

ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ THAY ĐỔI NỒNG ĐỘ MUỐI LÊN SỰ TĂNG TRƯỞNG CỦA VI TẢO *Nannochloropsis oculata* TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY *IN VITRO*

Trịnh Cẩm Tú*, Trần Thanh Hương, Bùi Trang Việt

Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

*Email**: tctu@hcmus.edu.vn

Ngày gửi bài: 07.08.2014

Ngày chấp nhận: 24.09.2014

TÓM TẮT

Sự tăng trưởng của vi tảo nước mặn *Nannochloropsis oculata* trong môi trường f/2 cải tiến gồm hai giai đoạn tăng trưởng nhanh với một giai đoạn tăng trưởng chậm xen giữa, sau cùng là giai đoạn tăng trưởng bão hòa. Trong giai đoạn tăng trưởng nhanh, các tế bào vi tảo phân chia mạnh và đạt mật độ khoảng 2×10^7 tế bào/mL ở ngày thứ 6. Ngược lại, giai đoạn tăng trưởng chậm đặc trưng bởi sự gia tăng kích thước và khối lượng khô. Giai đoạn tăng trưởng bão hòa bắt đầu ở ngày thứ 12 với sự thay đổi không đáng kể về mật độ và kích thước tế bào. Tác động của muối sodium chloride lên sự phân chia tế bào vi tảo *N. Oculata* ngoài tùy thuộc nồng độ còn tùy thuộc thời gian xử lý. Sự loại muối sodium chloride khỏi môi trường f/2 cải tiến (dung dịch NaCl 0M) hoặc bổ sung sodium chloride ở nồng độ cao (2M) trong 10 giờ giúp sự tăng phân chia tế bào, qua đó làm tăng mạnh mật độ tế bào. Khi kéo dài thời gian xử lý lên 24 giờ, tác động tăng phân chia tế bào của muối sodium chloride giảm.

Từ khóa: Đường cong tăng trưởng, độ mặn, *Nannochloropsis oculata*, nhiên liệu sinh học, nuôi cấy vi tảo

Effects of Salinity on The Growth of *Nannochloropsis oculata* in *In Vitro* Culture

ABSTRACT

Nannochloropsis oculata grown in modified f/2 medium exhibited a double sigmoid growth curve with four phases: two phases of rapid growth separated by an intermediate slow growth phase, and a saturated phase. In the rapid growth phases, microalgal cells divided rapidly and achieved 2×10^7 cells per mL on the sixth day. The slow growth phase occurred with the increase of cell diameter and dry weight. The last phase started from the twelfth day, in which there was little or no growth. Effects of sodium chloride on *N. oculata* cell division depended on concentration and time of treatment. The removal of sodium chloride (NaCl 0M) or the increase of sodium chloride (NaCl 2M) in ten hours from modified f/2 medium yielded in the increase in cell division. Besides, the extension of treatment time from ten to twenty hours resulted in decrease of sodium chloride effects.

Keywords: Biodiesel, growth curve, microalgal culture, *Nannochloropsis oculata*, salinity.

1. MỞ ĐẦU

Vi tảo ngày nay đang được đặc biệt quan tâm nghiên cứu cho mục đích chế tạo nhiên liệu sinh học vì tốc độ tăng trưởng nhanh, khả năng cố định carbon dioxide, sản xuất lipid với hàm lượng cao và đặc biệt không gây ô nhiễm môi trường. Theo các nghiên cứu thuộc phòng thí nghiệm Năng lượng Tái tạo Quốc gia của Mỹ (The National Renewable Energy Laboratory, NREL), sự sản xuất dầu từ vi tảo có thể cao hơn

gấp 20 lần so với các nguồn nguyên liệu khác từ cây trồng (Mata et al., 2009). Trong số các vi tảo được quan tâm cho mục đích trên, *Nannochloropsis oculata* là một loài vi tảo nước mặn, có thành phần lipid khá cao và được xem là một ứng viên sáng giá cho sản xuất nhiên liệu sinh học (Makri et al., 2011). Sự tích lũy lipid trong tế bào vi tảo chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố ngoại sinh cũng như nội sinh, trong đó, sự tương quan giữa tăng trưởng (phân chia và tăng kích thước tế bào), các yếu tố ảnh hưởng đến sự

Ảnh hưởng của sự thay đổi nồng độ muối lên sự tăng trưởng của vi tảo *Nannochloropsis oculata* trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*

tăng trưởng và sự tích lũy là một hướng mà bài báo đề cập đến.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Vi tảo *Nannochloropsis oculata* qua nhiều lần nuôi cấy trong bình tam giác 100ml, với 20ml môi trường f/2 cải tiến (Chiu et al., 2009).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Nuôi cấy vi tảo

Vi tảo *N. oculata* ở ngày thứ 6 trong lần cấy chuyển sau cùng được nuôi trong bình tam giác 100ml, với 20ml môi trường f/2 cải tiến, ở mật độ tế bào ban đầu 1320×10^4 tế bào/ml (kích thước tế bào trung bình là $3,14 \pm 0,06 \mu\text{m}$). Sự nuôi cấy được thực hiện ở 2800 ± 200 lux, chu kỳ 12 giờ sáng/12 giờ tối, nhiệt độ $28 \pm 1^\circ\text{C}$ và được lắc liên tục với tốc độ 75 vòng/phút.

Thành phần của môi trường f/2 cải tiến bao gồm hỗn hợp khoáng, vitamin của môi trường f/2 (Guillard, 1975) và nước biển nhân tạo (thành phần các loại muối trong 1 lít nước biển nhân tạo: NaCl 29,23g, KCl 1,105g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 11,09g, Tris-base 1,21g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,83g, NaHCO_3 0,25g) (Chiu et al 2009). Môi trường f/2 cải tiến chứa NaCl ở nồng độ 0,5M được xem là

đối chứng trong các xử lý NaCl ở các nồng độ khác nhau.

2.2.2. Xác định mật độ tế bào

Mật độ tế bào (số tế bào vi tảo/ml dịch treo tế bào vi tảo) được tính sau sự đếm số tế bào nhờ buồng đếm hồng cầu, dưới kính hiển vi quang học (Kruss, MBL 2100), ở độ phóng đại 400 lần (Guillard and Sieracki, 2005).

2.2.3. Xác định khối lượng tươi và khối lượng khô

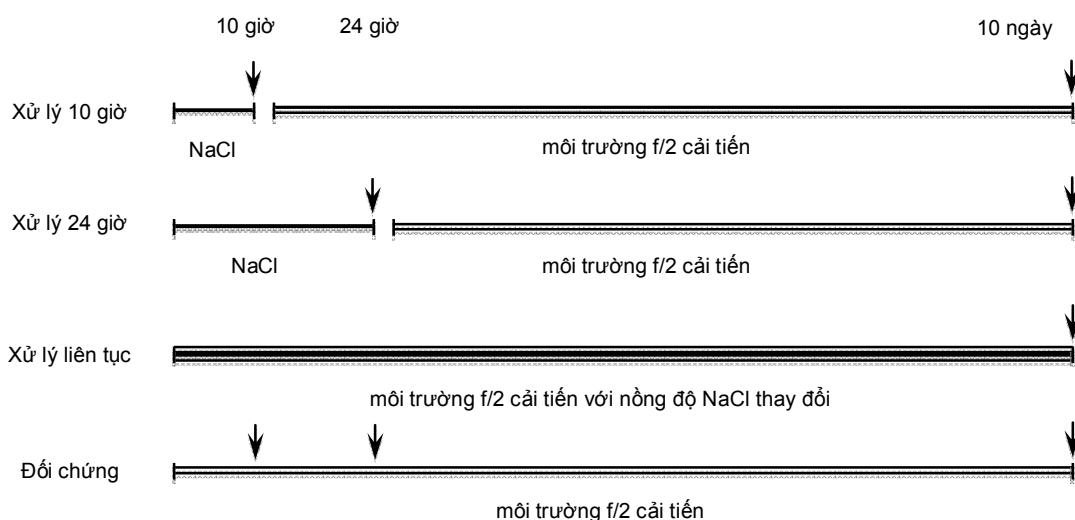
Sinh khối vi tảo được thu bằng cách ly tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút, trong 10 phút ở 4°C , sau đó loại bỏ môi trường nuôi và cân khối lượng tươi bằng cân phân tích. Khối lượng khô của vi tảo được xác định bằng cân phân tích sau khi sấy khô ở 105°C trong 16 giờ.

2.2.4. Đo kích thước tế bào vi tảo

Đường kính tế bào vi tảo được đo bằng trắc vi thị kính, dưới kính hiển vi quang học (Kruss, MBL 2100), ở độ phóng đại 400 lần. Sự đo được thực hiện 2 lần, mỗi lần 50 tế bào.

2.2.5. Xử lý sodium chloride (NaCl)

Vi tảo *N. oculata* ở ngày thứ 6 được ly tâm với tốc độ 2.000 vòng/phút, trong 5 phút ở 4°C để loại bỏ môi trường f/2 cải tiến sau đó xử lý



Hình 1. Thời gian xử lý sodium chloride (NaCl) và thời điểm xác định sự tăng trưởng của vi tảo (↓ chỉ thời điểm xác định sự tăng trưởng)

trong dung dịch NaCl 0 - 2M (tương ứng với 0 - 12%), trong 10 giờ hoặc 24 giờ. Trong các trường hợp xử lý 10 giờ và 24 giờ, sau xử lý, vi tảo được ly tâm với tốc độ 2.000 vòng/phút, trong 5 phút ở 4°C để loại bỏ dung dịch NaCl và cấy chuyển sang môi trường f/2 cải tiến. Đối với trường hợp xử lý liên tục, nồng độ NaCl trong môi trường f/2 cải tiến được thay đổi bằng cách thay đổi hàm lượng NaCl trong nước biển nhân tạo. Đối chứng của thí nghiệm là vi tảo nuôi trong môi trường f/2 cải tiến và không xử lý dung dịch NaCl. Môi trường f/2 cải tiến này có NaCl trong nước biển nhân tạo ở nồng độ 0,5M (theo công thức nước biển nhân tạo đã trình bày ở trên). Sự tăng trưởng của vi tảo được đánh giá ở các thời điểm xác định (Hình 1).

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu thu được từ thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm IBM SPSS Statistics phiên bản 20.0 dùng cho Macintosh. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất $p=0,05$ được biểu

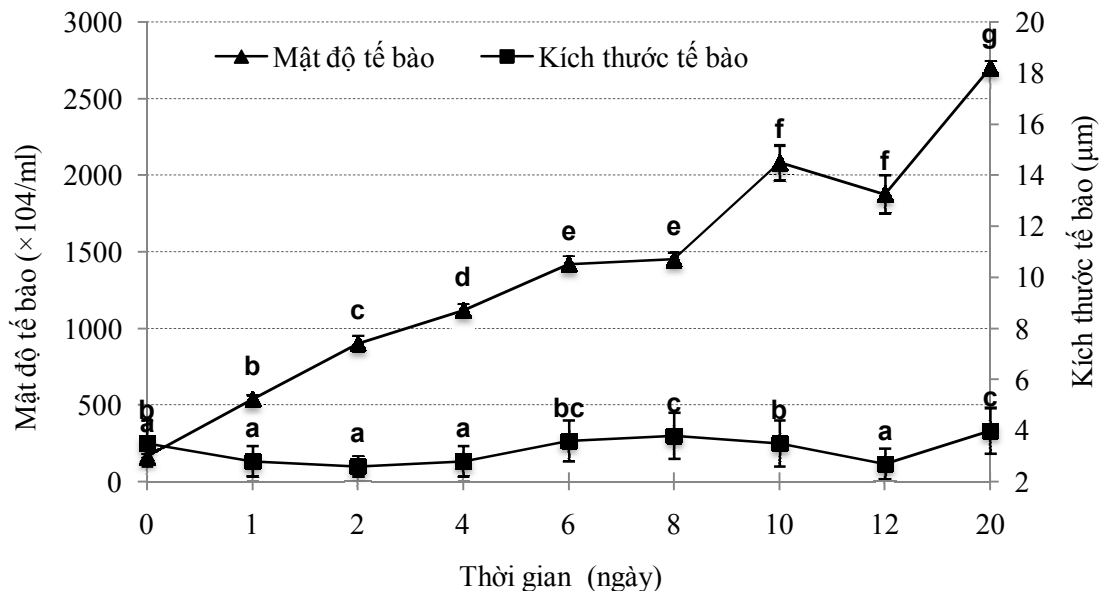
hiện bằng mẫu tự (theo cột) hay chữ số (theo hàng) sau giá trị trung bình và sai số chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả

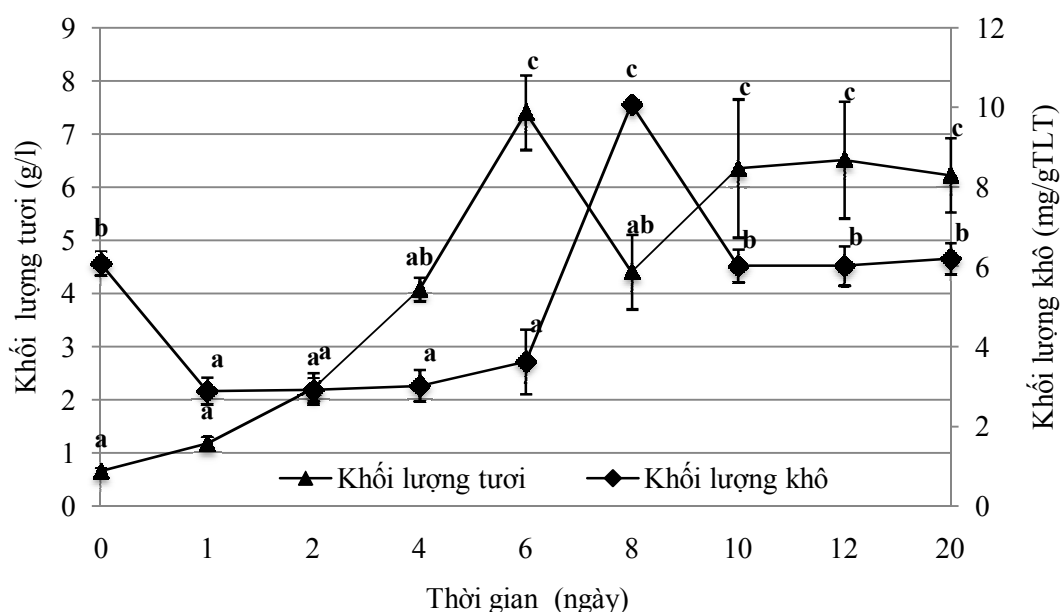
3.1.1. Sự tăng trưởng *in vitro* của vi tảo *N. oculata*

Trong 6 ngày đầu nuôi cấy, mật độ tế bào và khối lượng tươi tăng nhanh, trong kích thước tế bào chỉ tăng nhẹ vào ngày 6 và khối lượng khô giảm rõ ngay từ ngày 1. Từ ngày 6 đến ngày 8, mật độ tế bào không đổi, khối lượng tươi giảm mạnh, kích thước tế bào có xu hướng tăng và đặc biệt khối lượng khô tăng rất nhanh. Từ ngày 8 đến ngày 10, mật độ tế bào và khối lượng tươi tăng mạnh trở lại đi cùng với sự giảm khối lượng khô và kích thước tế bào như ở 6 ngày đầu. Sau ngày 10, mật độ và kích thước tế bào có xu hướng gia tăng sau khi giảm nhẹ ở ngày 12, trong khi khối lượng tươi và khô gần như không thay đổi (Hình 1, 2).



Hình 2. Sự thay đổi mật độ tế bào ($\times 10^4/\text{ml}$) và kích thước tế bào (μm) vi tảo trong môi trường f/2 cải tiến theo thời gian nuôi cấy (các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p=0,05$)

Ảnh hưởng của sự thay đổi nồng độ muối lên sự tăng trưởng của vi tảo *Nannochloropsis oculata* trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*



Hình 3. Sự thay đổi khối lượng tươi và khối lượng khô của vi tảo trong môi trường f/2 cải tiến theo thời gian (các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $p=0,05$)

Bảng 1. Sự thay đổi kích thước tế bào vi tảo *N. oculata* theo thời gian nuôi cấy trong môi trường f/2 cải tiến

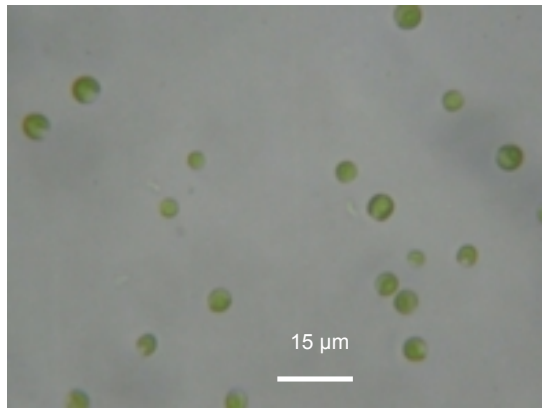
Thời gian (ngày)	% tế bào nhỏ ($\leq 2,56\mu\text{m}$)	% tế bào trung bình ($\approx 3,20\mu\text{m}$)	% tế bào lớn ($\geq 3,84\mu\text{m}$)
0	25,74 $\pm$ 2,2 ^b	10,89 $\pm$ 2,7 ^a	63,37 $\pm$ 1,7 ^a
1	62,38 $\pm$ 3,9 ^c	23,76 $\pm$ 2,2 ^b	13,86 $\pm$ 1,6 ^b
2	85,15 $\pm$ 5,1 ^d	11,88 $\pm$ 3,8 ^a	2,97 $\pm$ 1,2 ^a
4	59,41 $\pm$ 2,0 ^c	29,70 $\pm$ 4,7 ^b	10,89 $\pm$ 4,3 ^b
6	17,82 $\pm$ 3,3 ^a	17,82 $\pm$ 5,1 ^a	64,36 $\pm$ 7,6 ^c
8	17,82 $\pm$ 3,3 ^a	9,90 $\pm$ 3,9 ^a	72,28 $\pm$ 6,3 ^c
10	25,74 $\pm$ 2,2 ^b	10,89 $\pm$ 4,6 ^a	63,37 $\pm$ 6,5 ^c
12	80,20 $\pm$ 5,2 ^d	11,88 $\pm$ 5,6 ^a	7,92 $\pm$ 1,7 ^b
20	10,89 $\pm$ 3,2 ^a	17,82 $\pm$ 4,1 ^a	71,29 $\pm$ 8,2 ^c

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột mang các ký tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$

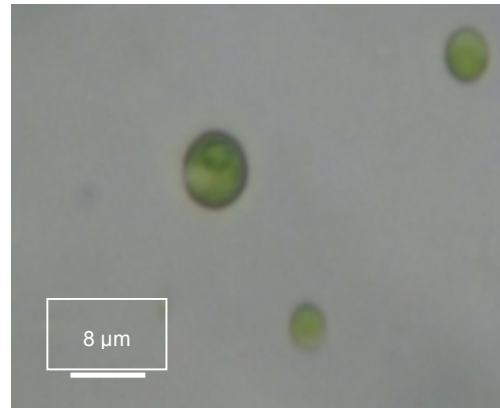
3.1.2. Ảnh hưởng của sodium chloride (NaCl) trên sự tăng trưởng của vi tảo

Môi trường f/2 cải tiến có nồng độ NaCl trong nước biển là 0,5M và được dùng làm đối chứng trong các thí nghiệm xử lý NaCl. Nồng độ dung dịch NaCl 0,5 M được xem như là nồng độ đối chứng, từ đó tính sự tăng hay giảm nồng độ dung dịch NaCl trong các xử lý.

Ở thời điểm ngay sau khi xử lý, trường hợp thời gian 10 giờ, sự giảm hay tăng nhẹ nồng độ NaCl (0,25 hay 1 M) làm mật độ tế bào vi tảo tăng rõ so với đối chứng (môi trường f/2 cải tiến) và so với dung dịch NaCl 0,5M (nồng độ NaCl bằng với nồng độ NaCl có trong môi trường f/2 cải tiến). Tuy nhiên, kích thước tế bào chỉ tăng nếu dùng dung dịch NaCl ở nồng độ thấp hơn nồng độ 0,5M (0 hay 0,25M). Ở các nồng độ dung



Ảnh 1. Các tế bào vi tảo *N. oculata* ở ngày thứ 6 với loại tế bào có kích thước nhỏ và trung bình trong môi trường f/2 cải tiến



Ảnh 2. Tế bào vi tảo *N. oculata* có kích thước lớn trong môi trường f/2 cải tiến

dịch NaCl cao hơn 0,5M (1 hay 2M), kích thước tế bào giảm so với đối chứng và so với xử lý ở nồng độ dung dịch NaCl 0,5M. Trong các xử lý có thời gian 24 giờ, ở thời điểm ngay sau khi xử lý, mật độ tế bào tăng khi dùng dung dịch NaCl ở nồng độ thấp hơn 0,5 M (0 hay 0,25 M) và giảm khi dùng NaCl ở nồng độ cao hơn 0,5 M (1 hay 2 M). Tất cả các xử lý dung dịch NaCl khác nồng độ 0,5 M trong 24 giờ đều dẫn tới kích thước tế bào giảm so với đối chứng và so với nồng độ dung dịch 0,5 M (Bảng 2, 3).

Sau khi xử lý dung dịch NaCl trong 10 hoặc 24 giờ, vi tảo được nuôi trở lại trên môi trường f/2 cải tiến (có nồng độ NaCl trong môi trường là 0,5 M). Ở thời điểm 10 ngày sau xử lý, mật độ tế bào vi tảo (đo ở ngày 10) trong xử lý dung dịch NaCl 0M, 10 giờ cao hơn so với đối chứng và cao

nhất so với tất cả các xử lý còn lại. Kích thước tế bào (đo ở ngày 10) không có sự khác biệt rõ rệt giữa các xử lý 10, hoặc 24 giờ, tương đương so với đối chứng và thấp hơn so với xử lý NaCl liên tục ở nồng độ 2M (Bảng 2, 3).

Đối với các xử lý liên tục 10 ngày, sự loại hoàn toàn NaCl (0M) hay tăng mạnh nồng độ NaCl (2M) trong môi trường f/2 cải tiến làm giảm mật độ tế bào ở ngày thứ 10 trong khi sự tăng hay giảm nhẹ nồng độ NaCl (0,25 hay 1M) không gây tác động này. Kích thước tế bào tăng mạnh khi NaCl trong môi trường f/2 cải tiến có nồng độ 2M (Bảng 2, 3).

3.2. Thảo luận

Sự tăng trưởng của vi tảo *N. oculata* có thể chia thành 4 giai đoạn, với đường cong tăng

Bảng 2. Mật độ tế bào vi tảo ($\times 10^6/\text{ml}$) sau xử lý NaCl với nồng độ và thời gian thay đổi

Nồng độ NaCl (M)	Xử lý 10 giờ		Xử lý 24 giờ		Xử lý liên tục
	10 giờ	10 ngày	24 giờ	10 ngày	10 ngày
Đối chứng (môi trường f/2 cải tiến)	36 ± 3^{a1}		56 ± 2^{a2}		160 ± 7^{c3}
0	41 ± 3^{a1}	349 ± 24^{c5}	98 ± 5^{c2}	159 ± 7^{a4}	129 ± 5^{b3}
0,25	55 ± 3^{b1}	142 ± 5^{a3}	82 ± 4^{b2}	156 ± 7^{a3}	152 ± 7^{c3}
0,5	39 ± 3^{a1}	163 ± 4^{a3}	59 ± 2^{a2}	153 ± 7^{a3}	152 ± 6^{c3}
1	62 ± 3^{b2}	180 ± 6^{a4}	59 ± 2^{a1}	198 ± 10^{b4}	155 ± 2^{c3}
2	43 ± 2^{a2}	244 ± 9^{b5}	68 ± 2^{a3}	171 ± 6^{a4}	$13,5 \pm 2^{a1}$

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một cột mang các ký tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$

Bảng 3. Kích thước tế bào vi tảo (μm) sau xử lý NaCl với nồng độ và thời gian thay đổi

Nồng độ NaCl (M)	Xử lý 10 giờ		Xử lý 24 giờ		Xử lý liên tục
	10 giờ	10 ngày	24 giờ	10 ngày	10 ngày
Đối chứng (môi trường f/2 cải tiến)	3,37±0,06 ^{b1}		4,23±0,42 ^{b2}		3,36±0,12 ^{ab1}
0	3,72±0,08 ^{c2}	3,15±0,14 ^{b1}	3,49±0,45 ^{a2}	3,25±0,18 ^{a1}	3,58±0,12 ^{ab2}
0,25	3,54±0,09 ^{c2}	3,35±0,16 ^{b1}	3,26±0,10 ^{a1}	3,28±0,14 ^{a1}	3,52±0,16 ^{ab2}
0,5	3,27±0,06 ^{b2}	2,66±0,14 ^{a1}	4,84±0,92 ^{b2}	3,30±0,21 ^{a2}	2,75±0,16 ^{a1}
1	2,90±0,09 ^{a1}	3,23±0,14 ^{b2}	3,16±0,07 ^{a2}	3,28±0,19 ^{a2}	4,03±1,27 ^{ab3}
2	2,76±0,07 ^{a1}	3,30±0,16 ^{b2}	2,80±0,06 ^{a1}	3,05±0,11 ^{a2}	5,18±0,13 ^{b3}

Ghi chú: Các số trung bình trong cùng một hàng mang các chữ khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$

trưởng dạng S kép gồm hai giai đoạn tăng trưởng nhanh, một giai đoạn tăng trưởng chậm và giai đoạn bão hòa. Giai đoạn tăng trưởng nhanh lần thứ nhất xảy ra ở 6 ngày đầu, giai đoạn tăng trưởng nhanh lần hai xảy ra từ ngày thứ 8 đến ngày thứ 10 của quá trình nuôi cấy. Cả hai giai đoạn tăng trưởng nhanh đều đặc trưng bởi sự phân chia tế bào rất mạnh dẫn đến sự tăng rõ rệt mật độ tế bào và khối lượng tươi (Hình 1, 2). Tuy nhiên, chính sự phân chia tế bào liên tục với nhu cầu về năng lượng và dinh dưỡng đã làm kích thước trung bình của tế bào giảm cùng với sự giảm khối lượng khô. Giữa hai giai đoạn tăng trưởng nhanh là giai đoạn tăng trưởng chậm kéo dài khoảng 2 ngày với mật độ tế bào không thay đổi nhưng khối lượng tươi giảm mạnh trong khi khối lượng khô của tế bào gia tăng khá đặc sắc (Hình 1, 2). Bên cạnh đó, từ ngày 4 đến ngày 6 có sự giảm tỉ lệ phần trăm số tế bào nhỏ và trung bình, tăng tỉ lệ phần trăm số tế bào lớn và từ ngày 8 sang ngày 10 có sự tăng nhẹ trở lại tỉ lệ phần trăm số tế bào nhỏ. Sự thay đổi tỉ lệ các loại tế bào nhỏ, tế bào trung bình, tế bào lớn trước và sau giai đoạn này đi cùng với sự giảm khối lượng tươi và tăng khối lượng khô cho thấy đây có thể là giai đoạn xảy ra sự tích lũy trong tế bào (Bảng 1). Cuối cùng là giai đoạn bão hòa bắt đầu từ ngày thứ 12, với sự ngưng phân chia tế bào, tạo các tế bào vi tảo có kích thước lớn (Bảng 1).

Muối là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của vi tảo *N. oculata* (Ranaud et al., 1994). Trong nghiên cứu này, xử lý sodium chloride ở các nồng độ

thay đổi từ 0 đến 2M đều có tác động đến sự phân chia cũng như kích thước tế bào. Ngay sau khi xử lý, mật độ tế bào gia tăng ở xử lý 10 giờ hay 24 giờ ở nồng độ cao 2M hoặc rất thấp (0 hoặc 0,25M). Tuy nhiên việc xử lý sodium chloride liên tục trong 10 ngày làm mật độ tế bào giảm rõ rệt ở tất cả các nồng độ. Sau 10 ngày nuôi cấy trên môi trường f/2 cải tiến, mật độ tế bào của các vi tảo đã được xử lý dung dịch NaCl 0M trong 10 giờ đạt cao nhất, sau đó là xử lý NaCl 2M trong 24 giờ. Có lẽ sự loại hoàn toàn muối NaCl (dung dịch NaCl 0M, 10 giờ) hoặc tăng cao nồng độ muối (2M) có tác động như một yếu tố gây stress dẫn đến sự phân chia mạnh mẽ của các tế bào vi tảo. Việc xử lý muối tác động đến sự phân chia tế bào vi tảo ngoài tùy thuộc vào nồng độ còn tùy thuộc vào thời gian xử lý. (Gu et al., 2012), khi nghiên cứu ảnh hưởng của sự thay đổi nồng độ muối trong môi trường nuôi cấy đã chứng minh rằng nồng độ muối quá cao thường gây ức chế sự tăng trưởng và tích lũy lipid, đặc biệt là các TAG. Tuy nhiên, khi được xử lý vào giai đoạn sau của sự tăng trưởng, nồng độ muối cao (35g/L) giúp sự gia tăng tích lũy lipid qua đó năng suất thu lipid tăng 2,82 lần. Dường như có sự tương quan giữa sự tăng trưởng, đặc biệt là giai đoạn tăng trưởng với sự tích lũy lipid. Trong nghiên cứu này, với thời gian xử lý ngắn (10 giờ), nồng độ muối sodium chloride cao (2M) hoặc hoàn toàn không có muối sodium chloride (dung dịch NaCl 0M) không làm tăng phân chia tế bào ngay khi xử lý nhưng mật độ tế bào cao ở ngày 10 khi vi tảo đã được chuyển trở về môi trường f/2 cải tiến. Ngược lại, với thời gian xử lý dài (24 giờ), nồng độ sodium chloride thấp (0 hay

0,25M), làm tăng phân chia của tế bào ngay sau khi xử lý nhưng không làm tăng mật độ tế bào ở ngày thứ 10 sau khi chuyển sang môi trường f/2 cải tiến. Như vậy sự tác động của sodium chloride còn tùy thuộc vào giai đoạn tăng trưởng của vi tảo.

4. KẾT LUẬN

- Sự tăng trưởng của vi tảo *N. oculata* theo đường cong hình chữ S kép gồm 4 giai đoạn: hai giai đoạn tăng trưởng nhanh xảy ra ở ngày 0 đến ngày 6 và ở ngày 8 đến ngày 10, một giai đoạn tăng trưởng chậm xảy ra từ ngày 6 đến ngày 8, giữa hai giai đoạn tăng trưởng nhanh, đặc trưng bằng sự tăng mạnh khối lượng khô, và cuối cùng là giai đoạn tăng trưởng bão hòa sau ngày 12.

- Tế bào vi tảo *N. oculata* thường có kích thước nhỏ trong giai đoạn phân chia nhanh, kích thước lớn trong giai đoạn phân chia chậm tương ứng với sự tăng khối lượng khô (mạnh nhất vào ngày 8).

- Ở nồng độ thấp hơn 0,5M, thời gian xử lý dung dịch NaCl 24 giờ làm tăng sự phân chia tế bào nhưng làm giảm kích thước tế bào. Ở nồng độ cao hơn 0,5M, NaCl làm giảm kích thước tế bào nhưng không làm tăng phân chia tế bào khi nồng độ NaCl quá cao (2M) hoặc khi xử lý trong thời gian 24 giờ.

- Xử lý dung dịch NaCl 0M trong 10 giờ giúp tăng mạnh nhất mật độ tế bào ở ngày 10 cũng như không làm giảm kích thước tế bào vi tảo *N. oculata*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chiu S.Y., Kao C.Y., Tsai M.T., Ong S.C., Chen C.H., Lin C.S.(2009). Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response

to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, 100: 833-838.

Gu N, Lin Q., Li G., Qin G., Lin J., Huang L.(2012). Effect of salinity changes on biomass and biochemical composition of *Nannochloropsis oculata*. *Journal of the world aquaculture society*, 43(1): 97-106.

Guillard R.R.L. and Sieracki M.S.(2005). Counting cells in cultures with the light microscope. In *Algal culturing techniques*(Eds. R.A. Andersen). Elsevier Academic Press, pp. 239-252.

Hibberd D.J.(1981). Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (Synonym Xanthophyceae). *Botanical journal of the Linnean society*, 82(2): 93-119.

Liang C., Cao S., Zhang X., Zhu B., Su Z., Xu D., Guang X., Ye N.(2013). De novo sequencing and global transcriptome analysis of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) following nitrogen starvation. *Bioenerg. Res.*, 6: 494-505.

Makri A., Bellou S., Birkou M., Papatrehas K., Dolapsakis N.P., Bokas D., Papanikolaou S., Aggelis G.(2011). Lipid synthesized by microalgae grown in laboratory and industrial scale bioreactors. *Eng. Life Sci.*, 11(1): 52-58.

Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S.(2009). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review.

Montoya E.Y.O., Carvalho J.C.M., Converti A.(2010). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* for biodiesel production. In *Proceedings of Simposio Brasil - Japao*, 8-12 October 2010.

Pal D., Khozin-Goldberg I., Cohen Z., Boussiba S.(2011). The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Appl. Microbiol Biot.*, 90: 1429-1441.

Renaud S.M., Pary D.L.(1994). Microalgae for use in tropical aquaculture II: Effect of salinity on growth, gross chemical composition and fatty acid composition of three species of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 6(3): 347-356.

Wood A.M., Everroad R.C., Wingard L.M.(2005). Measuring growth rates in microalgal cultures. In *Algal culturing techniques* (Eds. R.A. Andersen). Elsevier Academic Press, pp. 269-285.