Cultivation of green *algae Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum* in secondary treated wastewater and determination of protein biomass productivity

Dr. George Deeb*
Ali Bkdash **

(Received 26 / 2 / 2022. Accepted 20 / 7 /2022)

□ ABSTRACT □

In this research, green algae *Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum* were isolated from the fountain basin of Tishreen University and cultured under the appropriate cultivation conditions of temperature and illumination (temperature 25 ± 2 °C, illumination intensity 2500 lux, light cycle 16 light/8 dark) on 3N-BBM culture medium. +V, liquid and solid.
The isolated green algae were also cultured in secondary treated sewage water from Al-Ruwaimia plant under the appropriate cultivation conditions of temperature and lighting.
During the algal growth period, pH, electrical conductivity (EC) and dissolved oxygen were measured every 3 days for 24 days.
The growth of the isolated green algae was accompanied by an increase in the values of pH and dissolved oxygen and a decrease in electrical conductivity, and the green algae *Chlorella vulgaris* was more adapted to growth, as it recorded the highest growth rate of 3.2 cells/hour and the lowest doubling time of 1.34 hours in the secondary treated wastewater, and obtaining a biomass that reached The percentage of protein in it to 47.1%.

Keywords*:* *Chlorella vulgaris*, *Cosmarium pyramidatum*, Al-Ruwaimia plant, algal isolation, Phototropism**.**

* **Professor - Department of Botany - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria. gdeeb61@gmail.com**
** **PhD Student in Plant Biology - Department of Plant Biology - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria. ali095511@gmail.com**

استزراع الطحلبين الخضر
Cosmarium pyramidatum & Chlorella vulgaris
في مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً وتحديد إنتاجية الكتلة الحيوية من البروتين

د.جورج ديب*

علي بكداش**

(تاريخ الإيداع 26 / 2 / 2022. قبل للنشر في 20 / 7 / 2022)

ملخّص

تم في هذا البحث عزل الطحلبين الخضر *Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum* من حوض نافورة جامعة تشرين واستزراعهما تحت ظروف الزرع الملائمة من درجة حرارة وإضاءة (حرارة 25 ±2 مْ، شدة إضاءة 2500 لوكس، نوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام) على الوسط الزرعي 3N–BBM+V السائل والصلب.

كما تم استزراع الطحلبين الخضر المعزولين في مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً من محطة الرويمية تحت ظروف الزرع الملائمة من درجة حرارة وإضاءة .

خلال فترة نمو الطحلبين تم قياس الأس الهيدروجيني (pH) والناقلية الكهربائية (EC) والأوكسجين المنحل كل 3 أيام لمدة 24 يوم.

ترافق مع نمو الطحلبين الخضر المعزولين ارتفاع في قيم الأس الهيدروجيني والأوكسجين المنحل وانخفاض الناقلية الكهربائية وكان الطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* أكثر تكيفاً للنمو حيث سجل أعلى معدل نمو 3.2خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 1.34 ساعة ضمن مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً، والحصول على كتلة حيوية وصلت نسبة البروتين فيها إلى47.1%.

الكلمات المفتاحية: *Chlorella vulgaris* ، *Cosmarium pyramidatum*، محطة الرويمية، عزل طحلبي، نوبة ضوئية.

*أستاذ – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية. gdeeb61@gmail.com

**طالب دكتوراه اختصاص علم الحياة النباتية – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية. ali095511@gmail.com

مقدمة:

تمثل الطحالب الأحياء النباتية المسيطرة في الأوساط المائية، تقوم في النظم البيئية المائية بإنتاج المواد العضوية الضرورية لحياة ونمو مختلف الأحياء المائية الأخرى بفضل مقدرتها على القيام بعملية التركيب الضوئي والتي يرافقها إغناء الوسط المائي بالأكسجين الضروري لتنفس الأحياء المائية عموماً وبالتالي التنقية الذاتية للمياه الملوثة بامتصاصها لبعض المواد العضوية الصغيرة والشوارد المعدنية(الفوسفور، الزنك) الضارة بحياة الإنسان (Mathivanan *et al.*, 2007; Suresh *et al.*, 2011)، كما أن الطحالب تستخدم في عملية التركيب الضوئي أشكالًا مختلفة من الفوسفات والنيتروجين في مياه الصرف الصحي وتحويلها إلى مصادر عضوية ضرورية لاصطناع البروتينات ونمو الخلايا وإنتاج الأوكسجين كمنتج ثانوي وبالتالي تنقي المياه من هذه المواد الضارة بصحة الإنسان والمسببة الكثير من الأمراض(Conley *et al.*, 2009; Hoseinizadeh *et al.*, 2011) ، إضافة لذلك الاستفادة من الكتلة الحيوية للطحالب في مجالات عديدة، طبية– زراعية– صناعية– غذائية..(Fabris *et al.*, 2020).

أهمية البحث وأهدافه:

يُعاني العالم اليوم من مشكلة استنزاف الموارد الطبيعية، وقد تفاقمت في السنوات الأخيرة أزمات المياه والطاقة والغذاء، ولعل أحد الحلول يكمن في استزراع بعض انواع العوالق النباتية فهي تُعد مصدراً غنياً بالبروتينات والسكريات والفيتامينات والأملاح المعدنية ومضادات الأكسدة ولها دور كبير في التنقية الذاتية للمياه و مصدر متجدد لإنتاج الوقود الحيوي.

من هنا تأتي أهمية بحثنا الذي يهدف إلى:

- عزل واستزراع الطحلبين الخضر *Cosmarium pyramidatum* & *Chlorella vulgaris* والحصول عليهما بشكل نقي.
- دراسة غزارة الطحلبين الخضر *Cosmarium pyramidatum* & *Chlorella vulgaris*، وتحديد قيم الأس الهيدروجيني (pH) والناقلية الكهربائية (EC) والأوكسجين المنحل(DO) خلال نموهما في مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً.
- تحديد الطحلب المتكيف بشكل أفضل للنمو في مياه الصرف الصحي ونسبة البروتين في الكتلة الحيوية الناتجة.

طرائق البحث ومواده:

1. مواقع جمع العينات:

- حوض نافورة جامعة تشرين في محافظة اللاذقية (لعزل الطحلبين الخضر *Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum*).
- محطة الرويمية في محافظة اللاذقية (لأخذ عينة مياه الصرف الصحي التي سيتم فيها الاستزراع).

2. جمع العينات:

جمعت العينات من حوض نافورة جامعة تشرين (الشكل 1) من شهر ايلول عام 2021 م وذلك باستخدام عبوات من البولي اتيلين سعة 1 ليتر، ثم نقلت إلى المختبر بهدف عزل الطحلبين الخضر ودراستهما بيولوجياً، أُخذت عينات من

مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً من محطة الرويمية (الشكل 2) و نقلت إلى مختبر الدراسات العليا والتي سيتم فيها استزراع الطحلبين المعزولين.

الشكل (1): حوض نافورة جامعة تشرين

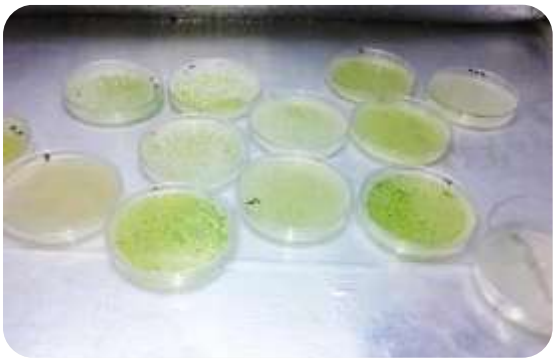
الشكل (2): محطة الرويمية

3. عزل وتنقية الطحلبين الخضر *Cosmarium pyramidatum* & *Chlorella vulgaris*:

تمت الدراسة في وحدة الاستزراع التابعة لقسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم، ولغرض الحصول على عزلات نقية للطحلب العالقي وحيد الخلية Unialgal cultures قمنا بالخطوات التالية(Richmond & Hu, 2013):

أولاً: عزل الطحلبين الخضر:

للحصول على الطحلب وحيد الخلية تم استخدام شريحة زجاجيه وضع عليها قطرة ماء واحدة العينة المراد عزل الطحلب منها وفحصت تحت المجهر و بعد تحديد الطحلب المراد عزله تم سحب الخلية الطحلبية وحدها وبدقة بواسطة ماصة شعرية، نقلت بعد ذلك إلى الوسط الزرعي الصلب 3N-BBM+V(Star & Zeikus, 1993) تحت ظروف الزرع الملائمة من درجات حرارة وإضاءة (حرارة 25 ±2 مْ، وشدة إضاءة 2500 لوكس، ونوبة ضوئية 16ضوء/8 ظلام) لمدة محددة من الزمن وتكرر دراسة العينة للتأكد من الحصول على عزلة وحيدة للطحلب(الشكل 3).



الشكل (3): استزراع العينات الطحلبية على الوسط الصلب 3N-BBM+V

ثانياً: تنقية الطحلبين الخضر:

بعد الحصول على عزلة وحيدة النوع الطحلبي يتم تنقيتها من الجراثيم والفطريات اعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل Wiedeman *et al.* (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 المثقلة على الوسط الزرعي الفطري الصلب Potato Dextrose Agar (P.D.A) و تحضن الأطباق بدرجة حرارة 25 درجة مئوية لمدة 5 أيام، كما يؤخذ قسم آخر من العينة الطحلبية المثقلة ويزرع على الوسط الزرعي الجرثومي الصلب Nutrient Agar وتحضن الأطباق بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 48 ساعة، وتكرر العملية عدة مرات حتى يتم التأكد من عدم نمو فطريات وجراثيم على الأوساط المغذية وبذلك يتم الحصول على عزلة نقية لكل منهما خالية من النمو الفطري والجرثومي.

ثالثاً: استزراع الطحلبين في الوسط الزرعي السائل 3N-BBM+V:

ينقل جزء من الوسط الصلب وما يحتويه من خلايا طحلبية برفق إلى 5 حوجلات زجاجية سعة كل منها 250 مل حاوية على 150 مل من الوسط الزرعي السائل 3N-BBM+V وذلك باستخدام عروة زرع معقمة وتحضن تحت ظروف الزرع الملائمة من درجات حرارة وإضاءة مع تحريك الحوجلات وتبديل أماكنها كل 8 ساعات حتى الحصول على نمو متجانس للمزرعة الطحلبية لكل منهما(الشكل 4).

الشكل (4): استزراع العينة الطحلبية في الوسط السائل 3N-BBM+V

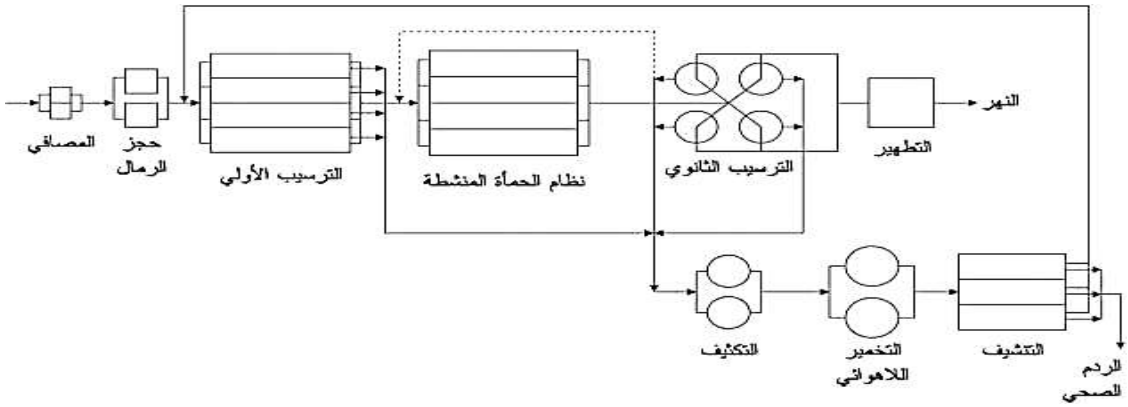
4. استزراع الطحلبين في مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً:

اخذ 20 لتر مياه الصرف الصحي المعالجة ثانويا من محطة الرويمية(الشكل5) وأجريت عليها بعض القياسات الفيزيائية والكيميائية في مختبر المحطة(الجدول 1)، بعد ذلك عقمت بجهاز الأوتوكلاف وحفظت في مكان بارد لحين الاستخدام.

تمت إضافة 15 مل من المزرعة السائلة لكل طحلب بعد تحديد غزارة الخلايا إلى 3 لتر من مياه الصرف الصحي المعقمة، طبقت مخبرياً تحت ظروف الزرع الملائمة من درجات حرارة وإضاءة لمدة 25 يوم مع اجراء (5) مكررات لكل منهما.

الجدول(1): بعض القياسات الفيزيائية والكيميائية مياه الصرف الصحي المعالجة ثانويا من محطة الرويمية

pH	µS/cm	Mg/l
	EC	DO
7.08	1630	2.1



الشكل (5): مخطط يوضح مراحل المعالجة الثانوية لمياه الصرف الصحي في محطة الرويمية

5. تحديد الغزارة لكل منهما:

حددت غزارة الطحلبين الخضر *Cosmarium pyramidatum & Chlorella vulgaris* باستخدام صفيحة Komorek Burkera حسب طريقة Edler (1979) وتكون هذه الصفيحة مقسمة إلى 12 صف من المربعات أفقياً و12 صف عمودياً فيكون عدد المربعات الإجمالي 144مربعاً، ويكون حجم المربع الواحد $1/250\ mm^3$، يتم عدّ الخلايا في جميع المربعات، ثم يحسب عدد الخلايا في المربع الواحد من المعادلة: $Ns = \frac{\text{العدد الإجمالي}}{144}$

واعتباراً منه يحسب عدد الخلايا في العينة مقدراً بـ (خلية/مل) بتطبيق القانون:

$$N.\,ml^{-1} = 250.\,Ns.\,1000$$

كما تم حساب معدل النمو من المعادلة التالية(Fogg, 1987): $k = \frac{\log 10Nt - \log 10N0}{t}$

حيث k معدل النمو و Nt عدد الخلايا حسب أيام الدراسة و $N0$ عدد الخلايا في بداية التجربة، t عدد الأيام.

$G = \frac{0.301}{K} 24$ حيث G زمن التضاعف.

6. قياس الناقلية الكهربائية Electrical Conductivity (EC) والأس الهيدروجيني (pH):

تم قياس التغيرات في قيم الناقلية الكهربائية Electrical Conductivity (EC) والأس الهيدروجيني (pH) باستعمال جهاز ATC pH METER بعد معايرة الجهاز في المختبر باستخدام محاليل عيارية، تم القياس مباشرة وذلك بغمر المسبار بالعينة والانتظار حتى ثبات القيمة على الشاشة ثم تؤخذ القراءة.

7. قياس الأوكسجين المنحل DO:

تم قياس التغيرات في قيم الأوكسجين المنحل باستعمال جهاز DO meter حيث تؤخذ كمية من العينة المراد قياس قيمة الأوكسجين المنحل ضمن أنبوب اختبار ويوضع المسبار الخاص بالجهاز وينتظر حتى تستقر القيمة وتؤخذ القراءة وتقدر النتيجة بـ ملغ/ل.

8. تحديد المحتوى البروتيني:

يؤخذ 1 غ من عينة الطحالب الجافة ثم يتم مزج العينة وطحنها بشكل جيد، يضاف لها 20 مل من ثلاثي كلور حمض الخل بتركيز 10% لضمان ترسيب البروتين وذلك بعد ضبط الأس الهيدروجيني ليكون معتدل باستخدام فوسفات البوتاسيوم، يحل الراسب الناتج بـ 20 مل من ماءات الصوديوم وتحرك حتى تمام الذوبان للحصول على مستخلص البروتين، يؤخذ 1مل من محلول البروتين الناتج ويضاف له 5 مل من كبريتات النحاس القلوي ويحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 10دقائق، بعد ذلك يضاف 5 مل من كاشف فولين فينول ويتم الحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 30

دقيقة وتقاس الامتصاصية باستخدام Spectrophotometric على طول موجة 500 نانومتر مقابل شاهد يحوي كمية الكواشف نفسها مع 1 مل من ماءات الصوديوم بدلاً من محلول البروتين(Lowry *et al.*, 1951).
هناك طريقة محورة عن الطريقة السابقة(López *et al.*, 2010) يتم قياس الكثافة الضوئية على الطول الموجي 660 نانومتر ورسم منحنى قياسي اعتمادا على Bovin serum albumin بتراكيز 0 إلى 1 مل.

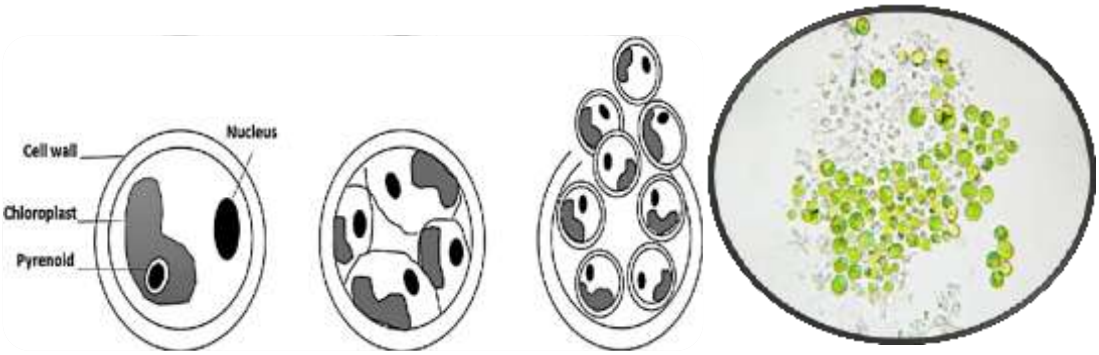
النتائج والمناقشة:

1. خصائص الطحلبين الخضر *Cosmarium pyramidatum* & *Chlorella vulgaris* :

1.1. خصائص الطحلب *Chlorella vulgaris* :

الشعبة:	Chlorophyta	Division
الصف:	Chlorophyceae	Class
الرتبة:	Chlorococcales	Order
الفصيلة:	Chlorellacea	Family
الجنس:	*Chlorella*	Genus
النوع:	*Chllorella vulgaris*	Type

الطحلب *Chlorella vulgaris* من الطحالب الخضراء وحيدة الخلية، خليته بيضوية قطرها من 4–8 ميكرون تحتوي على صانعة خضراء واحدة جدارية كأسية الشكل يحيط بالخلية غلاف رقيق، يتكاثر لاجنسياً بالتبوغ وهي طريقة سريعة للنمو وزيادة عدد الخلايا بشكل كبير(الشكل 5)، تغزر في المياه العذبة جيدة الإضاءة (Beijerinck, 1890 ; Takeda, 1988 ;Yamamoto *et al.*, 2014)، استزراع على الوسط 3N–BBM+V الصلب والسائل.

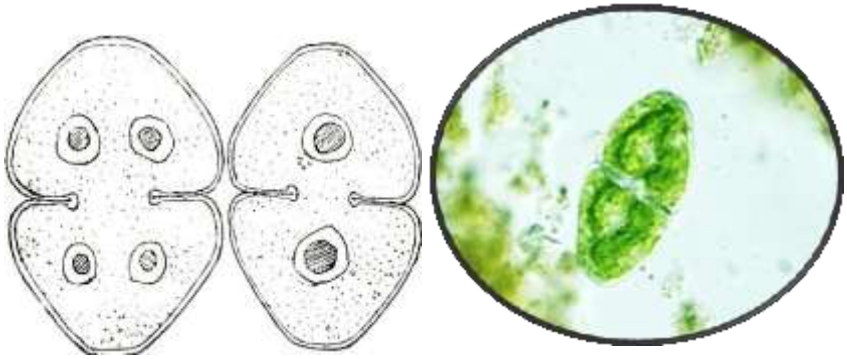


الشكل (5): الطحلب *Chlorella vulgaris*

2.1. خصائص الطحلب الأخضر *Cosmarium pyramidatum*:

الشعبة:	Chlorophyta	Division
الصف:	Zygophyceae	Class
الرتبة:	Desmidiales	Order
الفصيلة:	Desmidiaceae	Family
الجنس:	*Cosmarium*	Genus
النوع:	*Cosmarium pyramidatum*	Type

طحلب أخضر وحيد الخلية، الخلية مؤلفة من نصفين شبه كرويين، وهو من وحيدات الخليةالمدرعة(يحاط بدرع) وهذا يحد من عملية التركيب الضوئي وبالتالي من سرعة نموه وإنتاجه لأفراد جديدة، بالإضافة لتكاثره الإعاشي بالإنشطار وهي عملية تكاثر بطيئة، يبلغ طول الخلايا 30–40 ميكرون وعرضها26–33 ميكرون(الشكل 6) (Oliveira *et al.*, 2010)، استزراع على الوسط 3N–BBM+V الصلب والسائل.



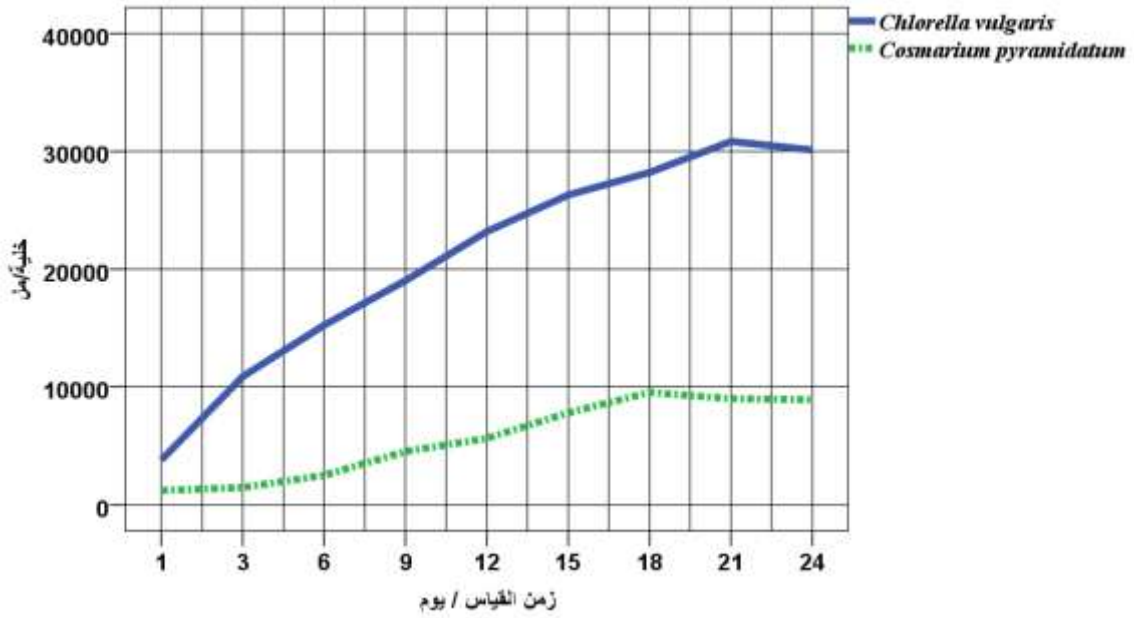
الشكل (6): الطحلب *Cosmarium pyramidatum*

2. تحديد غزارة الطحلبين *Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum*:

دُرست غزارة الطحلبين *Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum* خلال نموهما في مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً باستخدام صفيحة Komorek Burkera حيث كان معدل عدد الخلايا في اليوم الأول 3790 و2200 خلية/مل على التوالي ولوحظ ازدياد النمو مع زمن القياس، سجل الطحلب *Chlorella vulgaris* أعلى معدل نمو 3.2 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 1.34 ساعة وأعلى عدد للخلايا 30842.89 خلية/مل في اليوم 21 من الاستزراع، أما عند الطحلب*Cosmarium pyramidatum* سجل أعلى معدل نمو 2.6 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 2.1 ساعة و أعلى عدد للخلايا 9529.89 خلية/مل في اليوم 18 من الاستزراع(الشكل7).

يعزى ازدياد انقسام الخلايا الطحلبية إلى الظروف البيئية المناسبة وتوافر المغذيات وتعاقب 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 من أجل عملية النمو، لوحظ انخفاض عدد الخلايا مع تقدم عمر المزرعة الطحلبية بسبب انخفاض تراكيز المواد المغذية الضرورية للنمو الموجودة في الوسط المغذي مع تقدم الزمن وعملية التظليل الذاتي اذ تلقي خلايا العوالق

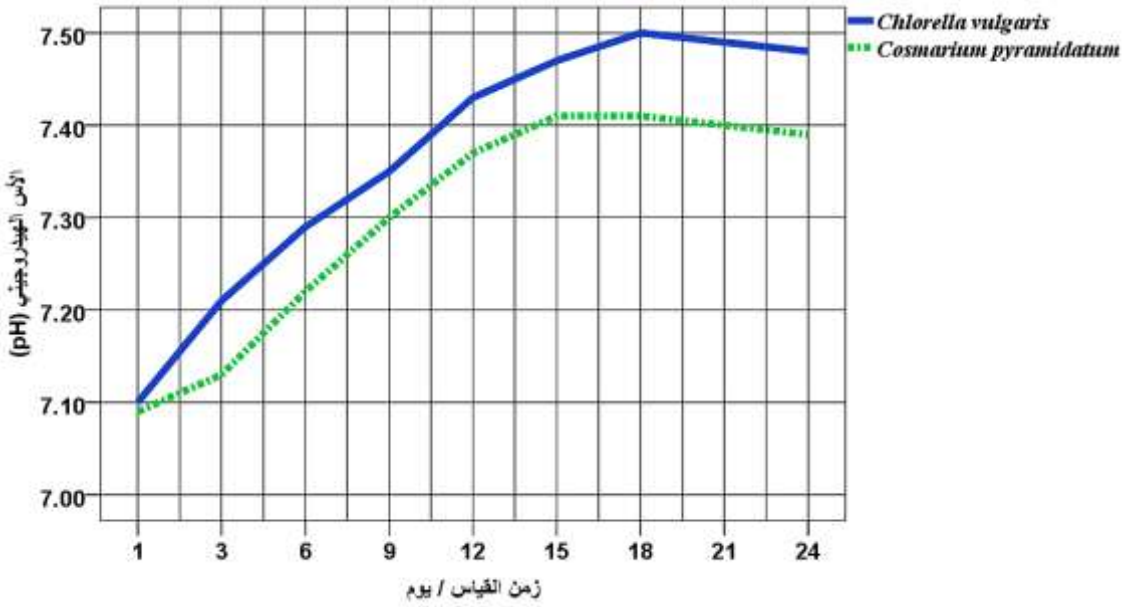
النباتية ظلالاً فوق بعضها البعض (Mallick *et al.*, 1993 ; Bouterfas *et al.*, 2006 ; Xu *et al.*, 2021 ; He *et al.*, 2022).



الشكل (7): رسم بياني لغزارة الطحلبين الخضر *Cosmarium pyramidatum* & *Chlorella vulgaris*

3. قياس قيمة الأس الهيدروجيني (pH):

أظهرت النتائج تراوح قيم الأس الهيدروجيني (pH) بين (7.08–7.50) وسجل الرقم 7.50 كأعلى قيمة للأس الهيدروجيني (pH) للطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* في اليوم 18 يقابله غزارة طحلبية 28211خلية/مل ، أما عند الطحلب الأخضر *Cosmarium pyramidatum* كانت قيم الأس الهيدروجيني (pH) 7.41 والغزارة الطحلبية 9561خلية/مل، يعزى ارتفاع الأس الهيدروجيني (pH) نتيجة زيادة الغزارة الطحلبية حيث يترافق مع نمو الطحالب استهلاك كميات كبيرة من ثاني أوكسيد الكربون (CO_2) المنحل في الماء في أثناء قيامها بعملية التركيب الضوئي نهاراً، إضافة إلى إفراز مستقلبات خلوية وامتصاص مركبات حمضية، مثل الأحماض الأمينية والمركبات النيتروجينية التي تؤدي إلى زيادة قلوية وسط النمو بمرور الوقت، وبالتالي فإن الزيادة المعتدلة في القلوية هي مؤشر جيد لنمو الطحالب الدقيقة الطبيعي (Sivakumar & Karuppasamy, 2008; Almutairi *et al.*, 2020 ; Raven *et al.*, 2020; Robles *et al.*, 2020)،

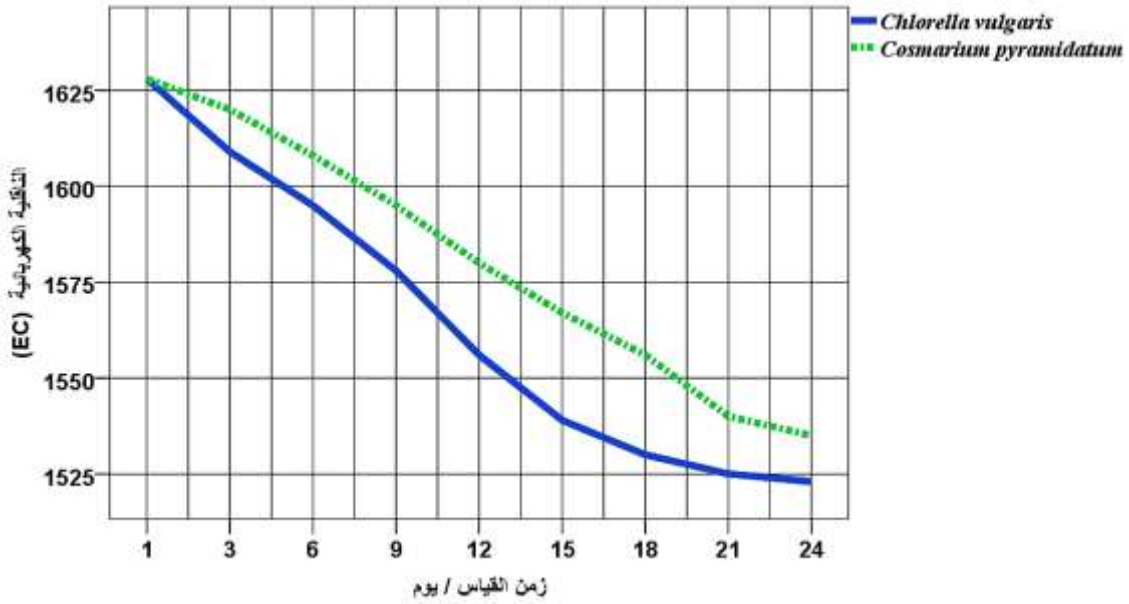


الشكل (8): رسم بياني لقيم الأس الهيدروجيني (pH)

4. قياس الناقلية الكهربائية Electrical Conductivity (EC):

أظهرت نتائج الدراسة تراوح قيم الناقلية الكهربائية (EC) بين (1523–1630) ميكروسيمنز/سم، وسجل انخفاض الناقلية الكهربائية (EC) للطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* 1523 ميكروسيمنز/سم، عند الطحلب الأخضر *Cosmarium pyramidatum* كان 1535 ميكروسيمنز/سم.

من خلال النتائج نلاحظ بأن للطحالب قدرة على معالجة مياه الصرف الصحي وتخفيض قيم الناقلية الكهربائية(EC) وقيم الأملاح الذائبة في الماء، وبما أن الناقلية الكهربائية تعبر عن مجموعة من الأيونات الموجبة والسالبة والأملاح الذائبة في الماء (HCO_3^- , CO_3^- , PO_4^{-2} , Mg^{+2} , Ca^{+2} , NO_2^- , NO_3^-) ، وتزداد الناقلية الكهربائية (EC) مع ازدياد تركيز الشوارد المنحلة في الماء وتنقص بنقصانها حيث تعد هذه الشوارد عناصر مغذية تستخدمها الطحالب لأغراض النمو وبذلك تعمل الطحالب على خفض معدل نسبة هذه العناصر والأيونات في الماء وبالتالي هذا يؤدي إلى خفض معدل نسبة الناقلية الكهربائية والملوحة في الماء وهذا يتفق مع دراسة Ezzat *et al.* (2012).

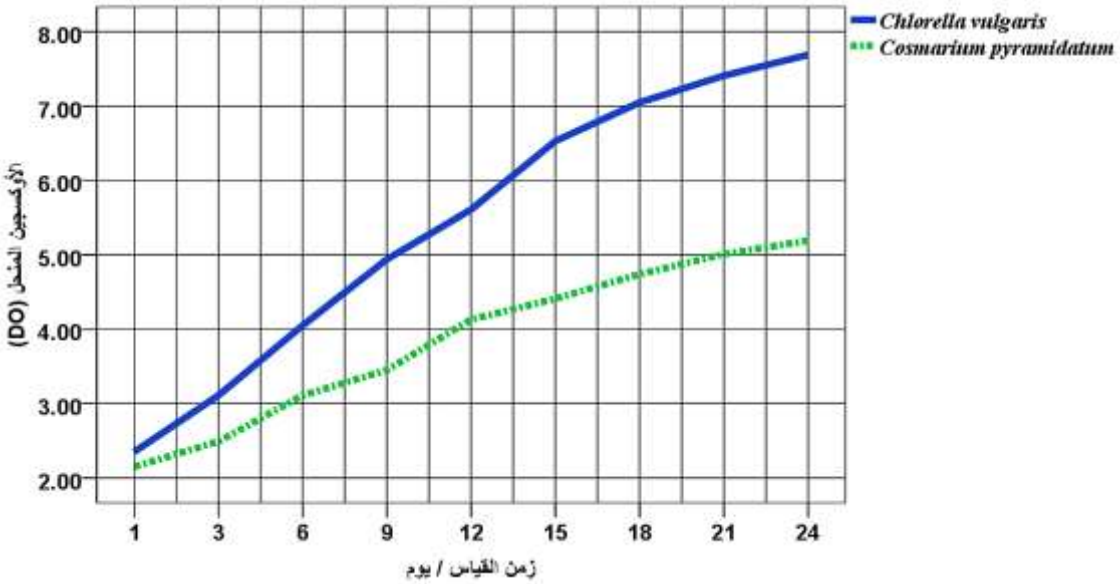


الشكل (9): رسم بياني لقيم الناقلية الكهربائية (EC)

5.قياس كمية الأوكسجين المنحل (DO):

بينت نتائج الدراسة تراوح قيم الأوكسجين المنحل (DO) بين (1.15–7.89) ملغ/ل وسجل7.89 ملغ/ل أعلى ارتفاع لقيمة الأوكسجين المنحل (DO) للطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* وسجل 5.19ملغ/ل عند الطحلب الأخضر *Cosmarium pyramidatum*مع تأرجح قيم الأوكسجين المنحل خلال فنوبات الإضاءة.

من خلال النتائج يلاحظ قدرة الطحالب الخضراء على زيادة قيم الأوكسجين المنحل (DO) بازدياد نموها كونه أحد النواتج الرئيسية لعملية التركيب الضوئي والتي تؤدي إلى خفض كميات كبيرة من ملوثات مياه الصرف الصحي كذلك تقليل تركيز ثاني أوكسيد الكربون (CO_2) المنحل في الوسط المائي وهذا يتفق مع دراسة Aarti *et al.* (2008) حيث لوحظ ارتفاع بقيم الأوكسجين المنحل (DO) عند استخدام الأنواع الطحلبية التالية *Chlorella vulgaris* و *Synechocystis salina* و *Gloeocapsa gelatinosa* من 2.3 ملغ/ل إلى 8 و6.4 و5.9 على التوالي وبين Lage *et al.* (2021) يرافق نمو طحلب *Chlorella vulgaris* في مياه الصرف الصحي ارتفاع قيم الأوكسجين المنحل وانخفاض بتراكيز النترات.



الشكل (10): رسم بياني لقيم الأوكسجين المنحل (DO)

6. تحديد المحتوى البروتيني في الكتلة الحيوية للطحلبين الخضر *Chlorella vulgaris* & *Cosmarium pyramidatum*:

بلغت نسبة البروتين 47.1% في الكتلة الحيوية الجافة للطحلب *Chlorella vulgaris* هو يتقارب إلى حد كبير مع ما حصل عليه Seyfabadi *et al.*(2011)إذ تراوحت نسبة البروتينات الكلية للنوع نفسه بين 33% و 46%، إلا أن Becker(1994) حدد المحتوى الكلي للبروتين للنوع *Chlorella vulgaris* ضمن المجال (51–58)%، وهو أعلى مما عليه في هذه الدراسة، وقد يعود إلى اختلاف نسبة البروتين ضمن النوع نفسه باختلاف ظروف النمو (Becker, 2007)، أما عند الطحلب *Cosmarium pyramidatum* بلغت نسبة البروتين 13.9%، تعزى هذه النسبة المنخفضة لتركيب الوسط المجهد للطحلب *Cosmarium pyramidatum* بالتالي نجد الطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* الأكثر تكيف للنمو وإنتاجية للبروتين في مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً مقارنة الطحلب *Cosmarium pyramidatum*.

الاستنتاجات والتوصيات:

نستنتج من خلال بحثنا إمكانية استخدام مياه الصرف الصحي المعالجة ثانوياً كأوساط زرعية لاستزراع الطحالب الدقيقة بدلاً من الأوساط باهظة الثمن والحصول على كتلة حيوية يمكن الاستفادة منها في المجال الغذائي خاصة الطحلب *Chlorella vulgaris* التي تتميز كتلته الحيوية بغناها بالبروتين مقارنة مع الطحلب *Cosmarium pyramidatum* لذلك من الأهمية بمكان تدعيم الدراسة باختبار أنواع ونسب الحموض الأمينية في بروتينات الكتلة الحيوية الجافة للنوع *Chlorella vulgaris* للتأكد من قيمتيها الغذائية واستعمالها كمصدر علفي رخيص وغني بالبروتين، تطوير طرائق استزراع رخيصة لأنواع طحلبية أخرى ذات محتوى عالي من البروتين.

References:

- AARTI, N.; SUMATHI, P. & SUBRAHMANIAN, V. *Phycoremediation to improve algal water quality*. Indian hydrobiology, 11(1), 2008, 173-184.
- ALMUTAIRI, ADEL W.; EL-SAYED, ABO EL-KHAIR B.; REDA, MARWA M. *Combined effect of salinity and pH on lipid content and fatty acid composition of Tisochrysis lutea*. Saudi Journal of Biological Sciences, 2020, 27.12: 3553-3558.
- BECKER, E. Wolfgang. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press, 1994.
- BECKER, E. WOLFGANG. *Micro-algae as a source of protein*. Biotechnology advances, 2007, 25.2: 207-210.
- BEIJERINCK, M. W. *Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen*. Bot. Ztg., 48, 1890, 781-788.
- 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.
- CONLEY, D. J.; PAERL, H. W.; HOWARTH, R. W.; BOESCH, D. F.; SEITZINGER, S. P.; HAVENS, K. E., ... & LIKENS, G. E. *Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus*. Sci. 123, 2009, 1014-5.
- EDLER, L. *Recommendations for marine biological studies in the Baltic Sea: phytoplankton and chlorophyll*. Baltic Mar. Biol, 1979, 5, 1-38.
- EZZAT, S.; M MAHDY, H.; H ABD EL SHAKOUR, E. & A EL-BAHNASAWY, M. *Water quality assessment of river Nile at Rosetta branch: impact of drains discharge*. Middle-East J. Sci. Res., 12 (4), 2012, 413-423.
- FABRIS, M., ABBRIANO, R. M., PERNICE, M., SUTHERLAND, D. L., COMMAULT, A. S., HALL, C. C., ... & RALPH, P. J. *Emerging technologies in algal biotechnology: Toward the establishment of a sustainable, algae-based bioeconomy*. Frontiers in plant science, 2020, 11, 279.
- FOGG, Gordon Elliott; THAKE, Brenda. *Algal cultures and phytoplankton ecology*. Univ of Wisconsin Press, 1987.
- HE, Z., QU, Y., JIN, W., ZHOU, X., HAN, W., SONG, K., ... & JIANG, G. *Effect of microwave on biomass growth and oxygen production of microalgae Chlorella pyrenoidosa cultured in real wastewater*. Process Safety and Environmental Protection, 161, 2022,22-33.
- HOSEINIZADEH, G. R.; AZARPOUR, E.; ZIAEIDOUSTAN, H.; MORADI, M. & AMIRI, E. *Phytoremediation of heavy metals by hydrophytes of Anzali Wetland (Iran*). World Applied Sciences Journal. 12(9), 2011, 1478-1481.
- LAGE, SANDRA; TOFFOLO, ANDREA; GENTILI, FRANCESCO G. *Microalgal growth, nitrogen uptake and storage, and dissolved oxygen production in a polyculture based-open pond fed with municipal wastewater in northern Sweden.* Chemosphere, 2021, 276: 130122.
- LÓPEZ, C. V. G., GARCÍA, M. D. C. C., FERNÁNDEZ, F. G. A., BUSTOS, C. S., CHISTI, Y., & SEVILLA, J. M. F. *Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass*. Bioresource technology, 101(19), 2010, 7587-7591.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L. & RANDALL, R. J. *Protein measurement with the Folin phenol reagent.* Journal of biological chemistry, 193, ,1951, 265-275.

- MALLICK, N.; RAI, L. C. *Influence of culture density, pH, organic acids and divalent cations on the removal of nutrients and metals by immobilized Anabaena doliolum and Chlorella vulgaris*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1993, 9.2: 196-201.
- MATHIVANAN, V.; VIJAYAN, P.; SABHANAYAKAM, S. & JEYACHITRA, O. *An assessment of plankton population of Cauvery river with reference to pollution*. Journal of environmental biology. 28(2), 2007, 523-526.
- OLIVEIRA, I. B. D., BICUDO, C. E. D. M., & MOURA, C. W. D. *NContribuição ao conhecimento de Cosmarium Corda ex Ralfs (Desmidiaceae, Zygnematophyceae) para a Bahia e o Brasil*. Hoehnea, 37(3), 2010, 571-600.
- RAVEN, JOHN A.; GOBLER, CHRISTOPHER J.; HANSEN, PER JUEL. *Dynamic CO2 and pH levels in coastal, estuarine, and inland waters: Theoretical and observed effects on harmful algal blooms*. Harmful Algae, 2020, 91: 101594.
- RICHMOND, AMOS; HU, QIANG. *Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology*. John Wiley & Sons, 2013.
- ROBLES, Á.; CAPSON-TOJO, G.; GALÈS, A.; RUANO, M. V.; SIALVE, B.; FERRER, J. & STEYER, J. P. *Microalgae-bacteria consortia in high-rate ponds for treating urban wastewater: Elucidating the key state indicators under dynamic conditions*. Journal of Environmental Management, 261, 2020, 110244.
- SIVAKUMAR, K., & KARUPPASAMY, R. *Factors affecting productivity of phytoplankton in a reservoir of Tamilnadu, India*. American-Eurasian Journal of Botany, 1(3), 2008, 99-103.
- STARR, R. C. & ZEIKUS, J. A. *UTEX—The culture collection of algae at the University of Texas at Austin 1993 list of cultures 1*. Journal of phycology, 29, 1993, 1-106.
- SURESH, S.; ARAVINDA, H. B. & THIRUMALA, S. *Phytoplankton for biomonitoring of organic pollution in two tanks of Davangere district, Karnataka, India*. South Western journal of horticulture, biology and environment. 2(2), 2011, 107-112.
- SEYFABADI, JAFAR; RAMEZANPOUR, ZOHREH; AMINI KHOEYI, ZAHRA. *Protein, fatty acid, and pigment content of Chlorella vulgaris under different light regimes*. Journal of Applied Phycology, 2011, 23.4: 721-726.
- TAKEDA, H. *Classification of Chlorella strains by cell wall sugar composition*. Phytochemistry, *27*(12), 1988, 3823-3826.
- 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.
- XU, L., PAN, W., YANG, G., TANG, X., MARTIN, R. M., LIU, G., & ZHONG, C. *Impact of light quality on freshwater phytoplankton community in outdoor mesocosms*. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 1-13.
- YAMAMOTO, M., FUJISHITA, M., HIRATA, A., & KAWANO, S. *Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga Chlorella vulgaris (Chlorophyta, Trebouxiophyceae)*. Journal of Plant Research, 117(4), 2004, 257-264.