مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (37) العدد (5) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (37) No. (5) 2015

عزل واختيار أفضل العزلات الفطرية من ماء الجفت الطازج لاستخدامها في المعالجة الحيوية

الدكتورة أميمة ناصر [*]
الدكتور حسين جنيدي [**]
كرم موسى [***]

(تاريخ الإيداع 7 / 6 / 2015. قُبِل للنشر في 7 / 9 /2015)

□ ملخّص □

هدف هذه الدراسة هو عزل وتوصيف فطريات من ماء جفت مخمر، وتحديد العزلات الأكثر قدرة على احتمال التراكيز العالية للحمولات العضوية والفينولات الكلية في ماء الجفت الطازج. تم التعرف على ثلاث عزلات تم توصيفها من خلال دراسة الصفات المورفولوجية والبيومترية على وسط الزراعة وسط البطاطا ديكستروز آغار Potato Dextrose Agar (PDA)، ووسط تشابك آغار Czapak Dox Agar (CzA)، وهي عزلة من النوع *Aspergillus sclerotiorum* وعزلة من النوع *Paecilomyces niveus*، وعزلة من النوع *Mucor nircinelloides*. وفي اختبار عزلات الأنواع الثلاث على ثلاثة أوساط اختبارية استخدم فيها ماء الجفت (Olive Mill Wastewater) الطازج بتراكيز (100%OMW) $OMWA_3$ ، (75%OMW) $OMWA_2$ و (50%OMW) $OMWA_1$ ، تبين أن العزلة من النوع *Paecilomyces niveus* هي الأكثر قدرة على احتمال تراكيز عالية من حمولات ماء الجفت الطازج.

الكلمات المفتاحية: ماء الجفت (OMW)، فطريات ماء الجفت، الحمولات العضوية، الفينولات الكلية (TP)

[*] مدرسة – قسم الوقاية البيئية (اختصاص أحياء دقيقة)– المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين– محافظة اللاذقية– سورية.
[**]مدرس – قسم النظم البيئية– المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين– محافظة اللاذقية– سورية.
[***]طالبة دراسات عليا(ماجستير) – قسم الكيمياء البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين– محافظة اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (37) العدد (5) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (37) No. (5) 2015

Isolation and selection of superior fungi from fresh olive mill wastewater for biotreatrment

Dr. Omiema Nasser[*]
Dr. Hussien Junideh[**]
Karam Moussa[***]

(Received 7 / 6 / 2015. Accepted 7 / 9 /2015)

□ ABSTRACT □

The aim behind this study was to isolate and characterize fungi from fermented olive mill wastewater to determine the superior one that can resist high organic load and total phenol of fresh Olive Mill Wastewater (OMW).

Two different media Czapak Dox Agar (CzA) and Potato Dextrose Agar (PDA) were used for identification of fungi by studying macroscopic and microscopic characteristics. However, *Aspergillus sclerotiorum*, *Paecilomyces sniveus* and *Mucor nircinelloides* had had been identified .

After testing the isolates on fresh olive mill wastewater solid mediums OMWA1 (50%OMW), OMWA2 (75%OMW) and $OMWA_3$ (100%OMW).

Whereas *P. niveus* proves that was the superior one, which can resist high concentration of fresh olive mill wastewater

Key words: Olive Mill Wastewater (OMW), Olive Mill Wastewater Fungi, organic load, Total Phenol (TP).

[*]**Assistant Professor- Department of Environmental Prevention (Microbiology) – Higher Institute for Environmental Research- Tishreen University- Lattakia- Syria.**
****Assistant Professor-Department of Environmental Engineering)– Higher Institute for Environmental Research- Tishreen University- Lattakia- Syria.**
*****Postgraduate Student- Department of Environmental Prevention– Higher Institute for Environmental Research- Tishreen University- Lattakia- Syria.**

مقدمة:

تعد صناعة زيت الزيتون إحدى دعائم الاقتصاد في بلدان البحر الأبيض المتوسط [1] . وهذا يترتب عليه تأثيرات بيئية سلبية مهمّة، يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار، وذلك بسبب الكميات الكبيرة من المخلفات السائلة الصادرة عنها[2]. حيث ينتج فصلياً نحو (6×10^6 m^3) من المنتجات الثانوية السائلة لمعاصر الزيتون أو ما يسمى ماء الجفت(OMW) Olive Mill Wastewater بين شهري أيلول وكانون الأول سنوياً في كل أنحاء العالم، وأن ما يقارب نحو (98%) من الإنتاج العالمي لزيت الزيتون يتم إنتاجه في بلدان حوض البحر المتوسط [3,4].

يتميز ماء الجفت بمجموعة من الصفات أهمها درجة الحموضة (pH) التي تتراوح بين (4.6–5.7)، وبوجود نسبة عالية من الحمولات العضوية، وتحديداً الاحتياج الكيميائي للأكسجين تتراوح قيمتها بين (gO_2/l (45–220) ، بالإضافة إلى الفينولات الكلية، والتي يتراوح تركيزها بين g/l (0.5–24)التي لها التأثير الأكبر في تثبيط نمو الأحياء الدقيقة [1,5].

شهدت المعالجات الحيوية للنفايات السائلة العديد من التطبيقات في أنحاء العالم كلّها ، وذلك بوصفها صديقة للبيئة. يمكن الاعتماد عليها وفي كثير من الحالات تقابل تكلفة المعالجة [6,7]. وفي العديد من هذه الدراسات التي تناولت معالجة ماء الجفت حيوياً تم فيها استخدام الفطور، ولاسيّما الفطريات الدعامية والناقصة، والعديد من الخمائر. ومن ثمّ ، يجب الاهتمام باختيار الكائن الحي الدقيق الذي سيوظف في عملية المعالجة، وما مدى تكيفه مع ماء الجفت. كما يجب أن تكون عملية المعالجة فعالة، من خلال إدخال صيغة اقتصادية سهلة على أنظمة المعالجة المصغرة. وهذا يؤكد أن المعالجة الحيوية خاصة بماء الجفت لم تستثمر على نحو كامل مما يضع الباحثين أمام مصدر غير منته منها[8,9,10].

تم تعريف العديد من الأجناس الفطرية الموجودة في ماء الجفت التي تملك القدرة على خفض سمية ماء الجفت (OMW) منها الأجناس الفطرية الآتية:

Aspergillus sp, paecilomyces sp, Penicillium sp, Fusarium sp, Phoma sp

Acremonium sp, Alternaria sp, Lecythophora sp [11] .

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي هذه الدراسة بهدف تخفيف عبء التلوث البيئي باعتماد طرائق صديقة للبيئة، من خلال عملية البحث عن أنواع فطرية من شأنها تحمل عبء التلوث البيئي لماء الجفت الطازج وقيامها بدور فعال في تخفيف التكلفة الاقتصادية لعملية التخمير المباشر لماء الجفت، والهدف من هذه الدراسة هو عزل فطريات من ماء الجفت والتعرف عليها باستخدام وسطين زرعيين، وذلك لانتقاء العزلات الفطرية الأكثر قدرة على تحمل الحمولات العضوية (COD)، والفينولات الكلية (Tp) في ماء الجفت الطازج.

طرائق البحث ومواده

جمع عينات ماء الجفت وتحليله:

جمعت عينات ماء الجفت المخمرة من خزانات معاصر عدة للزيتون منتشرة في منطقة جبلة التابعة لمحافظة اللاذقية، في عبوات من البولي إيثلين سعة (1L)، أُحضرت مباشرةً للمختبر لإجراء التحليل عليها.

كما جمعت عينات ماء الجفت الطازج من مخرج معصرة طرد مركزي ثلاثية الطور، أُخذت قيم (pH) عند المصدر مباشرةً، وبعد إحضار العينات حُدد الاحتياج الكيميائي للأكسجين (COD) بالاعتماد على طرائق معيارية في فحص المياه والمخلفات السائلة حسب[12] ، والفينولات الكلية(Tp) حسب[13,14].

عزل الفطريات:

حُضّر محلول بإضافة (10ml) من عينات ماء الجفت المخمرة إلى أرلنماير سعة (250ml)، وأُكمل الحجم إلى (100 ml) بالماء المقطر، ورُج جيداً لمدة نصف ساعة، ثم حُضرت سلسلة من التخفيفات على أطباق بتري تحوي وسط البطاطا ديكستروز آغار (PDA)، الذي يحوي (100 mg/l) ستربتومايسين، عُدل فيه pH ليكون (5)، واستُبدل الماء المقطر بماء الجفت المخمر الذي استخدم في العزل، والذي رُشح وعُقم في وقت سابق باستخدام الأوتوغلاف لمدة (12) دقيقة عند الدرجة (121 °C). وحُضنت الأطباق عند الدرجة (28±2 °C) لمدة أسبوعين، بعد ذلك عُزلت المستعمرات مرات عديدة حتى الحصول على مستعمرات نقية، نُقلت المستعمرات إلى وسطين زرعيين هما: وسط البطاطا ديكستروز آغار (PDA)، ووسط تشابك (CzA). بعد ذلك حُضنت الأطباق عند الدرجة (28±2 °C) لمدة سبعة أيام، وسُجلت خصائص المستعمرة لكل عزلة فطرية.

تصنيف الفطريات:

فُحصت المستعمرات الفطرية النامية على الوسطين المغذيين (PDA) و(CzA) اعتماداً على ثلاث مكررات. وصُنفت الأنواع الفطرية اعتماداً على الملاحظة العينية مثل لون وجهي المستعمرة، سرعة نمو المستعمرة، ملمس المستعمرة، وتغيراتها مع مرور الزمن بعد حضن المستعمرات عند الدرجة(28±0.5 °C) ولمدة سبعة أيام.

ومجهرياً على الخيوط الفطرية مقسمة أو غير مقسمة، لون وأبعاد الحوامل، لون وأبعاد الأكياس البوغية والأبواغ باستخدام تقنية الشريحة المجهرية المزروعة slide culture technique وبالمقارنة مع الدراسات المرجعية المتخصصة بالتصنيف [15,16].

اختبار قدرة الفطريات المعزولة بالنمو على أوساط ماء الجفت الطازج:

استُخدم لهذا الاختبار وسط يحوي (1L) ماء جفت طازج المُرشح والمُعقم في وقت سابق باستخدام الأوتوغلاف لمدة (12) دقيقة عند الدرجة (121 °C)، وقُيست بعض مؤشراته التي كانت على النحو الآتي: pH عند القيمة (4.8)، الـ COD (g O2 /l 91.3)،

الـ Tp(g /l 2.8) كما هو موضح في الجدول (4) قيم بعض المؤشرات المدروسة في عينة ماء الجفت الطازجة غير الممددة والممددة منها) مضاف له بودرة (15g)آغار شكلت سلسلة من التراكيز باستخدام الماء المقطر على النحو الآتي (75% OMW) $OMWA_2$, (50% OMW) $OMWA_1$ و(100%OMW) $OMWA_3$ عدل pH ليصبح (5)، وزُرعت كل عزلة فطرية مصنفة على الأوساط السابقة بمعدل ثلاث مكررات ; حضنت الأطباق عند درجة الحرارة (28±0.5 °C) لمدة ثلاثة أسابيع، وسجلت سرعة نمو كل فطر على حدى.

النتائج والمناقشة:

عُزلت الفطريات في هذه الدراسة باستخدام وسط (PDA) مضاف له ماء الجفت المخمر، وتم الحصول على خمس عزلات فطرية صُنفت بالاعتماد على مفاتيح تصنيفية عالمية إلى عزلة تحت جنس *Aspergillus* وعرفت على أنها من النوع *A. sclerotiorum* حسب [17].

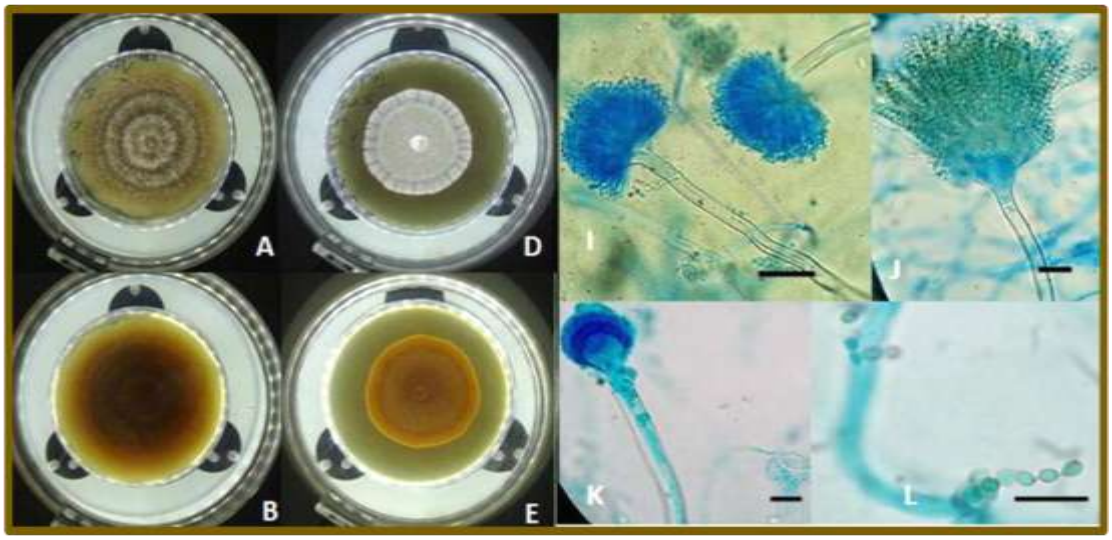
وعزلة صنفت تحت جنس *Paecilomyces* وعرفت على أنها من النوع *P. nivus* حسب[18]. عزلة صنفت تحت جنس *Mucor* وعرفت على أنها من النوع *M. nircinelloides* حسب[19].

الصفات التصنيفية للأنواع الفطرية المعزولة:

الصفات المورفولوجية لعزلة النوع *Aspergillus sclerotiorum*:

المستعمرة تنمو على وسط PDA، قطرها(70 ± 2.0 mm) ، في البداية يكون لون الوجه العلوي أسمر مائل إلى البني مع التقدم بالعمر تصبح بنية، الوجه السفلي أصفر أو برتقالي داكن مائل إلى بني.

تنمو المستعمرة على وسط CzA بسرعة أقل من نموها على وسط PDA دون تكون أعضاء تكاثر لاجنسي، قطرها (48 ± 1.5 mm)، لون الوجه العلوي كريمي، الوجه السفلي برتقالي داكن، تصبح الحافة مجعدة بعد مرور(14) يوم. ، كما هو موضح في الجدول(1)، والشكل(1).



الشكل 1: الخصائص المورفولوجية والبيومترية لعزلة النوع *Aspergillus sclerotiorum* على الوسطين PDA وCzA.
حيث (A–B) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط PDA،(D–E) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط CzA (J) الحويصل،(I) الحامل الكونيدي، (K) الذنيبات، (L) الأبواغ. وحدة قياس مقياس الرسم 10µm

الجدول 1: الخصائص المورفولوجية والبيومترية للعزلة *Aspergillus sclerotiorum*

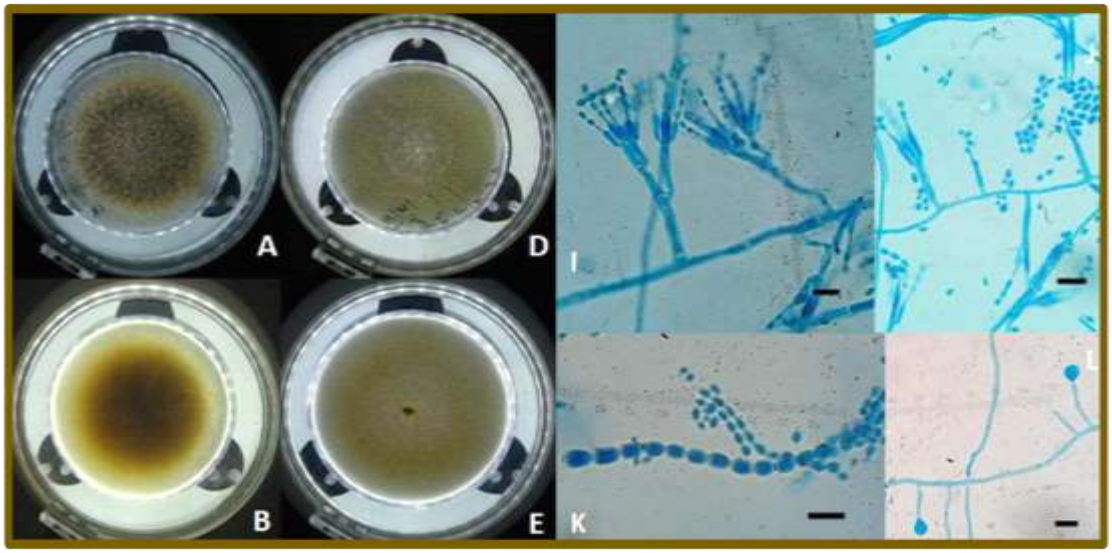
الخصائص	بيئة الزرع CzA	بيئة الزرع PDA
قطر المستعمرة (mm)	48 ± 1.5	70 ± 2.0
لون الوجه العلوي للمستعمرة	كريمي	أسمر مائل إلى البني مع التقدم بالعمر تصبح بنية
لون الوجه السفلي للمستعمرة	برتقالي داكن	الوجه السفلي أصفر أو برتقالي داكن مائل إلى البني
شكل الرأس الكونيدي	–	عمودي

أبعاد الرأس الكونيدي(µm)	–	(150–250) × (45–90)
المسيليوم	مقسم	مقسم
طول الحامل الكونيدي(µm)	–	130–200
عرض الحامل الكونيدي(µm)	–	4–7
شكل الحويصل	–	كروي
أبعاد الحويصل(µm)	–	10–15
شكل الأبواغ الكونيدية	–	شبه كروية
مظهر سطح الأبواغ الكونيدية	–	ملساء
أبعاد الأبواغ الكونيدية(µm)	–	2.0–2.4
أبعاد الصف الأول من الذنيبات(µm)	–	(5.3–5.8) × (3.5–4.5)
أبعاد الصف االثاني من الذنيبات(µm)	–	(6.1–6.5) × (1.2–1.4)

الصفات المورفولوجية لعزلة النوع *Paecilomyces niveus*:

المستعمرة تنمو على وسط PDA، يصل قطرها إلى 90mm خلال ستة أيام في البداية يكون لون الوجه العلوي أسمر باهت مع التقدم بالعمر تصبح سمراء، الوجه السفلي بني إلى أخضر زيتوني باهت.

وكذلك تنمو المستعمرة على وسط CzA يصل قطرها إلى (90mm) خلال ستة أيام لون الوجه العلوي أسمر، الوجه السفلي أسمر باهت. تتفرع الحوامل الكونيدية بشكل غير متناظر وغير متماثل، الذنيبات ذات شكل قاروري، عددها بين (2–3)، الأبواغ تتراص بشكل سلاسل متعرجة تكون في البداية شبه كروية تصبح برميلية مع التقدم في العمر، كما هو موضح في الجدول(2)، والشكل(2).



الشكل 2: الخصائص المورفولوجية والبيومترية لعزلة *Paecilomyces niveus* على الوسطين PDA وCzA.

حيث (A–B) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط PDA،(D–E) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط CzA ، (I–J) الحوامل الكونيديةوالفياليدات،(K) الأبواغ، (L)االأبواغالكلاميدية. وحدة قياس مقياس الرسم 10µm.

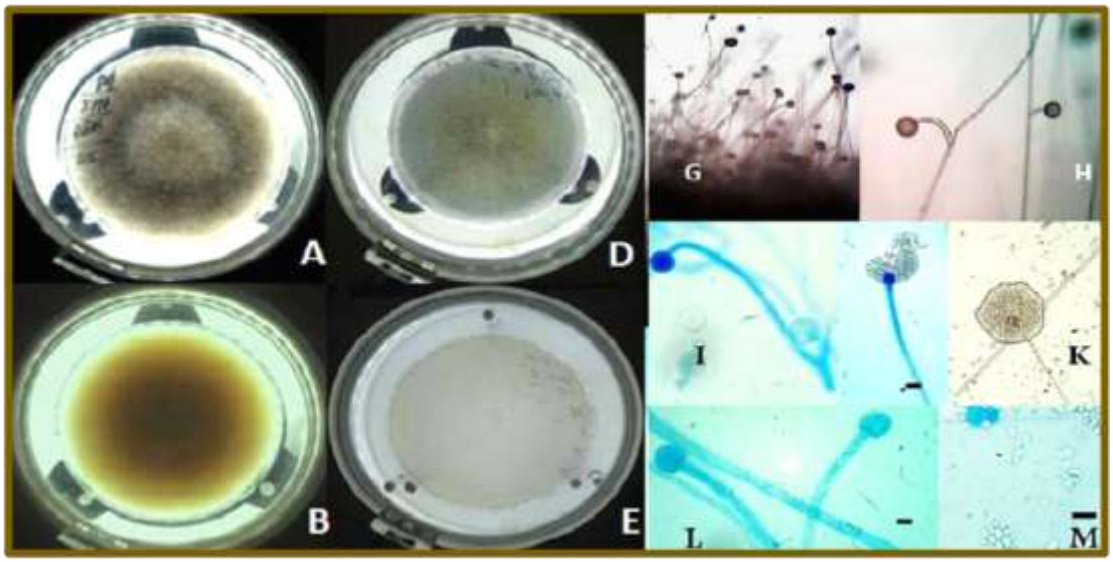
الجدول 2: الخصائص المورفولوجية والبيومترية لعزلة *Paecilomyces niveus*

الخصائص	بيئة الزرع CzA	بيئة الزرع PDA
قطر المستعمرة (mm)	90	90
لون الوجه العلوي للمستعمرة	أسمر	أسمر باهت مع التقدم بالعمر تصبح سمراء
لون الوجه السفلي للمستعمرة	أسمر باهت	بني إلى أخضر زيتوني باهت
شكل الرأس الكونيدي	سلاسل متعرجة	سلاسل متعرجة
أبعاد االسلاسل الكونيدية(µm)	200–250	200–300
المسيليوم	مقسم	مقسم
الحوامل الكونيدية	متفرع بشكل غير متناظر وغير متماثل	متفرع بشكل غير متناظر وغير متماثل
طول الحامل الكونيدي(µm)	50–150	20– 200
عرض الحامل الكونيدي(µm)	3–5	4–7
شكل الأبواغ الكونيدية	شبه كروية تصبح برميلية مع التقدم في العمر	شبه كروية تصبح برميلية مع التقدم في العمر
أبعاد الأبواغ الكونيدية(µm)	(3.5–6.0) × (3.0–5.5)	(4.0–7.0) × (3.0–5.0)
أبعاد الأبواغ الكلاميدية(µm)	8–10	8–10
أبعاد الصف االثاني من الذنيبات(µm)	(12–15) ×(3.0–5.0)	(15–17) ×(3.0–5.0)

الصفات المورفولوجية لعزلة النوع *Mucor nircinelloides*:

تنمو المستعمرة على وسط PDA، ويصل قطرها إلى 90mm خلال أربعة أيام لون الوجه العلوي بني إلى رمادي داكن، الوجه السفلي زيتوني.

كذلك تنمو على وسط CzA، ويصل قطرها إلى (90mm) خلال ثلاثة أيام لون الوجه العلوي أخضر زيتوني باهت، الوجه السفلي عديم اللون، كما هو موضح في الجدول(3)، والشكل(3).



الشكل 3: الخصائص المورفولوجية والبيومترية لعزلة *M. nircinelloides* على الوسطين PDA وCzA.

حيث (A–B) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط PDA، (D–E) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط CzA ، (G–K) الأكياس البوغية، (H–I) حوامل الأكياس البوغية، (L) العماد، (M) أبواغ الأكياس البوغية. وحدة قياس مقياس الرسم 10µm.

الجدول 3: الخصائص المورفولوجية والبيومترية لعزلة *Mucor nircinelloides*.

الخصائص	بيئة الزرع CzA	بيئة الزرع PDA
قطر المستعمرة (mm)	90 ± 00	90 ± 00
لون الوجه العلوي للمستعمرة	أخضر زيتوني باهت	بني إلى رمادي داكن
لون الوجه السفلي للمستعمرة	عديم اللون	كريمي داكن إلى زيتوني
الأكياس البوغية	كروية في البداية تكون عديمة اللون ثم تصبح بنية داكنة	كروية في البداية تكون عديمة اللون ثم تصبح بنية داكنة
أبعاد الأكياس البوغية(µm)	حتى 45	حتى 55
حوامل الأكياس البوغية	تفرعه كاذب المحور–منحنية غالباً–شفافة	تفرعه كاذب المحور–منحنية غالباً–شفافة
طول حامل الأكياس البوغية(µm)	حتى 2000	حتى 3000
عرض حامل الأكياس البوغية (µm)	5.0–7.5	4.0–8.5
شكل أبواغ الأكياس البوغية	وحيدة الخلية كروية–شفافة	وحيدة الخلية كروية–شفافة
أبعاد أبواغ الأكياس البوغية(µm)	3–4.5 × 3–5	4–6 × 3–5
شكل العماد (µm)	كروي إلى بيضوي	كروي إلى بيضوي
أبعاد العماد (µm)	20– 25	15– 30

4-2-اختبار قدرة الفطريات المعزولة في النمو على أوساط ماء الجفت الطازج:

بينت النتائج بعد اختبار الأنواع المعزولة على الأوساط على الأوساط ($OMWA_1$)، ($OMWA_2$)،($OMWA_3$) لمدة ثلاثة أسابيع، عند درجة الحرارة (28°±2°C) نموها بدرجات متفاوتة على الأوساط المستخدمة. حيث أظهرت كل من*A.sclerotiorum* و *P.niveus* درجة نمو على التوالي (3.33 ± 0.02 cm)،(3.32 ± 0.02 cm) خلال أسبوع على وسط $OMWA_1$ ، أما بالنسبة للفطر *M. nircinelloides* أظهرت درجة نمو منخفضة بلغت نحو (0.41 ± 0.02 cm) خلال أسبوع. أما بالنسبة لوسط $OMWA_2$ أظهرت كل من *A.sclerotiorum* و *P.niveus* درجة نمو على التوالي (1.67±0.03cm)، (2.21±0.02 cm)خلال أسبوع على أما بالنسبة إلى *M. nircinelloides* فلم يظهر أي نمو على الإطلاق. وعلى وسط $OMWA_3$. استطاعت العزلة من النوع *P.niveus* فقط النمو وبدرجة منخفض بلغت (0.37 ± 0.01 cm)، كما هو موضح في الجدول(4)، والشكل(4).

الجدول 4: قيم المؤشرات المدروسة في ماء الجفت الطازج المستخدم في الأوساط الزرعية الاختبارية حسب الأنواع الفطرية المختبرة على هذه الأوساط

مؤشرات ماء الجفت الطازجة	OMW50%	OMW75%	OMW 100%
COD (g O2 / L)	20.5	46.2	91.8
Tp (g / L)	0.5	1.1	2.8
الأنواع الفطرية	متوسط النمو بالسنتمتر خلال أسبوع		
	OMWA1	OMWA2	OMWA3
Aspergillus sclerotiorum	3.33 ± 0.02	1.67 ± 0.03	–
Paecilomycesn iveus	3.32 ± 0.02	2.21 ± 0.02	0.37 ± 0.01
Mucor nircinelloides	0.32 ± 0.05	–	–

حيث: COD الاحتياج الكيميائي للأكسجين، TP الفينولات الكلية

الشكل 4: نسبة نمو الأنواع الفطرية المختبرة على الأوساط الاختبارية (A)OMWA1 (50% OMW)،(B)OMWA2 (75% OMW) ، (C)OWA3 (100%OMW)

من المرجح أن نمو *P.niveus* على وسط $OMWA_3$ دون باقي الفطريات بالمقارنة مع $OMWA_2$و $OMWA_1$ والتي أظهرت درجة نمو متفاوتة لأغلب الفطريات المزروعة إلى التثبيط الحيوي الناتج عن التراكيز العالية للفينولات الكلية والحمولات العضوية.

أما بالنسبة للفطريات التي أظهرت نسب نمو متفاوتة على وسط $OMWA_1$ فمن المرجح أن السبب يعود إلى تمديد ماء الجفت بالماء المقطر والذي سبب انخفاض في تراكيز كل من الفينولات الكلية والحمولات العضوية، وبالتالي انخفاض تأثير التثبيط الناتج عنها، بالإضافة لوحظ فرق ارتفاع نسبة نمو *A. Sclerotiorum* عن *P.niveus* يعادل (0.01 ± 0.00).

الاستنتاجات والتوصيات:

1-توصيف ثلاثة أنواع عُزلت من ماء الجفت المتخمر وهي النوع *Aspergillus sclerotiorum* وعزلة من النوع *Paecilomyces niveus*، وعزلة من النوع *Mucor nircinelloides*

2-انفراد *Paecilomyces niveus* في النمو على وسط $OMWA_3$الحاوي على ماء جفت طازج غير ممدد دون باقي الفطريات، يدل على إمكانية هذا النوع على احتمال التراكيز العالية للفينولات الكلية والحمولات العضوية، وعليه ؛ إمكانية استخدامها كمرحلة أولى في المعالجة الحيوية من دون تمديد ماء الجفت أو حتى إضافة مغذيات.

3-ارتفاع نسبة نمو *Aspergillus sclerotiorum* عن *Paecilomyces niveus* بمقدار (0.00 ± 0.01) يدل على حالة تعاقب فطري أثناء انخفاض تركيز المركبات الفينولية، والحمولة العضوية، وبالتالي يجب الاهتمام بدراسة مراحل تعاقب الفطريات أثناء تخمر ماء الجفت طبيعياً.

4-ضرورة دارسة مراحل التعاقب الحيوي خلال مراحل التخمر لماء الجفت لمعرفة التنوع الحيوي فيه، والكائنات الحية الدقيقة الأكثر سيادةً.

المراجع:

1- PARASKEVA, P.; DIAMADOPOULOUS, E .*Review Technologies for Olive Mill Wastewater OMW Treatment: A Review* .Journal of Chemical Technology and Biotechnology ،Vol. 81, 2006 ،1475-1485.

2- ALBURQUERQUE, A.; GONZALVEZ, J.; GARCIA, D.; CEGARRA, J. *Agrochemical Characterization of "Alperujo" A Solid By-Product of the Two Centrifugation Method for Olive Oil Extraction*. Bioresource Technology, Vol. 91, No. 2, 2004, 195-200.

3- ZORPAS, A.; *COST, A. Combination of Fenton oxidation and composting for the treatment of the olive solid residue and the olive mile wastewater from the olive oil industry in Cyprus Bioresour*. Bioresource Technology, Vol. 101, 2010, 7984–7987

4-NASSAR, M. *Olive Mill Wastewater Treatment Methods International*. Arab Conference for Oils and Food Fats, Damascus IACO, 2007.

5- COSKUN, T.; DEBIK, E.; DEMIR**, N.** M. *Treatment of Olive Mill Wastewaters by Nanofiltration And Reverse Osmosis Membranes.* Elsevier, Vol. 259, 2010, 65–70.

6- CAPUTO, A.; SCACCHIA, F.; PELAGAGGE, P. *Disposal of Byproducts in Olive Oil Industry: Waste-To-Energy Solutions.* Appled Thermo Engineering, Vol. 23, 2003, 197–214.

7- MANTZAVINOS, D.; KALOGERAKIS, N**.** *Treatment of olive mill effluents. Part I. Organic matter degradation by chemicaland biological processes-an overview*. Environ Int, Vol. 31**,** 2005, 289–295.

8- YESILADA, O.; FISKIN, K.; YESILADA, E. *The Use of White Rot Fungus Funaliatrogii (Malatya) For the Decolourization and Phenol Removal from Olive Mill Wastewater*. Environmental technology, Vol. 16, No. 1, 1995, 95-100.

9-NIAOUNAKIS, M.; HALVADAKIS, C.P. *Olive processing waste management: literature review and patent survey and Edition*. Elsevier, 2006.

10-NTOUGIAS, S.; ZERVAKIS, C.; FASSEAS. *Halotaleaalkalilentagen. nov., sp. nov., a novel osmotolerant and alkalitolerant bacterium from alkaline olive mill wastes, and emended description of the family Halomonadaceae Franzmann et al. 1989, emend. Dobson and Franzmann 1996*," International Journalof Systematic and evolutionary microbiology, 2007.

11-HILDEBRAND, E. *Techniques for the isolation of single microorganisms*. Botanical Review, Vol. 4, 1938, 627-664.

12- US. EPA, METHODS FOR CHEMICAL ANALYSIS OF WATERAND WASTE, Chemical Oxygen Demand, Method 410.4, No. 00340, Second Edition, Washington, 1983

13-ELENA, D. M.; SAVARESE, M.; PADUANOAND, A.; SACCHI, R. *Characterization and Fractionation of Phenolic Compounds Extracted from Olive Oil Mill Wastewaters.* Food Chemistry, Vol. 104, 2006, 858-867.

14-ROMERO, C.; BRENES, M.; P. GARCIA, P.; A. GARRIDO, A. *Hydroxytyrosol 4-D-Glucoside, an Important Phenolic Compound in Olive Fruits and Derived Products*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Vol. 50, 2002, 3835-3839.

15-Sharma, G.; Pandey, R. R. *Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable waste***.** Journal of Yeast and Fungal Research, Vol. 1, No. 8, 2010, 157-164.

16-19- PATRICK, C.Y. WOO.; ANTONIO, H. Y.; NGAN, HON-KIT CHUI.; SUSANNA, K. P. LAU AND KWOK-YUNGYUEN. *A Novel Method of Slide Preparation for Preservation of Native Fungal Structures for Microscopic Examination and Long Term Storage.* Journal of Clinical Microbiology, Vol. 48, No. 9, 2010, 3053-3061.

17-NAKAZAWA, R.; SIMO, B.; WATANABE, H. *Studying the Fermentation Industries of Formosa*. Journal of Agriculture Chemistry, Vol. 12, 1936, 931-974.

18-HUBER, G. *Aspergillus Sclerotiorumsp and Its Relation to Decay of Apple* .phytopathology, Vol. 23, No. 3, 1933, 306-308.

19-STOLK, A. C.; SAMSON, R. A. *Studies on Talaromyces and Related Genera I, Hamigera, Gen. Nov. and Byssochlamys* .persoonia, Vol. 6, 1971, 341-357.