تحفيز معدلات النمو وزمن التضاعف للطحلب الاخضر *Scenedesmus quadricauda* بأستعمال اوساط زرعية مختلفة

ثائر محمد ابراهيم العكيلي ابراهيم مهدي السلمان
قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة (أبن الهيثم) – جامعة بغداد

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية تسليط الضوء على إمكانية تحفيز معدلات النمو وزمن التضاعف لافراد الطحلب الاخضر *Scenedesmus quadricauda* بأستعمال أوساط زرعية مختلفة تحت ظروف مختبرية. أذ استعملت ثلاث اوساط زرعية محورة وكما مبين في طرائق العمل، وهي: (BG11 و Chu10 و Chu13، واعتبر الوسط (Chu10) معاملة سيطرة لغرض المقارنة . اعتمدت معايير الامتصاصية تحت الاطوال الموجية (540-650) نانومتر على التوالي وعد الخلايا بطريقة القطاع المستعرض باستخدام شريحة عد الكريات Haemocytometar لرسم منحنى النمو لحساب معدلات النمو وتحديد زمن التضاعف لخلايا الطحلب في الاوساط المستعملة وذلك باجراء قياسات يومية و لغاية 25 يوما. اظهرت النتائج أن تغير نوعيه الوسط ومكوناته ذات تأثيراً واضحاً في قيم الامتصاصية وعدد الخلايا ومراحل منحنى النمو للطحلب المدروس. وعند الأعتماد على عدد الخلايا أظهر منحنى النمو اختلافا واضحا في امتداد اطوار النمو (اللوغاريتمي والاستقرار والموت) عند تنميته في الاوساط الثلاثة المستخدمة، اذ كانت نهاية الطور اللوغاريتمي عند الايام 5 و 6 و9 للاوساط Chu10, Chu13,BG11 وباعداد خلايا (4.4 و 2.39 و 5.37) $\times 10^6$ خلية/مل على التوالي، أما طور الاستقرار فقد أستمر النمو في الوسط Chu10 من اليوم 6 لغاية 25 (نهاية التجربة) بينما في الوسطين BG11 و Chu13 كان من الايام 5-12 و 9-12على الترتيب، ولكن مع تذبذب في القيم وزيادة كبيرة في عدد الخلايا في الوسطين BG11 و Chu13 مقارنة مع الوسط Chu10 أذ سجلت أعلى قيمة خلال هذا الطور 4.2 ,5.25 و 2.4 $\times 10^6$ خلية/مل على التوالي. كما بينت نتائج قيم الامتصاصية عند الاطوال الموجية 540, 650 نانوميتر تسجيل قيم مقاربة مع بعضها وتوافق مع قيم اعداد الخلايا مع تفوق قيم الوسطين BG11 و Chu13 على قيم الوسط Chu10 وكذلك بخاصية التذبذب. ومن الجدير بالذكر ان قيم الامتصاصية للطولين الموجبين 540 و 650 نانوميتر لم تظهر مرحلة الموت أو (التناقص الحاد) على الرغم من تناقص عدد الخلايا، مما يبين تأثر قيم الامتصاصية بمكونات الوسط وبقايا الخلايا الميته وليس فقط عدد الخلايا الحية والفاعلة. أما بما يخص تحفيز معدل النمو وزمن التضاعف للطحلب المدروس بينت النتائج وجود اختلافات واضحة كذلك بين قيم (Chu10) والوسطين الاخرين طيلة مدة التجربة والبالغة 25 يوماً، اذ سجل اعلى معدل نمو للوسط Chu13 وبلغ.2.9 و اقل زمن تضاعف 9.9 ساعة، و للوسط BG11 معدل النمو كان 2.22 وزمن التضاعف 5.11.7 ساعة بينما كانا في الوسط Chu10 1.9 و 47.9 ساعة على الترتيب.

كلمات مفتاحية: *الاوساط الزرعية، الطحالب، Scenedesmus quadricauda ، معدل النمو، زمن التضاعف.*

Stimulating Growth Rates and Doubling Time of Green Alga *Scenedesmus. quadricauda* by Using Different Culture Medium

Thaer M Ibrahim Ibrahim M.A Alsalman

Dept. of Biology - College of Education for pure Sciences (Ibin Al-Haitham) - University of Baghdad

Received 14 September 2015 ; Accepted 23 February 2016

Abstract

The current study included highlighting on the ability of stimulating of quality of Culture medium in growth rates and doubling time of individuals of green *Scenedesmus.quadricauda* under laboratory conditions. It used three agricultural media, Chu10, BG11 and Chu13 axis, as showing in methods ,and (Chu10) considered as (control) for the purpose of comparison. Absorbance standards under wavelengths adopted (540-650) nm respectively and promised cells in a manner sector browser using counting pellets slice to draw a growth curve, to calculate growth rates and determine the time replication, by conducting daily measurements and up to 25 days. The results showed that type and contents of culture medium have a clear impact on the absorbance values, number of cells and the stages of the growth curve of studied alga, and when relying on the number of cell, growth curve showed a clear difference in the extension phases of growth (logarithmic, stability and death) when development in the three used media, as it was the end of the logarithmic phase at days 5, 6 and 9 of Chu10, Chu13, BG11, and (4.4 and 2.39 and 5.37) × 106 cells / ml respectively. The phase stability continued growth in Chu10, of the day 6 to 25 (the end of the experiment), while in BG11and Chu13 was 5-12 and 9-12 days respectively, with the fluctuation in values and a significant increase in the number of cells in BG11 Chu13 media compared with Chu10, as the highest value recorded during the phase 5.25, 4.2 and 2.4 × 106 cells / ml respectively.

Also the results of absorbance showed that, the values at wavelengths between them 540 – 650nm recording close to each other, and agree with the cells number, with superiority of BG11and Chu13 as well as the characteristic values of the oscillation in Chu10 media. It is worth mentioning that, the absorbance values of 540 and 650 nm, did not show death phase or (sharp decrease) in spite of the declining number of cells, paraphrase affected of its values by the components of the media and the remains of dead cells and not only the number of live and active cells. As regarding the growth rate and time replication of studied alga, results showed clear differences between the values of (Chu10) axis and the two other media during 25 days. As it recorded the highest growth rate in Chu13 reached .2.9 and less doubling time of 9.9 hours, and in BG11, was 2.22 and 511.7 hour while they were in Chu10, 1.9 and 47.9 hours, respectively.

Keywords: Culture medium, algae, Scenedesmus quadricauda, growth rate, doubling time.

المقدمة

معدل نمو السكان Population growth rate في الطحالب الدقيقة هو مقياس للزيادة في الكتلة الحيوية على وحدة الزمن، ويتم تحديد ذلك من المرحلة الأسية، ومعدل النمو هو أحد السبل الهامة للتعبير عن النجاح البيئي النسبي للنوع أو السلالة في التكيف مع بيئتها الطبيعية أو البيئة التجريبية التي تتواجد فيها، ومن المقاييس المهمة في تنظيم عملية تحفيز نمو وتكثير الطحالب وجود المغذيات ونوعية الضوء والاس الهيدروجيني والعكورة والملوحة ودرجة الحرارة، وهذه العوامل البيئية ممكن أن تكون معتمدة على بعضها البعض في التأثير الاجمالي على النمو، وممكن أن يكون أحد العوامل ذات تأثيرً مثالياً في حالة محددة من هذه التأثيرات، وفي الوقت نفسه يكون غير ضروريا في حالات أخرى2011 [2, 1]. لذلك نرى أن الباحثيين في مجال استزراع وتنمية الطحالب بشكل عام والمجهرية منها بشكل خاص عادة مايسعون الى تحقيق أفضل الحلول في زيادة اعداد الكتلة الحيوية والانتاجية في ظروف مختبرية وأختبار كفاءة أوساط زرعية مختلفة رغبة منهم أن تتوفر فيها الظروف المثالية للعوامل المشار اليها في أعلاه بالاضافة أن تكون هذه الاوساط حاوية على أكبر قدر ممكن من المغذيات الكبرى الاساسية وخاصة النترات والفوسفات والسليكات[5,4,3]. ومن المهم جدا في مجال الاستزراع وتنمية الطحالب الحصول على تركيبة جيدة لوسط التنمية غنية بمكوناتها وملائمة لطبيعة الطحلب المستهدف في الدراسة، وبنفس الوقت غيرمكلفة أقتصاديا وتستطيع أن تعطي منحنيات نمو واسعة وتمتلك خاصية أدامة لوقت أكبر من غيرها. لذلك فأن الوسط الزرعي الناجع عملياً في التطبيق هو الوسط الذي يستطيع أن يعطي أكبر معدل نمو وكتلة حيوية علاوة على ذلك يحقق حالة فسلجية وكيموحيوية جيدة للطحالب التي تتم تنميتها في نظام بيئي ذو كميات محدودة من العناصر الضرورية [7, 6] . وكما هو معروف من أن منحنى النمو في المزارع النقية Axenic culture يتميز بخمسة مراحل أو أطوار هي

على التوالي: Death phase و, Declining relative growth, Stationary, Exponential, Lag or induction [8]. وخلال المرحلة الاخيرة من التنمية في الوسط الزرعي يلاحظ أن نوعية المياه تتدهور وتتناقص المغذيات وبذلك فأن كثافة الطحالب تتناقص بشكل سريع وبالتالي تنهار المزرعة الطحلبية، وبذلك تتفاوت الاوساط الزرعية في كفاءتها في تحفيز النمو وأطالة مدة حفظ المزرعة الطحلبية، طول أو قصر زمن التضاعف ، إمتداد مرحلة الاستقرار، وبالتالي كفاءة ونشاط الخلية الطحلبية ومكوناتها الحيوية. لذلك فالدراسة الحالية تمثل محاولة لتسليط الضوء عن كفاءة ثلاثة أوساط زرعية متباينة في محتوياتها في التأثير على خصائص وأطوار النمو والكثافة العددية لأفراد طحلب *S. quadricauda*.

مواد وطرائق العمل

تم عزل الطحلب المدروس حسب طريقة Dilution method كما في [9] باستخدام الوسط الزرعي (*Chu10) المحور من قبل [6] فضلا عن استعمال طريقة Streaking method على الاطباق المختبرية كما ذكر في [10] باستعمال اوساط صلبة ثم تصليب الوسط باستخدام الاكار بنسبة 2% لغرض العزل. تم تنقية العزلة حسب [11] للوصول الى العزلة النقية Axenic culture. حضرت الاوساط المحورة (Chu10 , Rippka & Herdaman1992,BG11 * و Chu13: Yamaguchi *et al.* 1987). المستعملة في الدراسة الحالية على شكل محاليل خزينة واخذت منها الاحجام الملائمة للوصول الى التراكيز المطلوبة حسب (جدول 1) اذ تم تنمية العزلات بواقع ثلاث مكررات للمعاملة والسيطرة تحت درجة حرارة 2±25 مئوية داخل حاضنة معقمة وتحت شدة اضاءة 3000 لوكس ضمن نظام ضوئي 8- 16 ساعة اضاءة ظلام طيلة مدة التجربة ولمدة 25 يوم، مع الرج اليومي ثم عد الخلايا لجميع المعاملات والسيطرة يوميا باستخدام طريقة القطاع المستعرض transect باستخدام شريحة عد الكريات haemocytometar وعبر عن النتائج بخلية / مل . تم قياس الامتصاصية لجميع المعاملات يوميا على طولين موجيين 540 - 650 نانومتر لغرض حساب رسم منحنى النمو وحساب معدل النمو (µ) وزمن التضاعف (G) حسب المعدلات التالية :

µ = Log Nt – Log N0 \t*3.322 . Huang *et al* [12a]

$G = (Log^2 / \mu$. Huang *et al*., [13b].

جدول (1) تراكيز ومكونات الاوساط الزرعية المستعملة بالتجربة

ت	المادة	التركيز النهائي المطلوب mg/l		
		BG11*	Chu13*	Chu10*(cont).
.1	K_2HPO_4	40	--	10
.2	K_2PO_4	--	80	--
.3	$NaNO_3$	1500	--	20
.4	KNO_3	--	400	--
.5	$MgSO_4.7H_2O$	75	200	25
.6	$Cacl_2$	36	107	40
.7	Na_2CO_3	20	--	20
.8	$FeCl_3$	--	--	0.8
.9	Ferric ammonium citrate	6	20	--
.10	Citric Acid	6	100	--
.11	EDTA-Na	1	--	10
.12	NaCl	--	--	75
.13	$NaSiO_3$	--	--	14.25
.14	Micronutrient Solution			
.15	H_3BO_3	.0610	57.2	0.720
.16	$MnCl_2$	--	3.62	0.050
.17	$MnSO_4.H_2O$	0.169	--	--
.18	$ZnSO_4.7H_2O$	0.287	0.440	0.560
.19	$CoCl_2$	--	0.200	0.0100
.20	$C_4SO_4.5H_2O$	0.0025	0.160	0.200
.21	$(NH4)6Mo7O_{24}.4H2O$	0.00125	--	0.070
.22	$NaMo_4$	--	0.084	--
.23	pH	--	7.5	6.4

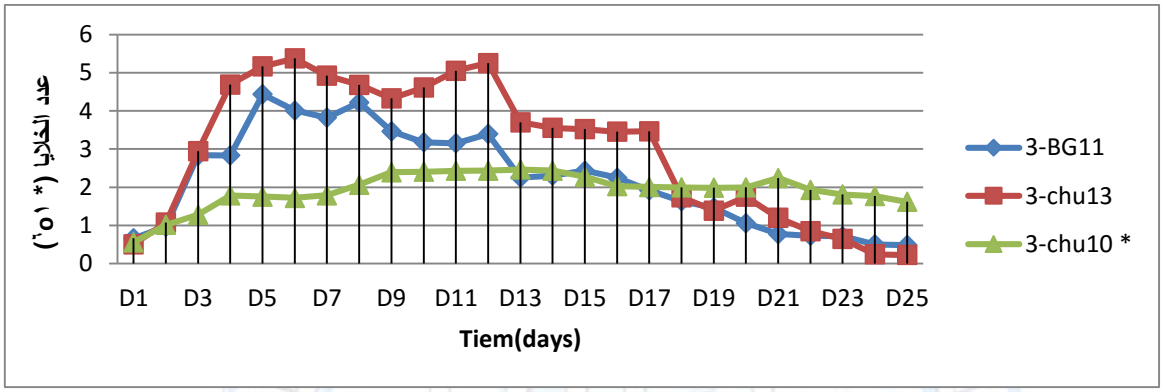
BG11*:(Rippka & Herdaman[14], Chu10 Kassim *etal*.,[6]Chu13*: (Yamaguchi *et al.* [16]

النتائج والمناقشة

بهدف تقييم ومقارنة اختلاف نوعية الوسط الزرعي المستعمل لتنمية الطحلب *S. quadricauda* على منحنى النمو واعداد الخلايا ومعدل وزمن التضاعف تم تطبيق استعمال ثلاثة أوساط هي Chu10 -BG11- Chu13أظهرت النتائج وبشكل واضح التأثير المتباين لهذه الاوساط على عدد الخلايا خلال مدة التجربة والتي استمرت 25 يوماً، اذ حصل تغيير في شكل منحني النمو وإمتداد الاطوار لمنحنى النمو للمعاملات المختلفة، اذ امتد الطور اللوغاريتمي للوسط Chu10 لغاية

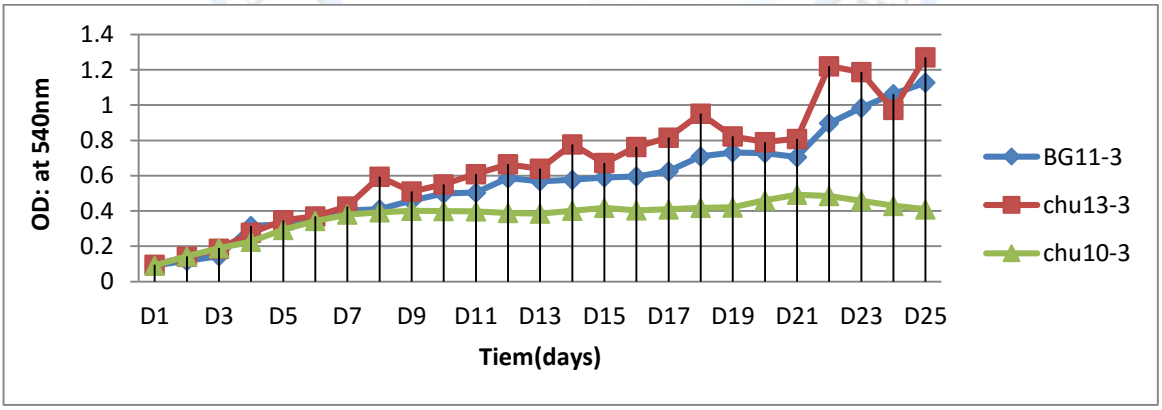
ثائر محمد ابراهيم العكيلي ابراهيم مهدي السلمان

اليوم التاسع، وللوسط BG11 لليوم الخامس،اما للوسط Ch13 إمتد لليوم السادس. بينما امتد طور الاستقرار للوسط Chu10 من اليوم التاسع الى نهاية التجربة، اما في الوسطين الاخرين فقد اظهر تذبذب في اعداد الخلايا استمر الى اليوم الثاني عشر، أما في ما يخص الطور الاخير لمنحني النمو فلم يظهر بشكل واضح في الوسط Chu 10 المحور، أما في الوسطين BG11 و Chu13 فقد بدأ التدهور او النقص في اعداد الخلايا منذ اليوم الثاني عشر وكما يظهر في (شكل 1).



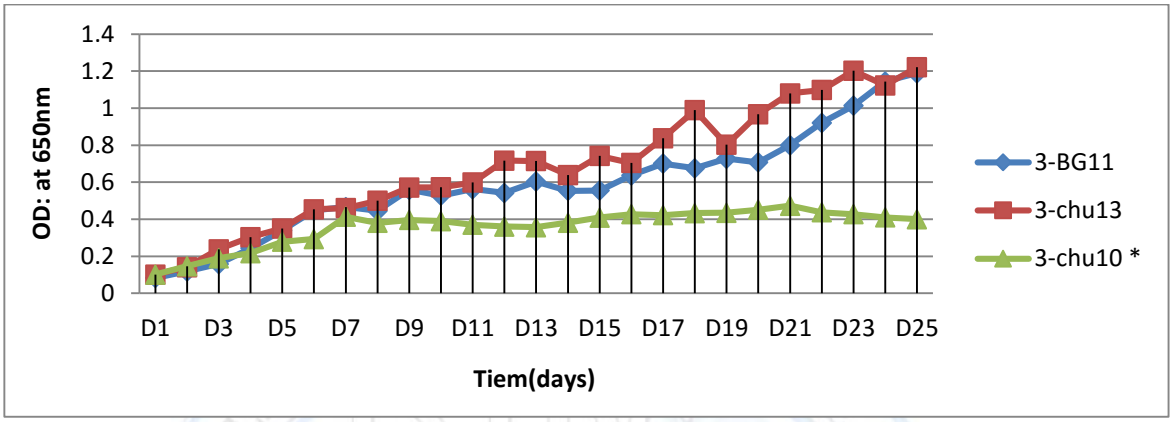
شكل(1) منحنى النمو للطحلب *S. quadricauda* في الاوساط الثلاثة اعتماداً على حساب عدد الخلايا ($1o^6$ *)

أما منحنى النمو للطحلب المدروس والمرسوم اعتمادا على الامتصاصية عند الطول الموجي 540 نانوميتر فقد كانت القيم متقاربة لجميع المعاملات حتى اليوم السابع وبفروقات قليله بين المعاملات الثلاثة، وبعد اليوم السابع استقرت قيمه الامتصاصية للوسط Chu10 حتى نهاية التجربة وكانت بين (0.38-0.49) بينما استمرت قيم الامتصاصية بالارتفاع في الوسطين BG11 و Chu13 وكانت بين (0.40 -1.12) و (0.42 - 1.27) على الترتيب وكما في (الشكل 2) .



شكل (2) منحنى النمو للطحلب *S. quadricauda* في الاوساط الثلاثة اعتماداً على تقدير الامتصاصية (540nm)

وعند الاعتماد على قيم الامتصاصية عند الطول الموجي 650 نانوميتر فقد كانت النتائج على الترتيب للأوساط Chu13,BG11, Chu10 (0.47-0.41) و (1.18- 0.46) و (1.22 - 0.46) كما في (شكل3).



شكل(3) منحنى النمو للطحلب *S.quadricauda.* في الاوساط الثلاثة اعتماداً على الامتصاصية(650nm).

ومن الجدير بالذكر عند المعاملات الثلاث لم يظهر طور الموت Death phase بشكل واضح بما يخص استخدام الامتصاصية على الطولين الموجيين بالرغم من تناقص اعداد الخلايا الذي يتضح عند رسم منحني النمو للطحلب الاخضرالمدروس اعتمادا على اعداد الخلايا والمبينة في (شكل 1) مقارنة مع الشكلين (2 و 3). مما يبين أن الأعتماد على قيم الامتصاصية لوحدها لمتابعة أطوار النمو وتقديرمستوى التحفيز تعد غير كافية لأنها تتأثر على مايبدو بحجم الخلايا وليس فقط بعددها وكثافتها، وهذا الاستنتاج يتفق مع ماذهب اليه الباحثون [17, 4] وغيرهم من أن خلايا الطحالب المختبرة تصبح قليلة العدد جدا ولكنها تميل الى زيادة في الحجم عند المعاملة بأوساط زرعية مختلفة أو تغير في العوامل البيئية خلال زمن المعاملة، وكذلك ربما يعود التغير في قيم الامتصاصية الى تغير لون الوسط نتيجة لموت أعداد كبيرة من الخلايا الطحلبية وأختلاف درجات اللون، وقد تم ملاحظة هذه المتغيرات في اللون وحجم الخلايا أثناء التجارب المختبرية التي طبقت في الدراسة الحالية، وكما مبين شكل (4:A.B.C).

A: الشكل الطبيعي للخلايا، B: تغير في حجم الخلايا، C:تغير لون مزرعة الطحلب.

شكل (4) يبين أختلاف لون الوسط وحجم خلايا الطحلب *S. quadricauda* المدروس في بداية ونهاية التجربة.

وكما يتضح من الجدولين (2 و3) اللذان يبينات نتائج معاملات النمو وزمن التضاعف ومعدلاتها للطحلب المدروس اعتمادا على عدد الخلايا، والتي حسبت كمعدلات بعد سبعة واربعة عشر وخمسة وعشرون يوماً، نجد أن اعلى معدل نمو لسبعة ايام سجل في الوسط الغذائي Chu13 وبلغ (0.768) أما اقل معدل نمو (0.371) وسجل للوسط Chu10 . اما اعلى زمن تضاعف لنفس المدة فقد سجل في معاملة Chu10 وبلغت (21.631 ساعة) أما اقل زمن تضاعف فسجل عند الوسط Chu13 وبلغ (9.874 ساعة) ، عند حساب معدلات لاربعةعشر يوما فقد سجل اعلى معدل نمو في الوسط Chu13 وبلغ (0.559) واقل زمن تضاعف اذا بلغ (15.784 ساعة) لنفس الوسط اما اعلى زمن تضاعف فقد سجل للوسط Chu10الزرعي وبلغ (28.149 ساعة وعند حساب معدلات النمو وزمن التضاعف لخمسة وعشرون يوماً، ظهر اعلى معدل نمو في الوسط Chu13 وبلغ (2.974) واقل زمن تضاعف (9.096) ساعة.

جدول (2) قيم معدل النمو وزمن التضاعف للطحلب *S. quadricauda* في اوساط زرعية مختلفة اعتمادا على عدد الخلايا خلال المدد الزمنية للتجربة.

3-BG11		3-chu13		3-chu10 *		Time/day
K	G	K	G	K	G	D1
0.66	0.67	0.51	0.52	0.56	1.52	**D1**
0.97	0.61	1.08	0.36	1.02	0.57	**D2**
2.84	0.36	2.94	0.29	1.28	0.68	**D3**
2.83	0.47	4.69	0.32	1.79	0.64	**D4**
4.43	0.47	5.16	0.38	1.76	0.81	**D5**
4.01	0.59	5.37	0.45	1.72	0.99	**D6**
3.82	0.71	4.92	0.55	1.79	1.12	**D7**
4.22	0.77	4.68	0.64	2.08	1.16	**D8**
3.47	0.96	4.33	0.74	2.40	1.18	**D9**
3.18	1.11	4.61	0.80	2.41	1.31	**D10**
3.15	1.23	5.05	0.85	2.43	1.43	**D11**
3.39	1.29	5.25	0.92	2.45	1.56	**D12**
2.25	1.77	3.70	1.14	2.47	1.67	**D13**
2.31	1.88	3.56	1.25	2.44	1.82	**D14**
2.43	1.95	3.52	1.34	2.28	2.03	**D15**
2.25	2.18	3.46	1.44	2.03	2.34	**D16**
1.92	2.57	3.47	1.53	2.01	2.50	**D17**
1.63	3.10	1.74	2.30	1.99	2.66	**D18**
1.47	3.59	1.39	2.83	1.99	2.82	**D19**
1.06	5.35	1.75	2.55	1.99	2.96	**D20**
0.78	9.36	1.20	3.49	2.24	2.87	**D21**
0.73	11.32	0.85	5.01	1.93	3.33	**D22**
0.72	12.46	0.65	7.54	1.81	3.65	**D23**
0.50	152.71	0.24	-14.89	1.77	3.88	**D24**
0.49	315.55	0.23	-12.87	1.62	4.39	**D25**
55.51	533.03	74.35	9.480	48.26	49.89	**المجموع**
2.220	21.321	2.974	0.379	1.930	1.999	**المعدل**

جدول(3) مقارنة قيم معدل النمو وزمن التضاعف للطحلب *S. quadricauda* في اوساط زرعية مختلفة اعتماداً على عدد الخلايا للأيام 7،14، 25.

الوسط	7 يوم		14 يوم		25 يوم	
	G (ساعة)	G (ساعة)	G (ساعة)	G (ساعة)	G (ساعة)	K
Chu 10	21.631	21.631	47.904	47.904	21.631	0.371
Chu 13	9.874	9.874	9.096	9.096	9.874	0.768
BG 11	13.320	13.320	511.704	511.704	13.320	0.570

الجدولين (4 و5) تبين نتائج حساب معدلات النمو وزمن التضاعف للطحلب المدروس اعتمادا على الامتصاصية 540 نانوميتر لمدة التجربة وللأيام (7-14-25) للأوساط الثلاثة، إذ سجل معدل النمو لسبعة ايام في وسط Chu13 (0.41) ، اما اقل معدل نمو فقد سجل للوسط BG11 (0.38) . أما اعلى زمن تضاعف فقد سجل عند الوسط BG11 وبلغ (19.18 ساعة) اما اقل زمن تضاعف للوسط Chu13 كان (17.6 ساعة)، أما نتائج معدلات عند اليوم الرابع عشر عند الوسط Chu13 بلغ اعلى معدل النمو (0.34) واقل زمن تضاعف (21.8 ساعة) وكان اقل معدل نمو سجل للوسط Chu10 وكان (0.30) وبزمن تضاعف (25.8 ساعة) وعند حساب المعدلات عند اليوم الخامس والعشرين نجد أن اعلى معدل نمو كان في الوسط Chu13 وبلغ (0.27) واقل زمن تضاعف (29.7 ساعة) بينما اقل معدل نمو كان في الوسط Chu10 (0.22) وبزمن تضاعف (39.3 ساعة) .

جدول (4) قيم معدل النمو وزمن التضاعف لطحلب *S. quadricauda* في اوساط زرعية مختلفة اعتمادا على امتصاصية (540nm) خلال المدد الزمنية للتجربة.

3-BG11		3-Chu13		3-Chu10 *		Time/day
K	G	K	G	K	G	
0.33	0.90	0.36	0.80	0.30	1.01	**D1**
0.30	0.87	0.46	0.66	0.48	0.63	**D2**
0.37	0.92	0.44	0.69	0.45	0.66	**D3**
0.53	0.57	0.47	0.64	0.40	0.70	**D4**
0.43	0.70	0.44	0.68	0.40	0.76	**D5**
0.39	0.78	0.38	0.78	0.37	0.82	**D6**
0.35	0.86	0.36	0.84	0.33	0.89	**D7**
0.31	0.97	0.37	0.81	0.30	0.99	**D8**
0.30	1.02	0.31	0.98	0.27	1.11	**D9**
0.28	1.09	0.29	1.00	0.24	1.24	**D10**
0.25	1.19	0.28	1.10	0.22	1.36	**D11**
0.25	1.20	0.26	1.10	0.20	1.51	**D12**
0.23	1.32	0.24	1.27	0.18	1.65	**D13**
0.21	1.41	0.24	1.20	0.17	1.73	**D14**
0.20	1.50	0.21	1.44	0.17	1.81	**D15**
0.19	1.59	0.21	1.44	0.15	1.96	**D16**
0.18	1.65	0.20	1.49	0.15	2.07	**D17**
0.18	1.65	0.20	1.48	0.14	2.17	**D18**
0.18	1.72	0.18	1.66	0.13	2.28	**D19**
0.17	1.81	0.17	1.77	0.13	2.28	**D20**
0.16	1.93	0.16	1.84	0.13	2.31	**D21**
0.17	1.83	0.18	1.60	0.12	2.44	**D22**
0.16	1.84	0.17	1.74	0.11	2.63	**D23**
0.16	1.87	0.15	1.95	0.11	2.85	**D24**
0.16	1.91	0.16	1.84	0.099	3.05	**D25**
6.49	**33.1**	**6.89**	**31.04**	**5.759**	**40.96**	**المجموع**
0.259	**1.324**	**0.275**	**1.241**	**0.221**	**1.638**	**المعدل**

جدول (5) معدل النمو و زمن التضاعف للطحلب *S. quadricauda* في اوساط زرعية مختلفة اعتماداً على الامتصاصية (540nm). خلال الايام 7, 14, 25.

الوسط	7 يوم		14 يوم		25 يوم	
	G (ساعة)	K	G (ساعة)	G (ساعة)	G (ساعة)	K
Chu 10	18.905	0.390	39.312	39.312	18.905	0.390
Chu 13	17.623	0.414	29.798	29.798	17.623	0.414
BG 11	19.184	0.386	31.776	31.776	19.184	0.386

الجدولين (6 و 7) يبينان نتائج حساب معدلات النمو وزمن التضاعف للطحلب المدروس اعتماداً على امتصاصية 650 نانوميتر، وكذلك المعدلات لأيام (7،14،25)، وقد كانت النتائج مقاربة للنتائج التي سجلت في امتصاصية540 نانوميتر للأوساط BG11 , Chu13 مع تسجيل وملاحظة فروق قليلة باستثناء زمن التضاعف عند اليوم 25.

جدول (6) معدل النمو وزمن التضاعف للطحلب *S.quadricauda*. في اوساط زرعية مختلفة اعتمادا على الامتصاصية 650nm خلال المدد الزمنية للتحربة.

3-BG11		3-chu13		3-chu10 *		Time/day
K	G	K	G	K	G	
0.35	0.85	0.34	0.90	0.497	0.62	**D1**
0.43	0.69	0.41	0.74	0.51	0.59	**D2**
0.43	0.70	0.52	0.57	0.46	0.65	**D3**
0.48	0.63	0.48	0.63	0.40	0.76	**D4**
0.48	0.63	0.43	0.71	0.39	0.77	**D5**
0.46	0.65	0.42	0.72	0.34	0.89	**D6**
0.41	0.74	0.36	0.84	0.36	0.84	**D7**
0.35	0.87	0.33	0.91	0.30	1.00	**D8**
0.35	0.87	0.32	0.96	0.27	1.10	**D9**
0.30	0.99	0.28	1.06	0.24	1.24	**D10**
0.28	1.06	0.26	1.14	0.22	1.40	**D11**
0.26	1.18	0.26	1.14	0.19	1.56	**D12**
0.20	1.22	0.24	1.24	0.18	1.69	**D13**
0.22	1.36	0.21	1.41	0.17	1.75	**D14**
0.21	1.46	0.21	1.41	0.17	1.80	**D15**
0.21	1.46	0.20	1.54	0.16	1.88	**D16**
0.20	1.49	0.20	1.51	0.15	2.01	**D17**
0.19	1.61	0.20	1.49	0.14	2.09	**D18**
0.18	1.64	0.18	1.72	0.14	2.20	**D19**

0.17	1.75	0.18	1.67	0.13	2.27	**D20**
0.17	1.75	0.19	1.68	0.13	2.33	**D21**
0.17	1.73	0.17	1.75	0.12	2.55	**D22**
0.17	1.75	0.17	1.77	0.11	2.70	**D23**
0.17	1.75	0.16	1.90	0.11	2.88	**D24**
0.17	1.80	0.16	1.91	0.099	3.04	**D25**
7.06	30.63	6.88	31.32	5.986	40.61	**المجموع**
0.282	1.225	0.275	1.252	0.239	1.624	**المعدل**

جدول (7) معدل نمو وزمن التضاعف للطحلب *S. quadricauda* في اوساط زمنية مختلفة اعتماداً على الامتصاصية 650nm خلال المدد الزمنية للتجربة

25 يوم		14 يوم		7 يوم		الوسط
K	G (ساعة)	K	G (ساعة)	G (ساعة)	G (ساعة)	
0.239	38.985	0.323	25.467	17.526	17.526	Chu 10
0.275	30.048	0.347	22.198	17.468	17.468	Chu 13
0.282	29.400	0.359	21.381	16.833	16.833	BG 11

وكما يشير الباحثون [20, 19, 18] بأن تحديد معدلات النمو وزمن التوالد (التضاعف) generation time في الاوساط والظروف المتشابهة والمختلفة من الضروري أن يحسب أو يحدد بالتجارب العملية، لأن مصداقية هذه التجارب تأتي من خلال عد الخلايا أومعرفة كثافتها إما بوساطة جهاز haemocytometar أو electronic particle counter ومتفق بين الباحثين عن دقة هاتين الطريقتين، وعلى ضوء الارقام المتحصل عليها من خلال القياس لمرة / يوم أو متابعة معدل نمو الطحالب أو Plots of number of cells against time (in days) ، إذ يمكن من خلال هذه المعطيات حساب معدل النمو النوعي أو ثابت النمو Specific growth rate or growth constant (u)، وزمن التوالد and division (tg) or generation time(tg) . ومنحنى النمو النموذجي يظهر أطوار a lag phase, an exponential or log phase, and a stationary or plateau phase عندما تحصل زيادة في مستوى الكثافة، أما عند طور Stationary phase من المحتمل أن يتحدد بمصادر الضوء والحرارة والاس الهيدرجيني والمغذيات وغيرها من العوامل المتداخلة، وهذه التفسيرات تتماشى مع ماذكره الباحثون [21, 8]. كما يبين الباحثون أن دورة حياة الخلية الطحلبية تبدأ منذ إنفصالها من الخلية الام بأي طريقة من طرق التكاثر المعروفة حتى بلوغها مرحلة الانقسام الجديد. وهذه السلسلة تعتمد بشكل اساس على كفاية وطبيعة الخلية في عملية التنظيم العضوي التي تحتاج الى دعم وتنظيم البروتينات والدهون والانزيمات وكذلك تنظيم مسارات الايض الاخرى وحركية وفعالية السايتوبلازم [25,24]. ويؤكد الباحثون [26] الذين طبقوا مجموعة من الدراسات حول تأثير بعض العوامل البيئية على بعض أجناس الطحالب الخضر *Chlorella, Scenedesmus, Chlorococcum, Neochloris* من أن بعض هذه الطحالب تنمو بشكل سريع مع المحافظة على الحجم الاعتيادي للخلايا مقرونة بزيادة متميزة للعد ثم تقوم

بمراكمة الدهون، بينما اجناس اخرى لكي تضاعف كمية الدهون مثلا في بداية النموكانت لديها الزيادة في العدد أقل ولكن حجم الخلايا كان أكبر، ولهذا يفسر بعض الباحثون بأن الزيادة في العدد والنمو تكون متزامنة مع تراكم الدهون في خلايا هذه الاجناس وتتباين اجناس الطحالب في مقدار الاستجابة وتحفيز النمو والمكونات الداخلية للخلية. لذلك نؤكد من خلال الدراسة الحالية والنتائج المتحصل بأنه يجب اختيار نوعية الوسط من حيث طبيعة وكمية المغذيات وكذلك العوامل الفيزيائية من حيث درجة الحرارة وشدة الاضاءة ونوعية الاضائة وزمن التعرض لها ، وكذلك جنس الطحلب المستهدف بالتنمية أو التحفيز ناهيك عن نوعية المكونات الحية المطلوب الحصول عليها من بروتينات أو دهون أو كاربوهيدرات وغيرها لغرض الحصول على نتائج أفضل بأقل الكلف مع اختصار زمن التضاعف أو الرغبة في اطالة زمن حفظ المزرعة الطحلبية.

الاستنتاجات

من النتائج المتحصل عليها من الدراسة الحالية يمكن التوصل الى الاستنتاجات الآتية:

1. أن أستجابة أفراد الجنس المدروس *S.quadricauda* كانت مختلفة بين الاوساط الزرعية الثلاثة.
2. أختلاف كفاءة الاوساط استناداً الى طبيعة مكوناتها من العناصر والمغذيات في تحفيز معدل النمو وزمن التضاعف وأمتداد زمن الاستقرار.
3. كان الوسط Chu13 الافضل في تسجيل أعلى معدل نمو وأقل زمن تضاعف مقارنة مع الاوساط الاخرى، يليه الوسط BG11.
4. بينت النتائج أن الوسط Chu10المحور ممكن استعماله لأدامة وحفظ المزرعة النقية للطحلب المدروس لمدة أطول ضمن الظروف المطبقة بالدراسة، ولكنه ذو أعاشه بيئية محدودة لزيادة معدلات النمو وأعداد الطحالب مقارنة بالاوساط Chu13 , BG11 .

المصادر

1. Sanchez, J. F; Fernandez, J. M; Sevilla, F. G; Acien, M. C; Ceron, J; Perez-Parra, K and Molina- Grima. E (2008). Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis:* influence of irradiance, dilution rate and temperature. Applied Microbiol, and Biotechnol, 79(5):719-729.
2. Cassidy, K.O (2011). Evaluating algal growth at different temperature. Theses of dissertation –Biosystem agricultural Engenering, paper 3, Lexington Kentucky.
3. Mayo, A. W. (1997). Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria. Water Environ, Research 69(1):64- 72.
4. AlSalman, I.M.A; Blekhaonv, S and Tletchenko, M (1990). Toxicity of ZN, Cd and Co for *Scenedesmus quadrecauda* : Biotesting by photosynthetic characteristic, Redcologia journal, Biol. Sci,ODK,581.1:574.632.017.

5. Powell, N; Shilton, A; Pratt, S and Y. Chisti. Y (2008). Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. Environ, Scie & Technol. 42(16):5958-5962.

6. Kassim,T; Al-Saadi; H and Salman; N (1999). Production of some phyto- and Zoopplankton and their use as life food for fish larva. Iraqi.J. Agric. Proc. of. 2 nd, Confer. 4(5):188-201.

7. Ghirardi, M.L (2006). Hydrogen production by photosynthetic green algae. Indian . J.of Biochem , Biophys. 43(4):201-10.

8. Reynolds, C.S (2006). The Ecology of Phytoplankton.1st, Edt. Cambridge Univ, press.UK.535P.

9. Belcher, H and Swale, E (1982).Culturing algae. The Burlington Press, Ltd. Cambridge. 25pp.

10. Hoff, F. H and Snell, T.W (1999). Plankton cultures' Manual .5t Ed, Florida. Aqua.Trams. Inc. Florida.27-58pp.

11. Patterson,G.(1983). Effect of heavy metals on freshwater Chlorophyta. Ph.D. thesis, Univ. Durham, 212pp.

12. Huang, X.H; Li, C. L; Liu, C.W and Zeng ,D.Q (2002a). Studies on the Ecological Factors of *Oocystis borgei* . J. Zhanjiang Ocean. 22 (3):8-12.

13. Huang, X.H; Liu, C.W; Wang , Z.D and Chen, J.J. (2002b). Studies on the Nand Pnutrint demand in *Nannochloris oculata* . J.Marine Scie,(china).26(8):13-17.

14. Rippka, R and Herdman, M.(1992). Pasteur Culture Collection of Cyanobacterial Catalogue and taxonomic handbook, vol . 1: Catalogue of Strains, Inst. Pasteur, Paris ,103pp.

15. Kassim,T; Al-Saadi; H and Salman, N (1999). Production of some phyto- and Zoopplankton and their use as life food for fish larva. Iraqi.J. Agric. Proc. of. 2 nd, Confer. 4(5):188-201.

16. Yamaguchi, K; Kano, H; Murakami, M; Konsu, S; Nakayama, O; kanda, M; Nak-Mura, A and Iwamoto, H. (1987). Lipid composition of green alga *Botryococcus* braunii Agric,Biol,51(2): 493-498.

17. الاسدي، سارا حمود (2015). دراسة بيئية لمجتمع الطحالب وبعض الملوثات البيئية في نهر الحسينية كربلاء المقدسة – العراق، أطروحة دكتوراة ، قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة كربلاء- العراق.

18. Guillard, R.R.L. (1973). Division rates. In, Stein (ed), Handbook of Phycological Methods, V. 1, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 289-312.

19. Schoen, S. (1988). Cell counting. In, Lobban (eds), Experimental Phycology. A Laboratory Manual. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 16-22.

20. Stripp, S.T and Happe, T (2009). How algae produce hydrogen-news from the photosynthetic hydrogenase. Dalton Trans. Dec 7;(45):9960-9. doi: 10.1039/b916246a. Epub 2009 Oct 22.

21. Tortell, P. D (2000). Evolutionary and ecological perspectives in carbon acquisition in phytoplankton. Limnolo, and Oceanog, 45, 744–50.

22. Sorokin, K and Krauss, R. W (1976). The effect of light intensity on the growth rates of green algae, 12,'3, Dept., of Botany – Univ, of Maryland Colle, Park , Mary,-ND.pp: 109-113.

23. Yanqun, Li ; Horsman , M; Bei Wang ,B; Wu, N and Christopher Q. L (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga Neochloris oleoabundans. Appl, Microbiol, Biotechnol 1681-1

24. Alsalman, I.M.A (1989). Infuence of heavy metal, Zn,Cd , Co and Sulfate Ions on green algae, Ph.D, thesis, college of Biology, Moscow State University, USSR.

25. Kassim. T.I; Al-Saadi, H and Jennan, S.Al- Hassany, J,S (2008). Response of diatom Nitzchia *palea* culture to different concentrations of nitrogen, phosphorus and silica. Iraqi ,J of biotechnol. 7 (2): 168-185.

26. Adams, C; Godfrey, V; Bugbee, B ; Wahlen, B and Seefeldt, L (2013). Understanding precision nitrogen stress to optimize the growth and lipid content tradeoff in oleaginous green microalgae. Biores. tech, 131:188-194.