

ẢNH HƯỞNG CỦA NGUỒN BỔ SUNG CACBON VÔ CƠ TỪ NaHCO_3 LÊN TĂNG TRƯỞNG CỦA TẢO *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher, 1959

Trần Văn Thu Hiền, Lê Thị Thanh Nhân, Lê Hữu Tuấn, Nguyễn Thứ,
Nguyễn Thị Tường Vy, Nguyễn Thị Thúy Hằng, Hồ Thị Thu Hoài*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: htthoai@hueuni.edu.vn

Nhận bài: 01/10/2024 Hoàn thành phản biện: 22/11/2024 Chấp nhận bài: 22/11/2024

TÓM TẮT

Cacbon là một trong những nguồn dinh dưỡng chính cần thiết mà vi tảo đòi hỏi cho sự phát triển trong nuôi sinh khối. Vì vậy, sự kết hợp điều chỉnh cường độ ánh sáng và bổ sung cacbon đóng vai trò rất quan trọng cho sự phát triển của tảo. Nghiên cứu này sử dụng NaHCO_3 như là nguồn cacbon vô cơ bổ sung vào môi trường F/2 để nuôi tảo *Tetraselmis suecica* (*T. suecica*). Ảnh hưởng của NaHCO_3 ở các nồng độ khác nhau (3 mM, 4 mM và 5 mM NaHCO_3) đến mật độ, tốc độ tăng trưởng, thời gian nhân đôi và kích thước tế bào của *T. suecica* đã được khảo sát. Sau 10 ngày nuôi cấy, tảo *T. suecica* khi được nuôi ở môi trường có bổ sung 3 mM NaHCO_3 cho mật độ cao nhất vào ngày nuôi thứ 8 đạt $287 \pm 38,91 \times 10^4$ (tb/mL), gấp 1,2 lần so với mật độ tảo được nuôi chỉ trong môi trường F/2. Ở nồng độ NaHCO_3 bổ sung này cho tốc độ tăng trưởng của tảo cao hơn đáng kể ($0,25 \pm 0,02$ tb/mL/ngày) và thời gian nhân đôi nhanh hơn (2,84 ngày) so với các nghiệm thức khác. Như vậy, bằng cách bổ sung NaHCO_3 vào môi trường nuôi cấy và điều chỉnh chế độ nuôi đã giúp cải thiện tăng trưởng của tảo *T. suecica*. Kết quả này mở ra tiềm năng trong việc sử dụng các nguồn carbon để tăng sản lượng tảo.

Từ khóa: Carbon, NaHCO_3 , Vi tảo, *Tetraselmis suecica*

EFFECT OF ADDITIONAL INORGANIC CARBON SUPPLY FROM NaHCO_3 ON THE GROWTH PERFORMANCE OF *Tetraselmis suecica* (Kylin)

Butcher, 1959

Tran Van Thu Hien, Le Thi Thanh Nhan, Le Huu Tuan, Nguyen Thu,
Nguyen Thi Tuong Vy, Nguyen Thi Thuy Hang, Ho Thi Thu Hoai*

University of Agriculture and Forestry, Hue University

*Corresponding author: htthoai@hueuni.edu.vn

Received: October 1, 2024 Revised: November 22, 2024 Accepted: November 22, 2024

ABSTRACT

Carbon is one of the primary nutrients that microalgae require for their growth. Hence, the combination of light intensities and carbon supply sources plays a crucial part in increasing algae biomass production. In this case, *T. suecica* was cultivated in F/2 medium adding NaHCO_3 as inorganic sources. The influences of NaHCO_3 in different concentrations (3 mM, 4 mM, and 5 mM NaHCO_3) on the density, growth rate, doubling time, and cell size of *T. suecica* were investigated. After 10 days of cultivation, *T. suecica* exhibited its maximum density in the F/2 medium supplemented with 3 mM NaHCO_3 , peaking on the 8th day at $287 \pm 38.91 \times 10^4$ (cell/mL), which was 1.2 times higher than in the F/2 medium. Moreover, the latter concentration of NaHCO_3 also showed significantly higher growth rate (0.25 ± 0.02 cell/mL/day) and faster doubling time (2.84 days) of *T. suecica*, respectively. By supplementing NaHCO_3 and modifying the growing conditions, cell density and growth rate of *T. suecica* improved. These findings suggest that adding carbon sources into culture medium might improve microalgae biomass yield.

Keywords: Carbon, NaHCO_3 , microalgae, *Tetraselmis suecica*

1. MỞ ĐẦU

Thực vật thủy sinh trong đó có tảo là mắt xích thức ăn đầu tiên trong chuỗi thức ăn ở thủy vực và là nguồn thức ăn tự nhiên không thể thiếu của ấu trùng nhiều loài động vật thủy sản như thân mềm, rotifer, cá và giáp xác (Marques và cs., 2011). Tảo lục *Tetraselmis* được chứng minh có giá trị dinh dưỡng cao với hàm lượng 31% protein, 17% lipid, 12,1% carbohydrate và acid béo cần thiết, chúng giúp tăng cường tỷ lệ sống và giảm trạng thái stress của tôm thẻ chân trắng (Brown, 1991; Khatoun và cs., 2018). Ví dụ, *Tetraselmis* được sử dụng nhiều trong sản xuất thức ăn tươi sống và được coi là nguồn dinh dưỡng thích hợp cho ấu trùng tôm, nhuyễn thể hai mảnh vỏ (D'Souza và cs., 1999; Patiño-Suárez và cs., 2004).

Tảo trong đó có *T. suecica* là thành phần quan trọng của hệ sinh thái biển vì chúng hấp thụ năng lượng ánh sáng mặt trời, nước và CO₂ để gia tăng sinh khối và giải phóng oxy ra môi trường xung quanh (Sarwer và cs., 2022). Carbon là một trong những nguồn dinh dưỡng chính cần thiết mà vi tảo đòi hỏi cho sự phát triển (Sudhakar và cs., 2011). Tảo sử dụng carbon dưới dạng CO₂ từ khí quyển. Nhờ vậy, thông qua quá trình quang hợp tảo góp phần làm giảm thiểu phát thải khí nhà kính qua đó giảm biến đổi khí hậu toàn cầu (Pokoo-Aikins và cs., 2015). Bổ sung carbon vào quá trình nuôi đã được chứng minh có hiệu quả trong tăng năng suất và chất lượng vi tảo (Josephine và cs., 2015; Plöhn và cs., 2022). Hơn nữa, tăng nồng độ CO₂ trong môi trường nuôi cấy tảo còn giúp gia tăng hàm lượng lipid tích lũy trong tảo (Singh và cs., 2014). Thử nghiệm trên tảo *Chaetoceros calcitrans* cho thấy trọng lượng khô và protein của tảo cao nhất ở tỉ lệ bổ sung 1% CO₂, trong khi ở tỉ lệ bổ sung 3% CO₂ cho thấy hàm lượng lipid cao nhất (Hiền và cs., 2020). Tảo hấp thụ carbon để tổng hợp tế

bào mới từ nhiều nguồn khác nhau: vô cơ như CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻ và hữu cơ như acetate, đường sacarose, glucose, fructose, galactose, pyruvat, fumarat, malat, ethanol và butyrat (Kim và cs., 1999; Ukeles và cs., 1976). Tảo có thể hấp thụ khí CO₂ trực tiếp hoặc hấp thụ HCO₃⁻ ngoại sinh để tạo CO₂ trong tế bào. Tuy nhiên sodium bicarbonate (NaHCO₃) là nguồn carbon vô cơ kinh tế hơn khí CO₂ vì tính sẵn có, chi phí thấp và tính hòa tan cao trong môi trường lỏng (Umetani và cs., 2021).

Tác động của NaHCO₃ lên tăng trưởng sinh khối và đặc tính chuyển hóa của từng loại tảo là khác nhau do nhu cầu và tỷ lệ sử dụng NaHCO₃ thay đổi giữa các loài (Sampathkumar và cs., 2019). Nghiên cứu của Tahiri và cs. cho thấy, nguồn carbon vô cơ từ NaHCO₃ được bổ sung trên tảo *Isochrysis galbana* giúp gia tăng đáng kể kích thước tế bào ở pha tĩnh (Tahiri và cs., 2023). Trong khi việc bổ sung NaHCO₃ lại có tác động đáng kể trong nâng cao sinh khối tích lũy astaxanthin ở tảo *Haematococcus pluvialis* (Bảo và cs., 2022). Đối với tảo *T. suecica* việc nghiên cứu ảnh hưởng của việc bổ sung nguồn carbon từ NaHCO₃ đến tăng trưởng và kích thước tế bào cho tới nay vẫn chưa được thử nghiệm tại Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục đích xác định hàm lượng NaHCO₃ bổ sung vào môi trường nuôi cấy tảo phù hợp giúp cải thiện sinh khối và tăng trưởng của vi tảo *T. suecica*.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và khách thể nghiên cứu

Nguồn giống tảo *T. suecica* được cung cấp từ công ty TNHH Khoa Kỹ sinh vật Thăng Long. NaHCO₃ 99,5% dạng bột mịn có xuất xứ từ công ty hóa chất Xilong - Trung Quốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Cách tiếp cận

Trên cơ sở kế thừa các nghiên cứu đã được công bố liên quan từ các tác giả trong nước (Hong và cs., 2013; Bảo và cs., 2022) và ngoài nước (White và cs. 2013; Tahiri và cs., 2023), bước đầu thực hiện thử nghiệm bổ sung NaHCO_3 vào môi trường F/2 (Guiliard, 1975) ở khoảng nồng độ từ 1mM đến 1M. Từ kết quả theo dõi và quan sát bằng mắt thường tiến hành bố trí thí nghiệm trên 3 khoảng nồng độ từ 3 - 5 mM NaHCO_3/L .

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành với đối chứng (ĐC) là môi trường F/2 không bổ sung NaHCO_3 và các nghiệm thức được bổ sung NaHCO_3 tại 3 ngưỡng nồng độ như sau:

NT1: môi trường F/2 có bổ sung 3 mM NaHCO_3/L .

NT2: môi trường F/2 có bổ sung 4 mM NaHCO_3/L .

NT3: môi trường F/2 có bổ sung 5 mM NaHCO_3/L .

Tảo *T. suecica* được nuôi trong 2L môi trường ở các bình nhựa có thể tích 5L với mật độ tảo ban đầu là 4×10^5 (tb/mL) và thời gian nuôi cấy 10 ngày. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, được thực hiện trong điều kiện đồng nhất có cường độ ánh sáng 3000 lux, chế độ chiếu sáng 24/24, nhiệt độ 26°C, độ mặn 25‰ và được bố trí hệ thống sục khí với tốc độ tương đồng.

2.2.3. Các chỉ tiêu thu thập số liệu

Xác định mật độ của tảo: Tiến hành thu mẫu tảo hằng ngày. Buồng đếm Sedgwick Rafter được sử dụng để đếm mật độ tế bào (tb) dưới kính hiển vi có độ phóng đại 10X.

Xác định thay đổi hình dạng và kích thước tảo: Sử dụng kính hiển vi ở độ phóng

đại 40X để phân tích hình ảnh và gắn trục vi thị kính để đo kích thước tảo ở các nghiệm thức khi tảo đang bước vào pha tăng trưởng và cân bằng. Mỗi nghiệm thức tiến hành đo 32 tế bào.

Xác định biến động pH: dùng pipet vô trùng lấy 25mL dịch nuôi tảo ở mỗi nghiệm thức cho vào lọ thủy tinh dung tích 100mL, sử dụng bút đo pH mã số N124 để đo hằng ngày.

2.2.4. Các chỉ tiêu tính toán:

Mật độ tế bào tảo được tính theo công thức của LeGresley M. và cs. (2010): $C = (DF) * (NC) * 1000/S$

Trong đó: C là tb/mL; DF là hệ số pha loãng; NC là số tế bào đếm được; S là số ô vuông được đếm.

Xác định tốc độ tăng trưởng tế bào μ (tb/mL/ngày): được tính theo công thức (Levasseur M. và cs., 1993): $\mu = \text{Ln} (N_1/N_0)/(T_1-T_0)$

Trong đó: N_0 là mật độ tế bào tảo ban đầu; N_1 là mật độ tế bào tảo nuôi cấy ở pha tăng trưởng sau thời gian t; T_0 và T_1 lần lượt là thời gian bắt đầu 0 và thời gian khảo sát t (ngày).

Xác định thời gian tăng sinh gấp đôi DT (ngày) theo công thức: $DT = 0,6931/\mu$

2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý và phân tích qua ứng dụng Microsoft Excel 2013. Giá trị trung bình được phân tích ANOVA một nhân tố, so sánh sự khác nhau giữa các cặp nghiệm thức trên phép thử Turkey, thực hiện trên phần mềm SPSS 20.0.

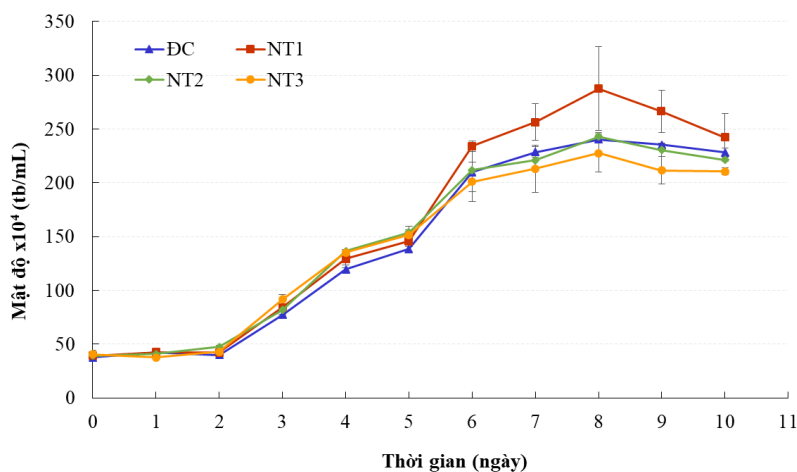
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tăng trưởng của tảo *T. suecica* ở các nồng độ NaHCO_3 khác nhau

Tính hiệu quả của môi trường nuôi vi tảo được xác định bởi sự gia tăng mật độ tế bào qua các ngày nuôi cấy (Hawrot-Paw và cs., 2024). Vì vậy, mật độ, năng suất của tảo dựa trên tốc độ tăng trưởng là một trong những các thông số quan trọng phải được kiểm tra. Tảo *T. suecica* được nuôi trong ĐC là môi trường F/2 và bổ sung NaHCO_3 vào môi trường nuôi với 3 nồng độ khác nhau gồm 3 mM, 4 mM và 5 mM NaHCO_3 . Đường cong tăng trưởng của tảo *T. suecica* ở các nồng độ NaHCO_3 được thể hiện qua hình 1.

Có thể thấy, các nồng độ NaHCO_3 bổ sung khác nhau có tác dụng khác nhau đến sự phát triển của tảo *T. suecica*. Ở NT1 có bổ sung 3 mM NaHCO_3 , quần thể tảo *T. suecica* có tốc độ tăng trưởng mạnh, mật độ từ ngày nuôi thứ 3 đến ngày 9 cao hơn so với ĐC, đạt mật độ tế bào cực đại vào ngày

nuôi thứ 8 với mật độ trung bình đạt $287 \pm 38,91 \times 10^4$ (tb/mL). Ở ĐC không bổ sung NaHCO_3 , quần thể tảo *T. suecica* cũng đạt mật độ tế bào cực đại vào ngày nuôi thứ 8 nhưng thấp hơn, đạt $240 \pm 1,06 \times 10^4$ (tb/mL). Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác nhau rõ rệt giữa giá trị mật độ tế bào của ĐC và NT1 từ ngày nuôi thứ 6 đến ngày nuôi thứ 9 ($p < 0,05$). Đối với nghiệm thức được bổ sung 4 mM (NT2) và 5 mM NaHCO_3 (NT3) tảo đạt mật độ cao so với ĐC từ ngày nuôi thứ 3 đến ngày nuôi thứ 5. Tuy nhiên, 2 nghiệm thức này không đạt được mật độ cực đại so với ĐC. Ở NT2 có mật độ cực đại tương đương với ĐC, ngoại trừ ngày 2, 4 và 5 mật độ tế bào của ĐC và NT2 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,005$), các ngày còn lại không thể hiện sự khác biệt giữa 2 nghiệm thức ($p > 0,005$). Đối với NT3, mật độ tảo cực đại thậm chí thấp hơn so với ĐC và sự khác biệt mật độ có ý nghĩa thống kê ở các ngày nuôi 1, 3, 4, 5, 9 và 10 ($p < 0,005$).



Hình 1. Đường cong tăng trưởng của tảo *Tetraselmis suecica* ở các nghiệm thức: không bổ sung NaHCO_3 (ĐC), bổ sung NaHCO_3 lần lượt ở các nồng độ 3 (NT1), 4 (NT2) và 5 (NT3) mM NaHCO_3/L

Như vậy, kết quả cho thấy bổ sung NaHCO_3 ở một nồng độ nhất định giúp mật độ tế bào cao hơn trong thời gian đầu thông qua gia tăng tốc độ phân chia tế bào và tốc

độ tăng trưởng của tảo so với không bổ sung NaHCO_3 . Các công bố trước đây đã chỉ ra rằng nồng độ HCO_3^- cao thúc đẩy quá trình quang hợp và cố định CO_2 của tế bào (Guo

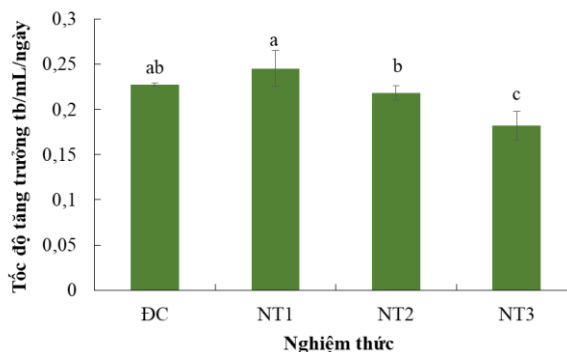
và cs., 2019). Với nguồn cung cấp vừa đủ lượng HCO_3^- , quá trình tạo ra glyceraldehyde-3-phosphate được thúc đẩy trong chu trình Calvin và có lợi cho tích lũy carbohydrate. Vì thế, góp phần thúc đẩy gia tăng mật độ tảo khi được bổ sung NaHCO_3 . Kết quả trên cũng phù hợp với những nghiên cứu ở nhiều loài tảo khác, tuy nhiên hiệu quả ở các nồng độ bổ sung khác nhau, như ở tảo *Chaetoceros subtilis* nồng độ NaHCO_3 bổ sung hiệu quả nhất tương ứng ở nồng độ 2 M và 4 M (Hồng và cs., 2013). Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy việc bổ sung nồng độ 3 mM NaHCO_3 làm tăng đáng kể mật độ tảo so với ĐC, trong khi White và cs. (2013) cho thấy với nồng độ NaHCO_3 bổ sung hơn 12 mM mật độ tảo *T. suecica* gia tăng so với điều kiện nuôi cấy không bổ sung NaHCO_3 . Sở dĩ có sự khác biệt về nồng độ NaHCO_3 bổ sung cho tảo *T. suecica* giữa các nghiên cứu có thể do nghiên cứu của White được thực hiện với cường độ ánh sáng cao lên đến 4348 lux nhưng trong thí nghiệm này chỉ được thực hiện trong điều kiện ánh sáng chỉ 3000 lux. Khác biệt về các điều kiện môi trường nuôi đặc biệt là cường độ ánh sáng cung cấp dẫn tới nhu cầu và khả năng hấp thụ cacbon của trong cùng một loài tảo cũng khác biệt (Carvalho và cs., 2005; Rashid và cs., 2014).

Ở mức cao hơn nồng độ 3 mM NaHCO_3 phát triển của tảo bị kìm hãm. Rõ ràng ở mức nồng độ bổ sung 4 mM và 5 mM NaHCO_3 chỉ có hiệu quả gia tăng mật độ trong khoảng 5 ngày đầu của quá trình nuôi, hơn nữa không thực sự đạt hiệu quả về mật

độ cực đại so với ĐC. Theo nghiên cứu của White (2013) và Li (2018), ở nồng độ bổ sung NaHCO_3 cao hơn lại hạn chế tốc độ tăng trưởng của một số loài tảo. Có thể ở 2 ngưỡng nồng độ 4 mM và 5 mM NaHCO_3 , lượng HCO_3^- đã vượt quá so với nhu cầu của *T. suecica*. Sự dư thừa này hạn chế quá trình hấp thụ của tảo và phản ánh cơ chế ức chế tế bào. Sự ức chế đặc hiệu trong phân chia tế bào tảo để chống chịu với sự gia tăng nguồn cacbon vô cơ hoặc độ kiềm của môi trường, điều này càng trở nên nghiêm trọng khi bổ sung HCO_3^- (White và cs., 2013). Tuy vậy, cơ chế này vẫn chưa được tìm hiểu rõ và cần được thực hiện ở các nghiên cứu sau.

3.2. Tốc độ tăng trưởng và thời gian tăng trưởng gấp đôi của tế bào tảo *T. suecica*

Nếu năng suất của tảo được biểu thị bằng đường cong sinh trưởng thì tốc độ sinh trưởng biểu thị sự gia tăng sinh khối của tảo trong một khoảng thời gian nhất định. Tốc độ tăng trưởng trong giai đoạn hàm mũ là một chỉ tiêu quan trọng để thể hiện mức độ thích nghi của tảo với các điều kiện môi trường thí nghiệm. Trong 3 nồng độ bổ sung NaHCO_3 được khảo sát, ở NT1 được bổ sung 3 mM NaHCO_3 tốc độ tăng trưởng *T. suecica* đạt cao nhất, đạt $0,25 \pm 0,02$ tb/mL/ngày so với các NT2 và NT3 với tốc độ tăng trưởng trung bình đạt lần lượt là $0,22 \pm 0,01$ tb/mL/ngày và $0,18 \pm 0,02$ tb/mL/ngày. Trong khi tốc độ tăng trưởng của NT1 cao hơn so với ĐC thì tốc độ tăng trưởng của NT2 và NT3 lại thấp hơn so với ĐC (Hình 2).



Hình 2. Tốc độ tăng trưởng từ ngày 3 đến ngày 8 của tảo *Tetraselmis suecica* ở các ở các nghiệm thức: không bổ sung NaHCO_3 (ĐC), bổ sung NaHCO_3 lần lượt ở các nồng độ 3 (NT1), 4 (NT2) và 5 (NT3) mM NaHCO_3/L . Các chữ cái a, b, c trên các cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức.

Trong khi tốc độ tăng trưởng đặc trưng tỉ lệ thuận với sự tăng trưởng mật độ của tảo thì ngược lại thời gian tăng trưởng mật độ gấp đôi giữa các nghiệm thức tỉ lệ nghịch với tốc độ tăng trưởng. So sánh giữa các nghiệm thức cho thấy NT1 có thời gian

gia tăng mật độ gấp đôi ngắn nhất (đạt 2,84 ngày) và ngắn hơn so với NT2 và NT3. Ở NT3 thời gian tảo gia tăng mật độ gấp đôi lâu nhất với thời gian đạt 3,82 ngày (Bảng 1).

Bảng 1. Thời gian tăng sinh mật độ gấp đôi giữa các nghiệm thức

Nghiệm thức	Thời gian tăng trưởng mật độ gấp đôi (ngày)
Đối chứng (ĐC)	3,05 \pm 0,03 ^{ab}
Nghiệm thức 1 (NT1)	2,84 \pm 0,23 ^a
Nghiệm thức 2 (NT2)	3,18 \pm 0,12 ^b
Nghiệm thức 3 (NT3)	3,82 \pm 0,32 ^c

Giá trị thể hiện trên bảng là trị số trung bình \pm độ lệch chuẩn. Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả này rất quan trọng thể hiện hiệu quả trong việc cải thiện mật độ tảo trong nuôi cấy ở nồng độ bổ sung 3 mM NaHCO_3 .

3.3. Ảnh hưởng của NaHCO_3 lên hình thái của tảo *T. suecica*

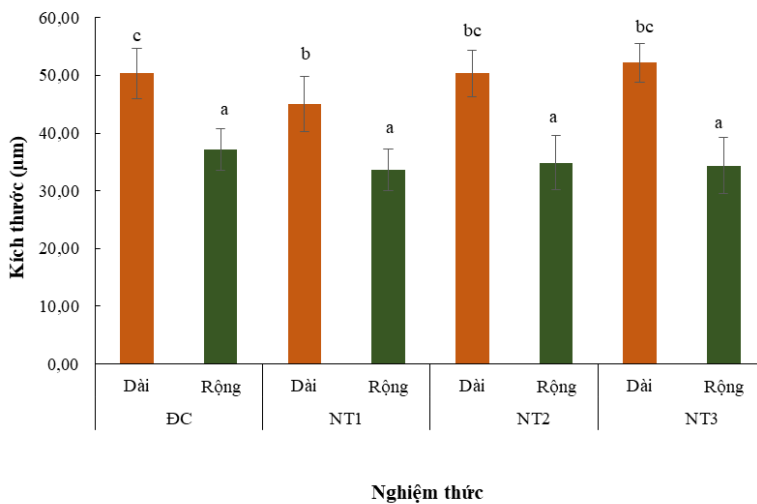
Tảo có xu hướng thay đổi kích thước và tích lũy các chất khác nhau khi điều kiện môi trường thay đổi. Theo dõi hình thái tế bào tảo có thể giúp đánh giá nhanh hàm lượng của các phân tử chống oxy hóa/chống viêm trong tế bào (Tabarзад và cs., 2020; Ávila-Román và cs., 2021). Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng các điều kiện nuôi cấy khác nhau có ảnh hưởng đến thành phần sinh hóa của tảo, điều này có thể liên quan đến các

thay đổi về hình thái và kích thước tế bào (Azaman và cs., 2017; Baldisserotto và cs., 2023; Shibzukhova và cs., 2023). Trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện so sánh kích thước, hình thái của tế bào ở các mức bổ sung NaHCO_3 khác nhau ở ngày nuôi thứ 6,7 trước khi tế bào đạt mật độ cực đại. Dữ liệu này cho phép phân tích tác động của việc bổ sung NaHCO_3 trên tế bào một cách hoàn chỉnh. Kết quả cho thấy, mặc dầu sự biến động về chiều rộng giữa các nghiệm thức không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$) nhưng kích thước chiều dài tảo trung bình có xu hướng ngắn hơn ở NT1 với kích cỡ trung bình đạt $45,00 \pm 4,75 \mu\text{m}$ so với ĐC và các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$).

Trong khi đó, ở NT3 tảo có khuynh hướng phát triển chiều dài với chiều dài đo được đạt $52,19 \pm 3,5 \mu\text{m}$. Ở nghiệm thức ĐC và NT2 kích thước tảo đo được có giá trị trung bình tương đương nhau lần lượt đạt $50,31 \pm 4,39 \mu\text{m}$ và $50,31 \pm 4,00 \mu\text{m}$ (Hình 3).

Sự thay đổi các yếu tố dinh dưỡng như N và P tác động đến kích cỡ tế bào đã được báo cáo (Shibzukhova và cs., 2023). Nghiên cứu của Li Jingya (2018) cho thấy ở nồng độ 160 mM NaHCO₃ không những làm thay đổi trạng thái của tảo *Chlorella vulgaris* từ đơn bào sang tập đoàn mà còn gia tăng kích thước của tế bào so với bổ sung NaCl. Bổ sung NaHCO₃ cũng được báo cáo làm thay đổi và gia tăng kích thước đáng kể của tảo *Isochrysis galbana* ở pha tĩnh (Tahiri và cs., 2023). Tuy kết quả nghiên cứu của chúng tôi thể hiện ở Hình 3 cho thấy không có sự khác biệt rõ về mặt

thống kê giữa các nghiệm thức ĐC, NT2 và NT3 nhưng ở NT1 cho thấy bổ sung 3 mM NaHCO₃ có xu hướng làm giảm chiều dài tế bào tảo so với ĐC. Trong khi ở nghiệm thức được bổ sung 4 mM và 5 mM NaHCO₃ tảo lại có xu hướng tăng trưởng chiều dài nhiều hơn so với bổ sung 3 mM NaHCO₃. Hơn nữa dựa trên kết quả tăng trưởng cho thấy, ở nồng độ bổ sung 3 mM NaHCO₃ mật độ tảo đạt cao nhất nhưng chiều dài trung bình tế bào đo được có xu hướng nhỏ. Có thể sự gia tăng mật độ tảo ở nghiệm thức này dẫn đến sự cạnh tranh và tăng nhu cầu sử dụng các chất dinh dưỡng của tảo trong môi trường nuôi cấy, đặc biệt là nhu cầu sử dụng Ni tơ. Kết quả là môi trường nuôi cấy nhanh chóng cạn kiệt nguồn dinh dưỡng Ni tơ. Khi hàm lượng Ni tơ trong môi trường nuôi cấy bị suy giảm thì kích thước tế bào có xu hướng giảm (Dixit và cs., 2019).



Hình 3. Biến động kích thước (chiều dài và chiều rộng) của *Tetraselmis suecica* ở các nghiệm thức: không bổ sung NaHCO₃ (ĐC), bổ sung NaHCO₃ lần lượt ở các nồng độ 3 (NT1), 4 (NT2) và 5 (NT3) mM NaHCO₃/L. Các chữ cái trên các cột khác nhau biểu thị các nghiệm thức khác nhau có ý nghĩa thống kê.

3.4. Biến động pH trong quá trình nuôi

Khi bổ sung NaHCO₃, chất này sẽ dễ dàng hòa tan vào nước và kết hợp với ion H⁺ trong nước tạo ra CO₂ theo phản ứng

thuận nghịch sau: $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (Kim và cs., 1999). Như trên đã đề cập, nồng độ HCO₃⁻ cao giúp thúc đẩy quá trình quang hợp và cố định CO₂ của tế

bào do đó làm tăng pH trong môi trường nuôi cấy và gia tăng sinh khối vi tảo (Kim và cs. 1999; Lavens và cs., 1996). Thực vậy, kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy ở môi trường có bổ sung NaHCO_3 luôn có pH cao hơn so với ĐC không bổ sung NaHCO_3 và mật độ tảo ở nồng độ bổ sung 3 mM cũng được cải thiện đáng kể so với đối chứng. Tuy nhiên, điều này chỉ hợp lý với NT1. Đối với NT2 và NT2, có thể lượng Na (có trong NaHCO_3) cao kết hợp với tăng pH làm

ngừng kích hoạt một số enzyme trong tảo nên ức chế tế bào phát triển, kết quả là giảm sự phát triển của tảo (Kim và cs., 2019). Hơn nữa, pH trong môi trường tăng dần theo thời gian nuôi (Phuong và cs., 2018). Xu hướng này cũng tương tự các kết quả đã công bố trước đây ở tảo *T. suecica*, pH của môi trường nuôi cấy khi bổ sung 12 mM và 24 mM NaHCO_3 luôn cao hơn đối chứng (White và cs., 2013).

Bảng 2. Biến động pH của các nồng độ bổ sung NaHCO_3 khác nhau

Ngày	Đối chứng	Nghiệm thức (NT)		
		NT1	NT2	NT3
0	7,57 ^a ± 0,12	7,91 ^b ± 0,15	8,02 ^b ± 0,12	8,13 ^b ± 0,12
1	7,69 ^a ± 0,09	8,35 ^b ± 0,13	8,41 ^b ± 0,14	8,47 ^b ± 0,17
2	7,73 ^a ± 0,09	9,30 ^c ± 0,13	9,08 ^c ± 0,15	8,41 ^b ± 0,17
3	7,86 ^a ± 0,14	8,42 ^b ± 0,14	8,33 ^b ± 0,17	8,24 ^{ab} ± 0,20
4	7,72 ^a ± 0,10	8,51 ^b ± 0,21	8,59 ^b ± 0,16	8,39 ^b ± 0,13
5	8,63 ^a ± 0,10	9,35 ^b ± 0,20	9,43 ^b ± 0,16	8,78 ^a ± 0,14
6	8,69 ^{ab} ± 0,23	9,15 ^{bc} ± 0,17	9,44 ^c ± 0,17	8,56 ^a ± 0,19
7	8,81 ^a ± 0,17	9,31 ^b ± 0,17	9,8 ^c ± 0,16	9,43 ^{bc} ± 0,15
8	8,68 ^a ± 0,16	8,99 ^a ± 0,15	9,00 ^a ± 0,17	8,72 ^a ± 0,13
9	9,11 ^b ± 0,18	9,22 ^b ± 0,18	8,23 ^a ± 0,17	9,22 ^b ± 0,17
10	8,15 ^a ± 0,09	9,55 ^c ± 0,14	8,63 ^b ± 0,17	9,56 ^c ± 0,16

Giá trị thể hiện là số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một hàng có cùng chữ cái biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Kết quả trên cho thấy tác dụng tích cực của việc bổ sung cacbon vô cơ bằng NaHCO_3 vào môi trường nuôi có ảnh hưởng tích cực đến sinh trưởng và phát triển của tảo *T. suecica*. Sau 8 ngày nuôi cấy, tảo phát triển tốt trong môi trường F/2 bổ sung 3 mM NaHCO_3 với mật độ cực đạt $287 \pm 38,91 \times 10^4$ (tb/mL), tốc độ tăng trưởng đạt $0,25 \pm 0,02$ tb/mL/ngày và thời gian gia tăng mật độ gấp đôi đạt nhanh nhất. Ở nồng độ bổ sung NaHCO_3 này tảo có kích cỡ trung bình chiều dài đạt $45,00 \pm 4,75$ và chiều rộng đạt $33,59 \pm 3,46 \mu\text{m}$. Dưới tác động của

NaHCO_3 , môi trường luôn có pH cao hơn môi trường không bổ sung NaHCO_3 .

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu này mới chỉ đề cập đến ảnh hưởng của NaHCO_3 đến tăng trưởng và kích thước của tảo *T. suecica*, các nghiên cứu về đặc tính sinh hóa và sự tích lũy dinh dưỡng trên tảo dưới tác động của NaHCO_3 vẫn chưa được tiến hành. Để có thể đánh giá đầy đủ hơn vai trò của NaHCO_3 đến tăng trưởng và phát triển của tảo, cần tiến hành những nghiên cứu ảnh hưởng của NaHCO_3 đến thành phần và hàm lượng lipid, protein, carbohydrate được tích lũy trên tảo *T. suecica*.

Kết quả trên mở ra tiềm năng trong việc sử dụng NaHCO_3 để tăng sản lượng tảo *T. suecica* vì thế cần tiếp tục thử nghiệm trên quy mô lớn hơn và tối ưu hóa điều kiện nuôi sinh khối tảo *T. suecica* để có thể sớm đưa vào thực tiễn sản xuất.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự hỗ trợ của của đề tài cấp trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, mã số DHNL2024-TS-SV-05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu Tiếng Việt

- Nguyễn Hồng Ngọc Bảo, Đỗ Thành Trí, Nguyễn Thành Công, Ong Bình Nguyên và Trần Hoàng Dũng. (2022). *Haematococcus pluvialis* trong hệ thống twin layer porous substrate photobioreactor phương nghiêng: Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau đến sự sinh trưởng và tích lũy astaxanthin. *Tạp chí Khoa học trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh*, 19(11), tr. 1818 – 1829.
- Huỳnh Thị Ngọc Hiền và Nguyễn Văn Hòa. (2020). Ảnh hưởng của hàm lượng CO_2 lên sự phát triển của tảo *Chaetoceros calcitrans*. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, tr. 90–93.
- Phạm Thị Hồng, Võ Hồng Trung và Lê Thị Trung. (2013). Ảnh hưởng của carbon và cường độ ánh sáng khác nhau lên sự sinh trưởng của vi tảo *Chaetoceros subtilis* var *abnormis* *proschkina-lavrenko*. *Tạp Chí Khoa học Đại học sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh*.
- Đặng Đình Kim và Đặng Hoàng Phước Hiền. (1999). *Công nghệ sinh học vi tảo (Giá trị trình cao học sinh học)*. Nhà xuất bản nông nghiệp Hà Nội.
- Đặng Đình Kim, Trần Văn Tựa, Nguyễn Tiến Cư, Đỗ Tuấn Anh, Đặng Thị Thơm, Hoàng Trung Kiên, Lê Thu Thủy, Vũ Thị Nguyệt, Mai Trọng Chính và Nguyễn Văn Vương. (2011). Nghiên cứu sử dụng CO_2 từ khí thải đốt than để nuôi vi tảo *Spirulina platensis*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 49(4), tr. 65-72.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Ávila-Román, J., García-Gil, S., Rodríguez-Luna, A., Motilva, V., & Talero, E. (2021). Anti-inflammatory and anticancer effects of microalgal carotenoids. *Marine Drugs*, 19(10), 531. pages 1-49.
- Azaman, S.N.A., Nagao, N., Yusoff, F.M., Wei, Tan S., & Yeap, S.K. (2017). A comparison of the morphological and biochemical characteristics of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella zofingiensis* cultured under photoautotrophic and mixotrophic conditions. *PeerJ Journal* 5. eCollection 3473.
- Baldisserotto, C., Demaria, S., Arcidiacono, M., Benà, E., Giacò, P., Marchesini, R., Ferroni, L., Benetti, L., Zanella, M., Benini, A., & Pancaldi, S. (2023). Enhancing urban wastewater treatment through isolated *Chlorella* strain-based phytoremediation in centrate stream: an analysis of algae morpho-physiology and nutrients removal efficiency. *Plants*, 12(5), 1027, 1-23.
- Brown, M. R. (1991). The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in marine culture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 145(1), 79-99.
- Carvalho, A.P., & Malcata, F.X. (2005). Optimization of omega-3 fatty acid production by microalgae: crossover effects of CO_2 and light intensity under batch and continuous cultivation modes. *Marine Biotechnology*, 7(4), 381-388.
- Dixit, R., Singh, S., & Singh, A. (2019). Effect of nitrogen deficiency on the physiology and biochemical composition of microalga *Scenedesmus rotundus*-MG910488. *Journal of Basic Microbiology*, 60(2), 1–15.
- D'souza, F. M. L., & Loneragan, N. R. (1999). Effects of mono-specific and mixed-algae diets on survival, development and fatty acid composition of penaeid prawn (*Penaeus* spp.) larvae. *Marine Biology*, 133(4), 621-633.
- Guiliard, R. R. L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: W. L. Smith and M. H. Chanley (eds), Culture of marine invertebrate animals. *Plenum Press*, 29–60.
- Guo, W., Cheng, J., Song, Y., Kumar, S., Ali, K.A., Guo, C., & Qiao, Z. (2019). Developing a CO_2 bicarbonation absorber for promoting microalgal growth rates with an improved photosynthesis pathway. *Royal*

- Society of Chemistry Advances*, 9, 2746-2755.
- Hawrot-Paw, M., & Patryk, R. (2024). Efficient Production of Microalgal Biomass-Step by Step to Industrial Scale. *Energies* 17(4), 944, 1-12.
- Josephine, A., Niveditha C., Radhika, A., Shali, A. B., Kumar, T. S., Dharani, G., & Kirubakaran, R. (2015). Analytical evaluation of different carbon sources and growth stimulators on the biomass and lipid production of *Chlorella vulgaris* - Implications for biofuels. *Biomass and Bioenergy*, 75, 170–179.
- Khatoun, H., Haris, H., Rahman, Rahman Abdu, N., Zakaria Mimi, N., Begum, H. & Mian, S. (2018). Growth, proximate composition and pigment production of *Tetraselmis chunii* cultured with aquaculture wastewater. *Journal of Ocean University of China*, 17, 641-646.
- Kim, G.Y., Roh, K., & Han, J. I. (2019). The use of bicarbonate for microalgae cultivation and its carbon footprint analysis. *Green Chemistry*, 18 (21), 5053–5062.
- Lavens, P., Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical*, 361, 295p.
- LeGresley, M., & McDermott, G. (2010). “Counting chamber methods for quantitative phytoplankton analysis: Haemocytometer, Palmer-Maloney Cell and Sedgewick-Rafter Cell,” In: B. Karlson, C. Cusack and E. Bresnan, Eds., *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis. IOC Manuals and Guides, UNESCO, Paris*, 55, 25-30.
- Levasseur, M., Thompson, P.A., & Harrison, P.J. (1993). Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. *Journal of Phycology*, 29(5), 587-595.
- Li Jingya, Li Changhao, Christopher Q. Lan & Dankui, Liao. (2018). Effects of sodium bicarbonate on cell growth, lipid accumulation, and morphology of *Chlorella vulgaris*. *Microbial Cell Factories*, 17, 1-11.
- Marques, A., Miranda, J., Batista, A., & Gouveia, L. (2011). Microalgae biotechnological applications: nutrition, health and environment, *Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy*, 1-60.
- Patino-Suarez, V., Aranda, D. A., & Zamora, A. G. (2004). Foodingestion and digestibility of five unicellular algae by 1-day-old *Strombus gigas* larvae. *Aquaculture Research*, 35(12), 1149-1152.
- Plöhn, M., Scherer, K., Stage, S., Jönsson, L. J. & Funk, C. (2022). Utilization of different carbon sources by Nordic microalgae grown under mixotrophic conditions. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1–11.
- Pokoo-Aikins, G., Nadim, A., El-Halwagi, M., & Mahalec, V. (2010). Design and analysis of biodiesel production from algae grown through carbon sequestration. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 12, 239-254.
- Rashid, N., Rehman, M.S., Sadiq, M., Mahmood, T. and Han, J. (2014). Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy*, 40, 760-778.
- Sampathkumar, S.J., & Gothandam, K.M. (2019). Sodium bicarbonate augmentation enhances lutein biosynthesis in green microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 1-11.
- Sarwer, A., Hamed, S. M., Osman, A. I., Jamil F., Al-Muhtaseb, A. H., Alhajeri, N. S., & Rooney D. W. (2022). Algal biomass valorization for biofuel production and carbon sequestration: a review. *In Environmental Chemistry Letters*, 20, 2797–2851.
- Shibzukhova, K.A., Chivkunova, O.B., & Lobakova, E.S. (2023). The effect of low temperature and nitrogen starvation on the morphological and physiological characteristics of two strains of green micro algae of the genus *Lobosphaera* sp. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(3), 301-310.
- Singh, S. P., & Singh, P. (2014). Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 172–179.
- Sudhakar, K., Suesh, S., & Premalatha, M. (2011). An overview of CO₂ mitigation using algae cultivation technology. *International Journal of Chemical Research*, 3, 110–117.
- Tabarzad, M., Atabaki, V., & Hosseinabadi, T. (2020). Anti-inflammatory activity of

- bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria by focusing on the mechanisms of action. *Molecular Biology Reports*, 47, 6193–6205.
- Tahiri S., El Aamri, F., Loulad, H., Idhalla, M. & Elmtili, N. (2023). Effects of sodium bicarbonate on cell growth and morphology of *Isochrysis galbana*. *Moroccan Journal of Chemistry*, 14, 51-60.
- Ukeles, R., & Rose, W. E. (1976). Observations on organic carbon utilization by photosynthetic marine microalgae. *Marine Biology*, 37(1), 11-28.
- Umetani, I., Janka, E., Spos' ob, M., Hulatt, C.J., Kleiven, S., & Bakke, R. (2021). Bicarbonate for microalgae cultivation: a case study in a chlorophyte, *Tetradesmus wisconsinensis* isolated from a Norwegian lake. *Journal of Applied Phycology*, 33, 1341–1352.
- White, D.A., Pagarette, A., Rooks, P., & Ali, S.T. (2013). The effect of sodium bicarbonate supplementation on growth and biochemical composition of marine microalgae cultures. *Journal of Applied Phycology*, 25, 153–165.