

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN LƯU GIỮ THÍCH HỢP BA LOÀI VI TẢO BIỂN SỬ DỤNG ƯƠNG ẬU TRÙNG CẦU GAI SỢ DỪA (*Tripneustes gratilla*) VÀ HẢI SÂM VÚ (*Holothuria nobilis*)

STUDY ON SUITABLE PRESERVATION CONDITIONS OF THREE MARINE MICROALGAE FOR LARVAL REARING OF SEA URCHIN (*Tripneustes gratilla*) AND TEATFISH SEACUCUMBER (*Holothuria nobilis*)

Nguyễn Văn Hùng*, Lê Trung Hậu,
Nguyễn Thị Hương, Hoàng Thị Châu Long

Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III

Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Hùng, Email: hungvnria3@gmail.com

Ngày nhận bài: 07/12/2025; Ngày phản biện thông qua: 22/12/2025 ; Ngày duyệt đăng: 29/09/2026

TÓM TẮT

Hiện nay, việc lưu giữ lâu dài một số loài vi tảo biển quan trọng nhằm chủ động nguồn thức ăn tươi sống rất cần thiết cho các trại sản xuất giống thủy sản. Ba loài vi tảo biển gồm *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* được thử nghiệm lưu giữ lỏng và bán lỏng ở nhiệt độ 7–10°C, tối hoàn toàn, và so sánh với phương pháp cấy chuyển trong điều kiện thường. Chất lượng tảo sau lưu giữ được đánh giá thông qua khả năng phục hồi sinh khối, hình thái, màu sắc tảo và hiệu quả sử dụng làm thức ăn cho ấu trùng cầu gai sợ dứa (*Tripneustes gratilla*) và hải sâm vú (*Holothuria nobilis*). Kết quả cho thấy *Nannochloropsis oculata* có khả năng lưu giữ tốt nhất trong điều kiện bán lỏng với thời gian đến 6 tháng, trong khi *Chaetoceros muelleri* thích hợp lưu giữ trong 3 tháng. *Isochrysis galbana* không phục hồi sau thời gian lưu giữ lạnh. Tảo lưu giữ được nuôi phục hồi sinh khối làm thức ăn cho ấu trùng cầu gai sợ dứa và hải sâm vú cho tỷ lệ sống và kích thước ấu trùng tương đương với nhóm sử dụng tảo lưu giữ cấy chuyển. Nghiên cứu này khẳng định tính khả thi của phương pháp lưu giữ lạnh, đặc biệt là trong môi trường bán lỏng, đảm bảo giữ chủng giống vi tảo ổn định, tiết kiệm chi phí, phù hợp cho các trại giống, góp phần nâng cao hiệu quả và tính bền vững của sản xuất giống động vật da gai.

Từ khóa: ấu trùng hải sâm vú, cầu gai sợ dứa, lưu giữ giống, vi tảo.

ABSTRACT

Currently, the long-term preservation of several important marine microalgae species is essential for aquaculture hatcheries to proactively secure a source of live feed. Three species of marine microalgae, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, and *Isochrysis galbana*, were tested in liquid and semi-liquid storage at 7–10°C in complete darkness, and compared with subculturing under normal conditions. The quality of the algae after preservation was evaluated through biomass recovery, morphology, color, and effectiveness as feed for sea urchin larvae (*Tripneustes gratilla*) and teatfish sea cucumbers (*Holothuria nobilis*). Results showed that *Nannochloropsis oculata* had the best preservation ability in semi-liquid conditions, lasting up to 6 months, while *Chaetoceros muelleri* was suitable for preservation for 3 months. *Isochrysis galbana* did not recover after low temperature storage. The preserved algae were biomass cultivated as food for sea urchin and teatfish seacucumber larvae, achieving survival rates and larval size comparable to the continuous cultivation group. The study confirms the feasibility of low temperature, particularly in semi-liquid environments, and proved a stable and cost-effective in microalgae strain preservation suitable for hatcheries, contributing to improved efficiency and sustainability in echinoderms breeding.

Keywords: *Holothuria nobilis*, *Tripneustes gratilla*, preservation, microalgae

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi tảo biển là loại thức ăn sống có rất nhiều ưu điểm như dinh dưỡng cao, dễ tiêu hóa, kích thước đa dạng (từ vài μm đến 100 μm), không gây ô nhiễm môi trường, không chứa độc tố, có tốc độ phát triển nhanh, khả năng nuôi sinh khối lớn nên là mối xích quan trọng trong chuỗi thức ăn của quy trình sản xuất giống nhiều loài thủy sản. Ở cuối pha phát triển logarit, vi tảo chứa hàm lượng protein: 30-40%, lipid: 10-20%, carbohydrate: 5-15% (trọng lượng khô) (Fujii *et al.*, 2010). Ngoài ra, vi tảo còn chứa các vitamin và các sắc tố khác, đặc biệt các loại acid béo không no PUFA/HUFA có mặt trong 46 loài tảo thường dùng trong nuôi trồng thủy sản. Trong đó, quan trọng nhất là EPA (Eicosapentaenoic acid), DHA (Docosahexaenoic acid) và AA (Arachidonic Acid) có trong tảo rất cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển ở giai đoạn ấu trùng và con non của động vật biển (Hemaiswarya *et al.*, 2011). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc lựa chọn loài tảo có kích cỡ và hàm lượng dinh dưỡng phù hợp là yếu tố quyết định đến tỷ lệ sống và chất lượng con giống các loài thủy sản (Brown *et al.*, 1997; Kaparapu, 2018). Trong thực tiễn sản xuất giống cầu gai sọ dừa và hải sâm, các loài vi tảo *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* được sử dụng phổ biến nhờ kích cỡ phù hợp và giàu EPA (đến 7-34%), tảo *Nannochloropsis oculata* giàu AA (4%), *Isochrysis galbana* giàu DHA (11%) (Hemaiswarya *et al.*, 2011; Brundu *et al.*, 2016; Castilla-Gavilan *et al.*, 2018; Chu *et al.*, 2023). Ngoài nhu cầu tảo tươi làm thức ăn, các sản phẩm tảo sấy khô và tảo cô đặc giúp chủ động thay thế 50% tảo tươi cho các trại sản xuất do dễ sử dụng, bảo quản và lưu trữ, tuy nhiên, các dạng sản phẩm này chỉ dùng cho ăn và không có khả năng phục hồi khi nuôi sinh khối (Lopez Elias *et al.*, 2003). Với nhu cầu tảo tươi và các sản phẩm tảo phục vụ sản xuất, việc lưu giữ chủng giống tảo đảm bảo thuần chủng, ổn định về hàm lượng dinh dưỡng, kích cỡ và khả năng phục hồi tốt trong thời gian dài là thách thức không nhỏ. Cho đến nay, các phương pháp lưu giữ vi tảo lâu dài đã được áp

dụng, gồm: nuôi cấy chuyển định kỳ (Periodic transfer), đông khô (Lyophilization) và bảo quản lạnh sâu (Cryopreservation) tùy theo loài và mục đích sử dụng. Mỗi phương pháp có thể phù hợp bảo quản thành công vài loài vi tảo và được đánh giá qua thời gian bảo quản và khả năng khôi phục khi nuôi trở lại điều kiện thường (Day và DeVille 1995). Trong số các phương pháp bảo quản tảo, phương pháp sấy đông khô, đông băng hay bảo quản lạnh sâu có thể bảo quản tảo đến vài chục năm, ưu điểm là ổn định di truyền, khả năng tạp nhiễm thấp và ít tốn công sức hơn, nhược điểm là không áp dụng được cho tất cả các loại vi tảo, yêu cầu thiết bị và hóa chất phức tạp (McLellan *et al.*, 1991). Phương pháp cấy chuyển định kỳ được sử dụng phổ biến nhất do quy trình đơn giản, dễ áp dụng. Cụ thể, chủng giống vi tảo đang ở giai đoạn cuối pha tăng trưởng logarit được san cấy qua môi trường nuôi mới ở điều kiện thường. Phương pháp này có thể áp dụng cho tất cả các loài tảo và thời gian lưu giữ chỉ 1-3 tháng tùy loài. Vài công bố đã chứng minh việc cấy chuyển liên tục làm ảnh hưởng hình thái, sinh lý và di truyền các chủng giống vi tảo, như sự giảm kích thước của vỏ tảo silic, sự mất gai ở *Micractinium pusillum*, hoặc mất thành phần sắc tố bình thường ở nhiều loài tảo, và còn các mối lo ngại khác bao gồm khả năng nhiễm vi khuẩn hoặc nhiễm chéo giữa các loài tảo lưu giữ do quá trình thao tác (Jaworski *et al.*, 1988, Day *et al.*, 1997). Việc cấy chuyển liên tục là một quá trình tốn nhiều công sức và chi phí vật liệu, vì vậy, ở mỗi trại giống thủy sản, chỉ vài loài tảo dùng phổ biến được lưu giữ phục vụ kịp thời nhu cầu sản xuất. Gần đây, lưu giữ chủng giống vi tảo ở nhiệt độ lạnh (7-10 °C, trong tối) trong tủ lạnh thường được xem là giải pháp hiệu quả nhằm làm chậm quá trình nhân chia tế bào, kéo dài chu kỳ san cấy đã được áp dụng cho nhiệm vụ lưu giữ vi tảo phục vụ sản xuất (Nguyễn Văn Hùng và cs., 2022). Theo đó, lưu giữ tảo ở nhiệt độ lạnh 7-10 °C trong môi trường lỏng, bán lỏng (trong bình có đế thạch) cho thấy mức độ thành công khác nhau tùy theo đặc điểm sinh học của từng loài tảo. Với mục tiêu xác định phương pháp lưu giữ phù hợp với từng

loại tảo, thời gian lưu giữ kéo dài mà không ảnh hưởng đến khả năng phục hồi, tiết kiệm chi phí và công sức, đảm bảo chủ động nguồn tảo giống *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* phục vụ sản xuất giống cầu gai và hải sâm (Chu et al., 2023), nghiên cứu này được thực hiện nhằm (i) so sánh khả năng phục hồi sinh khối và chất lượng tế bào của tảo sau lưu giữ của phương lưu giữ lạnh trong điều kiện lỏng, bán lỏng và phương pháp cấy chuyển định kỳ truyền thống; (ii) đánh giá khả năng ứng dụng tảo lưu giữ làm thức ăn ương ấu trùng cầu gai sọ dừa (*Tripneustes gratilla*) và hải sâm vú (*Holothuria nobilis*). Kết quả nghiên cứu bổ sung thêm phương pháp lưu giữ chủng giống vi tảo, góp phần hoàn thiện quy trình kỹ thuật chủ động nguồn thức ăn tươi sống, nâng cao hiệu quả và tính bền vững trong sản xuất giống động vật da gai.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu triển khai từ tháng 1 - 10/2025,

tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nuôi biển Nha Trang (phường Nam Nha Trang, tỉnh Khánh Hoà) thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III.

2. Vật liệu nghiên cứu

2.1. Các loài vi tảo biển

Ba loài vi tảo biển nghiên cứu gồm *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana* đang lưu giữ thuộc nhiệm vụ “Bảo tồn lưu giữ nguồn gen và giống thủy sản miền Trung” do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III chủ trì.

Các loài vi tảo được nuôi sinh khối trong điều kiện thích hợp (Bảng 1), đến giai đoạn cuối pha logarit, mật độ tế bào tại thời điểm trước khi đưa vào lưu giữ ở các điều kiện khác nhau được xác định bằng buồng đếm Improved Neubauer và được chuẩn hoá giữa các bình lập trong cùng một loài. Mật độ thực tế lần lượt là: *N. oculata* 4×10^6 tb/mL; *C. muelleri* $0,15 \times 10^6$ tb/mL; *I. galbana*: $0,2 \times 10^6$ tb/mL

Bảng 1. Môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi các loài tảo nghiên cứu

Tên loài tảo	Điều kiện nuôi	Công thức môi trường f/2 có điều chỉnh (Guillard, 1975) (ĐVT: ppm) (nguồn: Andersen, 2005)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Độ mặn 25 ‰; Cường độ ánh sáng (CĐAS): 4500 Lux; pH: 8,2-8,4; Nhiệt độ: 25-26 °C; Mật độ ban đầu (MĐBD): 4×10^6 tế bào/mL.	NaNO_3 : 75,0 KH_2PO_4 : 5,6 Na_2EDTA : 4,36
<i>Chaetoceros muelleri</i>	Độ mặn: 27-28 ‰; CĐAS: 3500 Lux; pH: 8,2-8,4; Nhiệt độ: 25-26 °C; MĐBD: $1,5 \times 10^5$ tế bào/mL.	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 3,15 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0,01 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,022 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,01 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0,18 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0,006 Thiamin (B_1): 0,3 Biotin (H): 0,002 Cyanocobalamin (B_{12}): 0,0004 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$: 30 (dành tảo <i>C. muelleri</i>)
<i>Isochrysis galbana</i>	Độ mặn: 25 ‰; CĐAS: 4500 Lux; pH: 8,2-8,4; Nhiệt độ: 25-26 °C; MĐBD: 2×10^5 tế bào/mL.	

Ghi chú: Điều kiện nuôi thích hợp các loài vi tảo đã được xác định trong kết quả bảo tồn các loài vi tảo thuộc nhiệm vụ trên.

2.2. Ấu trùng hải sâm vú và cầu gai sọ dừa

Ấu trùng hải sâm vú và cầu gai sọ dừa cung cấp từ sản xuất giống nhân tạo tại Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Nuôi biển Nha Trang. Ấu trùng trôi nổi nổi từ trứng thụ tinh được thu hoạch, rửa bằng nước sạch và xác định số lượng trước khi đưa vào các bể nuôi thí nghiệm theo mật độ thí nghiệm đã được thiết kế.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Lưu giữ và nuôi phục hồi tảo

Thí nghiệm lưu giữ tảo được thực hiện gồm nghiệm thức sau:

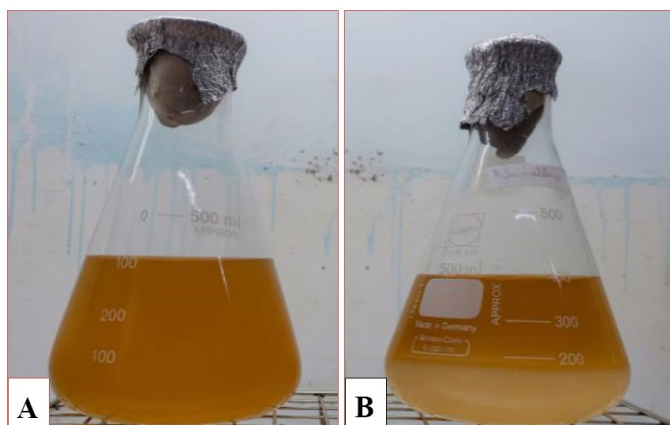
- Lưu giữ lỏng (Lỏng): Tảo sinh khối được lưu giữ ở nhiệt độ 7-10 °C (trong tủ lạnh thường, tối hoàn toàn).

- Lưu giữ bán lỏng (Bán lỏng): Bình lưu giữ được chuẩn bị lớp đáy Agar 100 mL trong môi trường dinh dưỡng thích hợp với nồng độ gấp đôi, hấp tiệt trùng để nguội. Cho 400 mL tảo sinh khối thí nghiệm vào bình đã chuẩn bị sẵn, giữ ở nhiệt độ 7-10 °C (trong tủ lạnh thường, tối hoàn toàn).

- Lưu giữ cấy chuyển (Cấy chuyển): Tảo nuôi sinh khối trong môi trường dinh dưỡng thích hợp, theo dõi mật độ khi đạt cực

đại ở cuối pha phát triển logarit, tiến hành san tảo qua bình mới chứa sẵn môi trường dinh dưỡng, lượng tảo giống đảm bảo MĐBĐ tối ưu cho từng loài tảo lần lượt là *N. oculata* 4×10^6 tb/mL; *C. muelleri* $0,15 \times 10^6$ tb/mL; *I. galbana*: $0,2 \times 10^6$ tb/mL (Bảng 1), thể tích vừa đủ 400 mL, tiếp tục nuôi chu kỳ tiếp theo. Phương pháp cấy chuyển là phương pháp thông dụng trong giữ và nhân giống tảo phục vụ sản xuất giống thủy sản, được xem là nhóm đối chứng.

Ở mỗi loài tảo thí nghiệm, mỗi nghiệm thức lưu giữ 3 bình tam giác và tương ứng 3 lần lặp. Mỗi cuối tháng lấy mẫu quan sát hình dạng tế bào, màu sắc qua tiêu bản tươi trên kính hiển vi. Kiểm tra khả năng phục hồi tảo sau khi lưu giữ bằng cách lấy 50 mL (mật độ dịch tảo giống gốc lần lượt là *N. oculata* 4×10^6 tb/mL; *C. muelleri* $0,15 \times 10^6$ tb/mL; *I. galbana*: $0,2 \times 10^6$ tb/mL đưa vào nuôi trong bình tam giác có 450 mL môi trường thích hợp (Bảng 1). Theo dõi khả năng tăng sinh khối đến khi đạt mật độ cực đại và mật độ tảo giảm mạnh. Thời gian theo dõi tảo phát triển đạt mật độ cực đại và có dấu hiệu không phát triển khi nuôi phục hồi. So sánh đánh giá chất lượng tảo, khả năng phục hồi thông qua mật độ cực đại (MĐCĐ) và thời gian đạt cực đại (TGĐCĐ) giữa các phương pháp lưu giữ.



Hình 1. Bình lưu giữ lỏng (A) và lưu giữ bán lỏng (B)

3.2. Nuôi sinh khối vi tảo lưu giữ làm thức ăn ương ấu trùng hải sâm vú, cầu gai sọ dừa

Tảo ở mỗi nhóm lưu giữ sau khi lấy mẫu nuôi phục hồi (50 mL giống tảo gốc trong 450 mL) và nuôi sinh khối cấp 1 (từ 500 mL lên 10

lít), được sử dụng làm tảo giống nuôi sinh khối cấp 2 trong các túi nilong 50 L ngoài trời có lưới che giảm sáng, bổ sung môi trường dinh dưỡng thích hợp theo từng loài (Hình 2). Khi tảo đạt sinh khối cực đại thu hoạch làm thức ăn ương ấu trùng hải sâm vú và cầu gai sọ dừa.



Hình 2. Nuôi tảo sinh khối ngoài trời làm thức ăn ương ấu trùng da gai

Ương nuôi ấu trùng giai đoạn nở của hải sâm vú mật độ 0,5 con/mL và cầu gai sọ dừa với mật độ 1 con/mL trong hệ thống bể composit có thể tích 2,5 m³ đặt trong nhà có mái che, sục khí liên tục, thay nước mỗi ngày 20-30% và cấp bù nước thông qua cung cấp tảo sinh khối gồm hỗn hợp 3 loài vi tảo, mật độ tảo mỗi loài duy trì 1-1,5 x 10⁴ tế bào/mL. Thí nghiệm ương ấu trùng bố trí gồm 9 bể/loài ấu trùng tương ứng với 3 nghiệm thức lưu giữ tảo, lặp lại 3 lần. Hàng ngày, ấu trùng ở các bể thí nghiệm được chăm sóc như nhau, chỉ khác nguồn thức ăn vi tảo sinh khối cung cấp từ giống tảo được lưu giữ trong điều kiện khác nhau (nghiệm thức bán lỏng: ấu trùng được cho ăn tảo được nuôi cấy từ tảo lưu giữ bằng hình thức bán lỏng, trong đó *Nannochloropsis oculata* lưu giữ ở tháng thứ 6, *Chaetoceros muelleri* ở thời điểm tháng thứ 3 và *Isochrysis galbana* ở thời điểm lưu giữ tháng thứ 1. Tương tự, ở nghiệm thức lỏng, ấu trùng được cho ăn tảo được nuôi cấy từ tảo được lưu giữ bằng hình thức lỏng trong đó các loài *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri* và *Isochrysis galbana* có nguồn gốc lưu giữ lần lượt là tháng thứ 6, tháng thứ 1 và tháng thứ 1 còn với nghiệm thức cấy chuyên, ấu trùng được cho ăn 3 loài tảo đã được cấy chuyên 6 tháng). Theo dõi tỷ lệ sống của ấu trùng sau 15 ngày đối với hải sâm

vú, 23 ngày đối với cầu gai. Đánh giá chất lượng tảo giống lưu giữ ở điều kiện khác nhau đến tỷ lệ sống của ấu trùng.

4. Thu thập và xử lý số liệu

Chất lượng tảo được xác định dựa trên mật độ cực đại và thời gian đạt cực đại. Bên cạnh đó, các mẫu tảo được quan sát hình thái tế bào (tế bào vỡ, biến dạng, di động) và mức độ tạp nhiễm trên tiêu bản tươi dưới kính hiển vi quang học (Olympus, CKX41, độ phóng đại 400X). Mật độ tảo xác định bằng buồng đếm hồng cầu Improved Neubauer (Hirschmann- Đức) theo phương pháp của Guillard và Sieracki (2005). Thí nghiệm lặp 3 lần (3 bình), mỗi bình đếm 3 mẫu, lấy giá trị trung bình. Sự tăng trưởng của tảo được tính từ mật độ ban đầu và mật độ cực đại của từng loài tảo khác nhau (Wood et al., 2005)

Đánh giá chất lượng ấu trùng thông qua cảm quan và tỷ lệ sống khi kết thúc thí nghiệm, thời gian ương ấu trùng là 15 ngày đối với hải sâm vú và 23 ngày đối với cầu gai sọ dừa. Mẫu được lấy ở 4 góc khác nhau trong bể ương, xác định số lượng trung bình trên mỗi mẫu và tổng số ấu trùng trong bể. Tỷ lệ sống (%) = (Tổng số lượng ấu trùng khi kết thúc/ Tổng số lượng ấu trùng thả ban đầu) x 100.

Các yếu tố môi trường bể ương ấu trùng được xác định bằng máy đo chất lượng nước đa chỉ tiêu cầm tay HORIBA (Nhật Bản) gồm: nhiệt độ được xác định 2 ngày/lần vào 8h và 14h; độ mặn, pH, DO được đo 1 lần/ngày vào 8h; NO₂ được đo ngày 1 lần vào 8h sáng bằng máy đo kèm thuốc thử Hana HI764 (Romania); NH₄⁺ được đo ngày 1 lần vào 8h sáng bằng máy đo kèm thuốc thử Hana HI784 (Hana Instruments, Romania), các bước thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Giá trị trung bình các chỉ tiêu mật độ tảo, tỷ lệ sống ấu trùng của các nghiệm thức thí nghiệm được so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) bằng kiểm định ANOVA one way và

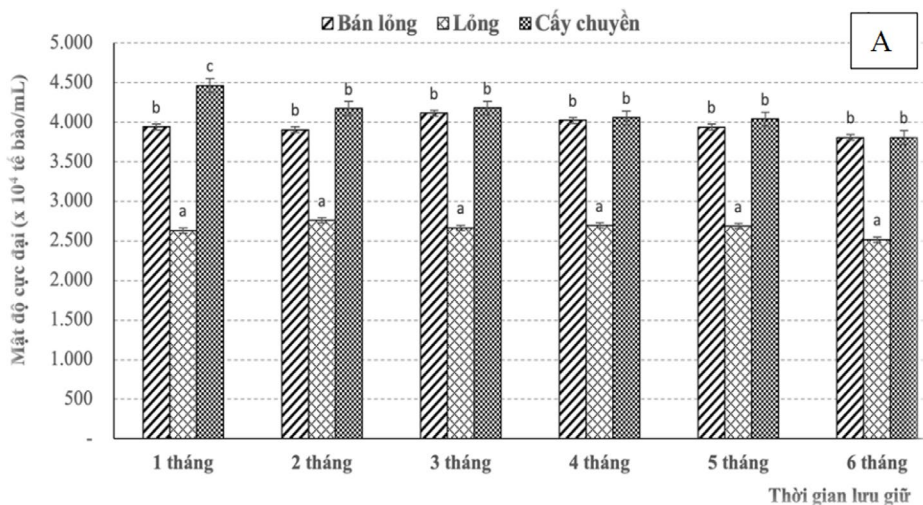
Tukey HSD Post-hoc test trên phần mềm SPSS 20.0. Số liệu trình bày là số trung bình $\pm$ sai số chuẩn.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

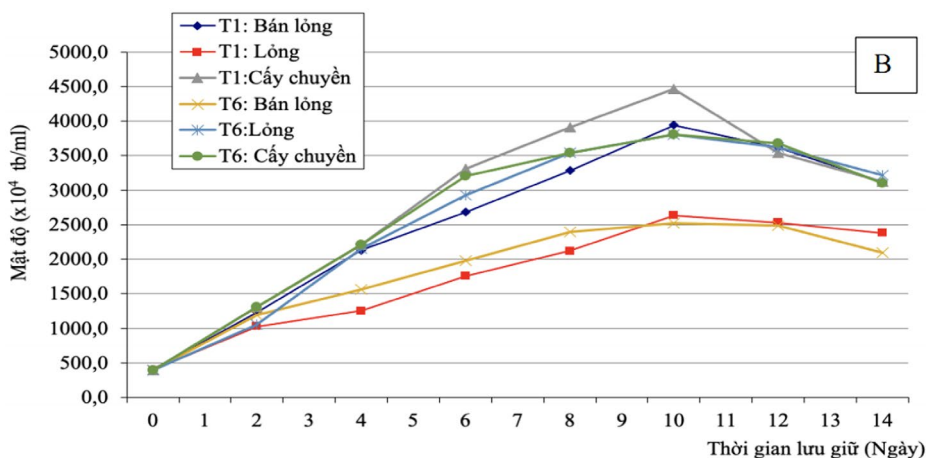
1. Khả năng phục hồi tảo ở các hình thức lưu giữ

1.1. Tảo *Nannochloropsis oculata*

Trong thời gian lưu giữ trong điều kiện lỏng và bán lỏng ở nhiệt độ 7 -10 °C trong tối, mỗi tháng lấy mẫu đánh giá khả năng phục hồi qua kết quả nuôi sinh khối, theo dõi cho đến khi mật độ tảo giảm mạnh. Kết quả như sau:



* Các chỉ số a,b trên các cột khác nhau biểu thị cho sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trên cùng một thời điểm lấy mẫu (1 tháng) mức ý nghĩa $p < 0,05$



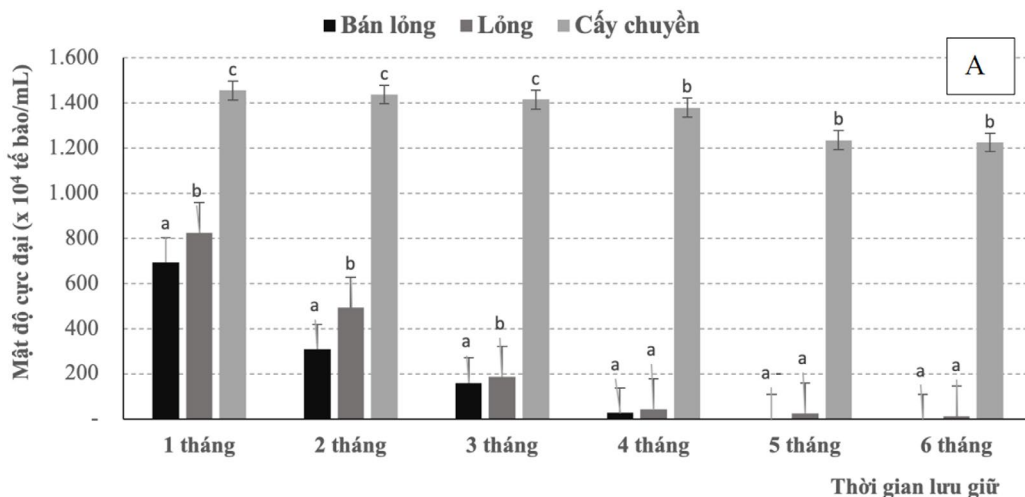
Hình 3. Sinh khối tảo *Nannochloropsis oculata* lưu giữ trong điều kiện khác nhau (A) và tăng trưởng của tảo lưu giữ ở tháng 1 và tháng thứ 6 (B)

Trong thời gian lưu giữ ở điều kiện nhiệt độ 7-10°C, trong tối, mỗi tháng lấy mẫu nuôi sinh khối, kết quả cho thấy tảo *Nannochloropsis oculata* đều có khả năng phục hồi tốt khi nuôi sinh khối ở mỗi thời điểm. So sánh giữa 2 hình thức lưu giữ, nhóm lưu giữ bán lỏng luôn có MĐCĐ sinh khối cao hơn so với nhóm lưu giữ lỏng, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và khác biệt không nhiều so với nhóm đối chứng nuôi theo phương pháp cấy chuyên. Cụ thể, MĐCĐ nhóm lưu giữ lỏng đạt 25 - 27 x 10⁶ tế bào/mL, nhóm bán lỏng đạt trên 38 - 41 x 10⁶ tế bào/mL, nhóm đối chứng đạt 41 - 44 x 10⁶ tế bào/mL; Thời gian đạt mật độ cực đại là 10 ngày, không khác biệt giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Cả 2 nhóm lưu giữ bán lỏng và lỏng đều có tính ổn định về khả năng phục hồi trong thời gian theo dõi (Hình 3). Về quan sát hình dạng và màu sắc tế bào tảo, không ghi nhận bất thường giữa tảo lưu giữ và tảo nuôi cấy chuyên trong điều kiện thường. Tảo không tạp nhiễm trong thời gian lưu giữ. Như vậy, để tiết kiệm chi phí, công sức san cấy định kỳ cũng như giảm nguy cơ tảo giống bị tạp nhiễm do thao tác san cấy, phương pháp lưu giữ bán lỏng, từ mát 7-10 °C, trong tối là thích hợp lưu giữ tảo

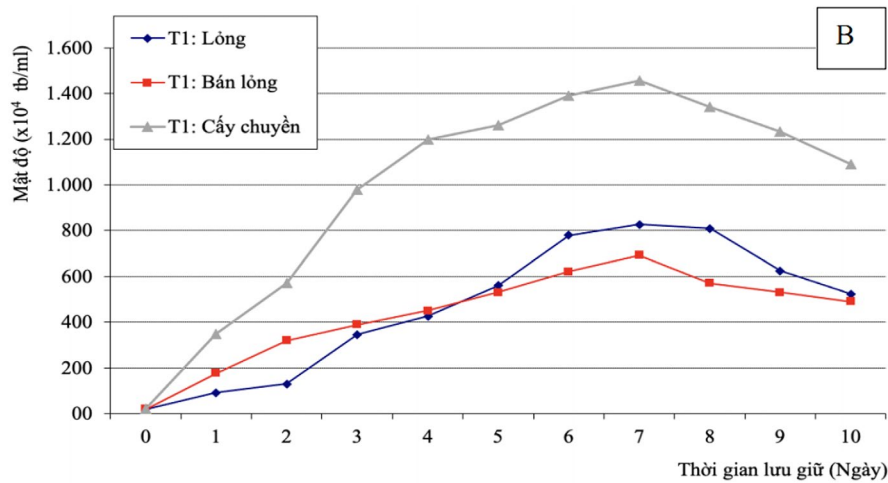
gốc giống *Nannochloropsis oculata*, thời gian lưu giữ kéo dài đến 6 tháng, duy trì ổn định khả năng nuôi sinh khối đạt mật độ cao, phục vụ làm thức ăn cho ấu trùng thủy sản.

1.2. Tảo *Isochrysis galbana*

Tảo vàng *Isochrysis galbana* sau thời gian 1 tháng lưu giữ, khả năng phục hồi ở nhóm lưu giữ lỏng ghi nhận MĐCĐ cao hơn so với lưu giữ bán lỏng, nhưng thấp hơn nhiều so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$); MĐCĐ tương ứng ở nhóm lưu giữ lỏng và bán lỏng lần lượt là 5,8 x 10⁶ và 4,0 x 10⁶ tế bào/mL. Tảo lưu giữ không phục hồi hoặc phục hồi yếu từ tháng thứ 2-6 ở cả 2 hình thức lưu giữ nên không thể hiện kết quả tăng trưởng quần thể của loài này. Trong khi đó, MĐCĐ nhóm đối chứng luôn đạt từ 14 -15 x 10⁶ tế bào/mL (Hình 4). Thời gian đạt cực đại từ 6-7 ngày. Quan sát tiêu bản tươi ghi nhận tảo lưu giữ có hiện tượng mất khả năng di động, vón lại từng cụm và màu sắc tế bào nhợt nhạt. Tảo không tạp nhiễm trong thời gian lưu giữ. Như vậy, đối với tảo *Isochrysis galbana*, không áp dụng phương pháp lưu giữ ở điều kiện tủ lạnh, chỉ có thể cấy chuyên san giống trong điều kiện thường.



*Các chỉ số a,b trên các cột khác nhau biểu thị cho sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trên cùng một thời điểm lấy mẫu (1 tháng) mức ý nghĩa $p < 0,05$



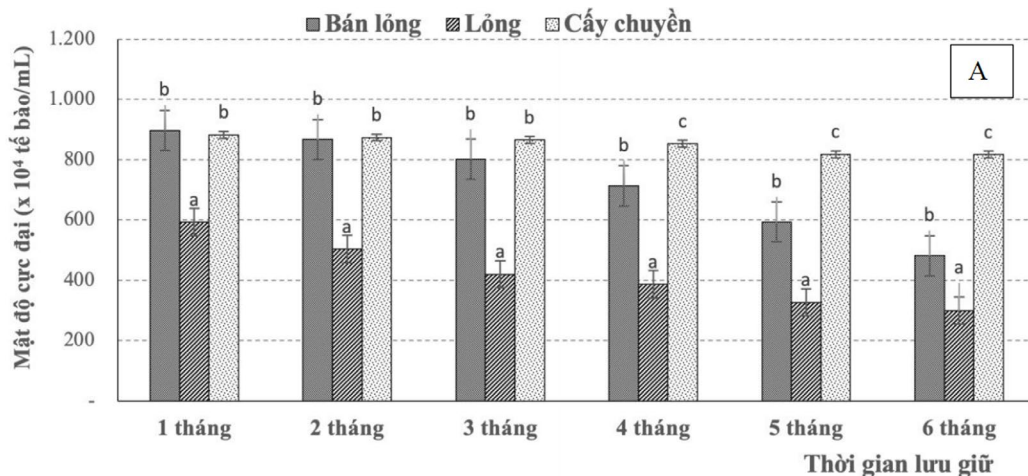
Hình 4. Sinh khối tảo *Isochrysis galbana* lưu giữ trong điều kiện khác nhau (A) và tăng trưởng của tảo lưu giữ ở tháng 1 (B)

1.3. Tảo *Chaetoceros muelleri*

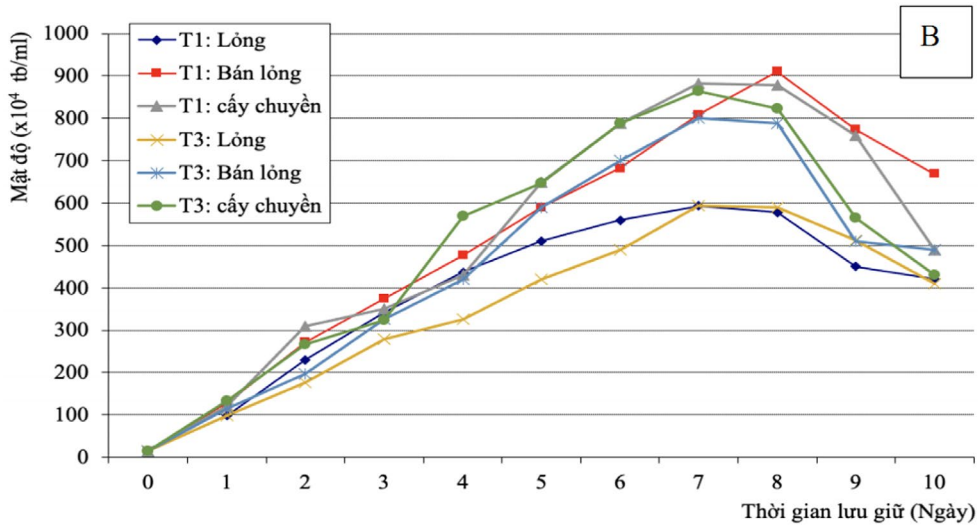
Sau 3 tháng lưu giữ trong điều kiện bán lồng và lồng ở nhiệt độ 7-10 °C trong tối, khả năng phục hồi ở nhóm lưu giữ bán lồng ghi nhận MĐCĐ cao hơn so với lưu giữ lồng, tương đương so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Bắt đầu từ tháng thứ 3, tảo lưu giữ khi nuôi sinh khối có MĐCĐ thấp hơn so với đối chứng, dù phương thức lưu giữ bán lồng vẫn ghi nhận cao hơn so với phương thức lưu giữ lồng ($p < 0,05$). Xu hướng giảm khả năng phục hồi theo thời gian ở cả 2 hình thức lưu giữ. Cụ thể, MĐCĐ từ tháng 1 đến tháng 6 ở nhóm lưu giữ bán lồng giảm từ $8,97 \times 10^6$ xuống còn $4,82 \times 10^6$ tế bào/mL; nhóm lồng từ $5,93 \times$

10^6 xuống còn $3,0 \times 10^6$ tế bào/mL; Trong khi đó, MĐCĐ ở nhóm đối chứng tương đối ổn định, từ $8 - 9 \times 10^6$ tế bào/mL (Hình 5). Thời gian đạt cực đại từ 7-8 ngày ở 2 hình thức lưu giữ và đối chứng. Không ghi nhận bất thường và khác biệt trên tiêu bản quan sát tế bào tảo trong điều kiện lưu giữ và đối chứng.

Như vậy, trong điều kiện tiết kiệm chi phí do cấy chuyên, phương pháp lưu giữ bán lồng, từ mát 7-10 °C, trong tối là thích hợp lưu giữ tảo gốc giống *Chaetoceros muelleri*, thời gian lưu giữ ổn định khả năng phục hồi sinh khối cao đến 3 tháng, đáp ứng nhu cầu làm thức ăn cho ấu trùng thủy sản tương đương phương pháp cấy chuyên.



*Các chỉ số a, b trên các cột khác nhau biểu thị cho sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trên cùng một thời điểm lấy mẫu (1 tháng) mức ý nghĩa $p < 0,05$



Hình 5. Sinh khối tảo *Chaetoceros muelleri* lưu giữ trong điều kiện khác nhau (A) và tăng trưởng của tảo ở tháng 1 và tháng 3 (B)

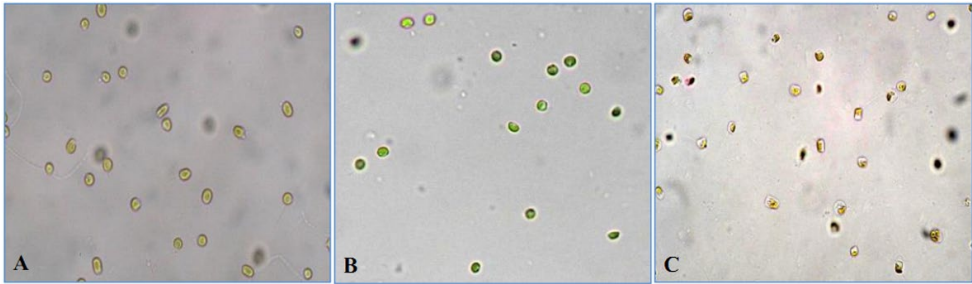
Nhìn chung, kết quả lưu giữ 3 loài vi tảo bằng phương pháp lông và bán lông ở nhiệt độ thấp (7–10°C) cho thấy những khác biệt rõ ràng về khả năng phục hồi sinh khối, tùy thuộc vào khả năng phản ứng của tế bào tảo với điều kiện nhiệt độ bảo quản và hoàn toàn không có ánh sáng như khi cấy chuyển định kỳ. *Nannochloropsis oculata* thể hiện mức độ ổn định cao nhất, với khả năng lưu giữ đến 6 tháng và đạt MĐCĐ đến 41×10^6 tế bào/mL khi nuôi phục hồi. Cấu trúc lớp algaenan kỳ nước bên ngoài của tế bào tảo *Nannochloropsis* có thành phần là các hydrocacbon bão hoà mạch dài bền chắc, giúp giảm ảnh hưởng đến hình thái, sinh lý tế bào tảo trong các điều kiện lưu giữ (Scholz *et al.*, 2014). Đối với loài tảo khuê diatom, *Chaetoceros muelleri* lưu giữ bán lông nuôi phục hồi đạt mật độ cao ($> 8 \times 10^6$ tế bào/mL) trong suốt 3 tháng đầu và tương đương nuôi cấy chuyển, nhưng giảm còn hơn 4×10^6 tế bào/mL ở các tháng sau đó. Điều này phản ánh tính nhạy cảm với nhiệt độ của nhóm tảo khuê diatom, khi nhiệt độ thấp kéo dài, cấu trúc silica tế bào có thể bị nứt, làm giảm sức sống hoặc làm chậm khả năng

sinh trưởng (Fan *et al.*, 2023). Đối với loài *Isochrysis galbana*, thí nghiệm cho thấy khả năng phục hồi thấp khi lưu giữ ở nhiệt độ 7–10 °C, tế bào vón cụm, mất màu, mất khả năng di động. Nhiều nghiên cứu cho thấy các loài thuộc nhóm Prymnesiophyceae vốn có màng tế bào mỏng và hệ sắc tố fucoxanthin dễ bị thoái hóa khi tiếp xúc lạnh kéo dài, thường giảm hoạt tính nhanh khi bảo quản dưới 10°C, do mất ổn định màng và tổn thương lipid nội bào (Brown *et al.*, 1997; Kawachi *et al.*, 2013). Vì vậy, lưu giữ lông hoặc bán lông ở nhiệt độ thấp không phù hợp đối với tảo *Isochrysis*. Kết quả nghiên cứu hiện tại một lần nữa khẳng định rằng phương pháp cấy chuyển trong điều kiện thường vẫn là lựa chọn phù hợp nhất cho việc duy trì giống *Isochrysis galbana*.

Trong các nghiên cứu bảo quản tảo dài hạn đều ghi nhận các nhóm tảo khác nhau và thậm chí các chủng trong cùng một loài cũng thể hiện sự khác biệt đáng kể trong phản ứng với các tác động gây ra bởi quá trình bảo quản, nuôi cấy và phục hồi sau đó. Sự khác biệt giữa các loài cho thấy khả năng

lưu giữ không chỉ phụ thuộc vào điều kiện môi trường mà còn phụ thuộc đặc điểm sinh học, từ cấu trúc thành tế bào đến hệ enzyme nội tại. Một số chủng vi tảo có thể bảo quản lâu dài bằng phương pháp đông khô và đông lạnh, trong khi những chủng khác thì không (Day và DeVille 1995; Day *et al.*, 1997). Vì lý do này, việc có ít nhất hai phương pháp bảo quản để duy trì vi tảo liên tục là điều yếu thiết nhằm đảm bảo nguồn giống dự trữ. Tại các trại giống thủy sản hiện nay, phương pháp cấy chuyền liên tục để duy trì giống tảo

và nhân sinh khối được thực hiện chủ yếu (Jaworski *et al.*, 2023). Với kết quả nghiên cứu này, hình thức lưu giữ tảo giống ở nhiệt độ 7–10°C giúp kéo dài chu kỳ sản sản cấy, trong đó, lưu giữ bán lỏng tỏ ra vượt trội hơn phương pháp lỏng, đặc biệt đối với các loài có thành tế bào dày thường gặp ở nhóm tảo xanh như *Nannochloropsis*, *Chlorella*, thời gian lưu giữ đến 6 tháng. Kết quả này có ý nghĩa quan trọng vừa tiết kiệm chi phí, vừa đảm bảo nguồn giống tảo chất lượng phục vụ ương nuôi động vật thủy sản.



Hình 6. Các loài tảo lưu giữ làm thức ăn cho ấu trùng cầu gai và hải sâm vú (A: *Isochrysis galbana* (5-6 μm); B: *Nannochloropsis oculata* (2-4 μm); C: *Chaetoceros muelleri* (5-7 μm))

2. Ứng dụng tảo lưu giữ nuôi sinh khối làm thức ăn ương ấu trùng thủy sản

2.1. Diễn biến các yếu tố môi trường trong bể ương

Bảng 2. Diễn biến các yếu tố môi trường trong ương ấu trùng hải sâm vú và cầu gai

Ấu trùng	Các chỉ tiêu môi trường					
	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	pH	DO (mg/L)	NH_4^+ (mg/L)	NO_2^- (mg/L)
Hải sâm vú	<u>28,5-30,6</u> 29,2 ± 0,2	<u>31,5-33,0</u> 32,4 ± 0,4	<u>7,8-8,2</u> 8,0± 0,2	<u>5,4-5,6</u> 5,5 ± 0,1	<u>0,01-0,03</u> 0,02 ± 0,0	<u>0,05-0,20</u> 0,1± 0,0
Cầu gai	<u>28,9-29,3</u> 29,1± 0,2	<u>32,5-32,6</u> 32,5 ± 0,3	<u>8,0-8,1</u> 8,1± 0,0	<u>5,4 -5,7</u> 5,5± 0,1	0,0	<u>0,1-0,2</u> 0,02± 0,0

Các yếu tố môi trường ghi nhận được trong suốt quá trình ương ấu trùng được duy trì trong phạm vi tối ưu cho sự phát triển của cầu gai và hải sâm vú. Các điều kiện phù hợp cho ấu trùng da gai phát triển đã được xác

định trong khoảng nhiệt độ ở 27–31°C, trong khi dao động lớn hơn có thể kéo dài thời gian biến thái hoặc làm tăng tỉ lệ dị hình (Azad *et al.*, 2012); Độ mặn dao động nhẹ trong khoảng 31-33 ‰ là phù hợp với đặc điểm

sinh lý của ấu trùng da gai giai đoạn pluteus, đặc biệt nhạy cảm với biến động thẩm thấu do hệ thống điều hòa ion chưa hoàn chỉnh (Hamel & Mercier, 1996). Giá trị pH duy trì trong khoảng hẹp 7,8–8,2 tối ưu hỗ trợ quá trình khoáng hóa bộ xương và cân bằng acid kiềm nội bào của động vật da gai (Byrne & Przeslawski, 2013). Oxygen hòa tan (DO) được duy trì quanh mức 5,4–5,7 mg/L, đảm bảo đủ cho nhu cầu hô hấp cao hơn do vận động liên tục của ấu trùng trôi nổi (Azad *et al.*, 2012). Các yếu tố NH_4^+ và NO_2^- đều duy trì ở mức thấp hơn ngưỡng gây độc cấp tính được ghi nhận cho ấu trùng cầu gai và hải sâm (0,3–0,5 mg/L) (Azad *et al.*, 2012, Hamel &

Mercier, 1996).

Nhìn chung, ở các nhóm ương ấu trùng bằng nguồn thức ăn từ tảo sinh khối lưu giữ khác nhau cũng đều có diễn biến môi trường trong phạm vi phù hợp, không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống và tốc độ biến thái của động vật da gai trong hệ thống ương nhân tạo.

2.2. Kết quả ương ấu trùng cầu gai và hải sâm vú giai đoạn trôi nổi

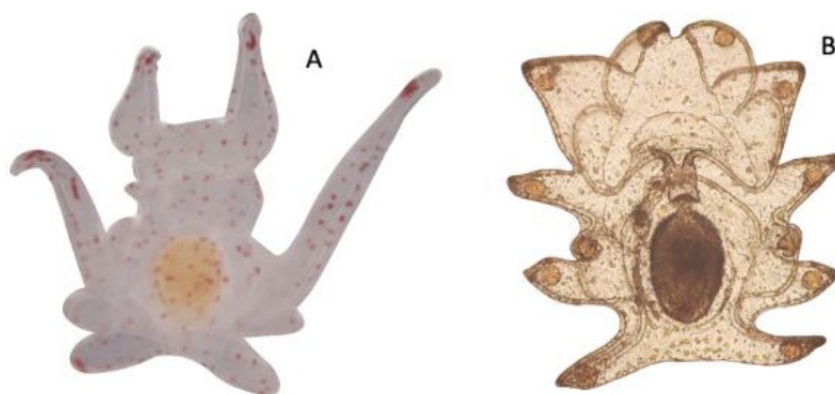
Ấu trùng cầu gai và hải sâm vú giai đoạn trôi nổi được ương bằng hỗn hợp tảo sinh khối nuôi từ nguồn tảo lưu giữ theo 3 hình thức khác nhau. Kết quả ương sau 23 ngày đối với cầu gai và 15 ngày đối với hải sâm vú thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3: Tỷ lệ sống (%) và kích thước (μm) của ấu trùng cầu gai sọ dừa và hải sâm vú giai đoạn trôi nổi ương từ nguồn tảo lưu giữ khác nhau

Tổ hợp vi tảo lưu giữ ở các hình thức khác nhau	Ấu trùng cầu gai sọ dừa (23 ngày tuổi)		Ấu trùng hải sâm vú (15 ngày tuổi)	
	Tỷ lệ sống (%)	Kích thước (μm)	Tỷ lệ sống (%)	Kích thước (μm)
Bán lỏng	10,8 ± 0,3	374,4 ± 6,2	8,8 ± 0,3	984,6 ± 15,9
Lỏng	10,7 ± 0,1	373,8 ± 3,9	8,7 ± 0,3	995,5 ± 5,3
Cấy chuyên	10,9 ± 0,3	372,5 ± 5,5	8,8 ± 0,2	986,0 ± 4,5

Kết quả ương ấu trùng nổi cầu gai sọ dừa và hải sâm vú bằng tảo lưu giữ và nuôi phục hồi ở cả hình thức bán lỏng và lỏng đều ghi nhận hiệu quả tương đương nhau và không khác biệt so với nhóm đối chứng nuôi bằng tảo cấy chuyên. Sau thí nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng hải sâm vú 15 ngày tuổi đạt 8,7 - 8,8 %, và ấu trùng cầu gai 23 ngày tuổi đạt 10,8 - 10,9 % ($P > 0,05$). Về kích thước ấu trùng cũng không khác biệt giữa các nhóm thí nghiệm. Kết quả cho thấy sinh khối tảo sau phục hồi vẫn duy trì chất lượng thức ăn đủ để tạo tỷ lệ sống và kích thước ấu trùng tương đương đối chứng trong điều kiện thí nghiệm; nghiên cứu chưa trực tiếp xác định biến đổi Đồng thời cũng chứng minh rằng việc duy trì và phục hồi các dòng vi tảo trong điều kiện thích hợp giúp bảo toàn đặc tính sinh lý và

chất lượng sinh hoá của sinh khối, trong khi cấy chuyên liên tục kéo dài có thể làm suy giảm tính ổn định của quần thể (Diaz, C. J., 2023). Trong sản xuất giống thân mềm và da gai, việc chủ động thức ăn tươi sống đảm bảo số lượng và chất lượng là yếu tố then chốt quyết định sự thành công của đợt sản xuất. Các quy trình lưu giống thông thường hiện nay là san cấy tảo định kỳ. Việc san cấy nhiều lần không những tốn nhiều công sức mà còn dễ tạp nhiễm cũng như suy giảm sức sống của tảo. Chính vì vậy, lưu giữ bán lỏng giống tảo trong nhiệt độ thấp 7-10°C kéo dài chu kỳ san cấy là giải pháp hữu ích trong sản xuất giống thủy sản hiện nay.



Hình 7: Ấu trùng cầu gai 8 tay (A) kích thước 375,4 (μm) và hải sâm vú Auricularia (B) kích thước 984,6 (μm) cuối giai đoạn trôi nổi

IV. KẾT LUẬN & KIẾN NGHỊ

Việc lưu giữ tảo giống chủ động phục vụ sản xuất tại các trại thủy sản rất cần thiết. Ngoài phương pháp cấy chuyển định kỳ phù hợp với hầu hết các loài tảo, hình thức lưu giữ tảo trong điều kiện nhiệt độ lạnh 7-10°C, trong tối, có thể giúp duy trì giống một số loài tảo ổn định trong vài tháng. Hình thức lưu giữ tùy thuộc vào loài tảo nhìn chung ở hình thức lưu giữ bán lỏng phục hồi tốt hơn lưu giữ lỏng. Tảo *Nannochloropsis oculata* vẫn duy trì khả năng sinh trưởng tốt khi nuôi phục hồi tốt hơn sau thời gian gian dài lưu giữ ở nhiệt độ 7-10°C. Tảo *Chaetoceros muelleri* duy trì khả năng sinh trưởng tốt khi nuôi phục hồi sau 3 tháng lưu giữ và có xu hướng giảm dần. Riêng tảo *Isochrysis galbana* không thích hợp lưu giữ ở điều kiện lạnh, chỉ có thể lưu giữ bằng phương pháp cấy chuyển. Tảo *Nannochloropsis oculata*

và *Chaetoceros muelleri* lưu giữ nuôi phục hồi làm thức ăn cho ấu trùng hải sâm vú và cầu gai có hiệu quả không khác biệt so với tảo cấy chuyển. Chứng tỏ đây là giải pháp cần thiết trong lưu giữ tảo giống loài *Nannochloropsis oculata* và *Chaetoceros muelleri* giúp chủ động nguồn thức ăn tươi sống sản xuất giống động vật thân mềm và da gai. Để tối ưu các phương pháp lưu giữ tảo giống, cần đánh giá các biến đổi sinh lý tế bào, hàm lượng sinh hoá sinh khối tảo trong các điều kiện lưu giữ và đa dạng hơn nữa số loài vì tảo biển có giá trị dinh dưỡng nhằm phục vụ sản xuất giống thủy sản.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Bộ Nông nghiệp và Môi trường đã cấp kinh phí cho nghiên cứu này thông qua nhiệm vụ “Bảo tồn, lưu giữ nguồn gen và giống thủy sản khu vực miền Trung”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andersen RA (2005). *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic Press. Amsterdam, pp 1- 578.
2. Azad AK, Pearce CM, McKinley RS (2012). Influence of stocking density and temperature on early development and survival of the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson, 1857). *Aquaculture Research*, 43(11): 1577-1591.
3. Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK, Dunstan GA (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1-4): 315-331.
4. Brundu G, Vallainc D, Baroli M, Figus AM, Pinna A, Carboni S (2016). Effects of on-demand feeding on sea urchin larvae (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816), development, survival and microalgae utilization. *Aquaculture*

- research, 1-11. doi:10.1111/are.12990.
5. Byrne M, Przeslawski R (2013). Multistressor impacts of warming and acidification of the ocean on marine invertebrates' life histories. *Integrative and comparative biology*, 53(4): 582-596.
 6. Castilla-Gavilan M, Buzin F, Cognie B, Dumay J, Turpin V, Decottignies P (2018). Optimising microalgae diets in sea urchin *Paracentrotus lividus* larviculture to promote aquaculture diversification. *Aquaculture*, 490: 251-259. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.003>.
 7. Chu Y, Ding DS, Sun WT, Satuito CG, Pan CH (2023). Effects of Marine Microalgae on the Developmental Growth of the Sea Urchin Larviculture *Anthodidaris crassipina*. *Fishes*, 8 (6): 278. <https://doi.org/10.3390/fishes8060278>.
 8. Day JG, Benson EE, Harding K, Knowles B, Idowu M, Bremer D, Santos L, Santos F, Friedl T, Lorenz M, Lukesova A, Elster J, Watanabe MM, Morris GJ, Fleck RA, McLellan MR. (1997). Long- term viability of preserved eukaryotic algae. *J Appl Phycol*, 9: 121-127.
 9. Diaz, C. J., Douglas, K. J., Kang, K., Kolarik, A. L., Malinovski, R., Torres-Tijji, Y., ... & Mayfield, S. P. (2023). Developing algae as a sustainable food source. *Frontiers in nutrition*, 9, 1029841.
 10. Day JG, Deville MM. (1995). Cryopreservation of algae (Chapter 9), In *Methods in molecular biology, Cryopreservation and freeze-drying protocols*, Day JG & McLellan MR. eds., Totowa, NJ: Humana Press Inc., Vol. 38: 81-89.
 11. Fan J, Li F, Hu S, Gao K, Xu J (2023). Larger diatoms are more sensitive to temperater changes and prone to succumb to warming stress. *Limnology and Oceanography*, 68: 2512-2528. doi: 10.1002/lno.12438.
 12. Fujii K, Nakashima H, Hashidzume Y, Uchiyama T, Mishiro K, Kadota Y (2010) Potential use of the astaxanthin-producing microalga, *Monoraphidium* sp. GK12, as a functional aquafeed for prawns. *J Appl Phycol* 22: 363–369.
 13. Guillard RRL & Sieracki MS (2005). Counting cells in cultures with the light microscope (Chapter 16) In *Algal Culturing Techniques*, Andersen RA eds., Elsevier Academic Press. Amsterdam, 2005, pp 239-252.
 14. Hamel JF & Mercier A (1996). Early development, settlement, growth, and spatial distribution of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(2): 253-271.
 15. Hemaiswarya S, Raja R, Kumar R, Ganesan V, Anbazhagan C (2011). Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World J Microbiol Biotechnol*, 27:1737-1746. DOI 10.1007/s11274-010-0632.
 16. Jaworski GHM, Wiseman SW, Reynolds CS (1988). Variability in sinking rate of the freshwater diatom *Asterionella formosa*: the influence of colony morphology. *J Br Phycol*, 23:167–176.
 17. Kaparapu J (2018). Application of Microalgae in Aquaculture. *Phycological Society, India*. 48 (1): 21-26.
 18. Lopez Elias JA, Voltolina D, Chavira CO, Rodriguez BB, Saenz GLM, Esquivel BC, Nieves M (2003). Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican northwest. *Aquaculture*, 29:155–164.
 19. McLellan MR, Cowling AJ, Turner M, Day JG. (1991). Maintenance of algae and protozoa. In: *Maintenance of algae and protozoa*, Kirsop BE & Doyle A eds., London: Academic Press Inc., pp. 21-30.
 20. Nguyễn Văn Hùng, Kiều Tiến Trung, Lê Trung Hậu, Nguyễn Thị Thanh Hoa, Hoàng Thị Châu Long, Nguyễn Thị Hương, Phan Đình Phúc, Phạm Bá Quyền, Phan Thị Lệ Anh, Trần Đình Tiến (2022). Báo cáo tổng kết nhiệm vụ bảo tồn lưu giữ nguồn gen thủy sản miền Trung năm 2022. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III, Bộ NN&PTNT, 109 trang.
 21. Scholz MJ, Weiss TL, Jinkerson RE, Jing J, Roth R, Goodenough U, Posewitz MC, Gerken HG (2014). Ultrastructure and composition of the *Nannochloropsis gaditana* cell wall. *Eukaryot cell*, 13(11):1450-1464. doi: [10.1128/EC.00183-14](https://doi.org/10.1128/EC.00183-14)
 22. Wood AM, Everrood RC, Wingard LM (2005). Measuring growth rates in microalgal cultures. (Chapter 16). In: *Algal Culturing Techniques*, Andersen RA eds., Elsevier Academic Press. Amsterdam, 2005, pp 269-285.