**الطرق المختلفة لتقدير النمو الطحلبي**

عند زراعة الانواع الطحلبية في اوساط غذائية مختلفة او في ظروف نمو مختلفة , فانها اما ان تنمو نمو مثالي او قد يتأثر نموها سلبيا و ذلك باختلاف العامل المؤثر**.**

**تقدر مجاميع العوالق النباتية عن طريق:**

**طريق العد.1**

**طريق كتلة الكائنات الحيوية الموجودة في حجم معين من الماء.2**

**لتقدير ذلك التغيير في النمو تستخدم احد المعايير الآتية (يمكن استخدام معيار واحد للأنواع الطحلبية ) سواء وحيدة الخلية او تلك الكبيرة في الحجم.**

**\* الطرق المختلفة لتقدير النمو الطحلبي:**

قياس الوزن الجاف او الوزن الرطب ويفضل لتلك الانواع الطحلبية الكبيرة في الحجم- 1

2- تقدير العدد الكلي للخلايا الطحلبية يفضل لتلك الانواع الطحلبية الوحيده الخلية

3-استخلاص الكلوروفيل وتقديره باستخدام جهاز الطيف الطحالب الخيطية

قياس المحتوى البروتيني 4-

5- قياس المحتوى الصبغي يفضل لتلك الانواع الطحلبية الملونة

6- قياس المحتوى الكربوهيدراتية

7- تقدير كمية الدهون في الأنسجة الطحلبية

8- طريقة منحنى النمو وتستخدم للطحالب البحرية الكبيرة مثل:

Ulva, Gelidium, Sargassum

9- طريقة الفصل الكروماتوغرفي: وتستخدم للطحالب الملونة (بنية,حمراء,ذهبية)

**.1- العد: العد المباشر للعوالق النباتية الحية:**

فيها يكون تركيز الكائنات ضروريا قبل بدء عملية العد.

فاحتواء العوالق النباتية على اعداد كبيرة من السوطيات فان الطرد المركزي هو الوسيلة الوحيدة التي يمكن الاعتماد عليه

**قبل العد لابد من:**

فحص العينة و التعرف على اكبر عدد من الكائنات قبل البدء في عملية العد

رسم الانواع المشاهدة على بطاقات وتدبيسها على لوح مسطح ووضعها قريبا من المجهر تساعد هذه الصور على تسريع العد

عيب تلك الطريقة:

عودة تلك المادة للتعلق عند توقف جهاز الطرد المركزي عن الدوران

**طريقة استعمال الهيموسيتوميترات كغرف للعد**:

: الهدف من التجربة

تقدير نمو الطحالب و معرفة عدد الخلايا.1

لعد الطحالب وحيدة الخلية.2

الادوات:

شريحة العد Hemacytometer  
ميكروسكوب  
عينة طحالب متجانسة وحيدة الخلية

طريقة العمل:

تحضر العينة المراد عد الطحالب فيها يؤخذ منها عدة قطرات وتوضع في قناة الشريحة.1

يوضع غطاء على الشريحة.2

3-تفحص الطحالب تحت المجهر بالقوة 10

4-عد الطحالب الموجودة داخل خمس مربعات كبيرة بدلا من العد في 25 مربع

5-في حالة وجود طحالب كثيرة في العينة يجرى تخفيف للعينة .وفي حالة وجود طحالب قليلة يجرى طرد مركزي للعينة ثم تؤخذ الطحالب الموجودة فيها ويتم عدها

واذا وجد طحالب تتحرك ذات اسواط يتم اضافة الفورمالين لقتلها ليتسنى العد

يعوض في القانون:

**عدد الخلايا** =( مجموع عدد خلايا الطحلب التي تم عدها في خمس مربعات× نسبة التخفيف ×عدد المربعات الصغيرة في الشريحة كلها ( 16\* 25) × 10/ مجموع عدد المربعات الصغيرة داخل المربعات الكبيرة الخمسة التي تم عدها ( 16×5).

عدد المربعات الصغيرة في المربع الكبير= 16  
25 = اجمالي المربعات الكبيرة  
10=لتحويل الى النتائج بالملي متر  
  
**ملاحظات**: لا يحسب عدد الطحالب الموجودة على الخطوط الفاصلة بين المربعات ولكن يحسب فقط الطحالب التي داخل المربع

**مميزات استخدامها**

سريعة النتائج , و تحتاج امكانيات قليلة , كما انها تعتمد على كمية قليلة من المعلق المحتوي على الخلايا الطحلبية.

**عيوب استخدامها**

لا تميز بين الخلايا الحية او الميتة , صعب استخدامها مع الانواع الطحلبية ذات الاحجام الصغيرة جدا , و يصعب استخدامها مع العدسة الزيتية نظرا لسماكة الشريحة , و من الممكن ان تتجمع الخلايا مع بعضها البعض مما ينتج عنه صعوبة في عد الخلايا بصورة مفردة

تستعمل لعد الطحالب وحيدة الخلية مثل :

Euglena,Dunaliella, Chlorella

**استخلاص الكلوروفيل وتقديره باستخدام جهاز الطيف الضوئي**

**البلاستيدات**

عضيات محدودة بغشاء بها نظام غشائي داخلي يعرف بالثايلاكويدات التي توجد في حشوة بروتينية

توجد الثايلاكويدات في الطحالب الخضراء المزرقة فقط حرة في سيتوبلازم شبه هلامي وتحمل الصبغات

تصطاد البلاستيدات الضوء تحت سطح الماء و تستخدمه لتثبيت الكربون في شكل كربوهيدرات.

الصبغات المرتبطة باقتناص الطاقة الضوئية اللازمة للبناء الضوئي هي:

الكاروتينات - البيليبروتينات - الكلوروفيل A,B,C,D

**أنواع الصبغات الموجودة في العوالق**:

الطحالب الخضراء

بالاضافة الى الصبغات المساعدة مثل aكلوروفيل

b كلوروفيل ,( و الكاروتينويدات مثل الكاروتينات و الزانثوفيلات

يوجد كلوروفيل c , d في الطحالب البنية و الدياتومات والداينوفلاجيلات

:c and d بعضهما عن كلوروفيل a في يختلف

تركيبهما الجزيئي

مدى الامتصاص عندما استخلصت في مذيبات عضوية وفحصت بالاسبكتروفوتوميتر

الطحالب الخضراء المزرقة و الحمراء:

وتتركز الصبغات منتشرة في منطقة تسمى الكروموبلازم. وتحتوي بالإضافة الى الكلوروفيل a الكاروتينويدات الى الصبغات المساعدة مثل البيليبروتينات (فيكوبيلينات) التي توجد كحبيبات تحت المجهر وهي الاجسام الفايكوبيلية التي تتصل بسطح الثايلاكويد, مثل فيكواريثرين في الطحالب الحمراء و الفيكوسيانين في الطحالب الخضراء المزرقة.

**قياس مجاميع العوالق النباتية و الانتاج الاولي:**

**قياسات الكلوروفيل Chlorophyll Measurements**

من الممكن تقدير غزارة الطحالب باستخلاص الكلوروفيلات و الكاروتينيدات باستعمال مذيبات عضوية(80% او 90% اسيتون او 100% ميثانول)

**طريقة منحنى النمو وتستخدم للطحالب البحرية الكبيرة مثل**

**Ulva, Gelidium, Sargassum**

**طريقة الفصل الكروماتوغرفي: تستخدم للطحالب الملونة مثل البنية والحمراء و الذهبية.**

**طريقة استخلاص الكلوروفيل للعينات الكبيرة:**

يرشح الماء عبر شبكة ذات فتحات واسعة للتخلص من العوالق الحيوانية

يرشح عبر مرشح ليفي زجاجي قطره 7 سم سبق ان عومل بكربونات المغنيسيوم.(عللي) وذلك لابطال مفعول اي حموضة تتكون خلال عملية الاستخلاص. حيث ان الاصباغ تتحلل بوجود الحموض

وتستغرق عملية الاستخلاص 24 ساعة في الظلام, قد تستغرق فترة اقل عند طحن الراسب في مطحنة مناسبة وتزال الشوائب بالطرد المركزي وتحفظ عند درجة حرارة 1°م.

**تقدير النمو الطحلبي باستخلاص الكلوروفيل وتقديره باستخدام جهاز الطيف:**

تستخدم هذه الطريقة للطحالب الخيطية مثل:

Nodularia, Nostoc, Desmedium ,Anabaena, Oscillator

الطحالب الخضراء المزرقة, طحالب خضراء من الدزميدات.

**الادوات المطلوبة**

جهاز الاسبكتوميتر

جهاز طرد مركزي

العينة المراد تقدير الكلوروفيل بها

اسيتون 80% او ميثانول.

هاون للطحن

**الطريقة:**

خذ 50 مل من الطحالب الخيطية بالمخبار المدرج

رشح الطحالب من الماء و اغسلها بالماء المقطر للتخلص من الاملاح التي عليها

تتم عملية الهرس بالهاون حتى استخلاص الكلورفيل

تنقل محتويات العينة و الاسيتون من الهاون الى انابيب الطرد المركزي

توضع في جهاز الطرد المركزي لمدة 5 دقائق

ننقل محتويات انابيب جهاز الطرد المركزي السائلة الى انابيب جهاز الطيف

تقرا العينة عند ثلاث اطوال موجية مختلفة ثم التعويض في القانون وحساب كمية الكلوروفيل (664 – 647 – 630 nm

القانون:

Chlorophyll a =11.85 E664 -1.54 E647 -0.08 E630

Chlorophyll /m³ = C x v/V x 10 mg/m³

When V = حجم العينة

v = حجم الاسيتون

**التعرف على نوعية خصوبة المياة بتقدير النيتروجين   
(NH3 , NH4 )**

العناصر المهمة في خصوبة المياه هي تركيز النيتروجين والفوسفات.

ويلاحظ ان ازدهار الطحالب Algal Bloom هي عبارة عن زيادة تركيز كمية النيتروجين سواء كان امونيا او امونيوم وهذا يؤدي لنمو غير طبيعي.

والجهاز المستخدم في القراءة هو جهاز Spectrophotometer عند 425 نانوميتر

**أنوع الماء حسب الخصوبة:**

**قليل الخصوبة Oligotrophic= 660 مايكرو غرام/لتر**

**متوسط الخصوبةMesotrophic = 750 مايكرو غرام/لتر**

**عالي الخصوبةEutotrophic = 1870 مايكرو غرام/لتر.**

ويتم تحديد تلك الأقسام الثلاثة بناء على تركيز النتروجين.

الطريقة:

1-ترشيح الطحالب من عينة الماء المراد تقدير النيتروجين بها.

2-يوخذ 25 مل من الماء الراشح ويوضع في دورق

3-نضيف 1 مل من كاشف نسلر

4- ننتظر 10 دقائق حتى يتكون اللون اصفر خفيف يتم القراءة بواسطة الجهاز

اما اذا كان غامق غير اللون الاصفر القاتح فأنه يدل على زيادة كمية النتيروجين وفي هذه الحاله نجري تخفيف للعينة الاصليه بواسطة ماء مقطر حتى يظهر الاصفر الفاتح ثم تحسب نسبة التخفيف

5- تقرا بالجهازعند 425 نانوميتر ونعوض بالقانون:

كمية الامونيا NH3

نسبة التخفيف × (1.29)F × قراءة الجهاز (ملجم /لتر)

كمية الامونيوم NH4

نسبة التخفيف × (1.22)F × قراءة الجهاز (ملجم /لتر)

كمية النيتروجين= كمية الامونيا + كمية الامونيوم

للتحويل من ملجم الى مايكرو: املجم × 1000 = مايكروجرام.  
نسبة التخفيف = حجم العينة الكلي / حجم التخفيف

الطحالب المتوقع وجودها في هذه المياه ذات النسبة العالية من النيتروجين

Euglena-Aphanezomenon-Anabaena-Nostoc-Oscillatoria

**تقدير عنصر السليكا في المياه بطريقة المنحنى المعياري**

السيليكا هو عنصر لافلزي و تعتبر السيليكا من أكثر العناصر وفرة في القشرة الأرضية حوالي 80%. ويوجد في الطبيعة على شكل ثنائي اكسيد السيلكون SiO2 : ‏) هو أكسيد السيليكون المعروف بقساوته منذ العصور القديمة )

توجد السيليكا في الطبيعة في الرمل والكوارتز، وفي جدران خلايا الدياتوم أو المشطورة diatoms وهو مكون أساسي في معظم أنواع الزجاج والمواد مثل الخرسانة.

رمال السيلكا (رمال كوارتز) هي عبارة عن صخور رملية بيضاء نقية تحتوي على نسبة عالية من السيلكا، التي تتكون بشكل رئيس من حبيبات معدن الكوارتز وتحتوي على كمية قليلة من الشوائب والمعادن الثقيلة، في حين يطلق مصطلح الرمل الزجاجي على رمال السيلكا (الكوارتز) التي لها مواصفات فيزيائية وكيماوية تتناسب مع صناعة الزجاج.

**الدياتومات و احتوائها على السيليكا:**

خلايا الدياتومات فريدة للاسباب التاليه:

لها جدارا خلويا صلبا غنيا بالسيليكا( العلبة)

يحافظ الجدار السليكي غير المرن على ثبات حجم الخلية

عندما تموت الدياتومات تسقط الي القاع وتتحل المواد العضوية بها ولكن اصدافها الزجاجية المكونة من السيليكا تبقي وتتراكم علي القاع وبمرور الوقت تشكل هذه الترسيبات طبقات من مئات الامتار وتعرف هذه الترسيبات **باسم الارض الدياتومية** (diatomaceous earth والتي تقوم بعمل ترشيح ممتاز لاحواض السباحة وتنقية مياه الشرب نظرا للطبيعة المسامية لجدر خلايا الدياتومات نفسها. وقد ادخل المجهر الالكتروني الماسح بعدا جديدا في دراسة نمط الجدر الخلوية للدياتومات

تحتاج الدياتومات للسيليكا في شكل ذائب (سيليكا مذابة) لتكون جدرا سليكية وتعتمد السوطيات السيليكية على السيليكا لبناء هياكلها الانبوبية, وفي بعض السوطيات الحاملة للحراشيف.

المياة الطبيعية في اوقات النمو القصوى للدياتومات يلاحظ انخفاضا في محتوى السيليكا الذائبة

محتوى السيليكا في جدر الدياتومات المعبر عنه بالوزن الجاف ذا اهمية عظيمة . ففي عوالق نباتية لدياتومات الماء العذب وجد انه يتراوح مابين 26و 63 % اعتمادا على النوع. وهذا يدل على ان التركيزات المنخفضة جدا من السيلكا الذائبة في مياه البحيرات 0.5% (المستوى الحرج) تحد من استمرار نمو الدياتومات الا في بعض الانواع لها القدرة على النمو بجدر سيليكية رقيقة جدا.

الطحالب المتوقع وجودها في العينة المحتوية على السليكا

Melosira Fragilaria

وتنبثق أهمية هذه المادة كونها تدخل في صناعة أكثر من 300 مادة.

الزجاج و زجاج الكريستال- صناعة مرشحات المياه- صناعة المواد العازلة- صناعة مواد تلميع المعادن- صناعة بعض مواد التجميل

**يتم تقدير عنصر السليكا بعمل منحنى معياري بتراكيز معلومة ثم مقارنة العينة المجهولة بهذه التراكيز و معرفة تركيز العينة من خلال المنحنى المعياري**

الكواشف المطلوبة:

حمض الهيدروكلوريك HCL بعيارية N 0.25

مولبيدات الامونيوم 5%

EDTA 1%

صوديوم سلفيت 17%

سليكات الصوديوم Na₂Sio₃ لعمل المنحنى المعياري.

الطريقة:

يؤخذ 10 من مياه العينة المجهولة.1

يتم اضافة 5 مل من حامض الهيدروكلوريك لكل دورق للعينة المجهولة.2

يتم اضافة 5 مل من مولبيدات الامونيوم لكل الدوارق للعينة المجهولة.3

يتم اضافة 5 مل من EDTA للعينة المجهولة. ننتظر 5 دقائق.4

5-ثم يتم اضافة 10 مل من صوديوم سلفيت للعينة المجهولة.

بعد 30 دقيقة(لكي يتغير اللون) يتم القراءة على جهاز قياس الطيف عند طول موجي 700 نانوميتر.

نسجل قراءة الجهاز للعينة المجهولة.

من خلال الجدول التالي يتم رسم المنحنى المعياري للسيلكا ومن ثم تعيين قيمة العينة المجهوله عليه لمعرفة تركيز السيلكا فيها

|  |  |
| --- | --- |
| **قراءة الجهاز عند 700 نانومتر** | **التركيز (مجم/لتر)** |
| **0.03** | **2.5** |
| **0.06** | **5** |
| **0.11** | **10** |
| **0.21** | **15** |
| **0.3** | **20** |
| **?** | **العينة المجهولة** |

لرسم المنحنى المعياري للسيلكا تمثل القيم في الجدول المأخوذة من تجربة سابقة.