جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة محتوى المركبات العضوية وصبغة البيتا-كاروتين لبعض الطحالب المجهرية المشخصة جزيئياً وتأثيرها المضاد في البكتريا، الفطريات، الأكسدة والاورام السرطانية

مها فلاح رمزي الطائي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الأُستاذ المساعد

الدكتورة مرا أسامة أحمد الكاتب

١٤٤٢هـ ٢٠٢٠م

الخلاصة

شخصت العزلات الطحلبية قيد الدراسة جزيئياً باستخدام تفاعل Ploymerase Chain Reaction (PCR) مع السيانوبكتريا وكذلك مع الطحالب الخضراء المجهرية عن طريق تحديد تسلسلات الحامض النووي DNA Sequencing. استخدمت الاسمدة المعدنية من نوع NPK، واثبت انها طريقة ناجحة ويمكن اعتمادها فضلاً عن انه تمت تجربة اكثر من نوع لها مختلف من حيث تركيز العناصر فيها، وكانت وسطاً إنتاجية ممتازة لنمو الطحالب؛ إذ اعطى وسط B الذي هو (NPK 12: 12: 17+ TE) افضل إنتاجية لطحلب *Fischerella*، بينما كان وسط (G) الذي هو (NPK 12: 8: 16 + TE) المتفوق في نمو *Gloeocapsa*، وكان وسط P (NPK 10: 50: 10 + TE) الافضل في نمو طحلب *Chlorella*.

كما تم استخلاص صبغة البيتا كاروتين من عينات السيانوبكتريا والطحالب الخضراء المجهرية، وشخصت باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatograghy (TLC) وكروماتوغرافيا الفصل السائل عالي الاداء High Performance liquid chromatography (HPLC) باستخدام الصبغة القياسية.

بينت نتائج استخلاص الصبغة ان المستخلص الخام الاسيتوني لـ *Gloeocapsa* هو الاعلى في نسبته للصبغة إذ بلغت (63.2%)، وتم تقدير الفعالية المضادة لصبغة البيتا كاروتين ضد البكتريا والفطريات الممرضة وقد اظهرت فعالية ملحوظة ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام بأعلى قطر تثبيط (21 ملم) ضد *Klebsiella pneumonia* للصبغة المستخلصة من طحلب *Chlorella* وبقطر التثبيط نفسه للصبغة المعزولة من السيانوبكتريا *Fischerella* ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*. اما تأثير الصبغة على الفطريات فقد سجل اعلى قطر تثبيطي (20 ملم) ضد فطر *Aternaria alternaria* و *Fusarium solani* لصبغة البيتا كاروتين المعزولة من الطحالب *Chlorella* و *Fischerella*. كما تم استخلاص المواد العضوية والمركبات القلويدية من العزلات المدروسة وشخصت باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) وكروماتوغرافيا الغاز – مطياف الكتلة Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)، ودرس النشاط المضاد للبكتريا والفطريات للمستخلص الخام الايثانولي والمستخلص العضوي الاول (O_1) والثاني (O_2) واظهر المستخلص الايثانولي الخام (R) للطحلب *Gloeocapsa* افضل تأثير ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* وفطر *A. alternaria* وكانت بكتريا *Escherichia coli* الاكثر حساسية لمستخلص الكلوروفورم لطحلب *Chlorella* الذي اثبت فعاليته أيضاً ضد فطر

A. alternaria بقطر (45ملم)، اما المركبات القلويدية لطحلب *Fischerella* فقد اثرت بشكل جيد ضد البكتريا وقد بلغ قطر التثبيط (24 ملم) ضد *Proteus vulgaris* في حين كان معدل قطر التثبيط ضد فطر *Candida albicans* (35ملم) للمركبات القلويدية المعزولة من طحلب *Chlorella*. فضلاً عن ذلك تمت في هذه الدراسة دراسة تأثير المستخلصات العضوية من السيانوبكتريا والطحالب الخضراء المجهرية المضادة للأكسدة باستخدام طريقة DPPH حيث اظهر المستخلص الايثانولي لطحلب *Gloeocapsa* اعلى فعالية مضادة للأكسدة بلغت (67.54%) بتركيز 200 مايكروغرام/مل، وكانت الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الكلوروفورم لطحلب *Chlorella* متقاربة مع السيانوبتكريا *Gloeocapsa*، اما المركبات القلويدية المفصولة من طحلب *Chlorella* فقد سجلت اعلى فعالية مضادة للأكسدة (65.66%) بتركيز 200 مايكروغرام/مل. وبناءً على ما ظهر من نتائج الفعالية المضادة للأكسدة تم اختيار الفعالية المضادة للأورام لمستخلص الكلوروفورم لطحلب *Chlorella* والمستخلص الايثانولي للسيانوبكتريا *Gloeocapsa* ضد نوعين من الخلايا السرطانية (MCE-7) خلايا سرطان الثدي و (PC3) خلايا سرطان البروستات، وتبين ان كلاً من المستخلصين لهما سمية خلوية على الخلايا السرطانية وتعتمد درجة تأثيرها على التركيز ونوع المستخلص من ناحية، ونوع الخلايا من ناحية أُخرى، كما وجد ان الفعالية المضادة للأورام تتناسب طردياً مع زيادة التركيز. اما من حيث نوع خلايا الخط السرطاني فقد وجد ان تثبيط النمو يتأثر باختلاف كل مستخلص بنسب تثبيط تراوحت بين (63.349- 95.486%) لخلايا الخط الخلوي MCF-7 (خلايا سرطان الثدي) وبين (43.248- 95.679%) للخط الخلوي PC3 (خلايا سرطان البروستات) لمستخلص الكلوروفورم لطحلب *Chlorella*. كما تراوحت نسب التثبيط لمستخلص الايثانول لـ *Gloeocapsa* بين (41.204- 95.756%) لخلايا الخط الخلوي MCF-7 وبين (55.363- 96.219%) لخلايا الخط الخلوي PC3.

Abstract

Some algal isolates were genetically diagnosed to identify the genus, and to make the diagnosis more accurate and reliable, the universal Ploymerase Chain Reaction (PCR) was used with cyanobacteria and with green microalgae, in addition DNA sequencing. The main objective of the study was to obtain a successful alternative of similar or better productivity than this medium and to use a cheap and available substance. Hence, mineral fertilizers (NPK) were used and proved to be useful and reliable; more than one type were tested with different concentrations of elements and they were excellent medium with high productivity for the growth of algae. The medium **B** which was (NPK 12:12:17 + TE) gave the best productivity of *Fischerella*, whereas the medium **G** which was (NPK 12:8:16 +TE) was the best for growing *Gloeocapsa* and the medium **P** (NPK 10:50:1 +TE) was the best for growing *Chlorella.*

Beta-carotene pigment was extracted from samples of cyanobacteria and green microalgae, and was diagnosed using Thin Layer Chromatography (TLC) technology, and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using standard pigment. The pigment extraction results showed that the raw acetone extract of *Gloeocapsa* was the highest in its percentage of pigment, and it was (63.2%). The efficacy of beta-carotene against pathogenic bacteria and fungi was checked, and it was observed against positive and negative bacteria in the Gram stain, with the highest inhibition diameter (21 mm) against *Klebsiella pneumonia* for the pigment extracted from *Chlorella* alga and with the same diameter of inhibition for the isolated form of cyanobacteria *Fischerella* against *Pseudomonas aeruginosa.* As for the effect of the pigment on the fungi, the highest inhibition diameter of (20 mm) was recorded against the fungi *Alternaria alternaria* and *Fusarium solani* of the beta-carotene isolated from the algae *Chlorella* and *Fischerella.*

Organic materials and alkaloid compounds were also extracted from the studied isolates and were diagnosed using the technique of Thin Layer Chromatography (TLC) and Gas Chromatography- Mass Spectrum (GC-MS), in addition to performing an evaluation of the anti- activity against bacteria and fungi of the raw ethanol extract and of the first organic extract O1 and the second O2; the raw ethanol extract (R) of the alga *Gloeocapsa* had the best effect against *Staphylococcus aureus* bacteria and *A. alternaria* fungi. The *Escherichia coli* bacteria were the most sensitive to chloroform extract of *Chlorella*, which also proved to be effective against *A. alternaria* fungi with a diameter of (45 mm). The alkaloid compounds of *Fischerella* had a good effect against bacteria and the inhibition diameter was (24 mm) against *Proteus vulgaris;* whereas the average diameter of inhibition against *Candida albicans* fungi was (35 mm) for alkaloid compounds isolated from *Chlorella*. Moreover, in this study, the antioxidant effect of organic extracts of cyanobacteria and green microalgae was studied using the DPPH method, where the ethanol extract of *Gloeocapsa* showed the highest antioxidant efficay (76.54%), at a concentration of 200 µg/ml, and the antioxidant efficacy of chloroform extract of *Chlorella* was close to that of the cyanobacteria *Gloeocapsa*, as for the alkaloid compounds separated from *Chlorella* alga, the highest antioxidant activity recorded was (65.66%) at a concentration of 200 µg/ml. Based on the results of the antioxidant fficacy, the anti-tumor efficacy of *Chlorella* algae extract and *Gloeocapsa* ethane extract were tested against two types of cancer cells; (MCE-7) breast cancer cells, and (PC3) prostate cancer cells, and it was found that both extracts have cytotoxicity on cancer cells and the degree of their influence depends on the concentration and the type of extract on the one hand, and the type of cells on the other hand. It was found that the anti-tumor efficacy is directly proportional to the increase in concentration. As

for the type of cancer line cells, it was found that the inhibition of growth is affected by the variation of each extract with inhibition rates ranging between (63.349- 95.486%) for MCF-7 cells (breast cancer cells), and between (43.248- 95.679%) for cell line PC3 (prostate cancer cells) for chloroform extract of *Chlorella* algae. The inhibition rates of ethanol extract for *Gloeocapsa* ranged between (41.204 - 95.756%) for MCF-7 cells and between (55.363 - 96.219%) for cell line PC3 cells.

University of Mosul
College of Education for
Pure Sciences

Study of the Content of Organic Compounds and Beta-Carotene Pigment in some Molecularly Identified Microalgae and their Anti-Effect in Bacterial, Fungai Oxidation and Cancer Tumors

Maha Falah Ramzi Al-Tai

M.Sc Thesis

Biology

Supervised by

Assist. Prof.

Dr. Mira Ausama Ahmed Al-Katib

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