**TRANG THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN**

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu sự tích lũy lipid trong quá trình tăng trưởng của vi tảo *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd

Chuyên ngành: Sinh lý học thực vật

Mã số: 62420112

Họ tên nghiên cứu sinh: Trịnh Cẩm Tú

Khóa đào tạo: 2014

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Bùi Trang Việt và PGS.TS. Trần Thanh Hương

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Tp. HCM

1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN:

*N. oculata* là vi tảo biển, đơn bào, hình cầu, có kích thước nhỏ (2 - 5 μm) (Fawley và cộng sự, 2007; Hibberd, 1981) đang được quan tâm nghiên cứu cho mục đích sản xuất nhiên liệu sinh học (Makri và cộng sự 2011). Đề tài được thực hiện với mục tiêu tìm hiểu về các giai đoạn tăng trưởng của vi tảo *N. oculata*, đồng thời nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố tác động lên mối tương quan giữa tăng trưởng tế bào và tích lũy lipid trong tế bào trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* và bước đầu áp dụng trong điều kiện ở vườn thực nghiệm.

Kỹ thuật nuôi cố định tế bào *N. oculata* trên lame được thực hiện nhằm theo dõi chu kỳ tế bào trong thời gian 24 giờ. Dịch treo tế bào vi tảo được nuôi cấy trong các Erlen 100 mL chứa 20 mL môi trường lỏng f/2 cải tiến được lắc. Đường cong tăng trưởng và mối quan hệ giữa tăng trưởng tế bào và tích lũy lipid được phân tích dựa trên sự kết hợp giữa hai kỹ thuật nuôi cố định tế bào trên lame và dịch treo tế bào trong Erlen. Ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy, chu kỳ sáng - tối, xử lý NaCl ở các nồng độ thay đổi 0 – 1 M, các chất điều hòa tăng trưởng thực vật (IAA, GA3, zeatin và ABA) và nitrogen lên quá trình tăng trưởng và tích lũy lipid của vi tảo trong điều kiện *in vitro* được nghiên cứu và thảo luận. Vi tảo được nuôi trong các thùng 30 L chứa 20 L môi trường f/2 cải tiến ×4 nhằm đánh giá sự tạo sinh khối và lipid dự trữ ở điều kiện vườn thực nghiệm.

2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN:

Chu kỳ tế bào *N. oculata* trên lame xảy ra trong 24 giờ và gồm ba giai đoạn: tăng trưởng (khoảng 5 giờ), phân chia tế bào (khoảng 15 giờ) và phóng thích tế bào (khoảng 4 giờ). Sự tăng trưởng và phân chia tế bào thường diễn ra trong giai đoạn sáng trong khi sự phóng thích tế bào thường diễn ra trong giai đoạn tối.

Đường cong tăng trưởng của *N. oculata* trong môi trường lỏng gồm các chu kỳ liên tiếp, mỗi chu kỳ khoảng 15 ngày và gồm ba giai đoạn: tăng trưởng chậm, tăng trưởng nhanh và bão hòa. Sự tích lũy lipid bắt đầu từ cuối chu kỳ thứ nhất hay đầu chu kỳ thứ hai (từ ngày 20), tương ứng với trọng lượng khô và đường kính tế bào tăng, mật độ tế bào và cường độ quang hợp vẫn giữ ở mức tối đa, trong khi cường độ hô hấp tăng dần, đồng thời hoạt tính auxin và cytokinin giảm, hoạt tính gibberellin và acid abscisic tăng.

Trong sự tăng trưởng dịch treo tế bào vi tảo *N. oculata*, mật độ tế bào thay đổi theo nhịp: cao ở đầu giai đoạn sáng do sự phóng thích tế bào ở cuối giai đoạn tối và thấp ở cuối giai đoạn sáng do sự phân hủy tế bào.

Các chất điều hòa tăng trưởng thực vật kiểm soát sự phân chia tế bào và sự tích lũy lipid ở *N. oculata*. Auxin nội sinh giảm dần cho tới ngày 20, theo hướng ngược với gibberellin, trước khi bắt đầu sự gia tăng tích lũy lipid. Cytokinin nội sinh tăng (ngày 6 - 14) tương ứng với sự tăng cường độ hô hấp và quang hợp, mật độ và kích thước tế bào, và trọng lượng khô, sau đó giảm tương ứng với kích thước tế bào và trọng lượng khô giảm (ngày 14 - 20). Auxin, cytokinin, gibberellin và ABA ngoại sinh đều kích thích sự phân chia tế bào nhưng auxin và cytokinin cản trong khi gibberellin không làm thay đổi sự tích lũy giọt dầu trong tế bào.

Các xử lý IAA 0,5 mg/L hoặc GA3 0,1 mg/L liên tục, và loại NaCl trong 10 giờ trước khi nuôi vi tảo trong các thùng đặt ở vườn thực nghiệm làm tăng mật độ tế bào so với đối chứng nhưng không làm tăng tỷ lệ tế bào tích lũy giọt dầu.

Sự nuôi vi tảo ở vườn thực nghiệm được thực hiện theo phương pháp hai giai đoạn, xử lý IAA trong 20 ngày đầu và loại hoàn toàn nitrogen trong 4 ngày vào giai đoạn sau giúp tăng sinh khối tảo và hàm lượng lipid dự trữ.

3. CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU

 Áp dụng phương pháp nuôi vi tảo theo hai giai đoạn với sự kết hợp xử lý các chất điều hòa tăng trưởng thực vật, sự loại hoàn toàn NaCl hoặc nitrogen ở mỗi giai đoạn phù hợp nhằm thu sinh khối và tăng lipid dự trữ.

|  |  |
| --- | --- |
| **CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**(Ký tên, họ tên) | **NGHIÊN CỨU SINH**(Ký tên, họ tên) |

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**PHÓ HIỆU TRƯỞNG**

**Trần Lê Quan**

**THESIS INFORMATION**

Thesis: Study on lipid accumulation in the growth of microalgae *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd

Speciality: Plant Physiology

Code: 62420112

PhD Student: Trinh Cam Tu

Supervisors: Assoc. Prof. Bui Trang Viet and Assoc. Prof. Tran Thanh Huong

At: UNIVERSITY OF SCIENCE – VNU.HCMC

1. ABSTRACT:

*N. oculata* is a unicellular marine microalga with small in size (2 - 5 μm) (Fawley *et al*., 2007; Hibberd, 1981). This microalga has concerned as a potential candidate for biodiesel production (Makri *et al.* 2011). The aims of this thesis are studying physiological changes in the growth phases of *N. oculata*, analyzing effects of some factors on the relationship between growth and lipid accumulation in *in vitro* culture, and applying these results in outdoor culture for biomass and lipid.

Single cell of *N.oculata* was cultured on lame in 24 hours in order to observe cell cycle. Microalga cell suspensions were grown in Erlen flasks with 20 mL of f/2 medium to study growth phases, physiological changes in growth phases, and effects of some factor on microalga growth. Based on analyzing results of two previous culture methods, growth curves and the relationship between growth and lipid accumulation of microalgae were discussed. Effects of culture conditions, photoperiods, sodium chloride, plant growth regulators (IAA, GA3, zeatin và ABA), and nitrogen on cell suspension growth and lipid accumulation in *in vitro* culture were investigated and discussed. In outdoor cultivation for biomass and lipid, microalgae were grown in small ponds with 20 L of modified f/2 medium.

2. NEW CONCLUSSIONS:

A cell cycle of *N. oculata* on lame occurred in 24 hours and included three phases: growth (5 hours), division (15 hours) and release (4 hours). Growth and division phases frequently went on in light period, while release phase often passed on in dark period.

Growth curve of *N. oculata* in liquid medium had many continuous cycles which included three phases in around 15 days: lag phase, log phase and stationary phase. Lipid were started to accumulate in microalgal cells from the end of the first cycle or the beginning of the second cycle (day 20). In lipid accumulation process, dry weight, cell diameter, and respiration rate were increased, cell density and photosynthesis rate were at high levels, and activities of gibberellin and abscisic acid were high but activities of auxin and cytokinin were low.

In the growth of *N. oculata* cell suspension, cell density was oscillated by endogenous biological rhythm: high at the beginning of light period in results of cells division and low at the end of light period because of cells degeneration.

Plant growth regulators control cell division and lipid accumulation of microalgae *N. oculata*. Endogenous auxin decreased but endogenous gibberellin increased just before lipid accumulation (from day 14 to 20). The activities of endogenous cytokinin were increased from day 6 to day 20 corresponding with photosynthesis and respiration rates, cell density and diameter, and dry weight. Then, activities of cytokinin decreased when cell diameter and dry weight also decreased from day 14 to day 20. Exogenous auxin, cytokinin, gibberellin and abscisic acid stimulated cell division. Treatment of exogenous IAA, zeatin, GA3 and ABA were strongly promoted microalgae cell division but they were also delayed lipid accumulation, except GA3.

Treatments of 0.5 mg/L IAA or 0.1 mg/L GA3 or sodium chloride depletion in 10 hours before outdoor culture promoted cell density but they didn’t increased percentage of cells with lipid droplets.

In outdoor two-stages cultivation for biomass and lipid production, IAA was applied in the first stage and nitrogen was depleted in 4 days in the second stage.

3. ABILITIES OF APPLICATIONS AND FUTURE

Application of plant growth regulators combined with nitrogen deprivation or sodium chloride depletion in two-stages culture of *N. oculata* in outdoor cultivation for biomass and lipid production.

|  |  |
| --- | --- |
| **SUPERVISOR** | **PhD STUDENT** |

**CONFIRMATION OF THE UNIVERSITY OF SCIENCE**

**VICE PRESIDENT**

**Tran Le Quan**