إمكانية خفض تراكيز بعض الشوارد (الأمونيوم، النترات، الفوسفات) من مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً باستخدام الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.

د. جورج ديب*

علي بكداش**

(تاريخ الإيداع 19 / 4 / 2021. قبل للنشر في 25 / 8 / 2021)

□ ملخّص □

تم في هذا البحث عزل الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. من حوض نافورة الشيخ ضاهر واستزراعه تحت ظروف الزرع الملائمة (حرارة 25 ±2 درجة مئوية، شدة إضاءة 2500 لوكس، نوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام) على الوسط الزرعيChu-10 الصلب والسائل.

استخدم الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. في المعالجة المتقدمة لمياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً المأخوذة من محطة المعالجة في جامعة تشرين تحت ظروف مخبرية ثابتة (حرارة 25 ±2 درجة مئوية، شدة إضاءة 2500 لوكس، نوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام)، خلال المعالجة تم قياس تراكيز الشوارد (الأمونيوم–النترات–الفوسفات) وتركيز اليخضور(A) كل 3 أيام لمدة 25 يوم.

ترافق مع نمو الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. ارتفاع بتركيز اليخضور(A) وانخفاض تراكيز الشوارد حيث سجل أخفض تركيز للأمونيوم 14.33 ملغ/ل، ومعدل نسبة الإزالة الحيوية 22.48 %، والنترات سجل 13.86ملغ/ل أقل انخفاض وبلغ معدل نسبة الإزالة الحيوية 13.33 %، وسجل 5.22 ملغ/ل أقل انخفاض لتركيز شاردة الفوسفات، وبلغ معدل نسبة الإزالة الحيوية 23.84 %.

الكلمات المفتاحية: طحالب خضراء – *Mougeotia* sp. – مياه صرف صحي – وسط زرعي – معالجة.

*أستاذ – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

**ماجستير اختصاص علم الحياة النباتية – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

The possibility of reducing the concentrations of some electrolytes (ammonium, nitrate, phosphate) from secondary treated wastewater using Filamentous green algae *Mougeotia* sp.

Dr. George Deeb [*]
Ali Bkdash [**]

(Received 19 / 4 / 2021. Accepted 25 / 8 /2021)

□ ABSTRACT □

In this research, *Mougeotia* sp Isolet. From Sheikh Daher's fountain basin and its cultivation under appropriate cultivation conditions (temperature of 25 ± 2 ° C, brightness of 2500 lux, light shift 16 light / 8 dark) on Chu-10 solid and liquid culture medium.
Use the filamentous green moss, *Mougeotia* sp. In advanced treatment of secondary treated wastewater taken from the treatment plant at Tishreen University under constant laboratory conditions (temperature of 25 ± 2 ° C, brightness of 2500 lux, light shift of 16 light / 8 dark), during the treatment the concentrations of electrolytes (ammonium-nitrate) were measured. Phosphates and chlorophyll-A concentrations every 3 days for 25 days.
Accompany with the growth of the filamentous green moss, *Mougeotia* sp. An increase in the concentration of chlorophyll-a and a decrease in the concentrations of electrolytes, where the lowest concentration of ammonium was recorded at 14.33 mg / l, the rate of the rate of bio-removal rate was 22.48%, and the nitrate rate was recorded at 13.86 mg / l the lowest decrease, and the rate of the percentage of biological removal was 13.33%, and it recorded 5.22 mg / l the lowest decrease in the concentration of an anion. Phosphates, the rate of bio-removal rate was 23.84%.

Key words: green algae - *Mougeotia* sp. Sewage water - agricultural medium - treatment.

[*] **Professor - Department of Botany - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria.**
[**] **Master of Botany - Department of Botany - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria.**

مقدمة

تشكل الطحالب القاعدة الأساسية للسلسلة الغذائية في جميع الأوساط المائية، وتعد المصدر الرئيس لإنتاج المادة العضوية والأوكسجين بفضل مقدرتها الكبيرة على القيام بعملية التركيب الضوئي، الأمر الذي يجعل دورها أساسياً في البيئة البحرية والنهرية (Soeder, 1981).

بينت الدراسات والأبحاث أهمية استزراع الطحالب حيث تنتج الكثير من المواد الكيميائية ولها مردود اقتصادي وذات تطبيقات عملية في مجالات متعددة كالزراعة والصناعة والطب (Kim *et al*., 2006 ; Deeb *et al*., 2017)

كما أن محتوى الطحالب من الليبيدات كنسبة مئوية من الوزن الجاف يشبه جميع المحاصيل الزيتية إلا أن الطحالب تتفوق على جميع المحاصيل الزيتية بنسبة الإنتاجية في واحدة المساحة نفسها إلى جانب إمكانية زيادة كتلتها الحيوية خلال فترة زمنية قصيرة (Banerjee *et al*., 2002; Mata *et al*., 2010).

بالإضافة لذلك لاقت الطحالب اهتمام الباحثين كمصدر موثوق وآمن يعوّل عليه في إنتاج الطاقة المتجددة (Danielo, 2005)، دورها في التنقية الذاتية للمياه من المعادن السامة والفضلات ومعالجة مياه الصرف الصحي (Larsdotter, 2006)، بالتالي ستكون الطحالب الحل الأمثل للكثير من المشكلات والأزمات الغذائية والمائية، إضافة إلى استخدامها في التكنولوجيا الحيوية الطبية (Chu, 2012).

أهمية البحث وأهدافه

يُعاني العالم اليوم من مشكلة استنزاف الموارد الطبيعية، وقد تفاقمت في السنوات الأخيرة أزمات المياه والطاقة والغذاء، وطرح كميات متزايدة من مياه الصرف الصحي تتعدى قدرة استيعاب البيئة، وهذا دعانا للبحث عن طريقة سهلة وبسيطة لتنقية مياه الصرف الصحي وإعادة استخدامها في ري المزروعات، ومن المعلوم أن هذه الطرائق متعددة وكثيرة ومع ذلك تبقى التنقية الذاتية باستخدام الطحالب هي الأكثر كفاءة في معالجة مياه الصرف الصحي وتكلفتها منخفضة وآمنة بيئياً ومن هنا استنبطنا فكرة بحثنا الذي يهدف إلى:

- عزل الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. من حوض نافورة الشيخ ضاهر في مدينة اللاذقية، واستزراعه على الوسط الزرعي Chu-10 الصلب والسائل.
- خفض تراكيز بعض الشوارد (الأمونيوم –النترات –الفوسفات) من مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً.
- تحديد تركيز اليخضور–A خلال فترة معالجة مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً.

طرائق البحث ومواده

1. مواقع جمع العينات:

- حوض نافورة الشيخ ضاهر في مدينة اللاذقية (عينة الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.).
- محطة المعالجة الثانوية في جامعة تشرين (عينة مياه الصرف الصحي التي سيتم معالجتها).

2. جمع العينات:

جمعت العينات من حوض نافورة الشيخ ضاهر (الشكل 1) من شهر نيسان عام 2019 م وذلك باستخدام عبوات من البولي اتيلين سعة 1 ليتر، ثم نقلت إلى المختبر بهدف عزل الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. ودراستها

بيولوجياً ثم أخذت عينات من مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً من محطة المعالجة الثانوية في جامعة تشرين (الشكل 2) وذلك باستخدام عبوات من البولي اتيلين سعة 1 ليتر، ثم نقلت إلى مخبر الدراسات العليا بهدف الدراسة الفيزيائية–الكيميائية والبيولوجية.

الشكل (1):حوض نافورة الشيخ ضاهر

الشكل (2): محطة المعالجة الثانوية في جامعة تشرين

3. عزل وتنقيته الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. ثم استزراعه على الوسط الزرعي Chu-10.

تمت الدراسة في وحدة الاستزراع التابعة لقسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم، ولغرض الحصول على عزلات نقية وحيدة الطحلب Unialgal cultures قمنا بالخطوات التالية حسب طريقة Chu (1942) و Stein (1973):

أولاً: عزل الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.:

ترشيح 100 مل من المياه التي جمعت من حوض نافورة الشيخ ضاهر، باستخدام ورق ترشيح قطر فتحاته 0.45 مايكرومتر، وأخذ ما تبقى فوق ورق الترشيح وفحص تحت المجهر الضوئي للتأكد من وجود الطحلب المراد عزله.

بعد ذلك زرعت العينة الطحلبية على الوسط الزرعي الصلب Chu-10 ويوضح الجدول (1) مكوناته، بطريقة التخطيط Streak plate method وباستعمال عروة زرع معقمة حيث توضع قطرة أو قطرتان من العينة المائية المراد عزل الطحلب منها في حافة الطبق، وتصنع عدة خطوط متوازية من القطرة الموجودة في حافة الطبق و بعدها يغلق الطبق، وتحضن الأطباق في وحدة الاستزراع تحت الظروف الملائمة للزراعة من درجات حرارة وإضاءة (حرارة 25 ±2 درجة مئوية، وشدة إضاءة 2500 لوكس، ونوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام) لمدة (3~4) أسابيع (الشكل 3).

بعد نمو المستعمرات الطحلبية تنقل كل مستعمرة إلى طبق جديد يحتوي على الوسط المغذي لتنمو بمفردها تكرر العملية عدة مرات حتى الحصول على عزلة نقية وحيدة الطحلب.

الجدول (1): مكونات الوسط الزرعي Chu-10 (Chu, 1942):

المادة	الكمية	المادة	الكمية
H_3BO_3	2.5 mg	H_2O	1 litre
$MnCl_2.4H_2O$	1.5 mg	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	20.0 mg
$(NH_4)_6M_{O7}O_{24}.4H_2O$	1.0 mg	K_2HPO_4	6.0 mg
Na_2SiO_3	25.0 mg	$MgSO_4.7H_2O$	25.0 mg
HCl	0.25 ml	Na_2CO_3	20.0 mg

الشكل (3): استزراع العينات الطحلبية على الوسط الصلب Chu-10

ثانياً: تنقية الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.:

بعد الحصول على عزلة وحيدة الطحلب يتم تنقيتها من الجراثيم والفطريات اعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل *et al.* Wiedeman (1964)، حيث تؤخذ المزرعة الطحلبية وتُمزج بالماء المقطر المعقم وتُثفل لمدة دقيقتين بسرعة 3000 دورة /دقيقة وتُؤخذ الرسابة وتُمزج بالماء المقطر المعقم وتكرر العملية عدة مرات، بعد ذلك يزرع قسم من العينة الطحلبية المثفلة على الوسط الزرعي الفطري الصلب Potato Dextrose Agar (P.D.A) وحُضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 درجة مئوية لمدة 5 أيام، كما أخذ قسم آخر من العينة الطحلبية المثفلة وزرع على الوسط الزرعي الجرثومي الصلب Nutrient Agar وحُضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 48 ساعة، وكررت العملية عدة مرات حتى تم التأكد من عدم نمو فطريات وجراثيم على الأوساط المغذية وبذلك يتم الحصول على عزلة نقية من الطحالب خالية من النمو الفطري والجرثومي.

ثالثاً: استزراع الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. على الوسط الزرعي السائل Chu-10.

نقل جزء من الوسط الزرعي الصلب وما يحتويه من الخلايا الطحلبية برفق إلى حوجلات زجاجية سعة 250 مل حاوية على 150 مل من الوسط الزرعي السائل Chu-10 وذلك باستخدام عروة زرع معقمة وتحضن تحت ظروف الزرع الملائمة من درجات حرارة وإضاءة (حرارة 25 ±2 مْ، وشدة إضاءة 2500 لوكس، ونوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام) (الشكل 4) مع تحريك الحوجلات وتبديل أماكنها كل 8 ساعات حتى الحصول على نمو مناسب للمزرعة الطحلبية.

الشكل (4): استزراع العينة الطحلبية في الوسط السائل Chu-10

4. تطبيق المعالجة المتقدمة لخفض تراكيز بعض الشوارد (الأمونيوم –النترات –الفوسفات) من مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً باستخدام الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.

تمت إضافة التركيز 20 مل من الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. إلى 2 لتر من مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً وطبقت مخبرياً تحت ظروف الزرع الملائمة من درجات حرارة وإضاءة (حرارة 25 ±2 مْ، وشدة إضاءة 2500 لوكس، ونوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام) مع اجراء (5) مكررات وأخذ عينة شاهدة من مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً وذلك لمدة 25 يوم.

5.قياس تراكيز الشوارد (الأمونيوم–النترات–الفوسفات):

تم قياس تراكيز شوارد الأمونيوم والنترات والفوسفات لعينات مياه الصرف الصحي قبل المعالجة وخلال المعالجة المتقدمة بواسطة مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometric وذلك باستخدام كواشف مختلفة تبعاً للشوارد:

- شاردة الأمونيوم (NH_4^+): تم تحديدها باستخدام كاشف Nessler الذي يعطي لوناً أصفر عند إضافته للعينة وكلما كان اللون أصفر غامقاً كان تركيز شاردة الأمونيوم أكبر، وقيست نفوذية المحلول عند طول موجة 420 نانومتر (Mukherjee *et al*., 2010).
- شاردة النترات (NO_3^-): عولجت العيّنة باستعمال حمض كلور الماء وتمّ قياس تركيز شوارد النترات عند طول موجة 400 نانومتر وتقدر النتيجة بـ ملغ/ل (Ariyadej *et al*., 2004).
- شاردة الفوسفات (PO_4^{-3}): يعتمد قياس هذه الشاردة على تفاعلها مع مولبيدات الأمونيوم في وسط حمضي لتشكل حمض مولبيدو فوسفوريك الذي يُرجَع إلى لون أزرق غامق بكاشف كلور القصديري ويتمّ القياس عند طول موجة 890 نانومتر وتقدر النتيجة بـ ملغ/ل (Mukherjee *et al*., 2010).

6.تحديد تركيز اليخضور–A للطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.:

تم قياس تركيز اليخضور–A خلال فترة المعالجة المتقدمة حسب طريقة Lichtenthaler & Wellburn (1983) حيث تم تثفيل 10مل من محلول المعلق الطحلبي بسرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق، ثم طرح السائل الطافي جانباً وجمّد الراسب لمدة نصف ساعة، تم إخراج الراسب من الثلاجة وسخن براحة اليد، ثم تمت إذابته بـ 10 مل اسيتون، وثقل محتوى الأنابيب وقيست امتصاصية السائل الطافي على الأطوال الموجية 645 و 663 نانوميتر

بواسطة جهاز Spectrophotometric وأخذ الأسيتون Blank وحسبت كمية اليخضور –A من خلال المعادلة التالية:
$C_{chl.a}=11.72\ A_{663} - 2.8\ A_{645}$ وقدرت النتيجة بوحدة ميكروغرام/مل.

النتائج والمناقشة

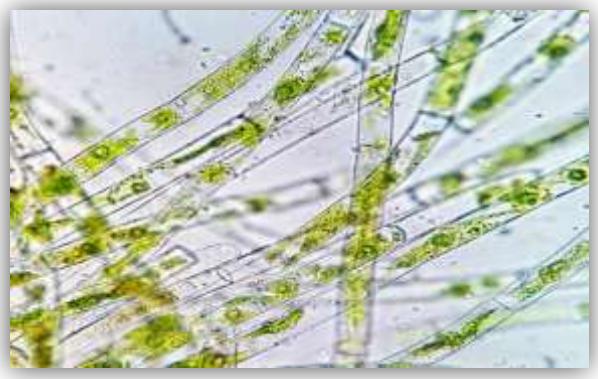
1. تشخيص الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp.:

Division	**Chlorophyta**
Class	**Zygophyceae**
Order	**Zygnematales**
Family	**Zygnemataceae**
Genus	***Mougeotia* sp.**

أظهرت الدراسة المجهرية للمستعمرات الطحلبية للطحلب الأخضر *Mougeotia* sp. المزروعة على الوسط الزرعي Chu-10 الصلب والسائل(الشكل–6,5) بأن المشرات الطحلبية خيطية بشكل خيوط طحلبية غير متفرعة (الشكل–7)، خلاياها أسطوانية قطرها من –30 5 ميكرون الخلايا أسطوانية، الصانعات الخضراء صفيحية محورية تملأ طول الخلية تقريباً (Agardh, 1824 ; Skinner& Entwisle, 2015)

الشكل (5): الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. على الوسط الزرعي الصلب Chu-10

الشكل (6): الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. على الوسط الزرعي السائلChu-10



الشكل (7): الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. تحت المجهر الضوئي (تكبيرX 400)

2. قياسات تراكيز الشوارد (الأمونيوم–النترات–الفوسفات):

1.2. شاردة الأمونيوم (NH_4^+):

تراوح تركيز شاردة الأمونيوم (NH_4^+) بين (14.33–25.42) ملغ/ل(الجدول 2)، حيث سجل في اليوم 25 أقل انخفاض لتركيز شاردة الأمونيوم (NH_4^+) 14.33 ملغ/ل (الشكل8)، ومعدل نسبة الإزالة الحيوية 22.48 % (الشكل 9) ويعود انخفاض تركيز شاردة الأمونيوم (NH_4^+) لاستهلاكها من قبل الطحالب الخضراء حيث تبدأ عملية التمثيل بالامتصاص وتتبعها عمليات حيوية تشترك فيها في تصنيع الأحماض الأمينية، ومن جهة أخرى زيادة تركيز الأوكسجين المنحل من خلال عملية التركيب الضوئي يؤدي إلى أكسدة هذه الشاردة إلى نتريت ونترات (Galès *et al.*, 2019).وتتفق النتائج مع دراسات Venckus *et al.* (2017) و Nirmalakhandan *et al.* (2019) .

2.2. شاردة النترات (NO_3^-):

تراوح تركيز شاردة النترات (NO_3^-) بين (13.86–19.85) ملغ/ل (الجدول 2)، وسجل أقل انخفاض لتركيز شاردة النترات (NO_3^-) 13.86ملغ/ل في اليوم 25 (الشكل 8)، وبلغ معدل نسبة الإزالة الحيوية 13.33 % (الشكل 9).

يلاحظ من خلال النتائج قدرة الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. على اختزال النترات من مياه الصرف الصحي وذلك بسبب استخدامه في العمليات الاستقلابية والنمو، حيث يتحول النترات إلى نتريت بفعل أنزيم Nitrate reductase وهذا يتم في السيتوبلازما بعدها يختزل النتريت إلى أمونيا بفعل أنزيم Nitrite reductase الموجود في البلاستيدات الخضراء (Graham & Wilcox, 2000) ، وبالتالي يسهم في النمو و ازدياد في الكتلة الحيوية، وتتوافق النتائج مع دراسات كل من (2020) ;Abdel-Raouf *et al.* (2018) Higgins *et al.*; (2012) Sutherland *et al.*.

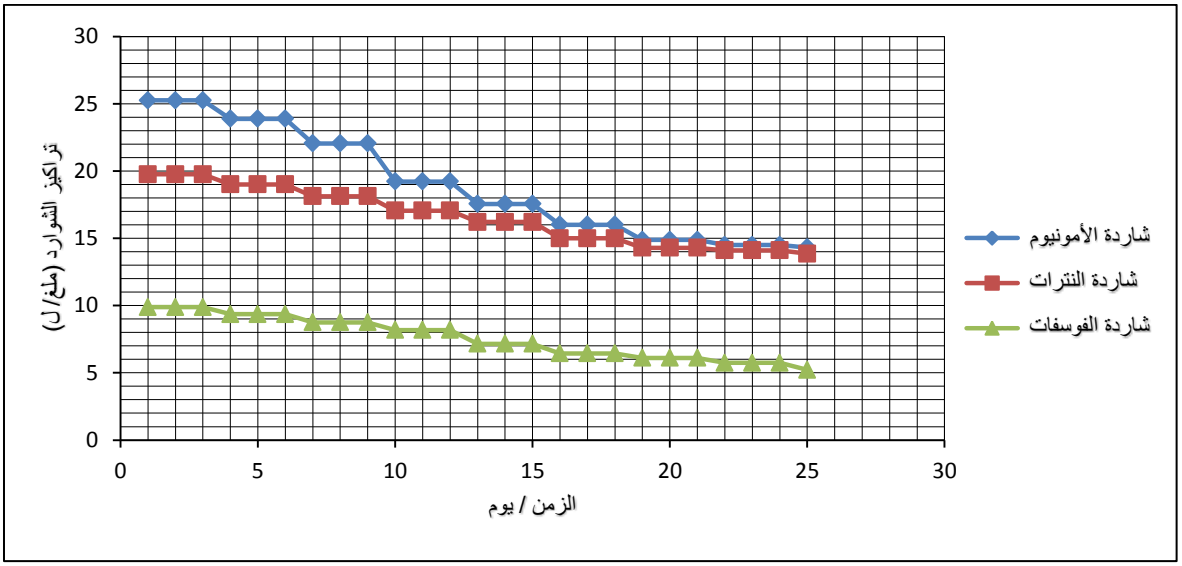
3.2. شاردة الفوسفات (PO_4^{-3}):

تراوح تركيز شاردة الفوسفات (PO_4^{-3}) بين (5.22–9.94) ملغ/ل (الجدول 2)، وسجل أقل انخفاض لتركيز شاردة الفوسفات (PO_4^{-3}) 5.22 ملغ/ل في اليوم 25 (الشكل 8)، وبلغ معدل نسبة الإزالة الحيوية 23.84 % (الشكل 9).

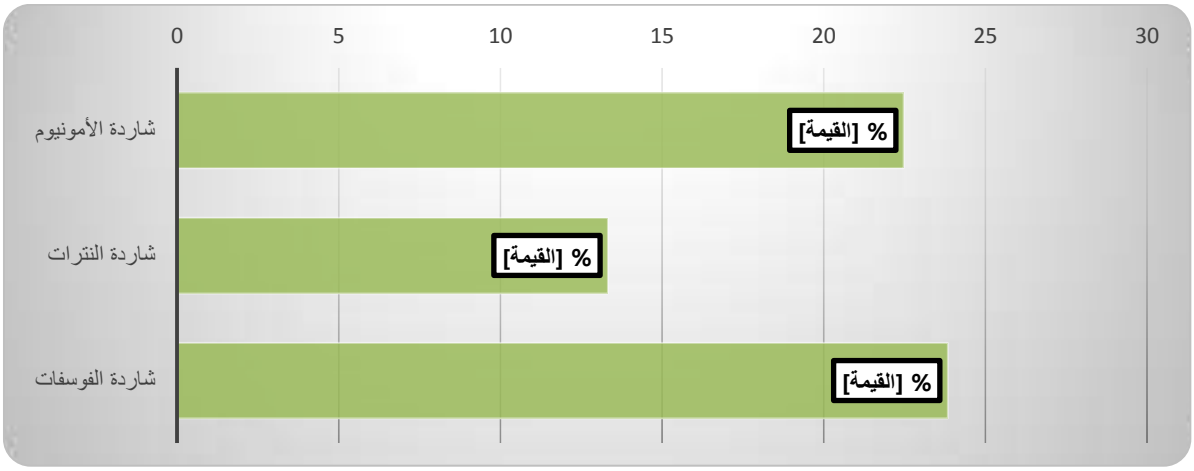
يعد الفوسفات من أهم المغذيات التي تستخدمها الطحالب أثناء نموها، تمتصه على شكل اورثوفوسفات منحل وبولي فوسفات وتخزنه في السيتوبلازم بشكل حبيبات تدعى phytin لذلك يقل تركيز الفوسفات عند نمو الطحالب، وهذ يتفق مع نتائج دراسات Wang *et al.* (2013) و De Assis *etal.* (2020) .

الجدول (2): قياسات تراكيز الشوارد (الأمونيوم–النترات–الفوسفات)

الشوارد	تراكيز الشوارد قبل المعالجة ملغ/ل	شاهد	تراكيز الشوارد بعد المعالجة باستخدام الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. ملغ/ل	
			معدل نسبة الإزالة الحيوية%	أقل انخفاض
شاردة الأمونيوم (NH_4^+)	25.42	22.84	22.48	14.33
شاردة النترات (NO_3^-)	19.85	18.20	13.33	13.86
شاردة الفوسفات (PO_4^{-3})	9.94	9.64	23.84	5.22



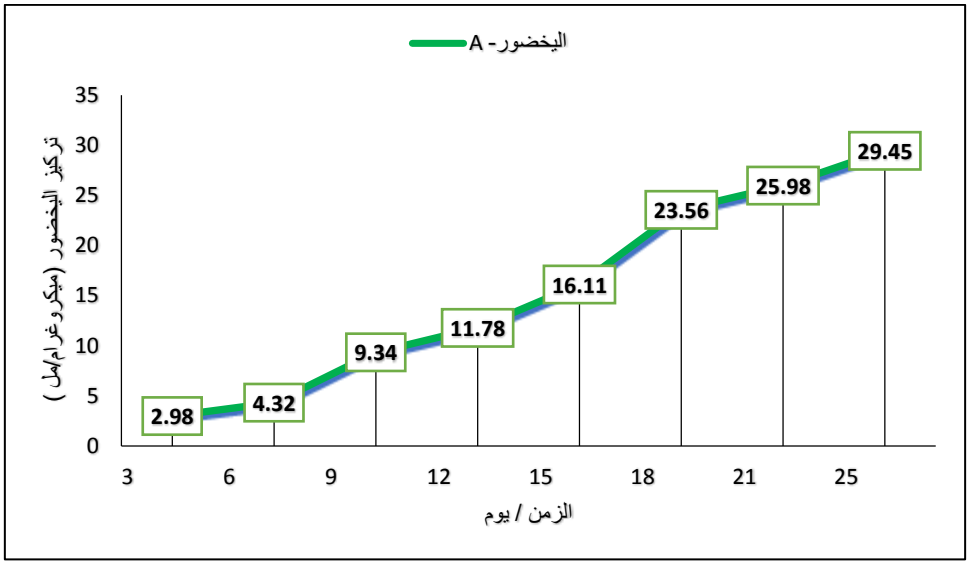
الشكل(8): رسم بياني لتراكيز الشوارد (الأمونيوم–النترات–الفوسفات) خلال زمن المعالجة



الشكل (9): رسم بياني لمعدل نسبة الإزالة الحيوية لتراكيز الشوارد (الأمونيوم–النترات–الفوسفات)

3. تركيز اليخضور–A خلال فترة معالجة مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً.

أظهرت نتائج قياس اليخضور–A (الشكل10) أعلى تركيز لليخضور– أ كان 29.45 ميكروغرام/مل في اليوم 25، حيث أن الطحالب تحتاج إلى نظام من تعاقب الضوء والظلام فهي تحتاج إلى الضوء لإنتاج ATP (Adenosine triphosphate)، والكوأنزيم المستخدم كحامل للطاقة في الخلايا وNADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)، وتحتاج إلى الظلام من أجل مرحلة تركيب المواد البيوكيميائية وذلك من أجل عملية النمو (Bouterfas *et al.*, 2006) ، وتوافقت النتائج مع دراسة Su *et al.* (2016) و Kilroy *et al.* (2020) و Sarkar *et al.* (2020)



الشكل (10): رسم بياني لتركيز اليخضور–أ خلال فترة معالجة مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً

الاستنتاجات والتوصيات

نستنتج من خلال بحثنا إمكانية استخدام الطحلب الأخضر الخيطي *Mougeotia* sp. في عملية التنقية الذاتية للمياه والمعالجة المتقدمة لمياه الصرف الصحي، حيث تعد طريقة أمنة بيئياً وقليلة التكلفة، إضافة إلى الإستفادة من الكتلة الحيوية في تطبيقات مختلفة لذلك من الأهمية بمكان زيادة الأبحاث في هذا المجال بهدف الاستفادة من الطحالب في مجالات الحياة كافة، والتوجه نحو استزراعها حقلياً والبحث عن الظروف البيئية المناسبة للوصول إلى أعلى إنتاجية من هذه الكائنات.

Arabic references:

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A. & IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and Wastewater Treatment. Saudi Journal of Biological Sciences, 19(3), 2012, 257-275.
- DEEB, GEORGE; ABBAS, ASIF; TAKLA, MAHMOUD. The Effect of The Water Extract of Algae Ulva Fasciata And Colpomenia Sinuosa Inthe Germination of Tomato and Tobacco Seeds. Al-Baath University Journal, Volume 93, Issue 13, 2017, 67-90.

English references:

- AGARDH, C.A. *Systema algarum*. Literis Berlingianis,1824.
- ARIYADEJ, C.; TANSAKUL, R.; TANSAKUL, P.; ANGSUPANICH, S. *Phytoplankton diversity and its relationships to the physico-chemical environment in the Banglang Reservoir, Yala Province*. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26(5), 2004, 595-607.
- BANERJEE, A.; SHARMA, R.; CHISTI, Y. & BANERJEE, U. C. *Botryococcus braunii: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals*. Critical reviews in biotechnology, 22(3), 2002, 245-279.
- BOUTERFAS, R., BELKOURA, M., & DAUTA, A. *The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake*. Limnetica, 25(3), 2006, 647-656.

- CHU, S. P. *The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae: part I. Methods and culture media*. The Journal of Ecology, 30, 1942, pp284-325.
- CHU, W. L. *Biotechnological applications of microalgae*. IeJSME, 6(1), 2012, S24-S37.
- DANIELO, O. *An algae-based fuel*. Biofutur, 255, 2005, 1-4.
- DE ASSIS, L. R.; CALIJURI, M. L.; ASSEMANY, P. P.; SILVA, T. A. & TEIXEIRA, J. S. *Innovative hybrid system for wastewater treatment: High-rate algal ponds for effluent treatment and biofilm reactor for biomass production and harvesting.* Journal of Environmental Management, 274,2020, 111-183.
- GALÈS, A.; BONNAFOUS, A.; CARRÉ, C.; JAUZEIN, V.; LANOUGUÈRE, E.; LE FLOC'H, E.; & SIMIER, M. *Importance of ecological interactions during wastewater treatment using High Rate Algal Ponds under different temperate climates*. Algal Research, 40,2019, 101-508.
- GRAHAM, L. E., & WILCOX, L. W. *Algae. Prentice-Hall, Inc***,** 2000.
- HIGGINS, B. T.; GENNITY, I.; FITZGERALD, P. S.; CEBALLOS, S. J.; FIEHN, O. & VANDERGHEYNST, J. S. *Algal–bacterial synergy in treatment of winery wastewater*. npj Clean Water, 1(1), 2018, 1-10.
- KILROY, C.; BROWN, L.; CARLIN, L.; LAMBERT, P.; SINTON, A.; WECH, J. A. & HOWARD-WILLIAMS, C. *Nitrogen stimulation of periphyton biomass in rivers: Differential effects of ammonium-N and nitrate-N*. Freshwater Science, 39(3),2020.
- KIM, P.; DONG, J.; LEE, C. G. *Influence of extracellular products from H. P. on growth and bacteriocin production bythree species of Lactobacillus*. Microbiol. Biotechnol, 16(6), 2006, 849-854.
- LARSDOTTER, K. *Wastewater treatment with microalgae-a literature review*. Vatten, 62(1), 2006, 31.
- LICHTENTHALER, H. K., & WELLBURN, A. R. *Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents*. biochemical Society transactions, 11, 1983, 591-592.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A. & CAETANO, N. S. *Microalgae for biodiesel production and other applications: a review*. Renewable and sustainable energy reviews, 14(1), 2010, 217-232.
- MUKHERJEE, B.; NIVEDITA, M.; MUKHERJEE, D. *Plankton diversity and dynamics in a polluted eutrophic lake, Ranchi*. Journal of Environmental Biology, 31(5), 2010, 827.
- NIRMALAKHANDAN, N.; SELVARATNAM, T.; HENKANATTE-GEDERA, S. M.; TCHINDA, D.; ABEYSIRIWARDANA-ARACHCHIGE, I. S. A.; DELANKA-PEDIGE, H. M. K., ... & LAMMERS, P. J. *Algal wastewater treatment: Photoautotrophic vs. mixotrophic processes*. Algal Research, 41,2019, 101-569.
- SARKAR, S.; MANNA, M. S.; BHOWMICK, T. K. & GAYEN, K. *Extraction of chlorophylls and carotenoids from dry and wet biomass of isolated Chlorella Thermophila: Optimization of process parameters and modelling by artificial neural network*. Process Biochemistry,2020.
- SKINNER, S., & ENTWISLE, T. J. *Mougeotia (Zygnemaceae, Streptophyta) in Australia*. Telopea, 18, 2015, 481-494.
- SOEDER, C. *Productivity of microalgal systems in wastewater for aquaculture*. University of the OFS Publication, Series C, 1981, Nº3.

- SUTHERLAND, D. L.; PARK, J.; RALPH, P. J. & CRAGGS, R. J. *Improved microalgal productivity and nutrient removal through operating wastewater high rate algal ponds in series*. Algal Research, 47, 2020, 101-850.
- SU, Y.; MENNERICH, A. & URBAN, B. *A comparison of feasible methods for microalgal biomass determinations during tertiary wastewater treatment*. Ecological Engineering, 94,2016, 532-536.
- STEIN, J. R. *Hand book of phycologicalmethods*. Cambridge University. press. Cambridge, U.K, 1973.
- VENCKUS, P.; KOSTKEVIČIENĖ, J. & BENDIKIENĖ, V. *Green algae Chlorella vulgaris cultivation in municipal wastewater and biomass composition*. Journal of Environmental Engineering and Landscape Management, 25(1), 20178, 56-63.
- WANG, C.; YU, X.; LV, H. & YANG, J. *Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga Chlorella sp*. Journal of Environmental Biology, 34(2 suppl),2013, 421.
- WIEDEMAN, V. E., WALNE, P. L., & TRAINOR, F. R. *A new technique for obtaining axenic cultures of algae*. Canadian journal of botany, 42(7), 1964, 958-959.