جامعة الموصل

كليّة التربيّة للعلوم الصرفة

التشخيص الجزيئي لبعض عزلات الطحالب المجهرية وفصل بعض المركبات الفينولية وصبغة البيتا-كاروتين منها ودراسة فعاليتها التثبيطية

أنفال زهير إبراهيم الحيالي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الاستاذ المساعد

الدكتورة مِرا أسامة أحمد الكاتب

1442هـ 2020م

الخلاصة

استخدمت طحالب السيانوبكتريا *Gloeocapsa* و*Phormidium* والطحالب الخضراء Ankistrodesmus و Chlorella للدراسة واجري التشخيص الجزيئي لطحلب السيانوبكتريا *Phormidium* والطحلب الاخضر *Ankistrodesmus* إذ أظهر طحلب السيانوبكتريا *Phormidium* نسبة تطابق 92% للجينوم مع طحلب السيانوبكتريا *Phormidium* sp. Ru5-34 أما فيما يخص الطحلب الأخضر *Ankistrodesmus* فقد تطابق بنسبة 88% للجينوم مع الطحلب الأخضر *Ankistrodesmus falcatus* ولقد استخدم للتنمية وسطين مختلفين Chu10 المُحَوَّر و EChu10 المُحَوَّر لفترة نمو سبعة عشر يوم لجميع الطحالب ماعدا طحلب *Phormidium* فكان النمو لليوم العشرين ولوحظ اختلاف في قيم الأمتصاصية للنمو ففي وسط Chu10 المُحَوَّر كان بشكل مرتفع إلى اليوم الخامس عشر ثم بدأ بالإنخفاض أما وسط EChu 10 المُحَوَّر ظهر اختلاف في ارتفاع وانخفاض النمو مابين هذه الطحالب في الأيام المختلفة بينما الطحلب *Phormidium* كان النمو مرتفع في اليوم العاشر على عكس اليوم العشرين في كلا الوسطين، ولقد حضر المستخلص الإيثانولي والمستخلص الفينولي (خلات الأثيل) للطحالب وشُخصت المركبات الفينولية حامض الغاليك Gallic acid والفينول Phenol وحامض التانيك Tannic acid في المستخلص الفينولي بتقنية TLC وتبين وجودها فيها. وشُخصت عدد من المركبات الفينولية Gallic acid و Keampferol و Qurcetine و Rutin و Catechine و Apigenin و Coumarin للطحالب باستخدام تقنية HPLC وتبيَّن وجود هذه المركبات في الطحالب وكانت النسبة المئوية لمركب Qurcetine هي الأعلى إذ ظهر في المستخلص الإيثانولي الخام للطحلب *Ankistrodesmus* (20.9%) وفي المستخلص الفينولي للطحلب *Chlorella* (16.9%) وتَفَوقت الطحالب الخضراء على طحالب السيانوبكتريا، فضلا عن ذلك حضر كل من المستخلص الأسيتوني ومستخلص الأيثر (صبغة البيتا-كاروتين) والمستخلص الميثانولي لكل من الطحلب *Phormidium* والطحلب *Ankistrodesmus* وشُخصت صبغة البيتا-كاروتين β-carotene في مستخلص الأيثر بتقنية TLC وتَبّين وجودها في كلا الطحلبين كما شُخصت هذه الصبغة بتقنية HPLC للمستخلصات الثلاثة للطحلبين وتَبّين بأن أعلى نسبة مئوية لهذه الصبغة كانت في المستخلص الأسيتوني يليه مستخلص الأيثر والمستخلص الميثانولي وتَفَوقت الطحالب الخضراء على طحالب السيانوبكتريا بجميع المستخلصات وكانت نسبتها في مستخلص الأيثر للطحلبين أعلاه (63.5، 70.2%) على التوالي، كما تَمّ دراسة فعالية كافة المستخلصات ضد

البكتريـا *Staphylococcus aureus* و *Esherichia coli* و *Proteus mirabilis* و *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* إذ لـم يـأثر المسـتخلص الإيثانولي والأسيتوني للطحالب ضد أنواع البكتريا على عكس المستخلص الفينولي ومستخلص الأيثـر إذ كـان أعلـى تثبـيط للمسـتخلص الفينـولي للطحلـب *Phormidium* ضـد البكتريـا *Klebsiella pneumoniae* بقطر تثبيط (32ملم)، ودرست كذلك فعالية هذه المستخلصات ضد الفطريات *Fusarium solani* و *Alternaria alternata* و *Candida albicans* وكانت فعاليـة المستخلصـات مشـابهة لنتـائج فعاليتهـا ضـد البكتريـا ماعـدا المسـتخلص الإيثـانولي *Phormidium* و *Ankistrodesmus* الذي كان ذا فعّالية ضد الفطر *Alternaria alternata* بقطر تثبيط (13،17ملم) على التوالي وسجّل المستخلص الفينولي للطحلب *Gloeocapsa* أعلى فعّالية ضد الفطر *Alternaria alternata* بقطر تثبيط (42ملم)، كما درس تاثير إضافة الأحماض الأمينيـة التيروسـين Tyrosine (Try) والفينيـل الأنـين Phenylalanine (Phe) علـى محتـوى الفينولات في الطحالب (المحتوى الداخلي) ووسط التنمية Chu10 (الإفراز الخارجي) وتباينت كمية الفينولات فيها بحسب تركيز الحامض الأميني المضاف لوسط التنمية وجنس الطحلب.

Abstract

Cyanobacterial algae *Gloeocapsa* and *Phormidium* and the green algae *Ankistrodesmus* and *Chlorella* were used for this study Molecular diagnosis was made for *Phormidium* and *Ankistrodesmus*, the results showed that the algae *Phormidium* showed a 92% match of the genome with the alga Cyanobacteria *Phormidium* sp. Ru5-34, *Ankistrodesmus*, showed 88% genome match was found with the green alga *Ankistrodesmus falcatus*.

Two different mediums were used for algal growing, modified Chu10 and modified EChu10, for a growth period of seventeen days for all algae except for *Phormidium*, in which the growth was for the twentieth day.. A difference in growth was noticed, in modified Chu10 it was increased till the Fifteenth day then it began to decrease. In modified EChu 10, it was noticed the wave of growth among these algae in different days, whereas in *Phormidium* the growth was best at the 10^{th} day and then decreased at the 20^{Th} day in both media. The ethanol and the phenol (ethylene acetate) extracts were prepared and phenolic compounds (Gallic acid, Phenol and Tannic acid) were diagnosed in the phenolic extract via TLC technique. Also a number of phenolic compounds (Gallic acid, Keampferol, Qurcetine, Rutin, Catechine, Apigenin and Coumarin) were diagnosed for algae via HPLC and the compound (Qurcetine) recorded the highest percentage in the raw ethanol extract of the algae *Ankistrodesmus* (20.9%), and in the phenolic extract of the algae (*Chlorella*) (16.9%), thus, green algae outmatched the cyanobacteria. Acetone extract, ether extract (beta- carotene) and methanol extract were prepared for *Phormidium* and *Ankistrodesmus* algae, and β–carotene pigment was diagnosed in the ether extract via TCL and HPLC in both the two algae. The highest ratio of the pigment was in the acetone

extract followed by the ether extract and finally came the methanol extract. Green algae exceed the cyanobacteria in all extracts and their ratio in the ether extract in the two above mentioned algae were (63.5 ،7.460%), respectively. The antibacterial activity of all extracts against bacteria (*Staphylococcus aureus* ،*Escherichia coli* ،*Proteus mirabilis* ،*pneumoniae Klebsiell* ،*Pseudomonas aeruginosa)*, were studied and it was noticed the inactive of the ethanol and acetone extracts of algae against all types of bacteria while the phenolic and ether extracts showed evident efficiency. The most significant inhibition was of the phenolic extract of the algae *Phormidium* against the bacteria *Klebsiell pneumoniae* with a diameter of (32 mm). The efficiency of these extracts was also studied against the fungi (*Fusarium solani* ،*Alternaria alternata* ،*Candida albicans*) and the efficiency of the extracts was similar to their efficiency against bacteria except for the ethanol extracts of *Phormidium* and *Ankistrodesmus* which were effective against the fungi *Alternaria alternate* with a diameter of (13, 17 mm) respectively, and the *Gloeocapsa* phenolic extract had the highest activity against *Alternaria alternata*, with an inhibition diameter of (42 mm). The effect was studied of adding the amino acid tyrosine (Try) and phenylalanine (Phe) on the content of phenols in algae (internal content= Enddocellular) and the concentration of phenols in the cultivation medium Chu10 (external secretion=Exocellular), as well as the variation of the concentration of phenols according to the concentration, the type of the added amino acid to the cultivation medium and the type of algae. The highest internal content with a concentration of (0.5 µg/ml) was of *Chlorella* in the medium to which amino acid (Phe 0.5 / liter) was added and at the 24th day, while the highest concentration of phenol for the external

excretion of *Gloeocapsa* algae was (0.47 µg/ ml) in a medium to which amino acid (Try 1g/liter) was added

University of Mosul
College of Education
for Pure Science

Molcular diagnosis of Some Microalgae Isolates and Separating Some Phenolic Compounds and Beta- Carotene Pigments From Them and Studying their Inhibitory Effect

Anfal Zuhair Ibrahim Al-Hayali

M.sc.Thesis
Biology

Supervised by
Assist. Prof.
Dr. Mira Ausama Ahmad Al-Katib

2020 A.D. **1442 A.H**