مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

دراسة تأثير بعض العوامل على نمو الطحلب الأخضر *Scendesmus acutus* مخبرياً

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

(تاريخ الإيداع 4 / 6 / 2015. قبل للنشر في 20 / 7 / 2015)

□ ملخّص □

تم في هذا البحث اختبار تأثير تراكيز مختلفة من الفوسفات والنترات ومستخلص التربة على نمو عزلة من طحلب***Scendesmus acutus*** المعزول من بعض المسطحات المائية المحلية ، تم حساب عدد الخلايا ومعدل النمو وزمن التضاعف لجميع المزارع الطحلبية ولمدة 30 يوم.

بلغ أعلى معدل نمو 3.90 عند استخدام مزيج من المحاليل الثلاثة بتراكيز (1 غ/ل نترات + 0.05 غ/ل فوسفات + 10مل/100 محلول تربة)، حيث وصل عدد الخلايا إلى 8861.11 خلية /مل وذلك في اليوم 24 من الزراعة، وبأقل زمن تضاعف 1.85، في حين كان أعلى معدل نمو عند استخدام محلول التربة بمفرده 2.86 وأقل زمن تضاعف 2.13 وذلك عند تركيز 16مل/100مل، في حين انخفض معدل النمو وزاد زمن التضاعف عند استخدام محلول النترات والفوسفات كلاً بمفرده، حيث بلغ أعلى معدل نمو 2.13 و1.76 وأقل زمن تضاعف 3.39 و4.11على الترتيب.

الكلمات المفتاحية: عوالق نباتية –طحالب خضراء – معدل نمو – زمن تضاعف–***Scendesmusacutus***

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

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

Study The Influnce Of Some Factors on the Growth Of *Scendesmus acutus* In Laboratory

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

(Received 4 / 6 / 2015. Accepted 20 / 7 /2015)

□ ABSTRACT □

The effect of different concentrations of phosphate and nitrate and soil extracted on the isolated growth isolation of *Scendesmus acutus* which is isolated from some local aquatic areas has tested in this research, the number of cells and growth range and duplicated time of all algal cultures among thirty five days has counted.

The highest growth range was 3.90 by using a mixture of the three solutions in concentrations (1g/l nitrate + 0.05g/l phosphate + 10 ml / 100 of soil solution), the numbers of cells reached to 8861.11 in the twenty fourth day of culture, and in the lowest duplicated time 10.85, whereas the highest growth range was by using soil solution alone 2.86 and the lowest duplicated time 2.13 at concentration 16/100ml, whereas the growth range decreased and duplicated time increased by using nitrate and phosphate solution all by its own, while the highest growth range reached to 2.13 and 1.76 and lowest duplicated time 3.39 and 4.11 in order.

Key words: Phytoplankton –Chlorophyta - Growth Range– Duplicated Time –*Scendesmus acutus.*

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

مقدمة:

يعاني العالم اليوم من مشاكل متعددة لعل أهمها استنزاف الموارد الطبيعية والتغير المناخي المرتبط بالانبعاث المتزايد لغازات الدفيئة، وقد تفاقمت في السنوات الأخيرة أزمات الطاقة والمياه والغذاء، وأصبح العمل على تحقيق تنمية مستدامة ضرورة ملحة وهدفاً استراتيجياً تسعى إليه معظم الدول، إن السعر المتزايد للنفط والخوف من نضوب أباره والتكلفة العالية في استخراجه إضافة إلى القلق الناتج عن ارتفاع درجة حرارة الجو وتلوث البيئة والمرتبط بشكل مباشر باستهلاك النفط، كل ذلك دفع للبحث عن مصادر بديلة للنفط.

إن الزيادة السكانية في السنوات الأخيرة أدت إلى نقص في الموارد الغذائية وزيادة في الفضلات الناتجة عن نشاطات الإنسان والتي تؤثر بشكل سلبي على البيئة والإنسان.

كل ذلك يستدعي العمل الجاد للبحث عن مصادر بديلة للطاقة والغذاء وإيجاد طرق كفيلة للحد من التلوث البيئي الناتج عن التطور الصناعي ونشاطات الإنسان، وتطرح الطحالب اليوم نفسها كأحد أهم مصادر الطاقة الواعدة والقابلة للتجديد والتي تستعمل الطاقة الشمسية لتحويلها إلى كربوهيدرات وبروتينات وليبيدات وبكفاءة أعلى من النباتات الأرضية، فالطحالب تعتبر مصدر متجدد لإنتاج الوقود الحيوي ولها دور في تخفيض إشعاعات غاز ثاني أكسيد الكربون من خلال قيامها بعملية التركيب الضوئي وبالتالي حماية البيئة من ظاهرة الاحتباس الحراري (Sirangala *et al* 2014 – Kalpesh *et al* 2012 – Schenk *et al* 2008 – Chinnasamy *et al* 2010 – Hossain *et al* 2008 – Liu *et al* 2008 –Lautrup, 2008 –Zebib, 2008 – Danquaha *et al* 2009 – Berberoglu *et al* 2009)، كما ولها دور كبير في التنقية الذاتية للمياه(Sridhar *et al* 2015 – عوض وأخرون، 2000 –Craggs *et al* 1997).

إضافة لذلك تعتبر مصدر غذائي للإنسان والحيوان وذلك لاحتوائها على نسبة عالية من السكريات والبروتينات والليبيدات كما وتعد مصدراً للفيتامينات والأملاح المعدنية ومضادات أكسدة وصبغات طبيعية ومركبات فعالة أخرى (Ogbonda *et al* 2007 – Barbosa *et al* 2003 – .Barghbani, 2012 – Ahmed *et al* 2012 Reichert1 *et al* 2006 – Dayananda *et al* 2005 – Masojídek *et al* 2009 – Nowack1 *et al* 2005)، كما وتنتج الطحالب أنواعاً كثيرةً من المواد الكيميائية التي لها مردودٌ اقتصادي وتطبيقاتٌ عملية في مجالاتٍ كثيرةٍ (عباس، 2011).

من هنا تأتي أهمية بحثنا هذا والذي يتضمن عزل واستزراع أحد أنواع العوالق النباتية الهامة اقتصادياً والموجودة في مياهنا، تحت تأثير شروط بيئية وأوساط زرعية مختلفة للحصول على أكبر معدل نمو وإنتاجية.

تم إجراء هذا البحث في مخابر قسم علم الحياة النباتية في جامعة تشرين.

أهمية البحث وأهدافه:

إن الموارد الطبيعية مهددة بالنضوب بسبب الزيادة السكانية والتطور الصناعي وما ينتج عنه من أضرار بالبيئة لذلك يتوجب علينا العمل الجاد على البحث عن موارد بديلة ، وتعد الطحالب أحد أهم هذه البدائل وذلك لدورها الأساسي في دورات العناصر في الطبيعة، كما ولها العديد من التطبيقات العملية والفوائد الاقتصادية والطبية، من هنا تأتي أهمية بحثنا هذا والذي يهدف إلى:

1 – عزل طحلب *Scendesmus acutus* من أوساط مائية.

2 - اختبار تأثير بعض العوامل (نترات – فوسفات – محلول تربة) على نمو هذا الطحلب.

3 - تحديد بعض الشروط المثلى لنمو طحلب *Scendesmus acutus*.

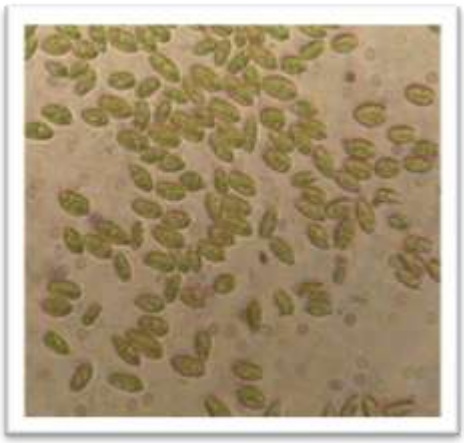
طرائق البحث ومواده:

1- جمع العينات المائية:

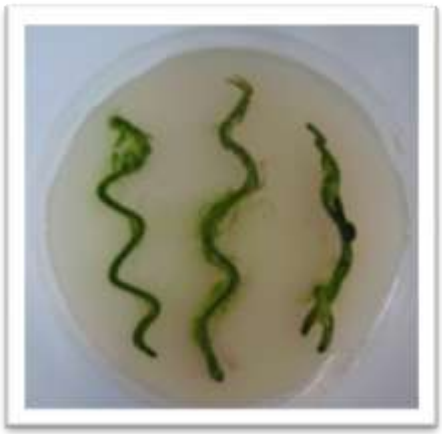
جمعت عينات المياه من نهر مرقية في محافظة طرطوس، واستخدم من أجل ذلك عبوات من البولي اتيلين سعة 500 مل، أحضرت العينات إلى المخبر بغرض البحث عن النوع الطحلبي*Scendesmus acutus* وعزله.

2- عزل الطحلب:

بهد ف الحصول على عزلة نقية من طحلب *Scendesmu sacutus* تم ترشيح حجم معين من المياه المجموعة باستخدام ورق ترشيح قطر فتحاته 0.45 مايكروميتر، وأخذ ما تبقى في ورق الترشيح وفحص تحت المجهر وبعد التأكد من وجود الطحلب المراد عزله ضمن العينة تم زرع العينات على وسط chu 10 (Blod, 1985) الصلب الموضوع ضمن أطباق بتري ، اذ نشرت قطرات من العينة فوق الوسط في ظروف معقمة ، ونقلت الأطباق إلى وحدة الاستزراع تحت ظروف إضاءة 2500 لوكس ونوبة ضوئية 16ضوء: 8 ظلام وتركت لمدة أربعة أسابيع (Stein, 1973)، حيث لوحظت مستعمرات طحلبية نامية فحصت تحت المجهر لتحديد الأنواع الطحلبية النامية بالاستعانة ببعض المفاتيح التصنيفية(Starmach, 1989 – Pankow, 1976 –Bourrelly , 1968 , 1972 Plinski – 1988,) ، نقلت بعد ذلك كل مستعمرة إلى طبق جديد يحتوي على الوسط المغذي لتنمو بمفردها ونحصل على عزلة نقية من الطحلب المراد دراسته (صورة رقم1 – 2).



صورة رقم (1) طحلب *Scendesmu sacutus*



صورة رقم (2) مستعمرة الطحلب

3- استزراع وتنقية الطحلب:

بعد التأكد من الطحلب المعزول يتم 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 معقمة.

تنقل 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, 1984)، تؤخذ المزرعة الطحلبية وتثفل لمدة دقيقتين بسرعة 3000 دورة /دقيقة وتؤخذ العينة المثفلة وتمزج بالماء المقطر المعقم عدة مرات ، وللتأكد من نقاوتها من الفطريات والجراثيم زرع قسم من المزرعة على وسطpopeatodextroz Agar (P.D.A) وحضنت بدرجة حرارة 25 درجة مئوية ولمدة خمسة أيام، كما وأخذ قسم أخر وزرع على وسط Nutrient agar وبدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 48 ساعة ، وكررت العملية عدة مرات حتى تم التأكد من عدم نمو فطريات وجراثيم على الأوساط المغذية وبذلك تم الحصول على عزلة نقية من طحلب .*acutusS* يتم حفظها في الوسط المغذي chu10 السائل .

4- تحضير الأوساط المغذية:

محلول التربة: يضاف إلى (1) كغ من التربة (تربة غابات لا تحتوي على أسمدة كيميائية أو مواد سامة ومبيدات حشرية) 2 ليتر من الماء المقطر، يحرك جيدا ويوضع في الأوتوغلاف لمدة نصف ساعة، يرشح وتؤخذ الرشاحة وتعقم لمدة 20 دقيقة ثم تحفظ في مكان بارد لحين الاستخدام.

تم تحضير ثمانية حوجلات 250 مل بتراكيز مختلفة من محلول التربة (0 – 2- 3 – 4 – 5- 6 – 7 – 8) مل/50مل.

محلول النترات: تم تحضير ثمانية تراكيز من النترات (0 – 0.05 – 0.1 – 0.5 – 1 – 2 -3 -6) غ/ل وذلك بإذابة كمية معينة من نترات البوتاسيوم في حجم معين من الماء المقطر ثم يعقم المحلول ويوزع في حوجلات 250 مل تحتوي كل حوجلة 150 مل من المحلول.

محلول الفوسفات : *وبنفس الطريقة السابقة تم تحضير ثمانية تراكيز من الفوسفات (0 – 0.005 – 0.01 – 0.02 – 0.05 – 0.1 – 0.5 – 1) غ/ل.*

كما تم تحضير ثمانية حوجلات خليط بين المحاليل الثلاثة السابقة جدول رقم (1).

جدول رقم (1) تراكيز المغذيات ضمن الحوجلات

رقم الحوجلة	تركيز KNO_3	تركيز $K2HPO_4$	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 250 مل والحاوية على 150 مل من الأوساط السابقة بجميع التراكيز تم نقل 5 مل من العزلة النقية إلى كل حوجلة ونقلت الحوجلات إلى غرف الاستزراع تحت درجة حرارة 30 درجة مئوية وشدة ضوئية

2500 لوكس ونوبة ضوئية 16 ضوء:8 ظلام وتم مراقبة النمو لمدة 35 يوم مع تحريك الحوجلات وتبديل مواقعها كل 12 ساعة.

حددت الغزارة الكلية باستخدام صفيحة Komorek Burkeraالمقسمة 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):

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

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

النتائج والمناقشة:

بينت دراسة النتائج اختلاف معدل النمو وزمن التضاعف باختلاف الوسط المغذي، حيث بلغ أعلى معدل نمو 3.90 عند استخدام مزيج من المحاليل الثلاثة بتراكيز(1 غ/ل نترات + 0.05 غ/ل فوسفات + 10مل/100 محلول تربة) جدول رقم (2)، ووصل عدد الخلايا إلى 8861.11 خلية /مل وذلك في اليوم 24 من الزراعة، وبأقل زمن تضاعف 1.85في نفس اليوم وهذه النتائج مطابقة لبعض الدراسات حيث وجد(Godinez *et al.,*2000) أن أفضل معدل نمو للطحالب *Chaetoceros muelleri* و *Tetraselmis suecica* في الوسط المكون من أسمدة عضوية مضافاً إليها تراكيز منخفضة من المغذيات ويفسر ذلك بتوافر المواد العضوية واللاعضوية الضرورية للنمو والتي يؤمنها محلول التربة ومنه نستنتج أنه يمكن استخدام محلول التربة كبديل عن الأوساط الصنعية الغالية الثمن (Venkataraman, 1990)، ومن المعروف أن انقسام الخلايا يزداد في الظروف البيئية المناسبة مكونة خلايا مفردة) (Voltalina*et al.*, 1999 وهذا ما لوحظ في دراستنا هذه حيث بقيت المزارع الطحلبية بشكل خلايا مفردة حتى اليوم 35 مع ملاحظة انخفاض معدل النمو وزيادة زمن التضاعف مع زيادة الزمن وذلك بسبب انخفاض تراكيز المواد المغذية الموجودة في الوسط .

جدول رقم (2) : معدل عدد الخلايا ومعدل النمو وزمن التضاعف عند طحلب *Scendesmus acutus* عند درجة حرارة 30 درجة مئوية وشدة ضوئية 2500 لوكس عند استخدام خليط من محلول التربة والنترات والفوسفات

تركيز خليط	معدل عدد الخلايا خلية/مل	أعلى عدد خلايا	معدل النمو	أعلى معدل نمو	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف
ماء مقطر	7.69	13.89	0.72	1.08	13.22	6.70
1	3666.67	6175.35	3.22	3.73	2.96	1.94
2	4011.06	7121.53	3.29	3.80	2.56	1.90
3	5029.37	8375.00	3.35	3.87	5.30	1.87
4	5469.44	8861.11	3.38	3.90	3.86	1.85

5	5154.51	8682.29	3.42	3.89	2.30	1.86
6	1544.15	3166.67	2.91	3.44	2.77	2.10
7	773.81	1437.50	2.65	3.09	3.03	2.34

من الجدول رقم (3) نلاحظ زيادة معدل النمو وعدد الخلايا مع زيادة تركيز محلول التربة حيث بلغ أعلى معدل 3.39 عند تركيز 8 مل/50 مل وذلك في اليوم 27 من الزراعة،وبلغ أعلى عدد خلايا في هذا اليوم 2781.25 خلية/مل وكان أقل زمن تضاعف 2.13 في نفس التركيز واليوم ، كما لوحظ انخفاض معدل النمو وزيادة زمن التضاعف بعد ذلك مع ملاحظة أن الخلايا الطحلبية تحافظ على شكلها وحيويتها لفترة زمنية أطول عند استخدام محلول التربة بمفرده.

جدول رقم (3) : معدل عدد الخلايا ومعدل النمو وزمن التضاعف عند طحلب *Scendesmus acutus*
عند درجة حرارة 30 درجة مئوية وشدة ضوئية 2500 لوكس عند استخدام محلول التربة

تركيز محلول التربة	معدل عدد الخلايا خلية/مل	أعلى عدد خلايا	معدل النمو	أعلى معدل نمو	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف
ماء مقطر	7.69	13.89	0.72	1.08	13.22	6.70
2 مل /50 مل	745.98	1149.31	2.63	2.99	4.22	2.42
3 مل /50 مل	914.24	1364.58	2.70	3.06	7.03	2.36
4 مل /50 مل	1072.82	1616.32	2.76	3.14	5.78	2.30
5 مل /50 مل	1185.42	1890.63	2.77	3.22	5.97	2.24
6 مل /50 مل	1301.39	2119.79	2.78	3.27	2.71	2.21
7 مل /50 مل	1409.47	2434.03	2.80	3.33	2.73	2.17
8 مل /50 مل	1478.92	2781.25	2.86	3.39	2.85	2.13

أما بالنسبة لتأثير النترات والفوسفات على نمو طحلب *S .acutus* جدول (4 – 5) فقد لوحظ انخفاض في معدل النمو وعدد الخلايا وزيادة في زمن التضاعف مع زيادة تركيزات النترات والفوسفات يعود إلى التأثير المثبط لهذه الشوارد عند وجودها بتراكيز عالية (Voltalina *et al* 1999) حيث بلغ أعلى معدل نمو عند النترات 2.13 وأقل زمن تضاعف 3.39 في اليوم 24 من الزراعة وذلك عند تركيز 2 غ/ل ، أما أعلى معدل نمو عند استخدام محلول الفوسفات فقد كان 1.76 وأقل زمن تضاعف 4.11 عند تركيز 0.5 غ/ل وبمقارنة هذه النتائج مع النترات نستنتج أن حاجة هذا الطحلب للنترات تفوق حاجته للفوسفات وهذا مطابق لبعض الدراسات مثل (Reynolds , 1984)، كما ويلاحظ انخفاض معدل النمو في التراكيز المنخفضة للنترات والفوسفات ويزداد بزيادته حتى حد معين حيث تعد هذه الشوارد من العوامل المحددة لنمو الطحالب (Boney, 1979).

جدول رقم (4) : معدل عدد الخلايا ومعدل النمو وزمن التضاعف عند طحلب *Scendesmus acutus* عند درجة حرارة 30 درجة مئوية وشدة ضوئية 2500 لوكس عند استخدام محلول النترات

تركيز النترات غ/ل	معدل عدد الخلايا خلية/مل	أعلى عدد خلايا	معدل النمو	أعلى معدل نمو	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف
ماء مقطر	7.69	13.89	0.72	1.08	13.22	6.70
0.05	41.62	93.75	1.41	1.84	5.47	3.92
0.1	46.63	102.43	1.43	1.91	5.50	3.78
0.5	74.45	135.42	1.70	2.08	4.57	3.48
1	84.28	144.10	1.79	2.10	4.19	3.43
2	72.72	152.78	1.71	2.13	4.42	3.39
3	42.31	67.71	1.51	1.78	4.90	4.07
6	36.61	71.18	1.44	1.76	5.11	4.09

جدول رقم (5) : معدل عدد الخلايا ومعدل النمو وزمن التضاعف عند طحلب *Scendesmus acutus* عند درجة حرارة 30 درجة مئوية وشدة ضوئية 2500 لوكس عند استخدام محلول الفوسفات

تركيز الفوسفات غ/مل	معدل عدد الخلايا خلية/مل	أعلى عدد خلايا	معدل النمو	أعلى معدل نمو	معدل زمن التضاعف	أقل زمن تضاعف
ماء مقطر	7.69	13.89	0.72	1.08	13.22	6.70
0.005	20.15	31.25	1.19	1.39	6.24	5.21
0.01	25.05	38.19	1.29	1.48	5.68	4.89
0.02	31.19	46.88	1.39	1.59	5.30	4.36
0.05	37.26	53.82	1.47	1.63	4.99	4.43
0.1	44.95	62.50	1.57	1.74	4.66	4.15
0.5	42.53	67.71	1.54	1.76	4.75	4.11
1	33.36	57.29	1.42	1.69	5.16	4.28

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

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

2 -استخدام الأوساط الطبيعة كمغذيات للعوالق النباتية في المزارع الأم لأن هذه المغذيات تطيل فترة حياة العوالق مع المحافظة على شكلها وحيويتها بخلاف المغذيات الصنعية.

3 -ارتباط معدل النمو وزمن التضاعف بتراكيز المغذيات حيث تعد التراكيز العالية للنترات والفوسفات مثبطات نمو.

التوصيات:

1 -التوجه نحو أبحاث استزراع الطحلب وذلك لأهميتها المستقبلية في كثير من مجالات الحياة.

2 -دراسة تأثير عوامل أخرى على نمو وإنتاجية هذا الطحلب وذلك للوصول إلى الشروط المثلى للنمو.

3 -دراسة تأثير العوامل البيئية على التركيب الكيميائي لهذا الطحلب.

4 -دراسة أنواع أخرى من الطحالب وذلك لتحديد الأنواع الأكثر تأقلماً وأهمية.

المراجع:

1 -عباس، آصف، *تأثير طريقة استخلاص الكاراجينان على مردوده وبعض خواصه من الطحلب الأحمر Hypneamusciformis في الشاطئ السوري* ، مجلة جامعة تشرين ، سلسلة العلوم البيولوجية ، العدد 2 ، المجلد 33، 2011.

2 -**عوض.عادل، حمود. نديم، شاهين. هيثم** . *دراسة تطور أجناس الطحالب في بحيرات الأكسدة للمعالجة البيولوجية لمياه الصرف الصحي في مدينة السلمية* ، مجلة جامعة دمشق، المجلد السادس عشر، العدد الثاني، 2000، ص 57- 93.

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

4- 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.

5- 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.

6- 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.

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

8- BLOD, H.C; WYNNE, M.J. *Introduction to The Algae Structure and Repoduction*. 2nd ed . Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. New Jersey, USA.1985, p720 .

9- BONEY, A. D. *phytoplankton. Third edition*. Edward Arnold, London. (1979). P. 44.

10- BOURRELLY , P. *Les Algued'eaudonce* . les algusjaunes et brunes . ed. Boubee, Paris , 1968 , 38 p.

11- BOURRELLY , P. *Les Algued'eaudonce* . les algusVertes , Ibid. 1972 , 572.

12- 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.
13- 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.
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 Botryococcusbraunii*, 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*. RivistaItaliana di Aquaculture, 35: 2000, pp75-80.
18- HOSSAIN, S; SALLEH, A .*Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy*, American Journal of Biochemistry and Biotechnology 4 (3), 2008, 250-254.
19- 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
20- 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.
21- 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.
22- 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.
23- 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.
24- 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.
25- PANKOW,C ,H. . *Algenflora der ostsee* , II . plankton ,Verlag. 1976, p . 1 – 493.
26- PLINSKI,M. *GlonyZatokiGdauskiejeklucz Do oznaczaniagatunkow* . cz. Iv. Okrzenki . Gdansk. 1988, P.183.
27- REICHERT1, C.C; REINEHR, C. O; COSTA1, A. J. *Semicontinuous Cultivation Of The Cyan bacterium Spirulinaplatensis In A Closed Photo*, Brazilian Journal of Chemical Engineering, Vol. 23, No. 01,2006, pp. 23 – 28.
28- REYNOLDS, C.S. The ecology of fresh water phytoplankton Cambridge Univ. Press, 1984. p. 384

29- SCHENK, M. P; SKYE, R; THOMAS-HALL, R. S; STEPHENS, E; MARX, C. U; MUSSGNUG, H. J; POSTEN, C; KRUSE, O; HANKAMER, B. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production, Bioenerg. Res. 2008 , 1:20–43.

30- 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.

31- 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.

32- STARMACH,K. *Plankton RoslinnyWodStodkichPolska* , Akad. Nank Warszawa KraKow , 1989 , p 496.

33- STEIN, J. R. *Hand book of phycological methods* . Cambridge University. press. Cambridge , U.K. (1973).

34- Venkataraman L. V. "Bioproducts from microalga *Dunaliella" . Biomass*.Vol. 28:. 1990.

35- 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.

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

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