تأثير أيونات المعادن الثقيلة النحاس ، الكادميوم والكوبلت في نمو وتكاثر الفطر المائي *Saprolegnia hypogyna*

أ.د. بتول زينل علي

م. ثامر عبد الشهيد محسن الإبراهيمي

م.م. طلال سالم السامرائي

قسم علوم الحياة، كلية التربية (إبن الهيثم)،جامعة بغداد

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية تقييم تأثير المعادن الثقيلة النحاس ، الكادميوم والكوبلت عند إضافتها بصورة منفردة ومزدوجة ومجتمعة في نمو وتكاثر الفطر المائي *Saprolegnia hypogyna*، أظهرت نتائج معاملة الفطر بالمعادن الثقيلة المضافة بصورة منفردة إلى الوسط الزرعي الصلب إلى حصول إنخفاض تدريجي ومعنوي لأقطار المستعمرات بزيادة التراكيز وصولاً إلى التركيز 50، 60، 70 جزء بالمليون للمعادن الثلاثة على التوالي والتي أدت إلى تثبيط كامل للنمو، وظهر التأثير السمي للمعادن الثلاثة بالتسلسل Co < Cd < Cu. أما معاملة الفطر بخليط المعادن بصورة مزدوجة فأظهر خليط الأملاح (Cd +Cu) ، (Co +Cu) ، (Cd +Co) إلى زيادة التأثير التثبيطي للنمو القطري بزيادة التركيز وصولاً إلى التركيز 12.5 جزء بالمليون للمعاملة (Cd +Cu) و25 جزء بالمليون للمعاملتين (Co +Cu) و(Cd +Co) اللذين أظهرا تثبيطاً تاماً للنمو مقارنة بمعاملة الفطر بتراكيز الأملاح المضافة بصورة منفردة، وأدت معاملة الفطر بخليط الأملاح الثلاثة مع بعضها إلى زيادة التأثير التثبيطي معنوياً وصولاً إلى التركيز 12.5 جزء بالمليون الذي أظهر تثبيطاً تاماً للنمو، كما أدت معاملة الفطر النامي في الوسط المائي (على بذور السمسم) الحاوي على تراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة إلى زيادة حساسية نمو الفطر تجاه المعادن الثلاثة مقارنة مع الوسط الصلب، وأثرت المعادن في هذا الوسط كذلك في نسبة ظهور الحافظات المشيجية الأنثوية (الأوكونات) ونسبة إخصابها وعدد الجيمات كما أثرت في سمك الخيوط الفطرية.

الكلمات المفتاحية: الفطر المائي *Saprolegnia hypogyna* ، أملاح المعادن الثقيلة، كبريتات النحاس المائية ، كبريتات الكاديوم المائية ، كلوريد الكوبلت المائية.

المقدمة

تتعرض البيئة المائية للعديد من الملوثات ومنها المعادن الثقيلة التي اصبحت من المشاكل المهمة وذلك بسبب قابلية هذه المعادن على التراكم حتى لو كانت بتراكيز قليلة (1)، كما انها غير قابلة للتحلل وتسبب اضرارا كبيرة لمختلف الاحياء المائية. يمكن ان تتعرض الانهار للتلوث بالمعادن الثقيلة من مصادر مختلفة منها طبيعية كعمليات التعرية والمعادن الثقيلة التي تحمل بالهواء على ذرات الغبار، وتلعب الامطار دورا كبيرا في اضافة كميات كبيرة من المعادن الثقيلة العالقة بالجو الى البيئة المائية، كما ينتج التلوث عن طرح الفضلات المنزلية والصناعية والفعاليات الزراعية كأضافة الاسمدة والمبيدات مما يؤثر على التوازن البيئي في النظام المائي (2). تضم العناصر الثقيلة مجموعة كبيرة تقارب 38 عنصرا منها ما هو ضروري الفعاليات الحيوية كالحديد والنحاس ومنها ما هو سام كالزئبق والرصاص والكاديميوم والنيكل. وتتصف العناصر الثقيلة بوزنها النوعي العالي اذ تكون بحدود 5 غم/ سم ^{3} أو اكثر (3).

لقد اوضحت العديد من الدراسات التأثيرات السمية لبعض المعادن الثقيلة تجاه الاحياء المجهرية المائية بصورة عامة (4، 5، 6، 7، 8، 9، 10). ولكن بالرغم من ذلك فقد وجدت قابلية للعديد من الفطريات للتخلص من سمية هذه المعادن فضلاً عن قابليتها على امتصاصها من البيئة التي تعيش فيها مما يعطي دليلا لاهمية الفطريات في الحد من التلوث بهذه المعادن عن طريق تقليل تراكيزها في البيئات المائية خاصة. وقد اشارت العديد من الدراسات المحلية الى تواجد المعادن الثقيلة وبتراكيز مختلفة في المياه العراقية (2، 12، 13).

تتواجد الفطريات البيضية العائدة لعائلة Saprolegniaceae بكثرة في المياه العذبة والترب الرطبة بشكل رميات على مواد مختلفة، وقد لوحظ بهذا الصدد كثرة تواجد أنواع جنس *Saprolegnia* في المياه الملوثة بالمواد العضوية والمياه الملوثة بالمعادن الثقيلة (14، 15، 16) كما يعيش البعض الأخر متطفلاً على الأسماك وبيوضها والحيوانات المائية ، وفي هذا المجال تم عزل العديد من الفطريات البيضية ومنها النوع المستخدم في هذه الدراسة من دراسات سابقة كفطريات متطفلة على أنواع مختلفة من الأسماك وبيوضها وبعض الحيوانات القشرية الأخرى (17، 18) .

لقد أهتمت القليل من الدراسات في تأثير بعض المعادن الثقيلة في نمو وتكاثر ومورفولوجية بعض أنواع هذه الفطريات (4، 5، 19، 20، 21) . وبالنظر لقلة هذه الدراسات خاصة في العراق أجريت هذه الدراسة لملاحظة تأثير المعادن الثقيلة الكاديميوم ، الكوبلت والنحاس عند إضافتها بصورة منفردة ومجتمعة في بعض خصائص نمو وتكاثر الفطر *Saprolegnia hypogyna* .

المواد وطرائق العمل

-العزلة الفطرية :

تم الحصول على الفطر *Saprolegnia hypogyna* (pring sheim) de Bary من مختبر الفطريات المتقدم / كلية التربية / إبن الهيثم وقد تم عزله وتشخيصه في دراسة سابقة من نهر دجلة (22)، وتم إعادة تشخيصه والتأكد منه.

-تحضير محاليل المعادن الثقيلة :

تم غسل كافة الزجاجيات المستخدمة بغسلها بماء الحنفية أولاً ثم تنقيعها بحامض الكبريتيك (10N) لمدة (30) دقيقة ، بعد ذلك غسلت عدة مرات بالماء المقطر لإزالة بقايا أثار الحامض، حضرت المحاليل الخزينة Stock Solutions لأملاح المعادن الثقيلة ،كبريتات النحاس المائية $CuSO_4.5H_2O$ ، كبريتات الكاديوم المائية $CdSO_4.8H_2O$ ، كلوريد الكوبلت المائي $CoCl_2.6H_2O$ وبتركيز (100) جزء بالمليون وذلك بإذابتها في الماء المقطر الخالي من الأيونات . عقمت هذه المحاليل بالمؤصدة لمدة (20) دقيقة وبدرجة حرارة (121° م وضغط (15) باوند / إنج^2 وحضرت التراكيز المطلوبة منها .

-تأثير المعادن الثقيلة في النمو القطري لفطر *Saprolegnia hypogyna*

إستخدم وسط أكار مستخلص الخميرة- كلوكوز (GYA) لتنمية الفطر المائي وإختبار حساسيته تجاه المعادن الثقيلة المدروسة ، حضر الوسط مختبرياً ويتكون من (كلوكوز 5غرام ، مستخلص خميرة2.5 غرام ، أكار 15غرام ، أذيبت المكونات في لتر من الماء المقطر) . عقم الوسط بالمؤصدة بدرجة حرارة (121° م وضغط (15) باوند / إنج^2 لمدة (20) دقيقة .

أضيفت أحجام معينة من محاليل المعادن الثقيلة الخزينة والمعقمة الى الوسط الزرعي المعقم للحصول على التراكيز المطلوبة ، ثم صب الوسط في أطباق معقمة وتركت لحين تصلب الوسط بعدها لقح كل طبق وذلك بنقل قرص حامل للخيوط الفطرية بقطر (9) ملم مأخوذ من حافة مزرعة نامية بعمر (4-5) أيام بواسطة ثاقب فليني، وضع القرص في مركز الطبق وبوضع مقلوب وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز إضافة الى معاملة السيطرة ، تم إضافة أملاح المعادن الثلاثة وبتراكيز محددة وبصورة مفردة ومزدوجة ومجتمعة ، حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة (20° م ، وتم بعدها حساب أقطار المستعمرات يومياً بواسطة المسطرة لحين وصول النمو في طبق السيطرة الى حافة الطبق ، وتم حساب النسبة المئوية للتثبيط وحسب القانون :

$$\text{النسب المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل قطر المستعمرة في عينة السيطرة} - \text{معدل قطر المستعمرة في عينة المعاملة}}{\text{معدل قطر المستعمرة في عينة السيطرة}} \times 100$$

-تأثير المعادن الثقيلة في الشكل الظاهري Morphology وتكاثر الفطر

أضيفت أملاح المعادن الثقيلة وبالتراكيز المحددة الى حجم معين من الماء المقطر المعقم في أطباق بتري معقمة بقطر (6) سم ، أضيف الى الأطباق 3-4 بذور سمسم معقمة بالمؤصدة، بعدها لقح كل طبق بقرص من الوسط الغذائي الحاوي على النمو الفطري بعمر 4-5 أيام، حضنت الأطباق بدرجة (20°) م وتم فحصها يومياً بواسطة المجهر الضوئي لمتابعة التغيرات التي قد تحصل في الشكل الظاهري للخيوط الفطرية او في السيتوبلازم فضلاً عن تأثيرها على تكوين الجيمات وكثافتها وتكوين الحافظات الأنثوية (الأوكونيا) وكثافتها وغيرها من التغيرات (16، 19).

-التحليل الإحصائي

استعملت طريقة ANOVA (23) للتحليل الإحصائي وعند مستويات إحتمالية (0.05،0.01،0.001) وذلك لغرض تقويم الأختلافات في نتائج المعاملات من حيث كونها معنوية أوغير معنوية لغرض المقارنة بين تأثير المعادن الثقيلة مفردة ومزدوجة ومجتمعة في نمو الفطر *Saprolegnia hypogyna*.

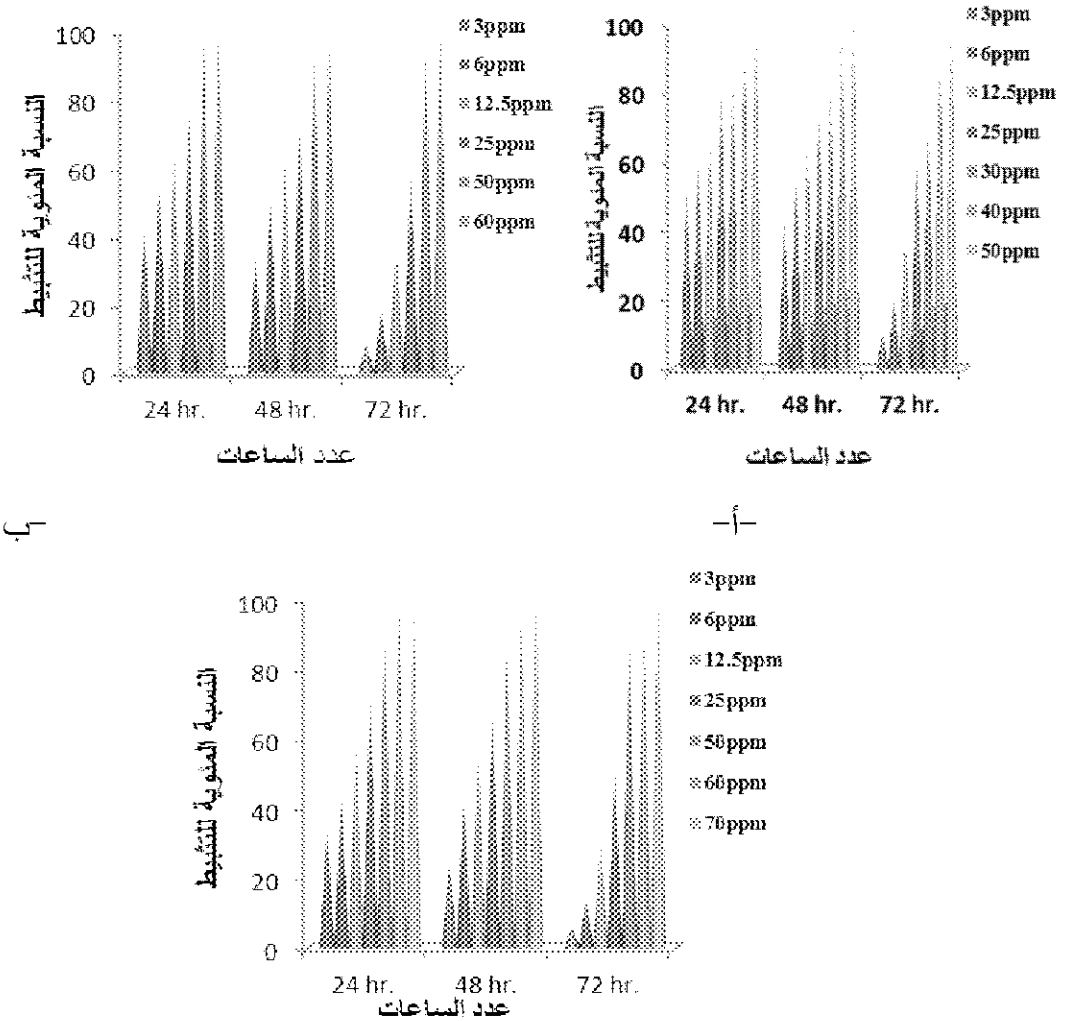
النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج معاملة الفطر المائي بتراكيز مختلفة من أملاح المعادن ، كبريتات النحاس المائية $CuSO_4.5H_2O$ ، كبريتات الكادميوم المائية $CdSo_4.8H_2o$، كلوريد الكوبلت المائية $CoCl_2.6H_2O$ بأضافتها بصورة منفردة الى الوسط الزرعي الصلب [شكل (1) أ ، ب ، ج] الى حصول إنخفاض تدريجي ومعنوي ($p < 0.01$) للنحاس و($p < 0.05$) للكادميوم والكوبلت، لأقطار المستعمرات بزيادة التراكيز وصولاً الى التركيز 50، 60، 70 جزء بالمليون للمعادن الثقيلة على التوالي والتي أدت الى تثبيط كامل للنمو، وإزداد التأثير التثبيطي بزيادة فترة التعريض إذ كان التثبيط أعلاه بعد 72 ساعة من المعاملة ، وبذلك تكون قيمة التركيز المثبط الأدنى لهذه المعادن بالتراكيز 40، 50، 60 جزء بالمليون لأملاح المعادن النحاس، الكادميوم والكوبلت على التوالي . ولتحديد التركيز القاتل الأدنى نقلت أقراص الفطر المعاملة بالتراكيز 50، 60 و70 لأملاح المعادن Cu ، Cd ، Co على التوالي والتي أدت الى تثبيط النمو بنسبة 100% الى وسط زرعي جديد خالي من أملاح المعادن السابقة الذكر ولم تنجح في النمو مما يدل على أن هذه التراكيز تمثل التركيز القاتل الأدنى لهذه المعادن . وبذلك يكون التأثير السمي للمعادن الثقيلة بالتسلسل Co < Cd < Cu بالرغم من ذلك فقد أظهرت التراكيز المختلفة من الكادميوم نسبة تثبيط أعلى من النحاس والكوبلت .

من المعروف إن عنصري النحاس والكوبلت هما من العناصر الثقيلة الضرورية لفعالية معظم الأحياء ومنها الفطريات عند تراكيز معينة إذ يدخل النحاس في فعالية أنزيم Cytochrome C

oxidase الذي يقوم بنقل الألكترونات في المايتوكوندريا ، وبزيادة تركيزه يؤدي الى تثبيط نمو الأحياء وفي هذا المجال لوحظ تأثير النحاس السلبي تجاه الفطريات *Trichoderma viride* و*Rhizopus arrhizus* (24) وعدد من الفطريات المائية غير البيضية Aquatic hyphomycetes (25) والتي أعطت نفس النتيجة المستحصل عليها في البحث الحالي إذ أثرت التراكيز تدريجياً على الشكل الظاهري والكتلة الحيوية بزيادة التركيز.

أما الكوبلت فيعد منشطاً أنزيمياً لأنزيمات Phosphomonoesterase، Aminopolypeptidase ، Arginine desimidase (26) كما لوحظت تأثيراته السمية بزيادة التراكيز تجاه العديد من الفطريات التابعة لأجناس مختلفة (27) ، ولاحظت (3) تأثيراً محفزاً لنمو الفطر المائي *Saprolegnia ferax*



-أ-

-ب-

-ج-

شكل (1): النسبة المئوية لتثبيط النمو القطري لفطر *Saprolegnia hypogyna*

أ- استخدام تراكيز مختلفة من $CuSO_4.5H_2O$

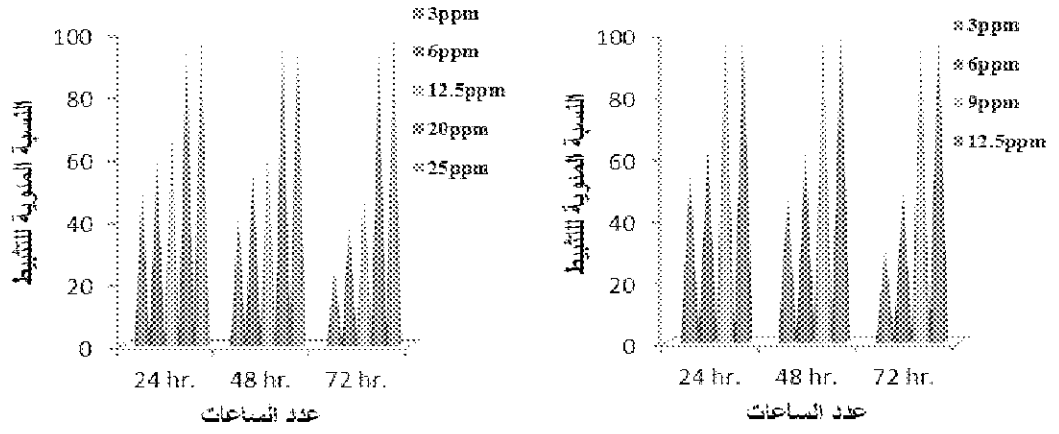
ب- استخدام تراكيز مختلفة من $CdSO_4.8H_2O$

ج- استخدام تراكيز مختلفة من $CoCl_2.6H_2O$

تحت التراكيز الواطئة ولم تؤثر هذه التراكيز في نمو الفطر المائي *Achlya conspicua* وادت التراكيز العالية من الكوبلت الى خفض النمو تدريجياً ، أما (28) فأوضح عدم تأثير التراكيز (10-100) جزء بالمليون من الكوبلت في معدل النمو القطري للفطر *F.chlamydosporum* وأدت بعض التراكيز (10و20) جزء بالمليون إلى تحفيز النمو.

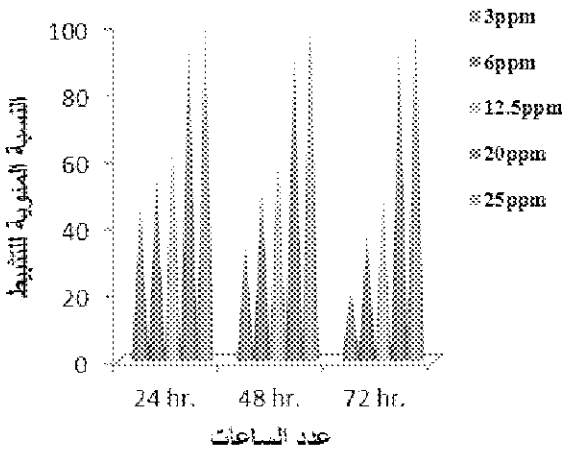
أما الكادميوم فيعد من العناصر الغير ضرورية للنمو ولم تظهر التراكيز الواطئة منه أي تأثيرفي نمو الأحياء المجهرية بصورة عامة أما التراكيز العالية فأظهرت سمية تجاه الفعاليات الأيضية اللازمة للنمو (29) ، وقد أكدت عدد من الدراسات على الأضرار البيئية والفسلجية التي يسببها الكادميوم (30) فهو مادة خطيرة وسامة لجميع الأحياء وذلك بسبب تشابه مواقع أرتباطه في الخلايا مع مواقع أرتباط عنصر الزنك فضلاً عن قابليته للأرتباط بمجاميع SH- ضمن الحامض الأميني Cystine الذي يدخل في تركيب العديد من الأنزيمات منها Alkaline phosphatase ، Aldolase ، Carbonic anhydrase ، Dipeptidase و Alcohol dehydrogenase ، كما أظهر قدرة على التاثير في نفاذية غشاء الخلية وحصول أختلال في التوازن الأيوني وضرراً بايلوجياً في الخلايا (4، 31) . فقد ثبط نمو الفطر *Pythium sp.* (32) والفطر *Trichoderma harzianum* (26) ، وأظهر الكادميوم تأثيراً مخفظاً للنمو القطري بزيادة التراكيز تجاه الفطريين المائيين *S. frrax* و *A.conspicua* (5) وتجاه الفطر المائي *A.bisexualis* (19) .

أما معاملة الفطر بخليط الأملاح بصورة مزدوجة [شكل (2) أ،ب،ج] فقد أظهرت المعاملة ($CdSO_4.8H_2O + CuSO_4.5H_2O$) بالتراكيز المختلفة الى زيادة التأثير التثبيطي للنمو القطري



-أ-

-ب-



-ج-

شكل (2): النسبة المئوية لتثبيط النمو القطري لفطر *Saprolegnia hypogyna* باستخدام معدنين ثقيلين

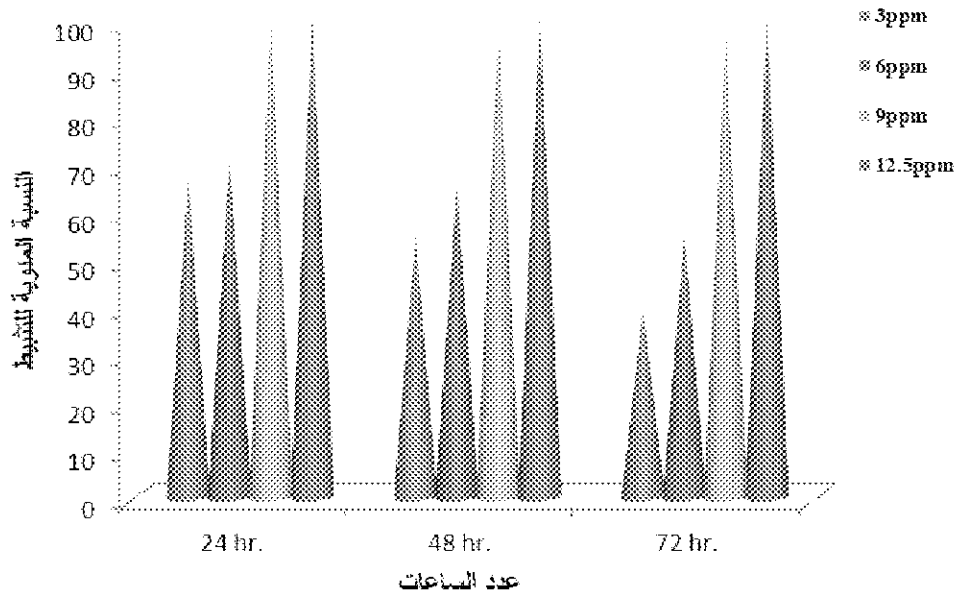
أ-استخدام تراكيز مختلفة من $CuSO_4.5H_2O$ و $CdSO_4.8H_2O$

ب- استخدام تراكيز مختلفة من $CuSO_4.5H_2O$ و $CoCl_2.6H_2O$

ج- استخدام تراكيز مختلفة من $CdSO_4.8H_2O$ و $CoCl_2.6H_2O$

مقارنة بمعاملة الفطر بتراكيز الأملاح المضافة بصورة منفردة وصولاً الى التركيز 9 جزء بالمليون لخليط الملحين والذي أظهر أقل تركيز مثبط للنمو (MIC) أما التركيز12.5جزء بالمليون فأظهر تاثيراً قاتلاً للنمو ،كذلك الحال في خليط الملحين ($CoCl_2.6H_2O$+ $CuSO_4.5H_2O$) و($CdSO_4.8H_2O$+ $CoCl_2.6H_2O$) إذ أدت المعاملتين الى خفض النمو القطري مقارنة بالمعاملات المنفردة للأملاح المذكورة ، وظهر التركيز المثبط الأدنى للمعاملتين بقيمة 20جزء بالمليون ، وأظهر التركيز 25 جزء بالمليون تثبيطاً تاماً للنمو وتحت مستوى ($p<0.01$ ، $p<0.05$) للمعاملتين على التوالي .

أما معاملة الفطر بخليط الأملاح الثلاثة مع بعضها وبتراكيز مختلفة (شكل 3) فأدت الى زيادة التأثير التثبيطي معنوياً وصولاً الى التركيز 9 جزء بالمليون الذي أظهر أقل تركيز مثبط للنمو مقارنة بمعاملة الفطر بالأملاح المضافة منفردة ومزدوجة وأظهر التركيز 12.5 جزء بالمليون أقل تركيز قاتل للفطر. إن زيادة سمية المعادن الثقيلة بإضافتها بصورة مزدوجة ومجتمعة (ثلاثة) بزيادة فترة التعريض يتفق مع ماوجده (5، 34، 35) وأوضحوا بأن سمية المعادن الثقيلة تكون أقل عندما تضاف بصورة منفردة مقارنة مع إضافتها بصورة مجتمعة ، كما يختلف التأثير السمي للمعادن الثقيلة بإختلاف نوع المعدن وتركيزه ونوع الفطر وفترة تعرضه.



شكل (3): النسبة المئوية لتثبيط المعادن الثقيلة $CuSO_4.5H_2O$ ، $CdSO_4.8H_2O$ و $CoCl_2.6H_2O$ في النمو القطري للفطر *Saprolegnia hypogyna*

أما تأثير المعادن الثقيلة المستخدمة في هذه الدراسة (بصورة منفردة) في بعض الخصائص المورفولوجية والتكاثرية للفطر المائي *Saprolegnia hypogyna* النامي على بذور السمسم في الوسط المائي فأظهرت النتائج حساسية عالية لنمو الفطر تجاه المعادن الثلاثة المستخدمة مقارنة مع الوسط الصلب (جدول رقم 1) ، إذ أظهرت نتائج معاملة الفطر بكبريتات النحاس المائية الى خفض النمو بشكل ملحوظ في التركيز 3، 6 جزء بالمليون ولم ينمو الفطر في التراكيز الأعلى من ذلك ، كما أثر النحاس في نسبة ظهور الحافظات المشيجية الأنثوية (الأوكونات) ونسبة الإخصاب ، إذ أدى إلى خفض نسبة الإخصاب بنسبة 60-65% ، وأدت معاملة النحاس أيضاً الى زيادة عدد الجيمات خاصة في التركيز 3 جزء بالمليون حيث أزدادت بنسبة تقارب 50% ثم أختفت في التراكيز الأعلى من ذلك ، وأثر النحاس كذلك في سمك الخيوط الفطرية إذ ظهرت أكثر سمكاً من معاملة السيطرة .

أما معاملة الفطر بكبريتات الكاديوم المائية (جدول1) فقد أدت كذلك الى خفض النمو بشكل ملحوظ في التراكيز 3-25 جزء بالمليون كما أنخفض عدد الحافظات الأنثوية وثبط الإخصاب وظهور الأبواغ البيضية بنسبة ملحوظة خاصة في التراكيز 12.5 و25 جزء بالمليون، وظهرت الخيوط الفطرية كذلك بسمك أكبر من معاملة السيطرة ، أما الجيمات فقد أزداد ظهورها في التركيز3 جزء بالمليون وأنخفضت بعدها أعدادها بما يقارب معاملة السيطرة.

جدول (1) تأثير أملاح المعادن الثقيلة في بعض الصفات المورفولوجية والتكاثرية للفطر *Saprolegnia hypogynya*

الملاحظات		النمو	الحوافظ الأنثوية	الإخصاب	الجيمات	الهايفات
السيطرة		++++	++++	80-85%	2-3%	طبيعية
$CuSO_4.5H_2O$	3	++	++	35-40%	50%	مثخنة
	6	++	–	–	–	مثخنة
	12.5	–	–	–	–	–
	25	–	–	–	–	–
	50	–	–	–	–	–
$CdSO_4.8H_2O$	3	++	++	10%	30%	30%
	6	++	+	7%	10%	10%
	12.5	+	+	5%	5%	5%
	25	+	+	5%	+	+
	50	–	–	–	–	–
$CoCl_2.6H_2O$	3	++	++	25%	–	رفيعة
	6	+	+	–	–	رفيعة
	12.5	+	+	–	–	رفيعة
	25	+	+	–	–	رفيعة
	50	–+	–	–	–	–

وأدت معاملة الفطر بملح كلوريد الكوبلت إلى خفض النمو بشكل تدريجي وصولاً الى التركيز 50 جزء بالمليون والذي ظهرت فيه بعض الخيوط الضعيفة المتفرقة في بعض بذور السمسم وأنخفض عدد الحافظات الأنثوية تدريجياً وصولاً الى التركيز 25 جزء بالمليون، ولم تظهر الجيمات في التراكيز كافة مقارنة مع نسبة ظهورها (أقل من 10%) في معاملة السيطرة ومعاملة المعدنين الأخرين كما ظهرت الخيوط الفطرية رفيعة وأقل سمكاً من معاملة السيطرة ومعاملة المعدنين الأخرين .

تتفق نتائج هذه المعاملات مع عدد من الدراسات التي أوضحت إلى أن تأثير المعادن الثقيلة وسميتها في الوسط المائي كان أكثر وضوحاً عنه في الوسط الصلب وهذا يعود إلى عدة أسباب منها التماس المباشر لخيوط الفطر مع المعادن في الوسط السائل كما أن لمادة الأكار في الوسط الصلب قدرة على أدمصاص أيونات المعادن الثقيلة مما يؤدي إلى تقليل تأثيراتها السمية تجاه الفطريات (25،36) .

كما تتفق نتائج تأثير المعادن الثقيلة في مورفولوجية وتكاثر الفطر *Saprolegnia hypogyna* في الدراسة الحالية مع عدد من الدراسات التي أظهرت تأثيرات مورفولوجية في الهايفات الجسدية للعديد من الفطريات الغير مائية (37، 38، 39) وفي أنتاج الأبواغ اللاجنسية (40) وتأثيراتها في التكاثر الجنسي واللاجنسي (41) . وأوضح الباحث (25) تأثيراً للكادميوم والنحاس في نمو ومورفولوجية عشرة أنواع من الفطريات المائية غير البيضية Aquatic hyphomycetes. أما الدراسات التي تخص الفطريات البيضية العائدة لعائلة Saprolegniaceae فهي قليلة جداً فقد وجد العالم (19) تأثيراً للمعادن Cu ، Cd ، Co بالتراكيز 0.05– 3 ملي مول في النمو القطري للفطر المائي *A. bisexualis* وظهرت الهايفات بتركيز 3 ملي مول بشكل حلزون . كما أظهرت نتائج العالم (20) في دراسته لتأثير المعادن الثقيلة تجاه الفطرين المائيين *Dictyuchus coprophorus* والفطر *S. delica* الى حصول تغييرات مورفولوجية مثل تكتل غير طبيعي للسايتوبلازم في الهايفات بالتركيز 0.5 مايكروغرام / مل، وخفض ظهور الأعضاء الجنسية في هذا التركيز وظهرت الحافظات الأنثوية غير الناضجة، وبزيادة التركيز أدى إلى زيادة خفض عدد الأوكونات كما ظهرت خيوط الفطر بشكل حلزون بالتركيز 1.5مايكروغرام/ مل، وأظهر الكادميوم تاثيراً في تكوين الجيمات للفطر *S. delica* إذ قلت أعدادها وأختزل حجمها بزيادة تركيز الكادميوم.

من النتائج يستنتج الفعالية التثبيطية للمعادن الثقيلة المستخدمة في هذه الدراسة تجاه نمو الفطر المائي *S. hypogynya* وازدادت هذه الفعالية يخلط الاملاح المضافة بشكل مزدوج أو بشكل خليط للاملاح الثلاثة، كما اثرت هذه الاملاح في التكاثر الجنسي للفطر من خلال تاثيرها في نسبة ظهور الحافظات الانثوية ونسبة اخصابها.

المصادر

1-Vanden Broek, J. L.; Gledhill, K. S. and Morgan, D. G. (2002). Heavy metal concentration in the Mosquito fish *Gambusia holbrooki* in the manly lagoon gatchment. Inc.: UTS, Fresh water ecology. Department of Environmental Science. University of Technology, Sydney.

2- السعد ، حامد طالب ، العبيدي ، عبد الحميد محمد جواد ومصطفى ، بشار زين العابدين (1997). الملوثات البيئية . جامعة البصرة ، مركز علوم البحار: صفحة118.

3-Kruus, P.; Demmer, M. and Maccaw, R. (1991). Chemical in the enveroment. Chapter 5: 123-141.

4- Al- Rekabi, S.A.W. (1997) . Astudy on the effect of Zn , pb , Mn on the vegetative and sporogenesis of *Achlya racemosa* . Al- Mustansiriya . J. Sci . 8(3): 109-115 .

5- الشاوي، نغم سوادي جاسم (1999) . تأثير بعض المعادن الثقيلة في بايلوجية بعض الفطريات المائية المعزولة من نهر دجلة . رسالة ماجستير . كلية التربية- إبن الهيثم . جامعة بغداد : 82 صفحة

6- Yan, G. and Viraragha van, T. (2000) . Effect of pretreatment on the biosorption of heavy metals on *Mucor rouxii* . water SA . 26 : 119-123 .

7-Ezzourhi, L.; Castro, M.; Moya, M.; Espinalo, F. and Lairini, K. (2009). Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco. African J. Microbiol. Res., 3(2): 35-48.

8-Giller, K. E.; Witter, E. and McGrath, S. P. (2009). Heavy merals and soil microbes. Soil Biol. Biochem., 41: 2031-2037.

9-Gadd, G. M. (2012). Metals, minerals and microbes: Geomicrobiology and bioremediation. Microbiology, 156: 609-643.

10-Al-Sohaibani, S. A. (2011). Heavy metal tolerant filamentous fungi from municipal sewage for bioleaching. Asian J. Biotech., 3: 226-236.

11- Blaudez, D .C. ; Jacob, C. ; Turnau, K. Colpaert, J. V. ; Ahonen, U. ; Finlay, R. ; Botton, B. and Chaloot, M. (2000). Differential responses of ectomycorrhizal fungi to heavy metals in vitro. Mycol. Res. 104: 1366-1371.

12- زيدان، تحسين علي؛ عبد الرحمن، ابراهيم عبد الكريم وسعود، وهران منعم (2009). دراسة بيئية للملوثات الكيميائية والفيزيائية المؤثرة في مياه نهر الفرات في الرمادي والفلوجة. مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة، المجلد الثالث، العدد الثالث: 85-95.

13- الامين، ناديا عماد (2011). استخدام الجنس *Porcellio* sp. دليل حيوي لقياس مستوى التلوث ببعض العناصر الثقيلة في مدينة بغداد. المجلة العراقية للعلوم، 52(4): 415-419.

14- Czeczuca, B. and Woronowicz, L. (1992) . Studies on aquatic fungi XXI the lake mamry complex . VXXVII (1) : 93- 103 .

15- عبد، أشوا ق شنان (1999) . دراسة بيئية وفسلجية وتأثير مياه المجاري على بعض الفطريات المائية في نهر ديالى . رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية.

16- Ali, E.H. (2007). Comparative study of the effect of stress by the heavy metals cd^{+2} , pb^{+2} and zn^{+2} on morphological characteristies of *Saprolegnia delica* coker and *Dictyuchus caprophorus* zopf. Polish J. of Microbiology. 56(4): 257-264.

17- Czeczuca, B. and Muszynska, E. (1996) . Growth of zoosporic fungi on the eggs of north pacific salmon of the genus *Oncorhynchus* in laboratory conditions. Acta Ichthyologica Et Piscatoria, 26: 113-124.

18- Czeczuca, B. and Kiwicz, B. (1999) . Zoosporic fungi growing on eggs of *Carrassius carrassius* in oligo eutrophic water . Pol. J. Environ. Stud. 8(2): 63-66.

19- Lund, S. D. ; Payne, R. J. ; Giles, K. R. and Garrill, A. (2001). Heavy metals have different effects on mycelial morphology of *Achlya bisexualis* as determined by fractal geometry. FEMS Microbiol. Letters. 201: 259-263.

20- Ali, E. H. (2007). Biodiversity of zoosporic fungi in polluted water drainages across Niles Delta region, Lower Egypt. Acta Mycologica. 42. 96-99.

21- Ali, E. H. and Hashem, M. (2007). Removal efficiency of the heavy metals zn, pb, and cd by *Saprolegnia delica* and *Trichoderma viride* at different PH values and temperature degrees. Mycobiology. 35(3): 135-144.

22- السامرائي ، طلال سالم مهدي (2011). تقييم فعالية المستخلص المائي والكحولي والزيت الطيار لأوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus iucrassatus* تجاه بعض الخصائص البايلوجية للفطرين *Saprolegnia hypogyna* و *Saprolegnia ferax* . رسالة ماجستير . كلية التربية / إبن الهيثم. جامعة بغداد: 110 صفحة.

23- Zar, J.H. (1999). Biostatistical 4th. Prentice hall upper saddle river, analysis.New jersey: 663p.

24- Ramsy, L. M. ; Sayr, I. A. and Gadd, G. M. (1999). Stress responses of fungal colonies towards toxic metals. In: The fungal colony. (Gadd, G. M. ; Robson, G. and Gow, N. (1999). pp.178-200. Cambridge Univ. press, Cambridge U.K.

25- Miersch, J. ; Barlocher, F. ; Bruns, I. and Krauss, G. J. (1997). Effects of cadmium, copper, and zinc on growth and thiol content of aquatic hyphomycetes. Hydrobiologica. 346: 77-84.

26- Al-Khafagi, B. Y. (1996). Trace metals in water, sediments and fishes from Shatt Al-Arab estuary North-West Arabian Gulf. Ph.D. thesesis, college of Education, Basrah Univ. 131pp.

27- Schmitz, S. ; Weidenborner, M. and Kunz, B. (1993). Heavy metals as a selective inhibitors of mould growth. Intern. J. Food Micobiol. 18: 233-236.

28-Al-Dossary, M. A. ; Al-Hejuje, M. M. and Mansowr, Z. F. (2010). Effect of silver and cobalt on the growth of the fungus *Fusarium chlamydosporum* (Wollenweber and Reinking). J. of Basrah Researches (Sciences). 36(2): 48-55.

29- Latif, M. A. ; Khalaf, A. N. and Khalid, B. Y. (1982). Bioaccumulation of copper, cadmium, lead and zinc in two cyprinid fishes of Iraq. J. Bio. Sci. 13(2): 45-64.

30- الحجاج، مكية مهلهل خلف (1997). توزيع العناصر الثقيلة في مياه ورواسب قناتي العشار والخندق المرتبطة بشط العرب وبيان تأثيرها على الطحالب. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة : 104 صفحة.

31- Mandal, T. K. ; Baldrian, P. ; Gabriel, J. ; Nerud, F. and Zadrazil, F. (1998). Effect of mercuary on the growth of wood rotting Basidiomycetes. Chemosphere. 36(3): 435-440.

32- Duddridge, J. E. and Wainwright, M. (1980). Heavy metals accumulation by aquatic fungi and reduction inviability of *Gammaus pulex* Fecl , cd contaminated mycelium. Water research. 14: 1605-1611.

33- Nevell, L. and Wainwright, M. (1986). Increased toxicity of cadmium to *Trichoderma harzianum* due to presence of a soil pseudomonad. Trans. Br. Mycol. Soc. 86(4): 651-687.

34- Wong, S. L. and Beaver, J. L. (1980). Algae bioassays to determine toxicity of metal mixtures. Hydrobiol. 74: 199-208.

35- Jalal, T. K. (1997). The effect of some heavy metals on the fungus *Pythium placoticum.* Al-Mustansiriya J. Sci. 8(3): 100-103.

36- Gadd, G. M. (1983). The use of solid medium to study effects of cadmium, copper and zinc on yeasts and yeast like fungi: Applicability. J. Appl. Bact. 54: 57-62.

37- Gabriel, J. ; Vosahlo, J. and Baldrian, P. (1996). Biosorption of cadmium to mycelial pellets of Wood-Rotting fungi. Biotech., 10(5): 345-348.

38- Baldrian, P. (2003). Interactions of heavy metals with white-rot fungi. Enzyme Microb. Technol. 32: 78-91.

39- Jackal, P. and Krauss, G. (2005). Cadmium and zinc response of the fungi *Heliscus luydunensis* and *Verticillium alboatrum* from highly polluted water. Sci. Total Environ. 346: 274-279.

40- Duarte, S. : Pascoal, C. and Cassio, F. (2004). Effects of zinc on leaf decomposition by fungi in streams. Studies in microcosms. Microb. Ecol. 93:366-374.

41- Chiu, S.W. ; Chan, Y. H. ; Law, S.C. ; Cheung, K. T. and Moore, D. (1998). Cadmium and manganese in contrast to calcium reduce yield and nutritional values of the edible mushroom *Pleurotus phlmonarius.* Mycol. Res. 102: 449-457.

Effect of heavy metal ions copper, cadmium & cobalt on growth and reproduction of the water mold *Saprolegnia hypogyna*

Batool, Z. Ali. ; Thmer, A. A. Muhsen and Talal, S. Al-Sammaraie
Department of Biology, College of Education /Ibn-Al-Haitham, Baghdad University.

Abstract

The study was conducted to evaluate the effect of heavy metal ions, Cu^{+2}, Cd^{+2}, and Co^{+2}, when added singly or in combination of two and three metals on growth and some reproductive structures of the water mold *Saprolegnia hypogyna*.

The results of treating the fungus with single heavy metal showed gradual and significant reduction of colony diameters on solid medium with the increasing concentrations reaching concentration 50, 60, 70 ppm wich showed complete inhibition of growth for the three metals respectively. The toxic effect of the three heavy metals showed the sequence Cu > Cd > Co. Whereas, treating the fungus with combination of two heavy metals resulted in increasing the toxic effect with the increasing concentration as well reaching conc. 12.5ppm for treatment (Cu + Cd) and 25ppm for both treatment (Cu + Co) and (Cd+Co) compared with the single treatment.Treating the fungus with acombination of the three metals showed substantial significant reduction of growth reaching conc. 12.5ppm which showed complete inhibition.

Fungus grown in water (on sesame seeds) with different conc. of single heavy metals showed higher sensitivity of growth compared with that on solid medium. Furthermore, the three metals affected the percentage of oogonia formation, fertilization, gemmae formation and the thickness of the somatic hyphae.

Key words: water mold *Saprolegnia hypogyna*, heavy metals ($CuSO_4.5H_2O$ ، $CdSO_4.8H_2O$، $CoCl_2.6H_2O$).