

**ẢNH HƯỞNG CỦA MUỐI NI TÔ VÀ PHOSPHAT PHO LÊN SINH TRƯỞNG,  
HẠM LÖÔNG PROTEIN VÀ LIPID TỔNG SỐ CỦA TETRASELMIS SP.**

**Ha Lê Thị Lạc, Đỗ Tuyết Nga  
Viện Hải Dương Học (Nha Trang)**

**TÓM TẮT** Tetraselmis sp. là loài tảo chứa nhiều loại lipid có giá trị do nó là nguồn thức ăn nước sôi dùng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu này nhằm phân giải ảnh hưởng của muối ni-tơ và photpho lên số tăng trưởng, kích thước tế bào, hàm lượng protein và lipid tổng số của Tetraselmis sp. trong nhiều kiến phòng thí nghiệm với mức thích ứng dùng những kết quả này vào nuôi sinh khối tảo trong các trại sản xuất giống thủy sản.

Trong môi trường dinh dưỡng F/2, Tetraselmis sp. sinh trưởng tốt trong giới hạn ni-tơ từ 7,36 – 22,36 mg/l và giới hạn photpho từ 0,77 – 3,27 mg/l. Khi nồng độ ni-tơ trong môi trường nuôi tăng lên, hàm lượng protein của Tetraselmis sp. tăng nhưng lipid tổng số lại giảm. Ngược lại, khi nồng độ photpho tăng lên, số lượng tế bào tăng lên nhưng kích thước tế bào lại giảm, hàm lượng protein và lipid tổng số cũng giảm.

**THE EFFECTS OF NITROGEN AND PHOSPHATE CONCENTRATION  
ON THE GROWTH, CRUDE PROTEIN AND TOTAL LIPID OF  
TETRASELMIS SP.**

**Ha Le Thi Loc, Do Tuyen Nga  
Institute of Oceanography (Nha Trang)**

**ABSTRACT** The green alga, Tetraselmis sp., contains relatively large amounts of valuable lipid and is commonly used as a food source for commercial application in aquaculture. In this study we evaluated the effect of phosphate and nitrogen concentration on the growth, cell size, crude protein and lipid contents of Tetraselmis sp. grown continuously under laboratory-controlled conditions, with the view to applying these results for mass-culture of Tetraselmis sp. in aquaculture hatcheries.

In F/2 medium, Tetraselmis sp. grew well in limitation of nitrogen concentration of 7.36 – 22.36mg/l and phosphate concentration of 0.77 – 3.27mg/l. Increased nitrogen in the cultures conducted crude protein contents increasing but lipid contents decreasing. Whereas, increased phosphate in the cultures conducted cell number increasing but cell size was smaller, crude protein and lipid contents decreased.

## I. MÔI TRƯỜNG

*Tetraselmis* sp. thuộc ngành Tảo Lục, là một trong những loài tảo nuôi nổi sồi dùng phổ biến trong nuôi trồng thủy sản ở nhiều nước trên thế giới do giá trị dinh dưỡng cao và kích thích phù hợp.

Thành phần dinh dưỡng của *Tetraselmis* sp. gồm: protein chiếm 30,06% trong tổng lượng khô lipid chiếm 5,16%; carbohydrate chiếm 26,68% và chất tro chiếm 38,1% (Chen, 1991). Trong nội hàm lượng EPA (eicosapentaenoic acid 20: n-3) rất phong phú chiếm 29,7% trong tổng số acid béo (Zhukova và Aizdaicher, 1995). Tuy nhiên, thành phần hóa sinh của vi tảo chịu ảnh hưởng rất lớn bởi các điều kiện nuôi như công nghệ và chế độ ánh sáng, nhiệt độ nước, thời gian thu hoạch và nước biển là nồng độ muối dinh dưỡng trong môi trường nuôi (Chelf, 1990; Fabregas et al., 1984; Flynn et al., 1993; Gladue, 1991; Guo et al., 1959; Harrison et al., 1990; Sakshaug et al., 1983; Sato, 1991; Volkman et al., 1989).

Ở Việt Nam, loài *Tetraselmis* sp. nổi sồi nhập từ Thái Lan. Các thông số về nồng độ muối dinh dưỡng (N và P) trong môi trường nuôi, thành phần hóa sinh của tảo vẫn chưa được biết đến. Nghiên cứu này nhằm xác định nồng độ ni-tơ và phot pho trong môi trường dinh dưỡng F/2 phù hợp nhất cho sồi sinh trưởng *Tetraselmis* sp. và ảnh hưởng của nó lên thành phần hóa sinh của tảo nuôi.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Nguồn nước và môi trường nghiên cứu: *Tetraselmis* sp. nổi sồi nhập từ Viện Công nghệ Châu Âu Thái Lan (1998). Nghiên cứu thực hiện tại Phòng

thí nghiệm Công Nghệ Sinh Học và nuôi trồng thủy sản của Khoa Nuôi Trồng Thủy Sản Trường Đại Học Thủy Sản Nha Trang.

- Nguồn nước: nước biển được bơm lên bể chứa, thêm Chlorin (25-30ppm) sát khuẩn, phơi nắng, lọc qua tầng lọc cát, lọc tảo, túi siêu lọc. Nước này vào phòng thí nghiệm sồi dùng trong nuôi và lưu giữ giống nước cất trung bình máy hấp trung (autoclave) ở 121°C/15'.

- Môi trường dinh dưỡng: sồi dùng môi trường F/2 (Guillard, 1975).

- Phương pháp xác định các chất tiêu: xác định mật độ tế bào bằng buồng đếm Bürker và bằng phương pháp so màu quang phổ (spectrophotometre). Cường độ ánh sáng nước nuôi bằng máy DATA LOGGER Model LI-1400 LI-COR. pH nước nuôi bằng pHmetre. Theo dõi nhiệt độ hàng ngày bằng nhiệt kế rời.

Nồng độ protein tổng số bằng phương pháp Kjeldahl (ba lần lặp lại).

Nồng độ lipid tổng số bằng phương pháp Bligh và Dyer (1959) (ba lần lặp lại).

Kích thước tế bào: sồi dùng tra vi trường kính. Số lượng: 30 tế bào/màu.

Thể tích tế bào: dạng khối elip (elipsoid)  $V_e = \frac{4}{3} \times \pi \times a \times b \times c$ . Trong đó  $V_e$ : Thể tích khối elip; a: 1/2 trục dài; b: 1/2 trục rộng; c: 1/2 trục cao.

Boa trí thí nghiệm:

Các yếu tố môi trường trong các thí nghiệm: mật độ: 35ppt; nhiệt độ  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ; mật độ tảo ban đầu:  $150 \times 10^4$  tb/ml; cường độ ánh sáng: 150  $\mu\text{mol photon/s/m}$ ; chu kỳ chiếu sáng ngày: 12 giờ sáng/12 giờ tối (mỗi lần thí nghiệm nước lặp lại ba lần).

♦ Thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ ni-tơ khác nhau lên sinh trưởng của *Tetraselmis* sp.: Ba thí nghiệm nước thực hiện ở các nồng độ ni-tơ:

2,36; 7,36; 12,36 (chuẩn của môi trường F/2); 17,36; 22,36; 27,36; 32,36 mg/l.

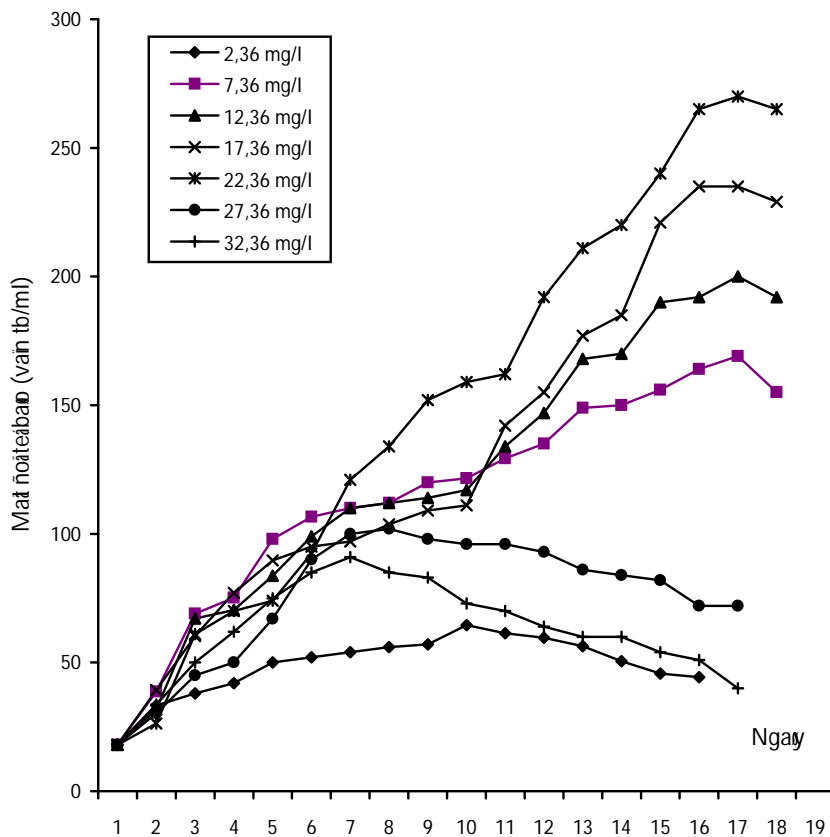
♦ Thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ nitơ khác nhau lên sinh trưởng của *Tetraselmis* sp.: bảy loại thí nghiệm nuôi cấy khác nhau để kiểm tra ảnh hưởng của nồng độ nitơ: 0,0; 0,27; 0,77; 1,27 (chuẩn của môi trường F/2); 1,77; 2,27; 3,27 mg/l.

- Xử lý số liệu: các chỉ số thống kê như giá trị trung bình, sai lệch tiêu chuẩn và phương pháp kiểm định giá trị

trung bình khác nhau bằng công trình Data analysis trong Excel 7.0.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 1. Ảnh hưởng của muối nitơ lên sinh trưởng, hàm lượng protein và lipid tổng số của *Tetraselmis* sp.



Hình 1: Ảnh hưởng của nồng độ nitơ lên sinh trưởng *Tetraselmis* sp.

Trong các loại thí nghiệm với các nồng độ nitơ khác nhau cho thấy sinh khối *Tetraselmis* sp. chịu ảnh hưởng rất lớn của muối nitơ trong môi trường nuôi cấy với các biến đổi giới hạn nồng độ nitơ rõ rệt. Sinh khối thấp nhất (64 vấn tế bào/ml) khi nồng độ

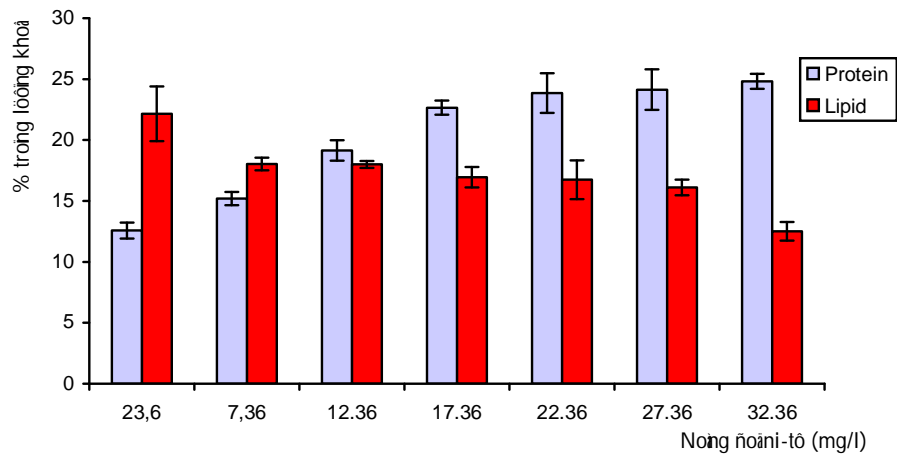
nitơ trong các loại thí nghiệm thấp nhất (2,36 mg/l). Sinh khối tăng dần theo sự tăng của nồng độ nitơ và sinh khối cao nhất (270 vấn tế bào/ml) ở loại nuôi cấy nồng độ nitơ là 22,36 mg/l. Sau một vài ngày nồng độ nitơ vẫn tăng những sinh khối bắt đầu suy giảm

nhanh chóng. Có sự sai khác (t-test > t-critical) về tăng trưởng của tảo giữa các loại thí nghiệm: giữa 2,36 – 7,36 mg/l; 7,36 – 12,36 mg/l; 12,36 – 17,36 mg/l; 17,36 – 22,36 mg/l; 22,36 – 27,36 mg/l; 27,36 – 32,36 mg/l. Vậy giữa các loại thí nghiệm, sự tăng trưởng của tảo sai khác đáng kể khi nồng độ nitơ thay đổi.

Nếu xét nhìn sự thay đổi nồng độ nitơ trong môi trường nuôi ảnh hưởng đến chất lượng tảo Tetraselmis sp. Tảo

trong các loại thí nghiệm có nồng độ nitơ khác nhau thì nội dung thành phần protein và lipid tổng số

Mức độ kích thích tế bào tảo trong các môi trường nuôi có nồng độ nitơ khác nhau không có sự sai khác lớn, nhưng thành phần protein và lipid của tảo Tetraselmis sp. có sự biến động (Hình 2).



Hình 2: Sự biến động protein và lipid tổng số ở các nồng độ môi trường nitơ khác nhau

Ở loại thí nghiệm có nồng độ nitơ thấp nhất (2,36 mg nitơ/l), protein tổng số đạt giá trị thấp nhất (chiếm 13,86% trong lượng khô), ngược lại lipid tổng số đạt giá trị cao nhất (chiếm 22,15% trong lượng khô). Khi nồng độ nitơ trong các loại thí nghiệm tăng dần, protein tổng số cũng có xu hướng tăng theo và lipid tổng số có xu hướng giảm đi. Protein tổng số đạt giá trị cao nhất (chiếm 24,82% trong lượng khô) trong loại thí nghiệm có nồng độ nitơ cao nhất (32,36 mg nitơ/l) và lipid tổng số thấp nhất (chiếm 12,51% trong lượng khô).

Kết quả kiểm định thống kê (t-Statistic > t-Critical) về hàm lượng protein có sự sai khác giữa 1 và 2; 2 và 3; 3 và 4; 6 và 7. Hàm lượng lipid cũng có sự sai khác đáng kể giữa các 1 và 2; 3 và 4; 6 và 7. Vậy hàm lượng protein và lipid của tảo chịu ảnh hưởng của nồng độ nitơ trong môi trường nuôi.

Theo Harrison và cộng sự (1990), khi nồng độ nitơ trong môi trường nuôi thiếu hụt, tỷ lệ phần trăm protein của tảo sẽ giảm đi, hàm lượng lipid tăng nhẹ, hoặc không thay đổi. Những nhiều

nguyên cứu nhà chúng mình ham lũng lipid một số loài tảo tăng lên đáng kể khi nồng độ chúng vào môi trường thiếu nitơ (Ben-Amotz và ctv, 1985; Chelf, 1990). Theo kết quả nghiên cứu của McGinnis và ctv (1997), số thiếu hụt nitơ nhà kích thích quá trình đổi trở lipid ôi tảo *Chaetoceros muelleri*. Quá trình này nhà nước Sukenik và Wahnou (1991), Roessler (1990) (trích Phạm Thọ Lam Hoàng, 1999) giải thích rằng khi môi trường này nhà nitơ thì tảo tăng cường tổng hợp protein không khi môi trường thiếu hụt nitơ, số phân chia tế bào bị đình trệ nên một lũng lớn carbon nước chuyển sang cho quá trình tổng hợp lipid. Nhà với những loài tảo còi khai năng đổi trở lipid thì thành phần này nước tăng cường bằng cách làm còi kiệt hoặc rút bớt nitơ ra khỏi môi trường nuôi.

Các kết quả nghiên cứu của Hoàng Thọ Bích Mai (1995) cho thấy: khi nồng độ ni-tơ thay đổi ít ảnh hưởng nên kích thước cũng như khai năng nhà sinh khối của tảo silic (*Skeletonema costatum*; *Chaetoceros* sp.), không ôi nồng độ nitơ cao: 50-150 mg/l, tảo tồn tại lâu hơn.

Tôi những kết quả nghiên cứu trên cho thấy *Tetraselmis* sp. phát triển mạnh trong môi trường F/2 còi ham lũng nitơ tôi 7,36 mg/l nên 22,36 mg/l. Những tuy theo nhu cầu trong sản xuất còi nhà bãi về mặt số lũng hoặc chất lũng tảo, ta còi thể lựa chọn ham lũng muối nitơ thích hợp bổ sung vào môi trường nuôi nhà còi thể cung cấp tảo theo yêu cầu mong muốn.

## 2. Ảnh hưởng của muối phot pho lên sinh trưởng, kích thước tế bào, ham lũng protein và lipid tổng số của *Tetraselmis* sp.

Phot pho nước xem là chìa khóa của quá trình trao đổi chất. Ham lũng

phot pho không nhất thiết phải cao, song nếu thiếu phot pho thì tảo không phát triển nước. Do vậy, phot pho cũng là một trong những yếu tố ảnh hưởng và giới hạn nên số phát triển của tảo.

Nếu mình chúng này, kết quả thí nghiệm về ảnh hưởng của nồng độ phot pho lên sinh trưởng tảo *Tetraselmis* sp. nước trình bày ôi hình 3 cho thấy:

- Ôi loài thí nghiệm không bổ sung phot pho, tảo phát triển và sinh sản chậm. Sinh khối nhà cao nhất vào ngày tôi tôi với số lũng tế bào thấp nhất trong các loài thí nghiệm (60 vạn tế bào/ml) và sau tôi giảm nhanh. Mặc dầu không nước bổ sung muối phot pho vào môi trường nuôi không trong nước biển tôi nhiên vẫn thông xuyên còi muối phot pho với ham lũng rất thấp và giới một tỷ lệ ôi nhà giữa nitơ và phot pho (N:P) là 16:1 (Redfield và ctv, 1960) (trích Lục Minh Diệp, 1999).

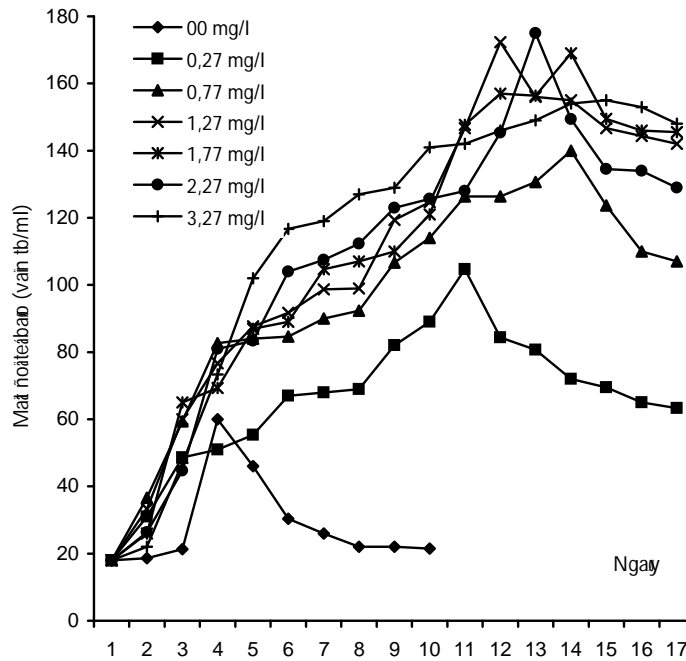
- Các loài thí nghiệm còi bổ sung nồng độ phot pho ôi các mức nhà 0,27 mg/l, 0,77 mg/l; 1,27 mg/l; 1,77 mg/l và 2,27 mg/l, sinh khối tảo trong các loài thí nghiệm này còi chiều hưởng tăng lên. Sinh khối nhà cao nhất (175 vạn tế bào/ml) ôi loài thí nghiệm còi nồng độ phot pho bổ sung 2,27 mg/l.

- Loài thí nghiệm cuối cùng còi nồng độ muối phot pho bổ sung cao nhất (3,27 mg/l) không sinh khối tảo bãi nhà còi chiều hưởng suy giảm (155 vạn tế bào/ml). So sánh sai khác (t-test > t-critical) giữa các loài thí nghiệm: giữa 2 loài 0,0 – 0,27 mg/l; 0,27 – 0,77 mg/l; 0,77 – 1,27 mg/l; 1,27 – 1,77 mg/l; 1,77 – 2,27 mg/l; 2,27 – 3,27 mg/l cho thấy còi sai khác đáng kể. Vậy số tăng trưởng tảo chịu ảnh hưởng lớn của nồng độ muối phot pho trong môi trường nuôi.

Sato (1991) cho rằng khi tăng nồng độ nhà nitơ và phot pho trong môi

trồng dinh dưỡng Guillard F/2 nào cái  
 thiên nào sỡ tăng trồng ôi một số loại  
 tại. Tại nuôi ôn hình và khi dài chu  
 kỳ tăng trồng, với sỡ tăng trồng liên  
 tục theo sau pha logarit. Ông nào bổ  
 sung thêm muối nitơ và phot pho vào  
 môi trồng nuôi Nannochloropsis  
 oculata và Tetraselmis tetrahele ngoài

trôi và nào hait nôiic tốc nôi tăng trồng  
 tốt hơn. Theo Lê Văn Chí (1996), nhu  
 cầu phot pho ôi Skeletonema costatum  
 không phụ thuộc vào lôiing nitơ, nhôg  
 khi bổ sung phot pho cùng với  $NH_4^+$   
 hoặc  $NO_3^-$  thì hoạt nôiing quang hôp  
 tăng mạnh.



**Hình 3 :** Ảnh hưởng của nồng độ phot pho lên  
 tăng trồng Tetraselmis sp.

Qua theo dõi kích thước tế bào  
 tại Tetraselmis sp. trong các thí  
 nghiệm với nồng độ phot pho khác nhau  
 cho thấy khi nồng độ phot pho tăng  
 dần trong các thí nghiệm thì kích  
 thước tế bào có xu hướng nhỏ dần sau  
 vài ngày nuôi. Kết quả này nôiic trình  
 bày ôi bảng 1.

Ôi thí nghiệm không bổ sung  
 nồng độ phot pho, thể tích tế bào lớn  
 nhất (709,63  $\mu m^3$ ). Sau nôiic thể tích tế  
 bào nhỏ dần trong các thí nghiệm với  
 nồng độ muối phot pho tăng dần và  
 thể tích tế bào bé nhất (370,07  $\mu m^3$ )

trong thí nghiệm với nồng độ muối  
 phot pho bổ sung cao nhất (3,27 mg/l).  
 Kiểm nôiic thống kê thể tích tế bào với  
 sỡ sai khác nôiic kê (t-Statistic > t-  
 Critical) giữa lòi 1 và 2; lòi 1 và 7; lòi 3  
 và 4; lòi 2 và 4. Nôiic này có thể cho  
 thấy khi nồng độ phot pho tăng lên  
 trong môi trồng nuôi sẽ kích thích  
 quá trình sinh sản và sinh trồng của  
 tế bào tại. Nôiic phot pho tăng lên  
 quá cao, quá trình sinh sản diễn ra  
 liên tục và quá nhanh sẽ dẫn đến kích  
 thước tế bào dần dần nhỏ lại và số  
 lôiing tế bào ngày càng tăng lên.

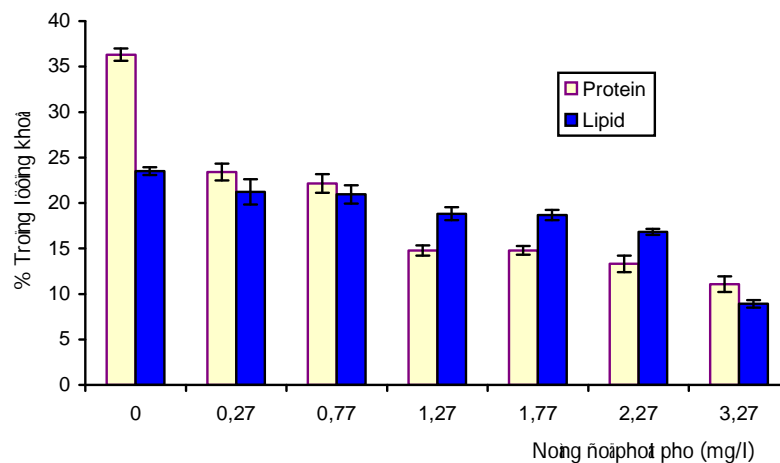
**Bảng 1:** Số ảnh hưởng của các nồng độ photpho lên kích thước tế bào *Tetraselmis sp.*

| Lô TN | Nồng độ photpho | Trục dài (μm) | Trục rộng (μm) | Trục dày (μm) | The tích tế bào (μm <sup>3</sup> ) |
|-------|-----------------|---------------|----------------|---------------|------------------------------------|
| 1     | 00 mg/l         | 17,06 ± 1,47  | 10,90 ± 1,09   | 7,26 ± 0,79   | 709,63±131,76                      |
| 2     | 0,27 mg/l       | 15,08 ± 1,50  | 10,04 ± 1,36   | 7,20 ± 1,16   | 545,41± 68,30                      |
| 3     | 0,77 mg/l       | 15,55 ± 1,05  | 10,06 ± 1,44   | 7,17 ± 1.20   | 590,93±172,20                      |
| 4     | 1,27 mg/l       | 15,05 ± 0,82  | 8,32 ± 0,98    | 7,02 ± 0,75   | 470,80± 72,57                      |
| 5     | 1,77 mg/l       | 14,24 ± 1,28  | 8,21 ± 0,86    | 7,19 ± 1,42   | 438,04±121,52                      |
| 6     | 2,27 mg/l       | 13,39 ± 1,22  | 8,65 ± 1,57    | 6,88 ± 1,01   | 410,54± 88,64                      |
| 7     | 3,27 mg/l       | 12,91 ± 0,89  | 8,29 ± 1,13    | 6,51 ± 0,99   | 370,07± 92,49                      |

Protein và lipid tổng số của *Tetraselmis sp.* trong các lô thí nghiệm trên nuôi cấy tiến hành phân tích. Kết quả được thể hiện ở hình 4.

Trong quá trình thí nghiệm, khi nồng độ photpho trong môi trường nuôi thay đổi, thành phần protein và lipid của *Tetraselmis sp.* cũng biến đổi. Nồng độ photpho trong môi trường tăng, protein tổng số trong tế bào

suy giảm. Trong lô thí nghiệm không bổ sung muối photpho (00 mg/l), hàm lượng protein chiếm tỷ lệ cao nhất trong các lô (36,30% trọng lượng khô), sau đó hàm lượng protein giảm dần ở các lô có bổ sung muối photpho tăng dần. Hàm lượng protein thấp nhất (14,78% trọng lượng khô) ở lô thí nghiệm có bổ sung muối photpho nhiều nhất (3,27 mg/l).



**Hình 4:** Số biến đổi protein và lipid tổng số của *Tetraselmis sp.* ở các nồng độ photpho khác nhau

Tổng tối, lipid tổng số trong *Tetraselmis* sp. cũng có hiện tượng giảm mạnh khi nồng độ photôpho bổ sung trong các loài tăng lên. Ở loài không bổ sung muối photôpho (00 mg/l), lipid tổng số đạt giá trị cao nhất trong các loài thí nghiệm (18,82% trọng lượng khô). Sau nội hàm lượng lipid giảm dần khi nồng độ photôpho tăng dần ở các loài thí nghiệm tiếp theo và lipid tổng số đạt giá trị thấp nhất (chỉ 8,91% trọng lượng khô) ở loài thí nghiệm có bổ sung lượng muối photôpho nhiều nhất trong 7 loài thí nghiệm (3,27 mg/l). Có sự sai khác rõ ràng ( $t < 0,05$ ) về hàm lượng protein và lipid giữa các loài thí nghiệm. Vậy nồng độ photôpho trong môi trường nuôi ảnh hưởng đến hàm lượng protein và lipid của tế bào *Tetraselmis* sp.

Những kết quả thí nghiệm trên cho thấy khi nồng độ photôpho trong môi trường tăng lên, hàm lượng protein và lipid của tế bào *Tetraselmis* sp. giảm mạnh, kích thước tế bào ngày càng nhỏ dần nhưng số lượng tế bào tăng lên (chất lỏng tế bào giảm). Hàm lượng protein và lipid cao nhất trong loài thí nghiệm không bổ sung muối photôpho. Do nội dung yêu cầu trong sản xuất ta có thể điều chỉnh nồng độ photôpho nhằm bảo vệ và mất chất lượng cũng như sản lượng thu hoạch theo kết quả nghiên cứu ở hình 3 & 4.

#### IV. KẾT LUẬN

1. Sự tăng trưởng của *Tetraselmis* sp. phụ thuộc rất nhiều vào sự thay đổi nồng độ nitơ. Trong môi trường dinh dưỡng F/2 (Guillard), tế bào phát triển tốt trong khoảng nồng độ ni-tơ bổ sung từ 7,36 mg/l đến 22,36 mg/l. Nồng độ nitơ quá cao hoặc quá thấp đều ảnh hưởng không tốt đến sinh khối tế bào. Ngoài ra nồng độ nitơ thay đổi cũng gây ảnh

hưởng đến hàm lượng protein và lipid tổng số trong tế bào. Khi nồng độ nitơ tăng lên, hàm lượng protein tổng số tăng nhưng hàm lượng lipid tổng số giảm.

2. Tổng tối, nồng độ photôpho thay đổi cũng ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của tế bào. Nồng độ photôpho tốt nhất cho sự tăng trưởng *Tetraselmis* sp. dao động từ 0,77 mg/l đến 3,27 mg/l (trên cơ sở môi trường nuôi F/2). Khi nồng độ photôpho thay đổi, kích thước tế bào cũng bị ảnh hưởng. Nồng độ photôpho trong môi trường càng tăng lên, kích thước tế bào càng nhỏ, hàm lượng protein và lipid tổng số của tế bào giảm.

#### LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Nguyễn Trọng Nho đã tận tình hướng dẫn trong quá trình nghiên cứu và Đề án NUFU 69/96 đã hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ben-Amotz A., Tornabene T. G. and Thomas W. H., 1985. Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.* 21: 72-81.
2. Chelf P., 1990. Environmental control of lipid and biomass production in two diatom species. *Phycol*, Vol. 2, 2: 121-129.
3. Chen. J. F., 1991. Commercial production of microalgae and rotifers in China. Rotifer and microalgae culture systems. *Proceedings of a U. S. Asia Workshop. The Oceanic Institute. Honolulu, Hawaii:* pp. 105-112.
4. Fabregas J., Abalde J., Herrero C., Cabezas B. V. and Veiga M., 1984.



- Growth of the marine microalga *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. *Aquaculture*. 42: 207-215.
5. Flynn K. J., Davidson K. and Cunningham A., 1993. Relations between carbon and nitrogen during growth of *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd under continuous illumination. *New Phytol. Scotland. UK*. 125: 717-722.
  6. Gladue R., 1991. Heterotrophic microalgae production: potential for application to aquaculture feeds. Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U. S. Asia Workshop. The Oceanic Institute. Honolulu, Hawaii: pp 275-286.
  7. Guillard. R. R. L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Plemm Publishing Corporation. Massachusetts: pp. 29-60.
  8. Harrison P. J., Thomson P. A. and Calderwood G. S., 1990. Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *Journal of Applied Phycology*. Kluwer Academic Publishers. Belgium. 2: 45-56.
  9. Hoàng Thò Bích Mai, 1995. Sinh sản, sinh trưởng và cơ sở khoa học của qui trình kỹ thuật nuôi thu sinh khối tảo *Silic Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, *Chaetoceros* sp. làm thức ăn cho cá trung tâm sùì *Penaeus monodon* Fabricius. Luận văn thạc sĩ. Trường Nàii Học Thủy Sản Nha Trang.
  10. Lê Việñ Chí, 1996. Nghiên cứu một số ñặc ñiểm sinh học của tảo *Skeletonema costatum*. Luận văn Tiến số. Việñ Nghiệñ Còu Hải Sản Hải Phong.
  11. Lục Minh Diệp, 1999. Nghiên cứu ảnh hưởng của tyù lêi phân bón (N, P, Si), tyù lêi thu hoạch ñến số phát triển của hỗn hợp tảo tối nhiên và thời nghiệm nuôi tảo *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd. Luận văn thạc sĩ. Trường Nàii Học Thủy Sản Nha Trang.
  12. McGinnis K. M., Dempster T. A. and Sommerfeld M. R., 1997. Characterization of the growth and lipid content of the diatom *Chaetoceros muelleri*. *J. Appl. Phycol.* 9:19-24.
  13. Phạm Thò Lam Hoàng, 1999. Nghiên cứu ảnh hưởng của ñối mặt, ánh sáng và tyù lêi thu hoạch lên một số ñặc ñiểm sinh học, thành phần sinh học của hai loài vi tảo *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, và *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, trong ñiều kiện phòng thí nghiệm. Luận văn Thạc sĩ. Trường Nàii Học Thủy Sản Nha Trang.
  14. Sakshaug E., Andresen K., Mykkestad S. and Olsen Y., 1983. Nutrient status of phytoplankton communities in Norwegian waters (marine, brackish, and fresh) as revealed by their chemical composition. *Journal of plankton Research IRI: press ltd., England*, Vol. 5. No. 2, pp. 175-196.
  15. Sato V., 1991. Development of a phytoplankton production system as a support base for finfish larval rearing research. Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S. Asia Workshop. The Oceanic Institute. Honolulu, Hawaii, pp. 257-274.

16. Volkman J. K., Jeffrey S. w., Nichols P. D., Rogers G. I. and Garland C. D., 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* Elsevier Science Publishers. Australia. Vol. 128, pp. 219-240.
17. Zhukova N. and Aizdaicher N. A., 1995. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. *Phytochemistry.* Elsevier Science Ltd. Britain Vol. 39. No. 2, pp. 351-356.