

تم تدقيق البحث من قبل

الاستاذ:

بتاريخ:

و قد تم تصحيح كافة الاخطاء و كان البحث وفق متطلبات النشر.

توقيع الاستاذ:

تأثير الزئبق على بعض الجوانب الحياتية لمستويين غذائيين الطحلب *Chlorella vulgaris* والحيوان القشري *Simocephalus vetulus*

وصال محمد عبد المنعم

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد. بغداد-العراق.

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تأثير تراكيز من عنصر الزئبق (٠,٠٥ - ٠,٢) ملغم/لتر في طحلب *Chlorella vulgaris* وقد أدت هذه التراكيز الى نقصان عدد الخلايا، معدل النمو وزيادة معدلات التثبيط مع زيادة تركيز الزئبق وطول مدة التعرض دلالة على سمية العنصر، ايضا بينت النتائج التأثير السمي للعنصر على الحيوان القشري *Simocephalus vetulus* عند التراكيز (٠,٠١ - ٠,٠٥) ملغم/لتر وذلك بنقصان معدلات البقاء والنمو والخصوبة ومتوسط عدد الحضنات / الانثى مقارنة بمعاملة السيطرة.

THE EFFECT OF MERCURY ON SOME ASPECTS OF LIFE FOR TWO DIETARY LEVELS THE ALGAE *CHLORELLA VULGARIS* AND CRUSTACEAN ANIMAL *SIMOCEPHALUS VETULUS*

Wessal Mohammed Abdelmunem

Department of Biology, College of Science, University of Baghdad. Baghdad-Iraq.

Abstract

The present study included the effect concentrations of mercury element (0.05-0.2) mg/l on algae *Chlorella vulgaris*. The data showed decrease cells number, growth rate and increase inhibition rate with increasing mercury concentration and the elongate of exposure period which showed the toxicity of the element. Also the results showed the toxic effect of mercury at concentrations (0.01-0.05) mg/l on the animal *Simocephalus vetulus*, by decreasing the longevity rate, growth rate, fecundity, fertility, number of brood per female during 21 days compared to the control.

المقدمة :

لجودة المغذيات في محتوى هذا النوع من الطحالب (٤) فطحلب *Chlorella* يحتوي على ٥٠% بروتين وحوالي ٢٠% كاربوهيدرات و ٢٠% دهون فضلا عن الاحماض الامينية والفيتامينات والمعادن (٥). فقد اوضح (٦) ان الانواع التابعة للجنس *Chlorella spp.* هي المفضلة كغذاء بكتافات معينة للنوع القشري *Daphnia pulex* بالمقارنة مع انواع اخرى تابعة للجنس *Scenedesmus spp.* حيث ان الجنسين ضمن شعبة الطحالب الخضري.

تعتبر الانظمة البيئية المستودعات النهائية للعناصر السامة في البيئة عن طريق انتقالها من المصادر الطبيعية والصناعية (١)، ان هذه العناصر تكون مؤذية للكائنات الحية لانها تتراكم في الاحياء الصغيرة كالبكتريا والفطريات والطحالب والنباتات المائية (٢). تعد الطحالب المنتج الاولي في السلسلة الغذائية المائية (٣) وهي تعتبر غذاء ملائم لللافقريات خاصة الطحالب الخضري

ساعة اضاءة: ٦ ساعة ظلام وشدة الاضاءة ٣٨٠ مايكروأنشتاين/م²/ثا. حضر محلول كلوريد الزئبق HgCl₂ بأدابة 1.36 غم/ لتر لتحضير ١٠ ppm وحضرت التراكيز التالية:

معاملة الطحلب: ٠,٢, ٠,٠٩, ٠,٠٧, ٠,٠٥, ٠,٠٣, ٠,٠١ ppm

معاملة الحيوان : 0.05, 0.03, 0.01 ppm

عرضت مزرعة الطحلب البدائية الحاوية على 2×10^7 خلية / مل والمكونة من ٢٥٠ مل في دوارق مخروطية حجم ١ لتر الى التراكيز السابقة الذكر بأستخدام أربع مكررات لكل تركيز مع الرج اليومي ومتابعة النمو لمدة اسبوع وذلك عن طريق حساب العدد الكلي لخلايا الطحلب ومنها تم حساب معدل النمو (μ) Growth rate وزمن التضاعف (G) Doubling time (20):

$$\mu = \frac{\ln(X_2 / X_1)}{t_2 - t_1} (\text{day})^{-1}$$

X_2 = عدد الخلايا / مل في زمن t_2

X_1 = عدد الخلايا / مل في زمن t_1

t_2 = آخر يوم من التعريض للمعدن المستخدم.

t_1 = اول يوم من التعريض للمعدن المستخدم.

$\ln =$ اللوغاريتم الطبيعي لحاصل قسمة (X_2/X_1)

حيث ان \ln_2 قيمة ثابتة = ٠,٦٩٣

$$G = \frac{\ln 2}{\mu}$$

كذلك تم حساب معدل التثبيط كنسب مئوية للاستجابة (21):

$$\text{Inhibition} = \left[1 - \frac{XT}{XC} \right] \times 100$$

حيث ان XT = عدد الخلايا لكل مل في المزارع المعاملة.

XC = عدد الخلايا لكل مل في مزارع السيطرة.

أيضا تم حساب LC50 for 50% التركيز المتوسط القاتل لنصف العدد للطحلب للساعات ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦ ساعة.

(22) و (23)

على اساس قيمة LC50% لليوم الرابع يتم تحديد التراكيز المؤثرة الاقل منه واستخدامها في تجارب التعرض المزمّن للحيوان *S.vetulus*.

اختيرت افراد الحيوان بعمر ٢٤ ساعة بعد التخلص من المواد العالقة بدرع الحيوان بنقله الى سلسلة اطباق زجاجية حاوية على ماء مقطر لمدة ثلاث ساعة في كل طبق، بعد ذلك توضع

ان مركبات الزئبق تكون ذات سمية شديدة للأحياء المائية ولها القابلية على التراكم الحيوي في السلسلة الغذائية وفقدان التنوع الحيائي للأحياء المائية بأنقالها من الطحالب الى الهائمات الاكبر ثم وصولها الى الانسان (٧).

يؤثر الزئبق على النوع *S.vetulus* وذلك بتأثيره على غذاءه من الطحلب الاخضر *C.vulgaris* حيث ان الطحلب له القابلية على الارتباط بأيونات العناصر الحرة عن طريق الارتباط بالمواقع الفعالة ويؤثر العنصر على مجاميع السلفاهيدرال -SH (٨) وتنشيط نشاط الانزيمات وتنشيط تكوين الجذور الحرة للطحلب (٩)، ان تأثير العناصر على غذاء براغيث الماء يؤدي الى تناقص عدد خلايا الطحلب كغذاء وقلة ميكانيكية ترشيع الغذاء (١٠) وبالتالي ان العناصر الثقيلة ومنها الزئبق تعمل على انقاص طول الجسم ومعدل النمو والخصوبة واستهلاك الغذاء بزيادة تراكيزها في غذاء متفرعة اللوامس (١١) و (١٢).

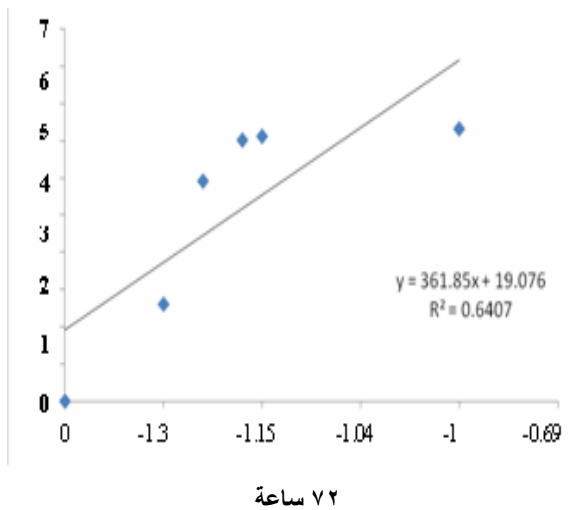
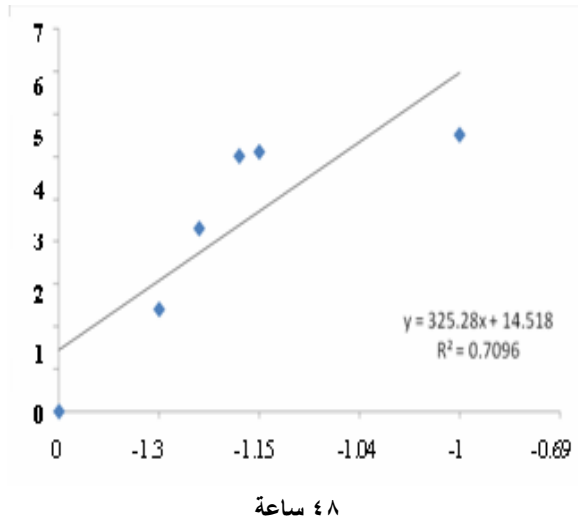
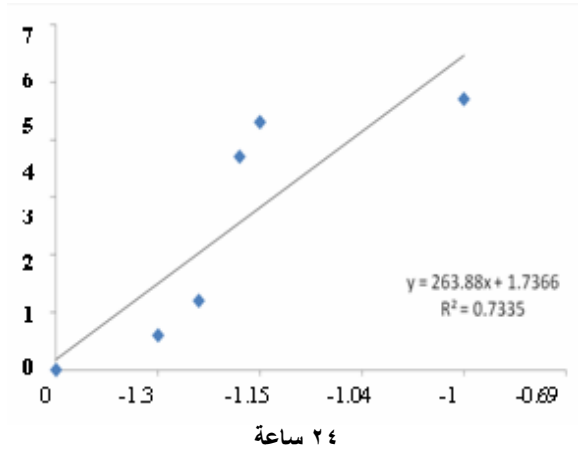
لاحظ (١٣) في دراسته لتأثير العناصر الثقيلة منها الزئبق على ثلاثة انواع من متفرعة اللوامس ان للعنصر تأثير مباشر على منحنيات البقاء ودورة تتابع الاجيال والانتاجية.

ان تغذية متفرعة اللوامس كالنوع *Simocephalus mixtus* بطحلب *Chlorella vulgaris* بدون وجود العناصر الثقيلة يؤدي الى حدوث نمو افضل للحيوان حيث بلغ معدل الطول ٢ ملم وانتاج ٥,٦ فرد/انثى والوصول الى فترة النضج الجنسي في ٦ ايام (١٤).

المواد وطرق العمل:

تم جمع نماذج الماء من القناة الحولية المحيطة بجامعة بغداد في منطقة الجادرية خلال شهر شباط واذار عام ٢٠٠٩، لجمع عينات الهائمات النباتية والحيوانية استخدمت قناني بلاستيكية حجم ١ لتر.

حضر الوسط الزرعي Ch.10 المحور من قبل (١٥) لزيادة الكتلة الحية للطحالب واستزرعت الطحالب بعد تعقيم الوسط الزرعي، بعد ذلك عزلت عينات الطحالب بأتباع طريقة (16) للحصول على مزرعة وحيدة الطحلب الاخضر الذي هو *C.vulgaris* وتم تنقية عينة الطحلب من البكتريا والفطريات (١٧). تم تشخيص الطحلب بأستخدام مجهر ضوئي مركب بأعتماد مصدر التشخيص (١٨). اما بالنسبة للحيوان القشري *S.vetulus* شخص بالأعتماد على (١٩). تم اقلمت عينات التجربة بدرجة حرارة 23 ± 2 م وفي نظام ضوئي ١٨

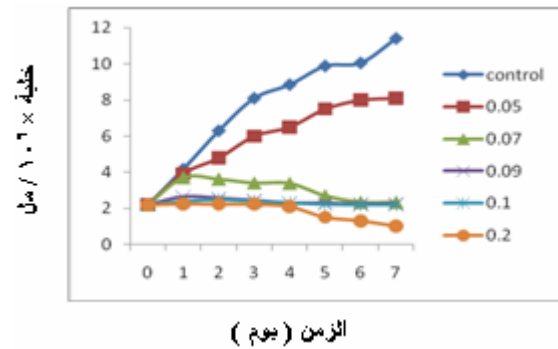


كل ١٠ حيوانات في حاوية زجاجية حجم ٢٥٠ مل وتزود بالطحالب بكثافة $10^6 \times 8$ خلية / مل من الطحلب المدعم بأيونات الزئبق بالتراكيز الثلاثة اعلاه وبواقع اربع مكررات لكل تركيز ولمدة ٢١ مع تغيير الماء كل يومين، ومنها تم حساب:

معدل البقاء (يوم)، الطول (ملم)، الخصوبة (عدد الافراد المنتجة/انثى)، متوسط عدد الحضنات.

النتائج

بينت النتائج بدلالة عدد الخلايا عند تعريض الطحلب الى تراكيز مختلفة من الزئبق الى وجود انخفاض معنوي بين التراكيز ومعاملة السيطرة لمدة اسبوع وكان الانخفاض اكثر وضوحا عند التركيز ٠,٢ ppm منذ بداية التجربة (الشكل ١)



(الشكل ١): العدد الكلي لطحلب *Chlorella vulgaris* المستزرع في الوسط الغذائي Chu.10 المحور الحاوي على تراكيز مختلفة من عنصر الزئبق خلال سبعة أيام لوحظ زيادة النسب المئوية للتنشيط للتراكيز مقارنة مع معاملة السيطرة للطحلب كذلك انخفضت قيم LC50 بزيادة التراكيز وطول مدة التعرض (الجدول ١).

(الجدول ١): التركيز القاتل لنصف العدد لطحلب *Chlorella vulgaris* المستزرع في الوسط الغذائي Chu.10 المحور الحاوي على تراكيز مختلفة من عنصر الزئبق خلال ٩٦ ساعة عند درجة حرارة ٢٣ م° وشدة اضاءة ٣٨٠ مايكروانشتاين/م²/ثا

في Chu.10 عند درجة حرارة ٢٣م وشدة اضاءة ٣٨٠ مايكروانشتاين/م²/ثا الحاوي على تراكيز مختلفة من عنصر الزئبق خلال 21 يوم ± الخطأ المعياري S.E.

متوسط عدد الحشرات	الخصوبة عدد الاغذية المتبقية /لتر	الطول (ملم)	معدل البقاء (يوم)	تركيز الزئبق ppm	السيطرة
٧,٥٠ ± ٠,٤١ ^a	٥٣ ± ١,٤٧ ^a	١,٨٧ ± ٠,٠٢ ^a	٢١ ± ١,٦٤ ^a		
٦ ± ٠,٤١ ^b	٣٠ ± ١,٤٧ ^b	١,٥٣ ± ٠,٠٢ ^{ab}	٢١ ± ١,٦٤ ^a	0.01	
٥,١ ± ٠,٤١ ^c	١٣ ± ١,٤٧ ^c	١,٢٥ ± ٠,٠٢ ^{bc}	٢١ ± ١,٦٤ ^a	0.03	
٣,٢ ± ٠,٤١ ^d	٦ ± ١,٤٧ ^d	١,٠٨ ± ٠,٠٢ ^c	١٩ ± ١,٦٤ ^b	0.05	

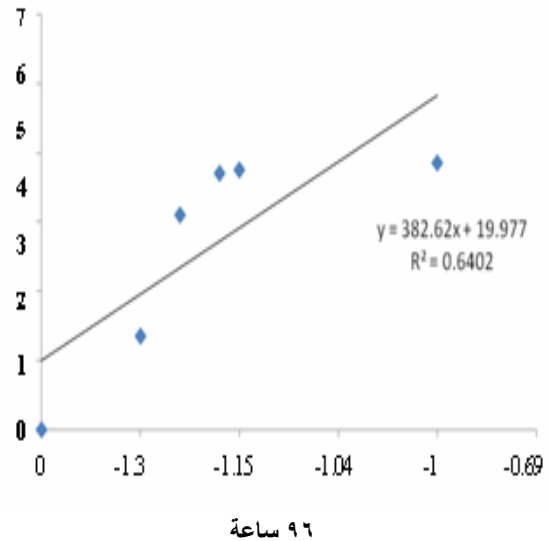
* المعدلات التي تحمل حروفاً متشابهة في نفس العمود ليس بينها فرق معنوي عند مستوى احتمالية (p > ٠,٠٥)

المناقشة

ان انخفاض عدد خلايا الطحلب بزيادة التراكيز وطول مدة التعرض يعزى الى التأثير السمي الشديد للزئبق وذلك لتأثيره على العمليات الايضية للطحلب فقد لوحظ ان تعريض الطحالب *Anabaena inaequalis* و *A.doliolum* و *Nostoc muscorum* الى عنصر الزئبق ادى الى تثبيط النمو وعملية البناء الضوئي بتأثيره على الصبغات واخذ المغذيات وتثبيت النترجين (٢٥).

يشير انخفاض معدل النمو وزيادة زمن التضاعف الى ان طحلب *C.vulgaris* له القدرة على ادمصاص العناصر الثقيلة على سطوح جدران الطحلب (26) وان سمية العنصر تعتمد على نوعه ونوع الطحلب وتركيز العنصر (27).

بالنسبة الى زيادة معدلات التثبيط وانخفاض قيم LC50 يدل على زيادة التأثير السمي للزئبق بطول مدة التعرض وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (28) في ان التركيز ٠,٢ ملغم/لتر اثر على نمو طحلب *C.vulgaris* منذ بداية التجربة، حيث وجد (27) ان التركيز ٠,٣ ppm يتراكم في جسم الطحلب الخيطي الاخضر *Spirulina platensis* ضمن مدة التجربة وان الخلايا ماتت عند هذا التركيز بعد اليوم السادس بسبب سمية العنصر وتراكمه في خلايا الطحلب والتي عجز الطحلب عن مقاومتها.



كذلك انخفض معدل النمو وازداد زمن التضاعف (الجدول ٢).

الجدول ٢: معدلات النمو وزمن التضاعف لطحلب *Chlorella vulgaris* لمستزرع في الوسط الغذائي Chu.10 المحور عند درجة حرارة ٢٣م وشدة اضاءة ٣٨٠ مايكروانشتاين/م²/ثا الحاوي على تراكيز مختلفة من عنصر الزئبق خلال سبعة أيام. ± الخطأ المعياري S.E.

تركيز الزئبق ppm	معدل النمو (يوم)	زمن التضاعف (يوم)
السيطرة	0.38 ± 0.04 ^a	2.02 ± 1.02 ^a
0.05	0.31 ± 0.04 ^a	2.52 ± 1.02 ^b
0.07	0.14 ± 0.04 ^b	31.17 ± 1.02 ^c
0.09	0.044 ± 0.04 ^{bc}	91.58 ± 1.02 ^d
0.1	0.025 ± 0.04 ^{bc}	65.19 ± 1.02 ^e
0.2	- 0.034 ± 0.04 ^c	33.64 ± 1.02 ^{cf}

* المعدلات التي تحمل حروفاً متشابهة في نفس العمود ليس بينها فرق معنوي عند مستوى احتمالية (p > ٠,٠٥).
* الاشارة السالبة يعني عدم وجود نمو.

بالنسبة الى تجارب التعرض المزمّن للحيوان فقد اشارت النتائج الى وجود انخفاض معنوي (p < 0.05) بين التراكيز ومعاملة السيطرة لجميع المؤشرات الحيوية (الجدول ٣).

الجدول ٣: معدلات مؤشرات حيوية لحيوان *S.vetulus* مزود بكثافة ١٠^٦ × ٨ خلية / مل من طحلب *C.vulgaris* المستزرع

2. Khosravi, M.M.; Ganji, T. & Rakhshae R. (2005). Toxic effect of Pb, Cd, Ni and Zn on *Azolla filiculoides* in the International Anzali Wetland. *International Journal of Environmental Sciences & Technology*, 2(1): 35-40.
3. Chmielewska, E. & Medved, J. (2001) Bioaccumulation of heavy metals by green alga *Cladophora glomerata* in a refinery sewage Lagoon. *Croatica Chemica Acta*, 74(1): 135-145.
4. Sundbom, M. & Verde, T. (1997). Effects of fatty acid phosphorus content of food on the growth, survival and reproduction of *Daphnia*. *Journal Freshwater Biology*, 38: 665- 674.
5. Sharma, O.P. (1997), Textbook of Algae. Tata. Mcgraw- Hill Pub. Com. Limited, New Delhi, India, pp 88.
6. Abdul-Hussein, M.M. (1997). Some aspects of feeding behavior of *Daphnia pulex* (De Geer) in the algae patch culture. *Journal of Al Anbar University (Pure and Application Sciences)*, 1(1): 23-41.
7. Dominguez A. R.; Bocanegra, R.; & Villanueva, R.O. (2002). Chromium and Nickel effects in the growth of the microalgae *Scenedesmus incrasatulus*. *Bioresource Technology*. 84: 265-270.
8. Egleston, E. S. & Morel, M. M. (2008). Nickel limitation and zinc toxicity in a urea-grown diatom. *Limnology Oceanogr*, 53(6), 2462-2471.
9. Roweta, M.A. (2007). Heavy metal contamination and toxicity. Stockholm University, Florence Alex Mamboya, Stockholm, pp. 1-48
10. Taylor, G.; Braid, D.J. & Soares, A.M. (1998). Surface Binding of Contaminants by Algae: Consequences for Lethal Toxicity and Feeding to *Daphnia magna* (Straus). *Environmental Toxicology. & Chemistry.*, 17 (3): 412-419.

فيما يخص تأثير الزئبق على المؤشرات الحيوية للحيوان القشري *S. vetulus* فقد حصل نقصان في معدل البقاء وذلك لتأثير الزئبق على دورة الحياة فقد تراوح معدل البقاء للنوع *Brachionus calyciflorus* ٦-٨ أيام عند كثافة 10^6 \times ٠,٥٠٥ خلية / مل من طحلب *C. vulgaris* مدعم بتركيز ٠,٠٠٥ ملغم / لتر زئبق في حين تراوح معدل البقاء بين ٨-١٢ يوم عند كثافة 10^6 \times ١,٥ خلية / مل عند التركيز نفسه من العنصر وهذا يدل على ان لنوعية الغذاء وكثافته اهمية في اطالة معدل البقاء (29).

أثر عنصر الزئبق على المؤشرات التكاثرية للنوع *S. vetulus* مقارنة بمعاملة السيطرة، هذا يتفق مع (30) اذ لاحظ حصول زيادة في الطول ٢,٧ ملم وعدد البيوض بالحصنة ١٤,٢ بيضة والفترة اللازمة للنضج الجنسي ٦ ايام عند الكثافة 10^6 \times ٨ خلية / مل مقارنة بالكثافات الاقل من طحلب *C. pyrenoidosa* وكذلك مقارنة بأنواع اخرى من الطحالب، والنقصان الحاصل في المؤشرات اعلاه بوجود العنصر يعود الى كونه سام يؤدي الى حدوث الطفرات وتسمم الغدد والاجنة ويؤثر على الجهاز العصبي للأحياء المائية والانسان (31).

كذلك ان لنوعية الغذاء تأثير على الجوانب الحياتية للحيوان القشري حيث ان معدل التغذية يقل بزيادة التراكم وهذا يعود لتأثير العنصر على الطحلب كغذاء، حيث ان معدل التغذية عند معاملة السيطرة يزداد بزيادة مدة التجربة لكون الغذاء جيد من حيث النوعية والكمية كذلك ان شكل وحجم الطحالب تعتبر عوامل محددة لأكلات الأعشاب مثل *S. vetulus* من حيث معدل التغذية وقابلية هضم الطحالب (30) حيث لاحظ (32) ان اعلى كثافة للقشري *Asplanchna priodonta* هي التي تتغذى على طحلب *C. vulgaris* وجد (12) ان السمية تعمل على نقصان استهلاك الغذاء بنقصان كفاءة الحصول على الطحلب لان الغذاء والماء والترسبات مصادر اساسية لاخذ العناصر من قبل الاحياء المائية، حيث ان العناصر الثقيلة تنتقل عن طريق السلسلة الغذائية من الفريسة الى المفترس (33).

References:

1. Altinda, A.; Ergonul M.B; Yigit, S. & Baykanmkmkmmnj, O. (2008). The acute toxicity of lead nitrate on *Daphnia magna* Straus. *African Journal of Biotechnology.*, 7 (23): 4298-4300.

- test biomass or growth rate. *Water Research*, 19(3): 273-279.
22. Matsumura, F. (1975). Toxicology of insecticide. *Plenum Press, N.Y.*
 23. Latha , N.Y; Sasidharan , S.; Zuraini , Z.; Suryani, S.; Shirley, L.; Sangetha, S. & Davaselvi, M.(٢٠٠٧). Antimicrobial Activities And Toxicity Of Crude Extract Of The Psophocarpus Tetragonolobus Pods. *African. Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 4 (1): 59 – 63.
 24. Peters,R.H.(1984).Methods for study of feeding, grazing, and assimilation by zooplankton.*IBP Handbook 17.Blackwell Sci.Publ.Oxford.*
 25. RASHED,M.N.(2002). Biomarkers as Indicator for Water Pollution with Heavy metals in Rivers, Seas and Oceans .*Lake of Environmental International*. 27-33.
 26. Liu,C.B.;Lin.L.P.and Su.Y.C.(1996) Utilization Of *Chlorella vulgaris* For Uptake Of Nitrogen, Phosphorus and Heavy Metals__*Journal of Chinese Agricultural Chemical society* .34(3): 331-343.
 27. Disyawongs,G. (1996). Accumulation of Copper, Mercury and Lead in *Spirulina platensis* studied in Zarrouk's Medium. *Environmental Science & Technology*. 15, 31- 35.
 28. Al- Aarajy, M.J.; Al- Zubaidy, S.R. & Al- Mousawi, A.H. (1992). Effect of heavy metals on selected algae isolated from some polluted canals at Basrah city. Iraq. *Basrah. Journal of Agriculuture Science*, 5(2): 263-291.
 29. Prez,T.R; Sarma,S.S.&Nadini,S.(2004). Effects of Mercury on the Life Table Demography of the Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Ecotoxicology*.(13): 535–544
 30. Czczuga, B.; Kozowska, M.& Kiziewicz, B.(2003). Effect of
 11. Gorbi, G.; Corradi, MG.; Invidia, M.; Rivara, L. & Bassi, M. (2002). Is Cr. (VI) toxicity to *Daphnia magna* modified by food availability or algal exudates ? the hypothesis of a specific chromium ? algal exudates interaction. *University of Parma*.
 12. Grippo, M. (2001). The Effect of Mercury on the Feeding Behavior of Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Msc. Thesis, Poly Technology Institute & State University*. pp.80.
 ١٣. رشيد ، خالد عباس (١٩٩٩). استخدام بعض أنواع الهائمات الحيوانية دليلاً حيويًا على تلوث المياه بالعناصر الثقيلة. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.
 14. Lee1,C.W; Jeon,H.P.& Pae J.Y.(2004). Optimum Culturing and Testing Condition for Environmental Toxicity Test With *Simocephalus Mixtus* *Environmental of Engineering. Researches*. 9(3): 125-129.
 15. Kassim, T.I.; Al-Saadi, H.A. & Salman, N.A. (1999). Production of some phyto-and Zooplankton and their use as live food for fish larvae. Iraqi. *Journal of Agriccluture. (Special Issue)*, 4(5): 188-201.
 16. Stein,J (ED).(1973). Handbook of Phycological method. *Culture methods and growthmeasurements.CambridgeUn iversity. Press*. 448 pp.
 17. Patterson,G.(1983) Effect of Heavy Metals On Fresh Water Chlorophyta. *Ph.D.thesis, Univercity. Durham*. 212pp.
 18. Prescott,G.W.(1982)Algae Of The Western Great Lakes Area. Brown, *W.M.C.com.publishers,Dubuque,Lo wa,16th printing*, 977pp.
 19. Edmonson, W.T. (1963). Fresh water Biology. *N.Y. Jhon Wily and Sons, Inc., U.S.A*. pp. 1248.
 20. Reynolds, C. S. (1984). The ecology of fresh water phytoplankton. *Cambridge University. Perss*, pp. 384.
 21. Nyholm, N. (1985). Response variable in alage growth inhibition

- Various Types of Phytoplankton on Fertility, Egg Size and Duration of Postembryonic Growth of a Few Plankton Representatives of Cladocera (Crustacea). Polish *Journal of Environmental Studies*, (12) 5: 545-555.
31. Kulikova, I.; Seisuma, Z. & Legzdina, M. (1985). Heavy Metals in Marine organisms. *Symp. Biol. Hung.*, 29: 141-152.
 32. Clement, B.; Bouchet, G.T.; Lottmann, A. & Carbonel, J. (2002). Are percolates released from MSWI bottom ashes safe for lentic ecosystems ? A laboratory ecotoxicological approach based on 100-L indoor microcosms. *Scinse .Environmental* :1-12.
 33. Fowler, S.W. (1985). Heavy metal and radio nuclide transfer and transport by marine organisms. *Biology*, 29: 191-206.