DOI: http://dx.doi.org/10.30684/etj.36.3C.7

المؤتمر العلمي الثالث للبيئة والتنمية المستدامة، بغداد، 15-16 تشرين الثاني، 2017

تحفيز البروتين الكلي لثلاث طحالب خضر معزولة محلياً

إبراهيم مهدي السلمان
كلية التربية للعلوم الصرفة
ابن الهيثم، جامعة بغداد

ثائر حميد العقيلي
كلية التربية للعلوم الصرفة
ابن الهيثم، جامعة بغداد

تاريخ استلام البحث: 2017/05/01
تاريخ القبول: 2017/11/15
تاريخ النشر: 2018/10/25

الخلاصة: سلطت الدراسة الحالية الضوء على امكانية تحفيز كمية البروتين الكلي المنتج من ثلاثة طحالب خضراء (*Asterococcus* spp, *Scenedesmus dimorphus, Chlorococcum humicola*) تحت تأثير نزع النتروجين، أضافة كلوريد الصوديوم، اضافة فيتامينات B وتغير سرعة تيار ماء الوسط. عزلت الطحالب محليا من البيئة العراقية وتم تنميتها كمزارع نقية على الوسط الزرعي Chu-13 في ظروف بيئية محكمة وتحت درجة حرارة 25م° أضاءه 6:18 ساعة ضوء – ظلام وشدة إضاءة (3000 لوكس) ورقم هيدروجيني 7- 7.5. قدرت كمية البروتين الكلي بالاعتماد على طريق Lowry المحورة ثم قيست الكثافة الضوئية على الطول الموجي 665 نانوميتر ورسم المنحنى القياسي اعتمادا على بروتين البوفين Bovin serum albumin بتراكيز (0-10) مل. بينت النتائج حصول تأثيرات متباينة في قيم البروتين الكلي بين اجناس الطحالب المدروسة سواء في الوسط القياسي (Chu-13) أو عند المعاملة مع المتغيرات المتمثلة بنزع النتروجين وأضافة NaCl أو أضافة مجموعة فيتامين B و تغير سرعة تيار الماء، وكانت النتائج كما يلي: سجلت الطحالب *Asterococcus* sp و *S.dimorphus* و *C.humicola*قيم بروتين كلي (109.6، 78.8و 185.9ملغم/غم$^{-1}$ وبنسبة مئوية 19.5،17.2 و 35.3%) في الوسط القياسي Chu-13 على الترتيب، بينما سجلت (111.2، 51.5 و 170.7) وبنسبة مئوية (27.0، 11.7، 31.7 %)في الوسط منزوع النتروجين Chu13- N0 و(119.4، 112.3 و158.6)ملغم/غم$^{-1}$ وبنسبة مئوية (28.0، 26.7و 29.3%) في الوسط Chu13+NaCl و (225.3، 146.7، 216.2)ملغم/غم$^{-1}$ و (51.1، 28.9، 40.3%) في الوسط (B1,B6,B12) +Chu13 و (294.7، 46.5، 214.3) ملغم/غم$^{-1}$و (40.7، 9.1 و 36.9%) عند سرعة تيار 400 لتر /ساعة و (171.6، 127، 145.2) ملغم/غم$^{-1}$ وب (31.8، 29.2، 28.4%)عند سرعة تيار 850 لتر /ساعة على الترتيب.

الكلمات المفتاحية: البروتين الكلي، المحتوى الكيميائي، الطحالب، الوسط الزرعي، التحفيز.

Stimulation of Total Proteins in Three Locally Isolated Green Algae

Abstract: The current study is an attempt to highlight the possibility of stimulating the amount of total protein of three green algae (*Asterococcus spp, Scenedesmus dimorphus, Chlorococcum humicola)* under the influence of Nitrogen removal (N2- 0), adding of Sodium chloride (NaCl), mixture of vitamins (B1, B6, B12) and change the current speed (as a mixing factor) of 400 and 850L/h. Algae were Isolated locally from the Iraqi environment and selected culture medium (Chu-13) for culturing and development with controlled conditions (25 ± 2 ° C, intensity of illumination 3000 Lux and 8:16 light: darkness system and pH 7-7.5.Total protein was determined depending on the methods of Lowry modified by Lopes *et al.* (2010) and then the optical density was measured at a wavelength 665 nm and a standard curve depending on the protein (Bovin serum albumin) concentrations (0-10) ml was draw. The results showed varying effects on total protein between algae either in control (Chu-13 medium) or when the transaction with the variables of removing nitrogen and adding NaCl, mixture of vitamins B, current speed change, Results were as follows: Algae *Asterococcus sp, S.dimorphus and C. humicola* recoded a total protein values (109.6, 78.8 and 185.9) mg/g^{-1} and percentage (19.5,2 0.17 and 35.3.%) in control medium, Chu-13, respectively, while recorded (111.2, 41.5 and 170.7) mg/g^{-1} and (27.0, 11.7, 31.7%) in Chu13-N0, and (119.4, 112.3 and 158.6) mg/g^{-1} and (28.O, 26.7 and 29.3%) in the center Chu13 + NaCl and (225.3, 146.7, 216.2) mg / g -1 and (51.1, 28.9, 40.3%) in Chu13 + (B1, B6, B12) and (294.7, 46.5, 214.3) mg/g^{-1} and (40.7, 9.1 and 36.9%) at 400 and (171.6, 127, 145.2) mg/g^{-1}, and (31.8, 29.2, 28.4%) at 850 l/h current speed respectively.

Keywords: *Total protein, Chemical content, Algae, Culture medium, Stimulation.*

كيف تستشهد بهذه المقالة: السلمان، إبراهيم مهدي والعقيلي، ثائر حميد، "التغيرات الفصلية للطحالب غير الدايتومية الملتصقة على الطين في موقع التقاء ذراع الثرثار بنهر دجلة شمال بغداد،" مجلة الهندسة والتكنولوجيا، المجلد 36، العدد الخاص 3، 259-267، 2018.

Copyright © 2018 by UOT, IRAQ

1. المقدمة

تعد الطحالب بشكل عام والدقيقة منها بشكل خاص مصدرا مهما في المستقبل في إنتاج الغذاء والطاقة المتجددة، وذلك لأن الطحالب الدقيقة لا تتنافس على الأراضي الصالحة للزراعة بل يمكن أن تنمو في المياه في أوساط تعد محدودة النمو لبقية النباتات مثل المياه والترب المالحة والاراضي الصحراوية والصخرية والرطبة والانظمة البيئية الباردة والحارة وغيرها من الاوساط ، كما يمكن استخدام مشتقات المياه المستعملة والمعادة كمكملات غذائية لهذه الاحياء وبالإضافة إلى ذلك، تعد الطحالب الدقيقة مصدرا قابلا للتطبيق للأغذية والأعلاف والمواد الكيميائية عالية القيمة والمستحضرات الصيدلانية وغيرها من المنتجات المهمة اقتصاديا [1,2]، ومن بين المركبات الحيوية المهمة التي يسعى الباحثون في مجال الطحالب الحصول عليها من الطحالب هي البروتينات. وكما هو معروف كيميائيا بأن البروتينات هي جزيئات كيميائية معقدة تعد من أهم الجزيئات التي تحويها الكائنات الحية ومن أكثرها تنوعا، فأنواعها تعد بالآلاف وتختلف باختلاف وظائفها، وهي بمنزلة جنود مسخرة لخدمة الخلية الحية وتقوم بدور أساسي في جميع التفاعلات الحيوية التي تجري في أجسامنا. ومن بين هذه الوظائف عملية بناء مكونات الخلية وإعطائها قوامها وتدعيم أجزائها ونقل المعلومات بين أجزاء الخلايا المختلفة وتحفيز التفاعلات الكيميائية، وتتكون البروتينات من وحدات تسمى "الاحماض الأمينية" وعدد الاحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة كثيرة جدا، ولكن 20 منها فقط تدخل في تركيب البروتينات. والطحالب بصفة عامة سريعة النمو والتكاثر وأجسامها غنية بمكوناتها العضوية التي تصلح غذاء للإنسان والحيوان، فمادتها الجافة تحتوي على ما يقارب من 19% من مواد كربوهيدراتية وحوالي 25% من الدهون و 7% من البروتينات علاوة على احتوائها على بعض الفيتامينات لاسيما (ب وج) وأملاح كثيرة منها اليود[3,4,5] . ووجد الباحثون كذلك من خلال مختلف الدراسات أن الطحالب الخضر وحيدة الخلية مثلاً تفوق النباتات الراقية من حيث نشاطها إلى عملية التمثيل الضوئي، وقد يرجع السبب في ذلك بالدرجة الأولى إلى كون البلاستيدات بما تنطوي عليه من أصباغ تمثيلية تستغل من جسم الطحالب حيزاً كبيراً وأن المواد العضوية المختلفة تدَّخر داخل جسم الخلية نفسها، بالمقارنة مع البلاستيدات الخضراء من أوراق النباتات الراقية التي تشغل مواقع ثابتة وهي محدودة الحركة، مما يقلل إلى حد بعيد من فرص الاستغلال الكامل للطاقة الضوئية المتاحة على الأوراق، ولكن الخلايا الطحلبية المعلقة في سائل تستطيع أن تغير وضعها بما يكفل حُسن توزيع الإضاءة على سطحها[8,7,6] . ولغرض تحقيق الاهداف الاقتصادية والانتاجية من استعمال هذه الطحالب عمدت الدراسات البيئية في السنوات الاخيرة الى تطبيق ما يسمى بالمزارع الطحلبية algal cultures المغلقة والمفتوحة في التنمية لمختلف انواع الطحالب، ثم تطبيق برامج تدعيم هذه المزارع بمختلف محفزات النمو، وقد أعطت هذه التطبيقات نتائج مهمة في زيادة الكتلة الحيوية وتحفيز مستويات الدهون والبروتينات والكاربوهيدرات وغيرها ، وهذه المحفزات المختلفة تبين دورها في احداث تغيرات مهمة على مستوى النمو وفسلجة وكيمياء الحيوية لمختلف انواع الطحالب. على سبيل المثال أمكن تنمية بعض هذه الطحالب تحت ظروف معيشية خاصة لتبني ما يقارب من 50% من وزنها الجاف من البروتينات، وبذلك تكون مصدرا غذائيا هاما قد تكون الطحالب ملاذاً مهما للعالم من خطر المجاعة التي تهدده نتيجة للزيادة الرهيبة في عدد السكان [9,10,11]. ويرى الباحثون ان سبب تفوق الطحالب على مصادر البروتين الاخرى مثل الاستنبات البكتيري في المختبر وخلايا الحيوانات اللبونة هو حاجتها الاقل كثيرا للرعاية. فهي تحصل على الطاقة الشمسية وثاني اوكسيد الكربون الذي تحتاجه لنموها من بيئتها المحيطة، ناهيك عن كون بروتين الطحالب يتسم باحتوائه على عشرة من الأحماض الأمينية الضرورية أوزان جزيئية منخفضة نسبيا، وهذا يعني طواعيتها لعمليتي الهضم والامتصاص أفضل من المصادر البروتينية الاخرى [12,13,14].

لذا فأن الدراسة الحالية تمثل محاولة لاختبار مستوى تأثير عدد من المعاملات الكيميائية والفيزيائية من خلال تغير نوع الوسط أو أضافة أو انتزاع عنصر أو مادة مغذية أو تغير سرعة تيار وحركة الوسط السائل لمزارع نقية لعزلات من الطحالب المحلية *Secendesmus. sp qudricuda, Chlorococcum humicola, Asterococcus* وتقييم مدى استجابة هذه الطحالب في انتاج البروتينات الكلية وأمكانية استثمار هذه الدراسات في الحصول على كميات اكبر من هذه المركبات المهمة في الاستعمالات الطبية والحياتية والغذائية المختلفة.

2. المواد وطرائق العمل

تم اختبار خمسة متغيرات تمثلت (نوعية وتركيب الوسط الزرعي وانتزاع N_2 من الوسط و أضافة NaCl و أضافة فيتامينات B12,B6,B1 و تغير سرعة التيار) لمعرفة تأثيرها في عملية تحفيز انتاج البروتين الكلي في الطحالب المستهدفة في الدراسة. نفذت التجارب في

ظروف مختبرية محكمة تحت درجة حرارة (2±25 م˚ واضاءة 18– 6 ساعة اضاءة – ظلام وبشدة اضاءة 3000 لوكس) وكما مبين في الآتي:

اولا: تأثير تغير نوعية الوسط الزرعي

حضرت الاوساط الثلاثة BG11, Chu 13 , Chu 10 واختبرت كفاءتها في تنمية الطحالب المستهدفة والتأثير في الكتلة الحية وكمية البروتين المنتج منها وذلك من خلال المتابعة اليومية ولمدة 49 يوما .

ثانيا: اختبار اجهاد النتروجين

تم اجراء اختبار اجهاد النتروجين وذلك بتحضير أوساط خالية منه بازالة مصدره (المحلول الخزين المجهز للنايتروجين) في الاوساط الثلاثة وبواقع ثلاثة مكررات لتجربة الاختبار الأولى بحجم 150 مل لكل مزرعة واربعة مكررات بحجم 750 مل لكل مزرعة لغرض الانتاج لكل معاملة في الاوساط الزرعية المختبرة.

ثالثا: اختبار اضافة كلوريد الصوديوم NaCl

حضر محلول خزين من NaCl بإذابة 30 في 100 مل المقطر ويكمل الحجم الى 1 لتر وعقم بوساطة المؤصدة وحفظ في درجة حرارة 4˚ لحين الاستعمال اضيفت الكمية المناسبة لكل مكرر للوصول الى تركيز 2 غرام. لتر$^{-1}$(اضيف 10 مل من المحلول الخزين لكلوريد الصوديوم للمزرعة ذات الحجم النهائي 150 مل و50 مل لمزرعة ذات الحجم النهائي 750 مل، بواقع 4 مكررات لكل معاملة للأوساط الثلاثة للأجناس المختبرة.

رابعا: اختبار اضافة الفيتامينات (B12,B6,B1)

استعمل محلول مركز من خليط فيتامينات (B12,B6,B1) وبتركيز (100, 100 , 1 ملغم .3 مل$^{-1}$ على التوالي من انتاج شركة acino switzerland اضيف 1 مل من المحلول المركز لكل وسط من الاوساط الثلاثة المستعملة وكمل الحجم الى 33 مل ثم اخذ 1 مل منه وكمل الى 100مل من الاوساط للوصول الى التراكيز (0.001,0.01,0.01) ملغم . لتر $^{-1}$ على التوالي وعقمت بوساطة الترشيح من خلال الترشيح خلال فلتر ذي فتحات 0.2 مايكرون، اذ لا يجوز ان تعقم من خلال الحرارة وحفظت في درجة حرارة 4 م˚ لحـــــين الاستعمال [15]. تم معاملة الاجناس الثلاثة المختبرة بالتراكيز اعلاه وذلك بإضافة 1.5 مل لمزرعة بحجم 150 مل و7.5 مل لمزرعة بحجم 750 مل وباستعمال الاوساط الثلاثة المختبرة بواقع 4 مكرر لكل معاملة ولمدة سبعة اسابيع.

خامسا: اختبار تغير سرعة التيار

تم اختبار تاثير سرعة التيار على الطحالب الثلاثة المختبرة في اوعية بلاستيكية معقمة سعة (5 لتر) وذلك باستعمال مضختي ماء ذات سرع 400 و 850 لتر.ساعة$^{-1}$) ومقارنة مع معاملة السيطرة التي تم الخلط فيها يدويا مرة واحدة يوميا.

تقدير البروتين الكلي:

قدرت البروتينات الكلية اعتمادا على طريقة Lowry والمحورة من قبل (Lopes *et al.*, 2010) وذلك بوضع 20 مل غرام من الطحالب الجافة في 10 مل من محلول (lysis buffer) لمدة 20 دقيقة في انبوب من نوع (falcon) لغرض تسهيل عملية الاستخلاص [16,17] و تم تخفيف العالق مرة اخرى بمحلول الاستخلاص ثم سحب (0.1) مل واضيف له (0.1) مل من محلول (Sodium SDS (dodecyl sulfate بتركيز 10% كما ذكر في [19,20] . نبذت ثم اضيف 1 مل من محلول (C) المخلوط انيا والمتكون من المحلولين (50 مل من المحلولA 3% Na_2CO_3 المذاب في محلول 0.1 N NaOH و 1 مل من محلول B المتكون من 0.5% من كبريتات النحاس المائية المذابة في 1% من ترترات الصوديوم) لمدة 10 دقائق في 25م˚، ثم اضافة 0.1 مل من المحلول D (المتكون من الفولن التجاري). تركت العينة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ثم قياس الكثافة الضوئيه على الطول الموجي 660 . nm ورسم منحنى قياسي اعتمادا على بروتين البوفين Bovin serum albumin بتراكيز (0 الى0.1) مل.

3. النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج المبينة في الجداول (1-9) اختلافاً واضحاً بين كمية البروتينات الكلية المنتجة من الطحالب الثلاثة المستهدفة بالدراسة الحالية وذلك عند المقارنة بين نوع الطحلب المختبر أو بين نوعية الوسط الزرعي أو طبيعة المعاملة بالإضافة أو الازالة من الوسط كما يأتي: -

اولا: تأثير تغير نوعية الوسط الزرعي.

سجل الطحلب *Asterococcus sp* 44.6 , 109.6 , 54.4 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) اما *S. dimorphus* فقد سجل , 78.8 , 77.23 23.9 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) فضلا عن *C.humicola* الذي سجل 59.9 , 185.9 , 40.8 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) في الاوساط Chu10 , Chu13 , BG11 على التوالي .كما يتضح ان اعلى كمية للبروتينات الكلية سجلت في الطحلب *C.humicola* في الوسط Chu10 185.9 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) اما اقل كمية فقد سجلت في الطحلب *S . dimorphus* في Chu10 وكانت 23.9 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) كما أن جميع الفروق معنوية . وعند متابعة نتائج تغير الوسط في النسبة المئوية للبروتينات الكلية نجد ان الطحلب *Asterococcus sp* سجل 19.5 18.6 , 19.5 , % بينما سجل *S. dimorphus* 9.0 , 17.2 , 27.6% و سجل *C.humicola* 21.6 , 35.3 , 12.3% في الاوساط Chu10 , Chu13 , BG11 على التوالي. وعند متابعة حساب النسبة المئوية عند تغير الوسط لوحظ ان اعلى نسبة مئوية للبروتينات سجلت في الطحلب *C.humicola* في Chu13 وكانت 35.3% اما اقل نسبة فقد سجلت في *S. dimorphus* وبلغت 9.0% عند تنميته في Chu10، وكانت الفروق معنوية للبروتينات الكلية للاوساط الثلاث عند المقارنة بين الطحالب الثلاثة، بينما كانت الفروق معنوية في الطحلب *S. dimorphus* فقط في الوسط Chu10 جدول 1.

جدول 1: متوسط المحتوى والنسبة المئوية للبروتينات الكلية في الطحالب المختبرة عند تغيير الاوساط الزرعية

المعاملة	ملغم.غم$^{-1}$ Control الخطأ القياسي ± المتوسط			النسبة المئوية % الخطأ القياسي ± المتوسط		
TP*	Chu 10	Chu 13	BG11	Chu 10	Chu 13	BG11
Asterococcus sp	44.6 ±5.31A	109.6 ±0.19A	54.4 ±2.72A	18.6 ±2.22	A19.5 ±0.9	19.5 ±0.9A
S. dimorphus	23.9 ±1.03A	78.8 ±1.60A	77.2 ±3.63A	9.0±0.39A	17.2 ±0.3A	27.6 ±1.3A
C.humicola	59.9 ±0.98A	185.9 ±1.2A	40.8 ±3.70A	21.6±0.35	35.3 ±0.2A	12.3 ±1.1A
LSD 0.05	8.74	3.57	9.30	3.63	1.68	3.14

TP*: البروتينات الكلية.

ان الزيادة في كمية البروتينات في الوسط Chu13 قد تعود الى كمية N_2 في الوسط لأنه العمود الفقري لبناء البروتينات بشكل عام، ويتفق ذلك مع الباحثون [21,8] الذين اشاروا الى ان مصدر النتروجين في الاوساط المختلفة يؤثر في عملية ترجمة الرنا RNA الى بروتينات فضلاً عن الاختلافات بين الاجناس الطحلبية في محتوها العام من البروتينات الكلية.

ثانيا: تأثير ازالة النتروجين من الوسط الزرعي

اظهرت نتائج ازالة N_2 من الاوساط تأثيرا واضحا على البروتينات الكلية، اذ سجل الطحلب *Asterococcus sp* , 111.2 , 15.4 19.8 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) بينما سجل *S. dimorphus* 22.2 , 51.5 , 8.9 ملغم.غم$^{-1}$ فضلا عن *C.humicola* الذي سجل 58.2, 170.7 , 30.7 ملغم.غم$^{-1}$ في الاوساط Chu10 , Chu13 , BG11 على التوالي . ان اعلى قيمة للبروتينات كانت في الطحلب *C.humicola* في الوسط Chu13 وبلغت 170.78 ملغم.غم$^{-1}$ اما اقل قيمة لها في *S. dimorphus* في الوسط BG11 وكانت 8.9 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف). الفروق معنوية في الطحالب الثلاث المختبرة في Chu13 وفي الطحلب *C.humicola* وفقط للوسطين BG11 Chu13 ,.وعند مقارنة كل معاملة مع سيطرتها وجدت فروق معنوية عند الطحالب *Asterococcus sp* *فقط* للوسط Chu10 و *S. dimorphus* في Chu13 والطحلبين *Asterococcus sp* و*S. dimorphus* في BG11 جدول (2).

جدول 2: متوسط المحتوى ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) للبروتينات الكلية للطحالب المختبرة عند ازالة N_2 من الاوساط الزرعية

المعاملة	Control الخطأ القياسي ± المتوسط			Zero N_2 الخطأ القياسي ± المتوسط		
TP*	Chu 10	Chu 13	BG11	Chu 10	Chu 13	BG11
Asterococcus sp	44.6 ±5.31A	109.6 ±0.19A	54.4 ±2.72A	19.8 ±1.89a	111.2 ±5.9A	15.4 ±2.2a
S. dimorphus	23.9 ±1.03A	78.8 ±1.60A	77.2 ±3.6A	22.2 ±1.24	51.5 ±5.8Aa	8.9 ±2.6a
C.humicola	59.9 ±0.98A	185.9 ±1.2A	40.8 ±3.7A	58.2 ±5.04A	170.7 ±4.7A	30.7 ±3.7A
LSD 0.05	8.74	3.57	9.30	8.78	15.19	8.09

اما نتائج حساب النسبة المئوية للبروتينات الكلية بعد ازالة N_2 من الوسط فقد بينت أن الطحلب *Asterococcus sp* سجل 27.0 , 5.7 7.2 %, بينما *S. dimorphus* 7.9 , 11.7 , 3.5% فضلا عن *C.humicola* الذي سجل 19.7 , 31.7 , 8.8% في الاوساط Chu10 , Chu13 , BG11 على التوالي، النتائج بينت كذلك ان اعلى واقل نسبة مئوية للطحلبين *C.humicola* و *S. dimorphus* على التوالي للوسطين Chu13 و BG11 كانت 31.74% و 3.5% وكانت الفروق معنوية في الوسط Chu13 عند المقارنة بين الطحالب

الثلاثة ، وفي *C.humicola* فقط للوسطين Chu10 , BG11. وعند المقارنة بين كل معاملة وسيطرتها وجدت الفروق في الاوساط الثلاثة للطحلب *Asterococcus sp* وفي الوسطين Chu13 , BG11 للطحلب *S. dimorphus* جدول (3).

جدول 3: متوسط النسبة المئوية للبروتينات الكلية للطحالب المختبرة عند ازالة N_2من الاوساط الزرعية

Zero N_2 الخطأ القياسي ± المتوسط			**Control الخطأ القياسي ± المتوسط**			**المعاملة/النسبة المئوية**
BG11	Chu 13	Chu 10	BG11	Chu 13	Chu 10	TP*
5.7 ±0.81a	27.0 ±1.44A	7.2 ±0.69a	19.5 ±0.9A	19.5 ±0.9A	18.6 ±2.22	*Asterococcus sp*
3.5 ±1.07a	11.7 ±1.32Aa	7.9 ±0.44	27.6 ±1.3A	17.2 ±0.3A	9.0 ±0.39A	*S. dimorphus*
8.8 ±1.08A	31.7 ±0.88A	19.7 ±1.70A	12.3 ±1.1A	35.2 ±0.2A	21.6 ±0.35	*C.humicola*
2.29	3.41	3.01	3.14	1.68	3.63	LSD 0.05

وهذا قد يعود الى اختلاف كمية الانتاج الكلية للطحلب في هذا الوسط بسبب زيادة الدهون والكاربو هيدرات ، كما يمكن تفسير عملية انخفاض البروتينات بأنها تعود الى قلة النتروجين في الوسط الزرعي والذي يعد اساس بناء الاحماض الامينية المكونة للبروتينات، وهذا يتفق مع ما اشار اليه الباحثان [22] عند دراسته تأثير كلوريد الصوديوم اذ سبب نقص للبروتين وسجل 1.28% مع زيادة للدهون الى 55.20% عند ازالة النتروجين كما سجلت النتيجة نفسها عند ازالة النتروجين من الوسط للطحلب *C.humicola* اذ انخفضت البروتينات من 50% الى 13% [23] المختبرة اذ سجلت [24] اختلافا مماثلاً بين *Nistizth,chlorella* على مستوى كمية البروتينات كما ان الاختلاف الوراثية بين الاجناس الطحلبية تمثل دورا مهما في كمية المحتوى الكيميائي [7].

ثالثا: تأثير اضافة كلوريد الصوديوم للوسط الزرعي

اظهرت نتائج اضافة NaCl بتركيز 2 غم.لتر$^{-1}$ الى الاوساط الثلاثة تباينا بين كمية البروتينات الكلية اذ سجل الطحلب *Asterococcus sp* 180.1 , 119.4 , 66.3 ملغم.غم$^{-1}$ بينما *S. dimorphus* 45.6 , 112.3 , 83.4 ملغم.غم$^{-1}$ فضلا عن *C.humicola* الذي سجل 79.0 , 158.6 , 54.7 ملغم.غم$^{-1}$ في الاوساط BG11 , Chu13 , Chu10 على التوالي، وكانت الفروق معنوية بين الطحالب المختبرة في الوسط BG11 وفي الطحلب *C.humicola* فقط عند الوسط Chu13. وعن المقارنة بين المعاملة وسيطرتها نجد ان الفروق معنوية في BG11 للطحالب الثلاثة وفي الوسط Chu10 للطحلب *S. dimorphus*، جدول (4).

جدول 4: البروتينات الكلية ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) للطحالب المختبرة عند اضافة NaCl غم. لتر$^{-1}$ للأوساط الزرعية

NaCl Shock الخطأ القياسي ± المتوسط			Control الخطأ القياسي ± المتوسط			المعاملة
BG11	Chu 13	Chu 10	BG11	Chu 13	Chu 10	TP*
180.1 ±0.5Aa	119.4 ±4.1	66.3 ±6.41	54.4 ±2.72A	109.6 ±0.19A	44.6 ±5.31A	*Asterococcus sp*
45.6 ±2.5Aa	112.3 ±11.3	83.4 ±7.23a	77.2 ±3.6A	78.8 ±1.60A	23.9 ±1.03A	*S. dimorphus*
54.7 ±3.4A	158.6 ±0.8A	79.0 ±5.23	40.8 ±3.7A	185.9 ±1.2A	59.9 ±0.98A	*C.humicola*
6.94	19.27	17.45	0.30	3.57	8.74	LSD 0.05

وعند حساب النسبة المئوية للبروتينات الكلية بعد اضافة NaCl سجل الطحلب *Asterococcus sp* 51.1, 28.0, 32.6 % بينما *S. dimorphus* 30.4 ,26.7 ,13.7% اما *C.humicola* 27.9 , 29.3 ,15.9% في الاوساط الزرعية BG11 , Chu10 , Chu13 على التوالي، وكانت الفروق معنوية بين النسب المئوية للطحلبين *Asterococcus sp* و *S. dimorphus* للاوساط الثلاثة مقارنة مع محليل سيطرتها وفي Chu13 مع الطحلب *C.humicola* فقط . اما عند المقارنة بين الطحالب الثلاثة ضمن الوسط الواحد كانت الفروق معنوية بين الطحلبين *Asterococcus sp* و *C.humicola* فقط. جدول (5).

جدول 5: متوسط النسبة المئوية للبروتينات الكلية للطحالب المختبرة عند اضافة NaCl ، 2غم. لتر$^{-1}$ للأوساط الزرعية

NaCl Shock الخطأ القياسي ± المتوسط			**Control الخطأ القياسي ± المتوسط**			**المعاملة /النسبة المئوية**
BG11	Chu 13	Chu 10	BG11	Chu 13	Chu 10	**TP**
51.1 ±0.15Aa	28.0 ±0.97a	32.6 ±3.1a	19.5 ±0.9A	19.5 ±0.9A	18.6 ±2.22	***Asterococcus sp***
13.7 ±0.77a	26.7 ±2.25a	30.4 ±2.6a	27.6 ±1.3A	17.2 ±0.3A	9.0 ±0.39A	***S. dimorphus***
15.9 ±1.01	29.3 ±0.14a	27.9 ±1.8	12.3 ±1.1A	35.2 ±0.2A	21.6 ±0.35	***C.humicola***
2.05	3.90	7.16	3.14	1.68	3.63	**LSD 0.05**

ويتضح ان اعلى كمية بروتين كلية سجلت في الطحلب *Asterococcus sp* 180.1 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) عند تنميته في BG11 وكانت51.1 % واقل كمية في *S. dimorphus* وكانت 45.6 ملغم.غم$^{-1}$ وزن جاف ومثلت 13.7 % .ان هذه النتائج قد تشير الى الاختلاف في مدى تحمل الطحالب المختبرة للتغيير في نسبة الملوحة مما يؤدي الى تغييرات كيميائية في البروتينات والدهون والكاربوهيدرات [25] .كما تتفق النتائج مع أراء الباحثين [26] التي اكدت زيادة البروتينات الكلية تحت اجهاد الملح, و تتفق كذلك مع ما اشار اليه [27] عند دراسة عدة انواع من الطحالب التي تعيش تحت تأثير أجهاد العطش والمناطق الصحراوية.

رابعا: تأثير اضافة الفيتامينات (B12 , B6 , B1) للوسط الزرعي

اظهرت نتائج اضافة خليط من فيتامينات (B12 , B6 , B1) فروقا واضحة اذ سجل الطحلب *Asterococcus sp* 203.6 , 225.3 , 133.5) اما *S. dimorphus* فسجل 84.2 , 146.7 , 69.1 بينما *C.humicola* سجل 107.9 , 216.2 , 88.1 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) في الاوساط BG11 , Chu13 , Chu10 على التوالي، وكانت الفروق معنوية بين الطحالب المختبرة في الوسطين BG11 , Chu10 وللطحلب *S. dimorphus* في Chu13 فقط، وعندالمقارنة بين المعاملة والسيطرة نجد أن الفروق كانت معنوية بين الاوساط الثلاث للطحلبين *Asterococcus sp* و *C.humicola* وفي الوسط Chu10 فقط للطحلب *S. dimorphus* ، جدول (6).

جدول 6: متوسط المحتوى ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) للبروتينات الكلية للطحالب المختبرة عند اضافة الفيتامينات (B12,B6,B1) الى الاوساط الزرعية

المعاملة /النسبة المئوية	Control الخطأ القياسي ± المتوسط			Vitamin الخطأ القياسي ± المتوسط		
TP	Chu 10	Chu 13	BG11	Chu 10	Chu 13	BG11
Asterococcus sp	44.6 ±5.31A	109.6 ±0.19A	54.4 ±2.72A	133.5 ±5.09Aa	225.3 ±9.9a	203.6 ±7.0Aa
S. dimorphus	23.9 ±1.03A	78.8 ±1.60A	77.2 ±3.6A	69.1 ±0.60Aa	146.7 ±19.6A	84.2 ±4.5A
C.humicola	59.9 ±0.98A	185.9 ±1.2A	40.8 ±3.7A	88.1 ±0.95A	216.2 ±9.4	107.9 ±6.9A
LSD 0.05	8.74	3.57	9.30	8.28	39.99	17.26

وبمتابعة نتائج تقدير النسبة المئوية للبروتينات الكلية نجد ان الطحلب *Asterococcus sp* سجل 39.4 , 51.1 , 49.0 % امـــا *S. dimorphus* 17.4 , 28.9 , 25.6 % و *C.humicola* سجل 21.9 , 40.3 , 28.5 % في الاوساط BG11 , Chu13 , Chu10 على التوالي، وكانت الفروق معنوية بين النسب المئوية في الوسطين Chu10 , Chu13 للطحالب الثلاثة المختبرة، وفي الطحلب *Asterococcus sp* في الوسط BG11 فقط، اما عند المقارنة بين السيطرة والمعاملة وجدت فروق معنوية في المعاملات الثلاث في للطحلب *Asterococcus sp* فقط ، بيمنا سجلت فروق معنوية عند الوسطين BG11 , Chu13 بعد المعاملة بالفيتامينات للطحلب *C.humicola* جدول (7).

جدول 7: متوسط النسبة المئوية للبروتينات الكلية للطحالب المختبرة عند اضافة الفيتامينات الى الاوساط الزرعية

المعاملة النسبة المئوية	Control الخطأ القياسي ± المتوسط			Vitamin الخطأ القياسي ± المتوسط		
TP	Chu 10	Chu 13	BG11	Chu 10	Chu 13	BG11
Asterococcus sp	18.6 ±2.22	19.5 ±0.9A	19.5 ±0.9A	39.4 ±1.5Aa	51.1 ±2.25Aa	49.0 ±1.69Aa
S. dimorphus	9.0 ±0.39A	17.2 ±0.3A	27.6 ±1.3A	17.4 ±0.15Aa	28.9 ±3.87A	25.6 ±1.39
C.humicola	21.6 ±0.35	35.2 ±0.2A	12.3 ±1.1A	21.9 ±0.41A	40.3 ±1.76Aa	28.5 ±1.83a
LSD 0.05	3.63	1.68	3.14	2.42	7.64	4.53

هذه النتائج تشير الى ان اعلى قيمة للبروتينات الكلية بعد اضافة الفيتامينات سجلت عند الطحلب *Asterococcus sp* في الوسط Chu13 وبلغت 225.3 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) اما اقل قيمة تحت تاثير الفيتامينات فقد سجلت عند الطحلب *S. dimorphus* عند الوسط Chu10 وبلغت 69.1 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) جدول (6) . كما سجلت اعلى نسبة مئوية للبروتينات الكلية عند *Asterococcus* sp. في الوسط Ch13 وبلغت 51.1% واقل نسبة مئوية عند Chu10 للطحلب *S. dimorphus* وبلغت 17.42% جدول (7) . ومن نتائج الدراسة الحالية نلاحظ ارتفاعا معنويا في البروتينات الكلية عند اضافة الفيتامينات الى الاوساط الزرعية اذ بلغت اعلى كمية بروتينات كلية 225 ملغم.غم$^{-1}$ والتي تمثل 51% من الكتلة الحيوية المنتجة للطحلب *Asterococcus* sp عند تنميته في الوسط Chu13 المضاف اليه الفيتامينات . اما اقل كمية منها فسجلت عند *S.dimorphus* بعد تنميته في الوسط Chu10 المضاف اليه الفيتامينات وبلغت 69.1 ملغم.غم$^{-1}$ وبنسبة 17.4% وهي ثلاث اضعاف ما سجل في سيطرتها وذلك يعود الى ان الفيتامينات تعمل كمساعد انزيمي (Co-factor) في العديد من تفاعلات بناء الاحماض الامينية كالترجمة والمثيلة والاكسدة في الطحالب المختلفة [30,29,9]

خامسا: تأثير تغير سرعة التيار للوسط الزرعي

أظهرت نتائج تغيير سرعة التيار ان الطحلب قد *Asterococcus* sp. سجل 171.6, 294.7 اما *S. dimorphus* فسجل 127.0 , 46.5 أما *C.humicola* فسجل 145.2 , 214.3 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) عند سرعة تيار 850,400 لتر.ساعة$^{-1}$ على التوالي . والملاحظ أن اعلى كمية للبروتينات الكلية كانت في الطحلب *Asterococcus* sp.عند معاملة الوسط بالسرعة 400 لتر. ساعة$^{-1}$، وبلغت 294.7 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف) واقل قيمة لها عند الطحلب *S. dimorphus* وكانت 46.5 ملغم.غم$^{-1}$ (وزن جاف)، الفروق كانت معنوية بين الطحالب الثلاث في سرعتي التيار المختبرة (جدول 8).

جدول 8: متوسط محتوى البروتينات الكلية للطحالب المختبرة (ملغم. غم$^{-1}$) عند تغير سرعة تيار الماء في الاوساط الزرعية.

المعاملة	Control الخطأ القياسي ± المتوسط	Current Speed الخطأ القياسي ± المتوسط	
TP	Chu 13	400لتر /ساعة	850 لتر/ساعة
Asterococcus sp	109.6 ±0.20A	294.7 ±21.06 a A	171.6 ±6.89 a A
S. dimorphus	78.8 ±1.60A	46.5 ±9.99 aA	127 ±6.62 a A
C.humicola	185.9 ±1.55A	214.3 ±9.53 aA	145.2 ±1.85 A
LSD 0.05	3.56	39.96	14.82

تتوافق النتائج كذلك مع النسبة المئوية للبروتينات الكلية، اذ كانت اعلى نسبة لها 40.7 % للطحلب *Asterococcus sp* واقل نسبة في *S. dimorphus* وسجلت 9.1 %، كانت الفروق معنوية بين الطحالب الثلاث المختبرة في سرعتي التيار 850 400 ,لتر.ساعة$^{-1}$،وعند المقارنة بين السيطرة والمعاملتين كانت الفروق معنوية عند الطحلبين *Asterococcus sp*, *S.dimorpus* في كلا السرعتين المختبرة بينما كانت معنوية عند 850 لتر.ساعة$^{-1}$ فقط في الطحلب *C.humicola*.(جدول 9) .

جدول 9: متوسط النسبة المئوية للبروتينات الكلية للطحالب المختبرةعند تغير سرعة تيار الماء في الاوساط الزرعية.

المعاملة	Control الخطأ القياسي ± المتوسط	Current Speed الخطأ القياسي ± المتوسط	
TP	Chu 13	400لتر /ساعة	850 لتر/ساعة
Asterococcus sp	19.5 ±0.97 A	40.7 ±2.91 A a	31.8 ±1.27 A a
S. dimorphus	17.2 ±0.35 A	9.1 ±1.96 A a	29.2 ±1.38 a
C.humicola	35.2 ±0.22 A	36.9 ±1.64 A	28.4 ±0.36 a
LSD 0.05	1.68	6.15	3.05

يظهر من النتائج ان اعلى انتاج للبروتينات الكلية عند المقارنة بين جميع المعاملات والسيطرة سجل في الطحلب *Asterococcus sp* عند المعاملة بسرعة تيار 400 لتر. ساعة$^{-1}$ وكانت 294.7 ملغم.غم$^{-1}$ وهي تمثل 40.7%، أما اقل قيمة سجلت في الطحلب *S. dimorphus* عند سرعة 400 لتر.ساعة$^{-1}$ وبلغت 46.5 ملغم.لتر$^{-1}$ والتي تمثل 9.1 %. وهذه النتائج تشير الى ارتفاع معنوي في كمية البروتينات الكلية في السرعتين 400 و 850 لتر.ساعة$^{-1}$ فيي الطحلبين *S.dimorphus* , *Asterococcus* sp وفي السرعة 400 لتر.ساعة$^{-1}$ في الطحلب *C.humicola*، في حين سجلت النسبة المئوية للبروتينات الكلية ارتفاعا معنويا في الطحلب *Asterococcus* sp في السرعتين 400 و 850 لتر.ساعة$^{-1}$. بينما كان الارتفاع معنويا في 850 لتر.ساعة$^{-1}$ في الطحلب *S.dimorphus* وسجلت نقصا معنويا في الطحلب *S.dimorphus* في سرعة 400 لتر.ساعة$^{-1}$ وفي سرعة 850 لتر.ساعة$^{-1}$ عند الطحلب *C.humicola* . جدول (8, 9) وهذا يتفق مع اكده الباحثان [[31 اللذان وجدا ان الطحلب *D.primolects* سجل زيادة في معدل البروتينات الكلية عن زيادة السرعة في التجربة التي استمرت 8 ايام، وبلغت نسبة الزيادة في معدلات الاحماض الدهنية والبروتينات 48-35% على الترتيب، كذلك تتماشى هذه الاستنتاجات مع ما ذكره [32] من ان استخدام تقنية electro-extract total cytoplasmic proteins من الطحالب المجهرية (*Nannochloropsis salina*, *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis*.) أدت الى زيادة في كمية البروتين الكلي نتيجة لزيادة حجم الخلايا، كما تتفق النتائج مع الباحثون [33,26] من أن ادخال التقنيات المختلفة لزيادة الكتلة الحيوية للطحالب سوف يدعم عملية انتاج الطاقة الحيوية متعددة الاغراض والتي سوف تسهم بشكل كبير في الاستقرار الاقتصادي والتنمية المستدامة والحفاظ على موارد البيئة الطبيعية وخاصة الغطاء النباتي والاستفادة القصوى في انتاج الوقود الحيوي.

References

[1] F.M. Hassan, I. M. Alsalman and H.T. Abdulamer, "Qualitative and quantitative study of phytoplankton in litin ecosystem, Iraq," Mesopotamia Environ, Juor. ,2 (1): 46-63, 2015.

[2] العكيلي، ثائر محمد ابراهيم، "محاولة تحفيز بعض الطحالب المعزولة محليا لانتاج الوقود الحيوي", أطروحة دكتوراه مقدمة لقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم، جامعة بغداد – العراق, 2016.

[3] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae," Biotechnol Adv 25, 294–306, 2007.

[4] A. Juneja, R.M. Ceballos and G.S. Murthy, "Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production," A Review. Energies.6, 4607-4638, 2013.

[5] O. Savchenko, J. Xing, X. Yang Q. and Gu, "Algal Cell Response to Pulsed Waved Stimulation and Its Application to Increase Algal Lipid Production," Sci, Rep. 7: 4 2003, 2017.

[6] A. Talebi, M. Tohidfar, A. Baharuddin, S. Mahsa, D. Mousavi and M. Tabatabae, "Biochemical Modulation of Lipid Pathway in Microalgae *Dunaliella sp*. for Biodiesel Production," Bio-Med Resea, ID 597198, 1:12, 2015.

[7] S.P. Cuellar-Bermudez, "Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins," Microb Biotechnol 8, 190 –209, 10.1111/1751-7915.12167, 2015.

[8] العكيلي، ثائر محمد ابراهيم ، السلمان، ابراهيم مهدي, "تحفيز معدلات النمو وزمن التضاعف للطحلب الاخضر *Scenedesmus dimorpha* باستعمال أوساط زرعية مختلفة", مجلة جامعة ديالى، - جامعة ديالى – العراق, 2016.

[9] السلمان، ابراهيم مهدي ، العكيلي، ثائر محمد ابراهيم , " تأثير المعاملة بفيتامينات (B1,B6,B12) في تحفيز الدهون الكلية والاحماض الدهنية في ثلاثة اجناس من الطحالب المعزولة محلياً ", مؤتمر الوراثة والبيئة العلمي الولي الرابع 23-30 تموز ، م 4(1): 77-87، جمهورية مصر العربية, 2016.

[10] السلمان، ابراهيم مهدي ، العكيلي، ثائر محمد ابراهيم," تأثير اجهاد النتروجين وكلوريد الصوديوم في انتاجية بعض الاحماض الدهنية للطحلب الاخضر *Chlorococcum humicola* "، مجلة علوم بغداد، 13(4) ، كلية العلوم للبنات – جامعة بغداد – العراق,2017 .

[11] النهاوندي، حمُال, "تصنيع البروتين من عجائب البرمجيات في الخلايا". علوم وتكنولوجيا. 2014, .http://www.net/news/scienceandtechnology/2014/7/8.

[12] D.J. Murphy, "The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms," Progress in Lipid Research 40(5), 325–438, 2001.

[13] S. Mahboob, A. Rauf, M. Ashraf and K.A. Al- Ghanim, "High-density growth and crude protein productivity of a thermotolerant *Chlorella vulgaris*: Production kinetics and thermodynamics," Aquacul, Internat,(3). 10499-011-9477-1, 2011.

[14] S. Berteotti, M. Ballottri and R. Bassi, "Increased biomass productivity in green algae by tuning non-photochemical quenching," Scientific Repots 6, Views: 6,381, 2016.

[15] L. Provasoli and F. Carlucci, "Vitamins and growth regulators," In: stewart, W. D. P., ed. Algal physiology and biochemistry, Blackwell scientific, UK, 741-787, 1974.

[16] V.G. Lopes, C.C. Garcia, G.A. Ferande, G.S. Basto, Y. Chisti, M.F. Sevilla, "Protein measurmends of alagl and cyanobactrial biomass," Bioresurce Technology 101:7587-7591, 2010.

[17] D.J. Murphy, R.T. Prinsley "Interaction of triton x100 with the plgment portion complex of photo synthetic membranes," Biochem. J., (229):31-37, 1985.

[18] W.J. Hurkman, C.K. Tanaka, "Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two dimensional gel electro phoresis," Plant physiol. (81): 802-806, 1986.

[19] M.B. Less and S. Paxman, "Modification of the Lowry procedure for the analysis of proteolipid protein," Anal. Biochem., (47):184-192, 1972.

[20] R.A. Dulley, P.A. Grieve, "A simple technique for eliminating interference by detergents in the Lowry method of protein determination," Anal. Chem. (64):136-141, 1975.

[21] J.M. Lv, L.H. Cheng, X.H. Xu, L. Zhang and H.L. Chen, "Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions," Bioreso. Technol. 101(17): 6797-6804, 2010.

[22] X. Miao and Q.Y. Wu, "Biodiesel Production from Heterotrophic Microalgal Oil," Biores. Technol. 97: 841-846, 2006.

[23] Y.B. Mutlu, O. Isik, L. Uslu, Koc, Kemal and Y. Durmaz, "The effect of nitrogen and phosphorus deficiencies and nitrite addition on the lipid content of *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae)," Afr.J. Biotechnol. 10(3):453-456, 2011.

[24] I.F. Al-juboori, "Lipid production from some local algae at different cultivation conditions," M.Sci. College of Science for Women, Uni. of Baghdad, 2012.

[25] A. Richmond, "Handbook of microalgal culture," Biotechnology and applied phycology. Blackewll Science Ltd,:1-545. , 2004.

[26] P. Vasudevan and M. Briggs, "Biodiesel production-current state of the art and challenges," Biotechnology, 35: 421-430, 2008.

[27] A. Kirrolia, N. Bishnoi and R. Singh, "Effect of shaking in cubation temperature, salinity and mediacomposition on growth trats of green microalgae *chlorococcum* sp," J.Algal Biomass Utln . 3(3):46-53. , 2012.

[28]D.H. Shilpkar and S. Sundaramoorthy, "Growth pattern of some desertalal isolates and selection of media"," J. Adv. Dev. Res. (1):29-31, 2010.

[29] S.A. Desouky, "Alleviation the toxicity effect of lead acetate by riboflivinon grow the parametevs, photo synthesis, respiration, carbohydrates proteins, free amino acids and prolin of *Chlorella vulgaris* beier cultures," Al-Azhar bull. Sci. Proceeding of the 5_{th} . Int. Sci. Cont., 277-279, 2003.

[30] S.A. Desouky, "Response of vitamins on the growth criteria and some metabolic activities of stressed *Scenedesmus obliquus* cultures," Aust. J. Basic&Appl. Sci., 5(6): 89-99, 2011.

[31] N. Gibbs M. and Duffus, "Natural protoplast *Dunalilla* as source of protein," Appl. Enriron . Microbiol . (31):602-604, 1976.

[32] M. Coustets, V. Durigneux, J. Hérault, B. Schoefs, V. Blanckaert and J. Garnier, "Optimization of protein electroextraction from microalgae by a flow process," Bioelectrochemistry103:74–81, 2015.

[33] I.M. Laurens, J.D. Glasser, "A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts," Algal Research.24, Part A: 261–264, 2017.