European Journal of Research Development and Sustainability (EJRDS)
Available Online at: https://www.scholarzest.com
Vol. 5 No 02, February 2024
ISSN: 2660-5570

RESPONSE OF GROWTH INDICATORS OF THE TWO ALGAE, *CHROCCOCCUS TURGIDUS* AND *CALOTHRIX FUSCA*, ISOLATED FROM SPRINGS IN NORTHERN IRAQ TO DIFFERENT LEVELS OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL FACTORS

Ibrahim Hamad I. Al-Rajab[1]
Bashar Tareq I. Al-Shandah[2]
1,2 Biolog Department, College of Science, Tikrit University, Iraq.
E-mail[1]: Ibrahimh.hamad93@gmail.com
E-mail[2]: bashar.t.ismael@tu.edu.iq

Article history:

Received: 6th December 2023
Accepted: 4th January 2024
Published: 6th February 2024

Abstract:

A laboratory study was conducted in the Department of Life Sciences, College of Science, Tikrit University, to evaluate the effect of some physical and chemical factors on two types of algae from the Cyanophycophyta division. The algae were isolated, purified, and identified from freshwater springs in the Sulaimaniyah Governorate. The two types of algae were *Chroccoccus turgidus* and *Calothrix fusca*. The algae were activated by repeated subculture on liquid and solid algal media prepared in the laboratory. The study aimed to Evaluate the growth rate (K) and doubling time (G) under the influence of each of the following factors: Growth period (0, 7, 14 days), temperature (20, 24.5, 30 °C), light intensity (400, 1960 Lux), type of culture medium (Chu-10, BG-11), pH (8, 8.5) and Assess the efficiency of the two algae (*C. turgidus* and *C. fusca*). Results**:** The growth rate decreased with increasing experiment time, temperature, light intensity, and pH. The growth rate was 0.313 K on the 14th day of the experiment. The growth rate was 0.308 K at 30 °C. The growth rate was 0.385 K at 1960 Lux. Doubling time increased by 37.74% with increasing experiment time. The high temperature (30 °C) increased the doubling time by 38.93%. Increasing the light intensity to 1960 Lux resulted in the lowest average doubling time with a decrease of 2.24%. The BG-11 medium contributed to a decrease in the growth rate and an increase in the doubling time by 3.29% and 4.15%, respectively. The BG-11 medium recorded the lowest growth rate (0.411 K) and the highest doubling time (1.084 K) compared to the Chu-10 medium, which recorded 0.425 K and 1.039 K. The *C. fusca* species recorded the highest growth rate, achieving an increase of 16.38% compared to the *C. turgidus* species. The *C. turgidus* species required more time to double compared to the *C. fusca* species, with an increase of 2.98%. Increasing the pH from 8 to 8.5 reduced the doubling time by 18.5%.

Keywords: ***Chroccoccus turgidus, Calothrix fusca***, growth rate, doubling time

استجابة مؤشرات النمو للطحلبين *Chroccoccus turgidus, Calothrix fusca* المعزولين من ينابيع شمال العراق الى مستويات مختلفة لبعض العوامل الفيزيائية والكيميائية

ابراهيم حمد ابراهيم الرجب[1] **بشار طارق اسماعيل الشنداح[2]**

2،1 قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة تكريت، العراق

E-mail[1]: Ibrahimh.hamad93@gmail.com
E-mail[2]: bashar.t.ismael@tu.edu.iq

الخلاصة: نفذت دراسة مختبرية في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة تكريت، لتقييم تأثير عوامل بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية على نوعين من الطحالب تحت قسم (Division) الطحالب الخضراء المزرقة (Cyanophycophyta)، معزولة ومنقاة ومشخصة من مياه الينابيع العذبة في محافظة السليمانية، وهما *Chroccoccus turgidus* و*Calothrix fusca* وقد نشطت عن طريق اعادة زراعتها مرارا على الاوساط الزرعية الطحليبة السائلة والصلبة التي تم حضرت في المختبر، وهدفت الدراسة الى تقييم معدل النمو (K) ووقت التضاعف (G) تحت تأثير كل من العوامل التالية: فترة النمو (0، 7، 14)، ودرجة الحرارة (20 و24.5 و30 °م) وشدة الإضاءة (400 و1960 Lux) ونوع الوسط الزرعي (Chu-10 و BG-11) والاس الهيدروجيني (8 و8.5) على كفاءة الطحلبين (*Chroccoccus turgidus* و*Calothrix fusca*)، وكانت النتائج كما يلي: أدى التقدم في زمن التجربة وارتفاع درجة الحرارة وزيادة شدة الاضاءة وزيادة قيمة الاس الهيدروجيني الى خفض معدل النمو ليبلغ 0.313 K عند اليوم الرابع عشر للتجربة، و0.308 K عند 30 °م، 0.385 K عند 1960 Lux. فيما أدى التقدم في زمن التجربة الى زيادة وقت التضاعف بنسبة 37.74%، كما أدت درجة الحرارة العالية 30 °م أدت الى زيادة وقت التضاعف بنسبة 38.93%، وأدى زيادة شدة الاضاءة الى 1960 Lux الى تسجيل أدنى متوسط لوقت التضاعف بنسبة انخفاض مقدارها 2.24%. وساهم الوسط BG-11 في خفض معدل النمو ورفع وقت التضاعف معنوياً بنسبة 3.29% و4.15% على التوالي ليسجل أدنى معدل نمو واعلى وقت تضاعف بقيمة 0.411 K و1.084 K مقارنة بالوسط الغذائي Chu-10 الذي سجل 0.425 K و1.039 K. سجل النوع *C. fusca* اعلى معدل نمو محققاً نسبة زيادة بلغت 16.38% مقارنة بالنوع *C. turgidus*، بينما احتاج النوع *C. turgidus* الى وقت أكثر للتضاعف مقارنة بالنوع *C. fusca*، بنسبة زيادة بلغت 2.98%، فيما أدى رفع قيمة الأس الهيدروجيني من 8 الى 8.5 الى خفض وقت التضاعف بنسبة 18.5%.

الكلمات المفتاحية: ***Chroccoccus turgidus, Calothrix fusca*، معدل النمو، وقت التضاعف.**

المقدمة Introduction

تنتمي الطحالب الخضراء المزرقة إلى الكائنات بدائية النواة Prokaryotes، وتمتاز بقابليتها على القيام بعملية البناء الضوئي وانتاج الاوكسجين نظراً لاحتواء هذه الكائنات على الكلوروفيل A (Larkum, 2020). وتعد المجهز الاكبر للنتروجين المختزل في الطبيعة إذ يمتلك الكثير منها خاصية تثبيت النتروجين الجوي، كما يجهز الكثير منها النتروجين المثبت مباشرة إلى النبات، كما انها تعد من اهم المنتجين لغاز الهيدروجين، إذ يعد ناتج عرضي لعمليات تثبيت غاز النتروجين في الأنواع المثبتة للنتروجين، كذلك تعتبر الطحالب من أكبر المجاميع المجهزة للمواد الاولية، وتعد المنتج الوحيد في بعض الانظمة البيئية (Kumar *et al.*, 2019)

تؤدي الطحالب الخضراء المزرقة دوراً مهماً في بداية العصور الجيولوجية في عملية تحويل جو الارض من اللاهوائي إلى الهوائي من خلال قيامها بعملية البناء الضوئي وانتاج الاوكسجين، كما يعتقد بأن هذه المجموعة هي الاصل الذي ظهرت منها البلاستيدات الخضراء الموجودة في الكائنات حقيقة النواة، كما انها تعتبر المصدر الاساسي للمواد العضوية في نظام البيئة المائية والذي ينتج من خلال قابليتها على القيام بعملية البناء الضوئي، ويشكل بروتينها الخلوي وجدارها الصلب مصدراً غذائياً مهماً للعديد من الكائنات بضمنها الانسان فضلاً عن العديد من المواد التي تطرحها او تفرزها للبيئة (Jassim *et al.*, 2023).

إنّ احدى الاستخدامات المهمة للطحالب الخضراء المزرقة على نطاق التغذية، استعمالها كبروتين خلوي، إذ تستعملها بعض الشعوب الافريقية كغذاء مهم مثل Spirulina ولا زالت تستخدم في كثير من البلدان وتظهر الطحالب الخضراء المزرقة تنوع كبير في أيضها فهي قادرة على إفراز مواد مثل الاحماض الامينية والسكر، الاحماض الدهنية، الفيتامينات والستيرويدات إلى الوسط المحيط بها، فبعضها معروف بقابليتها على انتاج أكثر من مركب ثانوي وبالمقابل فهناك عزلات تشابهها مظهرياً ولا تنتج اي من تلك المركبات (Singh *et al.*, 2023).

يعد النوع *Chroococcus turgidus* نوع من الطحالب الخضراء المزرقة الذي يمكنه البقاء على قيد الحياة في درجات حرارة عالية، وفي المياه المالحة، وحتى في وجود مواد شديدة السمية؛ كما تم الكشف عن أنه من الأنواع الواعدة التي يمكنها إنتاج جزيئات ذات قيمة عالية ومنتجات حيوية مضادة للميكروبات والفطريات، إذ أثارت خصائص السلالة هذه سؤالاً حول ما إذا كان من الممكن أن تكون مرشحًا محتملاً لإنتاج الكتلة الحيوية، فقد استعمل هذا النوع في عدد من دراسات المعالجة الحيوية لمختلف أنواع المياه، مثل تلك الموجودة في المدابغ والأدوية، وتصنيع الهيبوكلوريت، والصرف الصحي، والنفايات السائلة الناتجة عن حفر النفط، وصناعات المنظفات (Sisman-Aydin and Simsek, 2022).

Calothrix fusca هي نوع من الطحالب الخضراء المزرقة تتميز بخيوطها الطويلة والرفيعة. وهي منتشرة على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم، وتوجد في مجموعة متنوعة من الموائل، بما في ذلك المياه العذبة والمالحة، والأراضي الرطبة، والطين (Lavania *et al.*, 2023). إذ يعد *Calothrix fusca* من أنوع الطحالب المهمة في العديد من الموائل، فهو يؤدي دورًا مهمًا في السلسلة الغذائية، حيث يوفر الغذاء للعديد من الكائنات الحية الأخرى، كما يساعد في إزالة الملوثات من الماء، ويستعمل في إنتاج الوقود الحيوي وتصنيع الأدوية (Gupta *et al.*, 2013).

تهدف الدراسة الحالية إلى تنمية نوعين من الطحالب الخضراء المزرقة وهما *Chroccoccus turgidus* و*Calothrix fusca*، ودراسة تأثير مدة النمو ودرجة الحرارة وشدة الاضاءة ونوع الوسط الغذائي ودرجة الاس الهيدروجيني على نمو الطحالب المدروسة.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

الطحالب المستخدمة في الدراسة: اجريت الدراسة باستخدام نوعين من الطحالب من قسم (Division) الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتيريا) (Cyanophycophyta) معزولة ومنقاة ومشخصة من مياه الينابيع العذبة في محافظة السليمانية، وهما *Chroccoccus turgidus* و*Calothrix fusca* وقد تم تنشيطها عن طريق اعادة زراعتها لأكثر من مرة باستعمال الاوساط الزرعية الطحلبية السائلة والصلبة التي تم تحضيرها في المختبر.

الاوساط الزرعية Culture media: استخدم نوعين من الاوساط الزرعية في الدراسة الحالية وهما:

1.وسط Chu-10 المحور Modified Chu-10 medium: يستخدم هذا الوسط في تنمية الطحالب الخضراء المزرقة، وقد تم إدراج مكونات هذا الوسط في الجدول (1) (Al-Shandah, 2016).

2.وسط BG-11 Blue-Green 11 (BG-11) medium: يستعمل هذا الوسط في تنمية الطحالب الخضراء المزرقة في المياه العذبة ايضا، وقد تم إدراج مكونات هذا الوسط في الجدول (2) (Stanier *et al.*, 1971).

الاوساط الزرعية الصلبة Solid culture media: حضرت اوساط زرعية صلبة لنفس الوسطين الزرعيين المستخدمين في التجربة (Chu-10 وBG-11) وذلك باضافة مسحوق مادة الاكار (Agar) بمقدار 15 غم لكل لتر من الوسط السائل مع ملاحظة ضبط قيم الاس الهيدروجين بعد اذابة الاكار بالكامل، وبعد اتمام عملية التعقيم بالاوتوكليف وتبريد الوسط لدرجة حرارة 50-45 م° يصب الوسط في اطباق بتري بمقدار 17 مل للطبق الواحد ثم تترك في الـ Hood المعقم لتبرد ثم تحفظ في الثلاجة بصورة مقلوبة.

جدول (1): مكونات وسط Chu-10 المعدل وتركيز كل مكون من مكوناته

Required volume to prepare the media	Concentration g/L	Chemical formula of each component	Number of stock solution
2.5 ml	10g	MgSO4.7H2O	1
2.5 ml	4g	K2HPO4	2
2.5 ml	8g 16g	NaNO3 CaCl2	3
2.5 ml	0.32g	FeCl3	4
2.5 ml	4g	EDTA-Na2	5
2.5 ml	30g	NaCl	6
2.5 ml	8g	Na2CO3	7
5 ml for each one	0.02g 0.028g 0.224g 0.08g 0.004g 0.288g	MnCl2.4H2O (NH4) 6Mo7O24.4H2O ZnSO4.7H2O CuSO4.5H2O COCl2.6H2O H3BO3	8
2.5 ml	5.7g	Na2SiO3	9

الاس الهيدروجيني pH: قدر الاس الهيدروجيني للأوساط الزرعية باستعمال جهاز pH - Meter من نوع LAQuAtwin - pH 11 من إنتاج شركة HORIBA اليابانية، بعد ضبط معايرة الجهاز باستعمال المحاليل المنظمة ذات قيم للدالة حامضية (9,7,4).

قياس شدة الضوء Light Intensity: تم قياس شدة الاضاءة للمصابيح الضوئية البيضاء التي تم استعمالها في التجارب عن طريق تطبيق Lux Light Meter الذي تم تثبيته على جهاز الموبايل، وعبر عن النتائج بوحدة اللوكس.

قياس معدل نمو الطحالب وزمن التضاعف Measurement of algal growth rate (K) and doubling time (G): تم تحديد معدل نمو الطحالب في التجارب الحالية عن طريق قياسات الكثافة البصرية (Optical density OD) عند طول موجي (540 nm) باستعمال جهاز الطيف الضوئي (Spectrophotometer)، وقد تم حساب معدل نمو الطحالب (K) وزمن تضاعفها (G) وفقا للمعادلات التالية (Huang *et al.*, 2002 a,b):

$$K = \frac{(Log\ OD_t - log\ OD_0)}{T} \quad x\ 3.322$$

$$G = \frac{0.301}{K}$$

t = الوقت بالأيام
$O.D._t$ = النمو بعد نهاية الوقت
$O.D._0$ = النمو عند بداية الوقت

جدول (2): مكونات وسط BG-11 وتركيز كل مكون من مكوناته

Required volume to prepare the media	Concentration No. (1-8) g/500ml No.(9) g/L	Chemical formula of each component	Number of stock solution
10 ml	75.0 g	NaNO3	1
10 ml	2.0 g	K2HPO4	2
10 ml	3.75 g	MgSO4.7H2O	3
10 ml	1.80 g	CaCl2.2H2O	4
10 ml	0.30 g	Citric acid	5
10 ml	0.30 g	Ammonium ferric citrate green	6
10 ml	0.05 g	Na2EDTA	7
10 ml	1.00 g	Na2CO3	8
2 ml	2.86 g 1.81 g 0.22 g 0.39 g 0.08 g 0.05 g	H_3BO_3 MnCl2.4H2O ZnSO4.7H2O Na2MoO4.2H2O CuSO4.5H2O Co(NO3)2.6H2O	9

التجارب المختبرية Laboratory experiments: اجريت أربع تجارب مختبرية في الدراسة الحالية لدراسة تأثير المتغيرات الأربعة وهي الأس الهيدروجيني (pH)، شدة الاضاءة (Light intensity)، درجة الحرارة (Temperature) ونوع الوسط الزرعي المستعمل (Medium type)، على معدل نمو الطحلبين (*C. turgidus* و*C. fusca*) في الوسطين الزرعيين المستخدمين في تنمية الطحالب، إذ تم قياس معدل النمو (K) وزمن التضاعف (G) في الايام (0، 7، 14) من كل تجربة وثبتت النتائج.

التجربة الاولى The first experiment: تمت عملية تنمية النوعين الطحلبين (*C. turgidus* و *C. fusca*) في الوسطين الزرعيين (Chu-10 و BG-11) وذلك بأخذ حملة لوب (Loop) من الاوساط الزرعية النقية الصلبة لهذين الوسطين الزرعيين المستخدمين في التجربة (التي تم زراعتها وحضنها قبل البدء بالتجربة الاولى) والحاوية على الطحلبين النقيين وزراعتها في دوارق مخروطية سعة 250 مل

حاوية على الوسطين الزرعين كل على حدا بمقدار 150 مل من كل وسط زري وبمجموعتين، المجموعة الاولى تضمنت زراعة النوع *C. turgidus* في دورق مخروطي حاوي على الوسط Chu-10 ذو الأس الهيدروجيني 8 وكذلك زراعة نفس النوع *C. turgidus* في دورق مخروطي آخر حاوي على الوسط Chu-10 قيمة أسه الهيدروجيني 8.5، وهكذا الحال مع النوع الطحلبي *C. fusca* ، اي ان كل نوع من الطحلبين تم زراعتها في الوسطين الزرعيين كل على حدا مرة بقيمة أس هيدروجيني 8 واخر 8.5 اي بواقع 8 دوارق لكل تجربة، وقد حضنت هذه الدوراق المخروطية الملقحة في حاضنة مبردة (Cooling Incubator) لمدة (14) يوم عند درجة حرارة (24.5 م^0) مثبت في داخلها مصباح ضوئي ابيض اللون بشدة اضاءة (400 Lux) وبفترة اضاء 16:8 (16 ساعة ضوء، 8 ساعات ظلام)، وقد تم قياس جميع العوامل المدروسة في الدراسة الحالية في الايام (0، 7، 14) من الحضن.

التجربة الثانية The second experiment: اجريت التجربة الثانية بعد انتهاء التجربة الأولى وبنفس خطوات التجربة الأولى سابقة الذكر الا ان درجة حرارة الحضن كانت (24.5 م^0) وشدة الإضاءة (1960 Lux).

التجربة الثالثة Third experiment: اجريت التجربة الثالثة بعد انتهاء التجربة الثانية وبالخطوات نفسها التجربة الاولى الا ان درجة حرارة الحضن كانت (20 م^0) وشدة الإضاءة (1960 Lux).

التجربة الرابعة Fourth experiment: اجريت التجربة الرابعة بعد انتهاء التجربة الثالثة وبنفس خطوات التجربة الاولى الا ان درجة حرارة الحضن كانت (30 م^0) وشدة الإضاءة (1960 Lux).

التحليل الاحصائي Statistical analysis: نفذ التحليل الاحصائي باستخدام البرنامج الحاسوبي Statistical Analysis System (SAS).

1. تحليل التباين Analysis of variance Test (ANOVA): يوضح هذا الاختبار وجود فروق معنوية أو عدم وجودها بين مستويات عوامل الدراسة (أيام التجربة، درجة الحرارة، شدة الضوء، الوسط الزرعي، نوع الطحالب، الاس الهيدروجيني)، على مستويات (معدل النمو وزمن التضاعف) بحسب المتغيرات (أيام التجربة) غير أن هذا التحليل لا يوضح أي المستويات التجريبية لعوامل الدراسة هو المسؤول عن احداث هذه الفروق في المتغيرات المدروسة عند مستوى معنوية $P\leq0.05$.
2. اختبار دنكن للمقارنات المتعددة Duncan test: يعد هذا الاختبار مكمل لاختبار تحليل التباين إذ يوضح اي المتغيرات الفئوية تختلف عن الاخرى في احداث المتغيرات المعنوية المدروسة عند مستوى معنوية $P\leq0.05$.

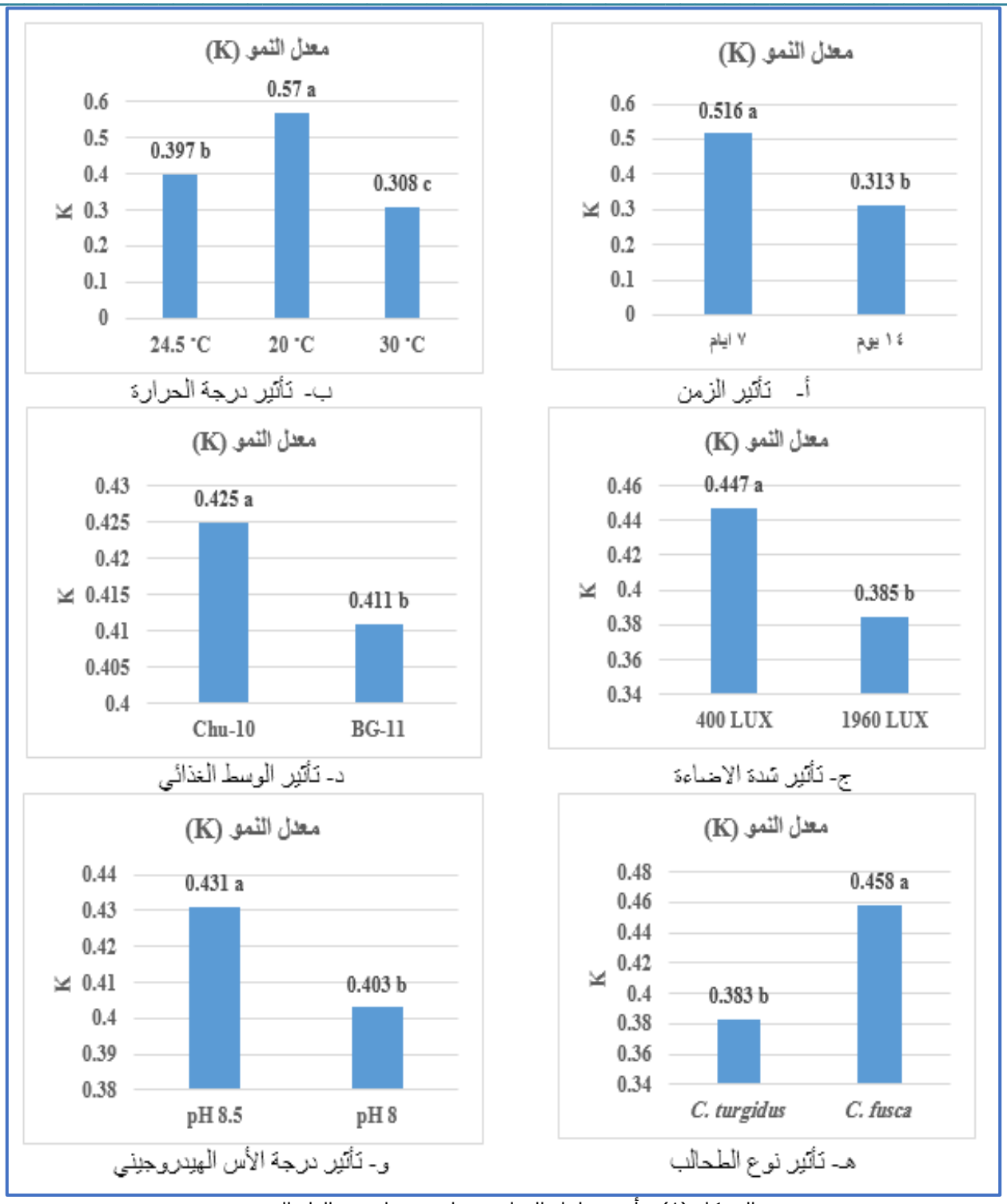
النتائج والمناقشة Results and discussion

1- معدل النمو للطحالب Growth rate of algae (K)

1-1- معدلات تأثير عوامل الدراسة في معدل النمو (K) Rates of influence of study factors on the growth rate (k)

1-1-1 الزمن (Time): اظهرت نتائج الشكل (1-أ) وجود تأثير معنوي للزمن على معدل نمو الطحالب عند ثبوت العوامل الاخرى، إذ نلحظ انخفاض معدل النمو(K) مع التقدم في زمن التجربة، ليصل معدل النمو(K) إلى 0.313 عند اليوم الرابع عشر للتجربة بانخفاض نسبي قدره 39.34% مقارنة بمعدل النمو (K) عند اليوم السابع والذي بلغ 0.516.

1-1-2 درجة الحرارة (Temperature): يبين الشكل (1-ب) معدل تأثير درجة الحرارة على معدل نمو الطحالب، إذ نلحظ وجود تأثير معنوي للتغير في درجة الحرارة على معدل النمو (K)، فقد أدى الارتفاع في درجة الحرارة إلى تأثير عكسي في معدل النمو (K)، إذ خفّضت درجة الحرارة العالية 30 °م من معدل النمو بنسبة 45.95% مسجلةً أدنى معدل بقيمة 0.308 مقارنة بأعلى معدل نمو عند درجة الحرارة الواطئة 20 °م والذي بلغ 0.57.



الشكل (1): تأثير عوامل الدراسة على معدل نمو الطحالب.

3-1-1 شدة الاضاءة (Light intensity): نلحظ من الشكل (1-ج) أن معدل تأثير مستوى الاضاءة كان له تأثير عكسي معنوي على معدل نمو طحالب السيانوبكتيريا، إذ أدت زيادة شدة الاضاءة إلى 1960 Lux إلى تسجيل أدنى متوسط لمعدل النمو (K) والذي بلغ 0.385 بنسبة انخفاض مقدارها 13.87% مقارنةً بمستوى الاضاءة 400 Lux إذ بلغ معدل النمو عنده 0.447.

4-1-1 نوع الوسط الغذائي (Type of media): أظهر الشكل (1-د) وأن معدل نمو الطحالب تأثر معنوياً بنوع الوسط الغذائي المستخدم في الدراسة، إذ وجد ان الوسط BG-11 ساهم في خفض معدل النمو معنوياً بنسبة 3.29% ليسجل أدنى معدل نمو بقيمة 0.411 مقارنة بالوسط الغذائي Chu-10 الذي سجل 0.425.

5-1-1 نوع الطحالب (Algal species): أظهر نوعي الطحالب قيد الدراسة اختلافاً معنوياً في معدلات النمو، إذ يبين الشكل (1-ه) أن النوع *C. fusca* سجل اعلى معدل نمو(K) بلغ 0.458، محققاً نسبة زيادة بلغت 16.38% مقارنة بالنوع *C. turgidus* الذي بلغ معدل نموه 0.383.

6-1-1 درجة الأس الهيدروجيني (pH): يبين الشكل (1-و) وأن زيادة قيمة الأس الهيدروجيني كان لها تأثير طردي على معدل نمو السيانوبكتيريا، إذ أدى رفع قيمة الأس الهيدروجيني من 8 إلى 8.5 إلى زيادة معدل النمو(K) بنسبة 6.50% من خلال رفع معدل النمو (K) من 0.403 إلى 0.431 عند درجتي الاس الهيدروجيني 8 و8.5 على التوالي.

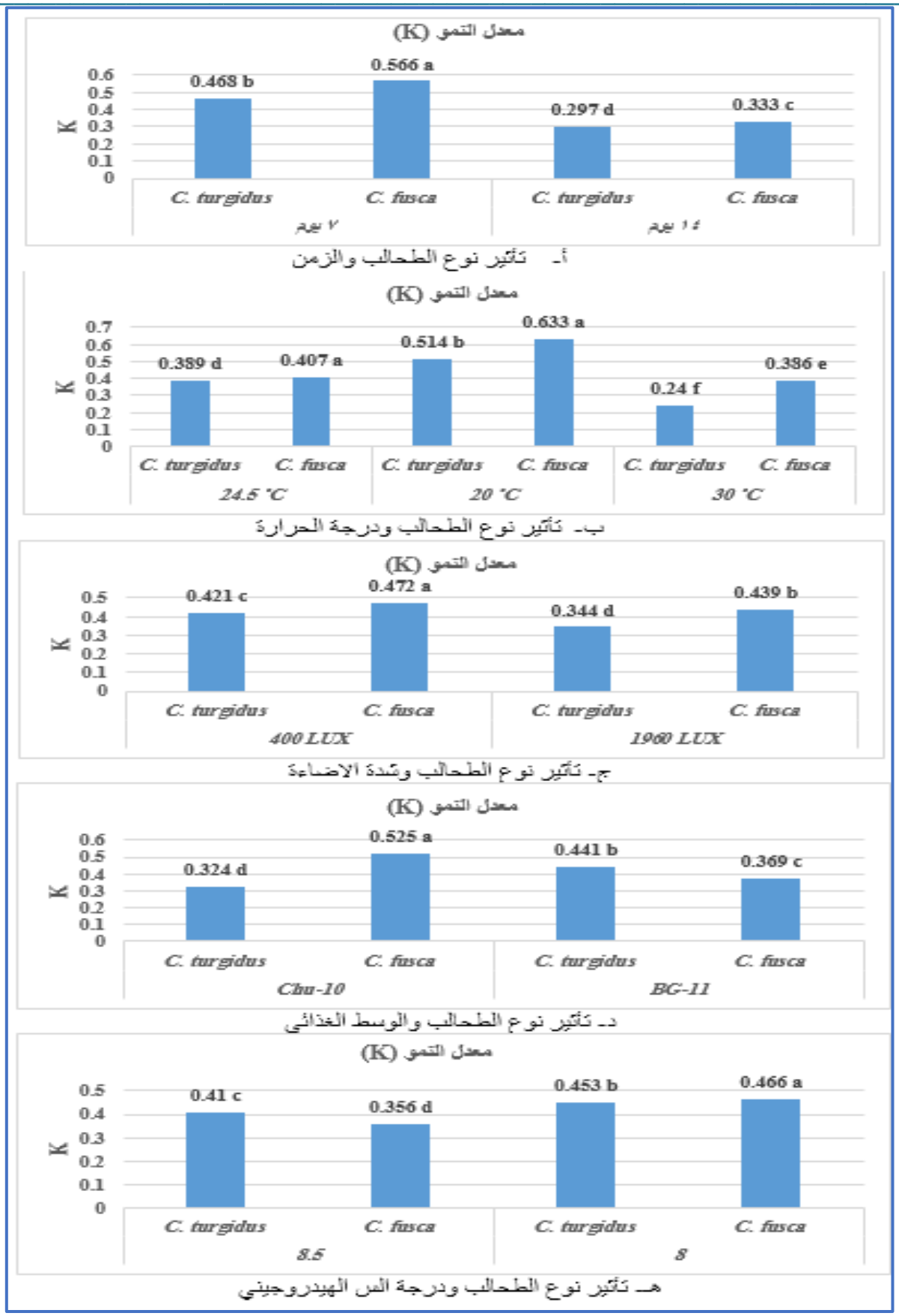
2-1- تأثير التداخل بين نوع الطحالب وعوامل الدراسة الأخرى في تركيز معدل النمو (K) The effect of the interaction between the type of algae and other study factors on the concentration of growth rate (K)

1-2-1 الزمن (Time): تظهر في الشكل (2-أ) معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب والفترة الزمنية على معدل النمو، وفيها نلحظ أن معدل النمو لنوعي الطحالب بلغ ذروته عند اليوم السابع من التجربة مسجلةً معدلات نمو (K) بلغت 0.566 و0.468 للنوعين المدروسين *C. fusca* و*C. turgidus*، ثم اخذ بالانخفاض مع تقدم الزمن لتبلغ نسبة الانخفاض عند اليوم الرابع عشر 41.17 و36.54% للنوعين *C. fusca* و*C. turgidus* على التوالي.

2-2-1 درجة الحرارة (Temperature): يبين الشكل (2-ب) معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب وارتفاع درجة الحرارة على معدل النمو، ومنها يتبين وجود اختلافات معنوية بين معدلات التداخلات، إذ نلحظ أن ارتفاع درجات الحرارة أدى إلى خفض معدلات النمو، التي بلغت ذروتها عند درجة الحرارة المنخفضة 20 °م لتعطي معدل نمو (K) 0.633 و0.514 للنوعين *C. fusca* و*C. turgidus* على التوالي، فيما انخفضت معدلات النمو عند درجة الحرارة العالية 30 °م بنسبة 53.31 و39.02% للنوعين المدروسين *C. turgidus* و *C. fusca* على التوالي.

3-2-1 شدة الاضاءة (Light intensity): أظهرت النتائج المبينة في الشكل (2-ج) وجود اختلافات معنوية بين معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب وشدة الاضاءة على معدل النمو، إذ نلحظ أن الاضاءة العالية خفضت معدلات نمو الطحالب بنسبة بلغت 18.29% عند النوع *C. turgidus* من 0.421 إلى 0.344 عند شدة الاضاءة 400 و1960 Lux على التوالي، فيما انخفض معدل نمو النوع *C. fusca* بنسبة 6.99% من 0.472 إلى 0.439 عند شدة الاضاءة 400 و1960 Lux على التوالي.

4-2-1 نوع الوسط الغذائي (Type of media): أظهرت نتائج الشكل (2-د) وجود اختلافات معنوية بين معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب والوسط الغذائي االمستعمل على معدل النمو، فقد وجد أن استجابة نوعي الطحالب للأوساط المستعملة كانت متغايرة، إذ سجل الوسط الغذائي Chu-10 أدنى معدل نمو للنوع *C. turgidus* بقيمة 0.324، فيما سجل اعلى معدل نمو للنوع *C. fusca* بقيمة 0.525، وعلى العكس من ذلك سجل الوسط الغذائي BG-11 اعلى معدل نمو للنوع *C. turgidus* بقيمة 0.441، وأدنى معدل نمو للنوع *C. fusca* بقيمة 0.369.



الشكل (2): تأثير التداخل بين نوع الطحالب وعوامل الدراسة على معدل نمو الطحالب.

5-2-1 درجة الأس الهيدروجيني (pH): يبين الشكل (2-ه) معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب ودرجة الحموضة (الأس الهيدروجيني) على معدل النمو، ومنها يتبين وجود اخفاض معنوي في معدل النمو(K) مع زيادة درجة الأس الهيدروجيني، إذ نلحظ أن معدل نمو النوع *C. fusca* انخفض بنسبة 23.61% من المعدل 0.466 عند درجة الأس الهيدروجيني 8 إلى 0.356 عند درجة الاس الهيدروجيني 8.5، بينما انخفض معدل نمو النوع *C. turgidus* بنسبة 9.49% من المعدل 0.453 عند درجة الأس الهيدروجيني 8 إلى المعدل 0.41 عند درجة الأس الهيدروجيني 8.5.

إن الانخفاض في معدل النمو مع مرور الوقت يرجع إلى مجموعة من هذه العوامل، ومن الممكن أن يكون انخفاض الموارد المتاحة، مثل العناصر الغذائية ، قد ساهم في انخفاض معدل النمو، فمع مرور الوقت تقل الموارد المتاحة للطحالب، مما يؤدي إلى انخفاض معدل نموها، وربما لعب تراكم النفايات الداخلية في الطحالب دورًا أيضًا، إذ إن تتراكم النفايات الداخلية في الطحالب قد يؤدي إلى الإضرار بنموها، كما يمكن أن تتغير العوامل البيئية مثل درجة الحرارة وشدة الضوء مع مرور الوقت، مما يمكن أن يؤثر على معدل نمو الطحالب (Badar *et al.*, 2018).

درجة الحرارة هي أحد أهم العوامل التي تؤثر على معدل نمو الطحالب، إذ أن النشاط الهيكلي والوظيفي لخلايا الطحالب الدقيقة يعتمد بشكل مباشر على درجة الحرارة والمواد المغذية الموجودة، والتي تؤثر على غشاء الخلية والتركيب الهيكلي. بشكل عام، تنمو الطحالب بشكل أفضل في درجات الحرارة المعتدلة، التي تتراوح بين 20 إلى 30 درجة مئوية، مع ارتفاع درجة الحرارة تميل الطحالب إلى النمو بشكل أبطأ، وفي درجات حرارة عالية جدًا، يمكن أن تتوقف الطحالب عن النمو كون أن هذه الدرجات نقطة قاتلة للطحالب (Monika *et al.*, 2018) ، ولذلك من أجل تحقيق الحد الأقصى من إنتاجية الطحالب، اوصت العديد من الدراسات بان الحرارة المثلة للنمو هي ما بين 20-30 درجة مئوية، واسباب ذلك قد تعود إلى أن انخفاض درجة حرارة الوسط الزرعي يؤدي إلى انخفاض مستوى الكلوروفيل والبروتين بينما تزداد مستويات الكربوهيدرات والدهون وبالتالي تؤدي إلى تدهور فسيولوجي لأداء العملية الحيوية من قبل المجتمعات الميكروبية (Zhou *et al.*, 2018) .

تعتمد أنظمة استزراع الطحالب الدقيقة على النوع الطحلبي وتتأثر بعوامل مختلفة، مثل درجة الحرارة، وشدة الضوء، وتركيز ثاني أكسيد الكربون، ودرجة الحموضة، وتكوين المفاعل الحيوي، والخلط، والملوحة، ونوع المغذيات في وسط الاستزراع (Metsoviti *et al.,* 2019). تعد شدة الضوء واحدة من أهم عوامل الزراعة في نمو الطحالب الدقيقة وإنتاج الكتلة الحيوية (Li *et al.*, 2012). وبصرف النظر عن تنظيم العمليات البيولوجية، يعتمد كل من تكوين الكتلة الحيوية وإنتاجها على شدة الضوء (Xu *et al.*, 2016). تؤثر شدة الضوء على عملية التمثيل الضوئي للطحالب الدقيقة وبالتالي معدل نموها. تتطلب الطحالب الدقيقة الضوء لإنتاج ATP وNADPH وتوليف الجزيئات الأساسية للنمو (Singh and Singh, 2015). بشكل عام، زيادة شدة الضوء تزيد من معدل نمو الطحالب الدقيقة إلى حد معين، وهذا الحد يعتمد على النوع الطحلبي. ومع ذلك، فإن المستويات العالية من شدة الضوء حتى نقطة التشبع قد تؤدي إلى تثبيط ضوئي (Difusa *et al.*, 2015) وقد يعزى الانخفاض في معدل النمو(K) للتوليفة اعلاه في الدراسة الحالية لهذا السبب. من ناحية أخرى، إذا كانت شدة الضوء أقل من نقطة التشبع، فسيكون نمو الطحالب الدقيقة محدودًا، ومن المعروف أنه عندما تتم الزراعة تحت ظروف الإجهاد، مثل شدة الإضاءة العالية أو المنخفضة جدًا، نلحظ انخفاض في معدل النمو وإنتاج الكتلة الحيوية، إذ ليس فقط شدة الضوء، ولكن جودة ونوع الضوء أيضًا تلعب دورًا مهمًا في معدل النمو وإنتاج الكتلة الحيوية للطحالب الدقيقة (Chávez-Fuentes *et al.*, 2018).

2- معدل التضاعف Doubling time (G)

2-1- معدلات تأثير عوامل الدراسة في معدل زمن التضاعف (G) Rates of influence of study factors on the rate of doubling time (G)

2-1-1 الزمن (Time): اظهرت نتائج الشكل (3-أ) وجود تأثير معنوي للزمن على وقت تضاعف نوعي الطحالب عند ثبوت العوامل الاخرى، إذ نلحظ زيادة وقت التضاعف (G) مع التقدم في زمن التجربة، ليصل معدل زمن التضاعف (G) إلى 1.317 بانخفاض نسبي قدره 37.74% مقارنة بالوقت عند اليوم السابع والذي بلغ 0.82.

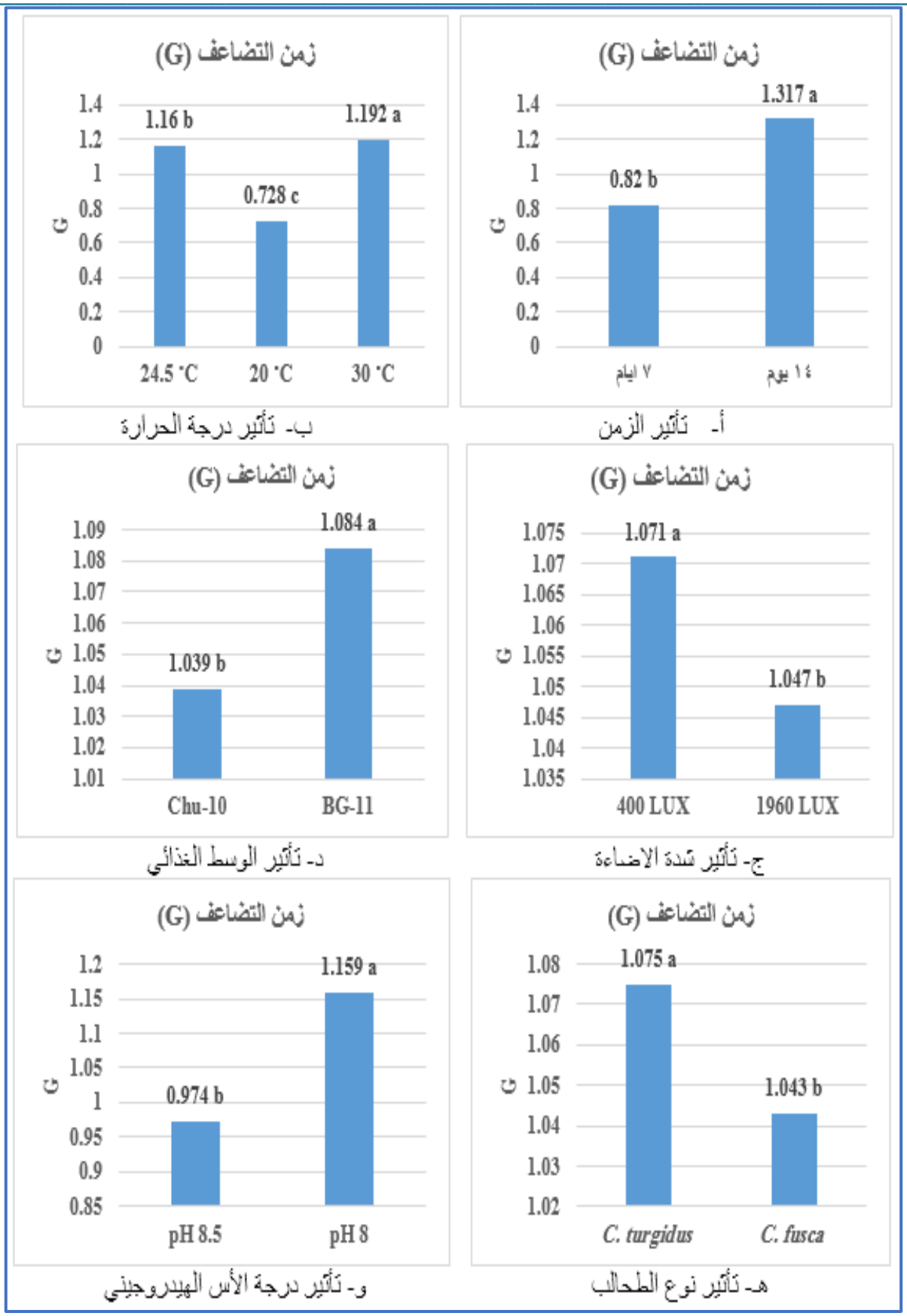
2-1-2 درجة الحرارة (Temperature): يبين الشكل (3-ب) معدل تأثير درجة الحرارة على وقت تضاعف طحالب السيانوبكتيريا قيد الدراسة، إذ نلحظ وجود تأثير معنوي للتغير في درجة الحرارة على وقت التضاعف، وأن درجة الحرارة العالية 30 °م أدت إلى زيادة وقت التضاعف بنسبة 38.93% مسجلةً متوسطاً قدره 1.192 مقارنة بأدنى وقت للتضاعف عند درجة الحرارة 20 °م والذي بلغ 0.728.

2-1-3 شدة الاضاءة (Light intensity): نلحظ من الشكل (3-ج) أن معدل تأثير مستوى الاضاءة كان له تأثير معنوي على وقت تضاعف نوعي الطحالب المدروسة، إذ أدت زيادة شدة الاضاءة إلى 1960 Lux إلى تسجيل أدنى متوسط لوقت التضاعف (G) والذي بلغ 1.047 بنسبة انخفاض مقدارها 2.24% مقارنةً بمستوى الاضاءة 400 Lux الذي بلغ وقت التضاعف (G) عنده 1.071.

2-1-4 نوع الوسط الغذائي (Type of media): أظهر الشكل (3-د) أن معدل وقت تضاعف الطحالب تأثر معنوياً بنوع الوسط الغذائي المستخدم في الدراسة، إذ وجد ان الوسط BG-11 ساهم في رفع وقت التضاعف معنوياً بنسبة 4.15% ليسجل أعلى وقت للتضاعف بقيمة 1.084 مقارنة بالوسط الغذائي Chu-10 الذي سجل 1.039.

2-1-5 نوع الطحالب (Algal species): أظهر نوعي الطحالب قيد الدراسة اختلافاً معنوياً في معدلات وقت التضاعف لكل منهما، إذ يبين الشكل (3-ه) أن النوع *C. turgidus* كان بحاجة إلى وقت أكثر للتضاعف مقارنة بالنوع *C. fusca*، فقد سجل النوع *C. turgidus* وقتاً للتضاعف بلغ 1.075، بنسبة زيادة بلغت 2.98% مقارنة بالنوع *C. fusca* الذي سجل وقتاً للتضاعف بلغ 1.043.

2-1-6 درجة الاس الهيدروجيني (pH): يبين الشكل (3-و) أن زيادة قيمة الأس الهيدروجيني كان لها تأثير عكسي على وقت التضاعف للطحالب، إذ أدى رفع قيمة الأس الهيدروجيني من 8 إلى 8.5 إلى خفض وقت التضاعف بنسبة 18.5% من خلال تقليل الوقت من 1.159 إلى 0.974.



الشكل (3): تأثير عوامل الدراسة على وقت تضاعف الطحالب.

2-2- التداخل بين نوع الطحالب وعوامل الدراسة الأُخرى في تركيز معدل التضاعف Interaction between the type of algae and other study factors in concentration of doubling time rate

1-2-2 الزمن (Time): تظهر في الشكل (4-أ) معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب والفترة الزمنية على وقت التضاعف (G)، وفيها نلحظ أن تقدم التجربة في الزمن أدى إلى زيادة الوقت اللازم للتضاعف، إذ زاد وقت التضاعف للنوع *C. fusca* بنسبة 41.42%

من المعدل 0.785 في اليوم السابع للتجربة إلى 1.34 عند اليوم الرابع عشر، بينما زاد وقت التضاعف للنوع *C. turgidus* بنسبة 34.36% خلال المدة نفسها.

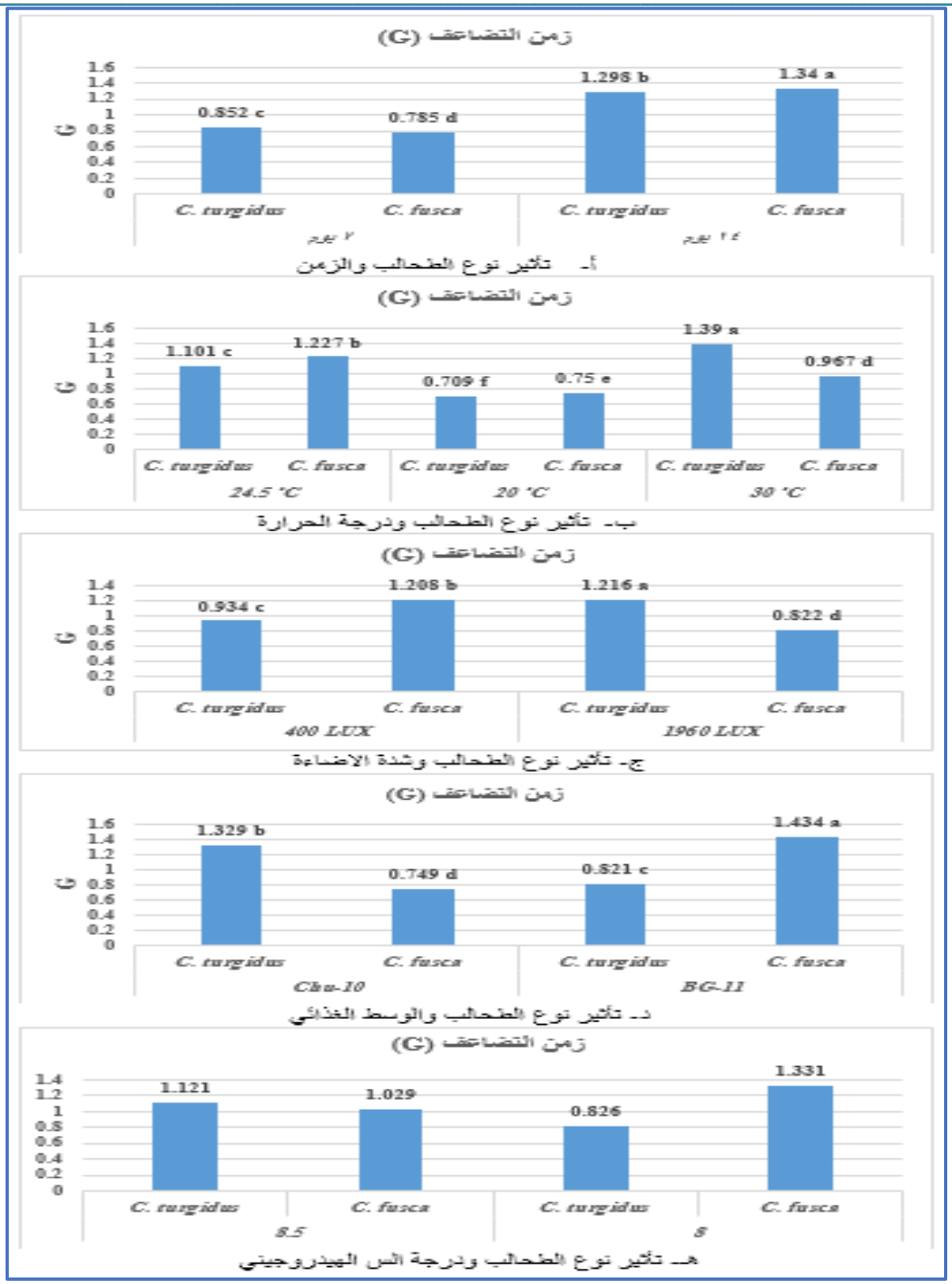
2-2-2 درجة الحرارة (Temperature): يبين الشكل (4-ب) معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب ودرجة الحرارة على وقت التضاعف، ومنها يتبين وجود اختلافات معنوية بين معدلات التداخلات، إذ نلحظ أن النوع *C. turgidus* حقق زيادة طردية في زمن التضاعف (G) مع ارتفاع درجة الحرارة لتبلغ الزيادة النسبية لوقت التضاعف 48.99% بزيادة الوقت من 0.709 إلى 1.39 عند درجتي الحرارة 20 و30 °م على التوالي. بينما كان سلوك النوع *C. fusca* غير ثابت على الرغم من تسجيل درجة الحرارة الدنيا 20 °م المعدل الادنى لوقت التضاعف والذي بلغ 0.75 G، إلا أن وقت التضاعف انخفض عند درجة الحرارة 30 °م ليصل إلى 0.967 بعد أن ارتفع إلى 1.227 عند درجة الحرارة 24.5 °م، لتكون نسبة الزيادة في وقت التضاعف 38.88% بين المعدلين الادنى والاعلى.

3-2-2 شدة الاضاءة (Light intensity): أظهرت النتائج المبينة في الشكل (4-ج) وجود اختلافات معنوية بين معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب وشدة الاضاءة على وقت التضاعف، إذ نلحظ بالنسبة للنوع *C. turgidus* أن وقت التضاعف (G) زاد بنسبة 23.19% من المعدل 0.934 عند شدة اضاءة 400 Lux إلى المعدل 1.216 عند شدة اضاءة 1960 Lux. بينما أدت زيادة شدة الضوء إلى خفض الوقت اللازم لتضاعف النوع *C. fusca* بنسبة 31.95% من المعدل 1.208 عند شدة الاضاءة 400 Lux إلى 0.822 عند شدة الاضاءة 1960 Lux.

4-2-2 نوع الوسط الغذائي (Type of media): أظهرت نتائج الشكل (4-د) وجود اختلافات معنوية بين معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب والوسط الغذائي المستعمل على معدل النمو، فقد وجد أن استجابة نوعي الطحالب للأوساط المستعملة كانت متغايرة، إذ سجل الوسط الغذائي Chu-10 أعلى معدل لوقت التضاعف للنوع *C. turgidus* بقيمة 1.329 ، فيما سجل أدنى معدل لوقت التضاعف للنوع *C. fusca* بقيمة 0.749 ، وعلى العكس من ذلك سجل الوسط الغذائي BG-11 أدنى معدل لوقت التضاعف للنوع *C. turgidus* بقيمة 0.821 ، وأعلى معدل لوقت التضاعف للنوع *C. fusca* بقيمة 1.434.

5-2-2 درجة الأس الهيدروجيني (pH): يبين الشكل (4-ه) معدلات تأثير التداخلات بين نوع الطحالب ودرجة الأس الهيدروجيني على وقت التضاعف، ومنها يتبين بالنسبة للنوع *C. turgidus* زيادة زمن التضاعف (G) بنسبة 26.32% من 0.826 إلى 1.121 عند درجتي الأس الهيدروجيني 8 و8.5 على التوالي، بينما نلحظ بالنسبة للنوع *C. fusca* وجود اخفاض معنوي في وقت التضاعف مع زيادة درجة الأس الهيدروجيني، إذ بلغت نسبة خفض زمن التضاعف (G) 22.69% من المعدل 1.331 عند درجة الأس الهيدروجيني 8 إلى 1.029 عند درجة الاس الهيدروجيني 8.5.

إن الزيادة في زمن التضاعف (G) مع تقدم الوقت قد تكون ناتجة عن نضوج الطحالب وتراكم النفايات الداخلية والتغيرات في الظروف البيئية، إذ تميل الطحالب إلى النضج مع مرور الوقت، مما يؤدي إلى انخفاض معدلات النمو، كما إنه مع مرور الوقت تتراكم النفايات الداخلية داخل خلايا الطحالب، مما قد يضر بنموها، فيما تتغير الظروف البيئية مثل درجة الحرارة أو شدة الضوء مع مرور الوقت، مما يمكن أن يؤثر على معدل نمو الطحالب (Tse *et al.*, 2021). وهذه النتائج تتفق مع الدراسات السابقة، والتي أظهرت أن زمن تضاعف الطحالب يزداد مع تقدم الزمن. بشكل عام، تنمو الطحالب بشكل أسرع في بداية التجربة، ثم تبدأ في النمو بشكل أبطأ مع مرور الوقت (Ivanov *et al.*, 2019).



الشكل (4): تأثير التداخل بين نوع الطحالب وعوامل الدراسة على زمن التضاعف للطحالب.

تتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسات السابقة، والتي أظهرت أن درجة الحرارة هي أحد أهم العوامل التي تؤثر على وقت التضاعف للطحالب. بشكل عام، تنمو الطحالب بشكل أسرع في درجات الحرارة المعتدلة، إذ تتراوح من 20 إلى 30 درجة مئوية. مع زيادة درجة الحرارة، تميل الطحالب إلى النمو بشكل أبطأ، وفي درجات الحرارة العالية جدًا، يمكن أن تتوقف الطحالب عن النمو تمامًا أو حتى تموت، فقد تكون الزيادة في وقت التضاعف مع زيادة درجة الحرارة ناتجًا انخفاض معدلات التمثيل الضوئي والتنفس وتخليق البروتين، إذ تنخفض معدلات التمثيل الضوئي ومعدلات تخليق البروتين للطحالب مع زيادة درجة الحرارة، بينما تزداد معدلات التنفس للطحالب مع زيادة درجة الحرارة (Rothäusler *et al.*, 2009).

إن شدة الضوء هي ايضا من العوامل المهمة التي تؤثر على وقت التضاعف للطحالب. وبشكل عام، تنمو الطحالب بشكل أسرع في شدة الضوء المرتفعة، إذ تتراوح من 500 إلى 2000 لوكس. مع انخفاض شدة الضوء، تميل الطحالب إلى النمو بشكل أبطأ، وفي درجات الضوء المنخفضة جدًا، يمكن أن تتوقف الطحالب عن النمو تمامًا أو حتى تموت (Yan *et al.*, 2022). كما إن الزيادة في وقت التضاعف مع انخفاض شدة الضوء ناتجًا عن معدلات التمثيل الضوئي، لان معدلات التمثيل الضوئي للطحالب تعتمد على شدة

الضوء، مع زيادة شدة الضوء، تزداد معدلات التمثيل الضوئي، مما يؤدي إلى زيادة في توافر الطاقة اللازمة للنمو. إذ إن مع زيادة شدة الضوء، تزداد معدلات التنفس، مما يؤدي إلى زيادة في فقدان الطاقة، بالإضافة إلى ذلك فان زيادة معدلات تخليق البروتين بزيادة شدة الضوء يؤدي إلى زيادة في إنتاج البروتينات اللازمة للنمو، فيما يمكن أن يؤدي انخفاض شدة الضوء إلى زيادة الإجهاد التأكسدي في الخلايا الطحلبية، وهذا يمكن أن يضر بقدرة الخلايا على النمو (Zhu *et al.*, 2022).

قد يكون الاختلاف في معدل زمن النمو (G) بين نوعي الطحالب والأوساط المستخدمة ناتجًا عن اختلاف الاحتياجات الغذائية لكل نوع من أنواع الطحالب، إذ يبدو أن النوع *C. turgidus* أكثر حساسية لنقص العناصر الغذائية، إذ سجل أدنى معدل لوقت التضاعف في الوسط الغذائي Chu-10 الذي يحتوي على تركيز أقل من بعض العناصر الغذائية، مثل الفوسفور والنيتروجين. في المقابل، يبدو أن النوع *C. fusca* أكثر مقاومة لنقص العناصر الغذائية، إذ سجل أعلى معدل لوقت التضاعف في الوسط الغذائي BG-11 الذي يحتوي على تركيز من هذه العناصر الغذائية (Mastropetros *et al.*, 2022). تتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسات السابقة، والتي أظهرت أن نوع الوسط الغذائي المستخدم هو أحد أهم العوامل التي تؤثر على معدل نمو الطحالب. بشكل عام، تنمو الطحالب بشكل أفضل في وسط غذائي يحتوي على جميع العناصر الغذائية الضرورية لها بكميات متوازنة. مع اختلاف تركيب الوسط الغذائي، يمكن أن تختلف العناصر الغذائية المتاحة للطحالب، مما يمكن أن يؤثر على معدل نموها (Chew *et al.*, 2018).

الاستنتاج Conclusion

أدى التقدم في زمن التجربة وزيادة شدة الاضاءة إلى انخفاض معدل النمو وزيادة وقت التضاعف للطحالب، فيما ساهم الوسط الغذائي Chu-10 في زيادة معدل النمو وخفض الوقت اللازم للتضاعف. وسجل النوع *C. fusca* اعلى معدل نمو وأقل وقت للتضاعف، فيما أدى رفع قيمة الأس الهيدروجيني إلى زيادة معدل النمو وخفض وقت التضاعف. وبذلك توصي هذه الدراسة باستعمل النوع *C. fusca* في تقنيات الوقود الحيوي بسبب مستويات نموه العالية، واعتماد درجات الحرارة ومستويات الاضاءة المنخفضة ومستويات الاس الهيدروجيني العالية في اكثار هذه الأنواع الطحلبية، واعتماد الوسط الغذائي Chu-10 في تنمية نوعي الطحالب المدروسة.

المصادر References

1. Al-Shandah, Bashar Tareq (2016). Ecological and Identification study of algae in three drinking water plants supply springs in Sulaimani province and growth control of isolated algae by using some plant extracts. A thesis (Ph.D.) of Science in Biology - Ecology & pollution. College of Science - University of Tikrit.
2. Badar, S. N., Mohammad, M., Emdadi, Z., & Yaakob, Z. (2018). Algae and their growth requirements for bioenergy: a review. Biofuels.
3. Chávez-Fuentes, P.; Ruiz-Marin, A.; Canedo-López, Y. Biodiesel synthesis from *Chlorella vulgaris* under effect of nitrogen limitation, intensity and quality light: Estimation on the based fatty acids profiles. Mol. Biol. Rep. 2018, 45, 1145–1154.
4. Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Yap, Y. J., Ling, T. C., & Chang, J. S. (2018). Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 91, 332-344.
5. Difusa, A.; Talukdar, J.; Kalita, M.C.; Mohanty, K.; Goud, V.V. Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae Scenedesmus species. Biofuels 2015, 6, 37–44.
6. Gupta, V., Ratha, S. K., Sood, A., Chaudhary, V., & Prasanna, R. (2013). New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)—Prospects and challenges. Algal research, 2(2), 79-97.
7. Huang, X.; Li, C. Liu, C. and Zeng, D. (2002a). Studies on the Ecological Factors of Oocystis borgei. J. Zhanjiang Ocean University. 22(3): 8-12.
8. Huang, X.H.; Li, C.L. Liu, C.W. Wang, Z.D. and Chen, J.J. (2002b). Studies on the N and P nutrient demand of Nannochloris oculata. Marine Sciences (China). 26(8): 13-17.
9. Ivanov, I. N., Vítová, M., & Bišová, K. (2019). Growth and the cell cycle in green algae dividing by multiple fission. Folia microbiologica, 64, 663-672.
10. Jassim, Y. A., Awadh, E. F. A., & Al-Amery, S. M. H. (2023). A Review of General Properties of Blue-Green Algae (Cyanobacteria). Biomedicine and Chemical Sciences, 2(2), 143-148.
11. Kumar, M., Oyedun, A. O., & Kumar, A. (2019). A comparative analysis of hydrogen production from the thermochemical conversion of algal biomass. International Journal of Hydrogen Energy, 44(21), 10384-10397.
12. Larkum, A. W. (2020). Light-harvesting in cyanobacteria and eukaryotic algae: An overview. Photosynthesis in Algae: Biochemical and Physiological Mechanisms, 207-260.
13. Lavania, R., Narayanasamy, M., & Thajuddin, N. (2023). Anatomizing extracellular polymer of *Calothrix desertica* with its anti-oxidation and anti-nutrient profiling. Plant Science Today, 10(3), 455-465.
14. Li, Y.; Zhou, W.; Hu, B.; Min, M.; Chen, P.; Ruan, R.R. Effect of light intensity on algal biomass accumulation and biodiesel production for mixotrophic strains *Chlorella kessleri* and *Chlorella protothecoide* cultivated in highly concentrated municipal wastewater. Biotechnol. Bioeng. 2012, 109, 2222–2229.
15. Mastropetros, S. G., Pispas, K., Zagklis, D., Ali, S. S., & Kornaros, M. (2022). Biopolymers production from microalgae and cyanobacteria cultivated in wastewater: Recent advances. Biotechnology Advances, 60, 107999.
16. Metsoviti, M.N.; Papapolymerou, G.; Karapanagiotidis, I.T.; Katsoulas, N. Comparison of growth rate and nutrient content of five microalgae species cultivated in greenhouses. Plants 2019, 8, 279.

17. Monika Pawlita-Posmyk, Małgorzata Wzorek, and Małgorzata Płaczek, (2018). The influence of temperature on algal biomass growth for biogas production. MATEC Web of Conferences 240, 04008 (2018). https://doi.org/10.1051/matecconf/201824004008
18. Rothäusler, E., Gomez, I., Hinojosa, I. A., Karsten, U., Tala, F., & Thiel, M. (2009). Effect of temperature and grazing on growth and reproduction of floating macrocystis spp.(phaeophyceae) along a latitudinal gradient 1. Journal of Phycology, 45(3), 547-559.
19. Singh, M., Gupta, N., Gupta, P., Doli, Mishra, P., & Yadav, A. (2023). Discovery of Novel and Biologically Active Compounds from Algae. Next-Generation Algae: Volume II: Applications in Medicine and the Pharmaceutical Industry, 1-40.
20. Singh, S. P., & Singh, P. (2015). Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. Renewable and sustainable energy reviews, 50, 431-444.
21. Sisman-Aydin, G., & Simsek, K. (2022). Municipal Wastewater Effects on the Performance of Nutrient Removal, and Lipid, Carbohydrate, and Protein Productivity of Blue-Green Algae *Chroococcus turgidus*. Sustainability, 14(24), 17021.
22. Stanier RY, Kunisawa R, Mandel M & Cohen-Bazire G. (1971) Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). Bacteriol. Rev. 35: 171-205.
23. Tse, T. J., Wiens, D. J., & Reaney, M. J. (2021). Production of bioethanol—A review of factors affecting ethanol yield. Fermentation, 7(4), 268.
24. Xu, Y.; Ibrahim, I.M.; Harvey, P.J. The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (chlorophyta) CCAP 19/30. Plant Physiol. Biochem. 2016, 106, 305–315.
25. Yan, H., Li, Q., Chen, B., Shi, M., & Zhang, T. (2022). Identification and feeding characteristics of the mixotrophic flagellate Poterioochromonas malhamensis, a microalgal predator isolated from planting water of Pontederia cordata. Environmental Science and Pollution Research, 29(27), 40599-40611.
26. Zhou H, Li X, Xu G, Yu H. Overview of strategies for enhanced treatment of municipal/domestic wastewater at low temperature. Sci. Total Environ. 2018; 643:225–237.
27. Zhu, X., Chen, S., Luo, G., Zheng, W., Tian, Y., Lei, X., ... & Xu, H. (2022). A novel algicidal bacterium, Microbulbifer sp. YX04, triggered oxidative damage and autophagic cell death in Phaeocystis globosa, which causes harmful algal blooms. Microbiology Spectrum, 10(1), e00934-21.