قياس النمو وفعالية البيروكسيديز والمحتوى البروتيني لعزلة محلية من طحلب *Chlorella vulgare*

يوسف عبدالجبار الشاهري[1] ومحمد بشير[1] وحميد سلمان[2]

[1] *قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق*

[2] *قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، الموصل ، العراق*

(تاريخ الاستلام: ١٥ / ١ /٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٢٩ / ٤ / ٢٠٠٨)

الملخص:

تم في هذا البحث دراسة تأثير تراكيز مختلفة من المصدر النيتروجيني على المحتوى البروتيني وفاعلية انزيم البيروكسيديز لعزلة محلية من طحلب *chlorella vulgare* والتي تم الحصول عليها من البيئة المحلية لمدينة الموصل . وتحقق أعلى نمو (٠,٩٥١) ككثافة بصرية لطحلب*C. vulgare* عند اليوم الخامس عشر من التحضين في حين أن المحتوى البروتيني بلغ أقصاه (٠,٣٧٩ غم/لتر) في اليوم الرابع عشر من التحضين . كفاءة إنزيم البيروكسيديز ارتفعت مع زيادة فترة التحضين (٠,٣٨٨ وحدة / ملغم بروتين) حتى اليوم الرابع عشر من التحضين. الاس الهيدروجيني النهائي كان مرتفعاً عن الاس الهيدروجيني الأولي طوال فترة التحضين.

أقصى نمو للطحلب (٠,٩٢) ككثافة بصرية تحقق عندما كان تركيز النيتروجين في الوسط الغذائي ٠,٠٦% وكذلك هو الحال مع الفعالية النوعية لإنزيم البيروكسيديز (٠,٣٣٤ وحدة / ملغم بروتين) . أما المحتوى البروتيني فقد ازداد مع زيادة تركيز النيتروجين والى الحد ٠,٢% . الاس الهيدروجيني النهائي كان مرتفعاً عن الاس الهيدروجيني الأولي ولجميع التراكيز المستخدمة من النيتروجين .

الكلمات الدالة : طحلب ، *Chorella vulgare* ، البيروكسيديز

المقدمة:

تعاني الدراسات الطحلبية في العراق من نقص كبير وخاصة في النواحي الفسلجية والبيوتكنولوجية ومن حيث إمكانية الحصول على عزلات نقية للطحالب المهمة من البيئة المحلية، وتتمثل هذه الدراسات بإطار فارغ يجب ملؤه بالمعلومات من قبل الباحثين المحليين[١]، ونظراً لما تتمتع به الطحالب من خصائص فهنالك اهتمام عالمي واسع في دراستها والتعرف عليها من جوانب مختلفة، فعلى الرغم من أثارها السلبية المختلفة على البيئة والكائنات المائية المختلفة وفي تلوث محطات تصفية مياه الشرب وعلى صحة الإنسان[٢] فأن للطحالب فوائد عديدة مختلفة، إذ تعد الطحالب الدقيقة مصدراً لإنتاج العديد من المواد المهمة اقتصادياً الأمر الذي شجع على زراعتها وإنتاج الكتلة الحيوية. فقد استخدمت لإنتاج المضادات الحياتية ومواد دوائية أخرى ومستحضرات صناعية مختلفة[٣] فضلاً عن أعلاف الحيوانات وإضافات غذائية لغذاء الإنسان[٤] كما أنها سواء كانت في البيئة الطبيعية أم في المزارع المختبرية فأنها تطرح إلى محيطها العديد من المواد مثل سكريات متعددة وبسيطة Poly and simple sugars، كحولات وبعضها تفرز مواد ذات تأثير قاتل للبكتريا أو مثبطة لنمو البكتريا [٥] فضلاً عن ذلك فأن لبعض الطحالب القابلية على إفراز إنزيمات متنوعة[٦،٧]. يعد إنزيم البيروكسيديز من الإنزيمات الواسعة الانتشار في المملكة النباتية عموماً ، وقد عزل من العديد من النباتات الراقية[٨]، ومن النباتات الواطئة (الطحالب)[٩]. ويشير الانتشار الواسع للإنزيم إلى امتلاكه أهمية بيولوجية كبيرة للكثير من الوظائف الفسلجية[١٠] إذ انه يلعب دوراً مهماً داخل الخلية في تحليل H_2O_2 المتكون في الخلية الذي إذا ارتفعت نسبته يكون ساماً لها. ويكون للبيروكسيديز دور مهم في تنظيم نمو الخلية[١١]. وان لتركيز المصدر النيتروجيني في الوسط دور مهم في نشاط وفعالية الإنزيم.

يعد طحلب الـ *chlorella* التابع إلى قسم الطحالب الخضراء chlorophycophyta احد الطحالب ذات الاهمية الكبيرة. ويتميز هذا الطحلب بكونه احادي الخلية غير متحرك كروي الشكل يتكاثر بوساطة السبورات الذاتية وله القدرة على التكاثر والانقسام بصورة سريعة. ويعتبر هذا الجنس من الطحالب المهمة جداً في الدراسات الفسلجية والبيوتكنولوجية المتعلقة بالطحالب[١٢]. إذ أجريت على هذا الطحلب دراسات لا حصر لها في مختلف دول العالم منها المتعلق بإنتاج مركبات طبية أو إنتاج فيتامينات وإنتاج مضادات حياتية[١٣] أو إنتاج بروتين أحادي الخلية نظراً للمحتوى البروتيني العالي في خلايا هذا الطحلب[١٤] أو انتاج مواد ايضية عن طريق عملية التخمر (Fermentation)[١٥] أو دراسات ذات نواحي فسلجية او حتى دراسة العلاقة التعايشية بين طحلب الـ *chlorella* وبعض الكائنات المائية[١٦]. إلا أنه عند مراجعة الدراسات المنشورة عن هذا الطحلب في العراق نلاحظ انها محدودة وقليلة جداً[١٧] .

لذا كان الهدف من هذه الدراسة الحصول على مزرعة نقية من طحلب *chlorella vulgare* ودراسة تأثير فترات الحضانة والتراكيز المختلفة من المصدر النيتروجيني على النمو اليومي والمحتوى البروتيني ومن جانب اخر تقدير الفعالية النوعية لإنزيم البيروكسيديز. لتكون هذه الدراسة إضافة للدراسات القليلة الأخرى في هذا الخصوص داخل القطر.

المواد وطرائق العمل

الكائن المستخدم

في هذه الدراسة تم استخدام عزلة محلية من الطحلب *chlorella vulgare* عزلت من البيئة المحلية لمدينة الموصل في محطة الشلالات.

حفظ الكائن المجهري

تم حفظ الطحلب المستخدم في الدراسة وذلك بتنمية على وسط Ch10 في أطباق بتري ثم حفظه في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ مئوية، وتم تنشيط الطحلب وذلك بإعادة زراعته كل أسبوع على وسط Ch10 وحضن عند درجة حرارة ٢٨° م.

الوسط الزراعي المستخدم

زرعت العينات في الوسط الزراعي Ch10 والذي يتكون من المواد التالية وبالتراكيز إزاء كل منها غم / لتر[١٨]. $Ca(NO_3)_2$, 0.04 – K_2HPO_4 , 0.01 – $MgSO_4 . 7H_2O$, 0.025 – Na_2CO_3, 0.02 – Na_2SiO_3, 0.025 – $FeCl_2$, 0.02. وبعد التحضير يضبط الاس الهيدروجيني للوسط بين (٧,٦–٧,٨) باستخدام محلول $NaHCO_3$ و HCl ويعقم عند ١٢١° م وضغط ا جو بجهاز المعقام لمدة ٢٠ دقيقة أما الوسط Ch10 الصلب فيحضر بإضافةAgar بنسبة 1 % الى الوسط Ch10 السائل وبعد التعقيم يصب الوسط في أطباق بتري وتستخدم لاحقاً في عزل وتنمية الطحلب المطلوب الدراسة.

طريقة العزل

تم زرع العينات تحت ظروف معقمة على وسط Ch10 الصلب في أطباق بتري إذ نشرت قطرات قليلة من عينات الماء أو كمية قليلة من التربة أو قطع صغيرة من سطح الصخور التي تم جلبها من المحطة المدروسة ثم تم تحضين الأطباق في حاضنة تحت ظروف إضاءة مستمرة ٢٥٠٠ لوكس ودرجة حرارة ٢٨° م لمدة ٤–٦ أسابيع بعدها تم ملاحظة مستعمرات الطحالب النامية بالعين المجردة ثم يتم فحصها مجهرياً لتحديد أنواع المستعمرات النامية وتعليمها. وتم نقل كل مستعمرة على حدة إلى طبق بتري حاوي على وسط Ch10 الصلب لتنمو بمفردها للحصول على مزرعة نقية وتترك لمدة أربعة أسابيع لكي تنمو ، بعدها يتم التأكد من إن المزارع نقية وإذا كان هناك أكثر من نوع ينقل كل نوع إلى طبق بتري مستقل لكي يتم ضمان الحصول على مزرعة نقية من طحلب *chlorella vulgare* وبعد ملاحظة النمو بشكل جيد يتم نقل المزرعة من طبق بتري إلى وسط Ch10 السائل المعقم في دوارق زجاجية حجم ٢٥٠ مل حاوية على ١٠٠ مل من الوسط Ch10 بأخذ كمية مناسبة من المزرعة وإضافتها إلى الوسط السائل تحت ظروف التعقيم حيث توضع الدوارق الزجاجية الحاوية على وسط Ch10 السائل في حاضنة هزاز ١٠٠ دورة/دقيقة وإضاءة ٢٥٠٠ لوكس وتحت درجة حرارة ٢٨° م لحين الحصول على النمو المناسب [١٩]. وبهذه الطريقة تم الحصول على لقاح الطحلب والذي أُستخدم في التجارب اللاحقة من خلال تلقيح الدوارق الزجاجية سعة ٢٥٠ مل والحاوية على ١٠٠ مل من وسط Ch10 السائل المعقم وبنسبة ٥ % من اللقاح لكل دورق. وتم إجراء التجارب كافة بمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة.

طرائق التحليل

قياس معدل النمو لطحلب *chlorella vulgare*

زرعت العزلة المحلية للطحلب بأخذ (٥ مل) منها وزرعها في دوارق حجميه سعة (٢٥٠ مل) حاوية على الوسط الزراعي Ch10 السائل بحجم (٩٥ مل) وحضنت بدرجة حرارة (٢٨° م) وبشدة إضاءة (٢٥٠٠) لوكس لفترة ١٢:١٢ ضوء:ظلام داخل الحاضنة الهزازة وبسرعة ١٠٠ دورة /دقيقة. وتم قياس النمو والاس الهيدروجيني النهائي مباشرة لكل دورق لمدة (١٧) يوماً من تاريخ زراعتها إذ تم اخذ ٢ مل من المزروع يومياً وبقياس الكثافة البصرية optical density على طول موجي ٤٣٦ نانوميتر مستخدماً جهاز المطياف الضوئي (Spectro Sc. Labomed, Inc. USA)[٢٠].

تقدير المحتوى البروتيني الكلي لطحلب *chlorella vulgare*

تم تقدير المحتوى البروتيني الكلي بالاعتماد على طريقة لاوري المحورة[٢١] واستخدم البومين مصل البقر Bovine serum albumin بوصفه محلولاً قياسياً لعمل المنحني القياسي لتقدير البروتين.

قياس فعالية إنزيم البيروكسيديز

تم قياس فعالية إنزيم البيروكسيديز بحسب ما وصف من قبل kim and yoo[٢٢]. يتكون محلول قياس فعالية إنزيم البيروكسيديز من ١ مل لكل من:

(0.1 M of Sod. Fi buffer , pH = 6.0) .
(15 mM of Guaiacol) (3mM H_2O_2)

ويتم قياس فعالية الإنزيم بإضافة (٠,٠٥ مليلتر) من مستخلص الإنزيم إلى محلول قياس فعالية الإنزيم عند درجة حرارة ٣٠° م وعند الطول الموجي ٤٧٠ نانوميتر. يحضر كفء الكواشف (Blank) باستخدام الماء المقطر. وحسبت كمية المادة الناتجة (Tetraguaiacol) باستخدام قانون بير

$$A = E \times L \times C$$

إذ أن معامل الامتصاص المولاري (E_{470}) = ٢٦,٦ ملي مولار$^{-١}$. سم$^{-١}$ وقدرت الفعالية النوعية للإنزيم (specific activity) على أساس كمية المادة الناتجة (Tetraguaiacol) في الدقيقة الواحدة لكل (١ ملغرام) من البروتين.

النتائج والمناقشة

تشخيص عزلة الطحلب *chlorella vulgare*

عزلت المستعمرات التي تمتاز بلونها الأخضر ، إذ إن الطحلب *chlorella* يتميز بلونه الأخضر البراق. تم فحص الطحلب مجهرياً بوساطة الميكروسكوب المركب ، اذ تم التأكد من إن شكل الطحلب كروي وقد يتواجد بصورة مفردة او تجمعات غير منتظمة. جدار الخلية واضح رقيق والنواة مطمورة في السايتوبلازم. البلاستيدة كأسية الشكل تشغل الجزء الاكبر من الجلد وفي الأحيان تكون فاقدة للبايرينويد Pyrenoid . الخلية ذات قطر يتراوح بين ٥ – 8.5 مايكرون. تكاثر هذا الطحلب بوساطة تكوين السبورات الذاتية العديمة الحركة إذ تتكون من ٤–٨ خلايا بنوية داخل الخلية الأم [٢٣]. وبالاعتماد على البيانات أعلاه يمكن الجزم بأن العزلة المستحصل عليها هي عزلة حقيقية لطحلب *chlorella vulgare* صورة (١).

تأثير فترات التحضين المختلفة على نمو الطحلب وفعالية إنزيم البيروكسيديز والمحتوى البروتيني

بينت نتائج تأثير فترات التحضين المختلفة على نمو الطحلب (شكل ١). إن هناك زيادة واضحة في نمو الطحلب مع زيادة فترة التحضين، إذ تم الحصول على أعلى إنتاجية من الطحلب (٠,٨٨٣) ككثافة بصرية بعد خمسة عشر يوماً من التحضين. ثم انخفض نمو الطحلب عند تجاوز هذه المدة، ويعزى ذلك إلى نفاذ بعض المغذيات الضرورية من الوسط الغذائي وهذا مالا حظه علي[١١] عند دراسة تأثير فترات التحضين المختلفة على نمو طحلب *Anabaena* اذ تحقق أعلى نمو عند اليوم الخامس عشر من التحضين. واتفقت هذه النتائج مع ما أثبته الجبوري[١٩] عند تنميته بعض الطحالب الخضر المزرقة. وبينت النتائج (جدول ١) إن الفعالية النوعية لأنزيم البيروكسيديز ازدادت.

جدول (١) تأثير فترات الحضانة المختلفة على المحتوى البروتيني والفعالية النوعية لأنزيم البيروكسيديز

فترة الحضانة (اليوم)	الفعالية النوعية للأنزيم وحدة/ملغم بروتين	المحتوى البروتيني غم/لتر	pH النهائي
٣	٠,١١٢٧ (٠,٠٠)	٠,١٩٢ (٠,٠٧)	٨,٧٩ (١,٢٦)
٥	٠,١٦٦٢ (٠,٢٨)	٠,٢٥١ (٠,٢٢)	٨,٩٢ (٠,٦٤)
٧	٠,١٧٣٨ (٠,٥٦)	٠,٢٧٧ (٠,٣٠)	٩,٠٢ (٠,٩٠)
٩	٠,٢٣١٥ (٠,١٤)	٠,٣٠٧ (٠,٠٠)	٩,١٤ (٠,٦٦)
١١	٠,٣٨٠٠ (٠,٤٠)	٠,٣١٩ (١,٨٠)	٩,٢٠ (٠,٧٠)
١٤	٠,٣٨٨٢ (٠,٢٨)	٠,٣٧٩ (١,٢٢)	٩,٢٨ (٠,٤٦)
١٧	٠,٣٨٢٢ (٠,٠٧)	٠,٣٦٦ (٠,٥٦)	٩,٢٠ (٠,١٠)

كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات ، أما النتائج بين القوسين تمثل الانحراف المعياري (S.D).

مع زيادة فترة التحضين، إذ وصلت قيمتها (٠,٣٨٨٢) وحدة / ملغم من البروتين عند اليوم الرابع عشر من التحضين ثم انخفضت الفعالية للأنزيم مع زيادة فترة التحضين. يعود السبب في ذلك إلى إن إنزيم البيروكسيديز يزداد نشاطه بزيادة اعداد خلايا الطحلب وكذلك بزيادة عمر الخلايا النباتية إلى حد معين، إذ إن الوظيفة الرئيسة لهذا الإنزيم في الخلية هو الحفاظ على توازن H_2O_2 الموجود داخل الخلية بصورة طبيعية لأن ارتفاع تركيزه داخل الخلية مع التقديم يؤدي إلى تلف الخلية[٢٤] وهذا أيضا مالا حظه الكاتب[٨]عند قياس فعالية إنزيم البيروكسيديز لبعض النباتات الراقية. إذ إن فعالية الإنزيم تزداد مع زيادة عمر النبات.

المحتوى البروتيني لخلايا طحلب الـ *chlorella* (جدول (١)) ازداد مع زيادة فترة التحضين إذ تم الحصول على (٠,٣٧٩ غم/لتر) عند اليوم الرابع عشر من التحضين ثم انخفض المحتوى البروتيني (٠,٣٦٦ غم/لتر) مع زيادة فترة التحضين الى حد اليوم السادس عشر من التحضين، الأمر الذي يعزى الى نفاذ بعض المغذيات الضرورية من الوسط الغذائي، وهذه النتيجة تتوافق مع ما توصل إليه كل من الجبوري[١٩] وعلي[١١] عند دراستهم المحتوى البروتيني لبعض الطحالب الخضر المزرقة. في حين بين كل من Hantonch (2003) و Hreeb إن طحلب *Chlorella* يتميز بمحتواه العالي من البروتين، إذ تقدر النسبة المئوية للبروتين في خلاياه بـ ٦١% من الوزن الجاف.

إن الاس الهيدروجيني النهائي (جدول ١) ارتفع بشكل واضح عن الاس الهيدروجيني الأولي (٦-٧) مع زيادة فترة التحضين، إذ بلغت قيمة الاس الهيدروجيني النهائي (٩,٢٨) عند اليوم الرابع عشر من التحضين وبعدها وصل إلى (٩,٢٠) في اليوم السابع عشر من التحضين.

ويعود ذلك إلى إن الاس الهيدروجيني يتأثر بصورة مباشرة بعملية التركيب الضوئي والتي تستهلك CO_2 ، إذ إن استمرار استهلاك CO_2 ولاسيما في حالة النمو المرتفع للطحلب يؤدي إلى زيادة تكوين المسببات القاعدية وإطلاقها كما في المعادلات الآتية:

$$2HCO_3 \Leftrightarrow CO_2 + CO_3^- + H_2O$$

$$CO_3 + H_2O \Leftrightarrow CO_2 + 2OH^-$$

ومع انخفاض معدل النمو نلاحظ انخفاض ايضاً في معدل ارتفاع الاس الهيدروجيني النهائي. وهذه النتيجة تتوافق مع ما أشار إليه الشاهري (١) و Edward and Cilia[٢٥] عند دراستهم تأثير الـ pH على نمو بعض الطحالب العصوية. وعلى ضوء هذه التجربة تم اختبار فترة التحضين (خمسة عشر يوماً) بوصفها أفضل مدة لنمو الطحلب.

تأثير التراكيز المختلفة من المصدر النيتروجيني على نمو الطحلب وفعالية إنزيم البيروكسيديز والمحتوى البروتيني

زرع الطحلب *C. vulgare* في وسط Ch10 المزود بتراكيز مختلفة من المصدر النيتروجيني نترات الكالسيوم (٠,٠٠ – ٠,٠٣ – ٠,٠٦ – ٠,٠٩ – ٠,١٢ – ٠,١٥ – ٠,٢٠% النتروجين).

وبينت النتائج (شكل ٢) إن أقصى نمو للطحلب تحقق (٠,٩٢١) ككثافة بصرية عندما كان تركيز النيتروجين في الوسط ٠,٠٦% ثم انخفض نمو الطحلب مع زيادة تركيز النيتروجين في الوسط. وأظهرت النتائج (جدول ٢) أن أقصى فعالية نوعية لأنزيم البيروكسيديز تحقق عندما كان تركيز النيتروجين في الوسط ٠,٠٦% ثم انخفضت فعالية الإنزيم مع زيادة تركيز النيتروجين في الوسط إذ إن فعالية الإنزيم توافقت مع نمو الطحلب وهذا يعود الى إن فعالية الإنزيم تزداد مع زيادة فعالية ونشاط وانقسام خلايا الطحلب. في حين إن التراكيز المرتفعة من المصدر النيتروجيني مثبطة لنمو الطحلب وهي مثبطة أيضا لفعالية الإنزيم. وقد اشارة كل من Ahamed and Hellabust [26] ان لنوع المصدر النيتروجيني وتركيزه تأثير على نمو طحلب *Chlorella protothecoides* strain 1 وفعالية الإنزيمات. ان المحتوى البروتيني لخلايا طحلب *ch. vulgare* ازدادت مع زيادة تركيز الـ N في الوسط الغذائي ، إذ بلغ تركيز المحتوى البروتيني ٠,٣٨١ غم/لتر عندما كان تركيز النيتروجين في الوسط الغذائي ٠,٢%. وهذا يعود أساسا إلى إن النيتروجين يعتبر عنصر مهم جداً في البناء الحيوي للبروتينات داخل الخلية. وقد بين Ahamed and Hellabust [26] . إن المحتوى البروتيني لخلايا طحلب *C. protothecoides* strain 1 تتأثر بقابلية الطحلب على اخذ المصدر النيتروجيني من الوسط .

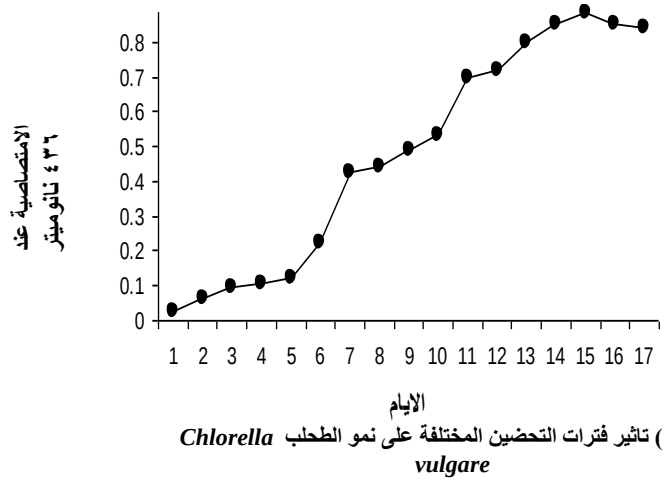
إن الاس الهيدروجيني النهائي ارتفع بشكل واضح عن الاس الهيدروجيني الاولي لجميع التراكيز المستخدمة من النيتروجين (جدول ٢). سجلت أعلى قيمة للاس الهيدروجيني النهائي عندما كان التركيز النيتروجيني في الوسط ٠,٠٦% ثم انخفض الارتفاع في الاس الهيدروجيني النهائي مع زيادة تركيز النيتروجين في الوسط إذ بلغت قيمة الاس الهيدروجيني ٨,١٠ عندما كان تركيز النيتروجيني ٠,٢%. يعود ذلك بالدرجة الرئيسة إلا أن الاس

الهيدروجيني للوسط يتأثر بدرجة كبيرة بنشاط الخلايا عند قيامها بعملية التركيب الضوئي مما يؤدي إلى ارتفاع قيمة الاس الهيدروجيني بينما عند انخفاض نمو الخلايا فهذا يعمل على التقليل من معدل الارتفاع في قيمة الـ pH النهائي. وفي الختام يمكن الاستدلال من ملاحظة النتائج المستحصل عليها في هذه الدراسة انه تم الحصول على عزلة محلية نقية من طحلب *chlorella vulgare* من البيئة المحلية لمدينة الموصل. تتميز هذه العزلة بمحتوى عالي من البروتين. وان لهذه العزلة القابلية على انتاج البيروكسيديز بكفاءة لا بأس بها ومن الممكن تحسين إنتاجية هذه العزلة من البروتين والأنزيم من خلال التحكم بمكونات الوسط الغذائي والظروف الزرعية.

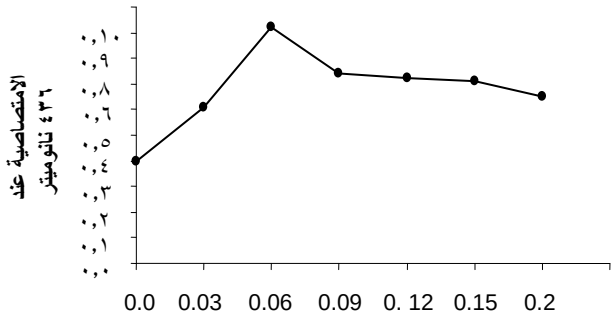
جدول (٢) تأثير التركيز المختلفة من النيتروجين على المحتوى البروتيني والفعالية النوعية لإنزيم البيروكسيديز

التركيز N%	الفعالية النوعية للأنزيم وحدة/ملغم بروتين	المحتوى البروتيني غم/لتر	الـ pH النهائي
٠,٠٠	٠,٢١٨١ (٠,٤٢)	٠,٢٢٥ (٠,٠٦)	٧,٥٢٠ (٠,٤٢)
٠,٠٣	٠,٢٨٥٥ (٠,٢٨)	٠,٢٥٧ (٠,٠٤)	٨,٥٣٠ (٠,١٤)
٠,٠٦	٠,٣٣٣٧ (٠,٠٣)	٠,٢٩٠ (٠,٠٢)	٨,٦٠٠ (١,٣٠)
٠,٠٩	٠,٢٠٣٣ (٠,٠٧)	٠,٣٣٢ (١,٠٧)	٨,٤٠٠ (٢,١٢)
٠,١٢	٠,١٣٥٧ (٠,٠١)	٠,٣٣٧ (٠,٠٢)	٨,٢١٦ (١,٠٠)
٠,١٥	٠,٠٩١١ (٠,١٤)	٠,٣٤٨ (٠,٢٨)	٨,١٠٠ (٠,٠٧)
٠,٢٠	٠,٠٧٠١ (٠,٠٠)	٠,٣٨١ (٠,٠٧)	٨,١٠٠ (٠,٠١)

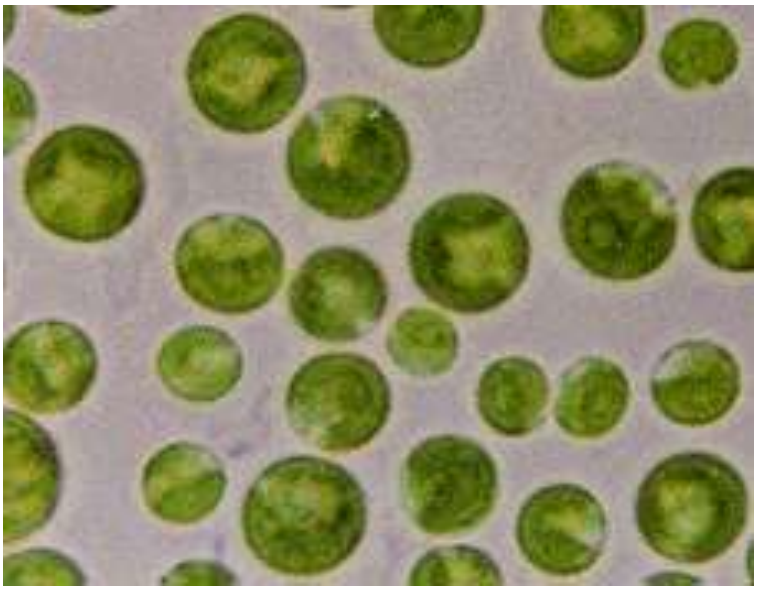
كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات ، أما النتائج بين القوسين تمثل الانحراف المعياري (S.D).

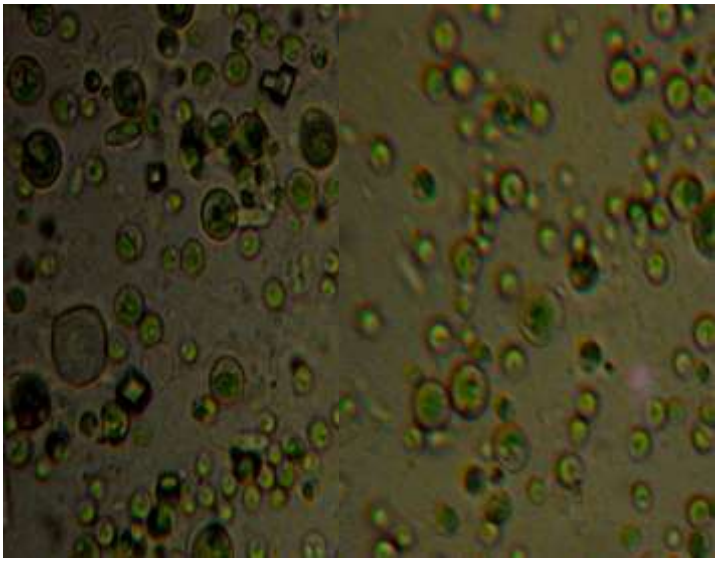


شكل (١) تاثير فترات التحضين المختلفة على نمو الطحلب *Chlorella vulgare*



شكل (٢) تاثير التراكيز المختلفة من المصدر النيتروجيني (نترات الكالسيوم) على نمو الطحلب *Chlorella vulgare*





صورة (١) الخلايا الخضرية لطحلب *Chorella vulgare*
x ٤٠ A
x ٤ B

المصادر:

1- Yosef J. Ismaeel Al-Shahrii. J.ED and Sci . (2008) . (In Press) .

٢- فائزة ، حسن ابراهيم محمود "تاثير الحصر على زيادة الطحالب في نهر دجلة وانعكاس ذلك على محطات التصفية في مدينة الموصل" ،رسالة ماجستير،، (٢٠٠١) ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق ،

3- Patterson, G.M. and Bolis . "Cyanophycin production axenic cultures of the cyanobacterium *scytonema ocellatum*. Nat. Toxinx. Newyork. Inc. vol. 2:280-285. 2006.

4- Grima, E; Fernandes, F.; Camacho, F. and Chisti, Y.P. J. Biotech .(1999) . 70:231-247.

5- Falquet, J. Anten technol . (1997) . 1:1-23 .

6- Fogg, E.; Stewat, W.D.;Fay, P. and Walsby, A.E. "The Blue Green Alga".(1973) . Academic press.

7- Takeda, T.; Yoshimura, K; Ishikawa, T.; Shigeoka, S. Citation: Biochem. (1998) . 80(4):295-301.

8- مرا، أسامة احمد الكاتب . "استخلاص وتنقية وتقدير فعالية انزيمي البيروكسيديز واليوريز في كالس نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris L.*" . رسالة ماجستير . جامعة الموصل . (١٩٩٩) . الموصل . العراق .

9- Mathias, H. and Thomas, C. G. J. of Experimental Biology . (2005) . 208:2157-2164 .

10- Rescigno, A.; Sanjust, E.; Curreli, N.; Padiglia, A and Floris, G. . Prep. Biochem . (1993) . 23:485-492.

١١- هالة ، علي ارشد . تأثير بعض المعادن الثقيلة على بعض الفعاليات الحيوية في اسيانوبكتريا *Anabaena oryzae* المثبتة للنتروجين الجوي . رسالة ماجستير . جامعة تكريت . تكريت . العراق .

١٢- بهرام ، خضر مولود . نضال، ادريس سليمان . توفيق، ابراهيم . الطحالب والاركيكونيات . (١٩٩٠) . مطبعة دار الحكمة . بغداد . العراق .

1٣- Hideo, T. Toru, M.; Yoko, K. Hirofumi, C., Yukari, I. Hideyo, I. and Masuo, N. Ecology reports. (2005) . 14:409-414 .

1٤- Nian, Lun . Bejing. (2002) . No.161. China .

1٥- Syrett, P. J. and Wong, H. Biochem. J. 89:308-315.

1٦- Wesley, O.P. ; Sotris, P.. North western Technological . Institule, Evanston. (1961).

17- Hantouch, A.A. and Hreeb, K.K. Marina Mesopotamica. (2003). Vol. 18:No. 1:1-8.

18- Blod, H.C.and Wynne, M.J. Introduction to The Algae Structure and Repoduction. 2nd ed . Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. New Jersey, USA.1985 .

19- علي ، صالح حسين الجبوري . دراسة حول تأثيربعض العوامل البيئية على السيانوبكتريا المثبتة للنتروجين المعزولة من منطقتي صلاح الدين وشقلاوة . رسالة ماجستير . جامعة صلاح الدين . اربيل . العراق .١٩٨٩ .

20- Gibson, C.E. and Foy. R. H. Br. Phycol. J. (1983) . 18:39-45 .

21- Schaeteral, G.R. and Pollack, J.K. Anal. Biochem. (1973) . 51:654-655.

22- Kim, Y.H. and Yoo, J.Y. Enzyme Microb. Technol. (1996) . 18:531-535 .

23- Prescott, G.W. Alga of the western Great Lakes Area. W.M.C.Brown. Co.Pub.Iowa. (1962) .

24- Shiu, C. and Lee, T. . J. of Experimental Botany . (2005). Vol. 56. No. 421: 2851-2865 .

25- Celia, Y. C. and Edward, G.D. Mar. Ecol. Prog .ser. (1994) . Vol. 109 : 83-94.

26- Ahamed, I. and Hellebust, J. Plant Physiol. (1990) . 94:944-949.

(Received 15 / 1 / 2008, Accepted 29 / 4 / 2008)

Abstract:

The study of the effect of different nitrogen concentrations on the protein content and peroxidase activity of a local isolate of the algae *Chorella vulgare* which obtained from local environment of Mosul city . Highest growth of *C.vulgare* . (0.951) as optical density was achieved after fifteen days of incubation . Protein content reached maximum (0.379) g/L after fourteen days of incubation . Peroxidase activity increased wite incubation period (0.388) unit / mg protein till the fourteeth day of incubation . Final pH was higher than initial pH through all the incubation periods .

Highest growth of the algae (0.92) as optical density was achieved when nitrogen concentration in the medium was (0.06 %) and the same picture was with peroxidase activity unit/mg protein . Protein content increased with increase of nitrogen concentration till 0.2 % .

Final pH was higher than initial pH with all nitrogen concentrations used , Growth, peroxidase activity and protein content of the local isolate of the algae *Chorella vulgare*