جـــــــامعـــــة كـــــربـــــلاء
كليــة العلــوم
قســم علـوم الحيـاة

قدرة نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* L. في إزالة بعض المعادن الثقيلة وتشخيص التغايرات الوراثية المحتملـــة باستخدام بعض المؤشرات الجزيئيــة.

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

كتبت بواسطة :

حسين علي خليل محمود

بإشـــــــــــراف

أ.م.د. حسن جميل جواد الفتلاوي

الإشراف الثاني:

أ.م.د. زينة ثامر عبد الحسين الرفيعي

شباط – 2022 م رجب – 1443 هـ

بِسْمِ اللَّـهِ الرَّحْمَـٰنِ الرَّحِيمِ

((وَاللَّهُ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَسْمَعُونَ))

صدق الله العلي العظيم

النحل آية (٦٥)

إقرار المشرف

اشهد بأن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافنا في جامعة كربلاء بوصفها جزءاً من متطلبات نيل شهادة ماجستير علوم في علوم الحياة .

التوقيع:

الاسم: د. حسن جميل جواد الفتلاوي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2022

التوقيع:

الاسم: د. زينة ثامر عبد الحسين الرفيعي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2022

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات أعلاه، أحيل هذه الدراسة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع :

الاسم: د . خالد علي حسين

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ : / / 2022

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة ، نشهد باننا قد اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة (قدرة نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* L. في إزالة بعض المعادن الثقيلة وتشخيص التغايرات الوراثية المحتملة بإستخدام بعض المؤشرات الجزيئية) وقد ناقشنا الطالب (**حسين علي خليل**) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 16 / 2 / 2022 ونرى انه جدير لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة بتقدير (**امتياز**) .

رئيس اللجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : د. صادق كاظم لفتة

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة الكوفة

التأريخ : / / 2022

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. سلوان علي عبيد

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة القادسية

التأريخ : / / 2022

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. بلقيس هادي هاشم

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التأريخ : 31 / 1 / 2022

عضو اللجنة (مشرف)

التوقيع :

الاسم : د. حسن جميل جواد

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التأريخ : / / 2022

عضو اللجنة (مشرف)

التوقيع :

الاسم : د. زينة ثامر عبد الحسين

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التأريخ : / / 2022

مصادقة عميد كلية العلوم / جامعة كربلاء

التوقيع :

الاسم : د. جاسم حنون هاشم العوادي

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

التأريخ : 31 / 1 / 2022

الإهداء

إلى من لا تدركهُ الأبصار وهو السميع البصير، له المنّة بما اعطى لعبده من الآت إستحصال العلم والمعرفة، وحثّه للترقي على سائر المخلوقات بالفكر المؤمن (وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ) (١٣) الجاثية.

إلى مدينة العلم احمد(صلى الله عليه وآله وسلم) وبابها الأوحد علي ابن طالب الأمجد وآلهما الميامين(عليهم السلام)، اهدي ثمرة جهدي الجهيد، معتذرٌ عن قصوري وتقصيري.

إلى اثنينية وجودي، وتوأمي روحي امي وابي، لا حرمني الله تعالى إسعادكما.

إلى قوّتي، وحروف بلغتي، سندي وحزام ظهري أخي الكبير أ.م.د. أمير علي خليل وأخي الصغير أحمد

إلى من لا جزاء يليق بها، ولا كلمة تفي دائم فيئها، شريكة النجاحات، ومتحملة الصعوبات ، سندي في الشدائد وملجأي في الازمات , من لا يكفيني شكرها .. زوجتي الطيبة الغالية .

إلى اولادي قرة عيني وفلذات كبدي (علي وفاطمة وزهراء) أتمنى ان اراكم في المراتب العليا .

إلى كل من علمني حرفاً، فملّكني عبداً، اساتذتي الأفاضل المتفضلين بكرم العلم، لمقامهم الكريم.

أجل إنها محنة كبيرة أن يكتب الضعيف مثلي كلماتٍ ليرفعها بإهداءٍ متعثرٍ الى ربه العلي، ورسوله الكريم ووصيه وآله الميامين، واساتذته واهله ذوي الفضل السابق، لكن كاتبها يتطلّع بوجل الى وجه الله تعالى وكل كريم بالقبول المضاعف.

فاليك يا سيدي جهد المقل، برجاء القبول.

والحمد لله

التشكرات

الحمد الله تعالى حق حمده والشكر له سبحانه على فضله وإحسانه الذي أرجو ان يكون عملي هذا خالصاً لوجهه الكريم اللهم انفعني بما علمتني وزدني علما ولا يسعني إلا أن أتقدم بالشكر الجزيل والعرفان الجميل وفائق الاحترام والامتنان إلى أستاذيّ المشرفين أ .م. د . حسن جميل جواد الفتلاوي و أ.م.د. زينة ثامر عبد الحسين الرفيعي لتفضلهما قبول الإشراف على الرسالة وعلى توجيهاتهما العلمية الرصينة وملاحظتهما الدقيقة أسأل الله أن يمدهما بالصحة والعافية إنه سميع مجيب ولابد أن أشير بالشكر والعرفان الجميل إلى الاخوة والزملاء واخص بالذكر كل من الأخ مصطفى حمود عبود والاخ احمد حمود عبود لما قدموه لي من مساعدة كبيرة في انجاز هذه الرسالة كما اتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى الأنسة وسن علي كاظم لما قدمته لي من دعم ومساعدة واشكر كذلك الأخ حسين مبارك محسن لتقديمه لي المساعدة من اجل اكمال الرسالة فلهم مني جزيل الشكر والامتنان والى كل من فاتني أن أذكر اسمه، وأرجو قبول العذر منهم ولكم جزيل الامتنان والتقدير والشكر الجزيل وجزاكم الله عني خيراً .

الباحث: حسين علي خليل الموسوي

قائمة المحتويات

التسلسل	المحتويات	رقم الصفحة
	الخلاصة	XIV
1-1	**المقدمة**	**2**
2-1	**هدف الدراسة**	**3**
3-1	**استعراض المراجع**	**3**
1-3-1	المعادن الثقيلة	3
2-3-1	المعادن الثقيلة في البيئة المائية	4
1-2-3-1	المعادن الثقيلة الذائبة في الماء	4
2-2-3-1	المعادن الثقيلة العالقة في الماء	4
3-3-1	طرائق معالجة المياه الملوثة بالمعادن الثقيلة	5
1-3-3-1	المعالجة التقليدية	5
2-3-3-1	المعالجة النباتية	5
4-3-1	ميكانيكيات المعالجة النباتية	7
5-3-1	اليات النبات لإزالة المعادن الثقيلة من المياه	9
6-3-1	الدراسات المحلية	10
7-3-1	الدراسات العالمية	15
8-3-1	تقييم مخاطر السمية الجينية	17
9-3-1	الكشف عن اضرار السمية الجينية نتيجة تراكم المعادن الثقيلة في النبات بواسطة المؤشرات الجزيئية	19
1-9-3-1	المؤشرات الجزيئية	19
2-9-3-1	الكشف عن اضرار تراكم المعادن الثقيلة بواسطة مؤشرات التضاعف المتعدد الأشكال لسلسلة DNA	20
3-9-3-1	الكشف عن اضرار تراكم المعادن الثقيلة بواسطة مؤشرات تكرار التسلسل البسيط	22
2	**المواد وطرائق العمل**	**25**
1-2	المواد الكيميائية	25

2-2	الأجهزة والأدوات	25
3-2	جمع عينات النبات وأقلمته	26
4-2	عينة الدراسة	27
1-4-2	تصنيف نبات الشمبلان	27
5-2	تحضير محاليل المعادن الثقيلة القياسية	27
6-2	تصميم التجربة	28
1-6-2	تجربة المعادن المنفردة	28
2-6-2	تجربة خلط المعدنين	28
3-6-2	تجربة خلط المعادن الثلاثة	29
7-2	الفحوصات الفيزيائية والكيميائية	29
1-7-2	درجة الحرارة	29
2-7-2	الأس الهيدروجيني	29
8-2	هضم عينات المياه لاستخلاص المعادن الثقيلة	29
9-2	قياس تراكيز المعادن الثقيلة في عينات النباتات المائية	29
10-2	حساب معامل التركيز الحيوي	30
11-2	الدراسة الجزيئية	30
1-11-2	عزل DNA من النماذج النباتية	30
2-11-2	قياس تركيز ونقاوة DNA	31
3-11-2	البادئات المستخدمة في الدراسة	32
4-11-2	خليط التفاعل	32
5-11-2	الدليل الحجمي	33
6-11-2	تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	33

7-11-2	الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز	34
12-2	التحليل الاحصائي	35
3	**النتائج والمناقشة**	**37**
1-3	تركيز المعادن الثقيلة في المحلول المائي	37
1-1-3	تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والنسبة المئوية للإزالة	37
2-1-3	تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والنسبة المئوية للإزالة	39
3-1-3	تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والنسبة المئوية للإزالة	40
4-1-3	تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل والنسبة المئوية للإزالة	42
5-1-3	تركيز معدن النيكل في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل والنسبة المئوية للإزالة	44
6-1-3	تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص و الكادميوم والنسبة المئوية للإزالة	46
7-1-3	تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص و الكادميوم والنسبة المئوية للإزالة	48
8-1-3	تركيز معدن النيكل في المحلول المائي في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم والنسبة المئوية للإزالة	50
9-1-3	تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم والنسبة المئوية للإزالة	51
10-1-3	تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي في تجربة خلط ثلاثة معادن والنسبة المئوية للإزالة	54
11-1-3	تركيزمعدن النيكل في المحلول المائي في تجربة خلط ثلاثة معادن والنسبة المئوية للإزالة	55
12-1-3	تركيزمعدن الكادميوم في المحلول المائي في تجربة خلط ثلاثة معادن والنسبة المئوية للإزالة	57
2-3	تركيز المعادن الثقيلة المتراكمة في النبات ومعامل التركيز الحيوي	59
1-2-3	تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات ومعامل التركيز الحيوي	59

2-2-3	تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات ومعامل التركيز الحيوي	61
3-2-3	تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات ومعامل التركيز الحيوي	63
4-2-3	تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل ومعامل التركيز الحيوي	64
5-2-3	تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل ومعامل التركيز الحيوي	66
6-2-3	تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي	68
7-2-3	تركيز معدنالكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي	69
8-2-3	تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي	71
9-2-3	تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي	73
10-2-3	تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن ومعامل التركيز الحيوي	75
11-2-3	تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن ومعامل التركيز الحيوي	76
12-2-3	تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن ومعامل التركيز الحيوي	78
3-3	تحليل مؤشرات RAPD وISSR	80
1-3-3	تحليل مؤشرات RAPD	81
1-1-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ OP-A05	81
2-1-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ OP-C01	84
3-1-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ OP-D03	86
2-3-3	تحليل مؤشرات ISSR	88

1-2-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ 14A	89
2-2-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ 44B	91
3-2-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ HB-10	93
4-2-3-3	تحليل نتائج تضاعف البادئ HB-12	95
4-3	شجرة العلاقة الوراثية	97
4	**الاستنتاجات والتوصيات**	**102**
1-4	الاستنتاجات	102
2-4	التوصيات	103-102
	المصادر	**104**
	الملاحق	**124**
	Summery	130

قائمة الجداول

التسلسل	الجدول	رقم الصفحة
1-2	المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة	25
2-2	الأجهزة والأدوات المختبرية المستعملة في الدراسة	25
3-2	الأدوات المستعملة في الدراسة	26
4-2	اسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات RAPD+ISSR	32
5-2	مكونات خليط التفاعل Master mix	33
6-2	البرنامج المستخدم لبادئات RAPD	33
7-2	البرنامج المستخدم لبادئات ISSR	34
1-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة	38
2-3	النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة	40
3-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة	42
4-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	44
5-3	النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	45
6-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	48
7-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	49
8-3	النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم	51
9-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم	53
10-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه	55

	باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن	
11-3	النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن	57
12-3	النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن	58
13-3	تضاعف بادئات ال RAPD المعتمدة على PCR	81
14-3	تضاعف بادئات ال ISSR المعتمدة على PCR	89

قائمة الأشكال

التسلسل	الشكل	رقم الصفحة
1-3	معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة	38
2-3	معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة	39
3-3	معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة	41
4-3	معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	43
5-3	معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	45
6-3	معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	47
7-3	معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	49
8-3	معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم	51
9-3	معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم	52
10-3	معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن	55
11-3	معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن	56
12-3	معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة في	58

	تجربة خلط ثلاثة معادن	
13-3	معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات	60
14-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات	60
15-3	معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات	62
16-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات	62
17-3	معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات	63
18-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات	64
19-3	معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	65
20-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	66
21-3	معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	67
22-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل	67
23-3	معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	69
24-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	69
25-3	معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	70
26-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم	71
27-3	معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم	72
28-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم	73
29-3	معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم	74
30-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم	74
31-3	معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن	76
32-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن	76
33-3	معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن	77
34-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن	78

35-3	معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن	79
36-3	معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن	79
37-3	نتائج تضاعف البادئ OP-A05 للمعادن منفردة	83
38-3	نتائج تضاعف البادئ OP-A05 لتداخل معدنين	83
39-3	نتائج تضاعف البادئ OP-A05 لتداخل ثلاث معادن	84
40-3	نتائج تضاعف البادئ OP-C01 للمعادن المنفردة	85
41-3	نتائج تضاعف البادئ OP-C01 لتداخل المعدنين	86
42-3	نتائج تضاعف البادئ OP-C01 لتداخل ثلاثة معادن	86
43-3	نتائج تضاعف البادئ OP-D03 للمعادن المنفردة	87
44-3	نتائج تضاعف البادئ OP-D03 لتداخل المعدنين	88
45-3	نتائج تضاعف البادئ OP-D03 لتداخل ثلاثة معادن	88
46-3	نتائج تضاعف البادئ 14A للمعادن المنفردة	90
47-3	نتائج تضاعف البادئ 14A لتداخل المعدنين	90
48-3	نتائج تضاعف البادئ 14A لتداخل ثلاثة معادن	91
49-3	نتائج تضاعف البادئ 44B للمعادن المنفردة	92
50-3	نتائج تضاعف البادئ 44B لتداخل المعدنين	92
51-3	نتائج تضاعف البادئ 44B لتداخل ثلاثة معادن	93
52-3	نتائج تضاعف البادئ HB-10 للمعادن المنفردة	94
53-3	نتائج تضاعف البادئ HB-10 لتداخل المعدنين	94
54-3	نتائج تضاعف البادئ HB-10 لتداخل ثلاثة معادن	95
55-3	نتائج تضاعف البادئ HB-12 للمعادن المنفردة	96
56-3	نتائج تضاعف البادئ HB-12 لتداخل المعدنين	96
57-3	نتائج تضاعف البادئ HB-12 لتداخل ثلاثة معادن	97
58-3	التحليل التجميعي لشجرة العلاقة الوراثية لمؤشرRAPD	98
59-3	التحليل التجميعي لشجرة العلاقة الوراثية لمؤشرISSR	100

قائمة المختصرات

الاختصار	المصطلح
RAPD	Random Amplification Polymorphic DNA
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
APHA	American Public Health Association
BCF	Bio Concentration Factor
GTS	Genomic Taplate Stability
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
ROS	Reactive Oxygen Species
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPSS	Statistical Pakage for Social Science
SSR	Simple Sequence Repeat
UPGMA	Unweighted Per Group Method Arithmetic
TBE	Tris Borate EDTA

الخـلاصـــة

أجريت هذه الدراسة لتقييم كفاءة نبات الشمبلان المائي *Ceratophyllum demersum* L. في إزالة ثلاثة معادن ثقيلة وهي الرصاص والنيكل والكادميوم عند وجودها في حوض ماء واحد بصورة منفردة و مجتمعة ومدى تأثير هذه المعادن على المادة الوراثية للنبات ،أستخدمت تراكيز7.5,5,2.5 ملغم/ لتر وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز. تم جمع عينات المياه و النبات بعد مرور15،10،5, 20يوماً من أحواض التجربة لغرض قياس تركيز المعدن في المحلول المائي و كمية المعدن المتراكم في النبات، كما تم حساب معامل التركيز الحيوي للنبات و قدرت كفاءة النبات في إزالة المعادن الثلاثة كنسب مئوية للإزالة من المياه إذ ببلغت أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص93.91% في تجربة خلط الرصاص والنيكل عند التركيز7.5ملغم / لتر خلال مدة المعالجة20 يوما أما أقل نسبة إزالة ببلغت 33.97% في تجربة خلط ثلاثة معادن عند التركيز 7.5 ملغم / لتر خلال اليوم الخامس من المعالجة بينما ببلغت أعلى نسبة إزالة للنيكل 63.53% في تجربة المعادن المنفردة عند التركيز2.5ملغم / لترخلال مدة المعالجة20 يوما أما أقل نسبة إزالة ببلغت 11.70% في تجربة خلط ثلاثة معادن عند التركيز 7.5 ملغم / لتر خلال اليوم الخامس من المعالجة، أما الكادميوم فقد ببلغت أعلى نسبة إزالة 83.30% في تجربة المعادن المنفردة عند التركيز7.5ملغم / لترخلال مدة المعالجة20 يوما و أقل نسبة إزالة ببلغت 33.14% في تجربة خلط ثلاثة معادن عند التركيز 2.5 ملغم / لتر خلال اليوم الخامس من المعالجة، بينت النتائج إنّ المعادن الثلاثة يزداد مراكمتها في أنسجة النبات بزيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وكذلك تزداد قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة مدة التعرض ، أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $p<0.05$بين التراكيز والمدد الزمنية للمعالجة للنبات وبعض تراكيز الماء.

أما بالنسبة لنتائج الجانب الجزيئي فقد تم أخذ عينات النبات في نهاية التجربة لغرض إجراء الفحوصات الجزيئية أستخدمت تقنية التضخيم العشوائي متعددة الأشكال Random Amplification Polymorphic DNA(RAPD) و تقنية تكرار التسلسل البسيط Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)لغرض الكشف عن السمية الجينية التي تسببها المعادن الثقيلة الرصاص والنيكل والكادميوم للاثنين وعشرين عينة شملت التجارب المنفردة وتداخل معدنين وتداخل ثلاثة معادن ،ثلاثة بادئات من مؤشر RAPD أظهرت النتائج تضاعف ،بلغ عدد الحزم الكلية 288والحزم متعددة الأشكال11وحزم احادية الأشكال9وحزم نادرة4،كانت نسبة تعدد الأشكال 46.36%،أما تقنية

ISSRأربعة بادئات أعطت نتائج تضاعف ببلغت عدد الحزم الكلية 245 وحزم متعددة الأشكال9 وحزم احادية الأشكال8 وحزم نادرة2 وكانت نسبة التعدد الأشكال 48.5%.

أظهر مخطط الشجرة dendrogram لتقييم المسافة الوراثية الناتجة من معاملة العينات بتراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة من خلال مؤشر RAPD إنخفض نسبة التشابه لتصل الى 66% في معاملة التداخل لمعدني الرصاص والكادميوم للتراكيز 5,7.5ملغم /لتر وتداخل معدني النيكل والكادميوم للتركيز 7.5ملغم /لتر ومعاملة التداخل الثلاثي للرصاص والنيكل والكادميوم للتركيز 7.5ملغم /لتر مع معاملة السيطرة ، أما من خلال مؤشر ISSR نلاحظ إنخفضت معاملات التداخل الثلاثي للتراكيز 7.5,5,2.5 ملغم /لتر الى بنسبة 50,60 %,66 على التوالي مع معاملة السيطرة ، خلصت الدراسة الحالية أنَ نبات الشمبلان أظهر كفاءة عالية في إزالة المعادن الثقيلة الثلاثة الرصاص والنيكل والكادميوم من المياه إذ ببلغت أعلى نسبة إزالة سجلها النبات كانت لمعدن الرصاص وتلاه معدني الكادميوم ثم النيكل وبالتالي نوصي بتطبيق تقنية المعالجة النباتية لإزالة الملوثات من المياه كونها صديقة للبيئة وقليلة التكلفة ويمكن تطبيقها بعد تخفيف المياه الملوثة لزيادة كفاءة النبات في المعالجة .

الفصل الأول :المقدمة وإستعراض المراجع

1-1 المقدمة Introduction

احد الاهتمأمات الرئيسية لهذا القرن هو الحفاظ على جودة البيئة لذا أصبحت مشكلة التلوث البيئي خطرا يهدد حياة الكائنات الحية وبرزت هذه المشكلة نتيجة التقدم الصناعي والزيادة السكانية،اذ تنتهي أنظمة البيئة المائية بشكل مباشر أو غير مباشر كوجهات لتراكيز عالية من الملوثات التي قد تكون ضارة بالكائنات الحية فيه (Ahmed *et al*.,2018) . ومن اهم ملوثات أنظمة البيئة المائية هي بقايا المبيدات ، الهايدروكربونات العطرية متعددة الحلقات ، الدايوكسينات ،المعادن الثقيلة التي لها تأثيرات سلبية على الكائنات الحية التي تعيش فيها اذ تتراكم هذه المواد في أنسجة الكائنات الحية و يمكن أن تشكل تهديدًا صحيًا وبيئيًا لموارد مياه الشرب وهنالك بعض المعادن الثقيلة مثل الكادميوم والزنك يلاحظ تأثيرهما الضار على النبات حتى عند التراكيز المنخفضة جدًا (Gałczyńska *et al*.,2019) . كانت هناك حاجة لإستخدام التقنيات المختلفة لغرض تنقية المياه السطحية ومياه الصرف الصحي الحضرية والمنزلية والصناعية ومن أهم هذه الحلول هي القائمة على إستخدام التكنولوجيا النباتية لإزالة المعادن الثقيلة من البيئة المائية (Bello *et al*.,2018). تشير الدراسات أن للمعالجة النباتية دور حيوي في علم البيئة اذ يمكن للنباتات المائية أن تؤدي دورًا رئيسا في التخلص من الملوثات أو تقليلها وهناك العديد من النباتات التي يمكنها سحب ومراكمة المعادن الثقيلة من المناطق الملوثة(Maktoof *et al*.,2020).

يتمتع نبات الشمبلان بقدرة عالية على التكاثر الخضري وإنتاج الكتلة الحيوية حتى في ظل الظروف الغذائية المنخفضة(Beheary *et al*.,2019). اذ إنّ تراكم المعادن الثقيلة تسبب تأثيرات مؤكسدة ومسرطنة للكائنات الحية في النظم البيئية و تأتي سميتها من خلال ارتباطها بالأحماض النووية بتفاعلات مباشرة او غير مباشرة تؤدي على حدوث أضرار و تغايرات في الحامض النووي (Valavanidis & Vlachogianni,2010).وان التغايرات التي تحدث في الحامض النووي تؤدي الى تغير نسبة الثبات في قالب الجينوم(GTS ٪) genomic template stability التي يمكن اعتبارها كقياس نوعي لتلف الحامض النووي الناجم عن الملوثات (Batir *et al*., 2015;Salarizadeh & Kavousi, 2015)

إنّ التغيرات في الحامض النووي تتم من خلال فقدان أو تخليق حزم جديدة مقارنة بالسيطرة(Saleh,2016) . في الآونة الأخيرة أدى تطور الجانب الجزيئي والتقنية المعتمدة على تفاعل البلمرة المتسلسلة لتصبح أدوات جديدة للكشف عن التغايرات الجينية المحتمل حدوثها (Adhikari *et al*.,2017; Gupta & Sarin,2009). لذا ركزت البحوث الحديثة بشكل أساسي على السمية الجينية(genotoxicity) من خلال التغيرات في الحامض النووي الناتجة عن إجهاد المعادن الثقيلة في

النباتات والطحالب باستخدام مؤشرات جزيئية لأنها تعطي إلى حد ما صورة عامة عن أهمية بعض الكائنات الحية (النباتات والطحالب) كمؤشرات حيوية لرصد التلوث في النظم البيئية ، ومن المؤشرات المستخدمة هي تقنيات(Random Amplification Polymorphic DNA(RAPD و Inter Simple Sequence Repeats(ISSR) و Amplified Fragment Length Polymorphism(AFLP) التي تعد من أكثر التقنيات فاعلية في الكشف عن تغيرات الحامض النووي كونها تقنيات فعالة في رصد التغيرات للحمض النووي على مستوى الطفرات الناتجة من الضغوط البيئية الضارة في النباتات والحيوانات والبكتيريا والطحالب (Adhikari *et al.*,2021).

2-1 هدف الدراسة:

تهدف الدراسة الحالية تقييم كفاءة نبات الشمبلان.*Ceratophyllum demersum* L في إزالة أو اختزال المعادن الثقيلة من خلال:

1- قياس تراكيز المعادن الثقيلة في المياه
2- قياس تراكم المعادن الثقيلة في أنسجة النبات بعد معاملته
3- تشخيص التغايرات الوراثية التي قد تحدث للنبات نتيجة التعرض لهذه المعادن من خلال إستخدام بعض المؤشرات الجزيئية (RAPD , ISSR).

1 - 3 استعراض المراجع

1-3-1 المعادن الثقيلة

المعادن الثقيلة هي مجموعة من المعادن و أشباه الفلزات ذات كثافة نوعية عالية تكون أكبر من كثافة الماء بخمس مرات ويعرف بعضها بالعناصر النزرة لقلة وجودها بالأوساط البيئية حيث يصل عددها في الجدول الدوري الى 38 عنصرا وتختلف عن الملوثات البيئية بوجودها الطبيعي في مكونات القشرة الارضية وبنسبة لاتتجاوز 0.1% ومعظم المعادن الثقيلة تشكل خطرا على الصحة والبيئة , تشمل المعادن الثقيلة الرصاص والكروم والزئبق واليورانيوم والسيلينيوم والزنك والزرنيخ والكادميوم والفضة والذهب والنيكل ومن المعادن التي تشكل تهديدات رئيسية على صحة الإنسان عند التعرض لها هي الرصاص والكادميوم والزئبق والزرنيخ(Fergusson,1990). كما تزيد كثافتها عن 5 غرام لكل سنتيمتر مكعب و تقع معظم هذه المعادن ضمن فئة المواد السامة القابلة للذوبان في الماء بدرجة عالية ومن العوامل المسببة للسرطان (Dotaniya *et al.*,2018) .

المعادن الثقيلة سامة بطبيعتها وتسبب أمراضًا صحية خطيرة للإنسان والحيوان ، حتى عند التركيز المنخفض جدًا وتدخل هذه المعادن في النظام المائي من خلال النشاط الزراعي والتصريفات الصناعية(Vardhan *et al.*,2019). يمكن أن تؤثر المعادن على العديد من العمليات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية في النباتات وتختلف سميتها باختلاف الأنواع النباتية مثل انواع المعادن وتركيزها المعادن وشكلها الكيميائي، في جميع أنحاء العالم ، تم إجراء أبحاث مستفيضة لتحديد آثار المعادن الثقيلة السامة على النباتات (Gjorgieva ,2018).

تختلف المعادن الثقيلة عن المواد العضوية بكونها لاتتحلل ولاتتفكك الى ماهو ابسط منها وهي تنتقل عبر السلسلة الغذائية خلال مسارات متعددة ولها القابلية على التراكم في انسجة الكائنات الحية المختلفة(Gulfraz *et al.*,2001).

تؤدي قابلية الذوبان العالية للعديد من المعادن الثقيلة إلى تحويلها إلى مادة ملوثة شديدة السمية وخطيرة للمياه والتربة عند تصريفها بواسطة العديد من الأنشطة الصناعية , اذ تتسرب إلى المياه الجوفية أو تصب في المياه السطحية مما يؤدي إلى تلوث المياه(Al- Naggar *et al.*,2018)

وتقسم من حيث الحاجة اليها إلى نوعين ضرورية وغير ضرورية حيث تؤدي المعادن الثقيلة الضرورية مثل الكوبلت (Co) والنحاس (Cu) والحديد (Fe) والمنغنيز (Mn) والموليبدينوم (Mo)

والنيكل (Ni) والزنك (Zn) دورًا مفيدًا في نمو النبات وتطور إنتاجيته بتركيز مقبول على شكل مغذيات أساسية كما تعمل المعادن الضرورية العديد من المهام الكيميائية الحيوية والفسيولوجية الأساسية في النباتات وتعتبر أيضًا مكونات مهمة في الإنزيمات الخلوية المختلفة و تشارك في العديد من تفاعلات تقليل الأكسدة مما يودي تحسين المستوى الغذائي للنبات (Muszynska & Labudda,2019). يسبب تراكم المعادن الثقيلة داخل الأنسجة النباتية تأثيرات سامة مباشرة وغير مباشرة و هذه التأثيرات المباشرة تشمل الإجهاد التأكسدي الذي يزيد من تفاقم تثبيط الإنزيمات السيتوبلازمية وتلف الهياكل الخلوية و تؤثر هذه الأيونات بسهولة على دور الإنزيمات والبروتينات المختلفة وتوقف عملية التمثيل الغذائي

. (Kumar & Aery,2016 ; Souri *et al.*,2019)

1-3-2 المعادن الثقيلة في البيئة المائية

توجد المعادن الثقيلة في البيئة المائية بصورة كيميائية مختلفة وكما يأتي:

1-2-3-1 المعادن الثقيلة الذائبة في الماء Dissolved heavy metals:

وهي أيونات العناصر الذائبة أو بعض مركباتها الكيميائية أو المعقدات العضوية واللاعضوية والمتضمنة الكاربونات والبيكاربونات والكلوريدات والكبريتات والفوسفات والنترات والكالسيوم والمغنسيوم والصوديوم والأيونات العضوية والأيونات الأُخرى وبعضها متصل بالجزيئات الغروية القابلية على المرور خلال مرشحات قطر فتحاتها 0.45 مايكرومتر (Wang *et al.*,2016) . إن من أهم العوامل التي تؤثر في ذوبانية العناصر وانطلاقها هي درجة تفاعل الوسط ، إذ تعد قيمة الأس الهيدروجيني من العوامل المؤثرة في قابلية ذوبان العنصر, وان ارتفاع وحدة واحدة نحو القاعدية يؤدي إلى خفض قابلية ذوبان كل من النحاس ، والكادميوم ، والحديد ، والمنغنيز بمقدار مئة مرة ويحدث العكس عند إنخفاض قيمة الأس الهيدروجيني وحدة واحدة مما كانت عليه و من ثمّ فإن تغير قيم الأس الهيدروجيني يؤثر في انطلاق وترسيب العناصر في البيئة المائية .(Lindsay,1979)

2-2-3-1 المعادن الثقيلة العالقة في الماء Particulate heavy metals:

هي العناصر الممتزة على أسطح المواد العالقة والأحياء المائية والتي ليس لها القابلية على المرور من خلال المرشحات التي قطر فتحاتها 0.45 مايكروميتر وتقسم الى نوعين وهما النوع الإحيائي ويشمل لأحياء المجهرية كالعوالق النباتية والعوالق الحيوانية والبكتيريا والفطريات وبعض نواتج

الفعاليات الحيوية أما النوع الثاني فهو غير الإحيائي الذي يتمثل بجزيئات الطين والغرين ومركبات السليكا وبقايا لكائنات الميتة (Zhang *et al.*,2018).

1-3-3 طرائق معالجة المياه الملوثة بالمعادن الثقيلة:

1-3-3-1 المعالجة التقليدية:

تشتمل عملية إزالة المعادن الثقيلة من المياه على العديد من التقنيات الفيزيائية والكيميائية مثل التبادل الأيوني وجهد الأكسدة والاختزال و الترسيب والترشيح والتناضح العكسي والاستخلاص بالمذيبات والادمصاص بالكاربون المنشط وتعد هذه المعالجات مكلفة وغير اقتصادية وتتطلب عمالة وتنصيب وصيانة ومتابعة مستمرة وتنتج ملوثات ثانوية ومن ثمّ يجب إيجاد وسائل آمنة للتخلص من آثارها الضارة وكذلك تكون محددة بإزالة تراكيز معينة من المعادن ذات القيم الواطئة. (Lokuge,2016).

1-3-3-2 المعالجة النباتية Phytoremediation

تعرف هذه العملية بانها تقنية استعمال النباتات في إزالة أو حجز أو تكسير الملوثات في الترب والمياه معتمدة على قدرة النبات الفريدة في اخذ الملوثات من قبل النظام الجذري أو أجزاء النبات الأُخرى إذ تضم عمليات النقل والتراكم الحيوي والقابلية على تحليل الملوثات ،وهي طريقة فعالة من حيث التكلفة الى جانب ذلك أنّها طريقة صديقة للبيئة لأنها تقلل من مخاطر تشتت الملوثات وتحمي النظام البيئي عن طريق تجنب التنقيب في المواقع الملوثة، يقسم مصطلح phytoremediation إلى جزئين هما : phyto تعني نبات، والمقطع الثاني remediation تعني معالجة (Cristaldi Nejad *et al.*,2018 ; *et al.*,2017). تستخدم تقنية المعالجة النباتية phytoremediation بكفاءة في معالجة تلوث المياه ، وقد حظيت باهتمام كبير من قبل العلماء والهيئات الحكومية وغير الحكومية. ومع ذلك ، بدأ استخدام النباتات في معالجة مياه الصرف الصحي منذ حوالي 300 عام (Carolin *et al.*,2017).

هنالك العديد من الفوائد لعملية الإزالة الحيوية ومنها :

1- هي تقنية صديقة للبيئة ومفيدة لتنظيف الوسائط الملوثة
2- تحلل الملوثات وتحويلها إلى أشكال أقل ضرراً.
3- تحدد نقل الملوثات خارج الماء والتربة
4- من التقنيات غير المكلفة نسبيا.
5- ذات كفاءة عالية في إزالة الملوثات.

6- تقلل من كمية النفايات التي يتم طمرها الى حوالي95 %.

7- تختزل تكوين الملوثات الثانوية secondary wastes والتي تتطلب معالجة لاحقة (Favas *et al.*,2018 ; de Campos *et al.*,2019).

و تُعرف النباتات المائية بأنها النباتات التي تعيش في الماء أو بالقرب منه وتقسم إلى نباتات مائية غاطسة وطافية وبارزة و تعد النباتات المائية أداةً فعالة في المعالجة النباتية لإزالة المعادن الثقيلة كونها عوامل حية Bioagent متوافرة في المسطحات المائية وتمتاز بسهولة نقلها و جمعها فضلا عن تماسها المباشر مع الماء لذا تزداد قابلية امتصاصها للملوثات المختلفة(Anand *et al.*,2019). اصبحت النباتات المائية ذات أستعمالا" واسعا" في مجال الترشيح الحياتي Biofilteration لقابليتها على إزالة المعادن الثقيلــة السامة من الماء وتجميعـها في الأنســـــجة (Akinbile *et al.*, 2012).

تستعمل النباتات المائية الطافية الجذور في عملية اخذ المعادن الثقيلة بينما النباتات الغاطسة تكون فيها الاوراق هي الاساس في عملية اخذ العناصر اذ تعمل عمل الجذور في سحب العناصر (Chatterjee,2014).يجب ان يتميز النبات المستعمل في المعالجة النباتية بكونه متحملاً للظروف البيئية المختلفة و تحمل التراكيز الضارة وبأنه ذو معدل نمو عالي ومقاوم للأمراض والآفات وسهل الحصاد والإزالة و ان يكون متوطناً في البيئة (Fernando *et al.*,2016).كذلك معدل نمو النبات وتركيز المعادن الثقيلة في أنسجة النبات لهما تأثير مباشر على قدرة النبات على إزالة المعادن(Giripunje *et al.*,2015) . تم استخدام النباتات المائية على نطاق واسع للتخلص من المعادن الثقيلة والملوثات من مياه الصرف الصحي في العقود الخمسة الماضية (Marbaniang & Chaturvedi,2014)

إن لمعظم النباتات المائية الطافية والمغمورة القابلية على تحمل مستويات عالية من المعادن الثقيلة من خلال تكوين المخلبيات النباتية Phytochelatins (Lata *et al.*,2019).

ان ميكانيكية إمتصاص النباتات للمعادن الثقيلة تتمثل بأن معظم أيونات المعادن الثقيلة تكون موجبة الشحنة بينما جذور النباتات تكون سالبة الشحنة هذا الاختلاف في الشحنات يسبب تجاذب بين أيونات المعادن والجذور ومن ثم يتم أمتصاص الايونات داخل النبات (Ratan & Verma,2014)

يعرف التراكم النباتيPhytoaccumulation بانه العملية التي تمتص فيها النباتات الملوثات من المواقع الملوثة إلى جانب العناصر الغذائية الأُخرى والمياه اللازمة لنموها و لا يتم تدميرها اذ تتراكم هذه الملوثات في البراعم والأوراق وأجزاء النبات الأُخرى(Rashid *et al.*,2014).

وهنالك اليات الدفاع الخلوي لكبح وتخفيف الاثار الضارة للمعادن الثقيلة:

1- الية الاستبعاد Exclusion mechanism:

تعمل هذه الآلية على جعل الايونات غير قادرة على النفاذ إلى داخل الخلية وذلك من خلال إفراز مواد عضوية ترتبط مع المعادن الثقيلة وبذلك تحد من فعاليتها لتقليل نفاذيتها عبر الغشاء الخلوي أو امتلاك جدار الخلية لمواقع فعالة ترتبط فيها المعادن الثقيلة وتمنعها من النفاذ إلى الخلية ويؤدي هذا إلى تجميعها وتراكمها خارج الخلية(Ashraf *et al.*,2011)

2- آلية إزالة السمية داخل الخلية Internal Detoxification Mechanism

في هذه الآلية يتم ارتباط الايونات المراد تثبيط فعاليتها السمية مع بروتينات ذات الألفة لمثل هذه الفعالية والتي ترتبط بوجود الحامض الاميني(Cystine) الحاوي على الجذر الفعال (SH) مثل بروتين (Metallothionein) وهو بروتين حاوي على (Cystine) بنسبة 30% وتدعى هذه المركبات بالمركبات المخلبية النباتية phytochelatins (Cobbett,2000) والتي يتم تحفيز إنتاجها عن طريق بعض المعادن الثقيلة كالرصاص والكادميوم (Hassan & Arts,2011).

1-3-4 ميكانيكيات المعالجة النباتية:

أولا: الانتزاع النباتي Phytoextraction : هي الميكانيكية الأكثر شيوعًا للمعالجة النباتية وتنطوي على تراكم المعادن الثقيلة في جذور وبراعم النباتات وهذه الميكانيكية يستعملها النبات لإزالة الملوثات اللاعضوية كالمعادن الثقيلة والنظائر المشعة في الترب والرواسب والحمأة من خلال امتصاصها بواسطة النبات وحجزها وانتقالها وتراكمها في الأجزاء العليا وبتم التخلص منها بحصاد النبات لإزالة الكتلة الحية الملوثة وتعالج بالحرق والطمر الصحي أو باستخلاص المعادن من النبات وتمتاز هذه الميكانيكية بكونها اقتصادية وغبر مكلفة و عادةً ما تمتلك النباتات المستخدمة في الانتزاع النباتي الخصائص التالية: معدل النمو السريع والكتلة الحيوية العالية ونظام الجذر الواسع والقدرة على تحمل كميات كبيرة من المعادن الثقيلة وقد تؤدي هذه القدرة على تحمل التركيز العالي للمعادن الثقيلة بواسطة هذه النباتات إلى تراكم المعادن في الجزء القابل للحصاد وقد يسبب هذا مشكلة من خلال تلوث السلسلة الغذائية(Lei *et al.*,2018;Suman *et al.*,2018)

ثانيا: التكسير النباتي Phytodegredation : هي تقنية تستعمل فيها النباتات والأحياء المجهرية المرافقة لها لامتصاص وتكسير المركبات العضوية بمساعدة الجذر لإزالة سمية ملوثات التربة العضوية والحمأة والرواسب والمياه الجوفية والسطيحة بفعل الإنزيمات المنتجـــــة داخـــل النبات (Khandare & Govindwar,2015)

ثالثا: التكسير الجذريRhizodegredation : هي ميكانيكية تكسر وتحلل الملوثات العضوية في التربة أما بواسطة الادمصاص على سطح الجذور أو الامتصاص من قبل الجذور وفها تتكسر الملوثات العضوية عن طريق زيادة فعالية الأحياء المجهرية في المنطقة الجذرية التي تعد غذاءً لها ونواتج التكسير مصيرها أما التطاير أو تتأيض داخل الأحياء المجهرية في المنطقة الجذرية(Ely &smets,2017).

رابعا: التطاير النباتي Phytovolatilization : طريقة تمتص فيها ملوثات التربة القابلة للتطاير مثل الزئبق Hg والسلينيوم Se من قبل النبات وتنطلق الى الغلاف الجوي بعمليات نتح النبات هدفها إزالة الملوثات من التربة وتكسيرها اذ تنتقل إلى داخل النبات وتحويلها الى مركبات قابلة للتطاير ومن مميزاتها تحول الملوثات إلى مركبات أقل خطورة ومحدداتها يبقى جزء من الملوثات داخل النبات (Limmer & Burken,2016)

خامسا: التثبيت النباتي Phytostablization : هي ميكانيكية تحجز أو تقلل توافر الملوثات في الترب والرواسب من خلال ترسيبها أو تقييدها وشل حركتها وحجزها بالتربة في المنطقة الجذرية أما على سطحه أو داخله ومنع ترشحها إلى المياه الجوفية ومن مميزات هذه الميكانيكية إنها لا تحتاج حصاد النبات وان وجود النبات يقلل تعرية التربة و هي فعالة عندما يكون الهدف حماية المياه الجوفية والسطحية من التلوث ومحدداتها إنها تبقي الملوثات في التربة وتتطلب المتابعة المستمرة لمعرفة مستويات الملوثات فيها . (Hammond *et al.*,2020)

سادســـا: الترشـــيح الجـــذري Rhizofilteration :تقنيـــة تمـــتص وتركـــز وتزيـــل الملوثـــات اللاعضـوية كالمعـادن الثقيلـة مـن الميـاه الملوثـة السـطحية و العادمـة ذات التراكيـز الواطئـة بواسـطة النباتـات وبهـذه الطريقـة تمـتص وتـدمص الملوثـات بواسـطة جـذور النباتـات وقلـيلا مـا تنتقـل إلـى أجـزاء النبـات الأُخـرى وتمتـاز بأنهـا بمكـن تطبيقهـا داخـل الموقـع Insitu أو خارجـه Exsitu ومحـدداتها يحتـاج النبـات الـى النمـو بظـروف البيـت الزجـاجي وضـبط الاس الهيـدروجيني الـى القيمة المناسبة لنمو النبات(Galal *et al.*,2018) .

1-3-5 اليات النبات لإزالة المعادن الثقيلة من المياه:

1- الإمتزاز Adsorption : سطح الجذر يعد هو الاساس في امتصاص المغذيات والعناصر التي تربط الملوثات اذ يحصل تفاعل بين جذور النباتات والوسط الذي توجد فيه الملوثات مما يؤدي الى ادمصاصها بواسطة الجذر(Ighalo & Adeniyi,2020)

2- التراكم والنقل Transportation & Accumulation : في هذه العملية تؤدي البروتينات والببتيدات الناقلة دورا مهما حيث تزيد من ربط العنصر بالنبات ويمكن أن تحسن تحمل العنصر والتراكم وهناك بعض العوامل المساعدة مثل المواد الكلابة agent chelating المضافة إلى الماء أو التربة التي تساهم وتزيد من التوافر الحيوي والامتصاص والنقل للمعادن الثقيلة (Ghori *et al.*,2019).

3- النقل Translocation : بعد امتصاص خلايا الجذر العناصر الأيونية تنقلها إلى الأجزاء العليا من النبات وللغشاء الناقل دور أساسي في هذه العملية (Karthika *et al.*,2018).

4- إزالة السمية Detoxification : النباتات المراكمة تمتلك خاصية كبيرة وفعالة لإزالة السمية ولحجز الملوثات دون إظهار السمية نتيجة لادمصاص كميات كبيرة من العناصر الثقيلة وحجزها في الفجوات التي تمثل المكان لخزن المعادن الثقيلة داخل انسجة النبات وهذا الحجز هو الطريقة الأولى للسيطرة لأجل مقاومة تأثيرات المعدن الضارة والحفاظ على أجزاء النبات الأُخرى و الطريقة الثانية في إزالة السمية هي التطايرية أي تحول العناصر داخل النبات إلى أشكال اقل خطورة وسمية وتطرح بعمليات نتح النبات إلى الغلاف الجوي (Kumar *et al.*,2017).

5- التراكم المفرط Hyperaccumulation: بعض النباتات تمتلك القدرة على تحمل واستيعاب كميات كبيرة من المعادن السامة في انسجتها دون إظهار أعراض السمية اذ تقوم هذه النباتات بمراكمة المعادن في أنسجتها ويرجع ذلك إلى تعزيز بعض العمليات الفسيولوجية مثل امتصاص الجذور حيث يتركز المعدن الثقيل في الكتلة الحية للنبات(Merlot *et al.*,2021 ; Manara *et al.*,2020)

1-3-6 الدراسات المحلية:

هنالك عدد من الدراسات التي اجريت باستخدام عدد من النباتات المائية لغرض معرفة قابليتها على إزالة المعادن الثقيلة ومنها الدراسة التي قام بها Abaychi & Al-obaidy(1987) حول تراكيز عناصر النحاس والمنغنيز والحديد في أنسجة نبات الشمبلان*Ceratophyllum demersum* في منطقة شط العرب كما تم تحديد توزيع بعض المعادن الثقيلة في أنواع من النباتات المائية في هور الحمار وأشير إلى إن التغيرات في تراكيز هذه العناصر في النباتات المدروسة تعزى إلى قابلية النباتات على تركيز هذه العناصر مقارنة بتراكيزها الأولية. ولوحظ في دراسة أجريت على نهر شط الحلة وجود تراكيز متفاوتة لبعض العناصر الثقيلة في النباتين الشمبلان *Ceratophyllum demersum* وذيل القط *Myriophyllum verticillatum* وأشير إلى عدم وجود علاقة معنوية بين تراكيز العناصر في النباتات وفصول السنة (الطائي، 1999).

في دراسة Al-Ghanmi(2001) تبين أن بعض النباتات موجودة دليل على التلوث وهونبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* والقصب *Phragmitus australis* و ذيل القط *Myriophyllum verticillatum* لامتلاكهم لوسائل المقاومة وتراكم هذه العناصر في أنسجتها وهذا يدل على ظاهرة التراكم الأحيائي ووجد تقارب تراكيز المعادن الثقيلة في هذه النباتات نتيجة عيشها في بيئة مشابهة لنفس مصادر التلوث.

أما الجريان (2009) فقد درس إزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان مختبريا،اذ وجد ان نسبة الإزالة الحيوية تزداد بزيادة تركيز الرصاص في المياه. كما درست تراكيز عناصر الخارصين والمنغنيز والرصاص والنحاس والكادميوم في ثلاثة نباتات مائية هي*demersum Ceratophyllum* و *Myriophyllum verticillatum* و*Typha domingensis* ، أذ سجل المنغنيز أعلى تركيز في أنسجة النباتات الثلاثة واقلها كان الكادميوم وذكر إن النباتات المائية تختلف في قابليتها على تجميع المعادن الثقيلة تبعا إلى كمية هذه المعادن في الماء والرواسب وكذلك على قابلية جذورها على التغلغل في الرواسب فضلا" عن العمليات الحيو ية في جسم النبات (علكم، 2002). لوحظ في دراسة اجريت على مياه نهر الفرات بين سدة الهندية ومدينة الكوفة ان لنبات الشمبلان والبردي والقصب والحامول القدرة على مراكمة المعادن الثقيلة اكثر مما هو عليه في الماء والرواسب وبين ان هذه القدرة تتباين مع تغاير مصادر التلوث واختلاف النوع النباتي(سلمان,2006).

أشار جاسم(2008) في دراسته تقييم كفاءة ستة أنواع من النباتات المائية تضمنت القصب *Phragmites australis* والبردي *Typha domingensis* والشمبلان *Ceratophyllum demersum* و *Vallisneria spiralis* وعدس الماء *Lemna minor* والغزيزة *Salvinia natans* في تحسين نوعية مياه هوري الحويزة وشرق الحمار ومياه القنوات الداخلية في محافظة البصرة إذ أظهرت النتائج فاعلية هذه النباتات في معالجة المياه بنسب إزالة مختلفة. و لوحظ في الدراسة التي اجريت لمعرفة الدور الذي تؤديه بعض النباتات المائية المتمثلة بالشمبلان والقصب والكطل كأدلة حيوية للتلوث بمعدني النحاس والرصاص حيث ظهر ان نباتي القصب والشمبلان يعدان ادلة جيدة لتلوث المعادن القيلة لان معدلات التراكم لهذين المعدنين أعلى مماهو عليه في نبات الكطل (حنف، 2009).

أما الغانمي (2011) فقد اشار في دراسته الى ان استعمال نباتات الشمبلان والقصب والبردي في مياه نهر الفرات عند مدينة الحلة كأدلة حيوية للتلوث بمعادن الزئبق والرصاص والنيكل والمنغنيز والكوبلت والنحاس والحديد وأظهرت النتائج ارتفاع تراكيز هذه العناصر في انسجة النباتات مقارنة مع تراكيزها في المياه والرواسب كما بين في دراسته استعمال النباتات المائية أدلة حياتية على التلوث بالمعادن الثقيلة في نهر الفرات- العراق.

درس المياح والاسدي (2012) قدرة بعض النباتات المائية على مراكمة الملوثات داخل أنسجتها بعد تعرضيها لتراكيز مختلفة من معادن الكادميوم Cd و الكوبلت Co والحديد Fe ولمدة خمسة أسابيع باستعمال نباتي الشمبلان *Ceratophyllum demersum* و الكطل *Hydrilla verticillata* وبينت النتائج أن نبات *H. verticillata* كان أكثر كفاءة في سحب ومراكمة المعادن الثقيلة داخل أنسجته مقارنةً مع نبات الشمبلان ، كما أن نبات الشمبلان كان أكثر تأثرا في معدل النمو ومحتوى الكلوروفيل و البروتين والكتلة الحية.

لاحظ Abdalla (2012) دور النباتات المائية في معالجة المعادن الثقيلة في الأراضي الرطبة الطبيعية والمصنعة من خلال دراسة قابلية نباتي الشمبلان و عدس الماء *Lemna minor* في إزالة معدني الرصاصPb والكروم Cr عند تعريض النباتين إلى أربعة تراكيز مختلفة لكل معدن في تجربة مختبرية إستمرت 12 يوماً و أوضحت النتائج أن نبات *L.minor* كان الأكثر كفاءة في إزالة المعدنين و دون إظهار آثار سمية. أشار(2014) El- Khatib *et al.* في دراستهم إلى قابلية التحمل وتراكم معدن الرصاصPb في نباتي الشمبلان *Ceratophyllum demersum* وذيل القط *Myriophyllum spicatum* من خلال تعريض النباتين لتراكيز مختلفة في تجربة مختبرية إستمرت 7 أيام مقارنة مع معاملة السيطرة المحتوي على نبات دون عنصر الرصاص ،و أظهرت النتائج أن التراكم الأعلى كان

لنبات الشمبلان *C. demersum* مع ظهور علأمات السمية في تصنيع الصبغة والتأثيرات المظهرية كالاصفرار بعد 7 أيام،كما بينت النتائج تقليل في محتوى الكلوروفيل والبرولين عند التراكيز الواطئة ، كما أظهرت البروتينات مدى تحمل النباتات تحت إجهاد معدن الرصاص ، وأثبتت فاعلية النباتين لتراكم معدن الرصاص مع قابلية التحمل و إمكانية عدها مؤشرا حيويا للتلوث بالرصاص .

ذكر صالح و حمود(2014) أنَ تأثير معدن الزئبق في الحالة الفسلجية لبعض النباتات المائية الشمبلان *C. demersum* و ذيل القط *Myriophyllum verticillatum* و القصب *Phragmites australis* و ذيل الفرس *Potamogeton perfoliatus*في تجربـــــة مختبريـــــة إستمرت مدة 13 يوماً بتعريض النباتات الى تراكيز مختلفة من معدن الزئبق الممزوجة مع المياه العادمة الصناعية المطروحة من شركة الفرات العامة للصناعات الكيميائية (بابل- المسيب) وأظهرت النتائج ارتفاعا في تركيزمعدن الزئبق في أنسجة النباتات وبشكل متباين فضلا عن ظهور التأثيرات في النباتات ومنها تقليل محتوى الكلوروفيل والبروتين والكاروتين مقارنة مع عينة السيطرة .وفي دراسة مختبرية أُخرى أجراها أحمد(2014) للتعرف على قدرة نبات الشمبلان على إزالة معدني الخارصين والرصاص وقد استعمل تراكيز مختلفة من معدني الخارصين والرصاص بصورة منفردة كل على حدة وبينت النتائج قدرة النبات على إزالة الخارصين من الماء أعلى من قدرته على إزالة الرصاص.

وبين أحمد والكبيسي (2014) انه يمكن استخدام نبات الشمبلان في المعالجة الحيوية في المياه الملوثة بالمعادن الثقيلة اذ أظهر النبات نسبة إزالة مئوية للزنك تراوحت بين 95.1- 97.1% بينما تراوحت نسبة إزالة معدن الرصاص بين 81.98- 87.1 % بعد مرور 28 يوما من المعاملة. أشار(2015) Al-Rubaie & Al- Kubaisiإلى قابلية نباتي زهرة النيل *Eichhornia crassipes* والشمبلان *C .demersum* في إزالة الرصاص Pb عند تراكيز مختلفة وبتجربة مختبرية إستمرت 28 يوما وببلغت كفاءة الإزالة 98.6% لكلا النباتين عندما كان تركيز الرصاص في المحلول المائي 10 ملغم/ لتر وبينت النتائج كفاءة النباتين في معالجة المياه الملوثة بالرصاص. كما استخدم(2015)Hassoon الكتلة غير الحية لنبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* لتقليل تراكيز بعض المعادن الثقيلة مثل النحاس والكادميوم والرصاص والكروم من المحاليل المائية وأثبتت قدرتها العالية على تقليلها وخاصة معدن الرصاص الذي وصلت نسب اختزاله إلى 99 ٪.

درس (2015)Al- Ubaidy & Rasheed لإزالة معدن الكادميوم من المياه ، أذ لوحظ وجود محتوى عال من المعادن الثقيلة في أنسجة نبات الشمبلان مما يدل على أن له القابلية على أمتصاص المعادن الثقيلة بكفاءة عالية.

بين الصفار وآخرون (2017) إمكانية إستعمال أوراق نبات الشمبلان في المعالجة الحيوية لإزالة المعادن الثقيلة المتمثلة في كل من الرصاص Pb والكادميوم Cd والنحاس Cu مجتمعة مقارنة مع معاملة السيطرة،عند تعرضه الى هذه المعادن مختبرياً بتراكيز ببلغت (20,10,5,1) ملغم /لتر على مدى شهرين متتاليين وبمدة اسبوع واحد لكل قراءة لمعرفة المدة الأصغرية للإزالة حيث أظهرت النتائج نسبة إزالة معدني الرصاص والنحاس 80 %عند تركيز20 ملغم /لتر في نهاية الأسبوع الرابع فيما تفوق النبات في معدل كفاءة إزالة معدن الكادميوم عند نهاية الأسبوع السادس وبذات التركيز 20 ملغم /لتر وكانت اكثر من 90 % ولوحظ أن ثمة سلوك ظهر على أوراق هذا النبات بعد مضي ستة اسابيع من التجربة الى وهو الذبول دلالة على أنه يتأثر بالتراكيز العالية خصوصاً 20 ملغم /لتر ولمدد زمنية طويلة.

بين كاظم (2017) دور بعض النباتات المائية في اختزال المعادن الثقُيلة من المياه المنزلُية والمياه الصناعية من خلال تراكمها فَي انسجتها ولاحظت ارتفاع تراكيزالحديد والنحاس والزنك والكادميوم والرصاص بعد انتهاء وقت المعالجة لكلا النوعين من المياه في نبات عدس الماء *Lemna minor* أما بالنسبة لنبات الكطل *Hydrilla verticillata* فقد ارتفعت تراكيز النحاس والكادميوم والرصاص بعد معالجة كلا النوعين من المياه أما تركيز الحديد المتراكم فقد ارتفع في نبات الكطل بعد معالجة المياه الصناعية ولكنه إنخفض بعد معالجة المياه المنزلُية وبالنسبة لنبات الشمبلان *C.demersum* فارتفعت تراكيز كل من الزنك والكادميوم بعد المعالجة أما تركيز الحديد المتراكم فقط إنخفض بعد معالجة كلا النوعين من المياه وارتفعت تراكيز النحاس والرصاص المتراكم في نبات الشمبلان بعد معالجة المياه الصناعية ولكنها إنخفضت بعد معالجة المياه المنزلية. لاحظ كاظم و الحاتمي (2017) امكانية بعض النباتات المائية مثل*Lemna minor* و *Hydrilla verticillata* و *C. demersum* في اختزال المعادن الثقيلة الموجودة في محطة معالجة المياه المنزلية في معميرة والمياه الصناعية لمعمل نسيج الحلة إذ ابدت النباتات كفاءة عالية في اختزال المعادن الثقيلة وسجلت النباتات كفاءة اختزال لمعدن الرصاص بنسبة ببلغت 100 %في الُيومين 20 و 25 لنبات عدس الماء وفي الُيوم 5 بالنسبة لنبات الكطل وفي اليوم العاشر بالنسبة لنبات الشمبلان *C.demersum* وبالنسبة لمعدن الكادميوم بينت النتائج إنّ نسبة الإختزال هي 71.5% في اليوم 10 لنبات *Lemna minor* وبالنسبة لنباتي *Hydrilla verticillata* و *Ceratophyllum demersum* فتقاربت نسبة اختزال الكادميوم لهما وببلغت 40.2% 44.7% على التوالي في اليوم الخامس والعشرين.

توصلت الدراسة التي قام بها مكطوف وآخرون (2018)الى ان نبات الشمبلان سجل كفاءة إزالة عالية في معالجة مياه محطة الصرف الصحي في جنوب محافظة ذي قارلأربعة من المعادن الثقيلة (الكادميوم، الخارصين، النيكل والرصاص) واظهر النبات ايضا كفاءة عالية في خفض تراكيز المواد الصلبة الذائبة الكلية والمواد الصلبة العالقة الكلية والمتطلب الحيوي للأوكسجين والمتطلب الكيميائي للأوكسجين والنترات.

بينت مهدي (2018)كفاءة نباتي الشمبلان والشويجة *Najas marina L.* في إزالة معدني النيكل والرصاص من محطة تصفية مجاري حمدان / محافظة البصرة ووجدت ان نبات الشمبلان كان الأكفأ في إزالة معدني النيكل والرصاص وتراوحت كفائته في إزالة معدن النيكل بين 58.11- 79.07% بينما كانت كفاءة نبات الشويجة بين 48.34- 57.40% , أما كفاءة إزالة معدن الرصاص كانت بين 52.66- 77% و 59-68% لنباتي الشمبلان والشويجة على التوالي وعند خلط المعدنين معا بينت ان نبات الشمبلان كان الأكفأ في إزالة معدني الرصاص والنيكل اذ ببلغت نسبة ازالتهما 64.90 و 63.06 %على التوالي.

بينت دراسة مختبرية اجراها Ahmed *et al.*(2018) على قابلية نبات الشمبلان والكطل على إزالة معدن الرصاص من المياه إذ كانت نسبة الإزالة 77.8% و 79.8 % لكلا النباتين على التوالي بعد مرور 28 يوما ولوحظ اصفرار أوراق النباتين عند معاملتهما بتركيز20 ملغم /لتر من معدن الرصاص.

درست حسين(2020) امكانية بعض النباتات المائية مثل نبات عدس الماء *Lemna minor* ونبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* L. في اختزال بعض الملوثات الموجودة في مياه مبزل اليهودية , بينت النتائج ان كلا النباتين أظهرت القدرة على اختزال الملوثات من المياه الملوثة والمتضمنة كل من المتطلب الاحيائي للأوكسجين حيث تفوق نبات عدس الماء وسجل أعلى نسبة اختزال 93.5% في اليوم 20, بينما القاعدية الكلية سجلت أعلى نسبة اختزال لنبات الشمبلان اذ ببلغت 45.4% في اليوم 16 , أما بالنسبة لمعدني الكادميوم والرصاص فسجلت أعلى نسبة اختزال لنبات الشمبلان اذ ببلغت % في اليوم 12 .

اجرى Al- Abbawy *et al.* (2021) دراسة لستة نباتات مائية اشتملت على نبات الازولا *Azolla filiculoides* و نبات شعر الحصان *Potamnogeto pectinatus* والشمبلان*demersum Ceratophyllum* و نبات الشويجة *Najas marina* ونبات القصب الجنوبي *australis Phragmites* ونبات البردي *Typha domingensis* في هور الحويزة في جنوب العراق على التراكم الحيوي لمعادن الكادميوم والكروم والحديد والزنك والنحاس والرصاص أظهرت نتائجهم ان تراكيز

الكادميوم والكروم والحديد في انسجة النباتات المائية كان أعلى من المحددات الموصى بها من قبل منظمة الصحة العالمية (WHO) في حين كان الزنك والنحاس والرصاص ضمن الحدود الموصى بها وكانت نسبة تراكم المعادن الثقيلة في نباتي الشمبلان والشويجة أعلى من بقية النباتات المائية.

كما أجرت الرفاعي (2021) دراسة مختبرية تهدف الى تطبيق تقنية المعالجة الحيوية لأجل التعرف على كفاءة نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum L.* وبعض العزلات البكتيرية في معالجة وتحسين نوعية المياه العادمة في قضاء الهندية التابع لمحافضة كربلاء وبينت النتائج ان نبات الشمبلان يمتلك كفاءة عالية في إزالة المعادن الثقيلة من المياه العادمة اذ سجل أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم ببلغت 96.64% بينما كفاءته في إزالة معدن النيكل ببلغت 85.65% أما بالنسبة لمعدن الرصاص فببلغت أعلى نسبة إزالة 92.87% بعد مرور 12 يوم من المعالجة النباتية.

بين(Janna(2021 دور نبات عدس الماء *L.minor* في إزالة معدن الكادميوم والرصاص والنيكل من مياه الصرف الصحي في قضاء الشامية في محافظة الديوانية في تجربة إستمرت 14يوما اذ ببلغت نسبة الإزالة (48 و 73 و43 %)لكل من الكادميوم والرصاص والنيكل على التوالي.

1-3-7 الدراسات العالمية:

تمت دراسة نبات الشمبلان من خلال تعريض النبات لتراكيز سامة من الالمنيوم (Al)و الزنك(Zn)والنحاس(Cu) في محلول لمدة 15 يومًا اذ بينت النتائج أن نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* لديه قدرة تحمل أعلى بكثيرعلى مراكمة الألمنيوم 72.8% مقارنة بالزنك 63.7%، بينما قدرة تحمل النبات على مراكمة معدن النحاس كانت منخفضة جدًا اذ بلغ معدل التراكم 21.6% (Umebese&Motajo,2008).

استخدم نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* L. لمعرفة كيفية تأثيره على جودة مياه الصرف الصحي لإعادة تدويرها واستخدامها لأغراض أُخرى في الزراعة والمجالات الصناعية اذ تم تصميم معاملتين بأربع مكررات تضمنت المعاملات مياه الصرف الصحي الخام ومياه الصرف الصحي المعالجة ،أجريت التجربة في الهواء الطلق بمنطقة جامعة خراسجان بدون تهوية لمدة 18 يوم ،كان متوسط كفاءة الإزالة بالنسبة لمياه الصرف الصحي المعالجة من الحديد والزنك والمنغنيز والنيكل والرصاص والكادميوم ٪ 40، 47.5 ٪، ٪ 90.82، ٪ 96.55، 100 ٪ و 100٪ على التوالي بينما كانت كفاءة إزالة الحديد ، الزنك ، المنغنيز ، النيكل ، الرصاص والكادميوم لمياه الصرف الصحي الخام 67.5٪ ، 37.5٪ ، 94.21٪ ، 94.21٪ ، 100٪ و 97.77٪ على التوالي. أشارت النتائج إلى أن نبات الشمبلان يتمتع بقدرات عالية على إزالة المعادن الثقيلة مباشرة من المياه الملوثة ،لذلك يمكن استخدامه في تنقية مياه الصرف الصحي (Foroughi *et al.*,2011).

درس Fawzy *et al.* (2012) تراكم بعض المعادن الكادميومCd والنحاسCu والرصاص Pb والزنك Zn في النبات المائي الشمبلان و بينت النتائج أنّ نبات الشمبلان يمتلك قدرة عالية على تراكم المعادن الثقيلة المدروسة في الماء مما يجعله ذات أهمية لاستخدامه في المعالجة النباتية للمياه الملوثة ونظرًا لعدم وجود مراقبة منهجية لنوعية المياه ، فإن تراكم المعادن الثقيلة في النباتات بدلاً من الرواسب توفر وسيلة فعالة من حيث التكلفة لتقييم تراكم المعادن الثقيلة في النظم المائية خلال عمر أعضاء النبات.

كما يؤدي نبات الشمبلان دورًا مهمًا في الحد أو التقليل من بعض أشكال النيتروجين ، مثل النترات والأمونيا ، من مياه الصرف المنزلية وأثبتت قدرته في عملية الاختزال في التهوية والأحواض غير المهواة (Foroughi *et al.*,2013). قامChen *et al.* (2015) بإجراء تجربة الزراعة المائية للتحقق من التراكم الحيوي للرصاص وخصائص تحمل نبات الشمبلان عند تعريضه لتراكيز مختلفة من الرصاص لمدة 7 و 14و 21 يومًا ، لوحظ زيادة تراكم الرصاص داخل النبات مع زيادة تراكيز المعدن في المحلول لتراكم أقصى 4016.4 ملغم/كغم$^{-1}$ وزن جاف, بالإضافة إلى ذلك لوحظ تفاعل النبات مع الإجهاد الناجم عن تركيز الرصاص أي تغير في محتوى البروتين في النباتات و التغيير في زيادة الكتلة الحيوية و تشير هذه النتائج إلى أن نبات الشمبلان يُظهر قدرة عالية على تراكم معدن الرصاص داخل انسجته ومن المحتمل أن تكون هذه الصفات مفيدة لاستخدام نبات الشمبلان في تطبيقات المعالجة النباتية.

استخدمParnian *et al.* (2016) اثنين من النباتات المائية الكبيرة وهما عدس الماء *Lemna minor* والشمبلان *Ceratophyllum demersum L* لإزالة المعادن الثقيلة من الوسط الصناعي وأظهرت النتائج أن نبات عدس الماء خفض مستوى التلوث بنسبة 91% للكادميوم و 50% للنيكل بينما كانت كفاءة نبات الشمبلان 82.01% للكادميوم و 52.5% للنيكل.

وجد Wickramasinghe & Jayawardana (2018) دور ثلاثة نباتات مائية في إزالة المعادن الثقيلة من مياه الصرف الصناعي لمعمل النسيج في سيريلانكا اذ تم وضع كل من نبات زهرة النيل *Eichhornia* والسلفينيا ونبات خس الماء *Pistia stratiotes* في أحواض بلاستيكية وتم قياس كفاءة إزالة معدني الكادميوم والنيكل في مياه الصرف الصناعي بعد مرور 14يوماً من المعالجة النباتية اذ ببلغت للكادميوم 47.4 % في نبات خس الماء و 36.8 % لنباتي زهرة النيل والسلفينيا أما بالنسبة للنيكل فقد ببلغت نسبة الإزالة 59.3 %لنبات السلفينيا وخس الماء أما نبات زهرة النيل فقد ببلغت نسبة الإزالة 35 % واوصى الباحثان باعتماد هذه النباتات في معالجة المياه الصناعية لمعمل النسيج.

وفي دراسة اجراها Beheary *et al.* (2019) في مصر على استخدام نبات الشمبلان *C.demersum* و نبات عدس الماء *L. minor* في معالجة مياه أحواض تربية الأسماك أظهرت النتائج كفاءة إزالة الملوثات بواسطة النباتات مقارنة باستخدام الفلترة الأصطناعية وكانت فعالية نبات الشمبلان أعلى في إزالة التلوث مقارنة بنبات عدس الماء واثبتوا كفاءة إزالة الملوثات من خلال تحسن الحالة الصحية للأسماك.

بينت دراسة مختبرية اجراها Golabia *et al.* (2019) كفاءة نبات الشمبلان في إزالة معدن الكادميوم من خلال التحكم في الرقم الهيدروجيني من(3-8 pH) في أحواض التجربة لاحظوا زيادة قابلية نبات الشمبلان على امتصاص ايونات الكادميوم بتغيير الرقم الهيدروجيني وتم الحصول على أعلى كفاءة إزالة عند pH=7 وببلغت 99.% .

اشار Polechońska & Klink(2021) الى كفاءة نبات الشمبلان ونبات الضفدع الأوربي *Hydrocharis ranae-morsus* في التراكم الحيوي لعدد من المعادن الثقيلة Zn, Co, Cd Pb, Ni, Mn, Cu, Cr وتمكنوا من اعتمادهما كمؤشر حيوي موثوق به لتلوث المياه بالمعادن الثقيلة.

واوصى Zhao *et al.* (2021) الى امكانية استعمال نبات الشمبلان في المعالجة النباتية لمادة بيسفينول Bisphenol A (BPA)(هي مادة لها استعمال واسع في صناعة البلاستيك الشفاف والصلب المسمى بولي كربونات) في بحيرة Donghu في الصين الملوثة بها اذ كانت نسبة الإزالة 100 %بعد مرور ثلاثة أيام عندما كان تركيز مادة PBA في عينات مياه البحيرة 5 ملغم /لتر.

ووجد Mazumdar & Das(2021) ان نبات سرة الأرض *Centella asiaticasv* ادى الى إزالة مجموعة من المعادن الثقيلة عندما تم استخدام المياه الصناعية في أحواض السمك اذببلغت نسبة إزالة الكادميوم(14-54 %) والنيكل(13-59 %) والرصاص (35-90 %)ووجد بالتحليل المجهري باالأشعة السينية ان أغلب المعادن الثقيلة قد تجمعت في منطقة الجذر.

1-3-8 تقييم مخاطر السمية الجينية البيئية Environmental Genotoxic Risk

في السنوات الأخيرة ، تم الاهتمام بدراسة العوامل السامة للجينات في النظام البيئي . بإستخدام طرق جديدة حساسة وفعالة للكشف المبكر عن مخاطر السمية الجينية البيئية environmental genotoxic risk ، إن الصعوبات الناشئة من استخدام طرق القياس الكيميائية المباشرة للملوثات في الموقع وتفسير هذه القياسات من حيث التوافر البيولوجي قد حفزت وبقوة على استخدام المؤشرات الحيوية والمؤشرات الجزيئية (Labra *et al.*,2003). تعد النباتات مؤشرات بيولوجية جيدة لأنها تؤدي دورًا مهمًا في نقل

السلسلة الغذائية ، فهي سهلة النمو وقابلة للتكيف مع الإجهاد البيئي، يمكن استخدامها لتقييم الظروف البيئية ، بالإضافة إلى ذلك أن النباتات أكثر حساسية لبعض عوامل من الحيوانات ،لذا تم استخدام النباتات كمؤشرات حيوية للسمية الوراثية للملوثات البيئية في العديد من الدراسات، كما تم تحليل النشاط المطفر للمواد الكيميائية باستخدام أنظمة نباتية مختلفة حيث أجريت فحوصات انحراف الكروموسومات ، وفحوصات الطفرات ، والاختبارات الوراثية الخلوية ومقايسات الطفرات الموضعية المحددة على النباتات(Bonciu *et al*.,2018) .

ترتبط ميزة قياس تأثير المواد الكيميائية السامة للجينات مباشرة على الحامض النووي بشكل أساسي بالحساسية ووقت الاستجابة ،كما تعد بعض المعادن الثقيلة بجرعات منخفضة من المغذيات الدقيقة الأساسية بالنسبة للنباتات ، ولكن في الجرعات العالية قد تسبب اضطرابات التمثيل الغذائي وتثبيط النمو لمعظم أنواع النباتات (Al-Qurainy ,2010).

تؤثر المعادن الثقيلة (Pb و Cu و Mn و Cd)بشكل رئيسي على سلامة الحامض النووي في الخلايا النباتية لذا تعد الفحوصات الجزيئية أمرًا مهمًا في تقدير حجم المخاطرلان سمية المعادن الثقيلة في النباتات الناتجة عن الإجهاد التأكسدي المرتبط بأكسدة البروتينات والدهون الغشائية والتغيرات بسبب تلف الحامض النووي و في الآونة الأخيرة ساعد التقدم و التطور الهائلة في البيولوجيا الجزيئية طرقًا جديدة للكشف عن تلف الحامض النووي(Mutlu&Mutlu,2015 ; Jozefczak *et al*.,2012). ومنها التقنيات المعتمدة على تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ومن خلالها يمكن وصف التغيرات والتباين الوراثية التي تمكن ان تحدث في الحامض النووي .تعتمد التأثيرات السامة للجينات على الحالة المؤكسدة للمعدن وتركيزه ومدة تعرضه. بشكل عام ، تكون التأثيرات أكثر وضوحًا في التركيزات الأعلى وفي مدد التعرض الأطول (Mervi & Prajapati,2014).

علاوة على ذلك ، قد تسبب المعادن الثقيلة تباينات جينيًا على المستوى الجزيئي (السمية الجينية)، مثل تلف الحامض النووي في نبات الكطل والشمبلان (Boonmee ;Neeratanaphan *et al*.,2015 *et* al.,2016)

يمكن إعتبار النباتات المائية مناسبة للاستخدام كمؤشرات السمية الجينية للتلوث البيئي، إذ تحفز المعادن الثقيلة التمايز الجيني عن طريق زيادة تعدد أشكال الحامض النووي مما يؤدي إلى تغيرات الحامض النووي في النباتات المائية (Dhakshanamoorthy *et al*.,2011). تشمل سمية المعادن الثقيلة ارتباط المعادن الثقيلة بقوة بالمواقع الوظيفية التي عادة ما تشغلها مجموعات وظيفية أساسية من

الجزيئات المهمة بيولوجيًا مثل الإنزيمات ، وتغيير شكل الجزيئات والبروتينات والأحماض النووية ومن ثمّ تعطيل سلامة الخلايا بأكملها(Cuypers *et al*.,2010).

1-3-9 الكشف عن اضرار السمية الجينية نتيجة تراكم المعادن الثقيلة في النبات بواسطة المؤشرات الجزيئية

1-3-9-1 المؤشرات الجزيئية

هي تتابعات الحامض النووي أو الجين للكشف عن مواقع محدده على الكروموسوم (Schulmann,2007).تساعد في دراسات العلاقة الوراثية و كشف الاختلافات ورسم الخرائط الوراثية والكشف عن الطفرات وتؤدي دورا كبيرا في دراسة التنوع الوراثي والكشف عن التراكيب الوراثية المقاومة والمتحملة للاجهادات الحيوية وغير الحيوية (Molekularno *et al*.,2014) .وبما انها تظهر التغايرات على مستوى الحامض النووي لذا تمتاز بالأستقرارية وعدم التأثر بعوامل البيئة كما أن لها القدرة على الكشف عن مئات المواقع وبعدة اليلات للموقع الواحد ،ويمكن تطبيقها على أي جزء من الجينوم سواء أكان مشفرا أو غير مشفر أو مناطق تنظيم ولها القدرة على تتبع التغايرات الوراثية من جيل الى آخر لانها تتبع قوانين مندل في التوارث والمتمثلة بإنعزال الصفات والتوزيع الحر

(Semagn *et al*., 2006).

كما لها القدره على تميز الأشكال التي لايمكن تميزها عن طريق دراسة المؤشرات المظهرية والبروتينية.ولاتحتاج الى وقت محدد(Meti *et al*.,2013) . وان تقدم التقنيات الجزيئية وفرت مجموعة متنوعة من المؤشرات الجزيئية ومنها تباين اطوال مقاطع التقييد Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) و التفاعل العشوائي متعددة الأشكال لسلسلة الدنا DNA(RAPD) of Random Amplification Polymorphic و تباين أطوال قطع الدنا المتضاعفة (AFLP) Amplified Fragment Length Polymorphisms و التتابعات القصيرة المتكررة (SSR) Simple Sequence Repeatو تباين نيوكليدة مفردة Single Nucleotide Polymorphism(SNP) و وتكرار التسلسل البسيط Inter simple sequence repeat (ISSR) و موقع تسلسل الهدف Sequence-tagged site (STS)(Azizi *et al*.,2021).

ساعدت التقانات الاحيائية على اختصار الوقت والجهد والتكلفة في دراسة التباينات الوراثية وفي التشخيص المبكر للكائنات الحية اذ يمكن من خلالها الكشف عن التغايرات الوراثية على مستوى DNA

مقارنة بالطرق التقليدية ممكن ان تكون مكلفة وتستغرق وقتا طويلا وجهدا كبيرا وتتطلب عينة كبيرة الحجم (بكتاش وعبد الحميد ، 2015). وهنالك نوعين من المؤشرات اعتمادا على نوع التقانة المستخدمة في الكشف :

1- مؤشرات DNA المعتمدةعلى تقانة التهجين الجزيئي (Molecular Hybridization - based DNA Markers)

ظهرت أولى مؤشرات الدنا المعتمدة على التهجين الجزيئي بعد اكتشاف إنزيمات التقييد Restriction enzymes عام 1968 ومنها تباين اطوال مقاطع التقييد أو الـ RFLP التي تعتمد على عملية التهجين الجزيئي الدنا المهضوم المثبت على اغشية خاصة مع مجس مناسب ثم الكشف عن مناطق الارتباط ، وان تقنية RFLP تعتمد على الاختلاف في طرز التقطيع التي تحدث بسبب حذف أو اضافة أو استبدال أو الطفرة نيوكليوتيدة واحدة في موقع القطع مما يؤدي الى تباين اطوال القطع الناتجة . وتمتاز هذه المؤشرات بانها ذات سيادة مشتركة Co-dominant اي لها القدرة على تميز الاليلات المتباينة Heterozygous من الاليلات المتماثلة وكشف الدنا المفرد ايضا(Hartl&Jones ,2005) .

2- مؤشرات الـ DNA المعتمدة على تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR)

تعد التقنية الاقدم من الناحية النظرية والاكثر تنوعا من الناحية العملية وهي تضاعف تتابعات ال DNA انزيميا بملايين المرات خارج جسم الكائن الحي(in vitro) بوجود بادئ يرتبط بتتابع مكمل له على شريط الDNA القالب (Hadidi *et al.*,2017).وهي التقنية الاكثر استخدأما في مختبرات الوراثة الجزيئية وتستخدم الطرق الجزيئية المختلفة وبصمات الحامض النووي المستندة إلى تكرار التسلسل البسيط (ISSR) وطرق الحامض النووي المتعدد الأشكال العشوائي (RAPD) بشكل عام للإشارة إلى العلاقات الجينية بشكل فعال (Li *et al.*,2018).

1-3-9-2 الكشف عن اضرار تراكم المعادن الثقيلة بواسطة مؤشرات التضـــاعف المتعدد الأشكال لسلسلـة DNA Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

مؤشرات RAPDهي احدى التقنيات الجزيئية المعتمدة على تفاعل البلمرة المتسلسلة وصفت هذه المؤشرات من قبل العالم Williams و يعتمد اساسها على استعمال بادئات قصيرة عشوائية Random

(Primers) مصنعة مختبرياً ومؤلفة من 9-12 قاعدة ، وتكون غنية بقواعد الكوانين والسايتوسين GC-rich primer وترتبط هذه البادئات في المواقع المكملة لها بشريط الحامض النووي وبالتالي يتم التضاعف (Williams *et al.*,1990).

تكشف تقنية RAPD عن الاضرار الحامض النووي من خلال ظهور التغايرات الوراثية Genetic polymorphism على شكل اختلاف في عدد الحزم المتضاعفة او اختلاف بأوزانها الجزيئية أي غياب حزم التضاعف Bands بسبب حدوث الطفرات كالحذف Deletion او الادخال Insertion او استبدال قاعدة Base substitution في المواقع المكملة لتسلسل البادئ لدنا(Wahyudi *et al.*,2020).

تمتاز مؤشرات الـ RAPD السيادة التامة Dominant إذ إنّ بادئاتها لاتستطيع التميز بين الاليلات المتباينة Heterozygous والاليلات المتماثلة Homozygous كمالا يتطلب مؤشرات RAPDمعرفة مسبقه بتسلسل الحامض النووي للكائن المستهدف ،كما تمتاز مؤشرات الـ RAPD بقدرتها على كشف مواقع متعددة في الجينوم بسبب ارتباط البادئات باكثر من موقع إذ إنّ هذه المواقع متوزعة بانتظام على طول الجينوم .وتعد مؤشرات الـ RAPD مؤشرات عامة Universal اذ يمكن استعمال البادئ الواحد مع عدد من الكائنات الحية ، تم استخدام اختبار RAPD بنجاح لمراقبة تغيرات الحامض النووي التي تحدثها المعادن الثقيلة مثل الرصاص والكادميوم والنحاس

(*Liu et al.*,2005 ; Enan,2006).

إستخدم (Gupta & Sarin(2009 تقنية RAPD لتقييم إستقرار القالب الجيني genomic template stability (GTS)في نبات الكطل *Hydrilla verticillata* والشمبلان *Ceratophyllum demersum* عند معاملة النباتين بثلاث من المعادن الثقيلة (Cd و Hg و Cu)لإظهار تلف الحامض النووي.

درس Aslam *et al.* (2014) التأثيرات السامة لخمس تراكيز من للكادميوم (20 ، 40 ، 60 ، 80 و 100) ملغم /لتر على نبات الفلفل *Capsicum annuum* L. لمدة 90 يومًا من التعرض من ناحية النمو والصفات الفسيولوجية الخلوية وتغيرات الحامض النووي التي يسببها إجهاد الكادميوم بستخدام 10 بادئات من موشرات RAPD كشفت النتائج التضاعف عن 184 حزمة منها 62 حزمة متعدد الأشكال، يمثل تعدد الأشكال 34%. من مجموع الحزم الكلية ويعزى هذا التغاير وراثي الى اجهاد الكادميوم.

إستعمل الباحثان Salarizadeh & Kavousi (2015) 10 بادئات من مؤشر RAPD للكشف عن التأثير السام للكادميوم على المادة الوراثية لنبات الكمون *Cuminum cyminum* بعد تعرضة 7 أيام لتراكيز مختلفة من الكادميوم أظهرت النتائج إنخفاض قيم إستقرار القالب الجيني genomic template stability (GTS%) عند زيادة تركيز الكادميوم.

أشار (2016) Ozyigit *et al.* في دراسة عن الكشف عن الأضرار الفسيولوجية والسمية الجينية للرصاص عند معاملة نبات الشيلم (*Scale cereale* L.) باربعة تراكيز من الرصاص (0، 100 ، 200 و 400) ميكرغرام / لتر و بعد أسبوعين من التعرض أظهرت الدراسة النتائج إنخفاضا في البارامترات الفسيولوجية مثل: الكلوروفيل أ ، الكلوروفيل ب ، محتوى الكلوروفيل الكلي والكاروتينات بنسبة 6.68% ، 6.08% ، 2.89% و 8.57% على التوالي عند أعلى تركيز من الرصاص (400) ميكروغرام / لتر.أما نتائج التغايرات الوراثية بإستخدام مؤشر RAPD لاحظ تسببت المعاملة 100 و 200 ميكروغرام / لتر بالرصاص في ظهور 3 حزم جديدة ، مع فقدان حزمتين عند تركيز 200 و 400 ميكروغرام / لتر مقارنةً السيطرة .وأن فقدان الحزم واضافة حزم جديدة كانت مرتبطة بشكل إيجابي بتركيز الرصاص المستخدمة.

بشكل عام ، تعد تقنية RAPD من التقنيات الجزيئية الأكثر استخدأما في مجال السمية الجينية للملوثات ومن ثمّ يمكن استخدام مؤشر RAPD كعلامة قوية للكشف عن السمية الجينية للملوثات في النباتات (Hassan *et al.*,2019).

1-3-9-3 الكشف عن اضرار تراكم المعادن الثقيلة بواسطة مؤشرات تكرار التسلسل البسيط Inter simple sequence repeat (ISSR)

هي احدى المؤشرات الجزيئية الحديثة وصفت هذه التقنية من قبل العالم Zietkiewice عام 1994 والتي تتغلب على عيوب RAPD و RFLP و AFLP و SSR وغيرها من المؤشرات الجزيئية في التكلفة والاستقرار وسهولة التعامل والتصميم البادئ ، تستخدم تقنية ISSR على نطاق واسع في الكشف عن التباينات الوراثية للنبات ، وتصنيف النبات، وتحديد موارد الأصول الوراثية وتقييمها ، وبناء الخريطة الجينية ودراسة العلاقة الوراثية (Pervaiz *et al.*,2010; Mei *et al.*,2017) ومجالات البيئة الجزيئية(Zhang *et al.*,2013) .

تمتاز هذه الموشرات بعدم احتياجها لكمية كبيرة من الحامض النووي وتمتاز بدقتها ونجاحها (Wang *et al.*, 2017). كما تمتاز بوفرة وجودها وتوزيعها العالي في جينوم حقيقية النوى(*al.*,2007 Rajendrakumar *et*). تمكن(Al-Qurainy ,2010) من تقيم السمية الجينية لثلاثة معادن ثقيلة Zn و Pb و Cd بأستخدام المؤشرات الجزيئة كان التاثير قوة السامة للجينات في جميع المعادن الثقيلة الثلاثة بالترتيب التنازلي: Cd^{2+} , Pb^{2+}, Zn^{2+} . كما أدى التركيز العالي من الكادميوم (150) ملغم/ لتر$^{-1}$ والرصاص (150) ملغم / لترإلى حدوث طفرات عند استخدامه 20 بادئ من مؤشر ISSR أربعة منها لم يتم تضخيمها وثلاثة أعطت حزمة واحدة بينما ثلاثة عشر بادئة انتج ستة حزم (بمعدل 4 حزم في كل بادئ) كما أعطت ستة عشر بادئا حزماً تضاعف أحادية الشكلmonomorphic ، اثنين فقط من البادئات (OPC-5 و OPC-7) أعطت حزما إضافية فريدة في النباتات المعالجة بتركيزات متوسطة وعالية من المعادن الثقيلة Cd و Pb ، على التوالي. تم إنشاء مخطط dendrogram لتقييم المسافة الجينية المتولدة بين النباتات المعالجة بالعديد من المعادن الثقيلة بتركيزات مختلفة. وبأستخدام مصفوفة التشابه تم العثور على قيم من 42.8 إلى 100% وهذه القيم أظهرت الاختلاف الجيني بين النباتات معالجة بتراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة.

درس Neeratanaphan *et al.* (2014) تقييم السمية الجينية للنباتات المعاملة برصاص من خلال استخدام 10 بادئات من تقنية ISSR انتجت 577 حزمة لاحظ إنخفاض في قيمة GTS كلما زاد تركير الرصاص الذي يدل على التغييرات في بنية الحامض النووي وتلفه هذه التأثيرات تتفق مع خصائصها المورفولوجية بما في ذلك الأوراق التي تفتقر إلى الكلوروفيل (أصفر) ، يبدأ في الاضمحلال وأخيرا يموت نتيجة السمية الجينية للرصاص .

درس Ruchuwararak *et al.* (2020) عن التباين الجيني للحمض النووي المرتبط بتراكم المعادن الثقيلة (As، Cd، Cr،Pb و Mn و Zn) باستخدام 40مؤشر من تقنية ISSR للنباتات المائية *Limnocharis flava* and *Marsilea crenata* و اشارت النتائج ان ثلاث من البوادئ اعطت تغايرات اوالاختلاف الجيني واضحة خاصة مع زيادة تركيز الرصاص .

الفصل الثاني:

المواد وطرائق العمل

2- المواد وطرائق العمل

2-1 المواد الكيميائية

أستخدمت المواد الكيميائية المثبتة في الجدول.

جدول (2-1) المواد الكيميائية المستعملة في هذه الدراسة.

اسم المادة	الشركة المصنعة
Ladder (100- 1500)pb	KAPA/South Africa
Pre Mix master mix	Bioner(Korea)
أكاروز DNA Agarose	BHD(Canada)
أوكتانول Octanol	BHD(England)
آيزوبروبانول Isopropanol	Mast Diagnostic(USA)
بيتا- ميركابتو ايثانول β–mercaptoethanol	Sigma (UK)
حامض البريكلوريك Perchloric acid	Shcarlau
حامض النتريك Nitric acid	BHD(England)
حامض الهيدروكلوريك Hydrochloric acid	Biosolve
دارئ (Tris borate EDTA)TBE Buffer	Promega/ USA
صبغة برموفينول الزرقاء Bromophenol Blue(PBB)	Sigma (UK)
صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide stain	BDH(England)
كت استخلاص الدنا Genomic DNA Mini Kit	Himedia (India)
كحول الايثانول المطلق Absolute Ethanol 99.9%	GCC(UK)
كلوروفورم chloroform	Sigma (UK)
ماء مقطر منزوع الأيونات Deionized Distilled Water	Sigma(USA)
نترات الرصاص $Pb(NO_3)_2$	BHD(England)
نترات الكادميوم $Cd(NO_3)_2\,4H_2O$	BHD(England)
نترات النيكل $Ni(NO_3)_2\,6H_2O$	BHD(England)

2-2الاجهزة والأدوات

جدول (2-2) الاجهزة والأدوات المختبرية المستعملة في هذه الدراسة :

اسم الجهاز	الشركة المصنعة
صفيحة تسخين Hot plate	Witeg (Germany)
ميزان حساسSensitive balance	Sartorious(Germany)
جهاز تقطير Distiller	labTech /Korea
ثلاجة Refrigerator	Argilk(Turkey)
جهاز قياس الاس الهيدروجيني pH meter	HANNA (Romania)

جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Hettich/Germany
جهاز طيف الامتصاص الذري Atomic absorption spectrometer	Shimadzu(Japan)
حمام مائي Water bath	Memmert (USA)
محرار زئبقي Thermometer	
جهاز البلمرة الحراري Thermo cycler(PCR)	BIOBASE (China)
جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis	Joagene Bioscience(Korea)
كاميرا رقمية Digital camera	Canon/ Japan
جهاز الاشعة فوق البنفسجية UV- Transilluminator	Cleaver Scientific (UK)
أطراف الماصة الدقيقة(كل الأحجام) Micropipette tips(all size)	Slamed (Germany)
الماصة الدقيقة (كل الأحجام)(all size) Micropipette	Slamed (Germany)
محرك مغناطيسي Vortex mixer	LAB-LINE (USA)
كابينة التعقيم Hood chamber	Native Industrialization(Iraq)
الفرن الكهربائي	Samsung(Korea)
جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	OPTIMA (Japan)

جدول (2-3)الأدوات المستعملة في هذه الدراسة:

الأداة	الشركة المصنعة
بيكر زجاجي سعة 100 مل	Iwaki glass (japan)
هاون خزفي porcelain mortar	Native Industrialization(Iraq)
انابيب اختبار Test tube	All pro Corporation(China)
دورق مخروطي conical flask سعة 100 مل	Marienfeld/Germany
انبوبة أبندروف حجم 1.5مل Eppendrof tube (1.5)ml	Hettich (Germany)

3-2 جمع عينات النبات واقلمته Collection of plant samples and Adaptation

جمعت عينات نبات الشمبلان ***Ceratophyllum demersum*** في شهر كانون الأول لسنة 2020 باليد من نهر الحسينية وهو فرع من فروع نهر الفرات وفي منطقة الأمام عون (عليه السلام) في مدينة كربلاء المقدسة إذ تم اختيار مكان جمع العينات من منطقة محددة وبصورة عشوائية مع الأخذ بنظر الاعتبار تساوي حجم العينات وتم غسل النبات بماء النهرمرات عدة للتخلص من المواد العالقة به ووضعت العينات التي تم جمعها في أحواض بلاستيكية معدة لهذا الغرض وأضيف اليها ماء النهر للحفاظ

على النبات لحين نقله الى المختبر وتم غسله بماء الحنفية لمدة أسبوعين لإزالة المواد الغريبة العالقة به ولأقلمته.

2-4عينة الدراسة

2-4-1تصنيف نبات الشمبلان *Ceratophylum demersum* L.

صُنف وفق العالم (Takhtadzhi͡an *et al*.,1997)

الاسم العلمي *Ceratophyllum demersum* .L

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Super division: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Class: Liliopsid

Subclass: Liliidae

Order: Liliales

Family: Ceratophyllaceae

Genus: Ceratophyllum

Species: demersum

2-5 تحضير محاليل المعادن الثقيلة القياسية:

حضرت المحاليل القياسية للمعادن الثقيلة باستعمال محلول قياسي stock solution ذي تركيز 1000 ملغم / لترمن إذابة أملاح نترات الرصاص $Pb\ (NO_3)_2$ ونترات النيكل $Ni(No_3)_2.6H2O$ ونترات الكادميوم $Cd\ (NO_3)_2.4H_2O$ واعتماداً على المعادلة الموصوفة في دراسة (عباس وآخرون،2014).

$$\text{الوزن (بالغرام)} = \frac{\text{ملغم/ لتر}}{1000} \times \frac{\text{الوزن الجزيئي للمركب}}{\text{الوزن الذري للمعدن} \times \text{عدد ذراته}} \times \frac{\text{الحجم المطلوب بالملي لتر}}{1000}$$

وحضرت التراكيز المطلوبة(2.5 و 5 و 7.5) ملغم / لترباستعمال قانون التخفيف

$$(C1 \times V1 = C2 \times V2)$$

6-2 تصميم التجربة

2-6-1تجربة المعادن منفردة:

استعملت أحواض التجربة البلاستيكية ذات أبعاد(عرض45 سم × أرتفاع 26 سم) سعة (30لتر) بواقع3 تراكيز(2.5,5,7.5)ملغم/ لترلكل معدن من المعادن الثلاثة (الرصاص Pb والكادميوم Cd والنيكل Ni) ووضع في كل حوض(20) لتر من الماء المقطر مضافا اليه تركيز المعدن أي بواقع 9 أحواض لكل معدن (ثلاثة أحواض لكل تركيز) و(500) غرام من النبات لكل حوض اضافة الى ثلاث أحواض سيطرة تحتوي على نبات نامى في مياه لا تحتوي على تركيز اي معدن وضُبِّط الاس الهيدروجيني بين 6.8- 7 باستعمال حامض HCl ذي عيارية 0.01 وهيدروكسيد الصوديوم ذي عيارية 0.01 وتم ترتيب الأحواض بصورة افقية وكذلك تم توفير مصدر اضاءة ومصدر هوائي لكل حوض من الأحواض بوضع مضخة كهربائية لضخ الهواء فيها لتوفير الظروف المثلى لنمو النبات. إستمرت التجربة 20 يوماً في ظروف المختبر بدرجة حرارة هواء بين 18 -20 م°، ، تم اخذ عينات ماء ونبات وبواقع ثلاث عينات لكل تركيز لقياس تركيز المعدن الثقيل فضلاً عن عينات ماء و نبات من أحواض السيطرة لغرض المقارنة (مهدي،2018).

2-6-2تجربة خلط المعدنين:

جمعت النباتات وأُقلمت مختبريا حسب الطريقة أعلاه ووضع في كل حوض تركيز معدنين بدلا من معدن واحد (Pb+Cd و Pb+Ni و Cd+Ni) وبواقع ثلاثة تراكيز (2.5, 5 , 7.5) ملغم / لتروخلطا معاً لمعرفة تأثير التداخل والتنافس وأجريت التجربة لمدة 20 يوماً أيضاً وبواقع 9 أحواض لكل معدن فضلاً عن حوض السيطرة الذي يحتوي على نبات في محلول مائي غير محتوٍ على تركيز المعدن وطُبقت الخطوات والقياسات نفسها (مهدي،2018).

2-6-3تجربة خلط المعادن الثلاثة:

جمعت النباتات وأُقلمت مختبريا حسب الطريقة أعلاه ووضع في كل حوض تركيز ثلاثة معادن (Pb+Cd +Ni) وبواقع ثلاثة تراكيز (2.5, 5 , 7.5) ملغم / لتروخلطا معاً لمعرفة تأثير التداخل والتنافس وأجريت التجربة لمدة 20 يوما أيضاً وبواقع 9 أحواض لكل معدن فضلاً عن حوض السيطرة الذي يحتوي على نبات في محلول مائي غير محتوٍ على تركيز المعدن وطُبقت الخطوات والقياسات نفسها.

2-7 الفحوصات الفيزيائية والكيميائية Physical and chemical analysis:

2-7-1 درجة الحرارة Temperature:

تم قياس درجة حرارة الماء باستخدام المحرار الزئبقي (0-100) درجة مئوية.

2-7-2 الاس الهيدروجيني: تم قياس الاس الهيدروجيني للمياه باستعمال جهاز Multi-meter نوع HANNA/211 بعد معايرته بالمحاليل القياسية(pH=4.2,7.2,10.2)(APHA,2003).

2-8 هضم عينات المياه لاستخلاص المعادن الثقيلة :

اتبعت طريقة (APHA (2005 في قياس المعادن الثقيلة بالمياه إذ تم اخذ 50مل من ماء النموذج وهضمت بإضافة 5 مل من حامض النتريك المركز HNO_3 وسُخنت العينات على الصفيحة الساخنة Hot plate بدرجة حرارة(80 م) ثم أضيف إليه 1مل أُخرى من حامض النتريك المركز وترك المحلول لحين اكتمال الاذابة على الصفيحة الساخنة ثم اكمل الحجم الى 50 مل بالماء المقطر الخالي من الأيونات وحفظ في قناني البولي اثيلين لحين قياس تراكيز أيونات المعادن الثقيلة (الكادميوم والرصاص والنيكل) باستخدام جهاز مطياف الامتصاص الذري اللهبي Atomic absorption spectrometer وعُبر عن الناتج بوحدة ملغم/ لتر وحسبت نسبة الإزالة للمعادن الثقيلة التالية :

$R\% = (C_0-C_1)/C_0)*100$

حيث ان:

R= النسبة المئوية للإزالة %

C_0= تركيز أيونات المعادن الثقيلة في المحلول الابتدائي ملغم/ لتر.

C_1= تركيز أيونات المعادن الثقيلة في المحلول النهائي ملغم/ لتر.

2-9 قياس تراكيز المعادن الثقيلة في عينات النباتات المائية :

غسلت العينات النباتية بماء الحنفية ثم بماء مقطر دافئ بدرجة حرارة (38)م° لإزالة اللافقاريات الصغيرة العالقة بها(Lytle & Smith,1995) بعد ذلك غسلت الأجزاء النباتية بماء مقطر خالي من

الأيونـات وجففت بدرجـة حـرارة (70) م° ، ثـم طحنـت ومـررت خـلال منخـل سـعة ثقوبـه (40)mesh هضمت العينات النباتية الجافة والمطحونـة بوسـاطة الخليط الحامضـي ($HClO_4$: HNO_3) ((النتريك : البريكلوريك)وذلك بإضافة 2.5 مل من حـامض النتريك الـى 0.5 غم من العينـة النباتيـة لمدة 24 سـاعة وبعد ذلك وضعت على درجة حرارة 80 م° لمدة ساعة على صفيحة حرارية بعدها يبرد هوائيا لمدة من الزمن ثم نضيف 2.5 مل من حامض البيروكلوريك ($HCIO_4$)علـى درجـة حـرارة 180 م° لمدة من 2 الى 3 ساعة على صفيحة ساخنة حتى تتحول اللون من البني الغامق الـى رائق عديم اللون، ثـم رشحت العينات بورق ترشيح Whatman No.42 ثم يكمل الحجم الـى 10 مل (Jones,2001). بعد ذلك تم قياس تراكيز المعادن الثقيلة (الكـادميوم والرصـاص والنيكـل) بجهـاز طيـف الإمتصـاص الـذري والـذي تـم معايرتـه بالمحاليل القياسية التالّيـة Pb(NO3)2 و $Cd(NO_3)_2$ $4H_2O$ و $Ni(NO_3)_2$ $6H_2O$ وعبر عن الناتج بـوحدة ملغم/ غم. وحسبت نسبة الإزالة للمعادن الثقيلة كما في المعادلة أعلاه.

2-10 حساب معامل التركيز الحيوي Bio Concentration factor(BCF)

قدر معامل التركيز الحيوي باستعمال المعادلة الموصوفة في Abdallah(2012)

$$\text{معامل التركيز الحيوي} = \frac{\text{تركيز المعدن داخل النسيج النباتي}}{\text{التركيز الأولي للمعدن في المحلول}}$$

2-11 الدراسة الجزيئية

2-11-1 عزل الـ DNA من النماذج النباتية DNA Isolation from Plant Samples

تم عزل الـ DNA من أوراق نباتات الشمبلان المعتمدة في الدراسة باستعمال عدة استخلاص جاهزة (Kit) مجهزة من شركة Himedia(India) للحصول على DNA نقي من الأنسجة النباتية وكما موضحة في الخطوات التالية:

1- اخذ 300- 400 ملغم من النسيج النباتي في أنبوبة معقمة وأضيف اليها 9مل من محلول CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide) Extraction Buffer الدافئ الذي يستخدم لتحطيم جدار الخلية يحضر آنيا من اضافة 90 مايكروليتر من محلول 2-mercaptoethanol و90غم من باودر CTAB و9 مل من محلول CTAB Extraction Buffer للعينة الواحدة ويسخن الخليط في الحمام المائي بدرجة حرارة 65 درجة مئوية ومزج الخليط بواسطة الهزاز.
2- حضنت العينات مدة (60- 90) دقيقة في حمام مائي بدرجة 65 مئوية وخلال هذه المدة تقلب الأنبوبة كل 5 دقائق.
3- تركت العينات لتبرد بدرجة حرارة الغرفة (25) درجة مئوية لمدة 5 دقائق.

4- اضيف الى العينات 5مل من محلول كلوروفورم: أوكتانول (1:24)(يحضر بإضافة 0.2 مل من الاوكتانول و 4.8 مل من الكلوروفورم للعينة الواحدة) ومزج الخليط عن طريق التقليب المستمر لمدة 5 دقائق.

5- نبذت العينات بجهاز الطرد المركزي Centrifuge (3000 دورة/ دقيقة) لمدة دقيقتين عند درجة حرارة الغرفة.

6- نقلت الطبقة المائية للعينات(الراشح) الى أنبوبة جديدة وأضيف اليها 25 مايكروليتر من RNase A(20mg/ml) وخلطت العينات بعناية وحضنت مدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.

7- أضيف الى العينات 6 مل من محلول الآيزوبروبانول isopropanol وخلطت العينات بعناية حيث يظهر راسب أبيض بعد مرور دقيقة واحدة من اضافة الايزوبروبانول وهذا الراسب هو الDNA .

8- نبذت العينات بجهاز الطرد المركزي Centrifuge (3000 دورة/ دقيقة) لمدة 5 دقائق لكي يترسب الDNA حيث يهمل الراشح ويؤخذ الراسب.

9- تم اعادة تعليق الراسب بإضافة 8مل من محلول CTAB Wash Buffer البارد وحضنت العينات بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة ثم نبذت العينات بجهاز الطرد المركزي Centrifuge (3000 دورة/ دقيقة) لمدة 5 دقائق وتم اخذ الراسب واهمل الراشح.

10- أضيف 8 مل من كحول الايثانول 70% المبرد الى الأنابيب الحاوية على الDNA ثم نبذت العينات بجهاز الطرد المركزي Centrifuge (3000 دورة/ دقيقة) لمدة 5 دقائق وتم اخذ الراسب واهمل الراشح.

11- تم تجفيف الراسب عن طريق تركه بالهواء الطلق لمدة 10 دقائق لإزالة بقايا الايثانول.

12- نقلت عينات الDNA الى أنابيب جديدة واضيف الى كل عينة 1 مل من محلول Elution Buffer لغرض اذابة الDNA .

2-11-2 قياس تركيز ونقاوة الDNA

كشف عن الحامض النووي DNA المستخلص من العينات باستخدام جهاز خاص وهو الـ (spectrophotometer) (شركة Thermo الأمريكية) وذلك من خلال قياس نقاوة الحامض النووي (DNA) من خلال قراءة الامتصاصية بدرجة (٢٦٠ / ٢٨٠) نانومتر .

و تحديد تركيز الحامض النووي (DNA ug / ml) . وتم القياس على النحو التالي :

1- بعد تشغيل جهاز (spectrophotometer) تم تصفير ركيزة المقياس وذلك بوضع ١٠٠٠ مايكرولتر من محلول (Elution Buffer) بإستخدام ميكروبايبيت معقمة على سطح ركيزة المقياس وإجراء التصفير وبعدها تنظف الركيزة لقياس العينات .

2- تُحدد نقاوة عينات (DNA) المستخلص بقراءة الإمتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طولين موجيين (٢٦٠ و ٢٨٠) نانومتر إذ أن الحامض النووي المستخلص يعد نقي عندما تكون نسبة الإمتصاصية (1.8 -1.9) (Viljoen *et al*. , 2006) .

3-11-2 البادئات المستخدمة في هذه الدراسة:

جهزت البادئات المعتمدة في هذه الدراسة من قبل شركة Bioner(Korea) في شكل مجفد Lyophilized وكان عددها 10 بادئات، وتم تحضيرها باستعمال ماء مقطر منزوع الأيونات للحصول على التركيز النهائي (المحلول الأصلي)100 بيكومول/ مايكروليتر، ومن هذا المحلول تم تحضير البادئ الذي يستعمل في تفاعل البلمرة بتركيز 10 بيكومول/ مايكروليتر.

جدول (2-4) اسم البادئ وتسلسل النيوكليوتيدات (RAPD+ ISSR Primer)

N0	Primer RAPD	Nucleotide sequence(5'-------3')	Reference
1	Op-A05	5'-AGGGGTCTTG-3	Soliman *et al*.,2019
2	OP-A15	*5'-TTC CGA ACC* C-3'	
3	Op-C01	5'- CCGCATCTAC-3'	
4	Op-D03	5'- GTCGCCGTCA-3'	
5	Op-E15	5'-GACGGATCAG-3'	Gupta, M. & Sarin, N.B. (2009).
N0	ISSR	(Nucleotide sequence 5'-------3')	Reference
1	14A	5'- *CTCTCTCTCTCTCTCTTG*-3'	Soliman *et al*.,2019
2	B44	5'- CTCTCTCTCTCTCTCTGC-3'	
3	HB10	5'- *GAGAGAGAGAGACC*-3'	
4	HB12	5'- *CACCACCACGC*-3'	
5	HB14	5'- CTCCTCCTCGC-3'	

4-11-2 خليط التفاعل: Reaction Mixture (Master Mix)

جهز Master mix من قبل شركة Bioner الكورية في أنابيب خاصة معقمة وتحتوي كل أنبوبة على المكونات التالية وبالتراكيز المبينة إزاء كل مادة(جدول 2-5)

جدول(2-5) مكونات (Master mix)

Component المكونات	Reaction size حجم التفاعل (20µl reaction)
DNA polymerase	1Unit
Each: dNTP (dATP,dCTP,dGTP,dTTP)	250µM
Tris-HCl(PH 9.0)	10mM
KCl	30 mM
MgCl2	1.5 mM
Stabilizer and tracking dye	5 µM

2-11-5 الدليل الحجمي للDNA Molecular Size of Markers DNA:

جهز الدليل الحجمي المستعمل في هذه الدراسة من قبل شـركة Bioner (Korea) بـتركيـز150 $\mu\ell$ / ng، .وبحجم 250 مايكروليتر ومدى يتراوح منPb 100 - 1500.

2-11-6 تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

إذ تم تطبيق المؤشر الجزيئي المعتمد في هذه الدراسة RAPD من خلال تقنية PCR وفق الخطوات التالية:

(أجري العمل بارتداء القفازات وفي حجرة التعقيم Hood مع حفظ المحاليل كافة على الثلج)

1- أضيفت 5 مايكروليتر من قالب DNA،3 مايكروليتر من كل بادئ،17 مايكروليتر ماء مقطر منزوع الأيونات إلى أنبوبة التفاعل الرئيسي Master Reaction التي تحتوي على 5 مايكروليتر Master Mixالجاهزة ليصل حجم المحلول 30 مايكروليتر.

2- ثم وضعت في جهاز المبلمر الحراري Thermocycler على برنامج خاص بالبادئات وكما يلي:

جدول(2-6) البرنامج المستخدم لبادئات RAPD(Soliman *et al*.,2019)

الوقت	درجة الحرارة	الخطوة	البادئ
5min	95 C˚	Initial Denaturation	جميـــــع بادئـــــات ال RAPD اعتمـدت هذا البرنامج
No. of Cycles=35 Cycles			
30Sec	95 C˚	Denaturation	
30Sec	37 C˚	Annealing	
1min	72 C˚	Extension	
5min	72 C˚	Final Extension	

جدول (2-7) البرنامج المستخدم لبادئات الISSR (Soliman *et al*.,2019)

الوقت	درجة الحرارة	الخطوة	البادئ
5min	95 C˚	Initial Denaturation	جميع بادئات ال ISSR اعتمدت هذا البرنامج
No. of Cycles=35 Cycles			
30Sec	95 C˚	Denaturation	
30Sec	55 C˚	Annealing	
1min	72 C˚	Extension	
5min	72 C˚	Final Extension	

بعد انتهاء وقت التفاعل رفعت الأنابيب من PCRوتم سحب 10 مايكروليتر من الأنابيب وتحميلها بحفر هلام الأكاروز المحضر مسبقاً بتركيز 1.5 %مع تحميل(5 مايكروليتر) من الدليل الحجمي DNA Ladder على أحد الجوانب. ثم رحلت العينات وذلك بتشغيل جهاز الترحيل الكهربائي gel Electrophoresis لمدة 45 دقيقة . بعدها تعريض الهلام للأشعة فوق البنفسجية على جهاز UV-Transilluminator للتصوير.

2-11-7 الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروزAgarose Gel Electrophoresis

أجري الترحيل الكهربائي وفقا ل Sambrook & Russel (2001) كما يلي:

1- حضر هلام الأكاروز بتركيز 1.5 ٪عن طريق إذابة 1.5غم من الأكاروز في 10مل من دارئ TBE (10x) و ثم يكمل إلى 100 مل من الماء المقطر.
2- سخن الخليط في الفرن الكهربائي بدرجة (80م) حتى يذاب كل مسحوق الأكاروز، ونخرج المحلول من الميكروويف قبل وصوله إلى مرحلة الغليان.
3- ترك الهلام ليبرد إلى 65 درجة مئوية.
4- أضيف 3 مايكروليتر من محلول بروميد الأثيديوم(10) ملغم/ مل بعد أن يبرد الخليط يخلط بلطف.
5- تم إعداد لوح التحميل باستخدام لوح زجاجي إذ تحاط حافات اللوح بشريط لاصق قوي ويثبت عليه المشط الخاص لتكوين الحفر عند احد أطراف الهلام.
6- سكب الهلام ببطء في حوض الهلام، وتجنب تكون أي فقاعات في الهلام لذا يجب إزالتها وتركه لمدة تصل من 20 إلى 30 دقيقة.

7- رفع المشط والشريط اللاصق بهدوء من الأكاروز المتصلب وثبتت الصفيحة على مسندها في وحدة الترحيل الكهربائي الأفقية المتمثلة بالحوض المستعمل للترحيل الكهربائي وملء الحوض بدارئ TBE بحيث يغطي سطح الهلام.

8- تم إضافة 5 مايكروليتر من الدليل الحجمي Ladder DNA في أول حفرة. و استعمل هذا لمعرفة حجم قطع DNA المفصولة.

9- وضع 8 مايكروليتر من عينة DNA على غطاء شمعي مطاط Parafilm ،ويخلط مع 2 مايكروليتر من صبغة التحميل (برومفينول الزرقاء) ويخلط جيدا باستخدام ماصة دقيقة.

10-بعد ذلك إغلاق جهاز الترحيل الكهربائي ومرر التيار الكهربائي بمقدار 70 فولت من 45 دقيقة الى ساعة .

11-فحص الهلام باستعمال مصدر للأشعة فوق البنفسجية UV transilluminator عند طول موجي (240 ،366 نانوميتر) صور بعدها الهلام.

12-2 التحليل لإحصائي

تم التحليل الإحصائي باستخدام برنامجStatistical Package for Social Science (SPSS)النسخة 26 تحت مستوى احتمال $P \leq 0.05$، لمعرفة الاحصاء الوصفي وتحليل التباين بإتجاهين ANOVA لمعرفة الفروق المعنوية بين تراكيز المعادن الثقيلة في النبات والماء مقارنة بمعاملة السيطرة .

أما نتائج الجانب الجزيئي فقد تم استخدام برنامج uvband لمعرفة حجم الحزم المتضاعفة لل RAPD و ISSR وأوزانها الجزيئية وبعدها تم تحويل بيانات التوصيف Characterization data يدويا إلى جداول تبين وجود الحزمة عن عدمها لكل عينة من العينات المدروسة وذلك بوضع 1 عند وجود الحزمة و0 عند غيابها. ثم استخرج مؤشر التشابه الجيني اعتمادا (Nei&Li,1979) ، أجري التحميل العنقودي Cluster analysis لرسم مخططDendrograme ما بين المدخلات باستخدام طريقة Unweighted Per Group Method Arithmetic (UPGMA) وفق البرنامج الاحصائي Power Marker V3.25 (Liu & Muse,2005). كما تم حساب تعدد الأشكال Polymorphism وكفاءة البادئ primer efficiencyوالقيمة التمييزية discriminatory value لكل بادئ (Gaston (Hunter & ,1988 ، (Graham&McNicol ,1995) بالإضافة إلى ذلك تم تحديد عدد الحزم المتضخمة ذات النمط الفريد .

الفصل الثالث

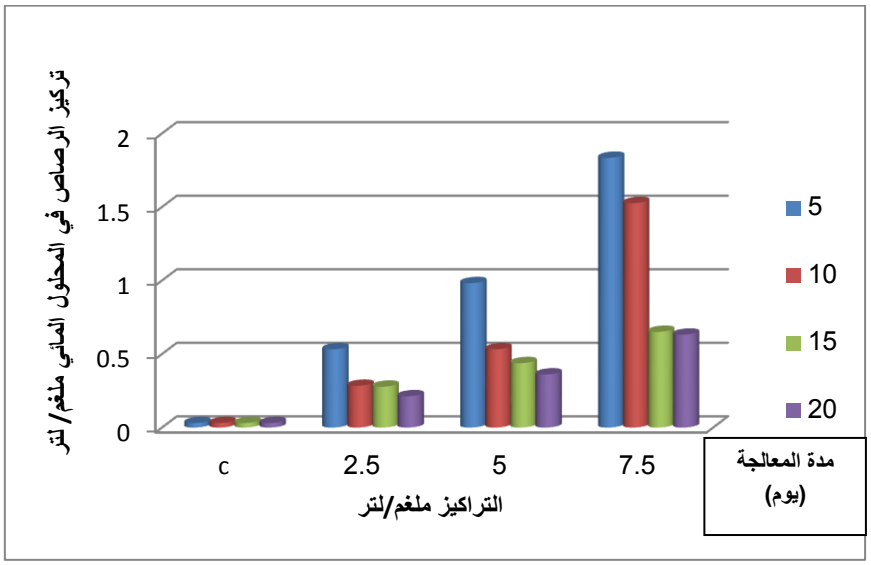
النتائج والمناقشة

3 - النتائج والمناقشة Results and Discussion

3-1 تركيز المعادن الثقيلة في المحلول المائي

3-1-1 تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والنسبة المئوية للإزالة

يبين الشكل(3-1) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والجدول (3-1) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة نبات الشمبلان . أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم/لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (0.2500±0.5325) ملغم/ لتروبكفاءة إزالة ببلغت (78.7%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز الرصاص ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.0800± 0.2130) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (91.48%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لترفقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ بعد مرور 5 أيام من المعالجة (0.3100±0.9822) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (80.35%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.1800±0.3609) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (92.78%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لترفقد إنخفض تركيز المعدن في المحلول المائي ليبلغ (0.4500±1.8343) ملغم / لتربعد مرور 5 أيام من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (75.54%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.2400±0.6320)% وبكفاءة إزالة ببلغت (91.57%) , وبينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية($p< 0.05$) بين المدة 20 يوما والمدة 5 ايام وعدم وجود فروق معنوية بين المدة 20 يوما و المدد 10 و15 يوما للتركيز (5) ملغم / لتر(ملحق 1) والذي سجل فيه النبات أعلى نسبة إزالة للمعدن عند الفترة الزمنية 20 يوم.



شكل (3-1) معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة

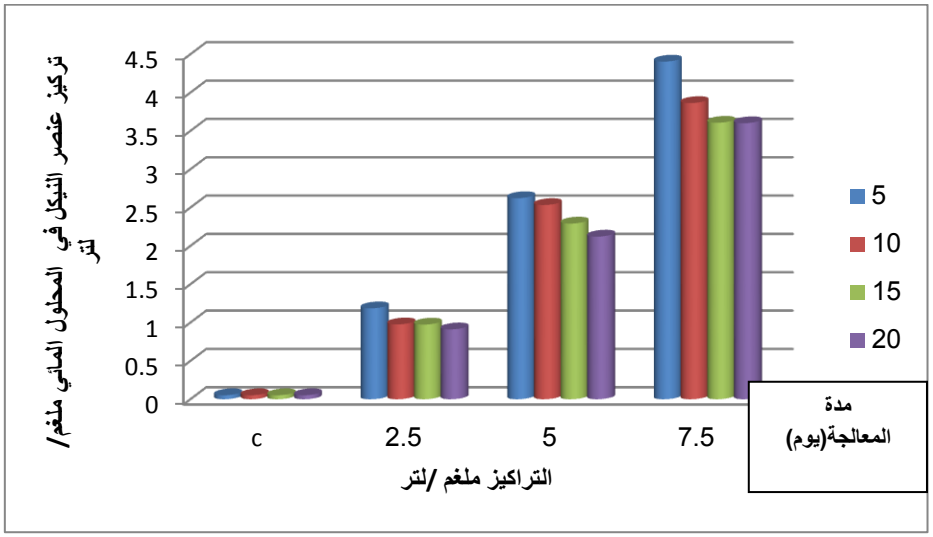
جدول (3-1) النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة

C7.5	C5	C2.5	C0	التراكيز ملغم /لتر / الفترات(يوم)	المعدن
%75.54	%80.35	%78.7	%0	5	pb
%79.64	%89.35	%88.64	%0	10	
%91.32	%91.24	%88.87	%0	15	
%91.57	%92.78	%91.48	%0	20	

بينت النتائج كفاءة نبات الشمبلان العالية في إزالة معدن الرصاص من المياه اذ إستمر إنخفاض تركيزه في المحلول المائي وارتفاع النسبة المئوية للإزالة عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للنبات اذ أظهرت النتائج ان أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص ببلغت 92.78% عند التركيز(5) ملغم / لترخلال (20) يوما من المعالجة النباتية وقد يعزى ذلك الى قابلية وتحمل نبات الشمبلان على مراكمة معدن الرصاص في انسجته عند تعرضه لتراكيز مختلفة وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة (Al-Rubaie & Al-Kubaisi , 2015). كذلك توافقت النتيجة مع دراسة (Ahmed *et al.*, 2018; Abdallah , 2012)

3-1-2 تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والنسبة المئوية للإزالة

يبين الشكل(3-2) معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والجدول (3-2) الذي يمثل النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل باستخدام نبات الشمبلان اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه في المحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.1858±0.4000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت(52.56%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.9116±0.2200) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (63.53%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لترفقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (2.6231±0.1200) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (47.53%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (2.1219±0.3000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (57.56%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لترفقد إنخفض تركيز معدن النيكل بالمحلول المائي ليبلغ (4.4043±2.1000) ملغم / لتربعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (41.27%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (3.6010±0.12000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (51.98%) , ومن خلال نتائج التحليل الاحصائي تبين عدم وجود اي فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما للتركيز(2.5) ملغم/ لتر (ملحق 2) وباقي المدد للتركيز نفسه بالرغم من تسجيله أعلى نسبة إزالة للمعدن بواسطة النبات.



شكل (3-2) معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة

جدول (3-2) النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة

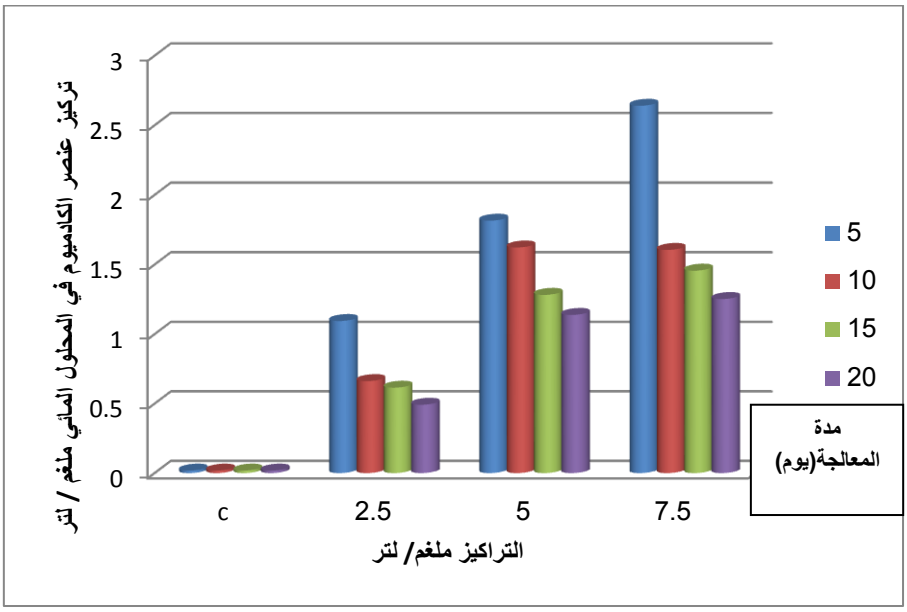
المعدن	التراكيز /ملغم لتر / الفترات(يوم)	C0	C2.5	C5	C7.5
Ni	5	%0	%52.56	%47.53	%41.27
	10	%0	%60.94	%49.33	%48.48
	15	%0	%61.04	%54.16	%51.90
	20	%0	%63.53	%57.56	%51.98

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في إزالة معدن النيكل من المياه اذ إستمر إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي وارتفاع النسبة المئوية للإزالة عند زيادة المدة الزمنية للتعرض لنبات الشمبلان كما أظهرت النتائج ان أعلى نسبة إزالة لمعدن النيكل ببلغت 63.53% عند التركيز(2.5) ملغم / لترخلال (20) يوما من المعالجة النباتية اذ تحتاج النباتات المائية الى معدن النيكل بوصفه من المغذيات للقيام بالعمليات الفسلجية اذ يعد النيكل عاملاً مساعداً لبعض الإنزيمات مثل اليوريز Ureasseو كذلك يتداخل في أيض الحامض الأميني Methionine وان النقص في هذا المعدن يؤدي إلى إختزال في النمو و مشاكل تكاثرية (Naz *et al* .,2021). ولهذا السبب فان نبات الشمبلان يمتلك القابلية العالية لسحب النيكل من البيئة على ان لا تزيد عن الحد المقبول لان زيادة تركيزه يؤدي الى سمية النبات وموته وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (Ulsido , 2014) . كما توافقت النتيجة مع دراسة(مكطوف وآخرون , 2018).

3-1-3 تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والنسبة المئوية للإزالة

يوضح الشكل(3-3) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والجدول (3-3) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة نبات الشمبلان اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه في المحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.0944±0.3000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت(56.22%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.4919±0.1500) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (80.32%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لترفقد

لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (1.8148±0.7000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (63.70%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (1.1378±0.8300) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (77.24%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لترفقد إنخفض تركيز المعدن بالمحلول المائي ليبلغ (2.6399±0.6500) ملغم / لتربعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (64.80%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (1.2521±0.2100) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (83.30%) , سجلت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوماً والمدة 5 ايام للتركيز (7.5) ملغم / لتر(ملحق 3) وعدم وجود فروق معنوية بين المدة 20 يوم وباقي المدد لنفس التركيز الذي سجل فيه أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم بواسطة نبات الشمبلان.



شكل (3-3) معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة

جدول (3-3) النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة

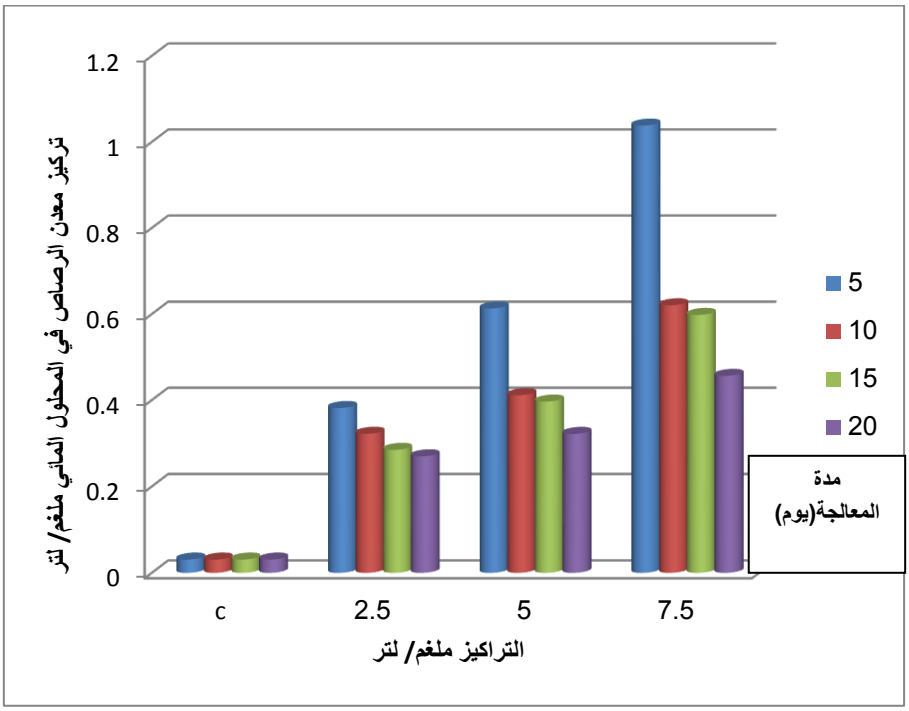
المعدن	التراكيز ملغم /لتر / الفترات(يوم)	C0	C2.5	C5	C7.5
Cd	5	%0	%56.22	%63.70	%64.80
	10	%0	%73.52	%67.55	%78.60
	15	%0	%75.40	%74.35	%80.58
	20	%0	%80.32	%77.24	%83.30

وقد تبين من النتائج ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في إزالة معدن الكادميوم من المياه اذ إستمر إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي وارتفاع النسبة المئوية للإزالة عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للنبات كما أظهرت النتائج ان أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم ببلغت 83.30% عند التركيز(7.5) ملغم / لترخلال (20) يوما من المعالجة النباتية كما لوحظ ذبول واصفرار النبات عند تعرضه للتراكيز عالية اي أن هنالك علاقة عكسية بين ارتفاع نسبة الإزالة الحيوية للمعدن من النبات وإنخفاض نموه الظاهري اذ يقلل الكادميوم من إنبات البذور مبكرًا ونمو الشتلات والكتلة الحيوية النباتية كما يسبب تغيرات في التمثيل الضوئي ومحتوى الماء النسبي ومعدل النتح والتوصيل الثغري و ينشط الكادميوم أنواع الأكسجين التفاعلية(ROS) التي تسبب الانحرافات الصبغية والطفرات الجينية وتلف الحامض النووي الذي يؤثر على دورة الخلية وانقسام الخلية(El Rasafi *et al*.,2021).

3-1-4 تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل والنسبة المئوية للإزالة

يوضح الشكل(3-4) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والجدول (3-4)الذي يمثل النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل إذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (0.1000±0.3818) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (84.72%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.0300±0.2699) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (89.20%) , أما بالنسبة

للتركيز (5) ملغم / لترفقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز معدن الرصاص ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور(5 أيام) من المعالجة (0.6130±0.0500) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (87.74%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.3218±0.2000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (93.56%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لترفقد إنخفض تركيز المعدن بالمحلول المائي ليبلغ (1.0380±0.3000) ملغم / لتربعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (86.16%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.4564±0.0400) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (93.91%) , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما والمدة 5 ايام للتركيز (7.5) ملغم / لتر(ملحق 4) وعدم وجود فروق معنوية بين المدة20 يوما وباقي المدد للتركيز نفسه والذي سجل فيه النبات أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص.



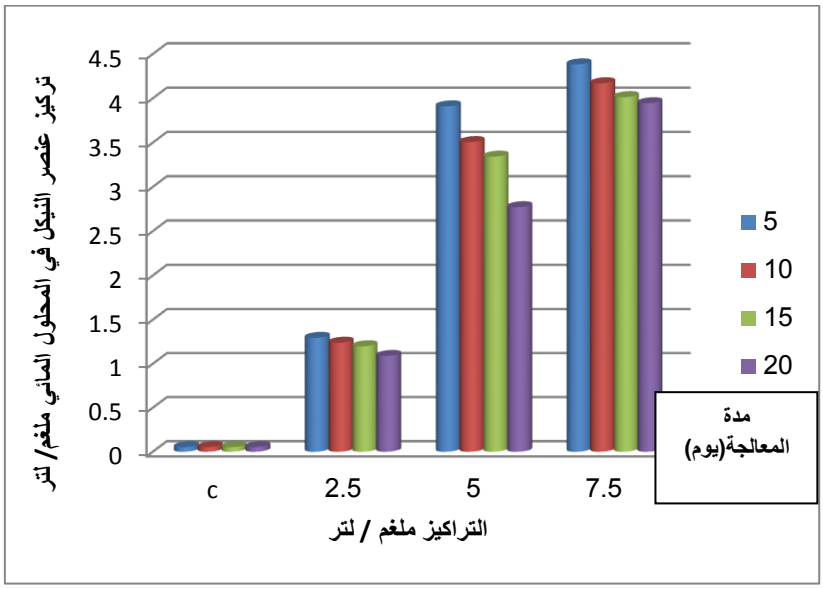
شكل (3-4) معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

جدول (3-4) النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

المعدن	التراكيز ملغم /لتر / الفترات(يوم)	C0	C2.5	C5	C7.5
Pb+Ni(pb)	5	%0	%84.72	%87.74	%86.16
	10	%0	%87.11	%91.76	%91.72
	15	%0	%88.60	%92.06	%92.02
	20	%0	%89.20	%93.56	%93.91

3-1-5 تركيز معدن النيكل في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل والنسبة المئوية للإزالة

يبين الشكل(3-5) معدل تركيز معدن النيكل المتبقي بالمحلول المائي والجدول (3-5) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.2948±0.0900) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (48.20%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن النيكل ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (1.0891±0.2000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (56.43%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لترفقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (3.9091±1.0000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (21.81%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (2.7706±0.5000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (44.58%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لترفقد إنخفض تركيز المعدن بالمحلول المائي ليبلغ (4.3827±2.0000) ملغم / لتربعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (41.55%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (3.9447±0.6600) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (47.40%) , بينت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوما وباقي المدد للتركيز (2.5) ملغم / لتر(ملحق 5) والذي سجل فيه أعلى نسبة إزالة للمعدن بواسطة النبات.



شكل (3-5) معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

جدول (3-5) النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

C7.5	C5	C2.5	C0	التراكيز ملغم/لتر / الفترات(يوم)	المعدن
%41.55	%21.81	%48.20	%0	5	Pb+Ni(Ni)
%44.40	%29.88	%50.40	%0	10	
%46.48	%33.17	%52.04	%0	15	
%47.40	%44.58	%56.43	%0	20	

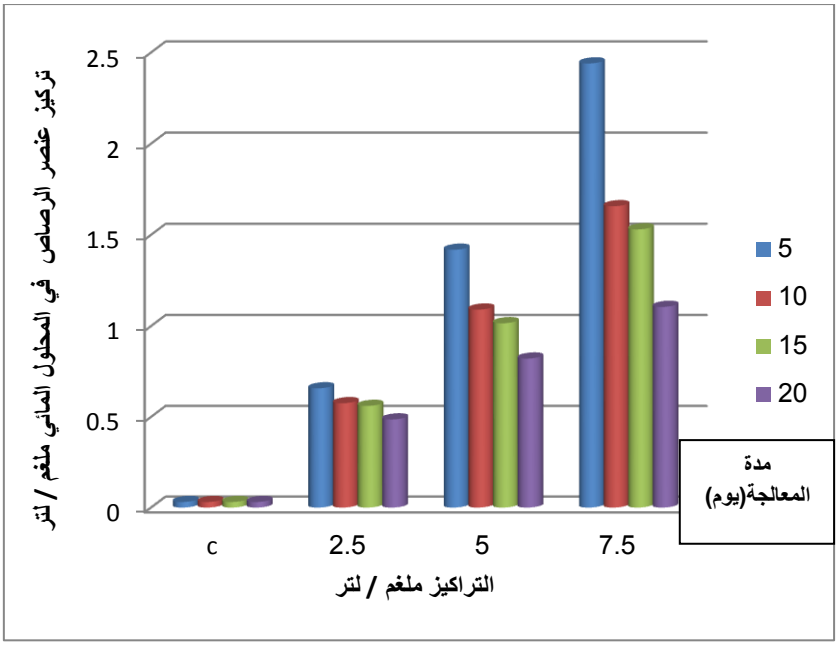
يلاحظ من خلال نتائج الدراسة الحالية كفاءة نبات الشمبلان في إزالة معدني الرصاص والنيكل من المياه اذ سجل كفاءة عالية في إزالة معدن الرصاص مقارنة بمعدن النيكل اذ ببلغت أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص 93.91% عند التركيز 7.5 ملغم/ لتر أما أعلى نسبة إزالة لمعدن النيكل فقد ببلغت 56.43% عند التركيز 2.5 ملغم / لتربعد مرور (20) يوما من المعالجة النباتية وقد تعزى الإزالة الحيوية للرصاص بواسطة نبات الشمبلان الـى وجـود أيونات سالبة الشحنة على جدار الخلية لنبات الشمبلان التي تقوم بسحب (uptake) أيونات معدن الرصاص الموجبة من مياه الأحواض إذ إنّ جدار

الخلية النباتية يحمل شحنات سالبة (anion) تعود الى مجاميع الكاربوكسيل لحامض البكتيك وبذلك تقوم هذه الشحنات السالبة بجذب الشحنات الموجبة اليها وتمنعها من الخروج ثانية الى وسط النمو الخارجي سواء نما هذا النبات في وسط التربة أم في محاليل المزارع المغذية وان الشحنة السالبة على جدار الخلية تعود الى فرضية الفرق في الجهد الكهربائي إذ إنّ تركيز ايونات الهيدروجين H^+ في المحلول يكون أقل من تركيزها على جدار الخلية وبهذه الحالة يحصل فرق في الجهد الكهربائي ليكون جدار الخلية سالبا ويؤدي الى جذب الكتيونات الموجبة والمتمثلة بالمعادن الثقيلة وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة (Cameselle & Gouveia,2019). كذلك وجود النترات في وسط النمو يكون لها تأثير تشجيعي أو تأزري على امتصاص الرصاص من قبل النبات فالتغذية بالنترات يكون لها تأثير فيسيولوجي قاعدي أي انها تؤدي الى انفراد مجاميع الهيدروكسيل على سطح الخلايا النباتية مما يزيد من شحنتها السالبة ومن ثمً يقوم النبات بأمتصاص الكتايونات (Cation) لمعادلة هذه الشحنة وترى الدراسة الحالية ان هذا الرأي هو المرجح لوجودالشحنات السالبة على جدار الخلية النباتية مما يؤدي الى الإزالة الحيوية للمعادن الثقيلة من قبل نبات الشمبلان او من خلال ارتباط معدن الرصاص بالمجاميع الفعالة لمجموعتي الكاربوكسيل والفينول ضمن المادة العضوية في النسيج النباتي (الموصلي وآخرون,2019 **).**

3-1-6 تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص والكاديوم والنسبة المئوية للإزالة

يوضح الشكل(3-6) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والجدول (3-6)الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط معدني الرصاص والكاديوم اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (0.2000±0.6577) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (73.69%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن الرصاص ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.1000±0.4862) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (80.55%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لترفقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (0.4000±1.4183) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (71.63%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى نسبة إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.2100±0.8218) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (83.56%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5)ملغم / لترفقد إنخفض تركيز معدن الرصاص بالمحلول المائي ليبلغ (0.5200±2.4399) ملغم / لتربعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (67.46%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد

مرور(20 يوما) من المعالجة (1.1051±0.1000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (85.26%) ,سجلت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما والمدة 5 ايام للتركيز (7.5) ملغم / لتر(ملحق 6) وعدم وجود فروق معنوية بين المدة 20 يوما وباقي المدد للتركيز نفسه والذي سجل فيه أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص بواسطة النبات.



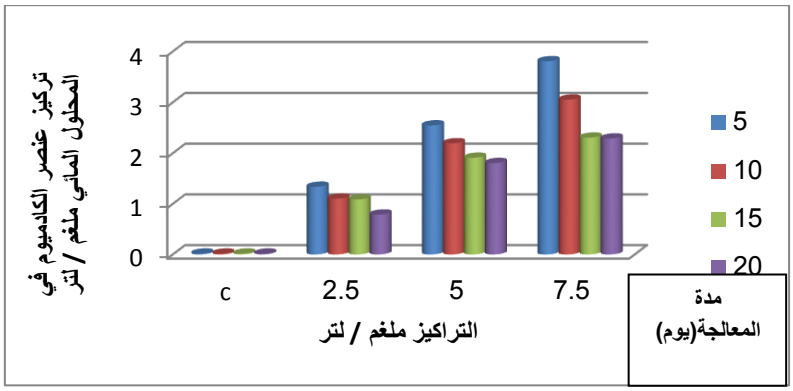
شكل (3-6) معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

جدول (3-6) النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

C7.5	C5	C2.5	C0	التراكيز /ملغم لتر الفترات(يوم)	المعدن
%67.46	%71.63	%73.69	%0	5	Pb+cd(pb)
%77.90	%78.19	%76.97	%0	10	
%79.59	%79.68	%77.56	%0	15	
%85.26	%83.56	%80.55	%0	20	

3-1-7 تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم والنسبة المئوية للإزالة

يبين الشكل(3-7) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والجدول (3-7) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.3378±0.3100) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (46.48%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن الكادميوم ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.7880±0.2000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (68.48%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لترفقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (2.5478±1.0000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (49.04%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (1.8066±0.5000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (63.86%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لترفقد إنخفض تركيز معدن الكادميوم بالمحلول المائي ليبلغ (3.8080±0.7200) ملغم / لتربعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (49.22%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (2.2893±0.4000) ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (69.47%)ولوحظ عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوما وباقي المدد للتركيز(7.5) ملغم / لتر(ملحق 7) والذي سجل فيه نبات الشمبلان أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم .



شكل (3-7) معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

جدول (3-7) النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

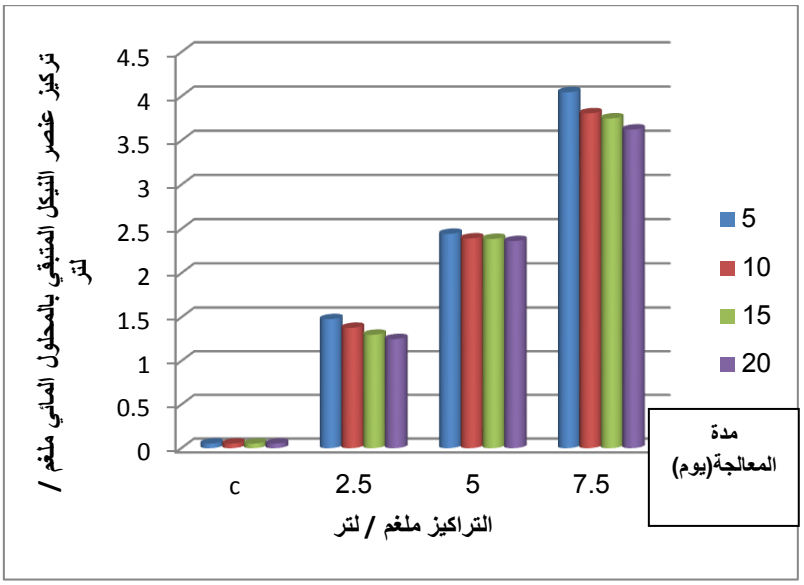
المعدن	التراكيز /ملغم لتر / الفترات(يوم)	C0	C2.5	C5	C7.5
Pb+cd(cd)	5	%0	%46.48	%49.04	%49.22
	10	%0	%55.85	%56.09	%59.29
	15	%0	%56.54	%61.77	%69.22
	20	%0	%68.48	%63.86	%69.47

بينت النتائج في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في إزالة معدن الرصاص مقارنة بمعدن الكادميوم اذ ببلغت أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص 85.26% عند التركيز 7.5 ملغم / لترأما أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم فقد ببلغت 69.47% عند التركيز7.5 ملغم / لتربعد مرور (20) يوما من المعالجة النباتية وقد تعزى الإزالة الحيوية للرصاص بواسطة نبات الشمبلان الـى وجـود أيونات سالبة الشحنة على جدار الخلية لنبات الشمبلان التي تقوم بسحب (uptake) أيونات معدن الرصاص الموجبة من مياه الأحواض وهذا الاستنتاج يتفق مع ما ذكره (أبو ضاحي ,1989) . كما لوحظ ذبول واصفرار النبات عند تعرضه للتراكيز عالية من الكادميوم اي أن هنالك علاقة عكسية بين نسبة الإزالة الحيوية للمعدن من النبات وإنخفاض نموه الظاهري اذ يقلل الكادميوم من إنبات البذور مبكرًا ونمو الشتلات والكتلة الحيوية النباتية كما يسبب تغيرات في التمثيل الضوئي ومحتوى الماء النسبي ومعدل النتح والتوصيل الثغري و ينشط الكادميوم أنواع الأكسجين التفاعلية(ROS) التي تسبب الانحرافات الصبغية والطفرات الجينية وتلف الحامض النووي الذي يؤثر على دورة الخلية وانقسام الخلية أي أن لمعدن الكادميوم المتراكم في أنسجة نبات الشمبلان تأثيرا سلبيا (الشدود , 2012).

3-1-8 تركيز معدن النيكل في المحلول المائي في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم والنسبة المئوية للإزالة

يوضح الشكل(3-8) معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والجدول (3-8) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه في المحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.4786±0.1600) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (40.85%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن النيكل ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (1.2513±0.5200) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (49.94%) , أما بالنسبة للتركيز (5)

ملغم / لتر فقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (2.4442±0.6100) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (51.11%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (2.3619±0.3500) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (52.76%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لتر فقد إنخفض تركيز المعدن بالمحلول المائي ليبلغ (4.0462±0.4000) ملغم / لتر بعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (46.05%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (3.6238±1.2100) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (51.68%) , بينت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوما وباقي المدد للتركيز (5) ملغم / لتر(ملحق 8) والذي سجل فيه نبات الشمبلان أعلى نسبة إزالة للمعدن.



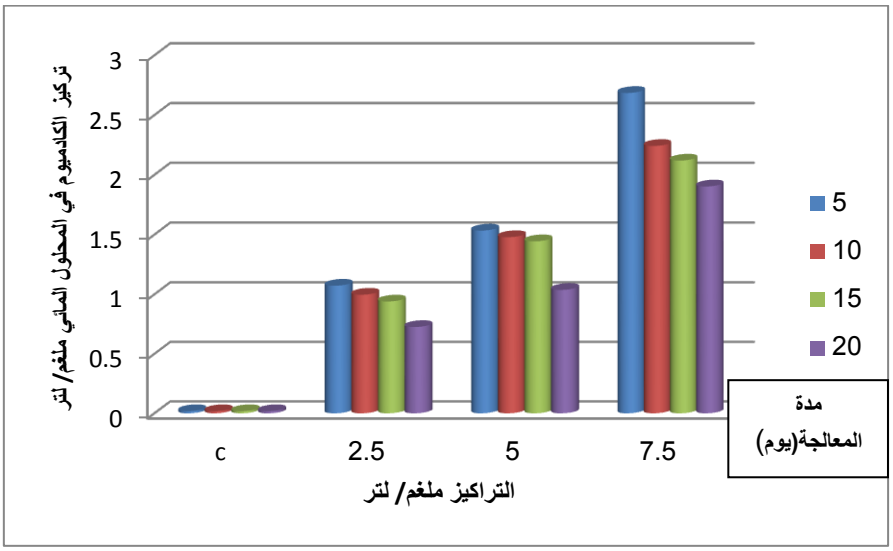
شكل (3-8) معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

جدول (3-8) النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

المعدن	التراكيز ملغم /لتر / الفترات(يوم)	C0	C2.5	C5	C7.5
Cd+Ni(Ni)	5	%0	%40.85	%51.11	%46.05
	10	%0	%44.80	%52.15	%49.23
	15	%0	%47.98	%52.26	%50
	20	%0	%49.94	%52.76	%51.68

3-1-9 تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم والنسبة المئوية للإزالة

يبين الشكل(3-9) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والجدول (3-9) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لتر و لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.0724±0.2500) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (57.10%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن الكادميوم ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.7255±0.1200) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (70.98%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لتر فقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (1.5332±0.5000)ملغم / لتروبكفاءة إزالة ببلغت (69.33%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل نخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (1.0371±0.3000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (79.25%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لتر فقد إنخفض تركيز معدن الكادميوم بالمحلول المائي ليبلغ (2.6848±0.0000) ملغم / لتر بعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (64.20%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (1.9026±0.0000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (74.63) ملغم / لتر , سجلت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوما وباقي مددالمعالجة للتركيز (5) ملغم / لتر(ملحق 9) والذي سجل فيه الشمبلان أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم.



شكل (3-9) معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

جدول (3-9) النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

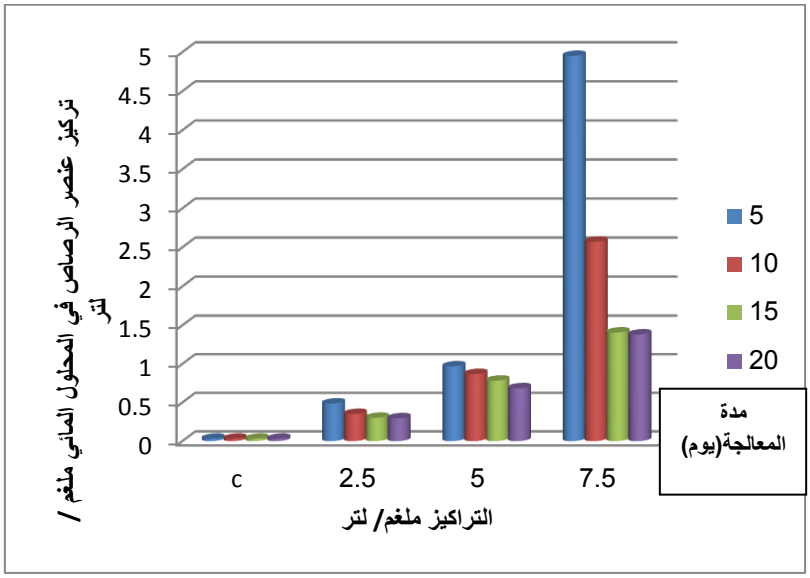
C7.5	C5	C2.5	C0	التراكيز ملغم/لتر / الفترات(يوم)	المعدن
%64.20	%69.33	%57.10	%0	5	Cd+Ni(Cd)
%70.11	%70.43	%60.13	%0	10	
%71.74	%71.12	%62.4	%0	15	
%74.63	%79.25	%70.98	%0	20	

في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم أظهرت النتائج ان نبات الشمبلان سجل كفاءة إزالة عالية للمعدنين من المياه اذ بينت النتائج ان نبات الشمبلان كان الاكفأ في إزالة معدن الكادميوم مقارنة بمعدن النيكل اذ ببلغت أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم 79.25% عند التركيز 5 ملغم / لتر أما أعلى نسبة إزالة لمعدن النيكل فقد ببلغت 52.76% عند التركيز 5 ملغم / لتر بعد مرور (20) يوما من المعالجة النباتية وقد تعزى الإزالة الحيوية لمعدن الكادميوم ان الكادميوم يحث النبات على إنتاج مركبات تعرف بالمخلبيات النباتية (phytochelatins) والمخلبيات النباتية عبارة عن ببتيدات مرتبطة بالمعادن

الثقيلة السامة ولها دور في إزالة سموم الكادميوم من النبات والتي تتمثل ب(Metallothioneins) وهي بروتينات تحوي (61-68) من الأحماض الأمينية وتتميز بقدرتها على ربط المعادن السامة مثل الكادميوم من خلال مجموعة (SH-) وتحولها إلى أشكال أُخرى غير فعالة اي إن للنبات القابلية على إزالة المعدن عند التراكيز القليلة والمتوسطة ونقصان هذه القابلية عند التراكيز العالية وهذه النتيجة تتوافق مع ماذكره (El Rasafi *et al*,. 2020 ; Shrivastava *et al*.,2019). .كما لوحظ ذبول واصفرار النبات عند تعرضه لتراكيز عالية من الكادميوم اي ان لمعدن الكادميوم تأثيرا سلبيا على النبات وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة(Aravind & Prasad,2005).

3-1-10 تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي في تجربة خلط ثلاثة معادن(الرصاص والنيكل والكادميوم) والنسبة المئوية للإزالة

يوضح الشكل(3-10) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والجدول (3-10) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط ثلاثة معادن معا(الرصاص والنيكل والكادميوم)اذ أظهرت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات حيث كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لتر و لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (0.1000±0.4872) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (80.51%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن الرصاص ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.0100±0.2960) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (88.16%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لتر فقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (0.3200±0.9682) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (80.63%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.1500±0.6845) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (86.31%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لتر فقد إنخفض تركيز المعدن بالمحلول المائي ليبلغ (1.0000±4.9521) ملغم / لتر بعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (33.97%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (0.3000±1.3814) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (81.58%) , وبينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<$ 0.05)بين الفترة 20 يوم والفترة 5 ايام وعدم وجود فروق معنوية بين المدة 20 يوما وباقي المدد 10 و15 يوما للتركيز (2.5) ملغم / لتر(ملحق 10) والذي سجل فيه نبات الشمبلان أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص.



شكل (3-10) معدل تركيز معدن الرصاص في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الرصاص خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاث معادن .

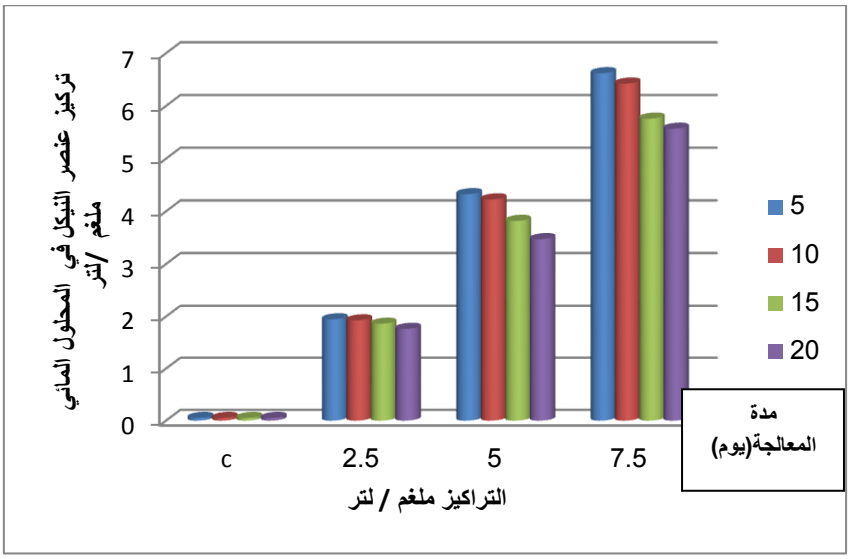
جدول (3-10) النسبة المئوية لإزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاث معادن

C7.5	C5	C2.5	C0	التراكيز ملغم/لتر / الفترات(يوم)	المعدن
%33.97	%80.63	%80.51	%0	5	pb+Cd+Ni(Pb)
%65.71	%82.61	%85.94	%0	10	
%81.25	%84.33	%87.91	%0	15	
%81.58	%86.31	%88.16	%0	20	

3-1-11 تركيز معدن النيكل في المحلول المائي في تجربة خلط ثلاث معادن(الرصاص والنيكل والكادميوم) والنسبة المئوية للإزالة

الشكل(3-11) يبين معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والجدول (3-11) النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط ثلاثة معادن(الرصاص والنيكل والكادميوم)اذ أظهرت النتائج إنخفاض

تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لتر و لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.9480±0.0440) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (22.08%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن النيكل ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (1.7637±0.3100) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (29.45%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لتر فقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (4.3261±1.4000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (13.47%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (3.4724±1.0000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (30.55%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لتر فقد إنخفض تركيز معدن النيكل بالمحلول المائي ليبلغ (6.6221±2.6000) ملغم / لتر بعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (11.70%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (5.5687±2.1000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (25.75%) , بينت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوم وباقي المدد للتركيز (5) ملغم / لتر(ملحق 11) والذي سجل أعلى نسبة إزالة لمعدن النيكل بواسطة النبات.



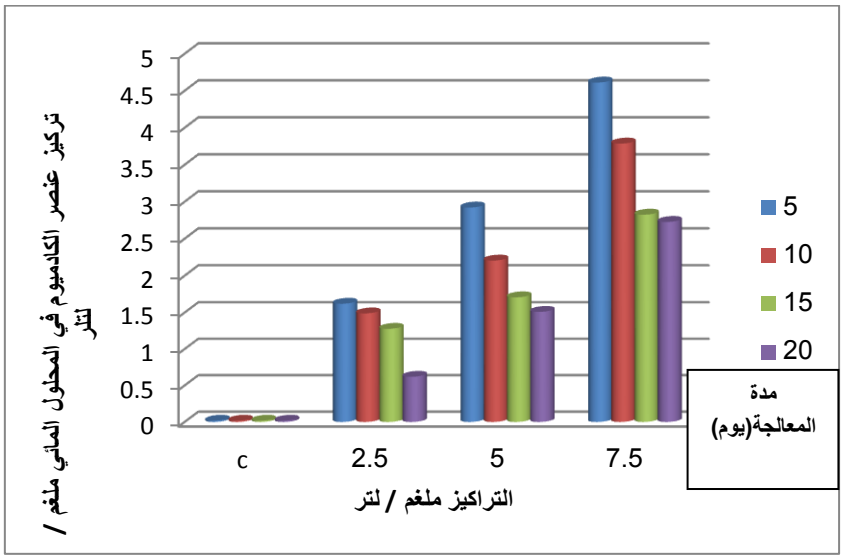
شكل (3-11) معدل تركيز معدن النيكل في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن النيكل خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاث معادن

جدول (3-11) النسبة المئوية لإزالة معدن النيكل من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن

المعدن	التراكيز ملغم /لتر / الفترات(يوم)	C0	C2.5	C5	C7.5
pb+Cd+Ni(Ni)	5	%0	%22.08	%13.47	%11.70
	10	%0	%22.88	%15.47	%14.32
	15	%0	%25.52	%23.61	%23.19
	20	%0	%29.45	%30.55	%25.75

3-1-12 تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي في تجربة خلط ثلاثة معادن(الرصاص والنيكل والكادميوم) والنسبة المئوية للإزالة

يشير الشكل(3-12) الى معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والجدول (3-12) الذي يمثل النسبة المئوية للإزالة في تجربة خلط ثلاث معادن(الرصاص والنيكل والكادميوم)اذ بينت النتائج إنخفاض تركيزه بالمحلول المائي عند زيادة مدة التعرض للنبات اذ كان تركيزه قبل المعالجة (2.5) ملغم / لترو لوحظ إنخفاضه بعد مرور 5 أيام من المعالجة ليبلغ (1.6215±0.0400) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (35.14%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز معدن الكادميوم ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور (20 يوما) من المعالجة (0.6198±0.0200) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (75.20%) , أما بالنسبة للتركيز (5) ملغم / لتر فقد لوحظ كذلك إنخفاض تركيز المعدن ليبلغ عند القراءة الاولى بعد مرور (5 أيام) من المعالجة (2.9219±0.4000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (41.56%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (1.5102±0.9500) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (69.79%) , أما بالنسبة للتركيز(7.5) ملغم / لتر فقد إنخفض تركيز المعدن بالمحلول المائي ليبلغ (4.6115±2.0000) ملغم / لتر بعد مرور (5 أيام) من المعالجة وبكفاءة إزالة ببلغت (38.51%) وإستمر نبات الشمبلان بخفض تركيز المعدن ليبلغ أعلى معدل إنخفاض بعد مرور(20 يوما) من المعالجة (2.7274±0.5000) ملغم / لتر وبكفاءة إزالة ببلغت (63.63%) , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين المدة 20 يوم وباقي المدد للتركيز (2.5) ملغم / لتر(ملحق 12) والذي سجل أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم بواسطة النبات.



شكل (3-12) معدل تركيز معدن الكادميوم في أحواض المياه المعرضة لتراكيز مختلفة من معدن الكادميوم خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن

جدول (3-12) النسبة المئوية لإزالة معدن الكادميوم من المياه باستخدام نبات الشمبلان المعرض لتراكيز مختلفة خلال مدة التجربة في تجربة خلط ثلاثة معادن

C7.5	C5	C2.5	C0	التراكيز ملغم/لتر / الفترات(يوم)	المعدن
%38.51	%41.56	%35.14	%0	5	pb+Cd+Ni(Cd)
%49.51	%55.89	%40.42	%0	10	
%62.32	%65.82	%48.9	%0	15	
%63.63	%69.79	%75.20	%0	20	

بينت نتائج الدراسة الحالية في تجربة خلط ثلاثة معادن(الرصاص والنيكل و الكادميوم) كفاءة نبات الشمبلان في إزالة المعادن الثلاثة اذ سجل نبات الشمبلان كفاءة عالية في إزالة معدن الرصاص مقارنة بمعدني النيكل والكادميوم اذ ببلغت أعلى نسبة إزالة لمعدن الرصاص 88.16% عند التركيز 2.5 ملغم / لتر أما أعلى نسبة إزالة لمعدن النيكل فقد ببلغت 30.55% عند التركيز 5 ملغم / لتر بينما أعلى نسبة إزالة لمعدن الكادميوم من المياه ببلغت 75.20% عند التركيز 2.5 ملغم / لتر بعد مرور (20) يوما من المعالجة النباتية وقد تعزى الإزالة الحيوية للرصاص بواسطة نبات الشمبلان الى وجود أيونات

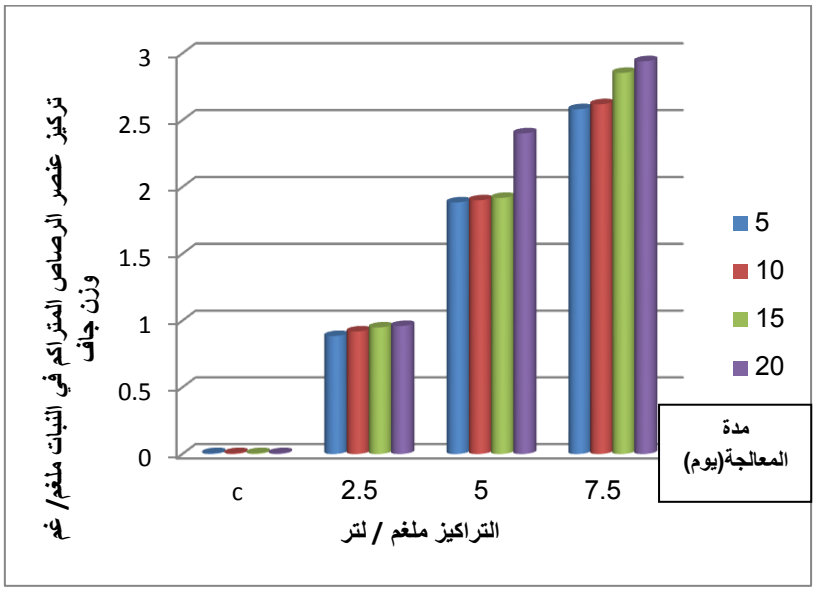
سالبة الشحنة على جدار الخلية لنبات الشمبلان التي تقوم بسحب (uptake) أيونات معدن الرصاص الموجبة من مياه الأحواض وهذا الاستنتاج يتفق مع ما ذكره (أبو ضاحي , 1989). كما لوحظ ذبول واصفرار النبات عند تعرضه لتراكيز عالية من الكادميوم ومن المعروف ان الكادميوم يعيق نمو النبات وتطوره وهو يثبط بشكل كبير انقسام الخلايا اي ان لمعدن الكادميوم تأثيرا سلبيا على النبات وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة (الشدود , 2012).

3-2 تركيز المعادن الثقيلة المتراكمة في النبات ومعامل التركيز الحيوي

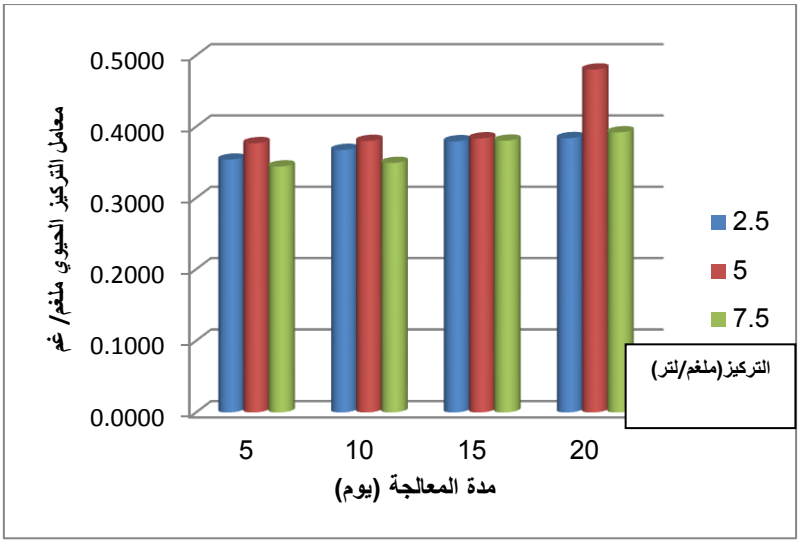
3-2-1 تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات ومعامل التركيز الحيوي

يبين الشكل(3-13) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الرصاص في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما من المعالجة (0.9599,0.9488,0.9186,0.8845)ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5)ملغم /لتر و (1.8841, 1.9001, 1.9180, 2.4009) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(2.5817, 2.6187, 2.8531, 2.9404) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص(ملحق 1) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-14) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.3538, 0.3674, 0.3795, 0.3840) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.3768, 0.3800 , 0.3836 , 0.4802) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.3442 , 0.3492 , 0.3804, 0.3921) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-13) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات



شكل (3-14) معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات

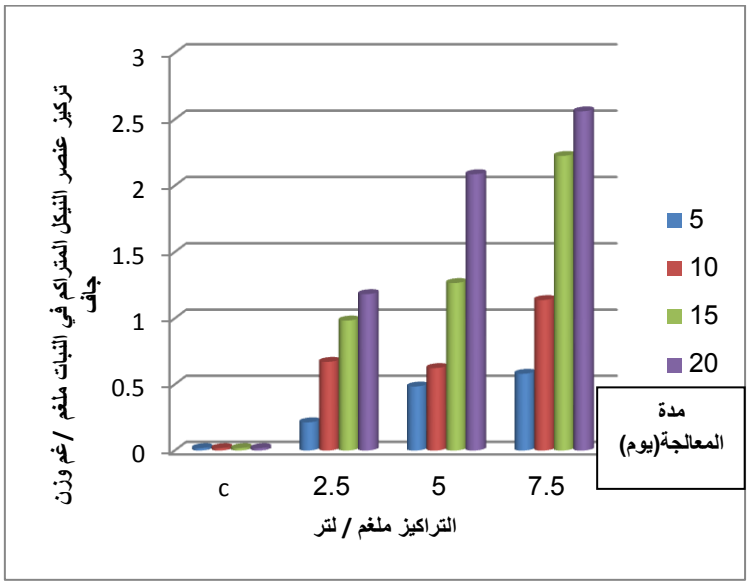
سجلت نتائج الدراسة الحالية كفاءة نبات الشمبلان العالية في مراكمة معدن الرصاص في انسجته اذ لوحظ ارتفاع تركيز معدن الرصاص المتراكم في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص (2.9404) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز (7.5) ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل التركيز الحيوي (0.4802) ملغم/غم عند التركيز(5) ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل

التركيز الحيوي بزيادة المدة الزمنية للتعرض لكن قيمة معامل التركيز الحيوي تنخفض بزيادة التركيز, وقد يعود سبب زيادة تراكم معدن الرصاص داخل النبات إلى وجود النظام الناقل للأيونات في النبات الذي يقوم بنقل المعدن إلى الأوراق ومن ثم أستيعاب كمية كبيرة من الرصاص بمرور الوقت ضمن الحدود المسموح بها فسلجيا (Fawzy *et al.* ,2012) . ولذلك يعد نبات الشمبلان أكثر مراكمة لمعدن الرصاص مقارنة مع نباتات أُخرى كنبات عشبة النيل وأكثر قدرة على تحمل معدن الرصاص وهذه النتيجة تتوافق مع ماتوصل اليه (Elfalaky *et al.*, 2004).

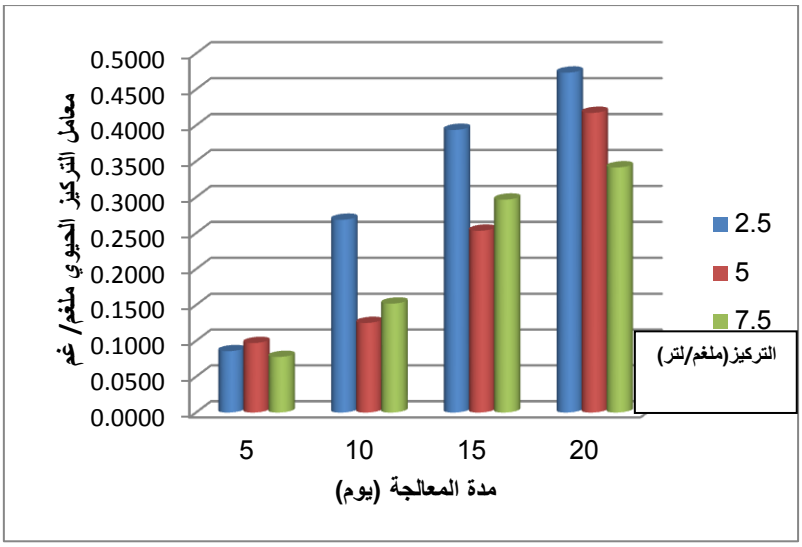
3-2-2 تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات ومعامل التركيز الحيوي

يوضح الشكل(3-15) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في انسجة نبات الشمبلان بعد المعالجة اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن النيكل في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما من المعالجة (0.6714,0.2139 , 1.1834,0.9842) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(2.5) ملغم /لتر و (0.4849 , 0.6247 ,1.2668 , 2.0869) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (5) ملغم /لتر و(1.1390,0.5815, 2.2247, 2.5610) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , سجلت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن النيكل مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 2) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-16) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.0856, 0.2686, 0.4734,0.3937) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.0970, 0.1249 , 0.2534 , 0.4174) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.0775, 0.1519 , 0.2966, 0.3415) ملغم/غم وزن جاف للتركيز7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-15) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات



شكل (3-16) معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات

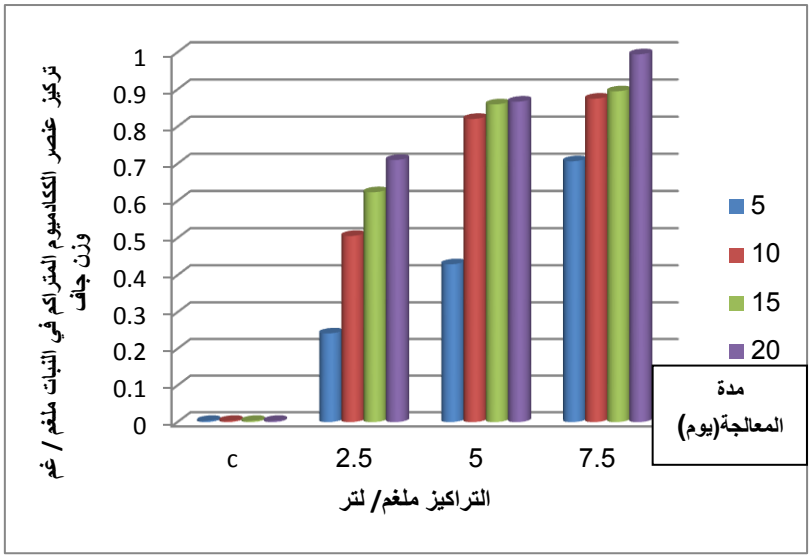
تشير نتائج الدراسة الحالية ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في مراكمة معدن النيكل في انسجته اذ لوحظ ارتفاع تركيز معدن النيكل المتراكم في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن النيكل (2.5610) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز (7.5) ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل التركيز الحيوي (0.4734) ملغم/غم عند التركيز (2.5) ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل

التركيز الحيوي بزيادة المدة الزمنية للتعرض وبنفس وقت تنخفض قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة التركيز (Parneyan *et al* .,2011).

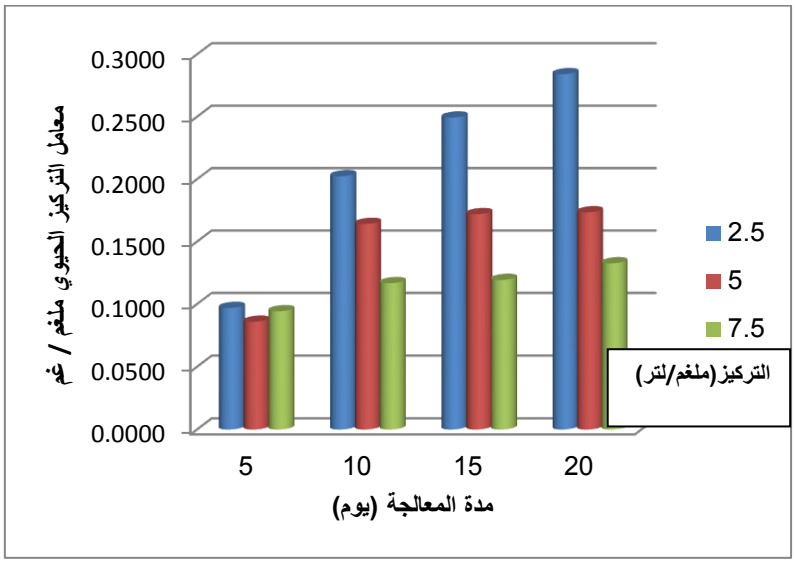
3-2-3 تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات ومعامل التركيز الحيوي

يبين الشكل (3-17) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في انسجة نبات الشمبلان بعد المعالجة اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الكادميوم في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما من المعالجة (0.5059,0.2423 , 0.7103,0.6235) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (0.4296 , 0.8209 ,0.8600 , 0.8674) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(0.8754,0.7069, 0.8951, 0.9948) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الكادميوم مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 3) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-18) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.0969, 0.2024, 0.2494, 0.2841) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.0859, 0.1642 , 0.1720 , 0.1735) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.0943 , 0.1167 , 0.1193, 0.1326) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-17) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات



شكل (3-18) معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات

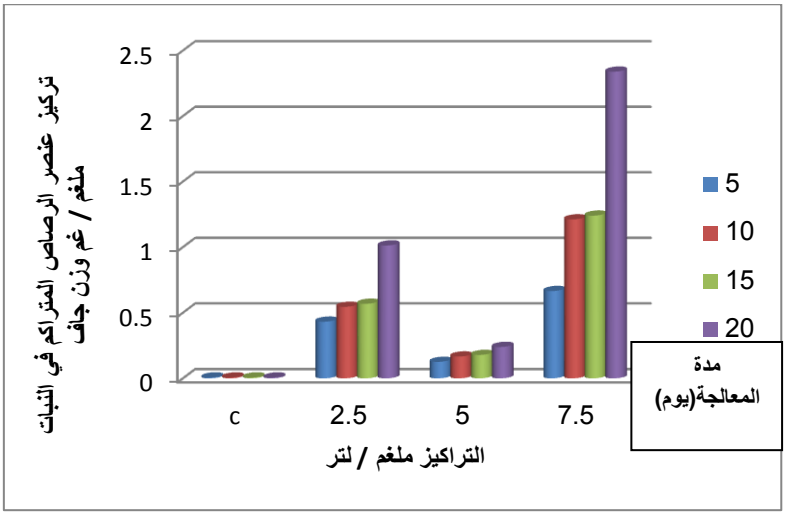
أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في مراكمة معدن الكادميوم في انسجته اذ لوحظ ارتفاع تركيز الكادميوم المتراكم في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن الكادميوم (0.9948) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز (7.5) ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل التركيز الحيوي (0.2841) ملغم/غم عند التركيز (2.5) ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة المدة الزمنية للتعرض , كما بينت النتائج ان قيمة معامل التركيز الحيوي تنخفض عند التراكيز العالية وهذه النتيجة تتوافق مع ماتوصل اليه (Das *et al.*, 2016) وقد يعزى ذلك الى وجود ايونات سالبة على جدران خلايا النبات والتي تقوم بسحب ايونات الكادميوم الموجبة الشحنة من مياه الأحواض (الموصلي وآخرون,2019).

3-2-4 تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل ومعامل التركيز الحيوي

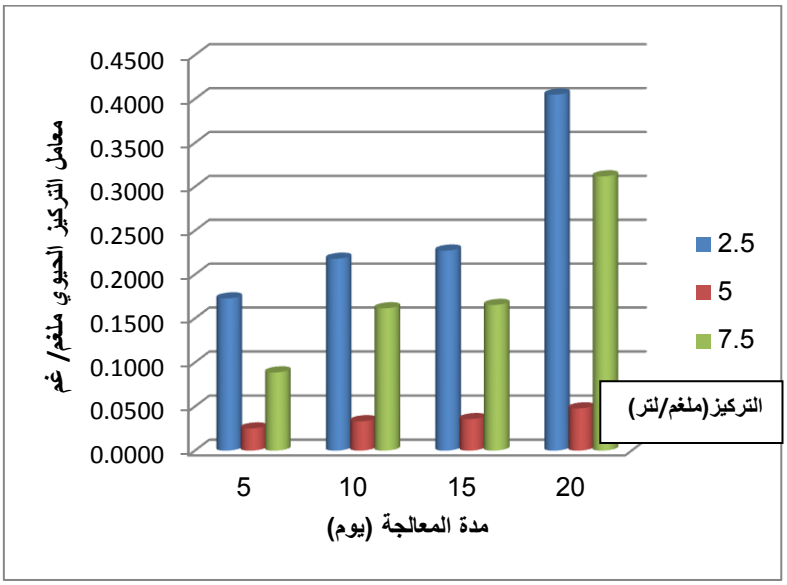
يوضح الشكل(3-19) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الرصاص في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (1.0125,0.5681,0.5450,0.4319) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم

/لتر و (0.1255, 0.1663, 0.1787, 0.2393) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(0.6653, 1.2110, 1.2400, 2.3389) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , سجلت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 4) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-20) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.1728, 0.2180, 0.2272, 0.4050) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.0251, 0.0333 , 0.0357, 0.0479) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 5 ملغم /لتر و(0.0887 , 0.1615 , 0.1653, 0.3119) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي .



شكل (3-19) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

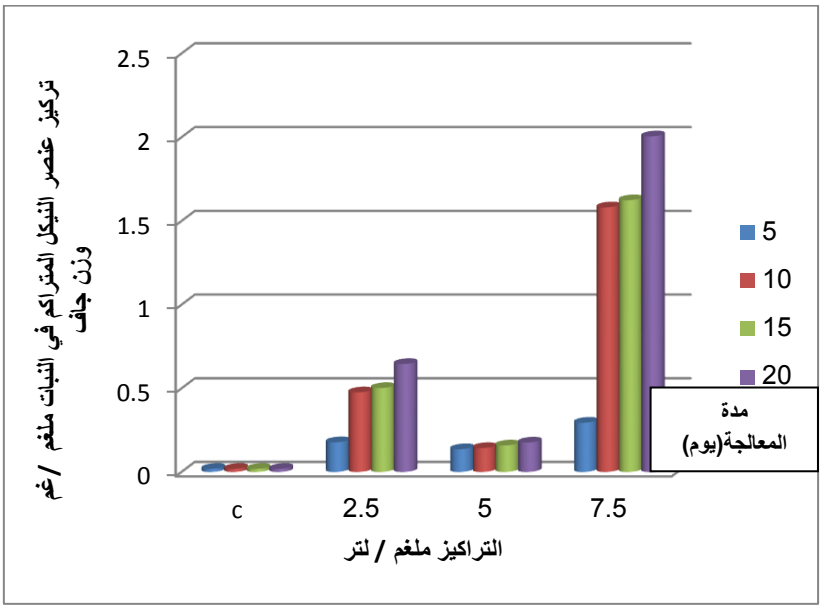


شكل (3-20) معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

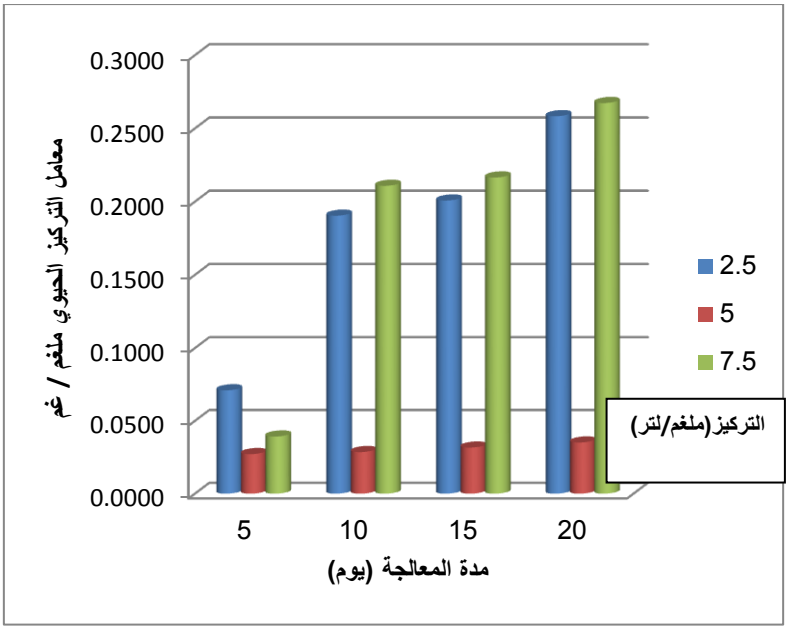
3-2-5 تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل ومعامل التركيز الحيوي

يبين الشكل(3-21) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن النيكل في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.6459,0.5020,0.4761,0.1776) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (0.1361, 0.1430, 0.1585, 0.1760) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 5 ملغم /لتر و(0.2947, 1.5813, 2.0053,1.6240) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن النيكل مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 5) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-22) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.0710, 0.1904, 0.2008, 0.2584) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.0272, 0.0286 , 0.0317, 0.0352) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.0393, 0.2108, 0.2165, 0.2674) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-21) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل



شكل (3-22) معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

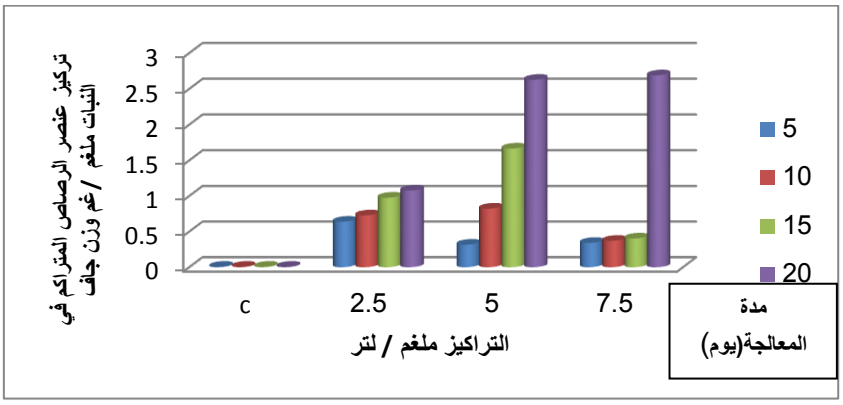
بينت النتائج في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في مراكمة معدني الرصاص والنيكل في انسجته اذ لوحظ ارتفاع تركيز معدني الرصاص والنيكل المتراكم في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص

(2.3389) ملغم/غم وللنيكل (2.0053) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز (7.5)ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل التركيز الحيوي للرصاص (0.4050) ملغم/غم عند التركيز (2.5) ملغم /لتر وللنيكل (0.2674) ملغم/غم عند التركيز (7.5)ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن المتراكم ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة المدة الزمنية للتعرض كما لوحظ إنخفاض قيمة معامل التركيز الحيوي للرصاص عند التراكيز العالية وهذ يتفق مع ما توصلت اليه عباس (2015) اذ لاحظت ان تراكم معدن الرصاص في النباتات (الهايدرلا والشمبلان وعشبة النيل) يزداد بزيادة التركيز وكذلك بمرور مدة التعريض وكذلك لاحظت ازدياد معامل التركيز الحيوي مع مرور مدة التعرض وينخفض بزيادة التركيز مما يدل على ان كفاءة النبات تتأثر بالتراكيز العالية .

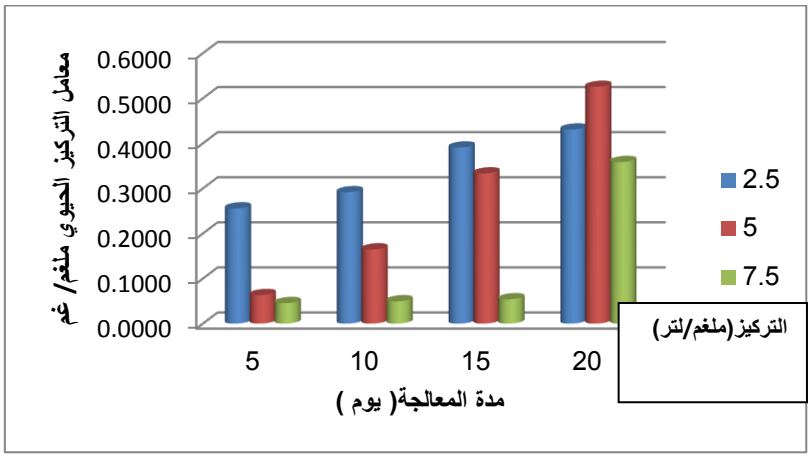
3-2-6 تركيز معدن الرصاص المتراكم في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي

يبين الشكل(3-23) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الرصاص في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (1.0768,0.9768,0.7288,0.6391) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (0.3166, 0.8230, 1.6662, 2.6271) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(0.3414, 0.3713, 0.4042, 2.6891) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص مقارنة مع باقي التراكيز (ملحق 6).

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-24) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.2556, 0.2915, 0.3907, 0.4307) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.0633, 0.1646 , 0.3332 , 0.5254) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.0455, 0.0495 , 0.0539, 0.3585) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-23) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم



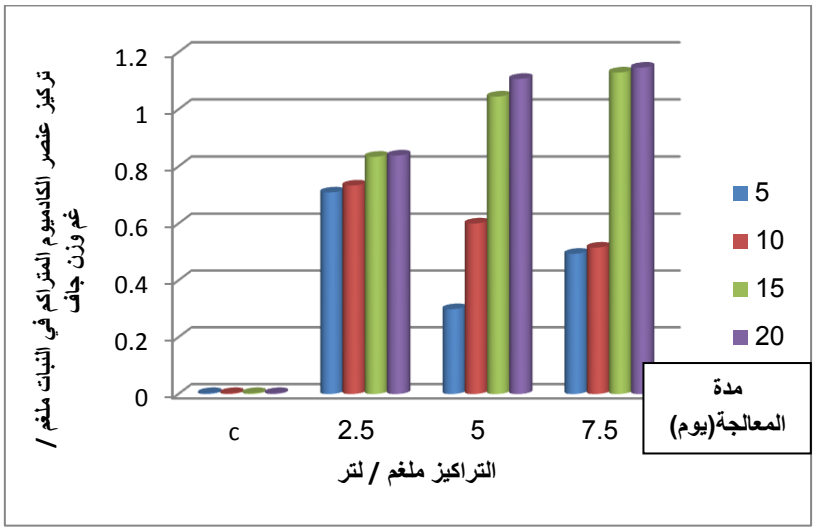
شكل (3-24) معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

3-2-7 تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي

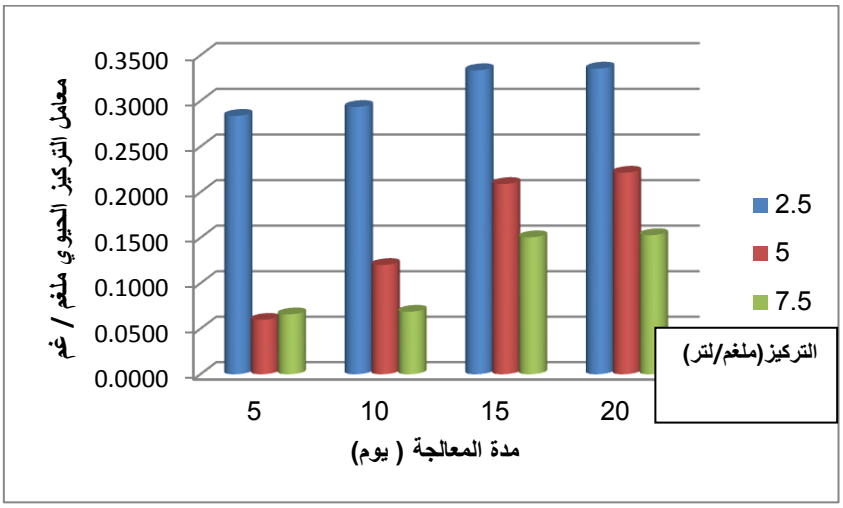
يبين الشكل(3-25) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الكادميوم في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.8385,0.8341,0.7335,0.7092) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (0.2990, 0.6005, 1.0451, 1.1069) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(0.4939, 0.5156, 1.1293, 1.1464) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي

, سجلت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الكادميوم مقارنة مع باقي التراكيز (ملحق 7).

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-26) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.2837, 0.2934, 0.3336, 0.3354) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.0598, 0.1201 , 0.2090 , 0.2214) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.0659, 0.0687, 0.1506, 0.1529) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-25) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم



شكل (3-26) معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

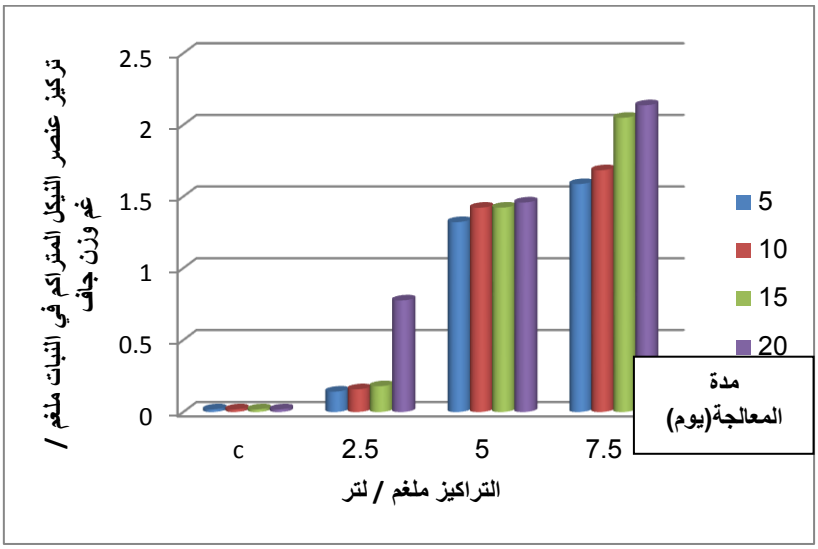
أظهرت نتائج تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في مراكمة معدني الرصاص والكادميوم في انسجته اذ لوحظ ارتفاع تركيز معدني الرصاص والكادميوم المتراكم في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص (2.6891) ملغم/غم وللكادميوم (1.1464) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز (7.5)ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل التركيز الحيوي للرصاص (0.5254) ملغم/غم عند التركيز (5) ملغم /لتر وللكادميوم (0.3354) ملغم/غم عند التركيز (2.5)ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن المتراكم ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة المدة الزمنية للتعرض لكنه ينخفض مع زيادة التركيز (Lu *et al.*, 2004 ; كاظم والحاتمي,2017).

3-2- 8 تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي

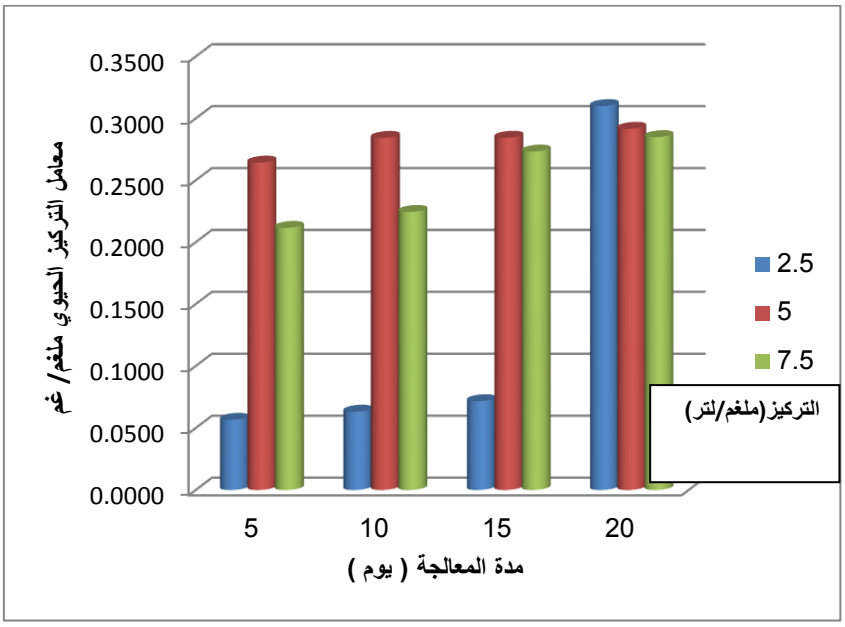
يبين الشكل(3-27) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط معدني الكادميوم والنيكل اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن النيكل في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.7749,0.1791,0.1579,0.1415) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (1.3215, 1.4215, 1.4222, 1.4581) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (5) ملغم /لتر و(1.6833,1.5867 ,

2.0493, 2.1366) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (7.5) ملغم /لتر على التوالي , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين فترة المعالجة 20 يوم وباقي الفترات الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن النيكل مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 8) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-28) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.0566, 0.0632, 0.0716, 0.3100) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.2643, 0.2843 , 0.2844, 0.2916) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.2116 , 0.2244, 0.2732, 0.2849) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-27) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم



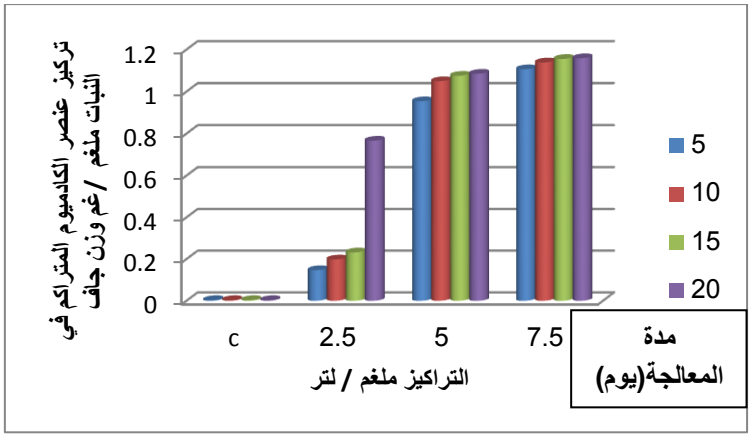
شكل (3-28) معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

3-2-9 تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم ومعامل التركيز الحيوي

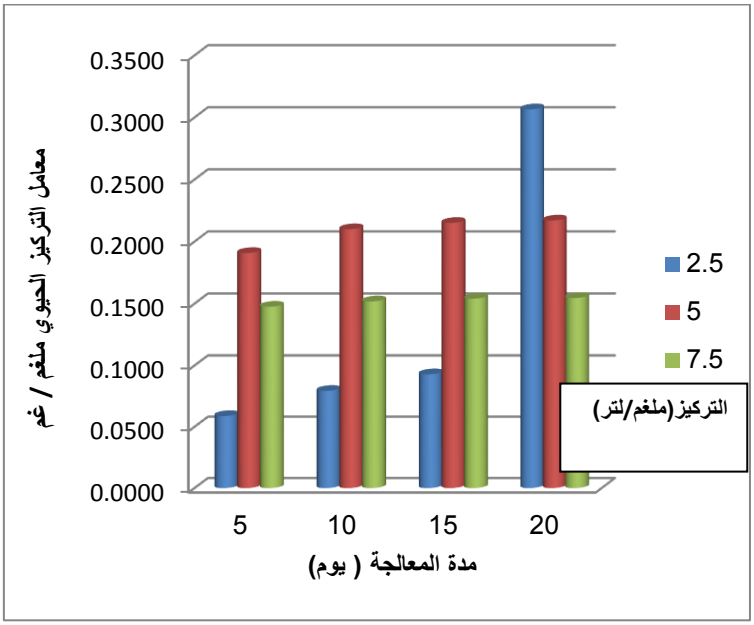
يبين الشكل(3-29) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط معدني الكادميوم والنيكل اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الكادميوم في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.7664,0.2321,0.1983,0.1470) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (0.9540, 1.0498, 1.0754, 1.0851) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(1.1388,1.1064 , 1.1555, 1.1592) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين فترة المعالجة 20 يوم والفترتين 5و10أيام وعدم وجود فرق معنوي بين المدة 20 يوما والمدة 15 يوم للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الكادميوم مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 9) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-30) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.0588, 0.0793, 0.0928, 0.3066) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم

/لتر و(0.1908, 0.2100 , 0.2151, 0.2170) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 5ملغم /لتر و(0.1475, 0.1518, 0.1541, 0.1546) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-29) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم



شكل (3-30) معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

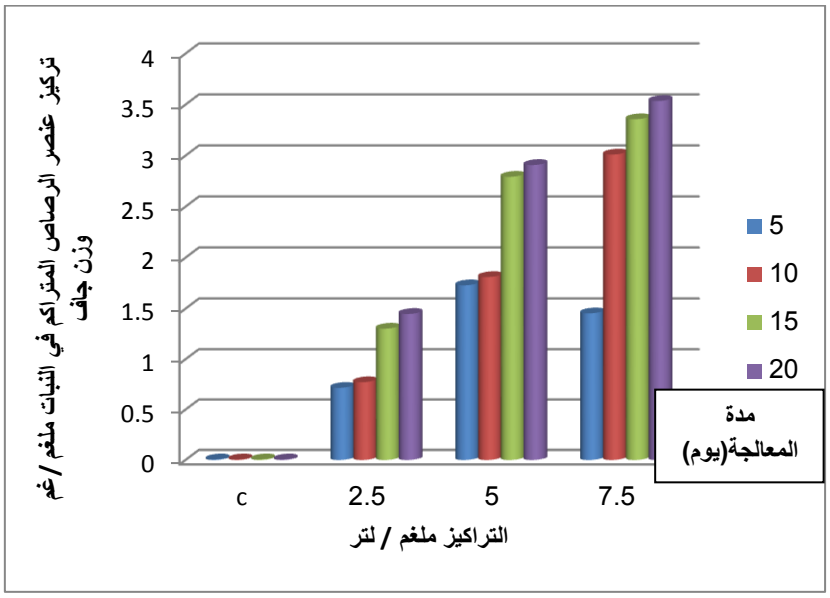
أظهرت نتائج تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم كفاءة نبات الشمبلان العالية في مراكمة معدني النيكل و الكادميوم في انسجته اذ لوحظ ارتفاع تركيز معدني الكادميوم والنيكل المتراكم في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن الكادميوم (1.1592) ملغم/غم وللنيكل (2.1366) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز (7.5)ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل

التركيز الحيوي للكادميوم (0.3066) ملغم/غم وللنيكل (0.3100) ملغم/غم عند التركيز (2.5) ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن المتراكم ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة الفترة الزمنية للتعرض ولكن قيمة معامل التركيز الحيوي تنخفض مع زيادة التركيز اذ إنَ زيادة تراكم المعادن داخل النبات تسبب السمية والتشبع للنبات وبالتالي تقل قابلية النبات على امتصاصها للمعادن الثقيلة(Mohamed *et al*.,2016; Golabia *et al*.,2019).

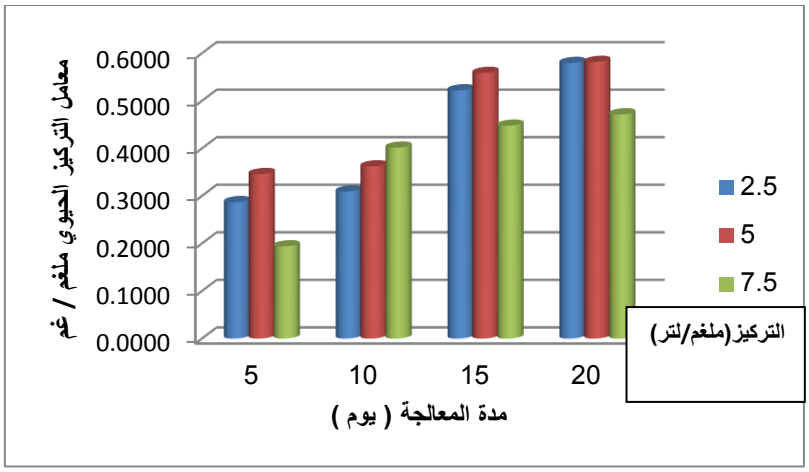
3-2-10 تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن (الرصاص والنيل والكادميوم) ومعامل التركيز الحيوي

يبين الشكل(3-31) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط ثلاثة معادن معا(الرصاص والنيكل والكادميوم)اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الرصاص في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (1.4489,1.3049,0.7731,0.7170) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (1.7296, 1.8103, 2.7932, 2.9084) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(3.0112,1.4545, 3.3571, 3.5362) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص مقارنة مع باقي التراكيز (ملحق 10) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-32) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.2868, 0.3092, 0.5220, 0.5796) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 2.5 ملغم /لتر و(0.3459, 0.3621, 0.5586, 0.5817) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 5 ملغم /لتر و(0.1939, 0.4015, 0.4476, 0.4715) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-31) معدل تركيز معدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن



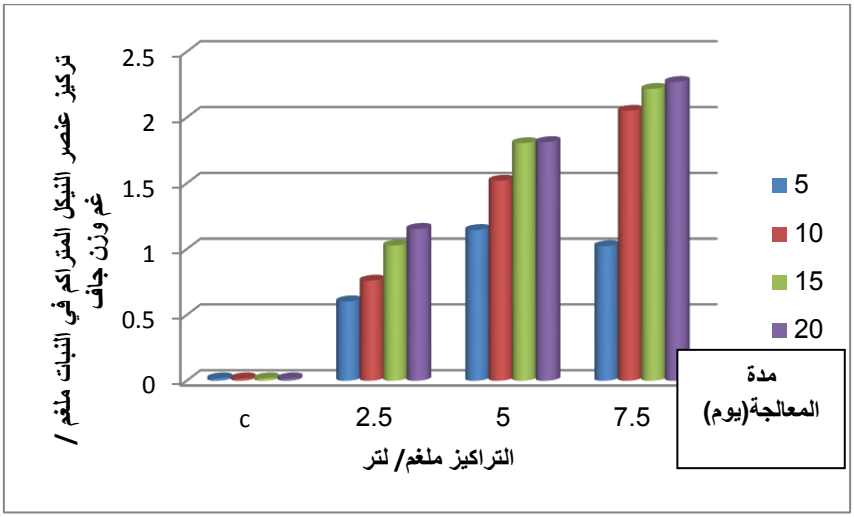
شكل (3-32) معامل التركيز الحيوي لمعدن الرصاص المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن

3-2-11 تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن (الرصاص والنيكل والكادميوم) ومعامل التركيز الحيوي

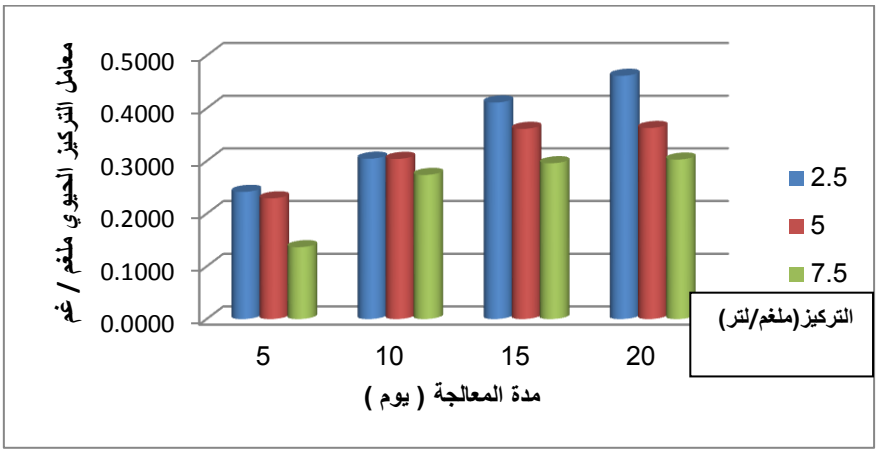
يوضح الشكل(3-33) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط ثلاث معادن معا(الرصاص والنيكل والكادميوم)اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن النيكل في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (1.1542,1.0277,0.7609,0.6034) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (1.1453, 1.5202, 1.8053, 1.8135) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر

و(2.0519,1.0230, 2.2180, 2.2706) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , سجلت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما وباقي المدد الزمنية للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 11) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-34) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.2414, 0.3044, 0.4111, 0.4617) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5mg/L ملغم /لتر و(0.2291, 0.3040, 0.3611, 0.3627) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 5 ملغم /لتر و(0.1364, 0.2736, 0.2957, 0.3027) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-33) معدل تركيز معدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن

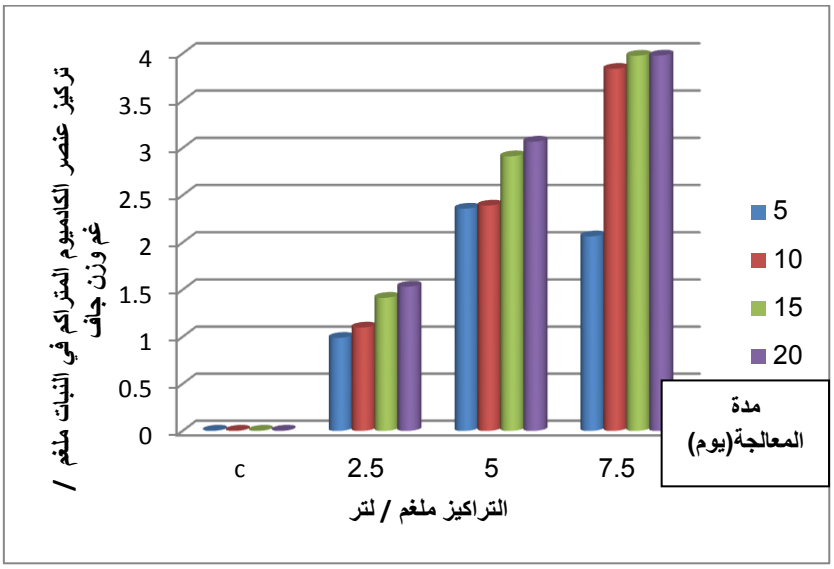


شكل (3-34) معامل التركيز الحيوي لمعدن النيكل المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن

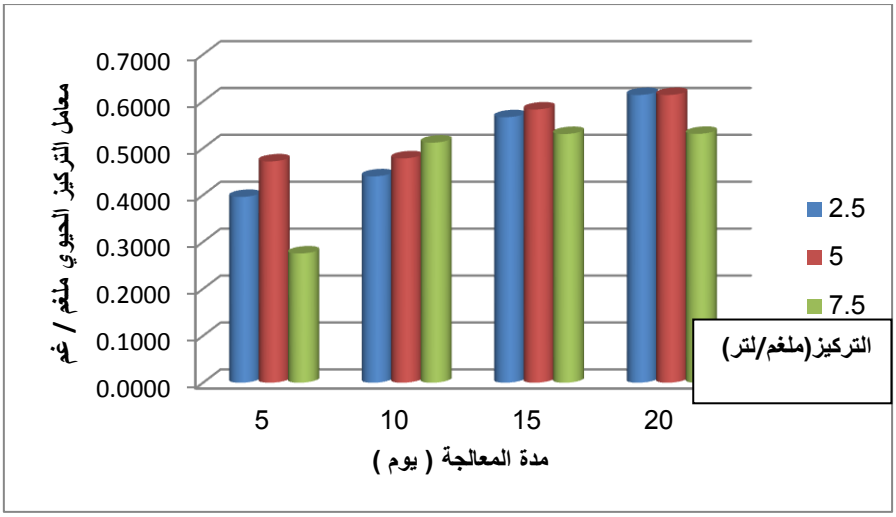
12-2-3 تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن (الرصاص والنيكل والكادميوم) ومعامل التركيز الحيوي

يبين الشكل(3-35) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في نبات الشمبلان بعد المعالجة في تجربة خلط ثلاث معادن معا(الرصاص والنيكل والكادميوم)اذ أظهرت النتائج زيادة تراكم معدن الكادميوم في أنسجة النبات عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن اذ بلغ معدل تركيز المعدن المتراكم خلال المدة (20,15,10,5) يوما (1.5336,1.4150,1.0996,0.9898) ملغم/غم وزن جاف للتركيز (2.5) ملغم /لتر و (3.0678 ,2.9128 ,2.3911 ,2.3585) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(5) ملغم /لتر و(3.9789 ,3.9768 ,3.8381,2.0648) ملغم/غم وزن جاف للتركيز(7.5) ملغم /لتر على التوالي , أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين مدة المعالجة 20 يوما والمدتين 5و10أيام وعدم وجود فرق معنوي بين المدة 20 يوما والمدة 15 يوما للتركيز(7.5) ملغم /لتر الذي سجل فيه النبات أعلى معدل تراكم لمعدن الكادميوم مقارنة مع باقي التراكيز(ملحق 12) .

أما بالنسبة لمعامل التركيز الحيوي لمعدنالكادميوم اذ يلاحظ من خلال الشكل (3-36) ازدياد معامل التركيز الحيوي مع زيادة مدة التعرض للنبات اذ بلغ معامل التركيز الحيوي خلال المدة (20,15,10,5) يوما (0.3959, 0.4398, 0.5660, 0.6134) ملغم/غم وزن جاف للتركيز2.5 ملغم /لتر و(0.4717, 0.4782 , 0.5826, 0.6136) ملغم/غم وزن جاف للتركيز5 ملغم /لتر و(0.2753, 0.5117, 0.5302, 0.5305) ملغم/غم وزن جاف للتركيز 7.5 ملغم /لتر على التوالي.



شكل (3-35) معدل تركيز معدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن



شكل (3-36) معامل التركيز الحيوي لمعدن الكادميوم المتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاثة معادن

بينت نتائج الدراسة الحالية في تجربة خلط ثلاثة معادن معا الرصاص و النيكل والكادميوم ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في مراكمة المعادن الثلاثة في انسجته اذ لوحظ ارتفاع معدل تراكم الرصاص و الكادميوم والنيكل في نبات الشمبلان وكذلك ارتفاع معامل التركيز الحيوي عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وللتراكيز الثلاثة (2.5 , 5 , 7.5) ملغم /لتر على التوالي اذ بلغ أعلى معدل تراكم لمعدن الرصاص (3.5362) ملغم/غم وللنيكل (2.2706) ملغم/غم وللكادميوم (3.9789) ملغم/غم وزن جاف عند التركيز(7.5)ملغم /لتر بينما ببلغت أعلى قيمة لمعامل التركيز الحيوي للرصاص (0.5817) ملغم/غم عند التركيز(5) ملغم /لتر وللنيكل (0.4617) ملغم/غم عند التركيز

(2.5) ملغم /لتر وللكادميوم (0.6136) ملغم/غم عند التركيز(5) ملغم /لتر بعد مرور 20 يوما من المعالجة اي ان تركيز المعدن المتراكم ازداد داخل النبات وكذلك ازدياد قيمة معامل التركيز الحيوي بزيادة الفترة الزمنية للتعرض لكنه ينخفض بزيادة التركيز وهذه النتائج تتوافق مع دراسة (صبار,2015) كما أظهرت النتائج ان نبات الشمبلان سجل كفاءة عالية في مراكمة معدن الرصاص وقد يُعزى ذلك إلى احتلال غالبية المواقع النشطة بواسطة الرصاص الذي تم التقاطه من الاوساط المحيطة اذ توفر الأوراق العائمة والقشرة الرقيقة لـنبات الشمبلان سطحًا أعلى لإمتصاص الرصاص مما يجعلها مادة نباتية جيدة للرصاص وهذا يتوافق مع ما توصلت اليه دراسة(El-Khatib *et al.*,2014) ومن ثمّ يمكن اعتماد نبات الشمبلان كمؤشر حيوي موثوق به لتلوث المياه بالمعادن الثقيلة وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (Polechohska & Klink, 2021), كما اظهر النبات كفاءة عالية في اختزال معدن النيكل داخل انسجته عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن ولكن قيمة معامل التركيز الحيوي تنخفض مع زيادة التركيز وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة(مهدي,2018). وكذلك سجل النبات كفاءة عالية في اختزال معدن الكادميوم عند زيادة المدة الزمنية للتعرض للمعدن وهذا يتفق مع دراسة (الأسدي, 2014).

ومما تقدم فيلاحظ ان نبات الشمبلان المستعمل اظهر كفاءة عالية في معالجة المعادن الثقيلة وهذا ربما يعود سببه الى الظروف المحيطة بالنبات كدرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني والمغذيات اضافة الى تركيز المعدن الثقيل في المياه ومدة التعرض وعمر النبات فضلا عن الخصائص الفسلجية والوراثية للنبات وهذا يتفق مع دراسة (Farooqi *et al.* , 2021) .

3-3 تحليل مؤشرات RAPD و ISSR

تم عزل الحامض النووي DNA من عينة السيطرة وجميع المعاملات ضمن التجربة بكميات مناسبة تراوحت النقاوة بين 1.8-1.9 اعتماداً على قراءة الامتصاص لطيف الاشعة فوق البنفسجية Spectrophotometer عند الطول الموجي 260 و 280 نانوميتر وبعد الحصول على كمية DNA المطلوبة تم اجراء تفاعلات الـ RAPD و ISSR المعتمدة على PCR لخمس بادئات لكل منهما, تم الحصول على نتائج التضاعف المتمثلة بظهور حزم (Bands) تختلف في اعدادها واحجامها الجزيئية باختلاف البادئ المستخدم والناتجة من الاختلاف في عدد المواقع المكملة لذلك البادئ.

1-3-3 تحليل مؤشرات RAPD

ثلاث بادئات لمؤشرRAPD اعطت نواتج تضاعف لتفاعل PCRمختلفة في الاعداد والاحجام الجزيئية اذ تراوحت احجام الحزم بين (100-900Pb) باختلاف عينات المعاملة المدروسة كما يلاحظ فقدان الحزم في بعض العينات. واثنين من البادئات لم تعط اية نتيجة على الرغم من اعادتها أكثر من مرة.

جدول (3-13) تضاعف بادئات مؤشر RAPD المعتمدة على PCR للمعاملات المستخدمة

no.	Name of primer	number Total of bands	Polymorphic bands	Monomorphic bands	Percentage polymorphism	rare bands	primer efficiency	discriminatory value	G +C content
1	OP-A05	102	4	3	%44.44	2	0.040	%36.36	60
2	Op-C01	78	4	2	%57.14	1	0.051	%36.36	60
3	Op-D03	108	3	4	%37.50	1	0.027	%27.27	70
4	Op-A15	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	60
5	Op-E15	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	

3-3-1-1 تحليل نتائج تضاعف البادئ OP-A05

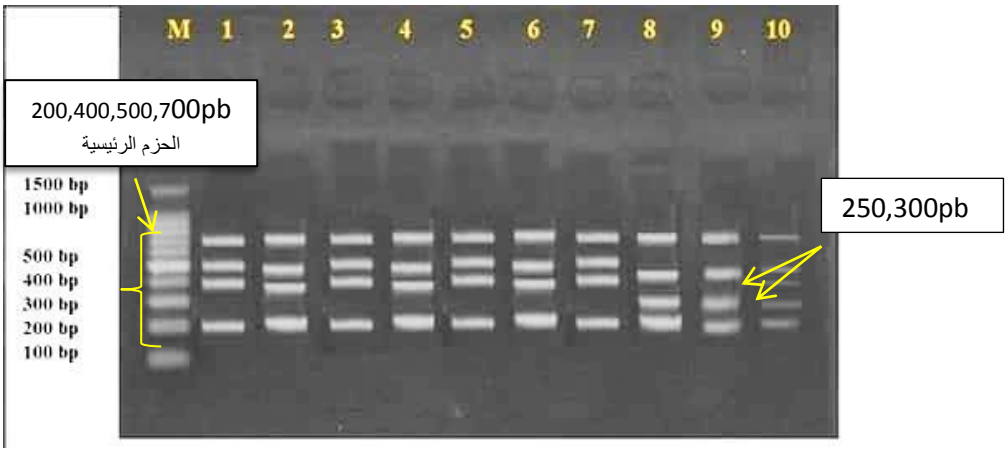
أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ OP-A05 في الجدول (3-13) إنتاجه تسعة حزم رئيسية تراوحت احجامها بين(100-700Pb) تضمنت اربع حزم متعددة الأشكال Polymorphic bands وثلاث حزم احادية الأشكال Monomorphic bands و حزمتين نادرة rare bands . أما العدد الكلي للحزم المتضاعفة بلغ 102 حزمة في جميع المعاملات مع السيطرة(جدول 3-13) ، بلغ أكبر عدد من الحزم المتضاعفة هو ست حزم (شكل 3-38)(شكل 3-39) تم الحصول عليها في معاملة تداخل معدني الرصاص و الكادميوم وتداخل معدني الكادميوم والنيكل و معاملة التداخل لثلاثة معادن بتركيز (7.5) ملغم /لتر .

في الشكل (3-37) نلاحظ تشابه نتائج تضاعف PCR بين عينة السيطرة وعينات المعاملة المفردة لجميع تراكيز الرصاص و النيكل اذ أظهرت نتائج التضاعف اربع حزم بينما ظهرت حزمة جديدة بحجم 250pb وإختفاء حزمة بحجم 500pb في معاملتي الكادميوم للتراكيز (2.5,5) ملغم /لتر

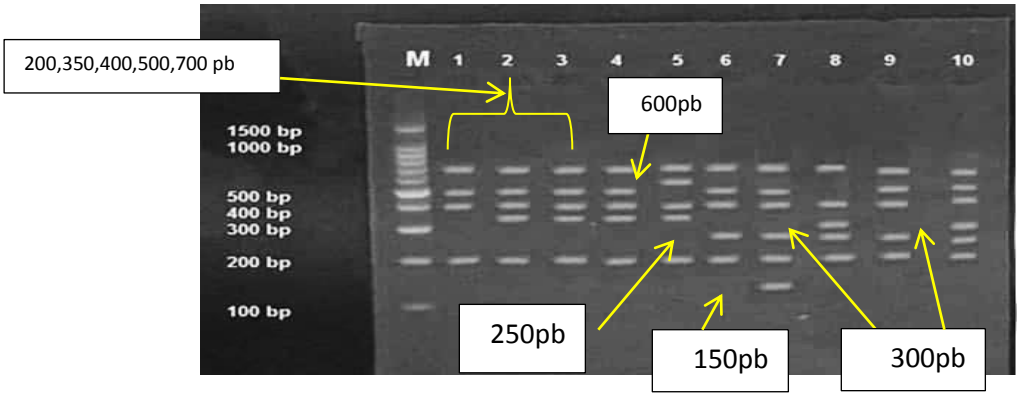
أما معاملة الكادميوم بتركيز(7.5) ملغم /لتر ظهرت حزمتين بحجم 300pb, 250 وإختفاء حزمة بحجم 500pb , قد تظهر على النبات بعض الأعراض عندما يزداد تركيز الكادميوم في النسيج النباتي كاصفرار وذبول أوراق النبات بسبب اجهاد الكادميوم وهذا يتفق مع دراسة (Ismael *et al.*,2019).

الشكل (3-38) يوضح نتائج تضاعف PCR للبادئ OP-A05 لتداخل معدنين اذ نلاحظ تشابه عدد الحزم الناتجة من تضاعف معاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل ولجميع التراكيز المستخدمة للمعدنين بظهور حزمة جديدة بحجم 350pb ,أما معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتركيز (2.5) ملغم /لتر فقد أظهرت حزمتين جديدتين بحجم 350pb 600pb مع غياب حزمة بحجم 500 pb بينما أظهرت معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتركيز(5)ملغم /لتر حزمتين جديدتين بحجم 250,600pb وحزمة جديدة بحجم 250pb و حزمة نادرة بحجم 150 pb للتركيز(7.5) ملغم /لتر . أما معاملة التداخل بين معدني الكادميوم والنيكل للتركيز(5)ملغم /لتر أظهرت حزمة جديدة بحجم 250 pb بينما معاملة التداخل للتركيز(7.5 , 2.5) ملغم /لتر تشابهت بظهور حزمتين جديدتين بحجم 250,300 pb مع غياب حزمة بحجم 500 pb عند التركيز(2.5)ملغم /لتر . وهذا يشير الى تأثيرات السمية الجينية للكادميوم على الحامض النووي للنبات اذ ان التراكيز المرتفعة للكادميوم يكون لها تأثير سام على مستويات التعبير الجيني وكذلك توثر سلبا الصفات المظهرية والفسيولوجية للنبات وهذا يتفق مع دراسة (Jinadasa *et al.*,2016 ; Gzyl *et al.*,2015).

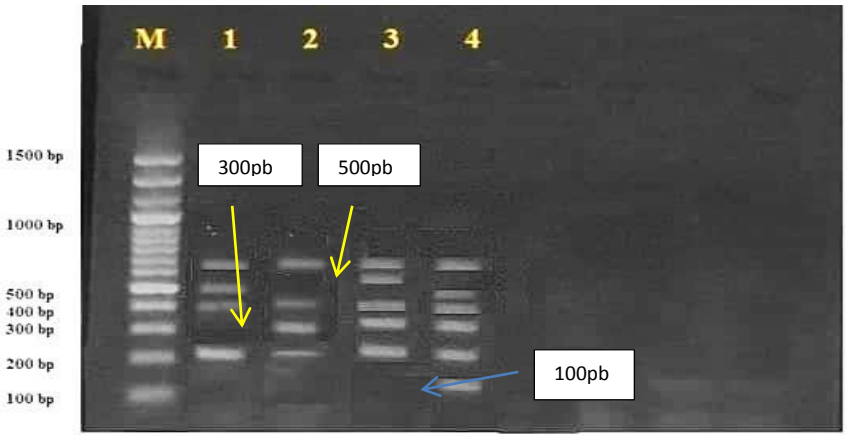
أما الشكل (3-39) يوضح نتائج تضاعف PCR للبادئ OP-A05 لتداخل ثلاثة معادن أظهرت معاملات التداخل الثلاثي للمعادن لجميع التراكيز ظهور حزمة بحجم 300pb وإختفاء حزمة بحجم 500pb في معاملة(2.5) ملغم /لتر فقط وظهور حزمة نادرة بحجم 100pbعند التركيز (7.5) ملغم /لتر . اذ يؤثر التعرض للمعادن الثقيلة السامة كالرصاص والكادميوم الى زيادة إنتاج الجذور الحرة Reaction Oxygen Species(ROS) التي تسبب تلف الحامض النووي في مجموعة متنوعة من النباتات (Silveira *et al.*,2017 ; Cao *et al.*,2018). ومن خلال نتائج التضاعف تم حساب نسبة تعدد الأشكال لهذا البادئ فكانت 44.44% وبلغت كفاءة البادئ 0.040 بينما ببلغت قيمته التمييزية 36.36%(جدول 3-13).



شكل (3-37) تضاعف البادئ OP-A05على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- pb (2.5) 3- pb (5) 4- pb (7.5) 5- Ni (2.5) 6- Ni (5) 7- Ni (7.5) 8- Cd (2.5) 9- Cd (5) 10- Cd (7.5) .



شكل (3-38) تضاعف البادئ OP-A05على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- pb+Ni (2.5) 3- pb+Ni (5) 4- pb+Ni (7.5) 5- pb+Cd (2.5) 6- pb+Cd (5) 7- pb+Cd (7.5) 8- Cd+Ni (2.5) 9- Cd+Ni (5) 10- Cd+Ni (7.5).



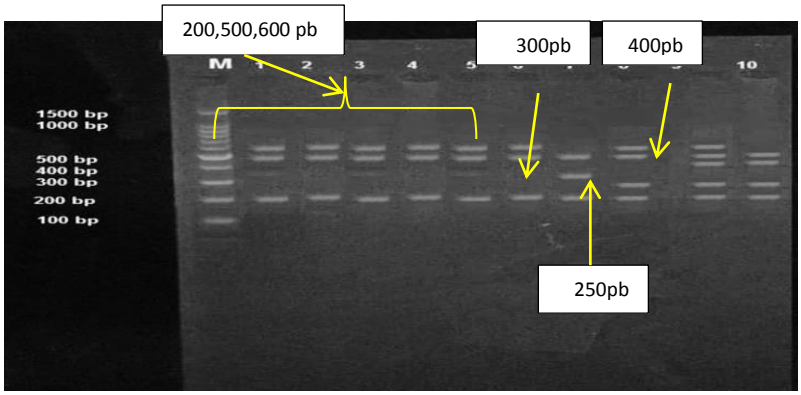
شكل (3-39) تضاعف البادئ OP-A05على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- Pb+Cd+Ni (2.5) 3- Pb+Cd+Ni (5) 4- Pb+Cd+Ni (7.5) pb+Cd+Ni.

3-3-1-2 تحليل نتائج تضاعف البادئ Op-C01

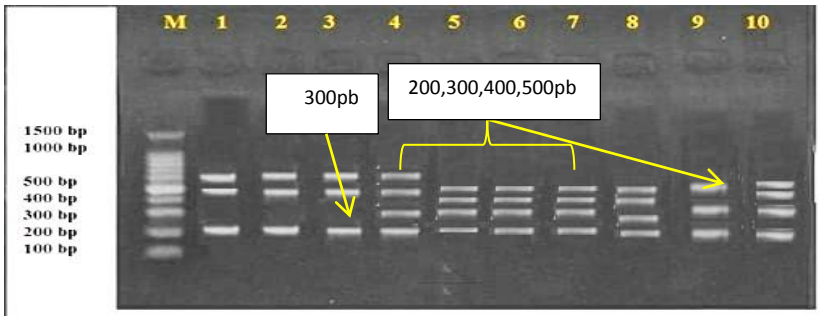
أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ Op-C01 في إنتاج سبعة حزم رئيسية تراوحت احجامها بين (200-600pb) تضمنت اربع الحزم متعددة الأشكال Polymorphic bands وحزمتين احادية الأشكال Monomorphic bands و حزمة واحدة نادرهrare bands . أما العدد الكلي للحزم المتضاعفة بلغ 78 حزمة في جميع المعاملات مع السيطرة(جدول 3-13) ، بلغ أكبر عدد من الحزم المتضاعفة هو خمسة حزم تم الحصول عليها في معاملة معدن الكادميوم بتركيز(5) ملغم /لتر(شكل 3-40) .

تبين الأشكال (3-40)و(3-41)و(3-42) تضاعف PCR للبادئ Op-C01 لجميع المعاملات مع السيطرة اذ أظهرت النتائج ان معاملات الرصاص لجميع التراكيز وكذلك المعاملة المفردة للنيكل ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر تتشابه مع معاملة السيطرة بظهور ثلاث حزم. أما المعاملة المفردة للنيكل للتركيز(7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الكادميوم والنيكل للتركيز(5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل ثلاثة معادن للتركيز(2.5)ملغم /لتر فقد بينت النتائج ظهور حزمة جديدة بحجم 300pb وإختفاء حزمة بحجم 600pb اضافة الى الحزم الرئيسية. بينما ظهرت حزمة جديدة بحجم 250pb في معاملة الكادميوم للتركيز(2.5) ملغم /لتر أما معاملتي الكادميوم للتراكيز(5,7.5) ملغم /لتر فقد لوحظ ظهور حزمتين جديدتين بحجم 250,400pb مع غياب حزمة بحجم 600pb عند معاملة الكادميوم للتركيز (7.5) ملغم /لتر , ان معدن الكادميوم يسبب تلف الحامض

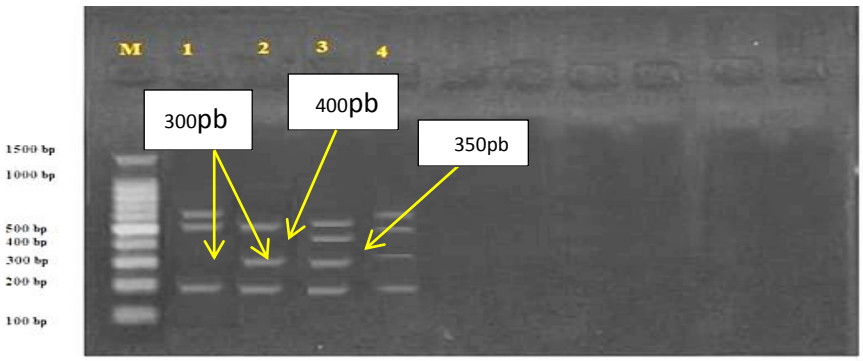
النووي لمجموعة كبيرة من النباتات (Huybrechts *et al.*,2019). كما ظهرت حزمة جديدة بحجم 300pb في معاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل للتركيز(7.5) ملغم /لتر وكذلك ظهور حزمتين جديدتين بحجم 300,400pb وإختفاء حزمة بحجم 600pb لمعاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم لجميع التراكيز ومعاملة تداخل معدني الكادميوم والنيكل للتراكيز (2.5,7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل ثلاثة معادن للتركيز(5)ملغم /لتر . كما بينت النتائج ظهور حزمة جديدة بحجم 350pb في معاملة تداخل ثلاث معادن للتركيز(7.5) ملغم /لتراضافة الى الحزم الرئيسة. ان التراكيز العالية لمعدن الكادميوم لها تأثير مثبط قوي على الصفات المظهرية وكذلك على الحامض النووي للنبات اذ إنَ التعرض لمعدن الكادميوم يحفز النبات على زيادة انتاج أنواع الأوكسجين التفاعلية(ROS) التي تسبب الانحرافات الصبغية والطفرات الجينية وتلف الحامض النووي الذي يؤثر على دورة الخلية وانقسام الخلية(*et* El Rasafi *al.*,2021) . ومن خلال نتائج التضاعف تم حساب النسبة تعدد الأشكال لهذا البادئ فكانت 57.14% وبلغت كفاءة البادئ 0.051 بينما بلغت قيمته التمييزية 36.36 %(جدول 3-13) .



شكل (3-40) تضاعف البادئ OP-C01على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- 3 pb (2.5) -4 pb (5) -5 (7.5) -6 Ni (2.5) -7 Ni (5) -8 Ni (7.5) -9 Cd (2.5) -10 Cd (5) -11 Cd (7.5) .



شكل (3-41) تضاعف البادئ OP-C01على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- pb+Ni (2.5) 3- pb+Ni (5) 4- pb+Ni (7.5) 5- pb+Cd (2.5) 6- pb+Cd (5) 7- pb+Cd (7.5) 8- Cd+Ni (2.5) 9- Cd+Ni (5) 10- Cd+Ni (7.5) .

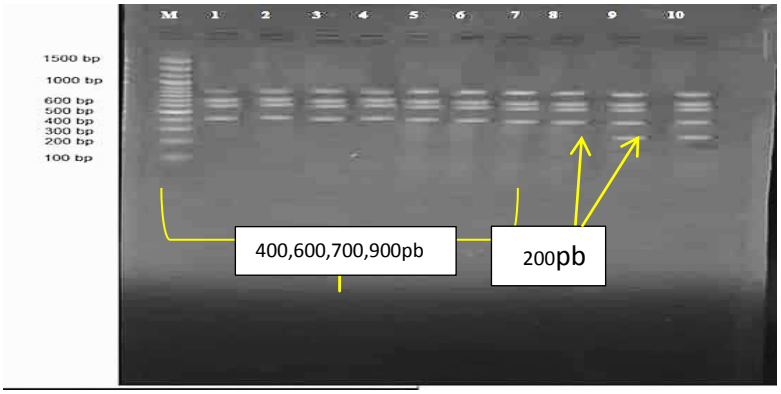


شكل (3-42) تضاعف البادئ OP-C01على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- Pb+Cd+Ni (2.5) 3- Pb+Cd+Ni (5) 4- Pb+Cd+Ni (7.5) pb+Cd+Ni.

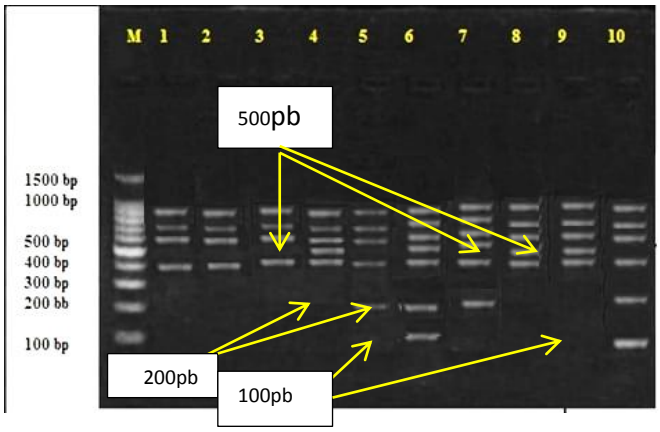
3-1-3-3 تحليل نتائج تضاعف البادئ OP-D03

أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ OP-D03 في إنتاج ثمانية حزم رئيسيه تراوحت احجامها بين(100 – 900pb) تضمنت ثلاث حزم متعددة الأشكال Polymorphic bands واربع حزم احادية الأشكال Monomorphic bands و حزمة واحدة نادرة rare bands . أما العدد الكلي للحزم المتضاعفة بلغ 108 حزمة في جميع المعاملات مع السيطرة(جدول 3-13) ، بلغ أكبر عدد من الحزم المتضاعفة هو سبع حزم تم الحصول عليها في معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم ذات التركيز (5)ملغم /لتر ومعاملة تداخل ثلاثة معادن ذات التركيز (7.5)ملغم /لتر(شكل 3-44)(شكل 3-45) .

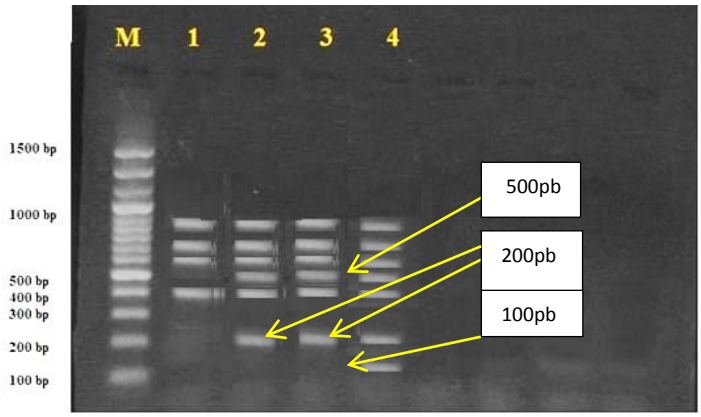
تظهر الأشكال (3-43) و (3-44)و(3-45)تضاعف PCR للبادئ OP-D03 لجميع المعاملات مع السيطرة اذ أظهرت النتائج ان جميع تراكيز المعاملات المفردة للرصاص والنيكل بالإضافة الى معاملة الكادميوم ذات التركيز(2.5) ملغم /لتر وكذلك معامل تداخل معدني الرصاص والنيكل للتراكيز (2.5,5) ملغم /لتر تتشابه مع معاملة السيطرة. أما معاملة الكادميوم للتراكيز(5,7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتركيز(2.5) ملغم /لتر فقد بينت النتائج ظهور حزمة جديدة بحجم 200pb . بينما لوحظ ظهور حزمة جديدة بحجم 500pb في معاملتي تداخل الرصاص والنيكل للتركيز(7.5 mg/L) ملغم /لتر والكادميوم والنيكل للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر . أما في معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتركيز(5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل ثلاث معادن للتركيز(7.5) ملغم /لتر فقد بينت النتائج ظهور ثلاثة حزم جديدة بحجم 100,200,500pb. بينما لوحظ ظهور حزمتين جديدتين بحجم 200,500pb في معاملتي تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتركيز(7.5) ملغم /لتر وتداخل ثلاثة معادن للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر. أما في معاملة تداخل معدني الكادميوم والنيكل للتركيز(7.5) ملغم /لتر فقد بينت النتائج ظهور حزمة جديدة بحجم 100pb وحزمة نادرة بحجم 300pb اضافة الى الحزم الرئيسة. ان تجاوز المعادن الثقيلة الحد المسموح به في البيئات يؤدي الى ظهور اعراض سمية مختلفة للنبات نتيجة تأثر الحامض النووي مما ينعكس على التغيرات الفسيولوجية المختلفة (Gautam *et al.*,2017). ومن خلال نتائج التضاعف تم حساب النسبة تعدد الأشكال لهذا البادئ فكانت 37.5% وبلغت كفاءة البادئ 0.027 بينما ببلغت قيمته التمييزية 27.27 %(جدول 3-13) .



شكل (3-43) تضاعف البادئ OP-D03على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control -2 pb (2.5) -3 pb (5) -4 pb (7.5) -5 Ni (2.5) -6 Ni (5) -7 Ni (7.5) -8 Cd (2.5) -9 Cd (5) -10 Cd (7.5) .



شكل (3-44) تضاعف البادئ OP-D03 على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- pb+Ni (2.5) 3- pb+Ni (5) 4- pb+Ni (7.5) 5- pb+Cd (2.5) 6- pb+Cd (5) 7- pb+Cd (7.5) 8- Cd+Ni (2.5) 9- Cd+Ni (5) 10- Cd+Ni (7.5).



شكل (3-45) تضاعف البادئ OP-D03على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- Pb+Cd+Ni (2.5) 3- Pb+Cd+Ni (5) 4- Pb+Cd+Ni (7.5) pb+Cd+Ni.

3-3-2 تحليل مؤشرات ISSR

من خلال تفاعل PCR نلاحظ إنَ اربع بادئات اعطت نتائج تضاعف تختلف في الاعداد والاحجام الجزيئية اذ تراوحت احجام الحزم بين (100-1100 Pb) باختلاف عينات المعاملة المدروسة كما يلاحظ فقدان الحزم في بعض العينات وظهور حزم جديدة وبأحجام مختلفة وبادئ واحد فقط لم يعطِ اية نتيجة على الرغم من اعادته أكثر من مرة(جدول 3-14) .

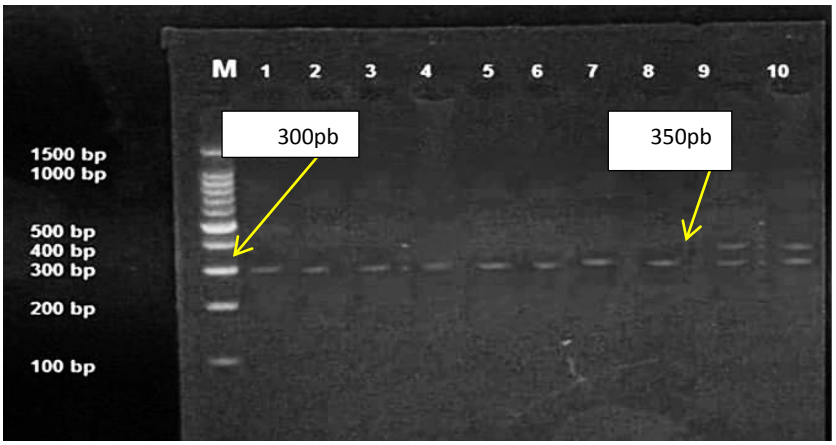
جدول (3-14) تضاعف بادئات مؤشر ISSR المعتمدة على PCR للمعاملات المستخدمة

no.	Name of primer	Sequence (5'-3')	Total number of bands	Polymorphic bands	Monomorphic bands	Percentage polymorphism	rare bands	primer efficiency	discriminatory value
1	14A	5'-*CTCTCTCTCTCTCTTG*-3'	30	1	1	%50	0	0.033	%11.11
2	B44	5'-CTCTCTCTCTCTCTGC-3'	80	5	2	%71	1	0.062	%55.55
3	HB10	5'-*GAGAGAGAGAGACC*-3'	56	1	2	%33	1	0.078	%11.11
4	HB12	5'-*CACCACCACGC*-3'	79	2	3	%40	0	0.025	%22.22
5	HB14	5'-CTCCTCCTCGC-3'	-----		-----	-----	-----	-----	-----

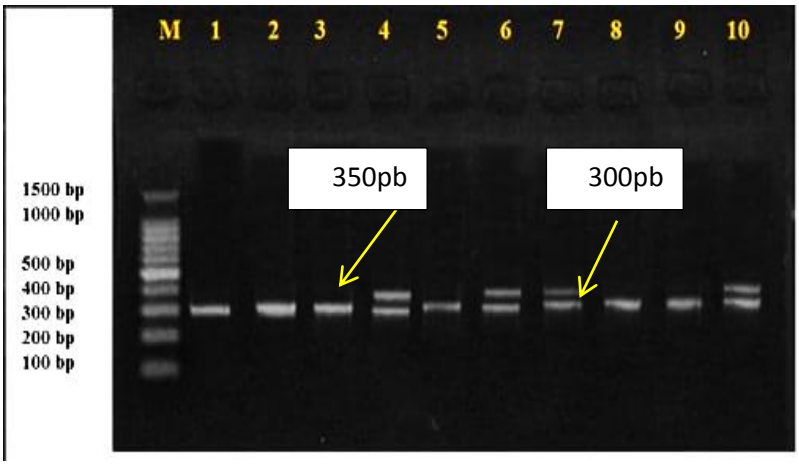
3-3-2-1 تحليل نتائج تضاعف البادئ (14A)

أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ 14A إنتاج حزمتين تراوحت احجامها بين - (300350Pb) تضمنت حزمة واحدة متعددة الأشكال Polymorphic bands وحزمة واحدة احادية الأشكال Monomorphic bands . أما العد الكلي للحزم المتضاعفة فقد بلغ 30 حزمة لجميع المعاملات مع معاملة السيطرة(جدول 3-14) .

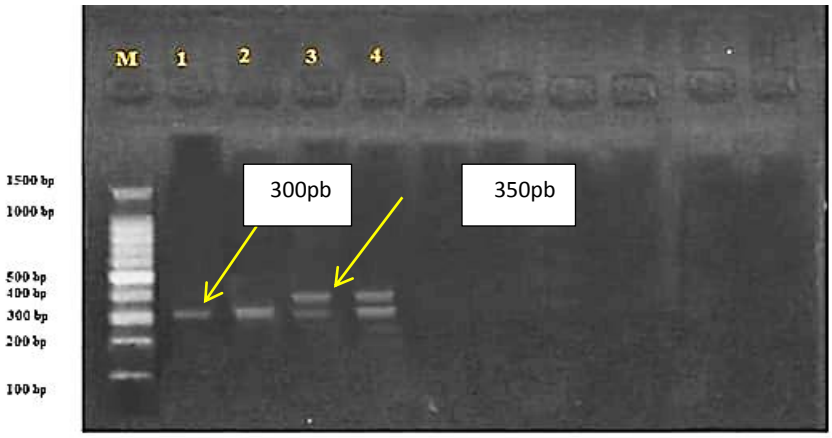
تبين الأشكال (3-46)و(3-47) و(3-48) نتائج تضاعف PCR للبادئ 14A اذ أظهرت نتائج التضاعف ان جميع تراكيز المعاملة المفردة للرصاص والنيكل وكذلك معاملة الكادميوم للتركيز(2.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل وتداخل الكادميوم والنيكل للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم ومعاملة تداخل ثلاث معادن للتركيز(2.5) ملغم /لتر تتشابه مع معاملة السيطرة (Al-muwayhi,2021). أما معاملة الكادميوم المفردة ومعاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم ومعاملة تداخل ثلاث معادن للتركيز للتراكيز (5,7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل ومعاملة تداخل الكادميوم والنيكل للتركيز (7.5) ملغم /لتر فقد أظهرت نتائج التضاعف ظهور حزمة جديدة بحجم 350 pb اضافة الى الحزمة الرئيسية. ان التعرض للتراكيز العالية من الكادميوم والرصاص يؤدي حدوث تغيرات في الحامض النووي للنبات (Taheri *et al.*,2013). ومن خلال نتائج التضاعف تم حساب نسبة تعدد الأشكال فكانت 50% وبلغت كفاءة البادئ 0.033 بينما بلغت قيمته التمييزية . 11.11%(جدول 3-14).



شكل (3-46) تضاعف البادئ (A 14) على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- pb (2.5) 3- pb (5) 4- pb (7.5) 5- Ni (2.5) 6- Ni (5) 7- Ni (7.5) 8- Cd (2.5) 9- Cd (5) 10- Cd (7.5) .



شكل (3-47) تضاعف البادئ (A 14) على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- pb+Ni (2.5) 3- pb+Ni (5) 4- pb+Ni (7.5) 5- pb+Cd (2.5) 6- pb+Cd (5) 7- pb+Cd (7.5) 8- Cd+Ni (2.5) 9- Cd+Ni (5) 10- Cd+Ni (7.5)



شكل (3-48) تضاعف البادئ (A 14) على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمـي القياسـي (M 100-1500 pb) لعينـات 1- Control 2- (2.5) Pb+Cd+Ni 3- .pb+Cd+Ni (7.5) 4- Pb+Cd+Ni (5)

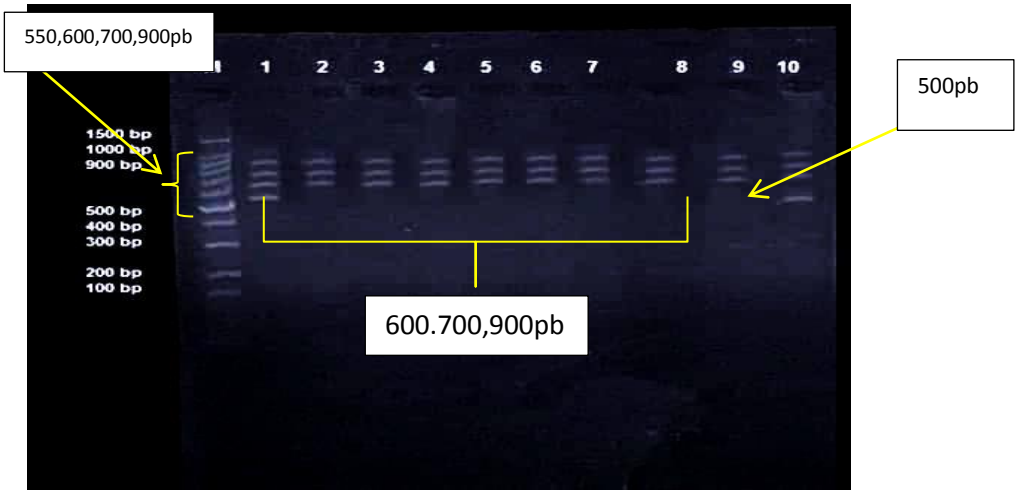
3-3-2-2 تحليل نتائج تضاعف البادئ (44B)

أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ **(**44B) إنتاج ثماني حزم تراوحت احجامها بين - (400950Pb) تضمنت خمس حزم متعددة الأشكال Polymorphic bands وحزمتين احادية الأشكال Monomorphic bands وحزمة واحدة نادرة rare band . أما العد الكلي للحزم المتضاعفة فقد بلغ 80 حزمة لجميع المعاملات مع معاملة السيطرة(جدول 3-14). بلغ اكبر عدد من الحزم المتضاعفة خمس حزم تم الحصول عليها في معاملة التداخل الثلاثي عند التركيز (7.5) ملغم /لتر (شكل 3-51).

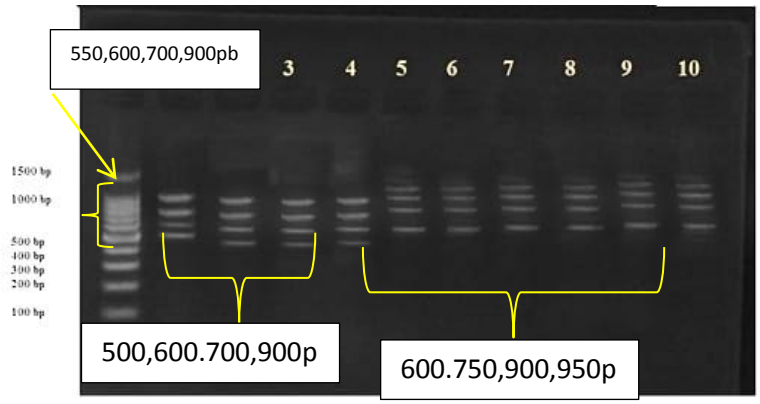
تبين الأشكال (3-49)و(3-50) و(3-51) نتائج تضاعف PCR للبادئ **(**44B) اذ لوحظ إختفاء حزمة بحجم 550pb في عينات المعاملة المفردة لجميع تراكيز الرصاص والنيكل والكادميوم مقارنة مع معاملة السيطرة وظهور حزمة جديدة بحجم 500pb في معاملة الكادميوم للتركيز(7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل لجميع التراكيز اضافة الى الحزم الرئيسية. أما معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم ومعاملة تداخل النيكل

والكادميوم ولجميع التراكيز فقد لوحظ إختفاء حزمتين بحجم (550,700pb) وظهور حزمتين جديدتين بحجم (750,950 pb) بينما أظهرت نتائج التضاعف لتداخل ثلاث معادن ولجميع التراكيز إختفاء حزمتين بحجم(550,700 pb) وظهور حزمتين جديدتين بحجم (500, 750 pb) اضافة الى ظهور حزمة نادرة بحجم 400pb عند التركيز(7.5) ملغم /لتر . تسبب التراكيز المرتفعة للمعادن الثقيلة كالرصاص والكادميوم تغيرات فسيولوجية بالإضافة الى حدوث تغيرات على مستوى الحامض النووي

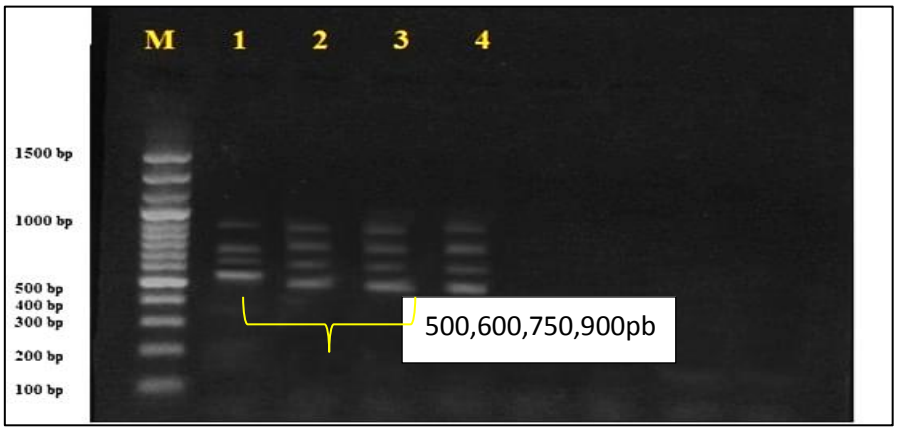
للنبات وهذا يتفق مع (Lanier *et al.*,2019) . ومن خلال نتائج التضاعف تم حساب نسبة تعدد الأشكال فكانت 71 %وببلغت كفاءة البادئ 0.062 بينما ببلغت قيمته التمييزية 55.55% (جدول 3-14) .



شكل (3-49) تضاعف البادئ **(**44B) على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات1- Control -2 Pb(2.5) -3 Pb(5) -4 pb(7.5) -5 Ni(2.5) -6 Ni(5) -7 Ni(7.5) -8 --– 10 Cd(5) -9 Cd(5) cd(7.5)



شكل (3-50) تضاعف البادئ **(**44B) على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control -2 pb+Ni (2.5) -3 pb+Ni (5) -4 pb+Ni (7.5) -5 pb+Cd (2.5) -6 pb+Cd (5) -7 pb+Cd (7.5) -8 pb+Cd (2.5) -9 Cd+Ni (5) -10 Cd+Ni (7.5)

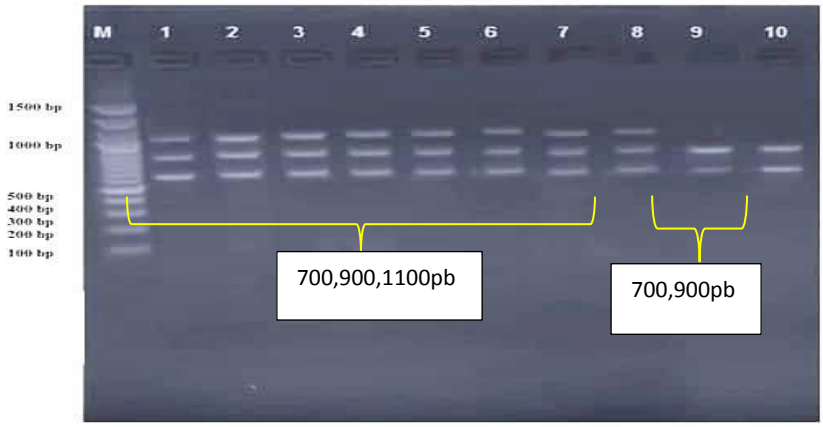


شكل (3-51) تضاعف البادئ **(**44B) على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- (2.5) Pb+Cd+Ni -3 Pb+Cd+Ni (5) -4 Pb+Cd+Ni (7.5) .pb+Cd+Ni

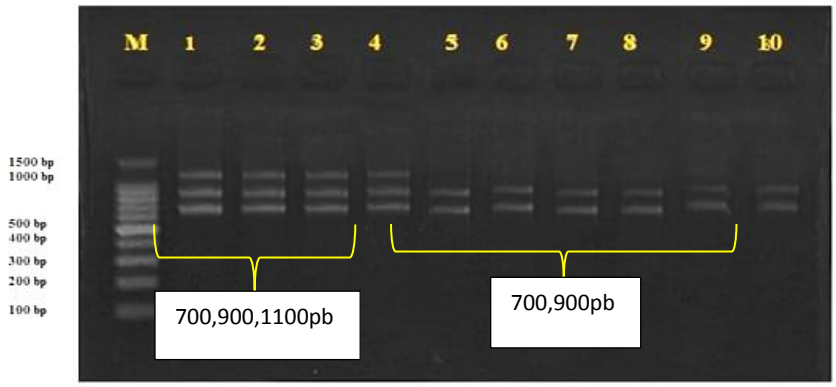
3-2-3-3 تحليل نتائج تضاعف البادئ (HB-10)

أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ **(**HB-10)إنتاج أربع حزم تراوحت احجامها بين (600-1100Pb) تضمنت حزمة واحدة متعددة الأشكال Polymorphic bands وحزمتين احادية الأشكال Monomorphic bands وحزمة واحدة نادرة rare band . أما العد الكلي للحزم المتضاعفة فقد بلغ 56 حزمة لجميع المعاملات مع معاملة السيطرة(جدول 3-14) .

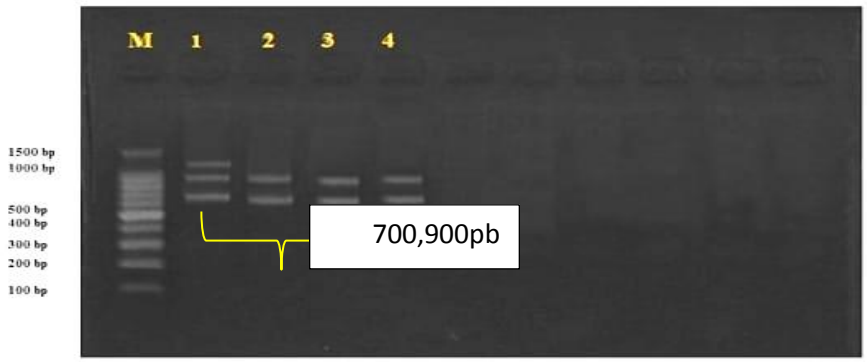
تظهر الأشكال(3-52)و(3-53)و(3-54) نتائج تضاعف PCR للبادئ **(**HB-10) اذ أظهرت النتائج ان المعاملات المفردة لجميع تراكيز الرصاص والنيكل ومعاملة الكادميوم للتركيز (2.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل لجميع التراكيز تتشابه مع معاملة السيطرة. أما معاملة الكادميوم المفردة للتراكيز(5,7.5) ملغم /لتر ومعاملات تداخل معدني الرصاص والكادميوم وتداخل النيكل والكادميوم ومعاملة تداخل ثلاثة معادن و لجميع التراكيز فقد أظهرت النتائج إختفاء حزمة بحجم 1100pb بينما لوحظ ظهور حزمة نادرة بحجم 600pb عند معاملة تداخل ثلاثة معادن للتركيز (7.5) ملغم /لتر. العديد من استجابات الإجهاد الخلوي تحدث بسبب التعرض لأيونات المعادن الثقيلة مما يتسبب في ظهور أضرار على المكونات الخلوية النباتية المختلفة بما في ذلك الأغشية والبروتينات والحامض النووي (Sudmoon *et al*.,2015). ومن خلال نتائج التضاعف تم حساب نسبة تعدد الأشكال فكانت 33% وبلغت كفاءة البادئ 0.078 بينما ببلغت قيمته التمييزية 11.11% (جدول 3-14) .



شكل (3-52) تضاعف البادئ HB-10على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات1- Control -2 Pb(2.5) -3 Pb(5) -4 pb(7.5) -5 Ni(2.5) -6 Ni(5) -7 Ni(7.5) -8 Cd(2.5) –9 Cd(5) -10 Cd(7.5)



شكل (3-53) تضاعف البادئ HB-10على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control -2 pb+Ni (2.5) -3 pb+Ni (5) -4 pb+Ni (7.5) -5 pb+Cd (2.5) -6 pb+Cd (5) -7 pb+Cd (7.5) -8 Cd+Ni (2.5) -9 Cd+Ni (5) -10 Cd+Ni (7.5) .



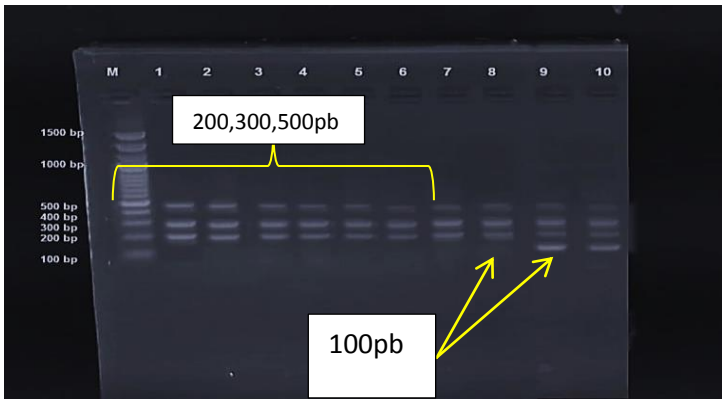
شكل (3-54) يظهر نتائج تضاعف البادئ **(HB-10)** على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- Pb+Cd+Ni (2.5) 3- Pb+Cd+Ni (5) 4- Pb+Cd+Ni (7.5) pb.

3-2-3-4 تحليل نتائج تضاعف البادئ (HB-12)

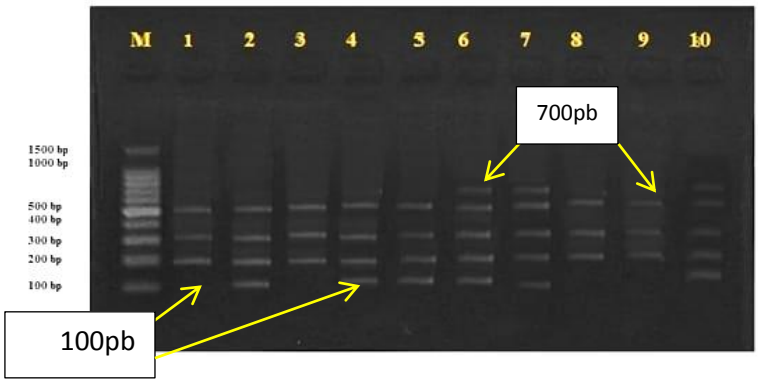
أظهرت نتائج تضاعف PCR للبادئ **(**HB-12)إنتاج خمسة حزم تراوحت احجامها بين (100- 700Pb) تضمنت حزمتين متعددة الأشكال Polymorphic bands وثلاثة حزم احادية الأشكال Monomorphic bands . أما العدد الكلي للحزم المتضاعفة فقد بلغ 79 حزمة لجميع المعاملات مع معاملة السيطرة (جدول 3-14) . بلغ اكبر عدد من الحزم المتضاعفة خمسة حزم تم الحصول عليها في معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتراكيز(5,7.5) ملغم /لتر ومعاملة التداخل لمعدني النيكل والكادميوم عند التركيز (7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل ثلاث معادن للتركيز(7.5)ملغم /لتر(شكل 3-56)(3-57) .

تبين الأشكال (3-55)و(3-56) و(3-57) نتائج تضاعف PCR للبادئ HB-12 اذا أظهرت نتائج التضاعف ان المعاملات المفردة لجميع تراكيز الرصاص والنيكل وكذلك معاملة الكادميوم ذات التركيز(2.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل للتركيز(5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني النيكل والكادميوم ومعاملة تداخل ثلاثة معادن وللتراكيز(2.5,5)ملغم /لتر تتشابه مع معاملة السيطرة . أما معاملة الكادميوم للتراكيز(5,7.5)ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل للتراكيز(2.5,7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتركيز(2.5) ملغم /لتر لوحظ ظهور حزمة جديدة بحجم 100pb اضافة الى الحزم الرئيسية. بينما لوحظ ظهور حزمتين جديدتين بحجم (100,700pb) في معاملة تداخل معدني الرصاص والكادميوم للتراكيز (5,7.5)ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني النيكل والكادميوم ومعاملة تداخل ثلاثة معادن للتركيز(7.5) ملغم /لتر. ان التعرض الى تراكيز عالية من المعادن الثقيلة يسبب حدوث تلف الحامض النووي للنبات وهذا يتفق

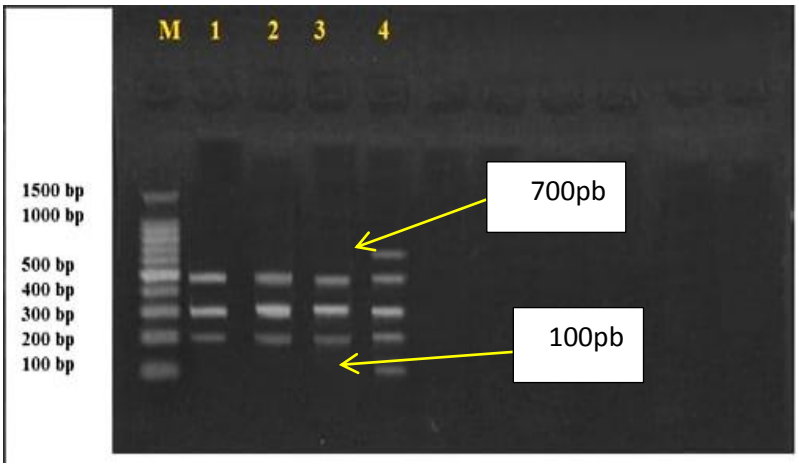
مع(Hu *et al.*,2016) من خلال نتائج التضاعف تم حساب نسبة تعدد الأشكال فكانت 40 %وببلغت كفاءة البادئ 0.025 بينما ببلغت قيمته التمييزية 22.22%(جدول 3-14) .



شكل (3-55) تضاعف البادئ HB-12على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات1- Control -2 Pb(2.5) -3 Pb(5) -4 pb(7.5) -5 Ni(2.5) -6 Ni(5) -7 Ni(7.5) -8 Cd(2.5) -9 Cd(5)- 10 Cd(7.5)



شكل (3-56) تضاعف البادئ HB-12على هلام الأكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي(M100-1500 pb) لعينات 1- Control -2 pb+Ni (2.5) -3 pb+Ni (5) -4 pb+Ni (7.5) -5 pb+Cd (2.5) -6 pb+Cd (5) -7 pb+Cd (7.5) -8 Cd+Ni (2.5) -9 Cd+Ni (5) -10 Cd+Ni (7.5) .



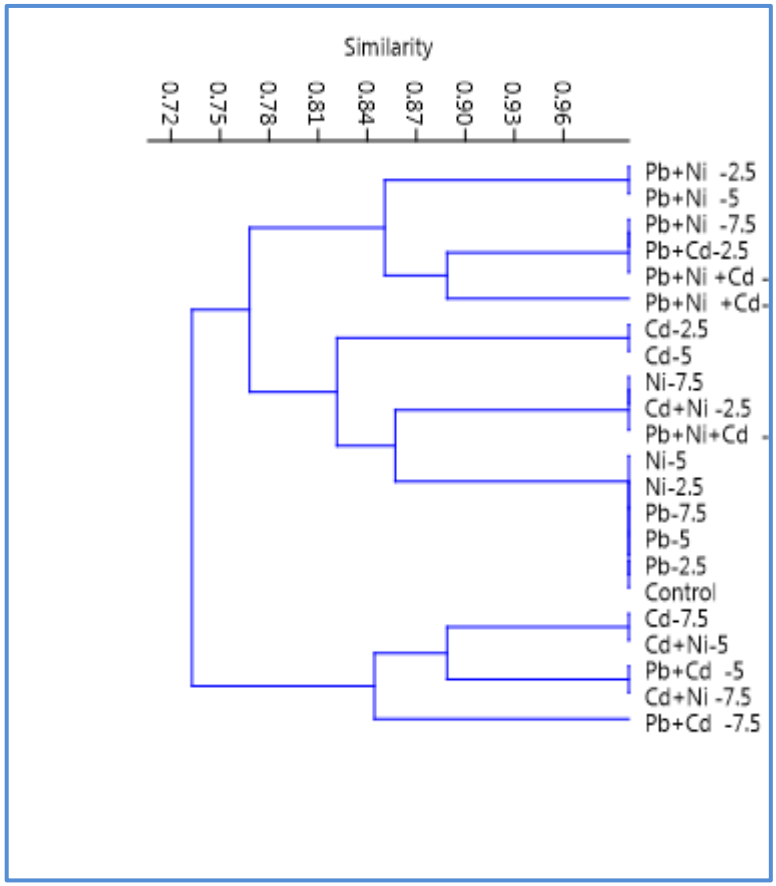
شكل (3-57) تضاعف البادئ (HB-12) على هلام الاكاروز بتركيز 1.5 % ولمدة 45 دقيقة مع الدليل الحجمي القياسي (M 100-1500 pb) لعينات 1- Control 2- (2.5) Pb+Cd+Ni 3- Pb+Cd+Ni (5) 4- Pb+Cd+Ni (7.5) pb+Cd+Ni.

4-3 شجرة العلاقة الوراثية :Relationship genetic Tree

بينت نتائج التحليل التجميعي من خلال رسم شجرة العلاقة الوراثية للإثنين وعشرين معاملة باستخدام مؤشرات RAPD عن مجموعتين رئيسيتين (Main Cluster) .ضمت المجموعة الرئيسية الأولى مجموعتين فرعيتين Sub-Cluster اذ لوحظ تشابه بنسبة 100% بين معاملة السيطرة و معاملات الرصاص المفردة لجميع التراكيز ومعاملتي النيكل للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر بينما قلت نسبة التشابه لتصل الى 85%في كل من معاملة النيكل بتركيز(7.5)ملغم /لتر ومعاملة الكادميوم للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر و معاملة التداخل لمعدني الرصاص والنيكل للتراكيز(2.5,5)ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الكادميوم والنيكل للتركيز(2.5) ملغم /لتر ومعاملة التداخل الثلاثي للمعادن بتركيز(2.5) ملغم /لتر(شكل 3-58) .

أي كلما ازدادت التراكيز المستخدمة للمعاملات قلت نسبة التشابه اذ وصلت الى 75% في معاملة الكادميوم للتركيز(7.5)ملغم /لتر ومعاملة تداخل معدني الرصاص والنيكل للتركيز(7.5) ملغم /لتر ومعاملة تداخل الرصاص والكادميوم للتركيز(2.5)ملغم /لتر ومعاملة التداخل الثلاثي للتركيز(5)ملغم /لتر ان الاختلاف في تسلسل الحامض النووي بسبب عوامل السمية الجينية للمعادن الثقيلة التي يتعرض لها النبات بكميات تتجاوز الحد المسموح به بعض الشيء أدى إلى انعكاسها في عدد الحزم كظهور حزم جديدة او إختفاء حزم أُخرى (Aslam *et al.*, 2014 ; Dogan *et al.*,2016).

كما إنخفضت نسبة التشابه في معاملة التداخل لمعدني الرصاص والكادميوم للتراكيز(5,7.5) ملغم /لتر وتداخل معدني النيكل والكادميوم للتركيز(7.5)ملغم /لتر ومعاملة التداخل الثلاثي للرصاص والنيكل والكادميوم للتركيز(7.5)ملغم /لتر مقارنة مع معاملة السيطرة لتصل الى 66% تتضمن الية التحمل في النباتات تخزين ومراكمة الكادميوم عن طريق ربطه بالببتيدات والأحماض الأمينية والبروتينات وان التراكيز العالية للمعادن الثقيلة تظهر السمية الجينية على النبات (Ahmed *et al.*,2018)

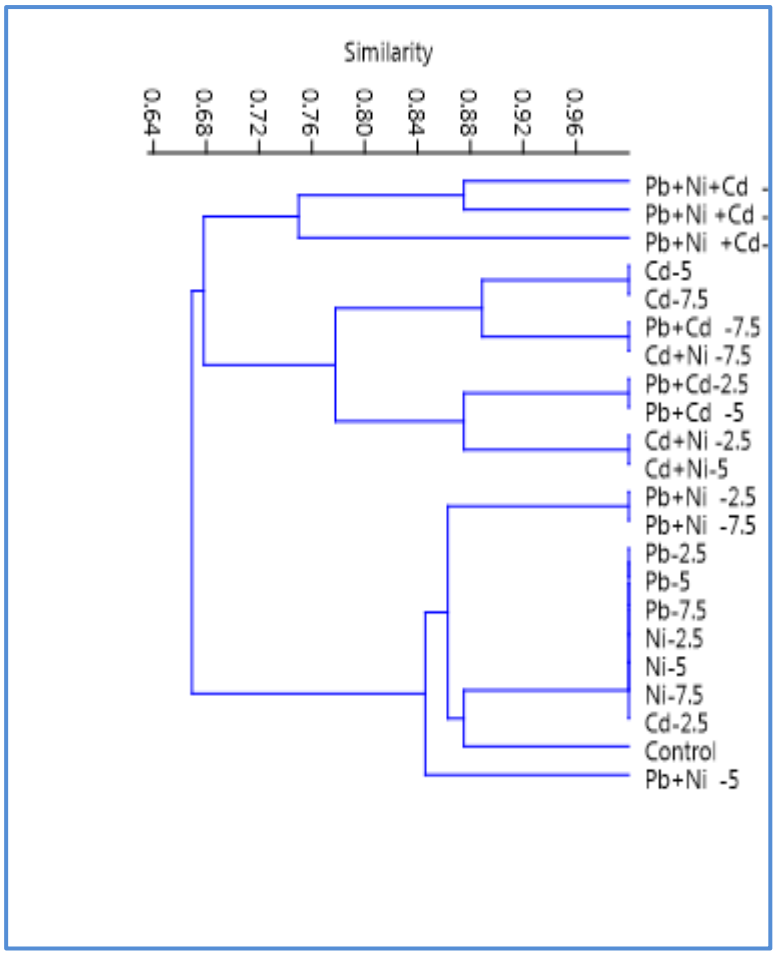


شكل (3-58) التحليل التجمعي لشجرة العلاقة الوراثية لاثنين وعشرين معاملة لنبات الشمبلان المعامل بثلاثة معادن ثقيلة بتراكيز مختلفة باستعمال مؤشر RAPD تحت مقياس Jaccard للتشابه.

بينت نتائج التحليل التجميعي باستخدام مؤشرات ISSR عن مجموعتين رئيسيتين (Main Cluster) ضمت المجموعة الرئيسة الأولى مجموعتين فرعيتين Sub-Cluster نلاحظ اختلاف كل من المعاملات المفردة للرصاص والنيكل لجميع التراكيز ومعاملة الكادميوم للتركيز(2.5) ملغم /لتر مع معاملة السيطرة بنسبة 15%اي نسبة التشابه 85%، معاملة التداخل للرصاص والنيكل لجميع التراكيز

تتشابه مع معاملة السيطرة بنسبة 75% . اذ تتمثل احدى التقنيات النباتية المهمة في إزالة سموم المعادن الثقيلة إنتاج مركبات مخلبية ذات وزن جزيئي منخفض ترتبط بالمعادن الثقيلة لمنع التصاق هذه المعادن بالبروتينات الضرورية بالعمليات الفسيولوجية ونقلها الى فجوات الخلية (Anjum *et al.*,2015) .

أما المجموعة الرئيسية الثانية فقد ضمت مجموعتين فرعيتين Sub-Cluster شملت معاملة الكادميوم للتراكيز(5,7.5)ملغم /لتر ومعاملة تداخل الرصاص و الكادميوم للتراكيز(2.5,5)ملغم /لتر بنسبة تشابه60% مع معاملة السيطرة أما معاملة تداخل معدني النيكل والكادميوم للتراكيز(2.5,5) ملغم /لتر تشابه بنسبة 66% مع معاملة السيطرة بينما معاملة تداخل الرصاص والكادميوم وتداخل النيكل والكادميوم للتركيز(7.5)ملغم /لتر تشابه مع معاملة السيطرة بنسبة 54%، ضمت المجموعة الفرعية الثانية معاملات التداخل الثلاثي للتراكيز(2.5,5,7.5) ملغم /لتر بنسبة تشابه مع معاملة السيطرة ببلغت(50,60,66%) على التوالي اذ ان المعادن الثقيلة السامة كالرصاص والكادميوم تزيد بشكل غير مباشر من إنتاج الجذور الحرة المتمثلة بال Reactive Oxygen Species(ROS) في النباتات مما يتسبب في الاجهاد التأكسدي على الرغم من ان (ROS) تؤدي ادوارا مهمة مثل جزيئات الاشارة الا انها يمكن ان تدمر الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والدهون والاحماض النووية في الخلايا عندما تكون موجودة بتراكيز عالية (Cuypers *et al.*,2016).



شكل (3-59) التحليل التجمعي لشجرة العلاقة الوراثية لإثنين وعشرين معاملة لنبات الشمبلان المعامل بثلاثة معادن ثقيلة بتراكيز مختلفة بإستعمال مؤشر ISSR تحت مقياس Jaccard للتشابه.

الفصل الرابع:

الإستنتاجات والتوصيات

4-الاستنتاجات والتوصيات Recommendation and Conclusions

4-1 الاستنتاجات : نستنتج من الدراسة الحالية ما يلي :

1- أثبت نبات الشمبلان كفاءته في إزالة المعادن الثقيلة من المياه اذ لوحظ ان أعلى نسبة إزالة كانت لمعدن الرصاص وتلاه معدني الكادميوم ثم النيكل.
2- لوحظ ازدياد معدل تراكم المعادن الثقيلة في انسجة النبات بزيادة المدة الزمنية للتعرض وكذلك ازدياد معامل التركيز الحيوي بزيادة المدة الزمنية للتعرض.
3- كان التأثير السلبي لمعدن الكادميوم المتراكم في انسجة النبات واضحا على النمو الظاهري وظهر ذلك من خلال العلاقة العكسية بين زيادة نسبة الإزالة الحيوية وإنخفاض النمو الظاهري للنبات.
4- نستنتج من الدراسة الحالية أن الحامض النووي قد يتضرر بسبب التعرض لعوامل الإجهاد ويمكن إظهار الاختلافات من خلال عدد الحزم اعتمادا على المؤشرات الجزيئية اذ نلاحظ كلما زاد تركيز المعادن وخصوصا معدن الكادميوم زادت الاضرار على الحامض النووي.

4 – 2 التوصيات

بالاعتماد على النتائج نوصي بما يلي :

1- نوصي باستخدام نبات الشمبلان في الإزالة الحيوية للمعادن الثقيلة المطروحة من فضلات المصانع والمياه الثقيلة والتي تكون بصورة متجمعة Multicompount_heavy metals وذلك بتصميم وحدات معالجة خاصة لهذا الغرض .
2- أجراء بحوث جديدة على النباتات المائية الأُخرى المنتشرة في البيئة العراقية لمعرفة قابليتها على الإزالة الحيوية للمعادن الثقيلة
3- نوصي بزيادة عدد بادئات المؤشرات المستخدمة في الدراسة و استخدام مؤشرات جزيئية أُخرى مثل تقنية تباين أطوال قطع الدنا المتضاعفة (RFLP) Resriction Fragment Length Polymorphism .
4- زيادة مدة التعرض اكثر لمتابعة سلوك الحامض النووي هل يعمل على اصلاح الاضرار من خلال برامج الاصلاح او تزداد اضرار الحامض النووي أكثر بزيادة مدة التعرض.
5- نوصي باستخدام تقنية Real Time PCR(RT-PCR) كونها اكثر دقة في تحديد الوقت الحقيقي للبدئ بالتضاعف وكذلك معرفة العدد الحقيقي لنسخDNA وتعد االأكثر موثوقية لتحديد الاستجابات التي قدمها النبات ضد سمية المعادن الثقيلة على مستوى التعبير الجيني.

6- نوصي بتطبيق تقنية المعالجة النباتية لإزالة الملوثات من المياه كونها صديقة للبيئة وقليلة التكلفة يمكن تطبيقها بعد تخفيف المياه الملوثة لزيادة كفاءة النبات في المعالجة .

المصادر

Referenc

المصادر العربية:

أبو ضاحي ، يوسف محمد. (1989). دليل تغذية النبات العملي . وزارة التعليم العالي ، جامعة بغداد ، دار النشر بيت الحكمة . صفحة 216.

الاسدي،رائد كاظم. (2014). استعمال بعض انواع الطحالب والنباتات المائية في المعالجة الحيوية لمياه محطات المعالجة في مدينة الديوانية / العراق.إطروحة دكتوراه ، كلية التربية/ جامعة القادسية . 106 صفحة.

الجريان،عبد الجبار جاسم.(2009).إزالة معدن الرصاص من المياه باستخدام نبات الشمبلانL *Ceratophyllum demersum* مختبريا. رسالة ماجستير،كلية العلوم/الجامعة المستنصرية. 98 صفحة.

الرفاعي، أسماء عبدعلي.(2021). تقييم كفاءة نبات الشمبلان وبعض أنواع البكتريا المعزولة محليا في المعالجة الحيوية لمياه الصرف الصحي في محافظة كربلاء المقدسة . رسالة ماجستير، كلية العلوم / جامعة كربلاء. 72-79 صفحة.

الشدود، علياء حسين طالب.(2012). دراسة بيئية للنبات المائي الشمبلان ودوره في إزالة معدن الكادميوم من مياه نهر الفرات عند مدينة الناصرية. كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ذي قار. 125صفحة.

الصفار،نبراس محمد عبد الرسول،كرم، ابتسام فريد علي و الموسوي.(2017). دراسة الأهمية البيئية لنبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum* في البيئة العراقية. مركز بحوث السوق وحماية المستهلك،جامعة بغداد/ العراق.

الطائـــــــي ، ميسون مهدي صالح. (1999). بعض العناصر النزرة في مياه ورواسب وأسماك ونباتات نهر شط الحلة. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم/ جامعة بابل. 129 صفحة.

الغانمي، حسين علاوي حسين.(2011). استخدام النباتات المائية أدلة حياتية على التلوث بالعناصر الثقيلة في نهر الفرات- العراق. رسالة ماجستير،كلية العلوم/ جامعة بابل. 105 صفحة.

الموصلي ، مظفر احمد داود ; البدراني ، وحيدة علي ; حسن ، فاتح عبد سيد و الراشدي ، صالح محمد . (2019) .تغذية النبات النظري والعملي . دار الكتب العلمية . بيروت - لبنان . 464 صفحة.

المياح ، عبد الرضا أكبر و الاسدي، وداد مزبان طاهر .(2012) . القدرة التراكمية لنباتي *Hydrilla verticillata* و *Ceratophyllum demersum* لبعض العناصر الثقيلة مختبرياً. *مجلة ابحاث البصرة العلمية*, 2(38), 72-85.

بكتاش وعبدالحميد.(2015). التغايرات الجزيئية بين سلالات من الذرة الصفراء.*مجلة العلوم الزراعية العراقية*،46 (3),291-299.

جاسم ، عادل قاسم.(2008) . تقييم مدى كفاءة النباتات المائية في تحسين نوعية مياه الاهوار الجنوبية وبعض القنوات الداخلية في مدينة البصرة ، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة / جامعة البصرة . ص 157.

حسين، فاطمة حسون ياسين.(2020). تقدير كفاءة نباتي الشمبلان وعدس الماء في معالجة بعض الملوثات البيئية. رسالة ماجستير،كلية علوم البيئة/ جامعة القاسم الخضراء. 1 صفحة.

حنف، رجاء عبد الكاظم.(2009). النباتات المائية كأدلة حياتية للتلوث بمعدني النحاس والرصاص في نهر شط العرب. رسالة ماجستير، كلية الزراعة/ جامعة البصرة.

احمد، زينة فائق & الكبيسي ،عبد الرحمن. (2014). اختبار القدرة التراكمية لنبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum L* . لبعض العناصر الثقيلة مختبريا . *مجلة الفرات للعلوم الزراعية*.6(3):220-229.

أحمد، زينة فائق (2014). إزالة معدني الخارصين والرصاص من المياه الملوثة باستعمال نبات الشمبلان *Ceratophyllum demersum L.* في نظام بيئي مائي . رسالة ماجستير ،كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد. 94 صفحة.

سلمان،جاسم محمد .(2006). دراسة بيئية لبعض الملوثات المحتملة في نهر الفرات بين سدة الهندية ومدينة الكوفة – العراق. اطروحة دكتوراه ،كلية العلوم / جامعة بابل.148 صفحة.

صبار، شهد رحيم . (2015) . الإزالة الحيوية لمعدني الرصاص والكادميوم من نظام بيئي مائي مختبري بإستعمال نبات الخويصة .*Vallisneria sp* . رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد. 100 صفحة.

عباس، أنسام صباح.(2015). قابلية بعض النباتات المائية على الإزالة الحيوية لمعدن الرصاص من الماء الملوث :دراسة مقارنة. رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد.

عباس، مؤيد فاضل ؛ العيداني ، طه ياسين و محمد، احمد رزاق (2014).المعالجة النباتية لتربة ملوثة العراقية .ص 40.

علكـــــــــم ، فؤاد منحر (2002) . تركيز بعض العناصر النزرة في مياه ونباتات نهر الديوانية – العراق . *مجلة القادسية* ، العلوم الصرفة ، 7 (4) , 190 -196.

كاظم ، نهى فالح . (2017).المعالجة الحيوية للعناصر الثقيلة باستخدام بعض الطحالب والنباتات المائية مع تحديد الاستجابات الكيموحيوية والجزيئية. إطروحة دكتوراه ،كلُية العلوم /جامعة بابل . صفحة178.

كاظم ،نهى فالح و الحاتمي، كريم طالب خشان.(2017). دراسة التغييرات الجزيئية والبايوكيميائية لبعض النباتات المستخدمة في المعالجة الحيوية للعناصر الثقيلة في المياه الصناعية والمنزلية في مدينة الحلة . *مجلة جامعة الكوفة للعلوم* , 9 (1) ,403 -416.

مكطوف ،افراح عبد ; الخفاجي ،باسم يوسف ; نهير، رشا صالح ; العنزي، ماجدة صباح. (2018).تقييم كفاءة نبات الشمبلان في معالجة مياه الصرف الصحي في محافظة ذي قار-جنوب العراق. *مجلة الهندسة والتكنولوجيا* ,36 (3) , 236-246.

مهدي ، ايناس عوني. **(2018).** تقييم كفاءة نوعين من النباتات المائية الغاطسة في إزالة معدني النيكل والرصاص ومعالجة المياه العادمة. رسالة ماجستير ، كلية العلوم / جامعة البصرة. 27 صفحة.

صالـح، ميـسون مهـــدي & حمـود، قاسـم عمـار. (2014). دراسة تأثير تراكيز من الزئبق على المحتوى البروتيني والكلوروفيل الكلي والكاروتين في بعض النباتات المائية . *مجلة جامعة بابل/ العلوم الصرفة والتطبيقية*.22(8):2040-2050.

Referances:

Abaychi, J. K., & Al-Obaidy, S. Z. (1987). Concentrations of trace elements in aquatic vascular plants from Shatt al. Arab river, Iraq. *Journal of Biological Sciences Research*, *18*(2), 123-129.

Abdallah, M. A. M. (2012). Phytoremediation of heavy metals from aqueous solutions by two aquatic macrophytes, *Ceratophyllum demersum* and *Lemna gibba* L. *Environmental technology*, 33(14), 1609-1614.

Adhikari, S., Biswas, A., Saha, S., Bandyopadhyay, T. K., & Ghosh, P. (2021). AFLP-based assessment of genetic variation in Indian elite cultivars of Cymbopogon species.

Adhikari, S., Saha, S., Biswas, A., Rana, T. S., Bandyopadhyay, T. K., & Ghosh, P. (2017). Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. The Nucleus, 60(3), 283-297.

Ahmed, Z. F., Ameer, Q. A. A., & Abbas, R. F. (2018). Knowing of accumulation capacity of [*Ceratophyllum demersum* L. and *Hydrilla verticillata* plant] when one plant is used to remove the copper element in a laboratory-contaminated water-polluting ecosystem. *Current Research in Microbiology and Biotechnology* , 6(1), 1501-1505.

Akinbile, C. O., Yusoff, M. S., & Shian, L. M. (2012). Leachate characterization and phytoremediation using water hyacinth (*Eichorrnia crassipes*) in Pulau Burung, Malaysia. *Bioremediation journal*, 16(1), 9-18.

Al Naggar, Y., Khalil, M. S., & Ghorab, M. A. (2018). Environmental pollution by heavy metals in the aquatic ecosystems of Egypt. Open Acc. J. Toxico,l (3), 555603.

Al-Abbawy, D. A., Al-Thahaibawi, B. M. H., Al-Mayaly, I. K., & YOUNIS, K. H. (2021). Assessment of some heavy metals in various aquatic plants of Al-Hawizeh Marsh, southern of Iraq. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(1).

Al-Ghanmi, Hussein Allawi, Hussein (2001) The Use of Aquatic Plants, My Life Evidence of Contamination with Heavy Elements in the Euphrates River - Iraq, Master Thesis, College of Science - University of Babylon.

Al-Muwayhi, M. A. (2021). Morpho-Physiological And Molecular Responses Of Cowpea (*Vigna Sinensis* L.) To Nickel Toxicity. *Applied Ecology And Environmental Research*, 19(3), 2171-2188.

Al-Qurainy, F. (2010). Application of inter simple sequence repeat (ISSR marker) to detect genotoxic effect of heavy metals on Eruca sativa (L.). *African Journal of Biotechnology*, 9(4).

Al-Rubaie, A. S. A., & Al-Kubaisi, A. R. A. (2015). Removal of lead from water by using aquatic plants (*Ceratophyllum demersum* and *Eichhorina crassipes*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(11), 45-51.

Al-Ubaidy, H. J., & Rasheed, K. A. (2015). Phytoremediation of cadmium in river water by ceratophyllum demersum. *World Journal Of Experimental Biosciences*, 3, 14-17.

Anand, S., Bharti, S. K., Kumar, S., Barman, S. C., & Kumar, N. (2019). Phytoremediation of heavy metals and pesticides present in water using aquatic macrophytes. Phyto and rhizo remediation, 89-119.

Anjum, N. A., Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., Thangavel, P., Roychoudhury, A., Gill, S. S., ... & Ahmad, I. (2015). Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants—an overview. Frontiers in Plant Science, 6, 192.

APHA (2003). American public Health Association. Standard methods for examination of water and wastewater, 20th, Ed. Washington .DC,USA.

APHA(American public health association).(2005).Standard methods for examination of water and wastewater.21the Ed. Washington, D.C,. U.S.A

Aravind, P., & Prasad, M. N. V. (2005). Cadmium-Zinc interactions in a hydroponic system using *Ceratophyllum demersum* L.: adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 3-20.

Ashraf, M. A., Maah, M. J., & Yusoff, I. (2011). Heavy metals accumulation in plants growing in ex tin mining catchment. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8(2), 401-416.

Aslam, R., Ansari, M. Y. K., Choudhary, S., Bhat, T. M., & Jahan, N. (2014). Genotoxic effects of heavy metal cadmium on growth, biochemical, cyto-physiological parameters and detection of DNA polymorphism by RAPD in *Capsicum annuum* L.–An important spice crop of India. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(5), 465-472.

Azizi, M. M. F., Lau, H. Y., & Abu-Bakar, N. (2021). Integration of advanced technologies for plant variety and cultivar identification. *Journal of biosciences*, *46*(4), 1-20.

Batir, M. B., Candan, F., Buyuk, I., & Aras, S. (2015). The determination of physiological and DNA changes in seedlings of maize (Zea mays L.) seeds exposed to the waters of the Gediz River and copper heavy metal stress. *Environmental monitoring and assessment*, 187(4), 1-9.

Beheary, M., M Sheta, B., Hussein, M., Nawareg, M., A El-Matary, F., & Hyder, A. (2019). Environmental Remediation of Tilapia Aquaculture Wastewater Using *Ceratophyllum demersum* and *Lemna minor*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 23(2), 379-396.

Bello, A. O., Tawabini, B. S., Khalil, A. B., Boland, C. R., & Saleh, T. A. (2018). Phytoremediation of cadmium-, lead-and nickel-contaminated water by *Phragmites australis* in hydroponic systems. Ecological engineering, 120, 126-133.

Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., ... & Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, *71*(3), 191-209.

Boonmee, S., Neeratanaphan, L., Tanee, T., & Khamon, P. (2015). The genetic differentiation of *Colocasia esculenta* growing in gold mining areas with arsenic contamination. *Environmental monitoring and assessment*, 187(5), 1-8.

Cameselle, C., & Gouveia, S. (2019). Phytoremediation of mixed contaminated soil enhanced with electric current. *Journal of hazardous materials*, 361, 95-102.

Cao, X., Wang, H., Zhuang, D., Zhu, H., Du, Y., Cheng, Z., ... & Liu, W. (2018). Roles of MSH2 and MSH6 in cadmium-induced G2/M checkpoint arrest in Arabidopsis roots. Chemosphere, 201, 586-594.

Carolin, C. F., Kumar, P. S., Saravanan, A., Joshiba, G. J., & Naushad, M. (2017). Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment: A review. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(3), 2782-2799.

Chatterjee, S. (2014). Assessment of Nelumbo nucifera and Hydrilla verticillata in the treatment of pharmaceutical industry effluent from 24 Parganas, West Bengal. *International Journal of Science and Engineering*, 7(2), 100-105.

Chen, M., Zhang, L. L., Li, J., He, X. J., & Cai, J. C. (2015). Bioaccumulation and tolerance characteristics of a submerged plant (*Ceratophyllum demersum* L.) exposed to toxic metal lead. Ecotoxicology and Environmental Safety, 122, 313-321.

Cobbett, C. S. (2000). Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. *Current opinion in plant biology*, 3(3), 211-216.

Cristaldi, A., Conti, G. O., Jho, E. H., Zuccarello, P., Grasso, A., Copat, C., & Ferrante, M. (2017). Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. Environmental Technology & Innovation, 8, 309-326.

Cuypers, A., Hendrix, S., Amaral dos Reis, R., De Smet, S., Deckers, J., Gielen, H., ... & Keunen, E. (2016). Hydrogen peroxide, signaling in disguise during metal phytotoxicity. Frontiers in Plant Science, 7, 470.

Cuypers, A., Plusquin, M., Remans, T., Jozefczak, M., Keunen, E., Gielen, H., ... & Smeets, K. (2010). Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals*, 23(5), 927-940.

Dotaniya, M. L., Panwar, N. R., Meena, V. D., Dotaniya, C. K., Regar, K. L., Lata, M., & Saha, J. K. (2018). Bioremediation of metal contaminated soil for sustainable crop production. In *Role of rhizospheric microbes in soil* (pp. 143-173). Springer, Singapore.

Das, S., Goswami, S., & TALUKDAR, A. D. (2016). Physiological responses of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, to cadmium and its phytoremediation potential. *Turkish Journal of Biology*, 40(1), 84-94.

de Campos, F. V., de Oliveira, J. A., da Silva, A. A., Ribeiro, C., & dos Santos Farnese, F. (2019). Phytoremediation of arsenite-contaminated environments: is *Pistia stratiotes* L. a useful tool?. Ecological Indicators, 104, 794-801.

Dhakshanamoorthy, D., Selvaraj, R., & Chidambaram, A. L. A. (2011). Induced mutagenesis in *Jatropha curcas* L. using gamma rays and detection of DNA polymorphism through RAPD marker. *Comptes Rendus Biologies*, 334(1), 24-30.

Dogan I, Ozyigit II, Tombuloglu G, Sakcali MS, Tombuloglu H. (2016). Assessment of Cd-induced genotoxic damage in *Urtica pilulifera* L. using RAPD-PCR analysis. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 30(2): 284–291

El Rasafi, T., Oukarroum, A., Haddioui, A., Song, H., Kwon, E. E., Bolan, N., ... & Rinklebe, J. (2021). Cadmium stress in plants: A critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1-52.

El Falaky, A. A., Aboulroos, S. A., Saoud, A. A., & Ali, M. A. (2004, March). Aquatic plants for bioremediation of waste water. In 8th International Water Technology Conference, IWTC8 (p. 361).

El-Khatib, A. A., Hegazy, A. K., & Abo-El-Kassem, A. M. (2014). Bioaccumulation potential and physiological responses of aquatic macrophytes to Pb pollution. *International journal of phytoremediation*, 16(1), 29-45.

Ely, C. S., & Smets, B. F. (2017). Bacteria from wheat and cucurbit plant roots metabolize PAHs and aromatic root exudates: implications for rhizodegradation. *International journal of phytoremediation* , 19(10), 877-883.

Enan, M. R. (2006). Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect the genotoxic effect of heavy metals. *Biotechnology and applied biochemistry*, 43(3), 147-154.

Fergusson, J. E. (1990). The heavy elements: chemistry, environmental impact adn health effects\Jack E. Fergusson (No. 628.53 F4.).

Farooqi, Z. U. R. (2021). Phytoremediation of inorganic pollutants: An eco-friendly approach, its types and mechanisms. *Plant and Environment*, 1(2), 110-129.

Favas, P. J., Pratas, J., Rodrigues, N., D'Souza, R., Varun, M., & Paul, M. S. (2018). Metal (loid) accumulation in aquatic plants of a mining area: Potential for water quality biomonitoring and biogeochemical prospecting. Chemosphere, 194, 158-170.

Fawzy, M. A., Badr, N. E. S., El-Khatib, A., & Abo-El-Kassem, A. (2012). Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. *Environmental monitoring and Assessment*, 184(3), 1753-1771.

Fernando, A. L., Barbosa, B., Costa, J., & Papazoglou, E. G. (2016). Giant reed (*Arundo donax* L.): A multipurpose crop bridging phytoremediation with sustainable bioeconomy. In Biore -mediation and bioeconomy (pp. 77-95). Elsevier.

Foroughi, M., Najafi, P., & Toghiani, S. (2011). Trace elements removal from waster water by Ceratophyllum demersum. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 15(1).

Foroughi, M., Najafi, P., Toghiani, S., Toghiani, A., & Honarjoo, N. (2013). Nitrogen Removals by Ceratophyllum Demersum from Wastewater. Residuals, 63.

Galal, T. M., Eid, E. M., Dakhil, M. A., & Hassan, L. M. (2018). Bioaccumulation and rhizofiltration potential of *Pistia stratiotes* L. for mitigating water pollution in the Egyptian wetlands. *International journal of phytoremediation*, 20(5), 440-447.

Gałczyńska, M., Mańkowska, N., Milke, J., & Buśko, M. (2019). Possibilities and limitations of using *Lemna minor*, Hydrocharis morsus-ranae and Ceratophyllum demersum in removing metals with contaminated water. *Journal of Water and Land Development*.No.40(1-111).161-172.

Gautam S, Rathoure AK, Chhabra A, Pandey SN. (2017). Effects of nickel and zinc on biochemical parameters in plants-a review. *Octa J Environ Res*. 5(1):14–21.

Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., & Ozturk, M. (2019). Heavy metal stress and responses in plants. *International journal of environmental science and technology*, 16(3), 1807-1828.

Giripunje, M. D., Fulke, A. B., & Meshram, P. U. (2015). Remediation techniques for heavy metals contamination in lakes: A mini-review. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 43(9), 1350-1354.

Gjorgieva Ackova, D. (2018). Heavy metals and their general toxicity on plants. *Plant Science Today*, 5(1), 15-19.

Golabia, M., Shokripoura, H., Moazeda, H., & Haghighib, N. J. (2019). Investigation of biosorption on *Ceratophyllum demersum* L. biomass: removal of cadmium (II) from aqueous solution . Desalination and Water Treatment, 157, 118-128.

Graham, J., & McNicol, R. J. (1995). An examination of the ability of RAPD markers to determine the relationships within and between Rubus species. Theoretical and Applied Genetics, 90(7-8), 1128-1132.

Greenfield, B. K., David, N., Hunt, J., Wittmann, M., & Siemering, G. (2004). Aquatic Pesticide Monitoring Program: Review of alternative aquatic pest control methods for California waters. San Francisco Estuary Institute.

Gulfraz, M., & Ahmad, T. (2001). Level of selected trace metals in the fish and relevant water from river Ravi. *Science Technology and Development*, *20*(1), 22-27.

Gupta, M., & Sarin, N. B. (2009). Heavy metal induced DNA changes in aquatic macrophytes: Random amplified polymorphic DNA analysis and identification of sequence characterized amplified region marker. *Journal of Environmental Sciences*, 21(5), 686-690.

Gzyl, J., Chmielowska-Bąk, J., Przymusiński, R., & Gwóźdź, E. A. (2015). Cadmium affects microtubule organization and post-translational modifications of tubulin in seedlings of soybean (*Glycine max* L.). Frontiers in plant science, 6, 937.

Hadidi, A., Levy, L., & Podleckis, E. V. (2017). Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In Molecular methods in plant pathology (pp. 167-187). CRC Press.

Hammond, C. M., Root, R. A., Maier, R. M., & Chorover, J. (2020). Arsenic and iron speciation and mobilization during phytostabilization of pyritic mine tailings. Geochimica et Cosmochimica Acta, 286, 306-323.

Hartl, D. L., & Jones, E. W. (2005). DNA Structure and DNA manipulation. Genetics: analysis of genes and genomes, 36-85.

Hassan, S. A. M., Mahfouze, H. A., Mahfouze, S. A., & Abd-Allatif, A. M. (2019). Genotoxicity assessment of nano-particles on micropropagated olive (*Olea europaea* L.) plants using RAPD and DAMD markers. Plant Arch, 19(2), 1985-1994.

Hassan, Z., & Aarts, M. G. (2011). Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants. *Environmental and Experimental Botany*, *72*(1), 53-63.

Hassoon, H. A. (2015). The Adsorption of Some Trace Heavy Metals from Aqueous Solution Using Non Living Biomass of Sub Merged Aquatic Plant Ceratophyllum demersum. *Iraqi Journal of Science*, 56(4A), 2822-2828.

Hendrix, S., Keunen, E., Mertens, A. I., Beemster, G. T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2018). Cell cycle regulation in different leaves of Arabidopsis thaliana plants grown under control and cadmium-exposed conditions. Environmental and experimental botany, 155, 441-452.

Hu, Z., Cools, T., & De Veylder, L. (2016). Mechanisms used by plants to cope with DNA damage. Annual review of plant biology, 67, 439-462.

Hunter, P. R., & Gaston, M. A. (1988). Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *Journal of clinical microbiology*, 26(11), 2465-2466.

Huybrechts, M., Cuypers, A., Deckers, J., Iven, V., Vandionant, S., Jozefczak, M., & Hendrix, S. (2019). Cadmium and plant development: an agony from seed to seed. *International journal of molecular sciences*, 20(16), 3971.

Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X., & Hu, C. (2019). Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. Metallomics, 11(2), 255-277.

Ighalo, J. O., & Adeniyi, A. G. (2020). Adsorption of pollutants by plant bark derived adsorbents: an empirical review. *Journal of Water Process Engineering*, 35, 101228.

Janna, H. (2021, February). Degradation of some heavy metals in wastewater using aqua plants. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering , 1067, (1): p. 012084 .

Jinadasa, N., Collins, D., Holford, P., Milham, P. J., & Conroy, J. P. (2016). Reactions to cadmium stress in a cadmium-tolerant variety of cabbage (*Brassica oleracea* L.): is cadmium tolerance necessarily desirable in food crops?. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(6), 5296-5306.

Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2012). Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *International journal of molecular sciences*, 13(3), 3145-3175.

Jones, J. B. (2001). *Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis* (No. BOOK). CRC press.

Karthika, K. S., Rashmi, I., & Parvathi, M. S. (2018). Biological functions, uptake and transport of essential nutrients in relation to plant growth. In Plant nutrients and abiotic stress tolerance (pp. 1-49). Springer, Singapore.

Khandare, R. V., & Govindwar, S. P. (2015). Phytoremediation of textile dyes and effluents: Current scenario and future prospects. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1697-1714.

Kumar, A., & Aery, N. C. (2016). Impact, metabolism, and toxicity of heavy metals in plants. In Plant responses to xenobiotics (pp. 141-176). Springer, Singapore.

Kumar, B., Smita, K., & Flores, L. C. (2017). Plant mediated detoxification of mercury and lead. Arabian Journal of Chemistry, 10, S2335-S2342.

Lytle, C. M., & Smith, B. N. (1995). Seasonal nutrient cycling in Potamogeton pectinatus of the lower Provo River. The Great Basin Naturalist, 164-168.

Labra, M., Di Fabio, T., Grassi, F., Regondi, S. M. G., Bracale, M., Vannini, C., & Agradi, E. (2003). AFLP analysis as biomarker of exposure to organic and inorganic genotoxic substances in plants. Chemosphere, 52(7), 1183-1188.

Lanier, C., Bernard, F., Dumez, S., Leclercq-Dransart, J., Lemiere, S., Vandenbulcke, F., ... & Deram, A. (2019). Combined toxic effects and DNA damage to two plant species exposed to binary metal mixtures (Cd/Pb). Ecotoxicology and environmental safety, 167, 278-287.

Lata, S., Kaur, H. P., & Mishra, T. (2019). Cadmium bioremediation: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(9), 4120-4128.

Lei, M., Wan, X., Guo, G., Yang, J., & Chen, T. (2018). Phytoextraction of arsenic-contaminated soil with Pteris vittata in Henan Province, China: comprehensive evaluation of remediation efficiency correcting for atmospheric depositions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 124-131.

Li, H., Bai, R., Zhao, Z., Tao, L., Ma, M., Ji, Z., ... & Liu, A. (2018). Application of droplet digital PCR to detect the pathogens of infectious diseases. *Bioscience reports*, 38(6), BSR20181170.

Limmer, M., & Burken, J. (2016). Phytovolatilization of organic contaminants. *Environmental science & technology*, 50(13), 6632-6643.

Lindsay, W. L. (1979). Chemical equilibria in soils. John Wiley and Sons Ltd..New York,449p.

Liu, K., & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 21(9), 2128-2129.

Liu, W., Li, P. J., Qi, X. M., Zhou, Q. X., Zheng, L., Sun, T. H., & Yang, Y. S. (2005). DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis . Chemosphere, 61(2), 158-167.

Lokuge, U. M. L. (2016). A study on the Phytoremediation Potential of Azolla pinnata under laboratory conditions. *Journal of Tropical Forestry and Environment*, 6(1).

Lu, X., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., & Homyok, K. (2004). Removal of cadmium and zinc by water hyacinth, Eichhornia crassipes. Science Asia, 30(93), 103.

Maktoof, A. A., & AL-Enazi, M. S. (2020). Use of two plants to remove pollutants in wastewater in constructed wetlands in southern Iraq. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 227-233.

Marbaniang, D., & Chaturvedi, S. S. (2014). Aquatic macrophytes as a tool for phytoremediation of heavy metals. Biology, biotechnology and sustainable development. Research India Publications, New Delhi, India, 62-85.

Mazumdar, K., & Das, S. (2021). Multi-metal effluent removal by Centella asiatica (L) Urban: Prospects in phytoremediation . Environmental Technology & Innovation, 22, 101511.

Mei, Z., Zhang, X., Khan, M. A., Imani, S., Liu, X., Zou, H., ... & Fu, J. (2017). Genetic analysis of Penthorum chinense Pursh by improved RAPD and ISSR in China. *Electronic Journal of Biotechnology*, 30, 6-11.

Meravi, N., & Prajapati, S. K. (2014). Biomonitoring the Genotoxicity of Heavy Metals/Metalloids Present. Phytoremediation: Manag- ement of Environmental Contaminants, Volume 1, 1, 169.

Merlot, S., de la Torre, V. S. G., & Hanikenne, M. (2021). Physiology and molecular biology of trace element hyperaccumulation. In Agromining: farming for metals (pp. 155-181). Springer, Cham.

Meti, N., Samal, K. C., Bastia, D. N., & Rout, G. R. (2013). Genetic diversity analysis in aromatic rice genotypes using microsatellite based simple sequence repeats (SSR) marker. *African Journal of Biotechnology*, 12(27), 4238-4250.

Mohamed, E. S. R., Ahmed, M. S., Tantawy, A. A., Gomaa, N. H., & Mahmoud, H. A. (2016). Phytoremediation of Pb+ 2, Cd+ 2 and Cu+ 2 by an Aquatic Macrophyte Azolla pinnata from industrial wastewater in Egypt. *Middle East J Appl Sci*, *6*(1), 27-39.

Molekularno, G. ; Markeri, K. O.Za ;Personalizovanu, M .(2014) Molecular Genetic Markers As A Basis For Personalized Medicine J . Med Biochem 33: 8–21

Muszyńska, E., & Labudda, M. (2019). Dual role of metallic trace elements in stress biology—From negative to beneficial impact on plants. *International journal of molecular sciences*, 20(13), 3117.

Mutlu, F., & Mutlu, B. (2015). Genotoxic effects of cadmium on tolerant and sensitive wheat cultivars. *Journal of Environmental Biology*, 36(3), 689.

Manara, A., Fasani, E., Furini, A., & DalCorso, G. (2020). Evolution of the metal hyperaccumulation and hypertolerance traits. *Plant, Cell & Environment*, *43*(12), 2969-2986.

Naz, M., Ghani, M. I., Sarraf, M., Liu, M., & Fan, X. (2021). Ecotoxicity of nickel and its possible remediation. In Phytoremediation (pp. 297-322). Academic Press.

Neeratanaphan, L., Boonmee, S., Srisamoot, N., Tanomtong, A., & Tengjaroenkul, B. (2016). Analysis of genetic similarity of Limnocharis flava individuals growing around a gold mining area with arsenic contamination. *Applied Ecology and Environmental Research*, 14(3), 105-114.

Neeratanaphan, L., Sudmoon, R., & Chaveerach, A. (2014). Assessment of Genotoxicity through ISSR Marker in Pistia stratiotes Induced by Lead. EnvironmentAsia, 7(2).

Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences, 76(10), 5269-5273.

Nejad, Z. D., Jung, M. C., & Kim, K. H. (2018). Remediation of soils contaminated with heavy metals with an emphasis on immobilization technology. *Environmental geochemistry and health*, 40(3), 927-953.

Ozyigit, I. I., Dogan, I., Igdelioglu, S., Filiz, E., Karadeniz, S., & Uzunova, Z. (2016). Screening of damage induced by lead (Pb) in rye (Secale cereale L.)–a genetic and physiological approach. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *30*(3), 489-496.

Parneyan, A., Chorom, M., Haghighi-Fard, N. J., & Dinarvand, M. (2011). Phytoremediation of nickel from hydroponic system by hydrophyte coontail (*Ceratophyllum demersum* L.). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 2(6), 75-85.

Parnian, A., Chorom, M., Jaafarzadeh, N., & Dinarvand, M. (2016). Use of two aquatic macrophytes for the removal of heavy metals from synthetic medium. *Ecohydrology & hydrobiology*, 16(3), 194-200.

Pervaiz, Z. H., Rabbani, M. A., Khaliq, I., Pearce, S. R., & Malik, S. A. (2010). Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(3), 4-5.

Polechońska, L., & Klink, A. (2021). Validation of Hydrocharis morsus-ranae as a possible bioindicator of trace element pollution in freshwaters using Ceratophyllum demersum as a reference species. Environmental Pollution, 269, 116145.

Rajendrakumar, P., Biswal, A. K., Balachandran, S. M., Srinivasarao, K., & Sundaram, R. M. (2007). Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions. *Bioinformatics*, 23(1), 1-4.

Rashid, A., Mahmood, T., Mehmood, F., Khalid, A., Saba, B., Batool, A., & Riaz, A. (2014). Phytoaccumulation, competitive adsorption and evaluation of chelators-metal interaction in lettuce plant. *Environmental Engineering & Management Journal* (EEMJ), 13(10).

Ratan, A., & Verma, V. N. (2014). Photochemical studies of Eichhornia crassipes (water hyacinth). International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy, 11.

Ruchuwararak, P., Intamat, S., & Neeratanaphan, L. (2020). Genetic Differentiation and Bioaccumulation Factor After Heavy Metal Exposure in Edible Aquatic Plants Near a Municipal Landfill. EnvironmentAsia, 13(3).

Salarizadeh, S., & Kavousi, H. R. (2015). Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect the genotoxic effect of cadmium on tow iranian ecotypes of cumin (*cuminum cyminum*). *Journal of Cell and Molecular Research*, *7*(1), 38-46.

Saleh, B. (2016). Genomic DNA changes in Ulva lactuca (Chlorophyta) under heavy metal stress. *International Journal of Environmental Sciences*, 7(3), 245-255.

Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). Molecular cloning: A laboratory manual. Mol. Cloning A Lab. Man.

Schulman, A. H. (2007). Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, *158*(3), 313-321.

Semagn, K., Bjørnstad, Å., & Ndjiondjop, M. N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African journal of biotechnology*, 5(25).

Shrivastava, M., Khandelwal, A., & Srivastava, S. (2019). Heavy metal hyperaccumulator plants: The resource to understand the extreme adaptations of plants towards heavy metals. In Plant-metal interactions (pp. 79-97). Springer, Cham.

Silveira, G. L., Lima, M. G. F., Dos Reis, G. B., Palmieri, M. J., & Andrade-Vieria, L. F. (2017). Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using Allium cepa L. and Lactuca sativa L. Chemosphere, 178, 359-367.

Soliman, M. I., Ibrahim, A. A., Rizk, R. M., & Naser, N. S. (2019). Phytoremediation, Biochemical and Molecular Studies of Some Selected Hydrophytes in Egypt. *Journal of Applied Sciences*, 19(7), 708-717.

Souri, Z., Cardoso, A. A., da-Silva, C. J., de Oliveira, L. M., Dari, B., Sihi, D., & Karimi, N. (2019). Heavy metals and photosynthesis: recent developments. Photosynthesis, Productivity and Environmental Stress, 107-134.

Sudmoon R, Neeratanaphan L, Thamsenanupap P, Tanee T. (2015). Hyperaccumulation of cadmium and DNA changes in popular vegetable, Brassica chinensis L. Int J Environ Res. 9:433–438.

Suman, J., Uhlik, O., Viktorova, J., & Macek, T. (2018). Phytoextraction of heavy metals: a promising tool for clean-up of polluted environment?. Frontiers in plant science, 9, 1476.

Taheri, S., Abdullah, T. L., Abdullah, N. A. P., & Ahmad, Z. (2013). Use of intersimple sequence repeat assay for detection of DNA polymorphism induced by gamma rays in *Curcuma alismatifolia*. HortScience, 48(11), 1346-1351.

Takhtadzhi͡an, A. L., Takhtajan, L. A., & Takhtajan, A. (1997). Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press.

Ulsido, M. D. (2014). Performance evaluation of constructed wetlands: A review of arid and semi arid climatic region. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 8(2), 99-106.

Umebese, C. E., & Motajo, A. F. (2008). Accumulation, tolerance and impact of aluminium, copper and zinc on growth and nitrate reductase activity of Ceratophyllum demersum (Hornwort). *Journal of Environmental Biology*, 29(2) 197-200.

Valavanidis, A., & Vlachogianni, T. (2010). Metal pollution in ecosystems. Ecotoxicology studies and risk assessment in the marine environment. Dept. of Chemistry, University of Athens University Campus Zografou, 15784.

Vardhan, K. H., Kumar, P. S., & Panda, R. C. (2019). A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids*, 290, 111197.

Viljoen, C. D., Dajee, B. K., & Botha, G. M. (2006). Detection of GMO in food products in South Africa: Implications of GMO labelling. *African journal of biotechnology*, *5*(2), 73-82.

Wahyudi, D., Hapsari, L., & Sundari, S. (2020). RAPD Analysis for Genetic Variability Detection of Mutant Soybean (*Glycine max* (L.) Merr). *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 5(1), 68-77.

Wang, P., Zhang, Y., Zhao, L., Mo, B., & Luo, T. (2017). Effect of gamma rays on Sophora davidii and detection of DNA polymorphism through ISSR marker. BioMed research international, , 6 pages.

Wang, Y., Liu, R. H., Zhang, Y. Q., Cui, X. Q., Tang, A. K., & Zhang, L. J. (2016). Transport of heavy metals in the Huanghe River estuary, China. *Environmental Earth Sciences*, 75(4), 288.

Wickramasinghe, S., & Jayawardana, C. K. (2018). Otential of aquatic macrophytes Eichhornia crassipes, Pistia stratiotes and Salvinia molesta in phytoremediation of textile wastewater. *Journal of water security*, 2018, vol. 4, p. 1-8.

Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic acids research, 18(22), 6531-6535.

Zhang, J., Zhou, F., Chen, C., Sun, X., Shi, Y., Zhao, H., & Chen, F. (2018). Spatial distribution and correlation characteristics of heavy metals in the seawater, suspended particulate matter and sediments in Zhanjiang Bay, China. *PLoS One*, 13(8), e0201414.

Zhang, Y., Li, X., & Wang, Z. (2013). Diversity evaluation of Salvia miltiorrhiza using ISSR markers. Biochemical genetics, 51(9-10), 707-721.

Zhao, C., Zhang, G., & Jiang, J. (2021). Enhanced phytoremediation of bisphenol a in polluted lake water by seedlings of ceratophyllum demersum and myriophyllum spicatum from in vitro culture. *International journal of environmental research and public health*, 18(2), 810.

الملاحق

ملحق(1) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والمتراكم في النبات

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
pb	5	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.5325 ± 0.2500**a**	0.8845 ± 0.0005**a**	0.9822 ± 0.3100**a**	1.8841 ± 0.0030**a**	1.8343 ± 0.4500**a**	2.5817 ± 0.0020**a**
	10	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.2840 ± 0.1000**ab**	0.9186 ± 0.0007**b**	0.5325 ± 0.2000**b**	1.9001 ± 0.0020**b**	1.5266 ± 0.3000**a**	2.6187 ± 0.0010**b**
	15	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.2781 ± 0.1000**ab**	0.9488 ± 0.0006**c**	0.4379 ± 0.1000**b**	1.9180 ± 0.0004**c**	0.6509 ± 0.1600**b**	2.8531 ± 0.001**0c**
	20	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.2130 ± 0.0800**b**	0.9599 ± 0.0008**c**	0.3609 ± 0.1800**b**	2.4009 ± 0.0003**d**	0.6320 ± 0.2400**b**	2.9404 ± 0.0030**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(2) معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والمتراكم في النبات

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Ni	5	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.1858 ± 0.4000**a**	0.2139 ± 0.2130**a**	2.6231 ± 0.1200**a**	0.4849 ± 0.0020**a**	4.4043 ± 2.1000**a**	0.5815 ± 0.0080**a**
	10	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	0.9765 ± 0.1000**a**	0.6714 ± 0.6710**b**	2.5335 ± 0.3500**a**	0.6247 ± 0.0010**b**	3.8637 ± 0.9800**a**	1.1390 ± 0.0060**b**
	15	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	0.9740 ± 0.3200**a**	0.9842 ± 0.9840**c**	2.2918 ± 0.2700**a**	1.2668 ± 0.0020**c**	3.6071 ± 1.0000**a**	2.2247 ± 0.0060**c**
	20	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.002**0a**	0.9116 ± 0.2200**a**	1.1834 ± 1.1830**d**	2.1219 ± 0.3000**a**	2.0869 ± 0.0040**d**	3.6010 ± 0.1200**a**	2.5610 ± 0.0070**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(3) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والمتراكم في النبات

التركيز 7.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 2.5mg/L		معاملة السيطرة		الفترات	المعدن
نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء		
0.7069 ± 0.0030**a**	2.6399 ± 0.6500**a**	0.4296 ± 0.0020**a**	1.8148 ± 0.7000**a**	0.2423 ± 0.0050**a**	1.0944 ± 0.3000**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.0179 ± 0.0100**a**	**5**	**Cd**
0.8754 ± 0.0050**b**	1.6046 ± 0.1200**b**	0.8209 ± 0.0060**b**	1.6223 ± 0.1200**a**	0.5059 ± 0.0010**b**	0.6620 ± 0.3020**ab**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.0179 ± 0.0100**a**	**10**	
0.8951 ± 0.0040**c**	1.4560 ± 0.5000**b**	0.8600 ± 0.0030**c**	1.2821 ± 0.2000**a**	0.6235 ± 0.0020**c**	0.6148 ± 0.2150**b**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.0179 ± 0.0100**a**	**15**	
0.9948 ± 0.0020**d**	1.2521 ± 0.2100**b**	0.8674 ± 0.004**0c**	1.1378 ± 0.8300**a**	0.7103 ± 0.0010**d**	0.4919 ± 0.1500**b**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.0179 ± 0.0100**a**	**20**	

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(4) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

التركيز 7.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 2.5mg/L		معاملة السيطرة		الفترات	المعدن
نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء		
0.6653 ± 0.0060 **a**	1.0380 ± 0.3000 **a**	0.1255 ± 0.0030 **a**	0.6130 ± 0.0500**a**	0.4319 ± 0.0040 **a**	0.3818 ± 0.1000 **a**	0.0066 ± 0.0010 **a**	0.0308 ± 0.0100 **a**	**5**	**Pb+Ni(pb)**
1.2110 ± 0.0040 **b**	0.6204 ± 0.1200 **b**	0.1663 ± 0.0040 **b**	0.4116 ± 0.0600**a b**	0.5450 ± 0.0050 **b**	0.3221 ± 0.1000 **a**	0.0066 ± 0.001**0** **a**	0.0308 ± 0.0100 **a**	**10**	
1.2400 ± 0.0080**c**	0.5980 ± 0.2200 **b**	0.1787 ± 0.0020**c**	0.3967 ± 0.0100**b**	0.5681 ± 0.006**0c**	0.2849 ± 0.0200 **a**	0.0066 ± 0.0010 **a**	0.0308 ± 0.0100 **a**	**15**	
2.3389 ± 0.0080 **d**	0.4564 ± 0.0400 **b**	0.2393 ± 0.0070 **d**	0.3218 ± 0.2000**b**	1.0125 ± 0.0080 **d**	0.2699 ± 0.0300 **a**	0.0066 ± 0.0010 **a**	0.0308 ± 0.0100 **a**	**20**	

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(5) معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والنيكل

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Pb+Ni (Ni)	5	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.2948 ± 0.0900**a**	0.1776 ± 0.0060**a**	3.9091 ± 1.0000**a**	0.1361 ± 0.0030**a**	4.3837 ± 2.0000**a**	0.2947 ± 0.0030**a**
	10	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.2399 ± 0.1500**a**	0.4761 ± 0.0040**b**	3.5058 ± 0.6800**a**	0.1430 ± 0.0080**a**	4.1697 ± 0.9800**a**	1.5813 ± 0.0080**b**
	15	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.1988 ± 0.3100**a**	0.5020 ± 0.0070**c**	3.3412 ± 0.2700**a**	0.1585 ± 0.0050**b**	4.0133 ± 0.9100**a**	1.6240 ± 0.0050**c**
	20	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.0891 ± 0.2000**a**	0.6459 ± 0.0040**d**	2.7706 ± 0.5000**a**	0.1760 ± 0.0070**c**	3.9447 ± 0.6600**a**	2.0053 ± 0.0090**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(6) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Pb+Cd (pb)	5	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.6577 ± 0.2000**a**	0.6391 ± 0.0040**a**	1.4183 ± 0.4000**a**	0.3166 ± 0.0060**a**	2.4399 ± 0.5200**a**	0.3414 ± 0.0050**a**
	10	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.5757 ± 0.1200**a**	0.7288 ± 0.0030**b**	1.0902 ± 0.3000**ab**	0.8230 ± 0.0050**b**	1.6569 ± 0.3500**b**	0.3713 ± 0.0030**b**
	15	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.5608 ± 0.0200**a**	0.9768 ± 0.0060**c**	1.0156 ± 0.2500**ab**	1.6662 ± 0.0040**c**	1.5302 ± 0.5000**b**	0.4042 ± 0.0060**c**
	20	0.0308 ± 0.0100**a**	0.0066 ± 0.0010**a**	0.4862 ± 0.1000**a**	1.0768 ± 0.0080**a**	0.8218 ± 0.2100**b**	2.6271 ± 0.0080**d**	1.1051 ± 0.1000**b**	2.6891 ± 0.0070**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(7) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط معدني الرصاص والكادميوم

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L^{-1}		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Pb+Cd (Cd)	5	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.3378 ± 0.3100**a**	0.7092 ± 0.0040**a**	2.5478 ± 1.0000**a**	0.2990 ± 0.0060**a**	3.8080 ± 0.7200**a**	0.4939 ± 0.0060**a**
	10	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.1036 ± 0.6000**a**	0.7335 ± 0.0050**b**	2.1951 ± 0.7200**a**	0.6005 ± 0.0090**b**	3.0530 ± 2.0000**a**	0.5156 ± 0.0070**b**
	15	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.0863 ± 0.4500**a**	0.8341 ± 0.006**0c**	1.9112 ± 0.3500**a**	1.0451 ± 0.0070**c**	2.3078 ± 0.3700**a**	1.1293 ± 0.0080**c**
	20	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.7880 ± 0.2000**a**	0.8385 ± 0.0080**c**	1.8066 ± 0.5000**a**	1.1069 ± 0.0110**d**	2.2893 ± 0.40000**a**	1.1464 ± 0.0090**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(8) معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل والكادميوم

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Cd+Ni (Ni)	5	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.4786 ± 0.1600**a**	0.1415 ± 0.0070**a**	2.4442 ± 0.6100**a**	1.3215 ± 0.0030**a**	4.0462 ± 0.4000**a**	1.5867 ± 0.004**0a**
	10	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.3798 ± 0.7000**a**	0.1579 ± 0.0050**b**	2.3921 ± 1.0000**a**	1.4215 ± 0.0020**b**	3.8076 ± 0.1000**a**	1.6833 ± 0.0060**b**
	15	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.3003 ± 0.5200**a**	0.1791 ± 0.0060**c**	2.3866 ± 0.8000**a**	1.4222 ± 0.0040**b**	3.7500 ± 0.3300**a**	2.0493 ± 0.0090**c**
	20	0.0526 ± 0.0200**a**	0.0183 ± 0.0020**a**	1.2513 ± 0.5200**a**	0.7749 ± 0.0050**d**	2.3619 ± 0.3500**a**	1.4581 ± 0.0040**c**	3.6238 ± 1.2100**a**	2.1366 ± 0.0080**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(9) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط معدني النيكل و الكادميوم

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Cd+Ni (Cd)	5	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.0724 ± 0.2500**a**	0.1470 ± 0.0050**a**	1.5332 ± 0.5000**a**	0.9540 ± 0.0060**a**	2.6848 ± 0.0000**a**	1.1064 ± 0.0100**a**
	10	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.9967 ± 0.0600**a**	0.1983 ± 0.006**0b**	1.4782 ± 0.4200**a**	1.0498 ± 0.0080**b**	2.2414 ± 0.0000**b**	1.1388 ± 0.0030**b**
	15	0.0179 ± 0.0100a	0.0035 ± 0.0010a	0.9400 ± 0.3400a	0.2321 ± 0.0070c	1.4436 ± 0.6100a	1.0754 ± 0.0070c	2.1188 ± 0.1500b	1.1555 ± 0.0040c
	20	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.7255 ± 0.1200**a**	0.7664 ± 0.0050**d**	1.0371 ± 0.3000**a**	1.0851 ± 0.0090**c**	1.9026 ± 0.0000**c**	1.1592 ± 0.0060**c**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(10) معدل تركيز معدن الرصاص في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
pb+Ni+cd (pb)	5	0.0308 ± 0.0100 **a**	0.0066 ± 0.0010 **a**	0.4872 ± 0.1000 **a**	0.7170 ± 0.0060 **a**	0.9682 ± 0.3200 **a**	1.7296 ± 0.0050 **a**	4.9521 ± 1.0000 **a**	1.4545 ± 0.0080**a**
	10	0.0308 ± 0.0100 **a**	0.0066 ± 0.0010 **a**	0.3515 ± 0.0500 **b**	0.7731 ± 0.0070 **b**	0.8695 ± 0.2500 **a**	1.8103 ± 0.0040 **b**	2.5716 ± 0.6000 **b**	3.0112 ± 0.0030**b**
	15	0.0308 ± 0.0100 **a**	0.0066 ± 0.0010 **a**	0.3022 ± 0.0300 **b**	1.3049 ± 0.0050**c**	0.7832 ± 0.1400 **a**	2.7932 ± 0.0090**c**	1.4061 ± 0.4500 **b**	3.3571 ± 0.0040**c**
	5	0.0308 ± 0.0100 **a**	0.0066 ± 0.0010 a	0.2960 ± 0.0100 **b**	1.4489 ± 0.0040 **d**	0.6845 ± 0.1500 **a**	2.9084 ± 0.0080 **d**	1.3814 ± 0.3000 **b**	3.5362 ± 0.0020**d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(11) معدل تركيز معدن النيكل في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Pb+cd+Ni (Ni)	5	0.0526 ± .0200**a** 0	0.0183 ± 0.0020 **a**	1.9480 ± 0.0440 **a**	0.6034 ± 0.0040 **a**	4.3261 ± 1.4000 **a**	1.1453 ± 0.0090 **a**	6.6221 ± 2.6000 **a**	1.0230 ± 0.0050 **a**
	10	0.0526 ± .0200**a** 0	0.0183 ± 0.0020 **a**	1.9280 ± 0.4500 **a**	0.7609 ± 0.0080 **b**	4.2262 ± 2.0000 **a**	1.5202 ± 0.0050 **b**	6.4254 ± 1.8000 **a**	2.0519 ± 0.0040 **b**
	15	0.0526 ± .0200**a** 0	0.0183 ± 0.0020 **a**	1.8618 ± 0.1300 **a**	1.0277 ± 0.0050**c**	3.8193 ± 0.8100 **a**	1.8053 ± 0.0040**c**	5.7601 ± 2.5000 **a**	2.2180 ± 0.0060**c**
	20	0.0526 ± .0200**a** 0	0.0183 ± 0.0020 **a**	1.7637 ± 0.3100 **a**	1.1542 ± 0.0060 **d**	3.4724 ± 1.0000 **a**	1.8135 ± 0.006**0c**	5.5687 ± 2.1000 **a**	2.2706 ± 0.0030 **d**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

ملحق(12) معدل تركيز معدن الكادميوم في المحلول المائي والمتراكم في النبات في تجربة خلط ثلاث معادن

المعدن	الفترات	معاملة السيطرة		التركيز 2.5mg/L		التركيز 5mg/L		التركيز 7.5mg/L	
		ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات	ماء	نبات
Pb+Ni+Cd (Cd)	5	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.6215 ± 0.0400**a**	0.9898 ± 0.0050**a**	2.9219 ± 0.4000**a**	2.3585 ± 0.0080**a**	4.6115 ± 2.0000**a**	2.0648 ± 0.0040**a**
	10	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.4894 ± 0.0300**b**	1.0996 ± 0.0040**b**	2.2051 ± 0.6000**ab**	2.3911 ± 0.0030**b**	3.7862 ± 1.0000**a**	3.8381 ± 0.0070**b**
	15	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	1.2775 ± 0.0500**c**	1.4150 ± 0.0070**c**	1.7086 ± 0.3000**b**	2.9128 ± 0.0020**c**	2.8255 ± 1.4000**a**	3.9768 ± 0.0030**c**
	20	0.0179 ± 0.0100**a**	0.0035 ± 0.0010**a**	0.6198 ± 0.0200**d**	1.5336 ± 0.0060**a**	1.5102 ± 0.9500**b**	3.0678 ± 0.0090**d**	2.7274 ± 0.5000**a**	3.9789 ± 0.0050**c**

الاحرف المختلفة(لكل عمود) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية($p<0.05$).

Summery

Summery

This study was conducted to evaluate the efficiency of the aquatic plant *Ceratophyllum demersum* L. in removing three heavy metals which are (Lead, Nickel and Cadmium) when they are present in one water basin, individually and collectively, and the effect of these metals on the genetic material of the plant, different concentrations of these metals were used (2.5,5,7.5) mg/L and three replicates for each concentration. Water and plant samples were collected after (5, 10, 15, 20) days from the laboratory experiment basins for the purpose of measuring the concentration of the remaining metal in the water solution as well as the amount of metal accumulated in the plant. The bioconcentration factor of the plant was also calculated and the efficiency of the plant in removing The three metals as percentages of removal from water. The highest removal percentage of lead metal was (%93.91) in the experiment of mixing lead and nickel metals at a concentration of 7.5 mg/L during the treatment period (20) days, while the lowest removal percentage was (%33.97) in the experiment Three metals were mixed at a concentration of 7.5 mg/L during fifth day of treatment, while the highest percentage of removal of nickel metal was (%63.53) in the experiment of single metals at a concentration of 2.5 mg/L during the treatment period (20) days or less Removal percentage reached (%11.70) in the experiment of mixing three metals at a concentration of 7.5 mg/L during during fifth day of treatment. As for cadmium metal, it reached the highest removal percentage (%83.30) in the experiment of single metals at a concentration of 7.5 mg/L during the treatment period (20) days and the lowest removal percentage was (%33.14) in the experiment of mixing three metals at a concentration of 2.5 mg/L during during fifth day of treatment, as well as the plant samples were taken for the last period of treatment for the purpose of conducting molecular tests. The results showed that the accumulation of the three minerals in plant tissues increases with the increase in the time period of exposure to the metal, as well as the value of the bio-concentration coefficient increases with the increase in the duration of exposure. The results of the statistical analysis showed that there were significant differences at the probability level ($p<0.05$) between the concentrations and durations of treatment for the plant and some water concentrations**.**

Summery

As for the results of the molecular aspect, plant samples were taken at the end of the experiment for the purpose of conducting molecular tests. The Random Amplification Polymorphic DNARAPD technique and the Inter Simple Sequence Repeat ISSR technique were used for the purpose of detecting the genetic toxicity caused by the heavy metals lead, nickel and cadmium for twenty-two A sample that included single experiments, two-metal and three-metal interference, three primers of the RAPD index, the results showed a doubling, the total number of bundles was 288, the number of polymorphic bundles was 11, monomorphic bundles 9, and rare bundles 4, the percentage of polymorphism was 46.36%. Polymorphic 9, monomorphic 8 and rare 2 and the polymorphism percentage was 48.5%.

The dendrogram for evaluating the genetic distance resulting from treating samples with different concentrations of heavy metals through the RAPD index showed that the similarity percentage decreased to 66% in the treatment of lead and cadmium for concentrations of 5,7.5 mg/l and for interaction of metals for nickel and cadmium for concentration of 7.5 mg/l and for treatment The triple interaction of lead, nickel and cadmium to a concentration of 7.5 mg / l with the control treatment, while through the ISSR index, we note that the triple interaction coefficients for concentrations 7.5, 5, 2.5 mg / l decreased to 50,60, 66%, respectively with the control treatment, the study concluded The current study showed that *Ceratophyllum demersum* L. plant showed a high efficiency in removing the three heavy metals, lead, nickel, and cadmium from water. The highest removal percentage recorded by the plant was for lead, followed by cadmium, then nickel. Therefore, we recommend applying the phytoremediation technology to remove pollutants from water, as it is environmentally friendly and low in cost. Dilution of polluted water to increase the efficiency of the plant in treatment.

University of Kerbala

College of Science

Department of Biology

The ability of *Ceratophyllum demersum* L. in removing some heavy metals and diagnosing potential genetic variations by using some molecular markers.

Thesis Submitted to the Council of the Faculty of College of Science / University of Kerbala in partial of Fulfillment of Requirements for the Master Degree in Science Biology

Written By

Hussein Ali Khaleel Mahmood

Supervised by

Assist.Prof.Dr.Hassan Jameel Jawad Al-Fatlawi

second Supervised

Assist.Prof.Dr.Zeina Thamer AbdULHussein Al-rufaye

1443 A.H **2022 A.D**