER,D,P(1999)Biochemical and spectroscopic characterization of the cysnobacterium . Lyngba sp. inhabiting mango(Managifera indica) trees presence of an ultraviolet-absorbing pigment,Scytonemin.J. acta, protozool,VOL,38, 291-298.*

19- *SINHA,R,P,AMBASHT,N,K,SINHA,J,KLISHA,M,HAEDER,D,P.(2003)UV-B -Induced synthesis of mycosporine- like amino acids in three stains of nodularia(cyanobacteria).j.photochem.photobiol.vol,71, 51-58.*

20- *STEWART ,W(1981) ,Dsome aspects of structure and function in N_2 – Fixing cyanobacteria. Annu.rev.J.Microbiol.VOL ,34 , 497 –536.*

21- *Tevini,m,termura,a,h.(1989)uv-b Effects on terrestrial plants photochem.photobiol,vol,50,487-497.*

22- *VENKATARAN,G,S.(1981)Blue- green algae apossible remedy to nitrogen scarcity.curr.Sci.VOL.50 ,253-256.*

Effect of UV radiation on growth;photosythesis pigments; and protein contents in blue green algae *Anabaena sp.*

Dr.Saeed .H. Abidal

University of Diyala Basic Education College / Science Department

Abstract

The Blue green algae (cyanobacterium) *Anabaena* sp can fix aconsider able amount of atmospheric nitrogen and convert it to ammonium (NH_4) that can be used in protein synthesis and the food chain . This *Anabaena* was isolated from some pond near the coast of the Libyan ; and was tested for the effects of ultraviolet radiation(UV-B ; 285 ; 320 nm)on photosynthetic pigments

; growth and protein contents . Growth patterns of the cell treated with UV-B revealed that *Anabaena sp* was very sensitive to this radiation . complete killing of all cells occurred after 150 min of UV-B exposure .Pigments content; particularly phycocyanin , severely decreased following UV-B irradiation in all cells tested. The protein contents of the cells treated with UV-B showed a remarkable decrease with increase in UV-B exposure time .

ISSN: 2222-8373

DJPS

DIYALA JOURNAL FOR PURE SCIENCES

DIYALA JOURNAL FOR PURE SCIENCES
DJPS
DIYALA UNIVERSITY
COLLEGE OF SCIENCE

A Scientific Refereed Journal Published by
College of Science University of Diyala

December 2012
Vol .8 No 4