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

تأثير المغذيات والحرارة في النمو والتركيب الكيميائي للطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris*

الدكتور نديم حمود *
الدكتور حامد ميهوب **
طارق علان ***

(تاريخ الإيداع 10 / 8 / 2015. قبل للنشر في 29 / 10 / 2015)

□ ملخّص □

أُجريت في هذا البحث دراسة تأثير تراكيز مختلفة من النترات والفوسفات ومستخلص التربة في النمو والتركيب الكيميائي للطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* المعزول من بعض المسطحات المائية المحلية، عند ثلاث درجات حرارة (20 – 25 – 30 درجة مئوية)، بلغ أعلى معدل نمو 4.66 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف1.55 ساعة وذلك عند درجة حرارة 25 درجة مئوية وعند تركيز 1 غ/ل نترات و 0.05 غ/ل فوسفات و 10مل/100 محلول تربة، حيث وصل عدد الخلايا إلى 59423.61 خلية/مل في اليوم 22 من الاستزراع.

اختلف التركيب الكيميائي للطحلب باختلاف درجة الحرارة وتركيب الوسط المغذي اذ بلغ أعلى محتوى بروتيني 48.36 %عند التركيز الأعلى من المغذيات وعند درجة حرارة 25 درجة مئوية، وأعلى تركيز للدسم 19.78% عند درجة حرارة 25 درجة مئوية وتركيز 0.1 غ/ل نترات و 0.01 غ/ل فوسفات و 6مل/100 محلول تربة، أما تركيز السكريات فكان الأقل حيث كانت أعلى نسبة 17.41% عند درجة حرارة 20 درجة مئوية.

الكلمات المفتاحية: عوالق نباتية – طحالب خضراء – معدل نمو – زمن تضاعف – *vulgaris* Chlorella.

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

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

Effect Nutrients and Temperature on The Total Growth and Chemical Composition to The Green Algae *Chlorella vulgaris*

Dr. Nadim Hamoud [*]
Dr. Hamed Mayhoub [**]
Tarek Allan [***]

(Received 10 / 8 / 2015. Accepted 29 / 10 /2015)

□ ABSTRACT □

The effect of different concentrations of nitrate and phosphate and soil extract on the total growth and chemical composition to the green algae *Chorella vulgaris* isolated from some localaquatic habitats had studied in this research, at three type of temperature (30 , 25, 20), the maximum total growth reached up to 4.66 Cell/h and the lowest duplicated time was 1.55 h at temperature 25ºC and at concentration of nitrate 1 g/L , 0.05 g/L of phosphate, and 10/100 mL of soil solution , while the number of cells reached to 59423,61 cell/mL at the day 22 of cultivation.

The chemical composition differed by the changing of temperature and nutrient medium composition , while the maximum protein content reached to 48.36 % at the maximum concentration of nutrients and 25 ºC of temperature , the maximal concentration of lipid was 19,78 % at temperature 25ºC and concentration of nitrate 0.1 g/L and 0.01 of phosphate and 6/100 mL of soil solution , the concentration of carbohydrates were the lowest where the maximal ratio was 17.41 % at temperature 20ºC .

Key words: phytoplankton – chlorophyta – total growth – duplicated time - *Chlorella vulgaris*

[*] **Professor, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University , Lattakia , Syria.**
[**] **Professor, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University , Lattakia , Syria**
[***] **Postgraduate Student, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia , Syria.**

مقدمة:

العوالق النباتية أحياء ذاتيةُ التغذية تستطيع بناء مادتها الحية بدءاً من مواد بسيطة نتيجة قدرتها على القيام بعملية التركيب الضوئي محولة من خلالها الطاقة الشمسية إلى طاقة كيميائية على شكل مركبات كربوهيدراتية وبروتينات ودهون وصبغات متعددة كما تمتلك بعض الأنواع القدرة على إنتاج المركبات الهيدروكاربونية (Kumar., *et al.*, 2011)، وتحتوي بعض أنواع الطحالب على مضادات حيوية تجاه الفطريات والجراثيم، وتم استخراج منها بعض العقاقير والأدوية الهامة التي تستخدم كعلاج لمرض السرطان والإيدز وغيرهما الكثير، كما أن بعض أنواع الطحالب مثل طحلب (*Spirulina*) لها تأثيرات إيجابية في الجهاز المناعي للجسم، كما أنها مفيدة لمرضى السكري وضعف البصر وتستخدم في الحماية من الأمراض وتنشيط الذاكرة من دون مضاعفات جانبية (Sastre, *et al.,* 2007 – Barbosa, *et al.,* 2003).

إن الانتشار الواسع للعوالق النباتية جعلها مادة أساسية للكائنات الحية ، حيث تشكل القاعدة الأساسية في السلسلة الغذائية في البيئة المائية، وتستخدم كمادة غذاء للإنسان في عدة دول نتيجة محتواها العالي من البروتينات والسكريات والدسم والفيتامينات (Masojídek,*et al.,* 2009 – Ahmed,*et al.,* 2012–Barghbani, 2012– Barbosa,*et al.,* –Nowack,*et al.,* 2005–Dayananda,*et al.,* 2005–Ogbonda,*et al.,* 2007 2003)، كما ولها دور كبير في التنقية الذاتية للمياه(Craggs,*et al.,*1997 –Sridhar,*et al.,*2015)، وتُعتمد كمؤشرات حيوية في تحديد نوعية التلوث ودرجته (Ctybina and Lenova, 1990)، وهي مصدر متجدد لإنتاج الوقود الحيوي ولها دور في تخفيض غاز ثاني أكسيد الكربون (Kalpesh, *et al.*, – Sirangala *et al* 2014 Lautrup, 2008 – Zebib, – Berberoglu, *et al.*, 2009 – Chinnasamy, *et al.*, 2010 – 2012 – 2008 – Hossain, *et al.*, 2008 – Liu, *et al.*, 2008).

ومن هنا يتوجب علينا العمل الجاد على عزل هذه الكائنات ومعرفة الظروف المناسبة لاستزراعها، وإمكانية الاستفادة منها في مجالات الحياة كافة.

أهمية البحث وأهدافه:

تتطلب زراعة العوالق النباتية معرفة وثيقة لشروط النمو وعوامله كالمواد الغذائية ودرجة الحموضة ودرجة الحرارة والضوء وتركيز CO_2 و O_2 والتي تختلف من نوع إلى آخر، وتؤثر هذه العوامل في التركيب الكيميائي للطحالب، وبالتالي تسمح دراسة الترابط بين هذه العوامل بتحديد الظروف المثلى لنمو الأنواع الطحلبية بهدف الحصول على أعلى إنتاجية وكتلة حيوية يمكن استخدامها في مجالات الحياة كافة،ومن هنا تأتي أهمية بحثنا هذا والذي يهدف إلى:

1 -عزل طحلب *Chlorella vulgaris* من أوساط مائية محلية.

2 -اختبار تأثير بعض شروط الاستزراع (أوساط مغذية – درجة حرارة) على معدل نمو والتركيب الكيميائي عند هذا الطحلب.

3 -تحديد بعض الشروط المثلى للحصول على أكبر نسبة من السكريات والبروتينات والدسم من هذا الطحلب.

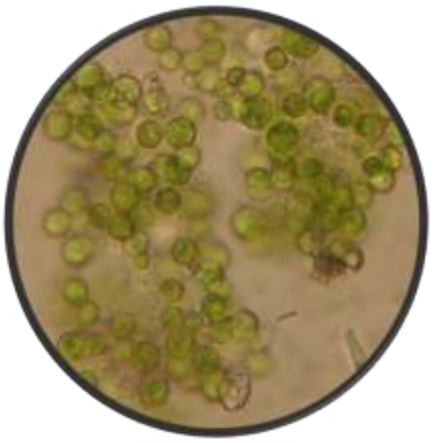
طرائق البحث ومواد:

1 - جمع العينات المائية:

جمعت عينات المياه من نهر مرقية في محافظة طرطوس، واستخدم من أجل ذلك عبوات من البولي اتيلين سعة 500 مل، أحضرت العينات إلى المخبر بغرض البحث عن طحلب *Chlorella vulgaris* وعزله.

2 - عزل الطحلب:

بهد ف الحصول على عزلة نقية من طحلب *C. vulgaris* تم ترشيح حجم معين من المياه المجموعة باستخدام ورق ترشيح قطر فتحاته 0.45 مايكرومتر، وأُخذ ما تبقى في ورق الترشيح وفُحص تحت المجهر وبعد التأكد من وجود الطحلب المراد عزله ضمن العينة تم زرع العينات على وسط chu 10 الصلب (Chu, 1942)الموضوع ضمن أطباق بتري ، ونُشرت قطرات من العينة فوق الوسط في ظروف معقمة ، ثم نُقلت الأطباق إلى وحدة الاستزراع تحت ظروف إضاءة 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء: 8 ظلام وتركت لمدة أربعة أسابيع (Stein, 1973)، حيث لُوحظت مستعمرات طحلبية نامية ، فُحصت تحت المجهر لتحديد الأنواع الطحلبية النامية بالاستعانة ببعض المفاتيح التصنيفية (Bourrelly, 1968, 1972 – Pankow, 1976 – Plinski, 1988 – Starmach, 1989)، نقلت بعد ذلك كل مستعمرة إلى طبق جديد يحتوي على الوسط المغذي لتنمو بمفردها ونحصل على عزلة نقية من الطحلب *C. vulgaris* شكل (2) و(3).



شكل (2): صورة مجهرية لطحلب *Chlorella vulgaris*

شكل (2): مستعمرة طحلب *Chlorella vulgaris* على وسط صلب

3- استزراع وتنقية الطحلب:

بعد التأكد من الطحلب المعزول تم نقل المزرعة إلى الوسط المغذي السائل الموضوع ضمن حوجلات زجاجية سعة 250 مل حاوية كل منها على 150 من وسط chu 10 السائل وذلك باستخدام عروة زرع معقم.

تُنقل الحوجلات إلى غرفة الاستزراع تحت ظروف إضاءة 2500 لوكس ودرجة حرارة 25 درجة مئوية حتى الحصول على نمو مناسب للمزرعة الطحلبية، حيث يتم بعد ذلك تنقيتها من الجراثيم والفطريات اعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل (Weideman, *et al.*, 1984) ، تُؤخذ المزرعة الطحلبية وتُثفل لمدة دقيقتين بسرعة 3000

دورة /دقيقة ثم تؤخذ العينة المثفلة وتمزج بالماء المقطر المعقم عدة مرات، وللتأكد من نقاوتها من الفطريات والجراثيم زرع قسم من المزرعة على وسط popeatodextroz Agar (P.D.A) وحُضنت بدرجة حرارة 25 درجة مئوية ولمدة خمسة أيام، كما أُخذ قسم أخر وزرع على وسط Nutrient agar وبدرجة حرارة 37 م°ولمدة 48 ساعة ، وكُررت العملية عدة مرات حتى تم التأكد من عدم نمو فطريات وجراثيم على الأوساط المغذية وبذلك تم الحصول على عزلة نقية من طحلب *C. vulgaris* تم حفظها في الوسط المغذي chu10 السائل.

4-تحضير الأوساط المغذية:

محلول التربة:

يُضاف إلى (1) كغ من التربة (تربة غابات لا تحتوي على أسمدة كيميائية أو مواد سامة ومبيدات حشرية) 2 لتر من الماء المقطر، يُحرك جيدا ويوضع في الأوتوغلاف لمدة نصف ساعة، يُرشح وتُؤخذ الرشاحة وتُعقم لمدة 20 دقيقة ثم تُحفظ في مكان بارد لحين الاستخدام.

في كل تجربة تم تحضير ثمانية حوجلات(250 مل) من الوسط المغذي باستخدام مياه عذبة مأخوذة من موقع جمع العينات مضافاً إليها تراكيز مختلفة من النترات والفوسفات ومحلول التربة كما هو مبين في الجدول رقم (1).

جدول رقم (1) تراكيز المغذيات ضمن الحوجلات

رقم الحوجلة	تركيز KNO_3 غ/ل	تركيز $K2HPO_4$ غ/ل	محلول التربة
1	0	0	0
2	0.05	0.005	2 مل/ 50 مل
3	0.1	0.01	3 مل/ 50 مل
4	0.5	0.02	4 مل/ 50 مل
5	1	0.05	5 مل/ 50 مل
6	2	0.1	6 مل/ 50 مل
7	3	0.5	7 مل/ 50 مل
8	6	1	8 مل/ 50 مل

بعد تحضير الحوجلات (250مل) والحاوية على 150 مل من الأوساط السابقة بجميع التراكيز تم نقل 5 مل من العزلة النقية لطحلب *C. vulgaris* إلى كل حوجلة ونُقلت الحوجلات إلى وحدة الاستزراع وعرضت إلى إضاءة بشدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16 ضوء:8 ظلام وتم مراقبة النمو لمدة 35 يوم مع تحريك الحوجلات وتبديل مواقعها كل 8 ساعات وذلك لمنع التصاق الخلايا على جدران الحوجلة وضمان وصول الضوء إلى جميع الحوجلات بشكل متجانس تقريباً، كم تم زرع عزلة من الطحلب على الوسط الزرعي Chu -10 وهو يعتبر كشاهد، كُررت الزراعات السابقة بمعدل ثلاث مرات لكل تركيز.

حُددت الغزارة الكلية باستخدام صفيحة Komorek Burkera المقسمة إلى 144 مربعاً حيث يتم حساب الغزارة بالقانون التالي : $N..mL^{-1} = 250.N_S.1000$

حيث Ns هو عدد الخلايا في المربع الواحد.

كما تم قياس معدل النمو وزمن التضاغف من المعادلات التالية (Fogg, 1975):

$K = \frac{Log10Nt - Log10N0}{t}$ L حيث K معدل النمو و Nt عدد الخلايا حسب أيام الدراسة N0 عدد الخلايا في بداية التجربة ، t عدد الأيام.

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

طرائق تحديد نسب المركبات الكيميائية:

تم تقدير المحتوى البروتيني في الكتلة العضوية الجافة للطحلب بالاعتماد على طريقة(1951) Lowry, *et al,*. واستخدم البومين مصل البقر بوصفه محلولاً قياسياً لرسم المنحني القياسي لتقدير البروتين، وتم ذلك في اليوم 35 من الاستزراع كما تم تحديد نسب السكريات باستخدام كاشف الأنثرون وبالمقارنة مع محلول عياري معروف التركيز (15) ملغ/ مل من الغلوكوز النقي (Osborne, 1985)، أما الدسم فقد حددت باستخدام طريقة النقع بالمذيبات العضوية حسب (1959) Bligh and Dyer.

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج الدراسة اختلاف معدل نمو طحلب *C. vulgaris* وزمن تضاعفه باختلاف درجة الحرارة وتركيز المغذيات جداول (2 – 3 – 4)، حيث بلغ أعلى معدل نمو 4.66 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 1.55 ساعة عند درجة حرارة 25 درجة مئوية و تركيز مغذيات 1 غ/ل نترات و 0.05 غ/ل فوسفات و 10مل/100 محلول تربة، حيث وصل معدل عدد الخلايا الطحلبية إلى 37321.83 خلية/ مل وأعلى عدد خلايا 59423.61 خلية /مل في اليوم 22 من الاستزراع، وهذه النتائج مطابقة لبعض الدراسات حيث وجد Godinez, *et al.,* (2000) أن أفضل معدل نمو للطحالب*Chaetocero smuelleri* و *Tetraselmis suecica* في الوسط المكون من أسمدة عضوية مضافاً إليها تراكيز منخفضة من المغذيات،يفسر ذلك بتوافر المواد العضوية واللاعضوية الضرورية للنمو والتي يؤمنها محلول التربة ومنه نستنتج أنه يمكن استخدام محلول التربة كبديل عن الأوساط الاصطناعية الغالية الثمن (Al–Al–Aaragy, 1996 – Venkataraman, 1990)، كما لوحظ صغر حجم الخلايا في الشروط المثلى وزيادة الحجم وزمن التضاعف وانخفاض في معدل النمو بزيادة تراكيز المغذيات فوق التركيز الأمثل من المغذيات وهذا يعود إلى التأثير المثبط لهذه الشوارد عند وجودها بتراكيز عالية (Reynolds *et al.*, 1984) حيث كان أعلى معدل نمو في التركيز الأعلى من المغذيات 4.24 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 1.70 ساعة وسجل أعلى عدد خلايا عند هذا التركيز 22514.15 خلية/مل في اليوم 24 من الاستزراع عند الدرجة 30 م° وانخفض عدد الخلايا ومعدل النمو عند التراكيز العالية من المغذيات مع انخفاض درجات الحرارة حيث سجل أعلى عدد خلايا في الدرجة 25 م°وعند أعلى تركيز من المغذيات 19468.75 خلية / مل وانخفض عند الدرجة 20 درجة مئوية إلى 14824.65 خلية/مل.

جدول رقم (2) : معدل عدد الخلايا (خلية/مل) عند طحلب *Chlorella vulgaris* عند درجات حرارة مختلفة وبتراكيز مختلفة من المغذيات وشدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء/8ظلام.

المحلول المغذي	20 م°		25 م°		30 م°	
	معدل عدد الخلايا	أعلى عدد خلايا	معدل عدد الخلايا	أعلى عدد خلايا	معدل عدد الخلايا	أعلى عدد خلايا
Chu- 10	23026.29	34263.89	26636.66	41437.50	23165.33	41482.64
1	3407.44	5125.00	4129.46	6819.44	3506.60	5532.99
2	6634.92	9883.68	11076.34	16350.69	6846.97	11885.42
3	12341.77	22001.74	18417.46	29241.32	15663.29	28218.75
4	15590.23	25348.96	21792.81	34083.33	18847.57	33461.81
5	19790.58	33289.93	37321.83	59423.61	29514.93	51171.88
6	19062.25	35513.89	31715.38	52814.24	32646.68	57263.89
7	13506.25	26817.71	21720.78	35163.19	22374.65	41486.11
8	7630.41	14824.65	11162.25	19468.75	11465.48	22512.15

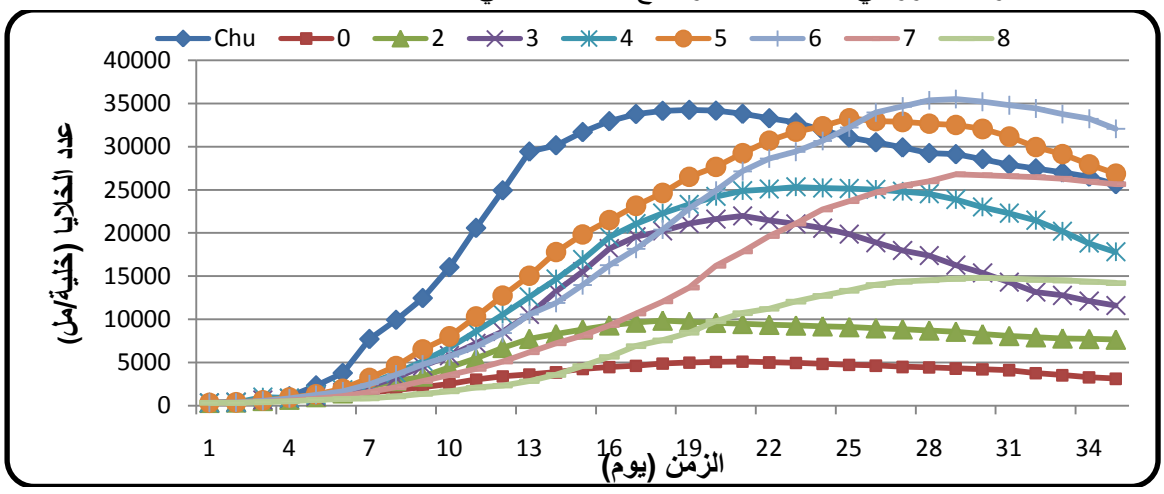
جدول رقم (3) : معدل النمو (خلية/ساعة) عند طحلب *Chlorella vulgaris* عند درجات حرارة مختلفة وبتراكيز مختلفة من المغذيات وشدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء/8ظلام.

المحلول المغذي	20 م°		25 م°		30 م°	
	معدل النمو	أعلى معدل نمو	معدل النمو	أعلى معدل نمو	معدل النمو	أعلى معدل نمو
Chu- 10	3.91	4.40	4.00	4.47	3.94	4.44
1	3.16	3.58	3.26	3.69	3.20	3.58
2	3.42	3.85	3.66	4.05	3.46	3.90
3	3.63	4.22	3.85	4.32	3.76	4.31
4	3.72	4.30	3.91	4.40	3.83	4.39
5	3.81	4.42	4.11	4.66	3.99	4.58
6	3.76	4.46	4.03	4.61	4.02	4.63
7	3.59	4.34	3.87	4.45	3.87	4.49
8	3.36	4.08	3.57	4.20	3.56	4.24

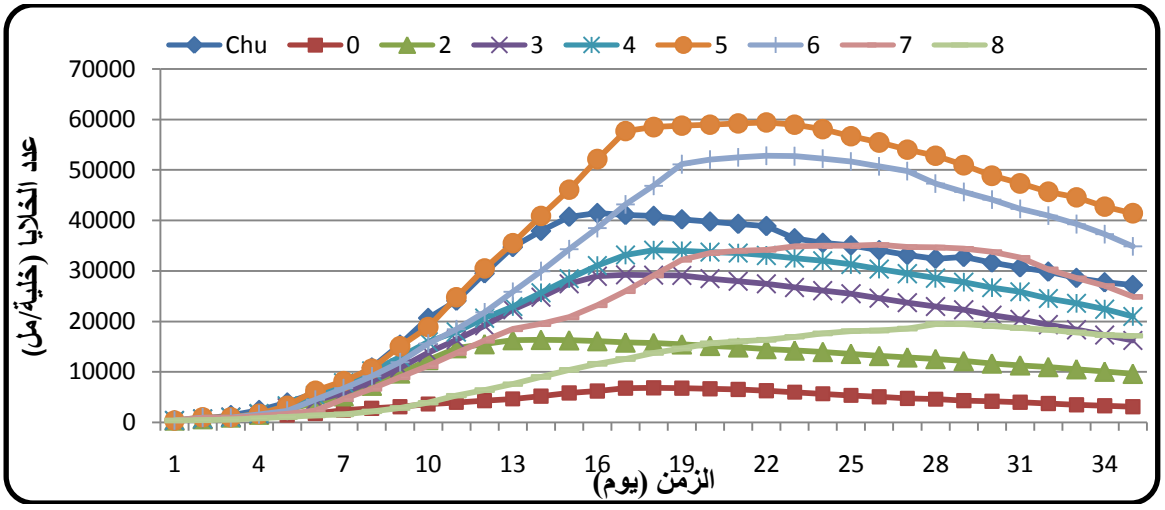
جدول رقم (4): معدل زمن التضاعف (ساعة) عند طحلب *Chlorella vulgaris* عند درجات حرارة مختلفة وبتراكيز مختلفة من المغذيات وشدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء/8ظلام.

المحلول المغذي	20 درجة مئوية		25 درجة مئوية		30 درجة مئوية	
	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف
Chu- 10	5.01	1.64	2.47	1.62	2.60	1.63
1	8.54	2.02	3.19	1.96	3.27	2.02
2	6.20	1.87	2.77	1.78	3.07	1.85
3	5.68	1.71	2.63	1.67	2.88	1.68
4	5.39	1.68	2.62	1.64	2.81	1.65
5	5.73	1.63	2.22	1.55	2.72	1.58
6	8.22	1.62	2.27	1.57	2.75	1.56
7	13.04	1.66	2.40	1.62	2.88	1.61
8	26.63	1.77	4.75	1.72	6.89	1.70

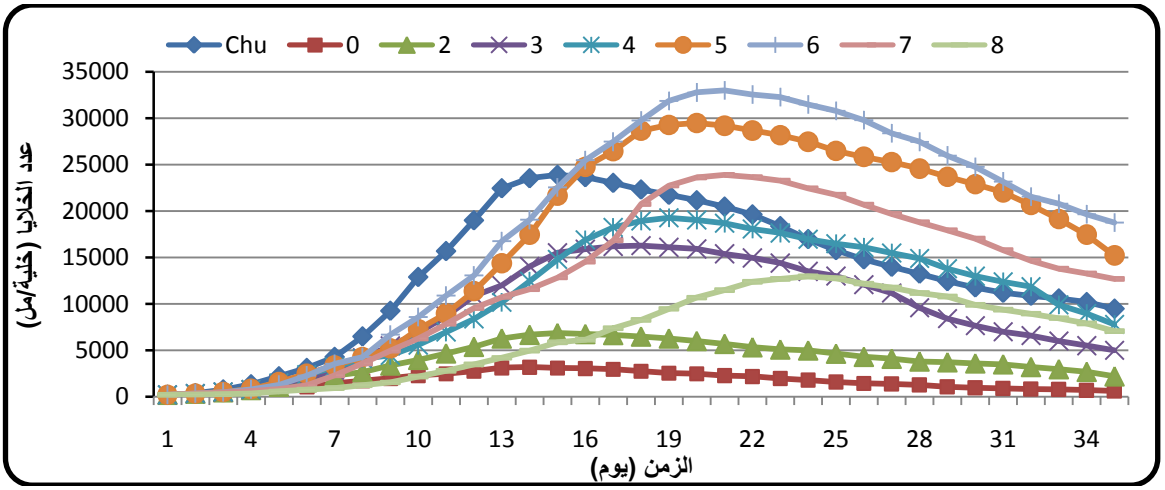
يزداد انقسام الخلايا في الظروف البيئية المناسبة وينخفض مع تغير هذه الظروف حيث يلاحظ انخفاض عدد الخلايا مع تقدم عمر المزرعة الطحلبية شكل (1 – 2 – 3)، ويفسر ذلك بسبب انخفاض تراكيز المواد المغذية الضرورية للنمو الموجودة في الوسط المغذي مع تقدم الزمن وعملية التظليل الذاتي اذ تلقي خلايا العوالق النباتية ظلالاً فوق بعضها البعض (Mallic, *et al* ., 1993) كما يلاحظ أن الخلايا الطحلبية تحافظ على شكلها وحيويتها لفترة زمنية أطول عند استخدام المحلول المغذي المضاف إليه مستخلص التربة حيث استمر طور النمو حتى اليوم 24 من الزراعة في حين توقف طور النمو عند استخدام الوسط الصنعي Chu– 10 في اليوم 17 مع ملاحظة انخفاض أسرع في عدد الخلايا بعد طور الاستقرار في هذا الوسط مقارنة مع الوسط الطبيعي.



شكل رقم (1): عدد خلايا طحلب *Chlorella vulgaris* عند درجة حرارة 20 م° وبتراكيز مختلفة من المغذيات و شدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء/8ظلام.



شكل رقم (2): عدد خلايا طحلب *Chlorella vulgaris* عند درجة حرارة 25م° وبتراكيز مختلفة من المغذيات و شدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء/8ظلام.



شكل رقم (3): عدد خلايا طحلب *Chlorella vulgaris* عند درجة حرارة 30 م°وبتراكيز مختلفة من المغذيات وشدة ضوئية 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء/8ظلام.

تعد البروتينات والسكريات واللبيدات من أهم المركبات البيوكيميائية الطحلبية، وتتغير هذه المركبات باختلاف درجات الحرارة وتركيز المغذيات وعمر المزرعة الطحلبية واستهلاكها لهذه المغذيات، بينت هذه الدراسة أن البروتينات هي المركب الرئيسي عند طحلب *Chlorella vulgaris* جدول رقم (5) الذي بيّن زيادة نسبة البروتين مع انخفاض درجة الحرارة وزيادة نسبة المغذيات حيث وصلت أعلى نسبة للبروتين 48.36% عند درجة حرارة 20 م° وأعلى تركيز من المغذيات وانخفضت إلى 40.21% مع ارتفاع درجة الحرارة إلى 30 درجة مئوية عند نفس تركيز المغذيات (محلول رقم 8) وهذا مطابق لما لاحظه Sharma, *et al* (2012) الذي درس تأثير درجات الحرارة على معدل تركيب البروتين في النوع *Chlorella vulgaris* في الدرجات 25 إلى 30 و 30 و 35 درجة في شروط ثابتة

من الإضاءة حيث كان معدل تركيب البروتين أعلى في الدرجة 25 – 30 درجة ومشابه لما توصل إليه Rhee and Gotham(1981) ارتفاع في تركيز البروتين في جنس *Scenedesmus* sp. مع تناقص درجة الحرارة.

كذلك الحال عند السكريات حيث لوحظ في هذه الدراسة زيادة النسبة مع انخفاض درجة الحرارة حيث سجلت أعلى نسبة للسكريات 17.21 عند درجة حرارة 20 درجة مئوية في المحلول المغذي رقم (3) وكان أخفضها 11.48 عند درجة حرارة 30 م° والمحلول المغذي رقم (1)، ويفسر ذلك من خلال زيادة التنفس مع زيادة درجات الحرارة وبالتالي استهلاك السكريات كما أن التركيب الضوئي يزداد في درجات الحرارة الأخفض.

أما بالنسبة للدسم فقد كانت النسبة الأعلى 19.78 % وعند درجة حرارة 25 درجة مئوية وفي المحلول المغذي رقم (3) وانخفضت هذه النسبة مع زيادة درجة الحرارة وانخفاضها،وهذا ما لوحظ عند*Nannochloropsis oculata* و *Chlorella vulgaris*, (Converti,*et al.*, 2009) إذ لكلا الطحلبين لديهما درجة حرارة نمو مثلى واحدة في درجة 25م°، فزيادة درجة الحرارة من 20 إلى 25 يضاعف المحتوى اللبيدي من 7.9 % إلى 14.92 % في *Nannochloropsis oculata* بينما ارتفاع درجة الحرارة من 25 إلى 30 ينقص المحتوى اللبيدي في *Chlorella vulgaris* من 14.71 %إلى 5.91%، اذ أن هناك تأثيرات رئيسية لنقص النتروجين في الزراعات الطحلبية تضمن تعزيز التركيب الحيوي وتجميع اللبيدات.

جدول رقم (5) تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص التربة في المحتوى البروتيني للطحلب *Chlorella vulgaris* وذلك عند درجات حرارة مختلفة وتراكيز م مختلفة من المغذيات

المحلول المغذي	20 درجة مئوية			25 درجة مئوية			30 درجة مئوية		
	بروتين	سكر	دسم	بروتين	سكر	دسم	بروتين	سكر	دسم
Chu– 10	44.14	15.73	12.43	41.34	14.76	15.64	36.47	12.43	13.89
1	27.49	13.13	12.11	24.22	13.22	14.21	21.75	10.48	11.48
2	31.75	14.17	15.33	29.08	13.97	18.51	23.85	12.89	15.18
3	32.21	17.21	13.69	31.46	16.01	19.78	27.83	14.58	15.03
4	37.45	15.63	10.65	33.84	15.37	16.11	29.75	13.35	13.63
5	41.34	15.21	10.56	41.68	14.28	13.38	34.75	13.08	12.23
6	44.85	14.62	10.52	41.99	14.07	12.66	38.85	12.38	11.97
7	47.76	13.96	10.41	42.87	13.38	12.82	39.92	11.95	13.06
8	48.36	12.74	11.06	43.45	12.13	13.13	40.21	11.73	13.49

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1 -ارتباط معدل النمو وزمن التضاعف والتركيب الكيميائي لطحلب *Chlorella vulgaris* بدرجة الحرارة وتراكيز المغذيات حيث تعد التراكيز العالية للنترات والفوسفات مثبطات نمو.

2 -إمكانية استبدال الأوساط الصنعية بأوساط طبيعية رخيصة الثمن في تغذية الطحالب وذلك للحصول على كتلة حيوية يمكن استخدامها في كثير من مجلات الحياة.

3 -زيادة نسبة السكريات والبروتينات عند طحلب *Chlorella vulgaris* مع انخفاض درجة الحرارة.

التوصيات:

1 -دراسة تأثير عوامل أخرى على معدل النمو والتركيب الكيميائي وذلك وصولاً إلى تحديد الشروط المثلى.

2 -تحديد الشروط المثلى لنمو أنواع أخرى من الطحالب المتواجدة في المياه السورية وذلك للوصول إلى الأنواع الأكثر تأقلماً وأهمية وذلك بهدف استخدامها بما يخدم الإنسان والبيئة.

3 -الانتقال من الزراعة المخبرية إلى الزراعة الحقلية وذلك للحصول على كتلة حيوية أكبر يمكن تسخيرها في خدمة المجتمع.

المراجع:

1- AHMED. M. A; DAWWOOD. S. ; ANFAL. N. A.*The quantity determination of total carbohydrates and monosaccharides*. from some green algae (Chlorophyta) Marsh Bulletin 7,27-38. 2012, P12.

2- AL-AARAGY,M.J. Studies on the mass culture of freshwater microalgae as live food .for fish larvae.Ph.D.thesis,Collegeof Science, Basrah Uviversity.1996, 107pp.

3- BARBOSA, J. M; HOOGAKKER, J; WIJFFELS, H. R. *Optimisation of cultivation parameters in photobioreactors for microalgae cultivation using the A-stat technique*, Biomolecular Engineering 2003 , 115_/123.

4- BARGHBANI, R.; REZAEI, K; and JARANSHIR, A. *Investigating the effects of several parameters on the growth of Chlorella vulgaris using Taguchi's experimental approach*. International Journal of Biotechnology for Wellness Industries. Vol. 1,2012, 128-133.

5- BERBEROGLU. H, GOMEZ. S. P, PILON. L. *Radiation characteristics of Botryococcus braunii, Chlorococcu mlittorale, and Chlorella sp. used for CO2 fixation and biofuel production*,Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer 110 , 2009,1879–1893.

6- BLIGHE.G. and Dyer W. J. "*A rapid method of total lipidextraction and purification.*" Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37, 1959, 911-917.

7- BOURRELLY , P. *Les Algued'eaudonce* . lesalgusjaunes et brunes . ed. Boubee, Paris , 1968 , 38 p.

8- BOURRELLY , P. Les Algued'eaudonce . lesalgusVertes , Ibid. 1972 , 572.

9- CHINNASAMY, S; BHATNAGAR, A.B; HUNT, W. R; DAS, C. K. *Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications*, Bioresource Technology, 2010, P. 9.

10- CHU, S .*The influence of the mineral composition of the growth of phytoplanktonic algae.* J. Eco., 30, 1942, pp284- 325.
11- CONVERTI. A;CASAZZA. A; ORTIZ. E; PEREGO. P; BORGHI. M. *Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris for biodiesel production.*Chemical Engineering and Processing: Process IntensificationVolume 48, Issue 6, June 2009, Pages 1146–1151
12- CRAGGS. R, MCAULEY. P, AND SMITH. V. *Wastewater Nutrient Removal By Marine Microalgae Grown On a Corrugated* Raceway, Wat. Res. Vol. 31 , No, 7,1997, pp, 1701 – 1707.
13- CTYBINA, V.B., LENOVA, L. H.*Vodorocli Vodoochiki Ctochne Vod*. Keev. Domka, 1990, p 182.
14- DANQUAHA. K. M , GLADMANB. B, MOHEIMANIB. N, FORDEA. M. G. *Microalgal growth characteristics and subsequent influence on dewatering efficiency,* Chemical Engineering Journal 151 , 2009, 73–78.
15- DAYANANDA, C ; SARADA, R ; BHATTACHARYA, S; RAVISHANKAR, A. G. *Effect of media and culture conditions on growth and hydrocarbon production by Botryococcu sbraunii*, Process Biochemistry 40 , 2005, 3125–3131.
16- FOGG, G. E. Algal cultures and phytoplankton Ecology.. 2nd . ed. University of Wisconisn press, Wisconisn, U.S.A. (1975) 175 pp.
17- GODINEZ, D.; VOLTOLINA, D.; NIEVES, M. ;PINA, P. *Organic fertilizers as nutrient sources for microalgae cultures*. Rivista Italiana di Aquaculture, 35: 2000 , pp75-80.
18- G-YRHEE. G; GOTHAM. J,*The effect of environmental factors on phytoplankton growth: Temperature and the interactions of temperature with nutrient limitation*. Limnol. Oceanogr., 26(4), 1981, 635-648
19- HOSSAIN, S; SALLEH, A .*Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy,* American Journal of Biochemistry and Biotechnology 4 (3), 2008, 250-254.
20- KALPESH K. S; HOLGER. S; PEER M. S. *High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production*. Energies 2012, 5, 1532-1553; doi:10.3390/en5051532
21- KUMAR, K., DASGUPTA, C.N., NAYAK, B., LINDBLAD, P., DAS, D. *Development of suitable photobioreactors for CO2 sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria*. BioresourceTechnology,102, 2011, 4945–4953.
22- LAUTRUP. K. *Using Microalgae to Convert Waste Products into Biodiesel Final Research Paper , Comprehensive University Enhancement Fund Research Project,* Thompson Rivers University,2008, P. 15.
23- LIU, Z. Y; WANG, G. C; ZHOU, B. C. *Effect of iron on growth and lipid accumulation in Chlorella vulgaris*, Bioresource Technology 99,2008, 4717–4722.
24- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. J. Biol. Chem. 1951, 193, 265.
25- MALLIC M. ;RAI L. *nfluence of Culture Density, pH, Organic Acid and Divalent..Cations on the Removal of Nutrients and Metals by Immobilized Anabaena and.Chlorella vulgaris*" . World J. Microbiol. Biotechnol.Vol. 9, 1993 :pp 196-201.

26- MASOJÍDEK, J; SERGEJEVOVÁ, M; ROTTNEROVÁ, K ; JIRKA, V ; KOREČKO, J; KOPECKÝ, J ; ZAŤKOVÁ, I ; TORZILLO, G ; ŠTYS, D. A *two-stage solar photobioreactor for cultivation of microalgae based on solar concentrators*, J ApplPhycol 21, 2009, 55–63.

27- NOWACK1, E; PODOLA, B; MELKONIAN, M. *The 96-Well Twin-Layer System: A Novel Approach in the Cultivation of Microalgae*, Protist, Vol. 156, 2005, 239—251.

28- OGBONDA, H. K; AMINIGO, E. R; ABU, O. G .*InXuence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative Spirulinasp*, Bioresource Technology 98 ,2007, 2207–2211.

29- OSBORNE DR. *Análisis de Nutrientes de los Alimentos. Zaragoza*: Acribia; (1985), p. 136–53.

30- PANKOW,C ,H. . *Algenflora der ostsee* , II . plankton ,Verlag. 1976, p . 1 – 493.

31- PLINSKI,M. *Glony Zatoki Gdauskiejeklucz Do oznaczaniagatunkow* .cz. Iv. Okrzenki . Gdansk. 1988, P.183.

32- REYNOLDS, C.S. *The ecology of fresh water phytoplankton*, Cambridge Univ. Press, 1984. p. 384

33- SASTRE. R. R, CSOGOR. Z, PERNER-NOCHTA. I, FLECK-SCHNEIDER. P, POSTEN. C.*Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors—A conceptual approach*, Journal of Biotechnology 132 ,2007, 127–133.

34- SHARMA. R; SINGH. G ; SHARMA. V.*Effects of Culture Conditions on Growth and Biochemical Profile of Chlorella Vulgaris*, J Plant Pathol Microb 2012, 3:5

35- SIRANGALA. T. G; KRISHNAPPA. R; VENKATACHALAPATHY. G; BANGALORE R. M. *Growing of Chlorella, Scenedesmus and Botryococus in sewage water forbiodiesel production*. Archives of Applied Science Research, 2014, 6 (1):131-138.

36- SRIDHAR. K; MANIKYA. R; M.RAO. P. *Algal Bioassay Studies in Waste Water* . IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) e-ISSN: 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399.Volume 9, Issue 1 Ver. III (Jan. 2015), PP 37-42 www.iosrjournals.org.

37- STARMACH,K. *Plankton Roslinny WodStodkich Polska* , Akad. Nank Warszawa KraKow , 1989 , p 496.

38- STEIN, J. R. *Hand book of phycologicalmethods* . Cambridge University. press. Cambridge , U.K. (1973).

39- VENKATARAMAN L. V. "*Bioproducts from microalga Dunaliella*" .Biomass.Vol.28:. 1990.

40- VOLTALINA, D; NIEVES, M; PINA, P. *Fertilizers as a cheap growth media for microalgae production: a Mexican point of view*. Rivista Italians di Aquaculture, 34: 1999.pp 43-45.

41- WEIDEMAN ; V. E; WALNE, P. R. ; TAINOR, F. R. *Anew technique for obtaining axenic culture of algae.* Can. J. Bot, 42, 1984 , 958-959.

42- ZEBIB. T.*Microalgae Grown in Photobioreactors for Mass Production of Biofuel*, Rutgers University, Department of Bioenvironmental Engineering , 2008, P 15.