

**PENGARUH PENAMBAHAN NaCl SEBAGAI STRESS AGENT DALAM KULTIVASI
SEL MIKROALGA *Dunaliella tertiolecta* ATCC 30929 TERHADAP AKUMULASI LIPID INTRASEL
(THE EFFECT OF ADDITIONAL NaCl AS STRESS AGENT ON MICROALGAE CELL
Dunaliella tertiolecta ATCC 30929 FOR INTRACELLULAR ACCUMULATION OF LIPID)**

Karseno¹, M. Takagi² and T. Yoshida²

ABSTRACT

Lipid composition of microalgae cell was affected by saline medium. Increasing of initial NaCl in modified NORO medium from 0.5 M to 1.0 M resulted in an increase of intracellular lipid content of Dunaliella tertiolecta ATCC 30929 cell from 60% to 67% (db). Loading of 0.5 M NaCl at a middle of logarithmic phase or 1.0 M at the end of logarithmic phase during the growth on the same medium increased intracellular lipid content to 70% (db). Addition of NaCl up to 2.0 M during the culture gave a high intracellular lipid content up to 77% (db), although cell concentration was decreased to a half. The temperature, light intensity, and aeration was adjusted at 30 °C, 150 mol.s⁻¹.m⁻² (10.000 lux) and 250 ml/min CO₂ enriched air (CO₂ 3%).

Keywords : *Dunaliella, microalgae, intracellular lipid, NaCl*

PENDAHULUAN

Mikroalga terutama dari kelompok mikroalga laut (*marine microalgae*) akhir-akhir ini semakin mendapat perhatian karena potensinya dalam menghasilkan produk yang dapat diaplikasikan di dunia industri pangan, farmasi maupun kimia. Mikroalga kemungkinan mengandung lipid dengan komposisi yang hampir sama dengan lipid dari sayuran (Borowitzka, 1988). Di bawah kondisi tertentu mikroalga telah dilaporkan mampu menghasilkan lipid lebih dari 85% (db). Beberapa mikroalga juga sudah diketahui dapat menghasilkan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) seperti *Docosahexaenoic acid* (DHA) dan *Eicosapentaenoic acid* (EPA) (Liu and Liang Lin, 2001).

Faktor-faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan dan konsentrasi akhir sel. Kondisi lingkungan juga berpengaruh terhadap kandungan dan komposisi lipid dari mikroalga. Hasil penelitian banyak menunjukkan bahwa faktor yang paling banyak berpengaruh terhadap kandungan lipid dalam mikroalga adalah terbatasnya sumber nitrogen dalam mediumnya. Sebagian besar meski tidak semua mikroalga yang tumbuh dalam medium dengan kondisi nitrogen yang terbatas meningkatkan kandungan lipid intraselnya. Faktor kekurangan nutrisi dalam medium selain nitrogen juga berpengaruh terhadap kandungan lipid intrasel dalam mikroalga (Borowitzka, 1988).

Takagi et al (1998) melaporkan bahwa kandungan trigliserida (TG) intrasel pada sel *Nanochloris* sp meningkat saat konsentrasi nitrat sebagai sumber nitrogen dalam

medium NORO yang mengandung 9.9 mM KNO₃ habis. Selanjutnya dijelaskan bahwa ketika 0.9 mM KNO₃ ditambahkan secara berulang sebanyak 10 kali pada fase pertumbuhan logaritmik pada medium yang sama dengan konsentrasi awal nitrat 0.9 mM, kandungan lipid dan trigliseridanya masing-masing meningkat dari 31.0 % menjadi 50.9 % (db) dan 26.0% menjadi 47.6 % (db) dibanding dengan kultur yang ditumbuhkan pada medium NORO dengan konsentrasi awal nitrat 9.9 mM (Takagi et al., 2000).

Kandungan dan komposisi lipid intrasel dari mikroalga dilaporkan berubah terhadap perubahan kadar garam dari lingkungannya. Meningkatnya konsentrasi NaCl dari 0.4 M menjadi 4 M meningkatkan asam lemak jenuh dari sel *Dunaliella* yang diisolasi dari danau Antartik hypersaline (Xu dan Berdall, 1997), sementara kandungan PUFANYA menurun. Komposisi lipida polar dari *Dunaliella salina* Teodoresco dipengaruhi secara nyata dengan berubahnya konsentrasi NaCl, persentase lemak jenuhnya menaik searah dengan meningkatnya NaCl sementara persentase dari lemak tidak jenuhnya menurun (Peeler et al., 1989). Meningkatnya kadar salin menurunkan produksi EPA dan meningkatkan asam arakhidonat (AA) pada sel *Porphyridium cruentum* (Saston, 1997).

Spesies *Dunaliella tertiolecta* dikenal sebagai salah satu mikroalga yang mengandung sejumlah besar lipid dan termasuk ke dalam golongan mikroalga yang toleran terhadap kadar garam tinggi (halotolerant). Karakteristik spesies *Dunaliella tertiolecta* tersebut menjadi obyek dalam penelitian ini untuk dijadikan sebagai model sel mikroalga dalam memproduksi lipid intrasel sebagai respon terhadap salinitas medium atau lingkungannya.

BAHAN DAN METODE

Strain mikroalga dan media

Dunaliella tertiolecta ATCC 30929 sebagai salah satu strain marine microalgae digunakan dalam penelitian ini dan ditumbuhkan dalam media NORO yang dimodifikasi dengan komposisi (per liter) : NaCl 29.22 g; KNO₃ 1.0 g (9.9 mM); MgCl₂.H₂O 1.5 g; MgSO₄.7H₂O 0.5 g; KCl 0.2 g; CaCl₂ 0.2 g; K₂HPO₄ 0.045 g; tris (hydroxymethyl) aminomethane 2.45 g; EDTA.2Na 1.89 mg; ZnSO₄.7H₂O 0.087 mg; H₃BO₃, 0.61 mg; CoCl₂.6H₂O 0.015 mg; CuSO₄.5H₂O 0.06 mg; MnCl₂ 0.23 mg; (NH₄)₆Mo₂O₂₄.4H₂O 0.38 mg; Fe(III).EDTA 3.64 mg. Sebagai sumber C digunakan udara yang diperkaya dengan CO₂ 3% (*CO₂ enrich air*)

¹ Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian UNSOED Kampus Karangwangkal Purwokerto

² International Center for Biotechnology Osaka University, 2-1 Yamada-oka, Suita-Shi Osaka, Japan

Kultivasi

Sebanyak 20 ml medium NORO termodifikasi dalam Erlenmeyer 100 ml diinokulasi dengan sel yang volumenya diperhitungkan sehingga OD₆₈₀ awalnya sebesar 0.05, kemudian diinkubasikan pada suhu 28 °C selama 6 hari dengan *reciprocal shaker*. Intensitas sinar di permukaan Erlenmeyer diatur sebesar 65 mol.s⁻¹.m⁻². (5000 lux) menggunakan lampu fluorescent. Setelah 6 hari kultur dari Erlenmeyer 100 ml ditransfer ke media yang sama dalam botol Roux dengan volume 500 ml dan banyaknya volume kultur yang diinokulasikan diatur sehingga nilai OD₆₈₀ awalnya sebesar 0.05. Selama kultivasi, suhu, intensitas sinar dan aerasi diatur masing-masing sebesar 30 °C, 150 mol.s⁻¹.m⁻².(10.000) dan 250 ml/min udara yang diperkaya CO₂ (3% CO₂). Larutan NaCl (0.5 M; 1.0 M; dan 2.0 M) ditambahkan pada fase logaritmik, akhir fase logaritmik dan fase stasioner selama pertumbuhan sel.

Penentuan konsentrasi sel dan konsentrasi nitrat.

Konsentrasi sel ditentukan dengan mengukur OD₆₈₀ dan mengkonversikannya ke dalam berat kering sel menggunakan koefisien 0.01. Konsentrasi nitrat diukur dengan cara melarutkan supernatan kultur menggunakan medium tanpa KNO₃ dan dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 221.4 dan 232.0 nm. Konsentrasi nitrat dalam medium dihitung dari selisih nilai pada panjang gelombang 221.4 dan 232.0 nm menggunakan persamaan kurva standar (Yamaberi et al., 1998).

Pengukuran Osmolaritas

Osmolaritas dari medium ditentukan dengan mengukur supernatan dari kultur menggunakan osmometer (model OM-801, Vogel, Jerman)

Penentuan kandungan lipid intrasel

Sampel kultur yang mengandung sel sekitar 30 mg disentrifus dan presipitat yang dihasilkan dicuci dengan NaCl 1%. Selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan metanol-kloroform-NaCl 1% dengan perbandingan 2:2:1. Lapisan kloroform yang terdapat di bagian bawah diambil semua dan dengan cara yang sama ekstraksi diulang sebanyak tiga kali. Lapisan kloroform yang bercampur dengan lipid selanjutnya dievaporasi dan dikeringkan dalam desikator sampai diperoleh berat konstan.

HASIL

Pengaruh konsentrasi awal NaCl terhadap pertumbuhan sel

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi awal NaCl terhadap pertumbuhan sel *Dunaliella tertiolecta* ATCC 30929 dilakukan kultivasi sel dalam tabung reaksi dengan beberapa konsentrasi awal NaCl (0 M - 2.0 M). Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi sel (g/l) menurun cukup tajam dengan meningkatnya konsentrasi NaCl dari 1.0 M sampai 2.0 M, sementara hanya terjadi penurunan sel yang sedikit pada konsentrasi NaCl kurang dari 1.0 M (Gambar 1.). Berdasarkan hasil ini untuk mendapat konsentrasi sel yang tinggi sebaiknya konsentrasi awal NaCl dalam medium kurang dari atau sama dengan 1.0 M

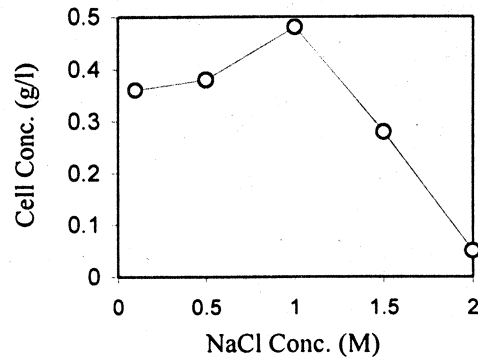


Fig1. Effect of initial NaCl concentration on cell growth of *Dunaliella tertiolecta* ATCC 30929

Pengaruh konsentrasi awal NaCl terhadap akumulasi lipid intrasel

Untuk mengkonfirmasi pengaruh konsentrasi awal NaCl terhadap akumulasi lipid intrasel, dilakukan kultivasi sel menggunakan botol Roux dengan dua konsentrasi awal NaCl yaitu 0.5 dan 1.0 M. Selama kultivasi dilakukan sampling untuk mengetahui pertumbuhan sel serta penggunaan nitrat sebagai sumber nitrogen. Pertumbuhan sel pada kedua konsentrasi awal NaCl tersebut hampir tidak menunjukkan perbedaan (Gambar 2).

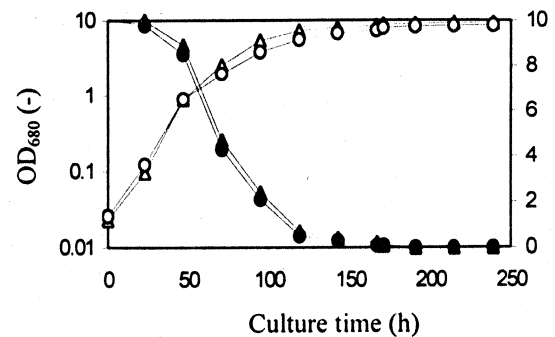


Fig 2. Cell growth during cultivation in Roux bottle with initial NaCl concentration of 0.5 M (O) or 1.0 M (Δ). OD₆₈₀ (open symbols) and nitrate concentration (closed symbols) were measured. Average of duplicate cultures was shown

Sel yang ditumbuhkan pada medium dengan konsentrasi awal NaCl 1.0 M mengandung lipid intraseluler (67% (db)) lebih tinggi dari sel yang ditumbuhkan pada medium dengan konsentrasi awal NaCl 0.5 M (60% (db)), disajikan dalam Tabel 1.

Table 1. Effect of initial NaCl concentration on intracellular lipid contents (240 hours incubation)

Initial NaCl (M)	Osmolarity (Osm/kg)	Cell (g/l)	Lipid (% (db))
0.5	1.10 ± 0.05	1.00 ± 0.10	60.6 ± 0.5
1.0	1.87 ± 0.15	1.03 ± 0.05	67.8 ± 0.7

The intracellular content lipid of cells harvested at the end of Roux bottle cultivation's with initial NaCl concentrations of 0.5 and 1.0 M shown in figure 1 was determined. The average of duplicate cultures and deviation were shown.

Pengaruh penambahan NaCl selama pertumbuhan sel terhadap akumulasi lipid intrasel

Untuk mengkaji pengaruh penambahan NaCl terhadap pertumbuhan sel dan akumulasi lipid intrasel, dilakukan perlakuan penambahan NaCl selama pertumbuhan sel dengan konsentrasi awal NaCl sebesar 1.0 M. Konsentrasi dan waktu penambahan NaCl ke dalam medium adalah (1) 1.0 M NaCl pada akhir fase logaritmik (2) 0.5 M NaCl pada pertengahan fase logaritmik dan akhir fase logaritmik. Kandungan lipid intrasel diukur pada akhir kultivasi (240 jam).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan pada pola pertumbuhan sel (OD_{680}) dan konsentrasi nitrat yang digunakan dari kedua perlakuan tersebut, hanya terjadi sedikit penurunan pada kultur yang ditambah dengan NaCl 1.0 M pada akhir fase logaritmik (Gambar 3).

Volume akhir dari kultur yang ditambah dengan NaCl lebih tinggi dibanding yang tanpa penambahan NaCl. Hasil analisis menunjukkan bahwa kandungan lipid intrasel pada kultur yang mendapat penambahan NaCl meningkat 7-9 % (70.6 - 71.4% db) dibanding kultur yang tanpa penambahan NaCl (63.5% (db)). Data tersebut menunjukkan bahwa penambahan NaCl (0.5 atau 1.0 M) selama pertumbuhan dengan konsentrasi awal NaCl 1.0 M menunjukkan peningkatan kandungan akumulasi lipid tanpa menurunkan konsentrasi sel (Tabel 2)

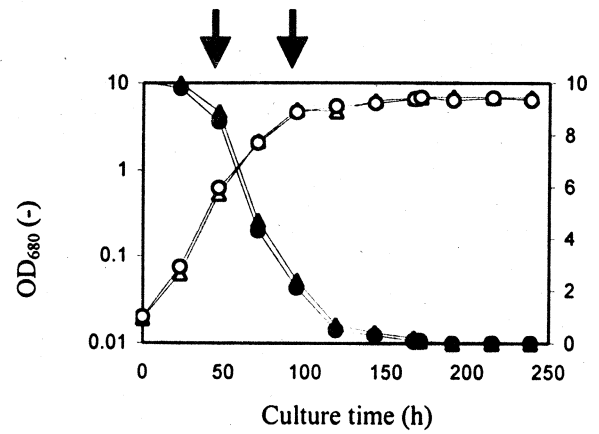


Fig 3. Addition of NaCl during the culture with initial NaCl concentration of 1.0 M. During cultivation in Roux bottle, NaCl was added at both of mid-log phase and the of log phase (O, 0.5 M) or the end of log phase (Δ , 1.0). The addition times are indicating by arrows. OD_{680} (open symbols) and nitrate concentration (closed symbols) were measured. Average of duplicate cultures was shown

Table 2. Effect of NaCl addition on the contents of lipid (240 hours)

Culture	NaCl addition		Cell (mg/ml)	Vol. (ml)	bio-mass (mg)	Lipid (% (db))
	Amount (M)	phase				
1	-	-	0.92 ± 0.02	360	331	63.5 ± 1.0
2	1.0	End of log	0.68 ± 0.04	400	272	70.6 ± 3.9
3	0.5	Middle of log	0.76 ± 0.06	390	296	71.4 ± 2.3
		and end log				

Several amounts of NaCl was added at several culture phase during the culture with initial NaCl concentration of 1.0 M as shown in Figs. 2 and 3. The intracellular contents of lipid of cells harvested at the end of each culture were determined. The average of duplicate cultures and deviation were shown.

Untuk memahami pengaruh penambahan jumlah NaCl yang lebih tinggi dari 1.0 M terhadap pertumbuhan sel dan akumulasi lipid intrasel, 1.0 M atau 2.0 M NaCl ditambahkan selama pertumbuhan sel dengan konsentrasi awal NaCl dalam medium adalah 1.0 M. Penambahan tersebut adalah 2.0 M NaCl pada akhir fase logaritmik atau dua kali penambahan NaCl 1.0 M yaitu pada akhir fase logaritmik dan fase stasioner (Gambar 4).

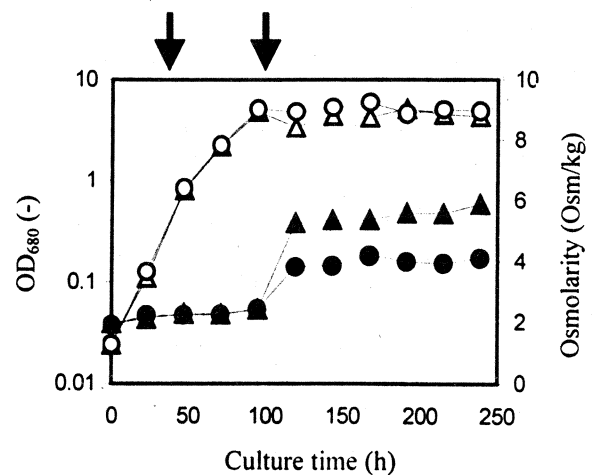


Fig 4. Addition of 2.0 M NaCl in the culture with initial NaCl concentration of 1.0 M. During cultivation in Roux bottle with initial NaCl concentration of 1.0 M, NaCl was added at the end of log phase (Δ , 2.0 M) or at both of the end of log phase and stationary phase (O, 1.0 M for each times). The addition times are indicated by arrows. OD_{680} (open symbols) and osmolarity of medium (closed symbols) were measured. Average of duplicate culture was shown.

Osmolaritas medium menunjukkan perubahan searah dengan penambahan NaCl. Semakin besar penambahan NaCl ke dalam medium semakin besar pula nilai

osmolaritasnya (Gambar 4). Penambahan 1.0 M NaCl pada akhir fase logaritmik dengan konsentrasi awal NaCl 1.0 M meningkatkan kandungan lipid sel dari 63% menjadi 72% (db), namun terjadi sedikit penurunan konsentrasi akhir dari sel (g/l) dan masa sel (g). Kandungan lipid pada sel yang ditambah dengan 2.0 M NaCl pada akhir fase logaritmik paling tinggi (77% (db)) dibanding kultur yang ditambah dengan 1.0 M NaCl pada fase yang sama namun konsentrasi sel (g/l) maupun biomasa (g) pada tahap akhir paling rendah (Tabel 3).

Table 3. Effect of NaCl addition on the contents of lipid (240 hours)

Culture	NaCl addition		Cell (mg/ml)	Vol. (ml)	bio-mass (mg)	Lipid (% (db))
	Amount (M)	phase				
1	-	-	0.92 ± 0.02	360	331	63.5 ± 1.0
2	2.0	end of log	0.45 ± 0.03	580	260	77.7 ± 3.3
3	1.0	end of log and stationer	0.51 ± 0.03	440	224	72.0 ± 0.7

Several amounts of NaCl (1.0 or 2.0 M) was added at several culture phase (end and stationer phase) during the culture with initial NaCl concentration of 1.0 M as shown in Fig. 4. The intracellular contents of lipid of cells harvested at the end of each culture were determined. The average of duplicate cultures and deviation were shown.

PEMBAHASAN

Meningkatnya konsentrasi awal NaCl dari 0.5 M (setara dengan konsentrasi NaCl air laut) menjadi 1.0 M tidak menurunkan konsentrasi sel tetapi sebaliknya meningkatkan konsentrasi sel. Hal ini kemungkinan karena sifat halotoleran (toleran terhadap kadar garam) dari sel *Dunaliella* (Peeler et al, 1989; Borowitzka et al., 1977). Namun demikian konsentrasi awal NaCl lebih dari 1.0 M menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan sel. Berdasar hal tersebut, konsentrasi awal NaCl kurang atau sama dengan 1.0 M merupakan konsentrasi yang sesuai untuk mendapatkan konsentrasi sel yang tinggi.

Meskipun sel yang ditumbuhkan dengan konsentrasi awal NaCl 0.5 M dan 1.0 M menunjukkan pola yang sama pada pertumbuhan sel dan penggunaan nitrat, akumulasi lipid intrasel pada sel dengan konsentrasi awal NaCl 1.0 M lebih tinggi (67% (db)) dibanding sel yang ditumbuhkan pada medium dengan konsentrasi awal NaCl 0.5 M (60% (db)) seperti terlihat di Tabel 1. Alasan meningkatnya kandungan lipid intrasel dimungkinkan bukan karena terbatasnya sumber nitrat tetapi lebih dominan karena tingginya konsentrasi NaCl dalam medium. Namun demikian konsentrasi awal NaCl yang terus meningkat bukan merupakan strategi yang baik karena meningkatnya konsentrasi awal NaCl menunjukkan efek penurunan terhadap konsentrasi akhir sel berdasarkan pada Gambar 1.

Penambahan 0.5 dan 1.0 M NaCl pada fase pertengahan logaritmik atau pada akhir fase logaritmik selama pertumbuhan sel dengan konsentrasi awal NaCl 1.0

M memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan akumulasi lipid intrasel (Tabel 2). Meningkatnya konsentrasi awal NaCl dari 1.0 M menjadi 1.5 M dan 2.0 M menyebabkan penurunan konsentrasi sel masing-masing 42% dan 86% (db) (Gambar 2). Namun demikian penurunan konsentrasi akhir sel dengan penambahan NaCl pada medium 0.5 dan 1.0 M hanya menurunkan konsentrasi akhir sel 6-10 % (db) dan 17% (db). Ketika NaCl ditambahkan kedalam medium, konsentrasi sel berkurang menjadi separuhnya pada akhir pertumbuhan. Namun demikian sel kemungkinan melakukan adaptasi terhadap konsentrasi NaCl yang tinggi secara bertahap sehingga pada akhirnya tetap tumbuh dan mampu memproduksi lipid intrasel meskipun mekanisme adaptasi tersebut belum jelas.

Penambahan NaCl yang lebih tinggi dari 1.0 M yaitu 2.0 M sekaligus pada akhir fase logaritmik atau dua kali secara terpisah (1.0 M) pada akhir fase logaritmik dan fase stasioner meningkatkan akumulasi lipid intrasel menjadi 72-77 % (db) meskipun konsentrasi akhir dari sel menurun. Tingginya akumulasi lipid intrasel ini diduga sebagai respon sel untuk dapat tetap tumbuh terhadap tingginya kadar garam dalam medium. Pola ini sejalan dengan produksi gliserol pada beberapa strain mikroalga sebagai bentuk penyeimbangan sel terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim terutama karena tingginya kadar garam. Konsentrasi gliserol intraseluler secara langsung berhubungan dengan konsentrasi eksternal dari kadar garam (Sadka et al., 1989).

Pengamatan secara mikroskopik menunjukkan bahwa ukuran dari sel berkurang setelah perlakuan penambahan NaCl pada medium (data tidak ditunjukkan). Rasio ukuran sel yang berubah menjadi kecil setelah penambahan NaCl 2.0 M menunjukkan data yang lebih besar dibanding rasio pada sel yang ditambah dengan NaCl 1.0 M. Ukuran sel akan mengalami perbaikan kembali (*cell recovery*) dalam waktu 48 jam setelah waktu penambahan NaCl. Perbaikan kembali dari ukuran sel terhadap perubahan potensial air sudah pernah dilaporkan (Galinski, 1995). Sel *Dunaliella* sp dilaporkan memiliki potensi untuk mengeluarkan gliserol dalam merespon kenaikan konsentrasi NaCl dari luar. Meningkatnya kandungan lipid intrasel, merupakan salah satu respon adaptif terhadap konsentrasi NaCl yang tinggi seperti halnya dalam memproduksi gliserol. Namun demikian mekanisme keduanya belum sepenuhnya jelas.

Dua model respon ketahanan sel terhadap osmolaritas yang tinggi untuk mempertahankan kesetimbangan osmotik (*equilibrium osmotic*) terhadap membrane sel dari mikroalga sudah pernah dilaporkan yaitu tipe garam-sitoplasma (*salt-in cytoplasm type*) dan tipe osmolit organik (*organic osmolite type*) (Galinski, 1995). Tingginya konsentrasi awal NaCl dalam medium dibanding dengan konsentarsi NaCl di air laut sangat efektif untuk meningkatkan akumulasi lipid intrasel (Tabel 1 dan 2).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah adanya penambahan NaCl 1.0 sampai 2.0 M terhadap sel *Dunaliella* yang ditumbuhkan dalam medium NORO dengan konsentrasi awal NaCl 1.0 M menghasilkan akumulasi lipid intraselular yang tinggi sampai lebih dari 70 % (db) sebagai bentuk respon sel terhadap tingginya kadar NaCl dalam medium atau lingkungannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Borowitzka L.J, Kessly DS, Brown AD (1977). The salt relation of *Dunaliella*. Further observation on glycerol production and its regulation. *Arch Microbiol.* 13; 113 (1-2): 131-8
- Borowitzka MA, 1988. Fats, oil and hydrocarbons. Borowitzka MA and Lesley J. Borowitzka, 1988 (ed.). *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press.
- Ching-Piao Liu and Liang Ping Lin, 2001. Ultrastructural study and lipid formation of *Isochrysis* sp. CCMP1324. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42:207-214
- Galinski E.A (1995). Osmoadaptation in bacteria. *Advances in Microbial Physiol.* 37:273-328
- Peeler, T.C., Stephenson, M.B., Einsphar, K.J and Thompson, G.A. Jr. (1989). Lipid characterization of enriched plasma membrane fraction of *Dunaliella salina* grown in media of varying salinity. *Plant Physiol.* 89:970-976
- Sadka A, Lers A, Zamir A, Avron M (1989). A critical examination of the role de novo protein synthesis in the osmotic adaptation of the halotolerant alga *Dunaliella*. *FEB* 1:93-98
- Sasson A (1997). Microbial biotechnology: recent developments and prospect for developing countries. *BIOTEC Publication.* 1/2542:31-42
- Takagi M, Watanabe K, Yamaberi K and Yoshida T (2000). Limited feeding of potassium nitrate for intracellular lipid and triglyceride accumulation of *Nanochloris* sp UTEX LB 1999. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 54:112-117
- Takagi M, Yamaberi K and Yoshida T (1998). Nitrogen depletion for intracellular triglyceride accumulation to enhance liquefaction yield of marine microalgal cells into a fuel oil. *J. Mar Biotechnol.* 6:44-48
- Xing-Qing Xu and Berdall J, 1997. Effect of salinity on fatty acid composition of a green microalgae from an Antarctic hypersaline lake. *Phytochemistry* 45 (4):655-658