

## ẢNH HƯỞNG CỦA SILIC DƯỚI TÁC DỤNG CỦA CƯỜNG ĐỘ ÁNH SÁNG KHÁC NHAU LÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA VI TẢO *CHAETOCEROS SUBTILIS* VAR. *ABNORMIS* PROSCHKINA-LAVRENKO

LÊ ĐIỂM KIỀU\*, VÕ HỒNG TRUNG\*\*, LÊ THỊ TRUNG\*\*\*

### TÓM TẮT

*Silic có mặt trong vách tế bào của các loài tảo, đặc biệt là tảo silic và là một chất dinh dưỡng thiết yếu cho sự sinh trưởng và phát triển của tảo. Sự sinh trưởng và đáp ứng sinh lý của tế bào Chaetoceros subtilis var. abnormis Proschkina-Lavrenko được nuôi cấy trên môi trường ESAW có bổ sung silic ở các nồng độ khác nhau dưới tác dụng của các cường độ ánh sáng khác nhau được nghiên cứu. Kết quả cho thấy, Chaetoceros subtilis var. abnormis tăng trưởng tốt trên môi trường bổ sung nồng độ Si thấp (<100  $\mu\text{mol/L}$ ) ở cả hai cường độ ánh sáng 40  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  và 120  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ .*

**Từ khóa:** silic, *Chaetoceros*, môi trường ESAW.

### ABSTRACT

***The effect of silicon on the growth of microalgae Chaetoceros subtilis var. abnormis Proschkina-Lavrenko under different light intensity***

*Silicon is present in the cell walls of many divisions of algae, especially the diatoms, and is an essential nutrient for their growth and production. The growth and physiological development of Chaetoceros subtilis var. abnormis Proschkina-Lavrenko cultured in the ESAW medium supplemented at different silicon concentrations under the effect of different light intensities were studied. Results show that, Chaetoceros subtilis var. abnormis grows well in the ESAW medium supplemented with silicon at low concentration (<100  $\mu\text{mol/L}$ ) under both light intensities at 40  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  and 120  $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ .*

**Keywords:** Silicon, *Chaetoceros*, The ESAW medium.

### 1. Mở đầu

Là thực vật bậc thấp, vi tảo thực hiện quá trình quang hợp theo cơ chế như ở thực vật bậc cao. Hoạt động đầu tiên của quang hợp là quá trình hấp thu ánh sáng (Đặng Đình Kim và Đặng Hoàng Phước Hiền, 1999). Tảo có khả năng thích ứng trong những điều kiện ánh sáng khác nhau. Trong thời gian chiếu sáng với các cường độ khác nhau có một số thay đổi

về hình thái và sinh lý xảy ra trong quang hợp, sắc tố, hình thái lục lạp, các hoạt động enzym quang hợp (Terry *et al.*, 1983), khối lượng tế bào (Finkel, 2001; Finkel and Irmin, 2000), tỉ lệ hô hấp và thành phần bên trong các tế bào (Yin *et al.*, 1998). Ánh sáng tác động đến quá trình hình thành bào tử, tổng hợp sắc tố và sự chuyển động hướng sáng của tảo (Nguyễn Thành Đạt, 2006).

Silic có mặt trong vách tế bào của các loài tảo, đặc biệt là tảo silic và là một chất dinh dưỡng thiết yếu cho sự sinh trưởng và phát triển của tảo (Healy,

\* CN, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

\*\* NCS, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên ĐHQG TPHCM

\*\*\* TS, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

1973). Các chất vận chuyển silic (SIT: Si transporters), là các protein đặc hiệu liên kết với màng tế bào để vận chuyển Si qua màng lipid (Hildebrand *et al.*, 1997, 1998). Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hấp thu Si trong tảo bao gồm nồng độ Si ngoại bào [các acid silic hoặc silicat (Azam *et al.*, 1974; Sullivan, 1979)] thấp (<100 mM; Tréguer *et al.*, 1995; Martin-Jézéquel *et al.*, 2000) và nồng độ Si nội bào [các acid silic hữu cơ phức tạp (Azam *et al.*, 1974; Sullivan, 1979) và dạng rắn của silic điôxít trong thành tế bào (Martin-Jézéquel *et al.*, 2000)] cao, lên đến hàng trăm mM.

Tảo không hấp thu Si một cách liên tục hoặc ở tỉ lệ cố định trong suốt chu kì tế bào. Sự hấp thu Si xảy ra ngay trước khi tế bào phân chia và vỏ tảo hình thành (Sullivan and Volcani, 1981).

Không có nhu cầu ánh sáng trực tiếp cho sự hấp thu Si của tảo, nhưng các tế bào phải tăng trưởng tích cực để hấp thu Si. Kết quả là, sự hấp thu Si nhìn chung chỉ xảy ra ở những vùng nước bề mặt, nhưng thường được mở rộng ra độ sâu gấp 1,5 - 2 lần độ sâu tối đa mà tại đó quang hợp vẫn xảy ra (Nelson *et al.*, 1981, 1991). Sự hấp thu Si cũng tiếp tục cho đến đêm trong bề mặt các vùng nước biển, đôi khi là với tốc độ không hề giảm sút so với ban ngày (Nelson *et al.*, 1981; Brzezinski and Nelson, 1989; Nelson and Brzezinski, 1997; Brzezinski *et al.*, 1998).

## 2. Vật liệu, phương pháp

### 2.1. Vật liệu

Loài *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* Proschkina-Lavrenko được ThS Võ Hồng Trung phân lập từ mẫu nước biển thu ở ven biển Cần Giờ - TPHCM. Sự phân lập vi tảo *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* Proschkina-Lavrenko được thực hiện theo Andersen và Kawachi (2005), Guillard (2005) và lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Sinh lí thực vật, trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh.

### 2.2. Phương pháp

#### 2.2.1. Chuẩn bị môi trường

Các thí nghiệm được thực hiện trên môi trường ESAW (Harrison *et al.*, 1980, Berges *et al.*, 2001). Các dung dịch gốc và vitamin được giữ ở 4°C trong tối. Môi trường được điều chỉnh pH = 8,2 ± 0,2 và sử dụng trong vòng 24 giờ sau khi pha.

#### 2.2.2. Điều kiện nuôi cấy

Tảo được nuôi cấy theo phương pháp mẻ bán liên tục (Wood *et al.*, 2005) trong bình tam giác 250ml với 125ml môi trường. Mật độ xuất phát là 5000tb/ml. Chu kì sáng: tối 12: 12, nhiệt độ 26 ± 2°C. Các thí nghiệm được bố trí trong điều kiện nuôi cấy lỏng lắc với cường độ 60 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy là ESAW, pH = 8,2.

*Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* được nuôi thích nghi trong môi trường ESAW loại bỏ hoàn toàn silic, cường độ ánh sáng 20±5µmol/m<sup>2</sup>/s từ 2 – 3 ngày trước khi tiến hành các thí nghiệm.

#### 2.2.3. Bố trí thí nghiệm

*C.subtilis* được nuôi trên môi trường ESAW bổ sung nồng độ Si (Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>) và cường độ ánh sáng khác nhau (bảng 2.1).

Mẫu được nuôi thích nghi trên môi trường ESAW loại bỏ hoàn toàn Si dưới tác dụng của cường độ ánh sáng  $20 \pm 5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  trước khi tiến hành thí nghiệm, mật độ tế bào xuất phát là 5000 tế bào/ml.

**Bảng 2.1.** Thí nghiệm ảnh hưởng của Si ở các nồng độ dưới tác dụng của ánh sáng khác nhau lên sự tăng trưởng của *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis*

Cường độ ánh sáng	Nồng độ Si ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ )	Kí hiệu
40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	30	30 – 40
	100	100 – 40 (đối chứng)
	300	300 – 40
120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	30	30 – 120
	100	100 – 120
	300	300 – 120

#### 2.2.4. Quan sát hình thái tế bào

Sự thay đổi hình thái tế bào được quan sát hằng ngày trên kính hiển vi quang học ở X10, X40.

#### 2.2.5. Mật độ tế bào và đường cong tăng trưởng

Mật độ tế bào được xác định thông qua việc đếm số lượng tế bào tảo hàng ngày. Mẫu được lấy và cố định bằng lugol mỗi ngày với 3ml và bổ sung với lượng môi trường ESAW tương đương đã lấy. Số lượng tế bào được đếm bằng buồng đếm hồng cầu có độ sâu 0,1mm và diện tích ô vuông  $1\text{mm}^2$ . Mật độ tế bào được tính toán theo công thức Guillard và Sieracki (2005). Đường cong tăng trưởng được xác định thông qua mật độ tế bào đếm hàng ngày.

#### 2.2.6. Cường độ quang hợp và cường độ hô hấp

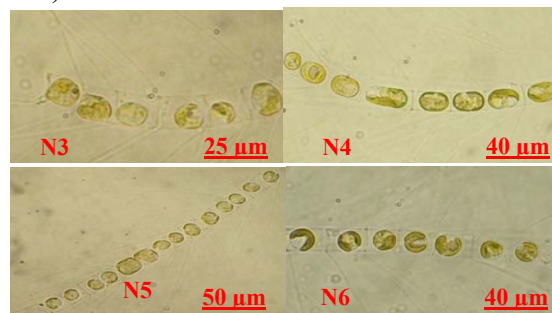
Cường độ quang hợp và hô hấp của vi tảo *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* Proschkina-Lavrenko được đo bằng máy Hansatech từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 7. Mẫu được lấy từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 7 với 3ml mỗi ngày và sử dụng 1,5ml cho mỗi lần đo.

### 3. Kết quả, thảo luận

#### 3.1. Kết quả

##### Môi trường ESAW bổ sung 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ Si - 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

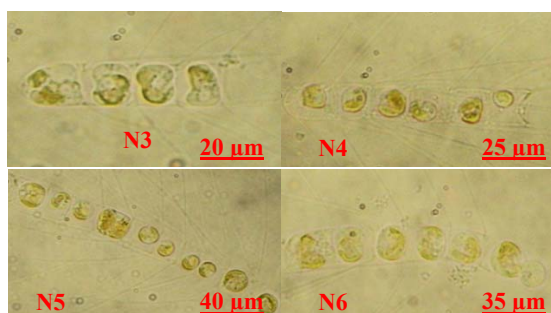
Chuỗi tế bào dài khoảng 6 - 12 tb/chuỗi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 6. Thể sắc tố đậm màu và chiếm toàn bộ thể tích tế bào từ ngày 1 đến ngày thứ 6 (ảnh 3.1).



**Ảnh 3.1.** Sự thay đổi hình dạng tế bào *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* từ ngày (N) thứ 3 đến ngày thứ 6 trên môi trường ESAW đối chứng

##### Môi trường ESAW bổ sung 30 $\mu\text{mol}/\text{L}$ Si - 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

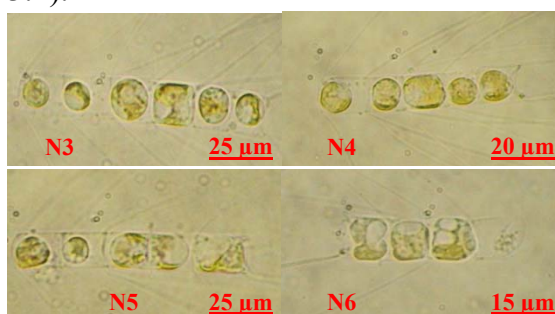
Chuỗi tế bào dài khoảng 5 - 10 tb/chuỗi từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 6. Thể sắc tố đậm màu và chiếm toàn bộ thể tích tế bào từ ngày 3 đến ngày thứ 6. Ở ngày thứ 6 có xảy ra hiện tượng thoát sắc tố (ảnh 3.2).



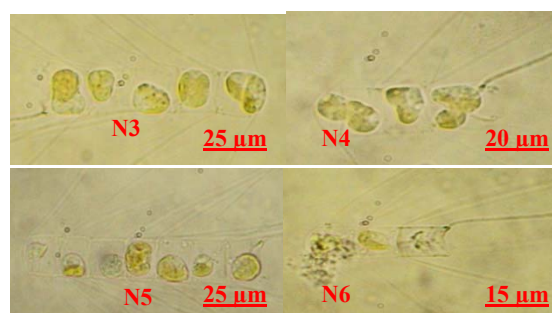
**Ảnh 3.2.** Sự thay đổi hình dạng tế bào *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* từ ngày (N) thứ 3 đến ngày thứ 6 trên môi trường ESAW bổ sung 30μmol/L Si - 40μmol/m<sup>2</sup>/s

**Môi trường ESAW bổ sung 30μmol/L Si - 120μmol/m<sup>2</sup>/s và 100μmol/L Si - 120μmol/m<sup>2</sup>/s**

Chuỗi tế bào dài khoảng 3 - 8 tb/chuỗi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 6. Thê sắc tố đậm màu, chiếm khoảng 1/2 thể tích tế bào từ ngày 3 đến ngày 5, ở ngày thứ 6 một số chuỗi thoát sắc tố (ảnh 3.3; 3.4).



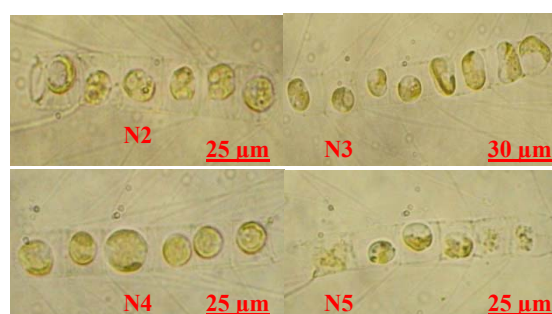
**Ảnh 3.3.** Sự thay đổi hình dạng tế bào *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* từ ngày (N) thứ 3 đến ngày thứ 6 trên môi trường ESAW bổ sung 30μmol/L Si - 120μmol/m<sup>2</sup>/s



**Ảnh 3.4.** Sự thay đổi hình dạng tế bào *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* từ ngày (N) thứ 3 đến ngày thứ 6 trên môi trường ESAW bổ sung 100μmol/L Si - 120μmol/m<sup>2</sup>/s

**Môi trường ESAW bổ sung 300μmol/L Si - 40μmol/m<sup>2</sup>/s**

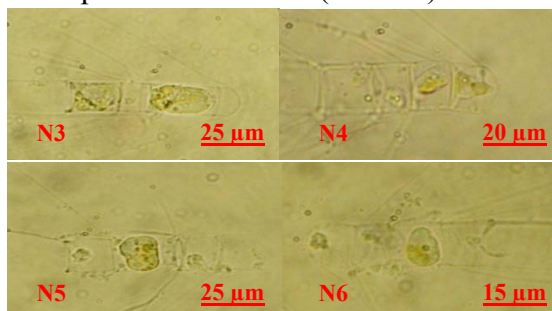
Chuỗi tế bào dài khoảng 3 - 8 tb/chuỗi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 5, chuỗi ngắn và rời rạc dần từ ngày thứ 6. Thê sắc tố đậm màu, chiếm 1/2 thể tích tế bào từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4, các ngày sau sắc tố nhạt dần (ảnh 3.5).



**Ảnh 3.5.** Sự thay đổi hình dạng tế bào *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* từ ngày (N) thứ 3 đến ngày thứ 6 trên môi trường ESAW bổ sung 300μmol/L Si - 40μmol/m<sup>2</sup>/s

**Môi trường ESAW bổ sung 300 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$**

Chuỗi tế bào ngắn 2 - 4 tb/chuỗi từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 6, tế bào rời rạc từ ngày thứ 7. Thể sắc tố nhạt màu trong suốt quá trình khảo sát (ảnh 3.6).



*Ảnh 3.6. Sự thay đổi hình dạng tế bào Chaetoceros subtilis var. abnormis từ ngày (N) thứ 3 đến ngày thứ 6 trên môi trường ESAW bổ sung 300 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$*

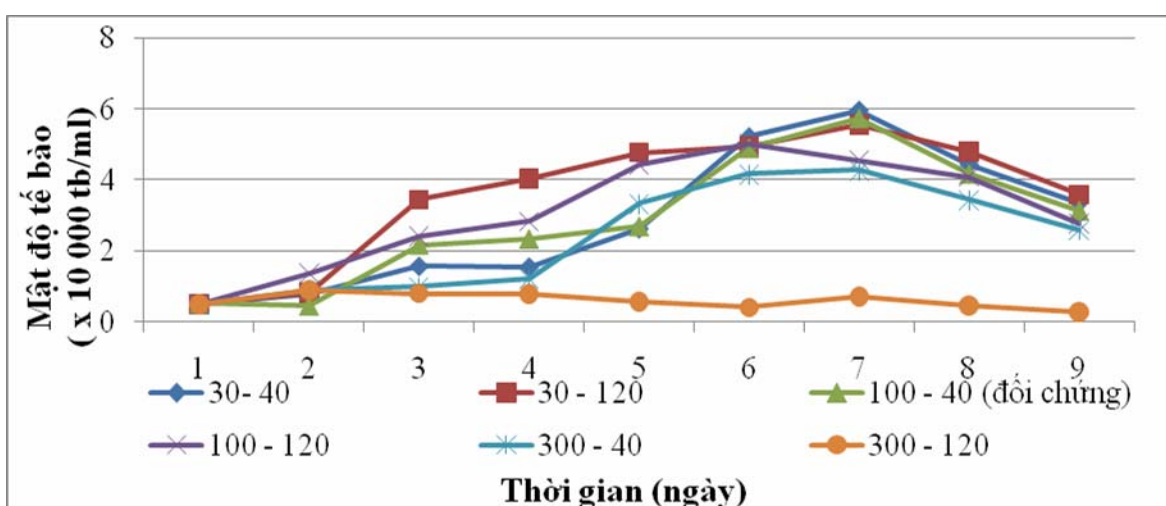
**Đường cong tăng trưởng**

Đường cong tăng trưởng của *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* trên môi trường ESAW bổ sung 300 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  có dạng gần như đường thẳng, thể hiện mật độ tế bào thấp

và hầu như không có sự khác biệt giữa các ngày. Trong khi đó, các môi trường còn lại đường cong tăng trưởng có dạng hình chữ S (hình 3.1).

Môi trường ESAW bổ sung 30 $\mu\text{mol/L}$  Si - 40 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ , 30 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ , 100 $\mu\text{mol/L}$  Si - 40 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  và 300 $\mu\text{mol/L}$  Si - 40 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  có pha tăng trưởng kéo dài 5 ngày từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 6 và đạt mật độ tế bào cực đại ở ngày 6, sau đó bắt đầu suy vong ở các ngày tiếp theo. Còn môi trường ESAW bổ sung 100 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  có pha tăng trưởng kéo dài 4 và pha suy vong bắt đầu từ ngày thứ 5 (hình 3.1).

Mật độ tế bào trên các môi trường ESAW đối chứng và có bổ sung 30 $\mu\text{mol/L}$  Si - 40 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ , 30 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ , 100 $\mu\text{mol/L}$  Si - 120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  không có sự khác biệt và cao hơn so với các môi trường còn lại (hình 3.1).



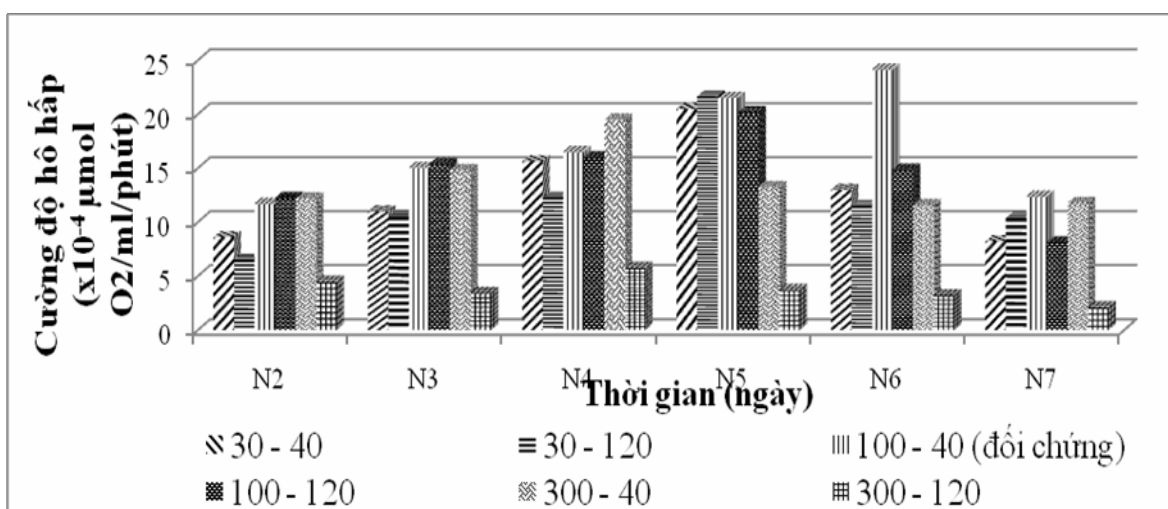
*Hình 3.1. Đường cong tăng trưởng của Chaetoceros subtilis var. abnormis trên môi trường ESAW bổ sung silic ở các nồng độ dưới tác dụng của ánh sáng khác nhau*

**Cường độ quang hợp**

Cường độ quang hợp của tế bào *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* ở môi trường ESAW bổ sung 300µmol/L Si – 120µmol/m<sup>2</sup>/s đạt cực đại ở ngày thứ 4, sau đó giảm dần ở các ngày tiếp sau (hình 3.2).

Trên các môi trường còn lại, CĐQH của tảo tăng dần từ ngày thứ 3 và đạt cực đại ở ngày thứ 6 (100µmol/L Si –

40µmol/m<sup>2</sup>/s); ở môi trường bổ sung 300µmol/L Si – 40µmol/m<sup>2</sup>/s quang hợp của tảo đạt cực đại ở ngày thứ 4, sau đó giảm dần ở ngày thứ 5 và thứ 6. Với 3 môi trường bổ sung 30µmol/L Si – 40µmol/m<sup>2</sup>/s, 30µmol/L Si – 120µmol/m<sup>2</sup>/s và 100µmol/L Si – 120µmol/m<sup>2</sup>/s, tảo quang hợp cực đại ở ngày thứ 5, sau đó giảm dần ở các ngày tiếp sau (hình 3.2).



**Hình 3.2.** Cường độ quang hợp của *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* Proschkina-Lavrenko trong môi trường ESAW ở các nồng độ silic dưới tác dụng của ánh sáng khác nhau

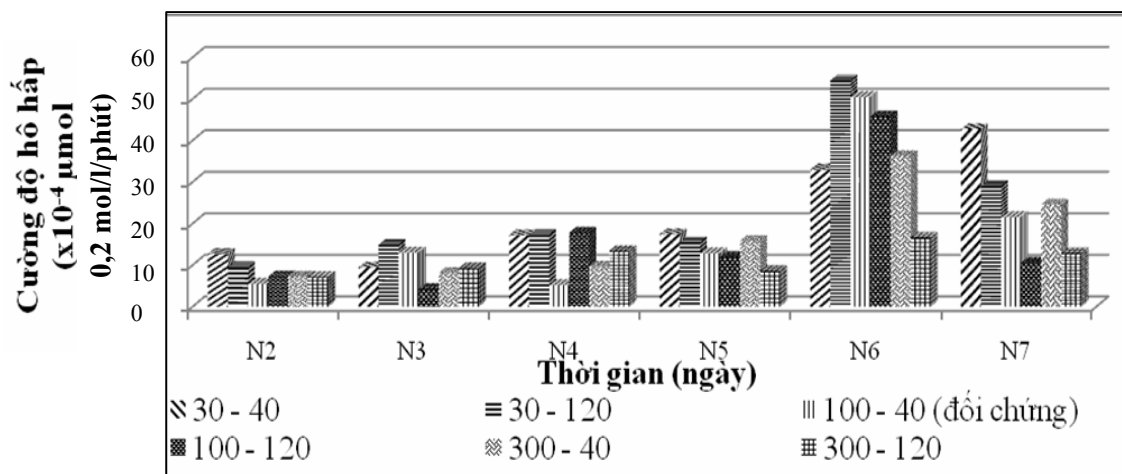
**Cường độ hô hấp**

Trên các môi trường bổ sung silic ở các nồng độ khác nhau, cường độ hô hấp tăng dần từ ngày thứ 3, thứ 4; đạt mức cao cực đại ở ngày thứ 6 (30µmol/L Si – 120µmol/m<sup>2</sup>/s, 100µmol/L Si – 40µmol/m<sup>2</sup>/s, 100µmol/L Si –

120µmol/m<sup>2</sup>/s và 300µmol/L Si – 40µmol/m<sup>2</sup>/s), thứ 7 (30µmol/L Si – 40µmol/m<sup>2</sup>/s) (hình 3.3).

Trong khi ở môi trường bổ sung 300µmol/L Si – 120µmol/m<sup>2</sup>/s, CĐHH của tảo ở mức thấp và không có sự khác biệt (hình 3.3).





**Hình 3.3.** Cường độ hô hấp của *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* trên môi trường ESAW bổ sung silic ở các nồng độ dưới tác dụng của ánh sáng khác nhau

### 3.2. Thảo luận

Đối với *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* trên các môi trường bổ sung Si từ 30 μmol/L đến 100 μmol/L ở cả hai cường độ ánh sáng (40 μmol/m<sup>2</sup>/s và 120 μmol/m<sup>2</sup>/s) đều có sự tăng trưởng tốt với chuỗi tế bào dài và thể sắc tố đậm màu từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 6, mật độ tế bào, cường độ quang hợp và hô hấp cao (ảnh 3.1, 3.2, 3.3, 3.4; hình 3.2, 3.3). Theo Park (2001) cường độ ánh sáng trong khoảng 60 - 90 μmol/m<sup>2</sup>/s các tế bào tảo sinh trưởng tốt nhất, trong khi cường độ ánh sáng thấp hơn từ 15 - 30 μmol/m<sup>2</sup>/s hoặc cường độ ánh sáng cao hơn 160 μmol/m<sup>2</sup>/s thì tảo sinh trưởng không tốt như trong điều kiện cường độ ánh sáng tối ưu. Do đó, *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* có thể sinh trưởng tốt ở các cường độ 40 μmol/m<sup>2</sup>/s và 120 μmol/m<sup>2</sup>/s.

Si cần cho sự tăng trưởng và phát triển vi tảo (Healy, 1973). Sự giới hạn silic thường xảy ra và có thể dẫn đến sự tích tụ các chất chuyển hóa thứ cấp

(Amos Richmon, 2004). Sự suy giảm Si từ môi trường nuôi cấy làm tăng sự hình thành lipid trung tính và giảm bớt sự tích lũy chrysolaminarin. Trong môi trường nuôi cấy bổ sung Si thấp thì tổng hàm lượng lipid được sản xuất ra cao nhất (Ju *et al.*, 2011). Quá trình trao đổi chất Si trong tảo gắn bó chặt chẽ tới sự tăng trưởng và phân chia tế bào. Đồng thời quá trình này không tốn kém nhiều năng lượng và không đòi hỏi quang hợp xảy ra đồng thời (Volcani, 1978; Martin-Jézéquel *et al.*, 2000).

Thamatrakoln *et al.* (2008) đã thực hiện nuôi cấy tảo trong điều kiện thiếu Si trước khi đo sự hấp thụ của chúng. Trong suốt thời gian này, các thành phần liên kết nội bào vẫn tiếp tục giải phóng Si để hình thành thành tế bào, nhưng vì không có Si ngoại bào cho nên chúng không thể phục hồi. Do đó, khi các tế bào được nuôi trong môi trường Si thì khả năng hấp thụ Si là cao. Sự tăng trưởng của tảo tốt hơn khi nồng độ Si thấp. Tảo tăng trưởng tối đa ở nồng độ 0,05 mg/l và được duy trì ổn

định ở nồng độ Si 1,00mg/l. Vì vậy, *Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* có thể sử dụng Si ở phổ rộng với các nồng độ 30 $\mu$ mol/L và 100 $\mu$ mol/L.

Trong khi đó, ở môi trường bổ sung 300 $\mu$ mol/L Si, sự tăng trưởng của tảo bị hạn chế và thấp hơn so với các môi trường còn lại, với thể sắc tố nhạt màu (ảnh 3.5, 3.6), mật độ tế bào, cường độ quang hợp thấp (hình 3.2, 3.3). Nguyên nhân có thể là do nồng độ Si quá cao đã ức chế sự tăng trưởng của tảo. Theo Gupta *et al.* (2011), tốc độ tăng trưởng của tảo giảm đáng kể với nồng độ ngày càng tăng của Si vượt quá 1,00mg/l. Khi hàm lượng Si được sử dụng quá mức, sự phân chia tế bào có thể bị giảm (Si là một thành phần của vách tế bào tảo). Sự ngăn chặn các lỗ của vỏ tảo tại các nồng độ Si cao có thể là một lí do khác cho sự ức chế tăng trưởng.

Bên cạnh đó, ở môi trường bổ sung 300 $\mu$ mol/L Si với cường độ ánh sáng 120 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s có mật độ tế bào, cường độ quang hợp, cường độ hô hấp đều thấp hơn so với môi trường bổ sung

300 $\mu$ mol/L Si với cường độ ánh sáng 40 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s và thấp hơn rất nhiều so với các môi trường còn lại. Nguyên nhân có thể là do sự tổng hợp của astaxanthin. Mặc dù vai trò của astaxanthin như là một chất bảo vệ hệ thống ánh sáng dưới điều kiện ánh sáng quá cao (Yong and Lee, 1991; Hagen *et al.*, 1994). Tuy nhiên, trong thời kì tăng trưởng, sự tích lũy astaxanthin không phải là một dấu hiệu tốt vì nó là yếu tố làm cho sự phân chia tế bào bắt đầu dừng lại. Theo Boussiba and Vonshak (1991), khi điều kiện môi trường nuôi cấy không thích hợp thì sự tích lũy astaxanthin bị kích thích bởi cường độ ánh sáng trên 90 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s. Cũng chính nguyên nhân này cộng thêm nồng độ Si quá cao dẫn đến sự tăng trưởng tế bào không còn diễn ra nữa.

#### 4. Kết luận

*Chaetoceros subtilis* var. *abnormis* tăng trưởng tốt trên môi trường bổ sung nồng độ Si thấp (<100 $\mu$ mol/L) ở cả hai cường độ ánh sáng 40 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s và 120 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thành Đạt (2006), *Cơ sở sinh học vi sinh vật*, tập I, II, Nxb Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh.
2. Đặng Đình Kim và Đặng Hoàng Phước Hiền (1999), *Công nghệ sinh học vi tảo*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 5 - 125.
3. Aydın G. Ş., Kocataş A. and Büyükişik B. (2009), "Effects of light and temperature on the growth rate of potentially harmful marine diatom: *Thalassiosira allenii* Takano (Bacillariophyceae)", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8(19), pp. 4983-4990.
4. Guillard R. R. L. and Sieracki M. S. (2005), *Counting cells in cultures with the light microscope*, In: Andersen R. A. (ed.), *Algal culturing techniques*, Elsevier Academic Press, pp. 239 -253.

(Xem tiếp trang 148)



5. Liu W., Au D. W. T., Anderson D. M., Lam P. K. S. and Wu R. S. S. (2007), "Effects of nutrients, salinity, pH and light:dark cycle on the production of reactive oxygen species in alga *Chattonella marina*", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 346, p. 76-86.
6. Park E. K. *et al.*, (2011), "Optimization of Effective Factors for High-Density *Haematococcus pluvialis* Cultures and Astaxanthin Accumulation in Photobioreactor", *Department of Biological Engineering*, Inha university, pp. 40-100.
7. Richmond A. (2004), *Handbook of Microalgal Culture*, Blackwell Science Ltd., pp. 83 – 116.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 31-8-2012; ngày phân biện đánh giá: 11-10-2012;  
ngày chấp nhận đăng: 23-10-2012)