

TƯƠNG TÁC GIỮA CHU KÌ QUANG VÀ CƯỜNG ĐỘ CHIẾU SÁNG LÊN SINH TRƯỞNG QUẦN THỂ VÀ THÀNH PHẦN SINH HÓA TẢO SILIC BIỂN *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G. Fryxell & Hasle, 1977

INTERACTION OF PHOTOPERIODS AND LIGHT INTENSITIES ON POPULATION GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF MARINE DIATOM *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G. Fryxell & Hasle, 1977

Mai Đức Thao¹, Nguyễn Trần Thanh Tâm¹,
Kim Jye Lee-Chang² và Phạm Quốc Hùng^{1*}

¹Trường Đại học Nha Trang

²Oceans & Atmosphere, CSIRO, Australia

Tác giả liên hệ: Phạm Quốc Hùng, Email: phamquochung@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 01/03/2024; Ngày phản biện thông qua: 13/03/2024; Ngày duyệt đăng: 15/05/2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm hiểu mối tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa tảo silic biển, *Thalassiosira weissflogii*. Trong nghiên cứu này, *T. weissflogii* được nuôi cấy trong 9 nghiệm thức là ma trận tổ hợp của 3 mức cường độ ánh sáng khác nhau là 75, 100, và 125 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) và ba chế độ chiếu sáng (chu kỳ quang) là 12 giờ sáng: 12 giờ tối (12hL:12hD), 16 giờ sáng: 8 giờ tối (16hL:8hD), và 24 giờ chiếu sáng liên tục (24hL:0hD). Các thông số sinh trưởng quần thể (mật độ cực đại, tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm) và thành phần sinh hóa vi tảo được thu thập. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang tương tác chặt chẽ và ảnh hưởng rõ rệt lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii*. Cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang ở mức trung bình (100-125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và 18hL:6hD) đem lại hiệu quả nuôi cấy *T. weissflogii*. Điều kiện chiếu sáng cao làm gia tăng quá trình tích lũy SFAs và MUFAs, cũng như làm giảm hàm lượng EPA, DHA trong một số trường hợp cụ thể.

Từ khóa: Ánh sáng, sinh trưởng quần thể, thành phần sinh hóa, vi tảo

ABSTRACT

The study was conducted to investigate the interactive effects between light intensity and photoperiod on the growth of populations and biochemical composition of marine diatom, *Thalassiosira weissflogii*. In this research, *T. weissflogii* was cultured in 9 experimental conditions, representing a full factorial design of 3 light intensities at three different levels of 75, 100, and 125 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) and three photoperiods of 12 hours light: 12 hours dark (12hL:12hD), 16 hours light: 8 hours dark (16hL:8hD), and continuous light for 24 hours (24hL:0hD). Population growth parameters (maximum cell density, exponential growth rate) and the biochemical composition of microalgal were collected. The study results revealed a strong interaction between light intensity and photoperiod, significantly regulating the growth of *T. weissflogii* population. The average light intensities and photoperiod (100-125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ and 18hL:6hD) resulted a high productivity in the culture of *T. weissflogii*. The high light intensities and photoperiods resulted the increasing accumulation of SFAs and MUFAs, as well as decreased the levels of EPA and DHA in specific cases.

Keywords: Light, population growth, biochemical composition, microalgal

I. LỜI MỞ ĐẦU

Vi tảo nắm giữ những vai trò đặc biệt quan trọng, không thay thế trong sản xuất giống các đối tượng nuôi trồng thủy sản. Với đặc điểm giá trị dinh dưỡng tế bào rất cao, vi tảo được ứng dụng làm nguồn thức ăn trực tiếp và gián

tiếp trong sản xuất giống tôm he cũng như nhiều đối tượng cá biển, thân mềm khác. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, vi tảo chứa hàm lượng protein cao khoảng 30-40%, lipid 10-20% và carbohydrate chiếm khoảng 5-15% trọng lượng khô tế bào (dw). Đặc biệt, các acid

béo không no đa nối đôi mạch dài (long-chain PUFA) như docosaehexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA), arachidonic acid (ARA), amino acid thiết yếu, vitamin và các chất bổ dưỡng khác được tìm thấy trong hầu hết các loài vi tảo với một hàm lượng cao. Bên cạnh đó, kích thước tế bào vi tảo nhỏ bé từ vài cho tới vài chục micrometer phù hợp với cỡ miệng cũng như tập tính ăn lọc của các ấu trùng động vật thủy sản, đặc biệt là ấu trùng tôm [2, 8, 7, 13, 15, 20, 9]. Trong sản xuất giống tôm và động vật thân mềm, tảo silic được ứng dụng một cách phổ biến nhất bởi cấu tạo lớp vỏ tế bào từ silicate dễ dàng cho ấu trùng tiêu hóa và hấp thu [1].

Trên thế giới và ở Việt Nam, nghiên cứu tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy để nâng cao năng suất và giá trị dinh dưỡng vi tảo là hướng đi nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học. Cũng giống như hầu hết các sinh vật sản xuất khác, sinh trưởng và thành phần sinh hóa nội bào của vi tảo phụ thuộc vào nhiều yếu tố môi trường sống, đặc biệt là ánh sáng [5, 2, 1]. Ánh sáng là một trong ba nguồn năng lượng đầu vào chính cho quá trình quang hợp của vi tảo. Vi tảo cần ánh sáng cho giai đoạn quang hóa để tạo ra (ATP) Adenosine triphosphate, (NADPH) Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase và cũng cần bóng tối cho giai đoạn sinh hóa tổng hợp các phân tử cần thiết cho sự phát triển. Mỗi loài vi tảo khác nhau có các thành phần khác nhau về sắc tố quang hợp. Điều đó dẫn tới sự khác nhau về độ rộng quang phổ có thể được sử dụng trong quá trình quang hợp ở vi tảo. Hay nói cách khác, ảnh hưởng của ánh sáng lên sinh trưởng, phát triển và thành phần sinh hóa tế bào vi tảo dưới ba góc độ là cường độ ánh sáng, quang phổ màu, và chu kỳ quang [6, 10, 14].

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng cường độ ánh sáng ảnh hưởng một cách trực tiếp và là yếu tố quyết định đến hiệu suất quá trình quang hợp, kết quả là sinh trưởng/sinh khối quần thể vi tảo. Luôn tồn tại một khoảng cường độ ánh sáng mà ở đó, hiệu suất quang hợp của vi tảo đạt đến trạng thái cực đại. Khoảng cường độ ánh sáng này phụ thuộc vào nhiều yếu tố như

chủng/loài vi tảo, các điều kiện môi trường sống như nhiệt độ, CO₂, muối dinh dưỡng... Bên cạnh đó, quá trình thích nghi của vi tảo trong từng điều kiện môi trường sống cụ thể về cường độ ánh sáng dẫn đến những thay đổi trong một số phản ứng sinh lý nội bào, sinh tổng hợp protein, lipid thay đổi về sắc tố đưa đến những thay đổi về thành phần sinh hóa tế bào.

Bên cạnh cường độ chiếu sáng thì chu kỳ quang cũng có những ảnh hưởng rất lớn tới sinh trưởng quần thể và thành phần sinh hóa vi tảo [27, 24]. Về mặt nguyên lý, có hai phản ứng riêng biệt trong quá trình quang hợp vi tảo. Cụ thể, phản ứng trong pha sáng xảy ra trên lớp màng của lục lạp tại đó, năng lượng ánh sáng được chuyển hóa thành nguồn hóa năng dưới dạng NADPH, và hợp chất cao năng lượng ATP. Kế tiếp là phản ứng trong pha tối xảy ra trong chất nền của lục lạp, còn gọi là quá trình hoạt hóa enzyme, (chu trình Calvin-Benson). Do đó, bất kỳ sự thiếu hụt của một trong hai pha sáng – tối này đều cản trở quá trình sinh trưởng của vi tảo. Điểm nổi bật trong các nghiên cứu ảnh hưởng chu kỳ quang trên vi tảo, các nhà nghiên cứu thường quan tâm nhiều hơn đến thành phần sinh hóa tế bào vi tảo. Theo đó, nhiều bằng chứng từ các công trình nghiên cứu chỉ ra rằng, chu kỳ quang là một trong những yếu tố quyết định đến thành phần sinh hóa, hàm lượng sắc tố, sinh tổng hợp lipid và thành phần các acid béo [25, 26].

Với lợi thế về tài nguyên diện tích mặt nước lớn, đường bờ biển dài hơn 3,260 km, điều kiện khí hậu thuận lợi, và truyền thống lâu đời trong canh tác nông – lâm – ngư nghiệp, nuôi trồng thủy sản Việt Nam đã và đang được định hướng là một trong những ngành kinh tế đặc biệt quan trọng trong cơ cấu nền kinh tế quốc gia. Trong đó, tôm lợ mặn là một trong số các đối tượng chủ lực biểu hiện ở cả tổng sản lượng nuôi và giá trị kinh tế [3]. Tảo silic biển, *Thalassiosira weissflogii* được sử dụng phổ biến nhất trong sản xuất giống tôm thẻ chân trắng ở Việt Nam. Nghiên cứu nâng cao năng suất và giá trị dinh dưỡng vi tảo phục vụ sản xuất giống tôm là hướng đi rất quan trọng, có ý

nghĩa thiết thực góp phần thúc đẩy ngành tôm ngày càng phát triển [22]. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng lên kết quả quá trình nuôi cấy *T. weissflogii*, từ đó có những đề xuất góp phần thúc đẩy sự phát triển bền vững và hiệu quả ngành nuôi trồng thủy sản nước nhà.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, chủng vi tảo silic biển *Thalassiosira weissflogii* CS-871 được nhập nội về Việt Nam từ Bộ sưu tập giống tảo quốc gia Úc, ANACC (Australian National Algae Culture Collection). Quá trình thuần hóa và lưu giữ các chủng vi tảo được tiến hành tại Phòng Thí nghiệm vi tảo, Trường Đại học Nha Trang. Nguồn nước biển nhân tạo (theo mô tả của Goldman và McCarthy 1978 [11]) được sử dụng trong suốt quá trình thuần hóa và lưu giữ chủng vi tảo này. Độ mặn nước biển được điều chỉnh về 25 ‰ bằng nước cất. Môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 (Guillard và Ryther 1975) được sử dụng để bổ sung vào dịch nuôi cấy. Quá trình thuần hóa được tiến hành với điều kiện phòng thí nghiệm dưới hình thức nuôi đơn loài và bán liên tục. Chu kỳ thuần hóa các chủng vi tảo được xác định tối thiểu ở 20 thế hệ theo mô tả của Anderson (2005) và Brand (1981). Kết thúc quá trình thuần hóa, vi tảo silic biển, *T. weissflogii* được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu.

2. Bố trí thí nghiệm

Tảo silic biển, *T. weissflogii* được nuôi cấy trong các bình tam giác thủy tinh 1 L chứa 800 mL dịch nuôi cấy. Nguồn nước biển tự nhiên được lọc sạch, độ mặn hiệu chỉnh ở 25 ‰, hấp tiệt trùng được sử dụng để nuôi cấy

chủng loài vi tảo. Các thông số lý hóa học môi trường nước khác được hiệu chỉnh bao gồm pH trong khoảng 7,5-8,5, độ kiềm 150 – 180 mgCaCO₃/L. Môi trường dinh dưỡng bổ sung f/2 Guillard và Ryther (1975) được sử dụng. Trong nghiên cứu này, nhiệt độ được duy trì ở 25°C bằng máy điều hòa không khí và chế độ sục khí liên tục được áp dụng. Không bổ sung CO₂ trong suốt quá trình thí nghiệm. Mật độ tảo giống ban đầu được bố trí đồng nhất ở khoảng 2,500 tb/mL dựa vào công tác tiền thí nghiệm.

Thí nghiệm được thiết kế dưới dạng ma trận tổ hợp của ba mức cường độ chiếu sáng khác nhau là 75, 100, và 125 μmol/m/s (μE/m²/s) và ba chế độ chiếu sáng (chu kỳ quang) là 12 giờ sáng: 12 giờ tối (12hL:12hD), 16 giờ sáng: 8 giờ tối (16hL:8hD), và 24 giờ chiếu sáng liên tục (24hL:0hD). Trong đó, kết quả khảo sát cho thấy cường độ ánh sáng 100 μmol/m/s là khoảng cường độ được sử dụng phổ biến cho nuôi cấy loài tảo này tại nhiều cơ sở nghiên cứu và hầu hết các trại giống tôm lớn ở Việt Nam [1]. Bên cạnh đó, cường độ chiếu sáng 75 μmol/m/s được khuyến cáo bởi đơn vị cung cấp giống vi tảo ANACC. Đây là cơ sở cho việc bố trí ba ngưỡng cường độ chiếu sáng trong nghiên cứu này bao gồm 75, 100, và 125 μmol/m²/s.

Tương tự như vậy, chu kỳ quang 12hL:12hD được cho là điều kiện tiêu chuẩn trong nhiều nghiên cứu và ứng dụng sản xuất [6]. Mặc dù vậy, quan điểm của nhiều cơ sở sản xuất theo hướng chiếu sáng liên tục để thu được sinh khối quần thể cao trong khoảng thời gian ngắn nhất [1]. Hai căn cứ này là cơ sở để bố trí thí nghiệm với ba chế độ chu kỳ quang trong nghiên cứu này là 12hL:12hD, 18hL:6hD và 24hL:0hD.

Có chín nghiệm thức từ tổ hợp này đối với

Bảng 1. Ma trận tổ hợp cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang trong nghiên cứu

	12hL: 12hD	18hL: 6hD	24hL:0hD
	NT1	NT2	NT3
75 μmol/m ² /s	75μE+12hL:12hD	75μE+18hL:6hD	75μE+24hL:0hD
	NT4	NT5	NT6
100 μE/m ² /s	100μE+12hL:12hD	100μE+18hL:6hD	100μE+24hL:0hD
	NT7	NT8	NT9
125 μE/m ² /s	125μE+12hL:12hD	125μE+18hL:6hD	125μE+24hL:0hD

mỗi chủng vi tảo nghiên cứu. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần tạo thành $3 \times 9 = 27$ đơn vị thí nghiệm. Để có những hiểu biết tốt hơn về tương tác của cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng quần thể và giá trị dinh dưỡng tế bào vi tảo silic biển *T. weissflogii*, toàn bộ thí nghiệm được thực hiện trong hai lần độc lập. Tổng số đơn vị thí nghiệm trong thí nghiệm này là 54.

3. Phương pháp thu thập số liệu

Xác định các thông số sinh trưởng quần thể vi tảo

Định kỳ hằng ngày (8.00 sáng) thu thập mẫu tế bào vi tảo để xác định các thông số sinh trưởng quần thể. Dịch nuôi cấy vi tảo được thu bằng micropipette (1000 μ L) chứa trong các ống eppendorf (1,5 mL) cố định bằng dung dịch Lugol's đậm đặc trung tính (nồng độ lugol's cố định đạt 5%). Buồng đếm tế bào máu Neubauer improved (độ sâu 0,1mm) và kính hiển vi quang học Olympus BX 21 ở độ phóng đại 40×10 được sử dụng để xác định mật độ tế

$$\text{Ln}(C_t) = \text{Ln}(C_0 \cdot e^{\mu t}) \leftrightarrow \text{Ln}(C_t) = \text{Ln}(C_0) + \mu t \quad [3]$$

Phương trình [3] có thể biểu diễn dưới dạng $y = \mu x + b$ [3]. Trong đó, μ là tốc độ tăng trưởng tại pha logarithm của quần thể, y là giá trị mật độ tảo dưới dạng Ln, x là đơn vị thời gian (ngày). Đường thẳng [3] có thể được xác định bằng phương pháp vẽ đường thẳng hồi qui tuyến tính các giá trị mật độ tảo (biểu diễn dưới dạng hàm số logarithm cơ số e) từ ngày nuôi thứ 0, đến ngày nuôi thứ n ($n > 0$), căn cứ xác

bào. Nguyên tắc đếm Neubauer được áp dụng. Từ đây, các thông số sinh trưởng quần thể vi tảo được xác định, bao gồm mật độ cực đại và tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm. Các phương pháp xác định được thực hiện theo mô tả của Anderson (2005) [6] và Cái Ngọc Bảo Anh (2010) [2].

Mật độ tế bào tảo được xác định qua công thức

$$D = A \cdot X \cdot 10^4 \quad [1]$$

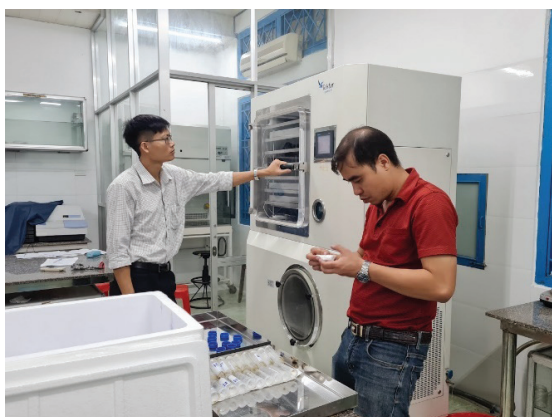
Trong đó, D: mật độ tế bào (tb/mL); A: Tổng số tế bào được đếm trong cả buồng đếm X: Hệ số pha loãng (nếu có); 10^4 : Quy đổi giá trị thể tích buồng đếm. Mật độ cực đại được xác định bằng mật độ cao nhất thu được theo ngày trong chu kỳ nuôi cấy.

Tốc độ sinh trưởng của quần thể vi tảo ở các pha tăng logarithm (EGRs-exponential growth rates) được thể hiện qua công thức $C_t = C_0 \cdot e^{\mu t}$ [2]. Biểu thị giá trị hai vế của [2] dưới dạng hàm số logarithm cơ số tự nhiên (e), ta được phương trình có dạng:

định tính chính xác của đường thẳng thông qua hệ số tương quan $R^2 > 0.9$.

Phân tích thành phần sinh hóa tế bào vi tảo

Sinh khối vi tảo *T. weissflogii* được thu thập vào nửa cuối pha logarithm trong qui trình nuôi cấy. Để phân tích thành phần acid béo, 50mL dịch nuôi cấy được thu thập và chứa trong các ống falcon, tiến hành li tâm ở 2500 vòng/phút



Hình 1. Thu thập mẫu tế bào vi tảo phục vụ phân tích thành phần axit béo (trái) và phân tích thành phần sinh hóa chính (phải).

trong khoảng 10 phút để loại nước. Phần lắng được sấy đông khô ở -20°C trong khoảng thời gian 24 giờ. Mẫu đông khô được bảo quản kỹ càng và chuyển về phòng thí nghiệm sinh hóa CSIRO, Úc để tiến hành phân tích. Thành phần acid béo được xác định bằng phương pháp methyl esters (ISO 12966-2:2017) [15].

4. Phân tích số liệu

Các số liệu sau thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê sử dụng phần mềm Microsoft Excel. Phép phân tích phương sai hai yếu tố có lặp (Two - Way Anova With Replication) và phần mềm đồ họa SigmaPlot ver.14 được sử dụng để xác định và biểu diễn tương tác giữa hai yếu tố lên sinh trưởng quần thể vi tảo. Các số liệu được trình bày dưới dạng trung bình (Mean) \pm sai số chuẩn (SD).

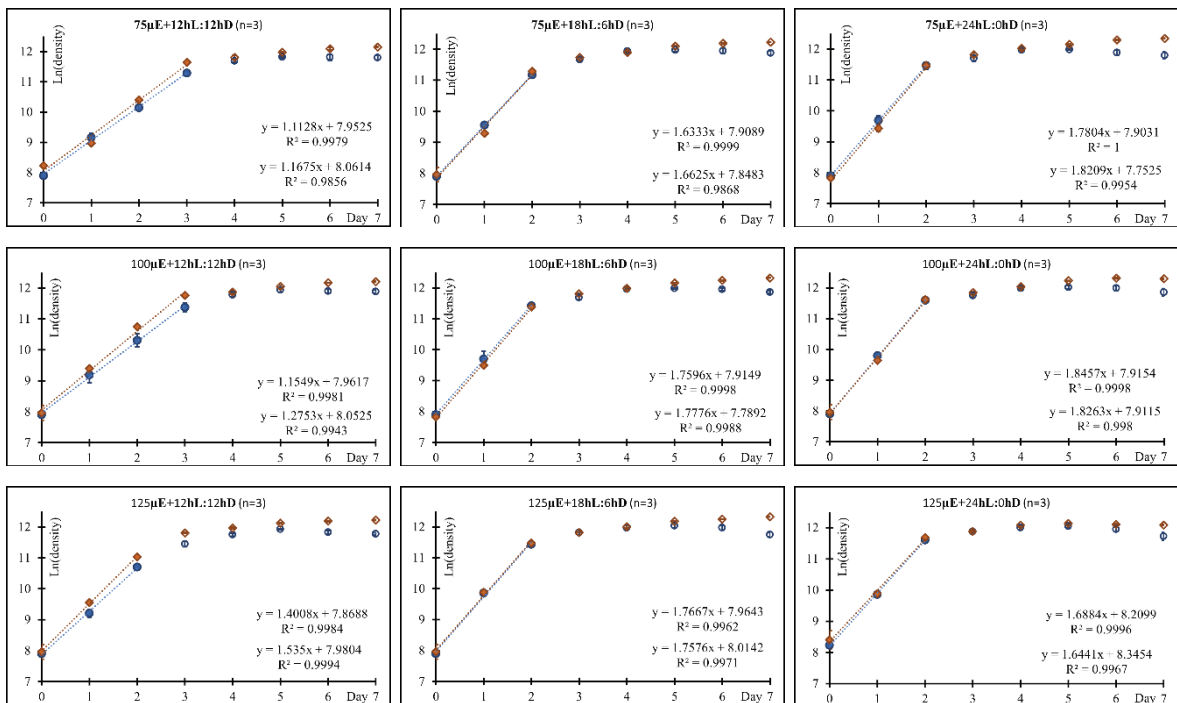
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể vi

tảo silic biển *Thalassiosira weissflogii*

Kết quả nghiên cứu từ Hình 2 đã chỉ ra rằng quần tảo silic biển *T. weissflogii* CS-871 thích nghi và tăng sinh nhanh chóng ngay sau ngày đầu tiên nuôi cấy trong tất cả chín điều kiện thí nghiệm. Pha logarithm bắt đầu từ ngày nuôi 0 và kéo dài 2 ngày trong hầu hết các nghiệm thức. Ngoại trừ hai trường hợp đặc biệt xảy ra ở NT1 và NT4, tại đây pha logarithm kéo dài trong 3 ngày đầu trong chu kỳ sinh trưởng quần thể. Hai nghiệm thức này có cùng điều kiện thấp về chu kỳ quang (12 giờ chiếu sáng: 12 giờ tối) tổ hợp với cường độ chiếu thấp $75 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và cường độ ánh sáng trung bình $100 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Sinh khối quần thể vi tảo tiếp tục tăng sinh và đạt giá trị cực đại vào ngày nuôi thứ 5 và thứ 6 ở hầu hết các nghiệm thức thí nghiệm. Pha cân bằng kéo dài khoảng 2 đến 3 ngày và có dấu hiệu tàn vào ngày nuôi cấy thứ 7.

Ảnh hưởng của chu kỳ quang lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii*



Hình 2. Sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong chín nghiệm thức thí nghiệm

Trục x biểu hiện thời gian nuôi cấy (ngày). Trục y biểu hiện giá trị mật độ tảo theo các ngày nuôi dưới dạng Ln. Các dấu tròn, đường kẻ màu xanh, phương trình và hệ số R^2 ở góc bên phải-phía trên biểu diễn kết quả sinh trưởng của quần thể *T. weissflogii* ở lần thí nghiệm thứ nhất. Ngược lại, các dấu hình thoi, đường kẻ màu cam, phương trình và hệ số R^2 ở góc bên phải phía dưới biểu diễn kết quả sinh trưởng của quần thể ở lần lặp thứ hai.

Ở khía cạnh ảnh hưởng của các chu kỳ quang khác nhau lên sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii*, kết quả từ nghiên cứu này đã chỉ ra một xu hướng rất rõ rệt và thú vị. Cụ thể, trong điều kiện cường độ ánh sáng thấp, sinh trưởng quần thể vi tảo sẽ tăng khi tăng thời gian chiếu sáng. Nhìn vào kết quả nghiên cứu (Bảng 2) thấy rằng, ở nhóm các nghiệm thức có cường độ chiếu sáng thấp ($75 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$), mật độ cực đại tăng mạnh từ 14,21 trong điều kiện chu kỳ quang có 12 giờ chiếu sáng lên 16,08 ở điều kiện 18 giờ chiếu sáng và tiếp tục tăng lên 16,17 ($\times 10^4$ tb/mL) ở điều kiện chiếu sáng 24 giờ liên tục trong lần thí nghiệm thứ nhất. Xu hướng biến động này được lặp lại hoàn toàn ở lần thí nghiệm thứ hai. Kết quả thu được hoàn toàn tương tự khi quan sát kết quả sinh trưởng quần thể ở thông số tốc độ sinh trưởng quần thể trong pha logarithm (EGRs). Trong cả hai lần thí nghiệm, EGRs tăng mạnh theo thứ tự từ 1,11 và 1,16 (điều kiện 12 giờ chiếu sáng) lên đến 1,63 và 1,66 (chiếu sáng 18 giờ) và đạt 1,78 và 1,82 khi áp dụng điều kiện chiếu sáng 24 giờ liên tục.

Trong khi đó, ở điều kiện cường độ chiếu sáng cao, khi tăng thời gian chiếu sáng từ mức

thấp lên trung bình sinh trưởng quần thể tăng nhẹ, và giảm khi tiếp tục tăng thời gian chiếu sáng. EGRs tăng từ 1,40 lên đến 1,77 khi tăng thời gian chiếu sáng từ 12 giờ lên 18 giờ ở lần thí nghiệm thứ nhất, và tăng từ 1,53 lên 1,76 trong lần thí nghiệm thứ hai. Khi tiếp tục tăng thời gian chiếu sáng lên 24 giờ liên tục, tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm giảm theo thứ tự là 1,69 và 1,64. Tương tự như vậy khi quan sát kết quả sinh trưởng quần thể biểu hiện qua giá trị mật độ cực đại. Mặc dù vậy, có một trường hợp ngoại lệ ở lần thí nghiệm thứ nhất, sinh khối quần cực đại của quần thể gần gần giống nhau ở ngưỡng 17×10^4 tb/mL trong hai nghiệm thức NT8 ($125 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}+18\text{hL}:6\text{hD}$) và NT9 ($125 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}+24\text{hL}:0\text{hD}$).

Trong điều kiện cường độ chiếu sáng ở mức trung bình ($100 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$), việc tăng thời gian chiếu sáng từ mức thấp lên trung bình (12 giờ lên đến 18 giờ) sẽ có vai trò thúc đẩy sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* lên. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian chiếu sáng trong chu kỳ quang lên đến 24 giờ liên tục, sinh trưởng quần thể vi tảo silic này dường như không có thay đổi lớn (Hình 2 và Bảng 2).

Bảng 2. Thông số sinh trưởng quần thể vi tảo *T. weissflogii* trong chín nghiệm thức thí nghiệm (Mean \pm SD)

	Mật độ cực đại ($\times 10^4$ tb/mL)		
	12hL: 12hD	18hL: 6hD	24hL:0hD
75 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	14,21 \pm 0,56	16,08 \pm 0,89	16,17 \pm 0,56
	18,88 \pm 0,25	20,38 \pm 0,13	22,88 \pm 0,25
100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	15,33 \pm 0,89	17,00 \pm 0,25	16,88 \pm 0,50
	19,88 \pm 0,33	22,42 \pm 0,07	22,21 \pm 0,51
125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	16,17 \pm 0,06	17,25 \pm 0,57	17,33 \pm 0,89
	20,33 \pm 0,26	22,58 \pm 0,19	18,58 \pm 0,38

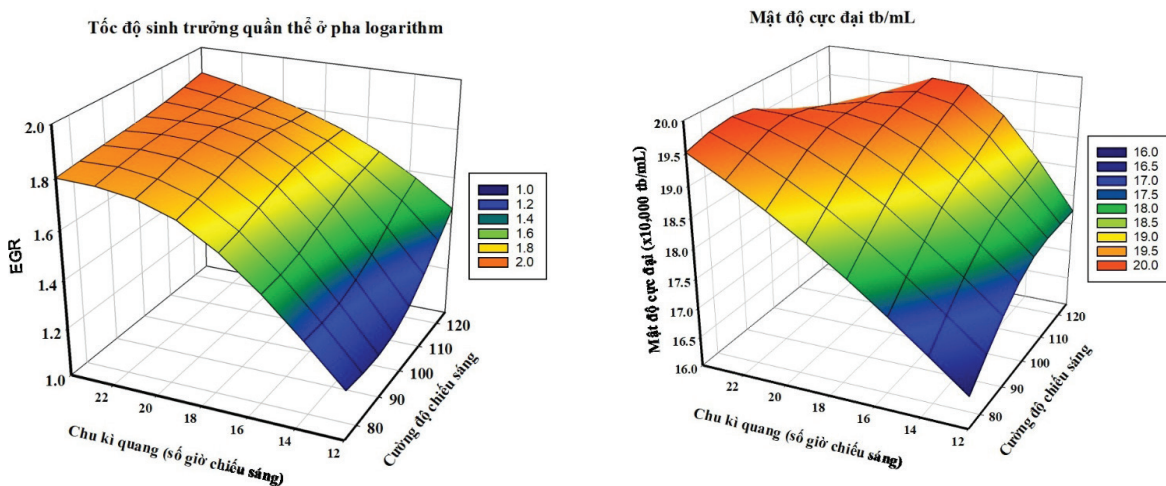
	Tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm (/ngày)		
	12hL: 12hD	18hL: 6hD	24hL:0hD
75 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	1,11 \pm 0,04	1,63 \pm 0,02	1,78 \pm 0,06
	1,16 \pm 0,11	1,66 \pm 0,13	1,82 \pm 0,01
100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	1,15 \pm 0,07	1,76 \pm 0,03	1,85 \pm 0,02
	1,28 \pm 0,06	1,78 \pm 0,01	1,83 \pm 0,10
125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$	1,40 \pm 0,04	1,77 \pm 0,02	1,69 \pm 0,04
	1,53 \pm 0,12	1,76 \pm 0,13	1,64 \pm 0,15

Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii*

Tương tự như ở khía cạnh chu kỳ quang, việc tăng cường độ ánh sáng làm cho sinh trưởng quần thể tảo silic biển *T. weissflogii* tăng mạnh trong điều kiện nuôi cấy có số giờ chiếu sáng thấp (12 giờ). Kết quả trong lần thí nghiệm thứ nhất, mật độ cực đại và EGRs ở NT1 (75 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}+12\text{hL}:12\text{hD}$) đạt $14,21 \times 10^4$ tb/mL và 1,11 sẽ tăng lên theo thứ tự là 15,33 và 1,15 (NT4). Hai kết quả này ở NT7 là $16,17 \times 10^4$ tb/mL và 1,40. Xu hướng này được lần nữa chứng minh trong lần thí nghiệm thứ hai. Mật độ cực đại

quần thể *T. weissflogii* tăng từ 18,88 (NT1), lên 19,99 (NT4) và $20,33 \times 10^4$ tb/mL (NT7). Tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm cũng tăng lần lượt theo thứ tự là 1,16 đến 1,28 và 1,53.

Ở một chiều hướng khác, trong điều kiện nuôi cấy có chu kỳ quang lớn (chiều sáng 24 giờ liên tục), ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii* trong nghiên cứu này không thực sự rõ ràng. Mặc dù vậy, kết quả nghiên cứu từ Bảng 2 cho ta thấy, sinh trưởng quần thể tảo silic biển này biến động nhẹ và có xu hướng giảm.



Hình 3. Tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên tốc độ sinh trưởng quần thể ở pha logarithm (trái) và mật độ cực đại (phải).

Tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể *T. weissflogii*

Kết quả nghiên cứu từ Hình 3 cho thấy có mối tương tác chặt chẽ giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên sinh trưởng quần thể tảo silic biển *T. weissflogii* trong nghiên cứu này. Sinh trưởng quần thể vi tảo biểu hiện kém trong điều kiện tương tác cường độ ánh sáng và chu kỳ quang cùng thấp hoặc cùng cao. Ngược lại, kết quả sinh trưởng thu được sẽ cao hơn rõ rệt trong điều kiện tổ hợp cường độ ánh sáng và chu kỳ quang ở mức trung bình. Kết quả phân tích phương sai hai yếu tố có lặp (phụ lục) và đồ thị Hình 2 cho thấy sự tương tác mạnh mẽ có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng

quần thể vi tảo. Thêm vào đó, độ cong của đồ thị Hình 2 cho thấy rằng tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng biểu hiện mạnh hơn ở góc độ tốc độ sinh trưởng quần thể của pha logarithm.

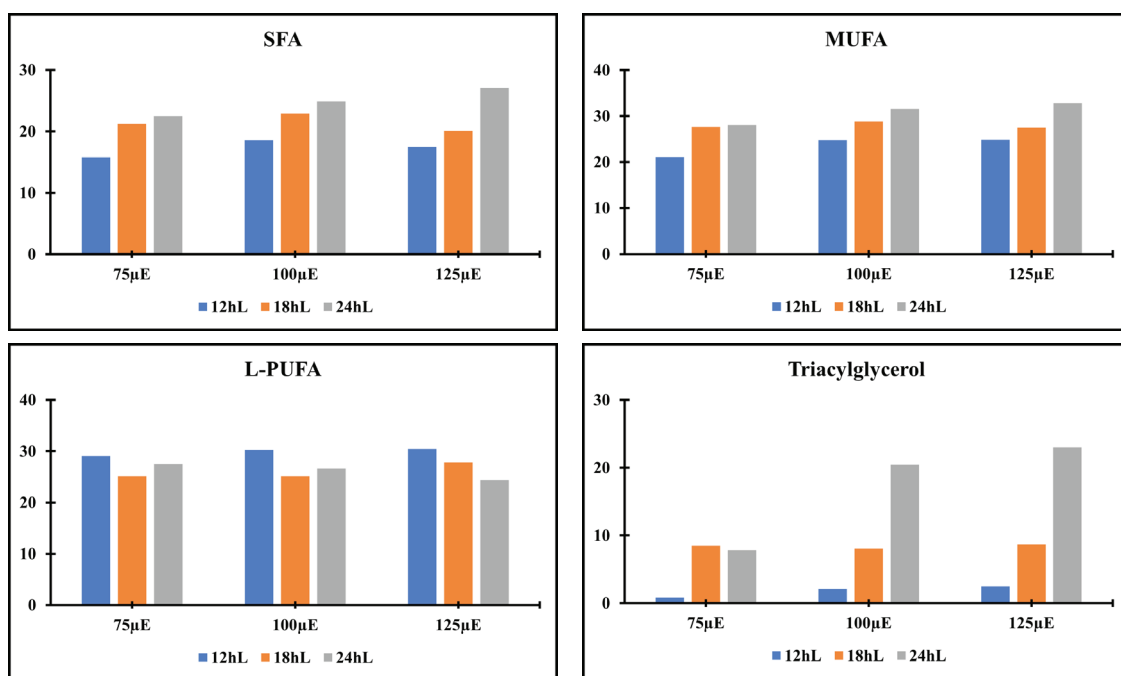
Tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên thành phần sinh hóa vi tảo silic biển *Thalassiosira weissflogii*

Kết quả nghiên cứu từ Bảng 3 cho thấy tảo silic biển *T. weissflogii* có sự phong phú về thành phần các axit béo. Trong đó, phần lớn là các axit béo mạch dài và có số phân tử carbon là số chẵn. Nhiều nhất là axit béo chứa từ 18-22 phân tử carbon, hàm lượng các axit béo này chiếm trên 65% tổng số các axit béo TFAs (total fatty acids). Đặc biệt là sự hiện diện của hầu hết các axit béo thiết yếu không no đa nối

đôi L-PUFAs (Long chain Poly-Unsaturated Fatty Acids), các đồng phân cis, và omega 3, 6 như linoleate (18:2w6), alpha-linolenic (18:3w3), ARA (20:4w6), EPA (20:5w3), và DHA (22:6w3), nhóm L-PUFAs này chiếm khoảng 25-30% TFA. Chỉ tính riêng EPA, vi tảo *T. weissflogii* này được phát hiện có chứa hàm lượng rất cao, dao động từ 19,60 – 23,30% tổng số các axit béo. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, hàm lượng các axit béo không no một nối đôi MUFAs (mono-unsaturated fatty acids) phát hiện trong nghiên cứu này ở khoảng 21,09-31,60% TFA. Ngoài ra, kết quả phân tích cũng chỉ ra sự hiện diện và tương đối đồng nhất giữa các nghiệm thức của một số thành phần sinh hóa khác như sáp (wax ester), axit béo tự

do (free fatty acids), sterol và polar lipid.

Ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng và chu kì quang lên thành phần sinh hóa vi tảo được thể hiện tương đối rõ ràng ở một số thành phần sinh hóa như nhóm các axit béo no (SFAs), nhóm các axit béo không no một nối đôi (MUFAs), và triacylglycerol. Theo đó, việc tăng cường độ chiếu sáng hay tăng chu kì quang dẫn đến sự gia tăng về thành phần các axit béo no và axit béo không no một nối đôi. Xu hướng xảy ra tương tự đối với triacylglycerol, tuy nhiên có một trường hợp ngoại lệ ở NT5 (100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}+18\text{hL}:6\text{hD}$) (Hình 4a, 4b, và 4c). Ngược lại, các thành phần sinh hóa vi tảo khác biến động theo qui luật không thật sự rõ ràng, đơn cử như L-PUFAs (Hình 4d).



Hình 4. Tương tác của cường độ ánh sáng và chu kì quang lên một số thành phần sinh hóa vi tảo silic biển *T. weissflogii*.

Trong nghiên cứu này, việc phân tích thành phần sinh hóa vi tảo gặp một số khó khăn nên chưa thực hiện được các lần lặp. Từ đó, các phép phân tích thống kê chưa được thực hiện. Mặc dù vậy, kết quả nghiên cứu này tạm thời chỉ ra tương tác giữa chu kì quang và cường độ ánh sáng lên thành phần sinh hóa vi tảo là chưa được biểu hiện một cách rõ ràng.

Số lượng các công trình nghiên cứu ảnh

hưởng của điều kiện chiếu sáng lên sinh trưởng và thành phần sinh hóa vi tảo trên thế giới là rất phong phú. Phần lớn tập trung vào mối tương tác của hai hay nhiều yếu tố tác động đồng thời lên sinh trưởng quần thể và thay đổi trong thành phần sinh hóa. Mặc dù vậy, các ấn phẩm công bố trên chính đối tượng *T. weissflogii* này không nhiều. Kết quả từ nghiên cứu này tương đối giống với kết quả được thực hiện bởi

Bảng 3. Thành phần sinh hóa vi tảo *T. weissflogii* trong chín nghiệm thức

	Nghiệm thức								
	NT1	NT2	NT3	NT4	NT5	NT6	NT7	NT8	NT9
Thành phần axit béo									
14:0	5,28	6,12	7,11	5,12	6,43	6,78	5,57	6,04	7,27
16:1w7c	20,59	27,31	27,75	24,37	28,47	31,38	24,40	27,17	32,61
16:0	10,35	14,85	15,11	13,23	16,26	17,86	11,73	13,86	19,55
18:3w6+18:5w3	0,14	0,11	0,09	0,12	0,11	0,12	0,14	0,13	0,12
18:4w3	1,96	0,03	0,81	1,82	1,38	0,82	1,91	1,46	0,93
18:2w6	0,55	0,40	0,31	0,46	0,39	0,41	0,49	0,43	0,37
18:3w3	0,20	0,29	0,28	0,29	0,32	0,36	0,28	0,28	0,37
18:1w9c	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18:1w7c	0,51	0,34	0,34	0,45	0,31	0,22	0,48	0,31	0,25
18:0	0,19	0,28	0,29	0,23	0,26	0,26	0,19	0,21	0,28
20:4w6 ARA	0,12	0,00	0,03	0,12	0,09	0,07	0,14	0,09	0,04
20:5w3 EPA	22,29	21,10	22,21	23,16	19,77	21,43	23,30	22,00	19,60
22:6w3 DHA	3,30	2,91	3,45	3,81	2,79	3,23	3,70	3,13	2,72
Nhóm axit béo									
SFA	15,82	21,26	22,51	18,58	22,95	24,91	17,49	20,12	27,10
MUFA	21,09	27,65	28,09	24,82	28,78	31,60	24,88	27,47	32,86
L-PUFA	29,07	25,18	27,52	30,23	25,16	26,66	30,44	27,83	24,4
EPA+DHA	25,72	24,13	25,76	27,09	22,68	24,77	27,15	25,26	22,44
Wax ester	0,36	0,90	1,34	0,71	0,82	0,68	0,61	1,46	0,68
Triacylglycerol	0,83	8,45	7,81	2,08	8,07	20,48	2,48	8,69	23,03
Free fatty acid	3,63	2,61	2,91	4,72	2,35	4,18	2,87	3,93	2,93
Sterol	0,69	1,83	1,85	1,01	1,96	2,42	1,69	2,56	2,77
Polar lipid	38,58	44,94	35,78	41,98	37,12	42,10	48,95	45,85	37,65

Shannon L. Meseck và cộng tác viên (2005). Trong nghiên cứu về mối tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng vi tảo *Tetraselmis chui* của mình, nhóm tác giả bố trí một tổ hợp ma trận của 3 mức cường độ chiếu sáng 73, 110, 220 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và 4 điều kiện chu kỳ quang 8hL:16hD, 12hL:12hD, 16hL:8hD, 24hL:0hD. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng sinh trưởng quần thể *T. chui* tăng đồng biến với sự gia tăng của cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang. Sự tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng quần thể vi tảo là chặt chẽ và có ý nghĩa thống kê [17].

Maltsev (2021) và Wacker (2016) đã khẳng định rằng thành phần axit béo thể hiện tính đặc

trung trong hệ thống phân loại và cũng phụ thuộc vào điều kiện môi trường sống của vi tảo [16, 23]. Trong điều kiện môi trường sống có cường độ ánh sáng cao, các tế bào vi tảo có xu hướng sử dụng năng lượng dư thừa để sản xuất lipid dự trữ, chủ yếu là SFAs và MUFAs [18]. Luận điểm khoa học này được lần nữa khẳng định thông qua kết quả của nghiên cứu này. Thêm cạnh đó, nghiên cứu của He (2015) [12], và Solovchenko (2008) [21] thực hiện trên các loài vi tảo *Chlorella* sp., *Monoraphidium* sp., và *Parietochloris incisa* cũng chỉ ra rằng hàm lượng các lipid không phân cực triacylglyceride (TAG) tăng lên trong điều kiện gia tăng cường độ chiếu sáng môi trường sống. Kết quả trong nghiên cứu này (Bảng 3 và Hình 4) cơ bản là

trương đồng với công bố vừa liệt kê. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng cường độ chiếu sáng thấp thúc đẩy tích lũy PUFAs, nhất là các PUFAs mạch dài như ARA, EPA, và DHA [9]. Mặc dù vậy, kết quả từ nghiên cứu này không cho thấy được xu hướng đó, ngoại trừ hai trường hợp EPA và DHA ở nhóm nghiệm thức có chu kỳ quang là 24 giờ chiếu sáng liên tục.

Tương tự như cường độ chiếu sáng, nhiều bằng chứng từ các công trình nghiên cứu chỉ ra rằng, chu kỳ quang là một trong những yếu tố quyết định đến thành phần sinh hóa vi tảo. Maryam Al-Qasmi (2012) cho rằng, trong cùng một điều kiện nuôi cấy, việc tăng số giờ chiếu sáng của chu kỳ quang sẽ làm tăng hàm lượng acid béo no và làm giảm hàm lượng acid béo không no thiết yếu như EPA, và DHA [4, 19]. Kết quả từ nghiên cứu này là tương tự với kết quả của Maryam Al-Qasmi ở khía cạnh SFAs. Đối với EPA và DHA, xu hướng này chỉ thể hiện ở hai nhóm nghiệm thức có cùng cường độ chiếu sáng là 125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Ở khía cạnh tương tác giữa chu kỳ quang và cường độ chiếu sáng lên sự thay đổi về thành phần sinh hóa vi tảo, quan điểm tiếp cận của một số nhà nghiên cứu là là cường độ ánh sáng và chu kỳ quang quyết định tổng lượng ánh sáng trong một ngày cung cấp cho quang hợp vi tảo. Vi tảo sẽ thay đổi, điều chỉnh và thích nghi với từng điều kiện cụ thể đó. Một vài nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra mối tương tác này nhưng chưa ghi nhận kết quả rõ ràng [5].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu Tiếng Việt

1. Mai Đức Thao, *Xây dựng ngân hàng giống vi tảo Trường Đại học Nha Trang phục vụ công tác đào tạo, nghiên cứu và phục vụ cộng đồng*, in *Báo cáo tổng kết Đề tài Nghiên cứu khoa học*. 2023, Viện Nuôi trồng thủy sản: Trường Đại học Nha Trang.
2. Cái Ngọc Bảo Anh, *Ảnh hưởng của dinh dưỡng đến sinh trưởng quần thể, chất lượng của ba loài vi tảo (*Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* và *Tetraselmis chui*) và luân trùng (*Brachionus plicatilis*)*, in *Khoa Nuôi trồng thủy sản*. 2010, Đại học Nha Trang: Nha Trang. p. 132.
3. Tổng cục Thủy sản. Định hướng và giải pháp phát triển sản xuất tôm năm 2020 in *Triển Khai Nhiệm Vụ Phát Triển Ngành Tôm Nước Lợ Năm*. 2020.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu này đưa đến kết luận chu kỳ quang và cường độ ánh sáng ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng quần thể *T. weissflogii*. Ở khía cạnh tác động của chu kỳ quang, trong các điều kiện nuôi cấy có cường độ ánh sáng thấp, sinh trưởng quần thể vi tảo sẽ tăng khi tăng thời gian chiếu sáng. Trong khi đó, ở điều kiện nuôi cấy cường độ chiếu sáng cao, khi tăng thời gian chiếu sáng từ mức thấp lên trung bình sinh trưởng quần thể tăng nhẹ, và giảm khi tiếp tục tăng thời gian chiếu sáng. Xu hướng tác động này diễn ra tương tự ở khía cạnh tác động của cường độ chiếu sáng.

Mối tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên sinh trưởng quần thể được biểu hiện một cách rõ ràng và có ý nghĩa thống kê cao.

Việc tăng cường độ và thời gian chiếu sáng trong chu kỳ quang làm gia tăng tích lũy các axit béo no, axit béo không no một nối đôi, triacylglycerol. Ngược lại, hàm lượng EPA và DHA giảm khi gia tăng điều kiện chiếu sáng trong một số trường hợp cụ thể. Mối tương tác giữa cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang lên thành phần sinh hóa vi tảo *T. weissflogii* chưa được thể hiện rõ ràng.

Ứng dụng kết quả nghiên cứu này đưa đến hướng lựa chọn cường độ chiếu sáng và chu kỳ quang trong nuôi cấy *T. weissflogii* ở mức trung bình (100-125 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ và 18hL:6hD) đem lại hiệu quả nuôi cấy và tiết kiệm nguồn năng lượng.

Tài liệu Tiếng Anh

4. Maryam Al-Qasmi, Nitin Raut, Sahar Talebi, Sara Al-Rajhi, and Tahir Al-Barwani, *A review of effect of light on microalgae growth*. in *Proceedings of the world congress on engineering*. 2012.
5. Zahra Amini Khoeyi, Jafar Seyfabadi, and Zohreh Ramezanpour, *Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*, 2012. **20**: p. 41-49.
6. Robert A Andersen, *Algal culturing techniques*. 2005: Elsevier.
7. Malcolm R Brown, *Nutritional value and use of microalgae in aquaculture*. *Avances en Nutrición Acuicola*, 2002.
8. MR Brown, SW Jeffrey, JK Volkman, and GA Dunstan, *Nutritional properties of microalgae for mariculture*. *Aquaculture*, 1997. **151**(1-4): p. 315-331.
9. Eva Cointet, Gaëtane Wielgosz-Collin, Gaël Bougaran, Vony Rabesaotra, Olivier Gonçalves, and Vona Méléder, *Effects of light and nitrogen availability on photosynthetic efficiency and fatty acid content of three original benthic diatom strains*. *Plos one*, 2019. **14**(11): p. e0224701.
10. Pooya Darvehei, Parisa A Bahri, and Navid R Moheimani, *Model development for the growth of microalgae: A review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2018. **97**: p. 233-258.
11. Joel C Goldman and James J McCarthy, *Steady state growth and ammonium uptake of a fast-growing marine diatom I*. *Limnology and oceanography*, 1978. **23**(4): p. 695-703.
12. Qiaoning He, Haijian Yang, Lei Wu, and Chunxiang Hu, *Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae*. *Bioresource technology*, 2015. **191**: p. 219-228.
13. Megan Kent, Craig L Browdy, and John W Leffler, *Consumption and digestion of suspended microbes by juvenile Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 2011. **319**(3-4): p. 363-368.
14. Eunyoung Lee, Mehregan Jalalizadeh, and Qiong Zhang, *Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review*. *Algal research*, 2015. **12**: p. 497-512.
15. Thao Duc Mai, Kim Jye Lee-Chang, Ian D Jameson, Tung Hoang, Ngoc Bao Anh Cai, and Hung Quoc Pham, *Fatty acid profiles of selected microalgae used as live feeds for shrimp postlarvae in Vietnam*. *Aquaculture Journal*, 2021. **1**(1): p. 26-38.
16. Yevhen Maltsev and Kateryna Maltseva, *Fatty acids of microalgae: Diversity and applications*. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2021. **20**: p. 515-547.
17. Shannon L Meseck, Jennifer H Alix, and Gary H Wikfors, *Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, Tetraselmis chui (PLY429)*. *Aquaculture*, 2005. **246**(1-4): p. 393-404.
18. Neha Mishra, Sheo Mohan Prasad, and Neetu Mishra, *Influence of high light intensity and nitrate deprivation on growth and biochemical composition of the marine microalgae Isochrysis galbana*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2019. **62**.
19. Indira Priyadarshani and Biswajit Rath, *Commercial and industrial applications of micro algae—A review*. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2012. **3**(4): p. 89-100.
20. Susan M Renaud, Luong-Van Thinh, and David L Parry, *The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture*. *Aquaculture*, 1999. **170**(2): p. 147-159.

21. AE Solovchenko, I Khozin-Goldberg, S Didi-Cohen, Z Cohen, and MN Merzlyak, *Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa**. Journal of applied Phycology, 2008. **20**: p. 245-251.
22. Luu Thi Tam, Nguyen Van Cong, Le Thi Thom, Nguyen Cam Ha, Nguyen Thi Minh Hang, Chau Van Minh, Do Thi Hoa Vien, and Dang Diem Hong, *Cultivation and biomass production of the diatom *Thalassiosira weissflogii* as a live feed for white-leg shrimp in hatcheries and commercial farms in Vietnam*. Journal of Applied Phycology, 2021. **33**: p. 1559-1577.
23. Alexander Wacker, Maïke Piepho, John L Harwood, Irina A Guschina, and Michael T Arts, *Light-induced changes in fatty acid profiles of specific lipid classes in several freshwater phytoplankton species*. Frontiers in plant science, 2016. **7**: p. 264.
24. Srinivasan Babuskin, Kesavan Radhakrishnan, Packirisamy Azhagu Saravana Babu, Meenakshisundaram Sivarajan, and Muthusamy Sukumar, *Effect of photoperiod, light intensity and carbon sources on biomass and lipid productivities of *Isochrysis galbana**. Biotechnology letters, 2014. **36**(8): p. 1653-1660.
25. John L Harwood, *Membrane lipids in algae*, in *Lipids in photosynthesis: structure, function and genetics*. 1998, Springer. p. 53-64.
26. K Richardson, J Beardall, and JA Raven, *Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies*. New Phytologist, 1983. **93**(2): p. 157-191.
27. SP Singh and Priyanka Singh, *Effect of temperature and light on the growth of algae species: a review*. Renewable and sustainable energy reviews, 2015. **50**: p. 431-444.