

HÌNH THÁI, SỰ TĂNG TRƯỞNG VÀ HÀM LƯỢNG LIPID CỦA MỘT SỐ CHŨNG TẢO SILIC *Entomoneis* PHÂN LẬP TỪ RỪNG NGẬP MẶN CẦN GIỜ

Nguyễn Văn Tú, Nguyễn Văn Duy, Nguyễn Thị Thuỳ Linh, Diệp Ngọc Mẫn, Dương Hồ Ngọc Trâm, Nguyễn Hoàng Kim Ánh, Dư Lý Thuỳ Hương, Nguyễn Đức Hưng*

Trường Đại học Sài Gòn

TÓM TẮT

Sự tăng trưởng và tích lũy lipid là những thách thức trong việc ứng dụng vi tảo trong ngành nuôi trồng thủy sản và nhiên liệu sinh học. Vi tảo có đặc tính tăng trưởng cao thường có nhiều khả năng bắt nguồn từ môi trường địa phương. Do đó, chúng tôi đã phân lập ba chủng tảo silic thuộc chi *Entomoneis* từ vùng lõi của rừng ngập mặn Cần Giờ, vì các chủng này có thể chứa nhiều cơ hội có tiềm năng tích lũy lipid cao. Việc sàng lọc dựa trên một quy trình chuẩn sử dụng hình thái, sự tăng trưởng và hàm lượng lipid. Trong số 3 chủng này, chủng có khả năng tăng trưởng và hàm lượng lipid cao nhất là *Entomoneis* sp.01, đạt tốc độ tăng trưởng lên tới 0,74/ngày, năng suất sinh khối là 0,83 ($\times 10^4$ tế bào/mL/ngày), hiệu suất lượng tử tối đa của quang hệ II là 0,73 và hàm lượng lipid là 8,25 $\mu\text{g/mL}$. Chủng này được coi là phù hợp để nghiên cứu thêm về sự tích lũy lipid và làm nguồn thức ăn trong nuôi trồng thủy sản địa phương.

Từ khóa: *Entomoneis*, hàm lượng lipid, rừng ngập mặn Cần Giờ, tảo silic, vi tảo biển.

MỞ ĐẦU

Trong xu hướng phát triển của công nghệ vi tảo, ngoài những loài như *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella* và *Haematococcus* đã được ứng dụng rộng rãi thì nhóm tảo silic (diatom) cũng luôn được đánh giá là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong nhiều lĩnh vực như nuôi trồng thủy sản, công nghệ thực phẩm, thực phẩm chức năng, y học và dược phẩm. Một số tảo silic đã được xác định là có tiềm năng ứng dụng trong công nghệ sinh học, phù hợp cho định hướng sử dụng chúng làm thực phẩm chức năng, dược phẩm cho người và thức ăn bổ sung cho động vật trong nuôi trồng thủy sản như *Skeletonema* (Liên *et al.*, 2018), hoặc có sự tăng trưởng và tích lũy lipid cao để làm nguyên liệu sản xuất dầu sinh học như *Nitzschia*, *Tetraselmis*, *Cymbella*, *Cylindrotheca* (Duong *et al.*, 2015). Nhìn chung, nhóm tảo silic được đánh giá là một nguồn nguyên liệu đầy hứa hẹn khi chúng tích lũy một lượng lớn lipid, hơn nữa lipid có nguồn gốc từ tảo silic có thể được ưa thích và thu hút sự chú ý lớn trên thị trường toàn cầu vì tiềm năng của chúng trong sản xuất bền vững hơn so với dầu cá (Yi *et al.*, 2017) và nhiều nghiên cứu sàng lọc các chủng tảo silic có hàm lượng lipid cao đã được thực hiện trên thế giới (Cointet *et al.*, 2019a; Cointet *et al.*, 2019b) và ở Việt Nam (Liên *et al.*, 2017). Trong nhóm tảo silic, một số loài thuộc chi *Entomoneis* đã được xác định là có nhiều ứng dụng trong công nghệ thực phẩm và dược phẩm như *E. alata* giàu axit béo (Soares *et al.*, 2013) và *Entomoneis* sp. MMOGRB 0374S có chứa nhiều omega-6 (He *et al.*, 2016). Mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập, khảo sát đặc điểm tăng trưởng và hàm lượng lipid của một số chủng tảo silic thuộc chi *Entomoneis* trong môi trường có tính xáo trộn cao như rừng ngập mặn Cần Giờ - Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả sàng lọc khả năng tích lũy lipid của các chủng *Entomoneis* sẽ làm cơ sở để thực hiện tiếp tục các nghiên cứu ứng dụng trong công nghệ sinh học về vi tảo.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Phân lập và điều kiện nuôi cấy trong phòng thí nghiệm

Các chủng *Entomoneis* được phân lập từ mẫu nước sông Dàn Xây (10°28'49.14" N; 106°51'49.73" E) và từ sông Lò Vôi (10°27'34.40" N; 106°54'17.06" E) thuộc vùng lõi của Khu dự trữ sinh quyển rừng ngập mặn Cần Giờ. Thời điểm thu mẫu nước được thực hiện 4 lần, 2 lần đại diện cho mùa mưa năm 2018 và 2 lần đại diện cho mùa khô năm 2019 nhằm tăng tối đa khả năng bắt gặp các loài thuộc chi *Entomoneis*. *Entomoneis* thường sống trôi nổi, nên được thu nhận bằng lưới phiêu sinh với mắt lưới 20 μm khi triều cao. Mẫu nước có tảo được đưa về Phòng thí nghiệm Sinh học, Khu thực hành thí nghiệm Sinh - Hóa - Môi trường, thuộc Trường Đại học Sài Gòn, sử dụng phương pháp phân lập các tế bào đơn lẻ bằng Pasteur micropipette để tạo nên những chủng vi tảo silic đơn dòng (monoculture). Môi trường nuôi cấy và giữ giống được sử dụng là F/2 có độ mặn trung bình từ 25 - 30‰, pH = 7,3 - 7,8. Sử dụng các bình Erlenmeyer loại 250 mL, có các nút bông, hấp vô trùng trước khi sử dụng, chứa 150mL môi trường nuôi cấy F/2 để thực hiện các thực nghiệm khảo sát về sự tăng trưởng và hàm lượng lipid. Điều kiện nuôi cấy có kiểm soát được thực hiện trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ 25°C \pm 1, cường độ ánh sáng 50 $\mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, với chu kì sáng/tối là 12:12 giờ. Mật độ xuất phát ban đầu là 10⁴ tế bào/mL.

Phân tích hình thái học

Từ các chủng vi tảo silic đơn dòng phân lập được, tiến hành quan sát đặc điểm hình thái ở các pha tăng trưởng bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 100X và 400X. Những chủng được cho là có khả năng thuộc chi *Entomoneis* sẽ được làm sạch chất hữu cơ bằng cách xử lí với dung dịch H₂O₂ 30% (Merck) và dung dịch HCl 10%, tiếp tục rửa mẫu lại cuối cùng bằng NH₄Cl 1%, để khô ở nhiệt độ phòng và cố định mẫu bằng keo Naphrax của Sigma-Aldrich (Witkowski *et al.*, 2016). Quan sát hình dạng mảnh vỏ, đo các kích thước các mảnh vỏ từ ảnh hiển vi điện tử (SEM) chụp tại Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh. Dựa vào tài liệu (*Entomoneis* |Genera - Diatoms of North America ; Mejdandžić *et al.*, 2018) để mô tả và so sánh hình thái của các chủng *Entomoneis* phân lập được.

Khảo sát các đặc điểm sinh trưởng

Mật độ tế bào được xác định bằng cách đếm số tế bào có mặt trong một thể tích xác định sử dụng buồng đếm hồng cầu Neubauer cải tiến của Germany. Đường cong tăng trưởng được xây dựng dựa vào biến động số lượng tế bào theo ngày. Tốc độ tăng trưởng được tính dựa vào mật độ tế bào ở hai thời điểm khác nhau trong quá trình tăng trưởng theo công thức $\mu = \frac{\ln(N_t - N_0)}{(t_t - t_0)}$. Năng suất sinh khối (BM) được tính theo công thức $BM = \frac{(N_t - N_0)}{(t_t - t_0)}$, trong đó t_t và t_0 là hai thời điểm trên đường cong tăng trưởng; N_t và N_0 là mật độ tế bào ở các thời điểm tương ứng (Wood *et al.*, 2005). Để xác định sinh khối khô, tiến hành thu sinh khối tại thời điểm có mật độ tế bào cao nhất, lọc 10 mL dịch nuôi cấy qua giấy lọc (Whatman GF/F, đường kính 47 mm, kích thước lỗ 0,7 µm). Làm khô giấy lọc có vi tảo ở 95°C đến khối lượng không đổi, làm mát trong bình hút ẩm chân không. Cân lại giấy lọc và xác định trọng lượng khô (mg/L). Hiệu suất quang hóa tối đa của quang hệ II (PSII) được thể hiện bằng thông số Fv/Fm (Richmond, 2008). Sự phát huỳnh quang của vi tảo được đo bằng bằng thiết bị AquaPen-AP-100 (Photon Systems Instruments, Czech Republic) sau khi để dịch vi tảo trong tối 5 phút.

Xác định hàm lượng lipid

Hàm lượng lipid tổng được xác định theo phương pháp Sulfo - Phospho - Vanillin (Mishra *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2016). Dầu hạt cải thương mại Simply được sử dụng để xây dựng đường chuẩn. Hệ số xác định của mô hình hồi quy cao (R² = 0,99) cho thấy mối quan hệ giữa hàm lượng lipid và độ hấp thụ phù hợp với mô hình tuyến tính: Hàm lượng lipid (µg/mL) theo thể tích = 116,7 x A₅₃₀ - 0,0339. Ngoài ra, dựa vào mật độ tế bào, kết quả định lượng lipid có thể quy đổi thành đơn vị pg/tế bào.

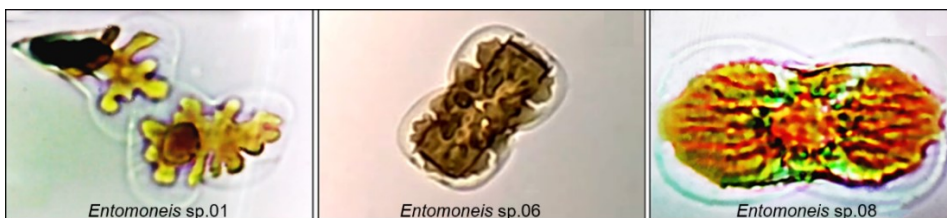
Phân tích và thống kê số liệu

Các số liệu thu được trong quá trình thí nghiệm được xử lý thống kê trên phần mềm SPSS (26.0) và Microsoft Office Excel (16.35). Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần để tính trung bình và độ lệch chuẩn bằng chương trình Microsoft Excel. Sự phân hạng, chia nhóm theo công thức Duncan, T-test, dựa trên những khác biệt có ý nghĩa ở mức p<0,05, các giá trị được biểu hiện bằng các mẫu tự khác nhau kèm theo sau số trung bình.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

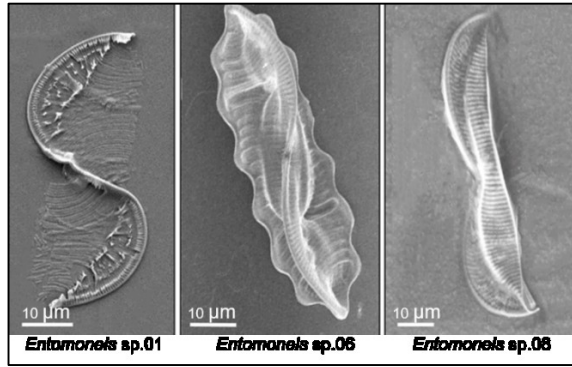
Đặc điểm hình thái

Dưới kính hiển vi quang học (400X), các tế bào *Entomoneis* mà chúng tôi phân lập được có hình lá bưởi hoặc hình dạng đàn violon (panduriform), thường có thể sắc tố màu vàng hơi nâu, màu sắc đậm hay nhạt, phân mảnh hay chiếm trọn thể tích tế bào phụ thuộc vào trạng thái sinh lý của tế bào theo từng giai đoạn khác nhau, mảnh vỏ có thể vận (xoắn) theo trục đỉnh (Hình 1). Những đặc điểm hình thái bên ngoài này đặc trưng cho chi tảo *Entomoneis*.



Hình 1. Ảnh dưới kính hiển vi quang học (400X) của ba chủng tảo silic Entomoneis

Dựa vào ảnh SEM, mảnh vỏ của 3 chủng đều có đường sống lưng dạng sigma theo chiều dài từ đỉnh đầu, có nhiều vân xen kẽ trên mặt vỏ (Hình 2). Những đặc điểm hình thái quan trọng này đặc trưng cho chi *Entomoneis*. Chi tiết đặc điểm cụ thể của từng chủng được mô tả và so sánh với những loài tương tự được trình bày trong Bảng 1.



Hình 2. Ảnh SEM cấu trúc vỏ của ba chủng tảo silic *Entomoneis*

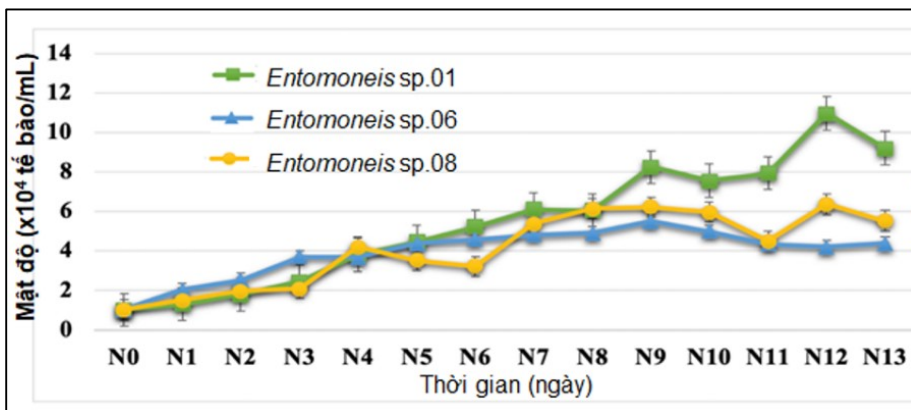
Bảng 1. Đặc điểm kích thước của ba chủng tảo silic *Entomoneis*

| | Số vân/10µm | Chiều dài (µm) | Chiều rộng (µm) |
|-------------------------|-------------|----------------|-----------------|
| <i>Entomoneis sp.01</i> | 34 | 26 - 36 | 12 |
| <i>Entomoneis sp.06</i> | 18 | 34 - 41 | 17 - 23 |
| <i>Entomoneis sp.08</i> | 17 - 19 | 35 - 41 | 24 - 28 |

So sánh các đặc điểm hình thái của ba chủng với các kết quả trong các tài liệu tham khảo về phân loại chi *Entomoneis* (*Entomoneis* | Genera - Diatoms of North America; (Mejdandžić *et al.*, 2018), cho thấy 3 chủng *Entomoneis* trong nghiên cứu này thuộc 3 loài khác nhau, cụ thể chủng *Entomoneis sp.01* có nhiều đặc điểm tương đồng với loài *Entomoneis umbratica*, chủng *Entomoneis sp.06* có nhiều đặc điểm tương đồng với loài *Entomoneis paludosa*, và chủng *Entomoneis sp.08* có nhiều đặc điểm tương đồng với loài *Entomoneis alanta*. Tuy nhiên để có thể khẳng định chính xác về tên loài của ba chủng này, chúng tôi cần có thêm nhiều bằng chứng phân loại bằng các chỉ thị sinh học phân tử dành riêng cho tảo silic.

Đường cong tăng trưởng

Đường cong tăng trưởng của các chủng *Entomoneis* trong môi trường F/2, với mật độ ban đầu là 10^4 tb/mL được thực hiện nhằm mục đích xác định thời điểm tăng trưởng mạnh nhất của từng chủng *Entomoneis*. Kết quả nghiên cứu cho thấy mật độ tế bào *Entomoneis sp.01* tăng đều trong 7 ngày nuôi cấy đầu tiên. Sau đó, có sự dao động về số lượng tế bào trong các ngày kế tiếp trước khi đạt cực đại $10,95 \times 10^4$ tb/mL vào ngày thứ 12. Mật độ tế bào *Entomoneis sp.06* đạt cực đại vào ngày thứ 9 với $5,48 \times 10^4$ tb/mL. *Entomoneis sp.08* có xu hướng tăng trong 4 ngày đầu tiên nhưng kể từ ngày thứ 5, đường cong tăng trưởng không ổn định cho đến khi đạt cực đại $6,35 \times 10^4$ tb/mL vào ngày thứ 12 tương tự như *Entomoneis sp.01* (Hình 3). Có thể nhận thấy, mật độ cực đại của *Entomoneis sp.01* cao gấp khoảng hai lần so với hai chủng còn lại trong cùng điều kiện nuôi cấy. Thời gian để mật độ tế bào đạt cực đại phụ thuộc nhiều vào mật độ xuất phát, trong nghiên cứu này mới chỉ áp dụng một mật độ chung là 10^4 tb/mL, vì vậy cần khảo sát thêm ảnh hưởng của mật độ xuất phát đến sự sinh trưởng của từng chủng tảo.



Hình 3. Đường cong tăng trưởng của ba chủng tảo silic *Entomoneis*

Đặc điểm cơ bản về sự sinh trưởng

Ngoài đường cong tăng trưởng thì một số thông tin cơ bản khác về sự sinh trưởng của ba chủng *Entomoneis* được cung cấp trong Bảng 2. Chủng *Entomoneis* sp.01 có tốc độ tăng trưởng cao nhất là 0,74/ngày, cao hơn gấp hai lần so với chủng *Entomoneis* sp.06 nhưng không có sự khác biệt khi so sánh với tốc độ tăng trưởng của chủng *Entomoneis* sp.08. Tương tự, năng suất sinh khối của *Entomoneis* sp.01 cao nhất với $0,83 \times 10^4$ tế bào/mL/ngày và giá trị này hơn gấp đôi và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai giá trị còn lại của *Entomoneis* sp.06 và *Entomoneis* sp.08. *Entomoneis* sp.01 có hàm lượng sinh khối khô cao nhất là 38,53 mg/L nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ba chủng vi tảo này.

Bảng 2. Đặc điểm sinh trưởng của ba chủng vi tảo silic *Entomoneis*

| Đặc điểm sinh trưởng | <i>Entomoneis</i> sp.01 | <i>Entomoneis</i> sp.06 | <i>Entomoneis</i> sp.08 |
|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Tốc độ tăng trưởng (1/ngày) | 0,74 ^a ± 0,198 | 0,30 ^b ± 0,230 | 0,62 ^{ab} ± 0,122 |
| Năng suất sinh khối (10 ⁴ tế bào/mL/ngày) | 0,83 ^a ± 0,084 | 0,49 ^b ± 0,192 | 0,44 ^b ± 0,048 |
| Sinh khối khô (mg/L) | 38,53 ^a ± 1,415 | 36,36 ^a ± 4,554 | 29,16 ^a ± 6,564 |
| Hiệu suất lượng tử tối đa của PSII (Fv/Fm) | 0,73 ^a ± 0,045 | 0,61 ^c ± 0,026 | 0,69 ^b ± 0,023 |

Trong nghiên cứu này, *Entomoneis* sp.01 có hiệu suất lượng tử tối đa của PS II (tỷ số Fv/Fm) đạt giá trị cao nhất là 0,74, trong khi *Entomoneis* sp.06 và sp.08 có giá trị thấp hơn, lần lượt là 0,61 và 0,69. Thông thường tỷ lệ Fv/Fm của dịch nuôi cấy vi tảo khỏe mạnh sẽ dao động từ 0,7 đến 0,8 (Richmond, 2008). Đối với tảo lục, tỷ lệ này có thể dao động từ 0,65 đến 0,80, tuy nhiên tỷ lệ này thay đổi đáng kể, tùy thuộc vào chế độ chiếu sáng và điều kiện sinh lý khác nhau (Schoormans *et al.*, 2015). Như vậy, căn cứ trên những đặc điểm sinh trưởng thì *Entomoneis* sp.01 được đánh giá là có sự sinh trưởng tốt nhất so với hai chủng còn lại trong cùng điều kiện nuôi cấy ở phòng thí nghiệm.

Hàm lượng lipid

Kết quả định lượng lipid theo thể tích (µg/mL) và theo tế bào (pg/tế bào) của 3 chủng *Entomoneis* được trình bày trong Bảng 3. Chủng *Entomoneis* sp.01 có hàm lượng lipid theo thể tích cao nhất (8,25 µg/mL), gấp khoảng 1,2 lần so với *Entomoneis* sp.06 và gấp 4 lần so với *Entomoneis* sp.08. Tuy nhiên, khi đánh giá hàm lượng lipid theo tế bào thì chủng *Entomoneis* sp.06 lại có hàm lượng lipid cao nhất (132,6 pg/tế bào) gấp 1,7 lần so với chủng *Entomoneis* sp.01 và gấp khoảng 5 lần so với chủng *Entomoneis* sp.08.

Bảng 3. Hàm lượng lipid của ba chủng tảo silic *Entomoneis*

| Đơn vị | <i>Entomoneis</i> sp.01 | <i>Entomoneis</i> sp.06 | <i>Entomoneis</i> sp.08 |
|-----------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| µg/mL | 8,25 ^a ± 1,332 | 6,93 ^a ± 1,470 | 1,73 ^b ± 1,250 |
| pg/tế bào | 75,7 ^b ± 7,148 | 132,6 ^a ± 10,470 | 28,6 ^c ± 2,368 |

Trong chi *Entomoneis*, loài *E. paludosa* là một đối tượng tiềm năng và được nghiên cứu nhiều về thành phần sinh hóa và đặc biệt là hàm lượng lipid. Khi sử dụng phương pháp Bligh và Dyer, hàm lượng lipid của *E. paludosa* dao động trong khoảng 43,8 - 89,9 pg/tế bào tùy theo từng điều kiện môi trường nuôi cấy khác nhau (Jauffrais *et al.*, 2015). Hàm lượng lipid của *E. paludosa* đạt khoảng 81 pg/tế bào trong điều kiện nuôi cấy không có kháng sinh và khoảng 124 pg/tế bào trong điều kiện nuôi cấy có bổ sung kháng sinh (Jauffrais *et al.*, 2017). So sánh kết quả khảo sát hàm lượng lipid của các chủng *Entomoneis* trong nghiên cứu này thì chủng *Entomoneis* sp.01 và *Entomoneis* sp.06 đều có thể là những đối tượng tiềm năng để tiếp tục khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tích lũy lipid trong quá trình sinh trưởng và có thể khai thác ứng dụng trong công nghệ vi tảo.

KẾT LUẬN

Ba chủng vi tảo silic *Entomoneis* được phân lập thành dòng đơn từ môi trường nước trong vùng lõi của rừng ngập mặn Cần Giờ và được giữ giống, nuôi cấy trong môi trường F/2 ở điều kiện phòng thí nghiệm có kiểm soát nhiệt độ, ánh sáng và quang chu kỳ. Những khảo sát về hình thái dưới kính hiển vi quang học và hiển vi điện tử cho thấy ba chủng *Entomoneis* này thuộc ba loài khác nhau và cần bổ sung thêm thông tin di truyền của các chủng này chẳng hạn như mã vạch DNA để có thể định danh đến loài chính xác. Trong cùng một điều kiện nuôi cấy ở quy mô phòng thí nghiệm, chủng *Entomoneis* sp.01 có tốc độ tăng trưởng cao nhất là 0,74/ ngày, năng suất sinh khối là $0,83 \times 10^4$ tb/mL/ngày, hiệu suất lượng tử tối đa của quang hệ II là 0,73 và lipid hàm lượng là 8,25 µg/mL. Chủng *Entomoneis* sp.01 được đánh giá có sự sinh trưởng tốt nhất và có tiềm năng để phát triển nghiên cứu tiếp theo để tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy để tăng cường chất lượng sinh khối và khả năng sử dụng chủng này trong công nghệ vi tảo theo hướng sản xuất lipid và làm thức ăn trong nuôi trồng thủy sản của địa phương.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện bằng nguồn kinh phí từ đề tài cơ sở của Trường Đại học Sài Gòn, mã số CS2019-08.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cointet E, Wielgosz-Collin G, Bougaran G, Rabesaotra V, Gonçalves O & Méléder V (2019a). Effects of light and nitrogen availability on photosynthetic efficiency and fatty acid content of three original benthic diatom strains. *PLOS ONE* 14(11): e0224701.
- Cointet E, Wielgosz-Collin G, Méléder V, & Gonçalves O (2019). Lipids in benthic diatoms: A new suitable screening procedure. *Algal Res* 39, doi: 10.1016/j.algal.2019.101425.
- Duong VT, Thomas-Hall SR, Schenk, PM (2015). Growth and lipid accumulation of microalgae from fluctuating brackish and sea water locations in South East Queensland-Australia. *Front Plant Sci* 6: 359.
- Entomoneis* | *Genera-Diatoms of North America*. Retrieved June 29, 2020, from <https://diatoms.org/genera/entomoneis>.
- He L, Lou S, Lin X, Qian X, Wang Z (2016). Isolation and identification of the marine diatom *Entomoneis* sp. MMOGRB 0374S (Bacillariophyta): A strain with high arachidonic acid composition. *Bot Marin* 59(6): 463-471.
- Jauffrais T, Agogue H, Gemin M-P, Beaugear, L, Martin-Jézéquel V (2017). Effect of bacteria on growth and biochemical composition of two benthic diatoms *Halamphora coffeaeformis* and *Entomoneis paludosa*. *J Exper Marin Biol Ecol* 495: 65-74.
- Jauffrais T, Drouet S, Turpin V, Méléder V, Jesus B, Cognie B, Raimbault P, Cosson RP, Decottignies P, Martin-Jézéquel V (2015). Growth and biochemical composition of a microphytobenthic diatom (*Entomoneis paludosa*) exposed to shorebird (*Calidris alpina*) droppings. *J Exper Marin Biol Ecol* 469: 83-92.
- Liên NTT, Sơn NH, Nhân LTT (2017). Ảnh hưởng của hàm lượng chất dinh dưỡng đến sinh khối và hàm lượng lipid của chủng tảo silic nước mặn *Chaetoceros* Chta. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 15(1): 113-120.
- Liên NTT, Sơn NH, Quảng HT, Nhân LTT (2018). Phân lập và tuyển chọn một số chủng tảo silic *Skeletonema costatum* từ vùng biển Thừa Thiên Huế để làm thức ăn nuôi trồng thủy sản. *Tạp chí khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* 127(3B): 97-108.
- Mejdandžić M, Bosak S, Nakov T, Ruck E, Orlić S, Udovič MG, Štefanić PP, Špoljarić I, Mršić G, Ljubešić, Z (2018). Morphological diversity and phylogeny of the diatom genus *Entomoneis* (Bacillariophyta) in marine plankton: Six new species from the Adriatic Sea. *J Phycol* 54(2): 275–298.
- Mishra SK, Suh WI, Farooq W, Moon M, Shrivastav A, Park MS, Yang J-W (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Biores Technol* 155: 330–333.
- Park J, Jeong HJ, Yoon EY, Moon SJ, Park J, Jeong HJ, Yoon EY, Moon, SJ (2016). Easy and rapid quantification of lipid contents of marine dinoflagellates using the sulpho-phospho-vanillin method. *ALGAE* 31(4): 391-401.
- Richmond A (2008). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. John Wiley & Sons.
- Schuermans RM, van Alphen P, Schuurmans JM, Matthijs HCP, Hellingwerf KJ (2015). Comparison of the photosynthetic yield of Cyanobacteria and Green Algae: Different methods give different answers. *PLoS One* 10(9), e0139061.
- Soares A.T, Silva BF, Fialho LL, Pequeno MG, Vieira AH, Souza AG, Antoniosi Filho NR (2013). Chromatographic characterization of triacylglycerides and fatty acid methyl esters in microalgae oils for biodiesel production. *J Renew Sustain Ener* 5(5), 053111.
- Witkowski A, Li, C, Zgłobicka I, Yu S, Ashworth M, Dąbek P, Qin S, Tang C, Krzywda M, Ruppel M, Theriot EC, Jansen RK, Car, A, Płociński T, Wang Y, Sabir JSM., Daniszewska-Kowalczyk G, Kierzek A, Hajrah NH (2016). Multigene assessment of biodiversity of diatom (Bacillariophyceae) assemblages from the littoral zone of the Bohai and Yellow Seas in Yantai Region of Northeast China with some remarks on ubiquitous Taxa. *J Coast Res* 74 (10074): 166–195.
- Wood AM., Everroad RC, Wingard LM (2005). Measuring growth rates in microalgal cultures. In *Algal Culturing Techniques* (p. 578). ACADEMIC PRESS, INC.
- Yi Z, Xu M, Di X, Brynjolfsson S, Fu W (2017). Exploring valuable lipids in diatoms. *Front Marin Sci* 4(17), doi:10.3389/fmars.2017.00017.

MORPHOLOGY, GROWTH, AND LIPID CONTENT OF DIATOM STRAINS *Entomoneis* ISOLATED FROM CAN GIO MANGROVE

Nguyen Van Tu, Nguyen Van Duy, Nguyen Thi Thuy Linh, Diep Ngoc Man, Duong Ho Ngoc Tram, Nguyen Hoang Kim Anh, Du Ly Thuy Huong, Nguyen Duc Hung*

Saigon University

SUMMARY

The growth and lipid accumulation are challenges in the application of microalgae in the aquaculture and biofuels industry. Microalgae with high growth characteristics are more likely to originate from the local environment. Thereby, we isolated three diatom strains belong to *Entomoneis* genus from the core zone of Can Gio mangrove, as these strains may harbor more opportunistic strains with high lipid accumulation potential. The

screening was based on a standard protocol using morphology, growth, and lipid content. Among these 3 strains, the one most likely to be effective for growth and lipid content was *Entomoneis* sp.01, reaching growth rates of up to 0.74 day^{-1} , biomass yield of $0.83 (\times 10^4 \text{ cell mL}^{-1}\text{day}^{-1})$, maximum potential quantum efficiency of Photosystem II of 0.73 and lipid content of $8.25 \mu\text{g/mL}$. This strain has considered suitable for further investigation as lipid accumulation and feed in local aquaculture.

Keywords: *Entomoneis*, lipid content, Can Gio mangrove, diatom, marine microalgae.