

ผลของความเข้มข้นและความถี่ของรำข้าวเปลือกหมักต่อการเพิ่มจำนวนของโคพีพอดธรรมชาติ

Effect of Concentration and Frequency of Feeding with Food
(Fermented Rice Bran) on Mass Culture of Natural Copepodดวงทิพย์ อุ้งเงิน^{1*} วรเทพ มุธุวรรณ¹ ศิริประภา ฟักระจาง¹ วิรชา เจริญดี¹ วิลาวรรณ พวงสันเทียะ¹พัชริดา รัตนวัฒนาพงษ์¹ อมรรัตน์ กนกรุ่ง¹ รติมา ครุวรรณเจริญ¹ สรณัฐ โชตินิพัทธ์² ชนม์ ภูสุวรรณ² และจักรพงษ์ ศรีพนมยม³Dountip Oungern^{1*}, Vorathep Muthuwan¹ Siraprapa Fakrajung¹ Wiracha Charoendeeand¹, Wilaiwan Phuangsanthia¹,
Patcharida Rattanawattanapong¹, Amonrat Kanokrun¹, Ratima Karuwancharoen¹, Soranot Chotnipat², Chon Poosuwat²
and Jakkrapong Sripanomyom³

Received date: 8 มี.ค. 66 Revised date: 31 ส.ค. 66 Accepted date: 9 ก.ย. 66

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2024.08.16.012>

บทคัดย่อ

การผลิตโคพีพอดธรรมชาติ โดยการให้รำข้าวเปลือกหมักเป็นอาหาร ที่ความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ 50, 100, 150 ppm และความถี่ของการให้อาหารต่างกัน 2 ระดับ คือ ให้ครั้งเดียวและให้สองครั้ง (ในวันที่ 4) ต่อการเพิ่มจำนวนและองค์ประกอบของโคพีพอดในธรรมชาติ โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial design) ในถังพลาสติกขนาด 10 ลิตร 18 ใบ เป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองพบว่าโคพีพอดมีการตอบสนอง (เพิ่มและลดจำนวน) ไปในทิศทางเดียวกัน ปัจจัยทั้งสองมีอิทธิพลร่วมกันต่อการเพิ่มจำนวนของโคพีพอด ($p < 0.05$) โดยความหนาแน่นโคพีพอดพบสูงสุดในการทดลองที่ให้อาหารเพียงครั้งเดียวตลอดการทดลองที่ความเข้มข้น 150 ppm (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE) 6.4 ± 1.4 ตัว/ มล. ขณะที่การให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็นสองครั้ง (วันที่ 4) ที่ความเข้มข้นของรำข้าวเปลือกหมักต่ำไม่มีผลต่อความหนาแน่นของโคพีพอด ($p > 0.05$) มีค่าเฉลี่ย ($\pm$ SE) สูงสุด 2.7 ± 0.4 , 2.4 ± 0.3 , 2.1 ± 0.5 ตัว/ มล.ตามลำดับ สำหรับกลุ่มชนิดของโคพีพอดที่พบมากที่สุดคือ คาลานอยด์ ไฮโคลพอยด์ ฮาร์แพคติกอยด์ (ร้อยละ 64.9, 23.3, 11.8) และสัดส่วนร้อยละของระยะการเติบโตที่พบมากที่สุดคือ นอเพลียส ตัวเต็มวัย โคพีพอดิด และตัวเต็มวัยที่มีถุงไข่ (38.9 ± 2.0 , 37.0 ± 1.7 , 23.6 ± 1.4 , 0.5 ± 0.2 .) ตามลำดับ ผลการทดลองสรุปได้ว่าการให้รำข้าวเปลือกหมัก ที่ความเข้มข้นสูง 150 ppm เพียงครั้งเดียว เพียงพอสำหรับการเพิ่มจำนวนโคพีพอดธรรมชาติจำนวนมากได้

คำสำคัญ: ความเข้มข้น ความถี่ รำข้าวเปลือกหมัก โคพีพอด

Abstract

Development of natural copepod production using fermented rice bran at different concentrations and feeding frequencies was studied. The experiment followed a factorial design with two factors: rice bran concentration (50, 100, and 150 ppm) and feeding frequency (first feeding only and second feeding on day 4 after the first feeding). The experiment was conducted in 18 plastic buckets of 10-liter capacity for a duration of 30 days. The results showed that copepods responded to the increase and decrease in density in the same

¹ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร จ.เพชรบุรี 76120³ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จ.ชุมพร 86160¹ Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131² Department of Fishery Science, Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi 76120³ Department of Fishery Science and Aquatic Resources, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chumphon 86160

*Corresponding author: dountip@buu.ac.th

direction. The interaction between the two factors (rice bran concentration and feeding frequency) showed a significant influence on the copepod density ($p < 0.05$). The highest copepod densities were observed when using first feeding only at a high rice bran concentration of 150 ppm (Mean $\pm$ SE) of 6.4 ± 1.4^a ind./ ml. For the second feeding on day 4 after the first feeding, copepod densities were lower for all concentrations: (Mean $\pm$ SE) 2.7 ± 0.4 , 2.4 ± 0.3 , 2.1 ± 0.5 ind./ ml respectively. The most abundant types of copepods were from the orders Calanoid, Cyclopoid, and Harpacticoid copepod with percentages of 64.9, 23.3, 11.8 ind./ml, and the copepod stages were represented by nauplii, adult, copepodite, the adult with eggs. Their percentages were 38.9 ± 2.0 , 37.0 ± 1.7 , 23.6 ± 1.4 , 0.5 ± 0.2 ind./ml, respectively. It can be concluded that using fermented rice bran at a high concentration of 150 ppm with the approach of first feeding only is sufficient enough to increase the mass culture of natural copepods.

Keywords: concentration, frequency, fermented rice bran, copepod

คำนำ

โคฟีพอดแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ดีในการสภาพแวดล้อมและชนิดของอาหารที่แตกต่างกัน เช่น การทดลองเลี้ยงโคฟีพอด *Oithona nana* ด้วยแพลงก์ตอนพืช *Nannochloropsis oceanica* เปรียบเทียบกับกากถั่วเหลือง ยีสต์ รำข้าว และแป้งข้าวโพด พบว่าแป้งข้าวโพดทำให้การเพิ่มจำนวนของโคฟีพอดสูงที่สุด ขณะที่รำข้าวให้สัดส่วนของระยะโคฟีพอดิตและนอเพลียสรวมถึงความคืบหน้าของไข่สูงที่สุด และโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยรำข้าวยังมีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมากกว่าที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดอื่น (Magouz et al., 2021) หรือใน *Moina macrocopa* ที่พบว่ามีการนำรำข้าวและรำมันสำปะหลังมาใช้เลี้ยงในวันแรกที่ความเข้มข้น 0.3 มล./ล. และปรับให้ในวันครั้งที่ 2 ต่างกันที่ ความเข้มข้น 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 มล./ล พบว่าการใช้รำข้าวสามารถทำให้จำนวนของ *Moina* สูงขึ้นถึง 17,975 ตัว/ล.ในวันที่ 7 มากกว่าการเลี้ยงด้วยมันสำปะหลัง นอกจากนี้ยังพบอีกว่าในรำข้าวยังมีโปรตีนและกรดอะมิโน 3.78% (wet weight) สูงกว่าในรำมันสำปะหลัง 2.57% (wet weight) (Mubarak et al., 2017) นอกจากนี้ปัจจุบันเทคโนโลยีการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบใหม่ที่มีความยั่งยืน โดยอาศัยอิงธรรมชาติ ลดการใช้สารเคมี และใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อสร้างสภาพแวดล้อมในบ่อเลี้ยงให้เกิดความสมดุล ที่เรียกว่า “ระบบเลี้ยงกุ้งอิงธรรมชาติ (Aquamimicry)” ที่มีการนำแบคทีเรียที่คัดเลือกสายพันธุ์แล้ว (*Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. valismortis*) (Aquamimicry, 2014) มาย่อยสลายวัตถุดิบ ได้แก่ รำละเอียด ถั่วเหลือง เพื่อให้เกิด แล้วใช้รำหมัก และ/หรือถั่วหมัก (Synbiotic) ในการเตรียมบ่อ ปรับปรุงคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยง หรือผสมอาหาร และจากการใช้รำหมักในการเตรียมบ่อ พบว่าเกิดแพลงก์ตอนสัตว์จำนวนมากขึ้นภายในบ่อในระยะเวลา 3 ถึง 5 วัน หลังจากที่มีการเติมรำหมัก ในอัตราส่วนที่กำหนดลงไปบ่อ และชนิดเด่นของแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบ คือ โคฟีพอด (Romano and Kumar, 2017; Chakravarty et al., 2018; de Tailly, 2019) และเนื่องจากการใช้รำข้าวมักมาใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดธรรมชาติเป็นงานวิจัยที่มีการศึกษายังไม่มากนัก ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นและจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อให้สามารถเพาะเลี้ยงโคฟีพอดโดยใช้อาหารทดแทนจากรำข้าวมักแทนการใช้แพลงก์ตอนพืชที่มีขั้นตอนการผลิตที่ยุ่งยากและสิ้นเปลืองทรัพยากรเป็นแนวทางในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดต่อไป

วิธีการศึกษา

ผลของอัตราส่วนรำหมักและความถี่ในการให้อาหารต่อการเพิ่มจำนวนของโคฟีพอด

ออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial design) ประกอบไปด้วย 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของรำหมัก และความถี่ในการให้อาหาร แต่ละปัจจัยประกอบไปด้วยความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 50, 100, 150 ppm และความถี่ 2 ระดับ คือ ให้ครั้งเดียว และให้สองครั้ง (ในวันที่ 4 ของการทดลอง) จำนวน 3 ซ้ำ

การเตรียมภาชนะเพื่อการทดลองและน้ำทะเลที่ใช้ในการทดลอง

ทำการทดลองในถังพลาสติกขนาดความจุ 10 ลิตร จำนวนทั้งสิ้น 18 ใบ จำนวน 2 ชุด รวม 36 ใบ (Figure 1) ในแต่ละถังมีหัวจ่ายอากาศจำนวน 1 หัว เพื่อหมุนเวียนน้ำและเพิ่มออกซิเจนละลายน้ำ กรองน้ำทะเลธรรมชาติชายฝั่งอย่างน้อย 1,000 ลิตร หรือ 2,000 ลิตร (กรองผ่านผ้ากรองขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อกำจัดตัวอ่อนสัตว์น้ำรวมถึงไฮโดรซัวและไข่ผ้ากรองขนาด 32 ไมโครเมตร) จากนั้นนำโคพีพอดที่ถูกดักไว้บนผ้ากรองมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อจำแนกกลุ่มและระยะพัฒนาของโคพีพอดที่พบเมื่อเริ่มทดลองและนำมานับความหนาแน่นเริ่มต้นด้วย Sedgewick Rafter Counting Chamber



Figure 1 Copepod culture in plastic buckets

แหล่งของโคพีพอดเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองและวิธีการเตรียมเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

สูบน้ำทะเลด้วยปั๊มสูบน้ำขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลางขนาดของท่ออยู่ที่ 3 นิ้ว จากชายฝั่ง ณ ชายทะเล บริเวณหน้าสถานีวิจัยย่อยชะอำ ต.บางเก่า อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี ในช่วงเวลาน้ำขึ้น กรองผ่านผ้ากรองขนาดตา 1 มิลลิเมตร เพื่อกำจัดตะกอนและตัวอ่อนสัตว์น้ำที่มีขนาดใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร ออกจากน้ำ แพลงก์ตอนสัตว์ที่ผ่านผ้ากรองไปถูกดักไว้ด้วยผ้ากรองขนาดตา 32 ไมโครเมตร แพลงก์ตอนสัตว์ที่เป็นกลุ่มเป้าหมาย คือ โคพีพอดระยะต่างๆ คือ นอเพลียส โคพีพอดิต ตัวเต็มวัยและตัวเต็มวัยที่มีไข่ กรองน้ำทะเลจนได้ตัวอย่างของโคพีพอดเพียงพอสำหรับการทดลอง (0.5-1 ตัวต่อมิลลิลิตร) ด้วยการรวบรวมโคพีพอดที่กรองได้ ย้ายไปใส่ในภาชนะที่มีน้ำทะเลเตรียมไว้แล้วและปรับปริมาตรให้ได้ 5 ลิตร หลังจากนั้นสุ่มตัวอย่างน้ำที่มีโคพีพอดอยู่ นำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Sedgewick Rafter Counting Chamber หากจำนวนโคพีพอดเริ่มต้นไม่มากพอ เติมโคพีพอดที่กรองเพิ่มไว้ใส่ลงไปแล้วนับอีกครั้ง จนกว่าโคพีพอดที่ใช้ในการทดลองมีจำนวนที่นับได้อยู่ระหว่าง 500-1,000 ตัวต่อลิตร เนื่องจากน้ำทะเลขณะที่ทำการสูบน้ำนั้นมีความเค็มเท่ากับ 34 ส่วนในพันส่วน จึงทำการปรับความเค็มของน้ำให้ลดลงด้วยน้ำจืด โดยใช้ระยะเวลาในการลดความเค็ม 1 ppt ต่อระยะเวลา 1 วัน จนได้ความเค็มที่ใช้ในการทดลองคือ 30 ppt และทำการสุ่มนับอีกครั้งเพื่อประเมินจำนวนโคพีพอดที่มีอยู่เพื่อนำไปใช้ในงานทดลอง

วิธีการเตรียมรำข้าวหมัก และการเติมรำข้าวหมักในภาชนะทดลอง



Figure 2 (a) NaHCO_3 , Rice bran and *Bacillus* sp. (b) Fermented rice bran

นำรำละเอียดมาหมักด้วยแบคทีเรียที่คัดเลือกสายพันธุ์ไว้ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งทะเลในระบบอิงธรรมชาติ (*Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus valismortis*; Total bacillus count : $>1.0 \times 10^9$ CFU/mL) ตามกรรมวิธีที่ระบุไว้โดยผู้ผลิตล่วงหน้าก่อนการทดลอง วิธีใช้ อิงตามคำแนะนำของผู้ประกอบการใช้ผลิตภัณฑ์ของบริษัท คือ รำละเอียด 100 กก. ต่อปริมาตรน้ำ 1,000 ลูกบาศก์เมตร (100 ppm หรือ 100 ก. ต่อ 1 ลูกบาศก์เมตร) โซเดียมไบคาร์บอเนต 20 กก. (20% ของน้ำหนักรำข้าวเปลือกละเอียด) แบคทีเรียจำนวน 1 ขวด (500 มล.) หรือ 5 มิลลิลิตรต่อรำละเอียด 1 กิโลกรัม (Figure 2 (a)) ด้วยการนำรำละเอียดมาร้อนผ่านตะแกรงร่อนขนาดตา 1 มิลลิเมตร แล้วนำเฉพาะรำข้าวละเอียดที่ผ่านการร้อนแล้วเท่านั้นไปใช้ในการหมัก โดยชั่งรำข้าวเปลือกละเอียด 100 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 20 กรัม แบคทีเรีย 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำทะเลที่ปรับความเค็มไว้ที่ 30 ppt ปริมาตร 10 ลิตร ทำการหมักทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมง โดยไม่มีการให้อากาศ (Figure 2 (b)) ก่อนนำไปใช้กรองน้ำรำข้าวเปลือกหมักผ่านผ้ากรองขนาดตา 75 ไมครอน แล้วจึงนำของเหลวที่ผ่านผ้ากรองไปใช้เป็นอาหาร ตามอัตราส่วนความเข้มข้นที่กำหนดไว้ 3 ระดับ

วิธีการสุ่มเก็บ การเก็บรักษา การนับ การจำแนกกลุ่ม ระยะของการเจริญ วิธีบันทึกภาพตัวอย่าง และการวัดขนาด

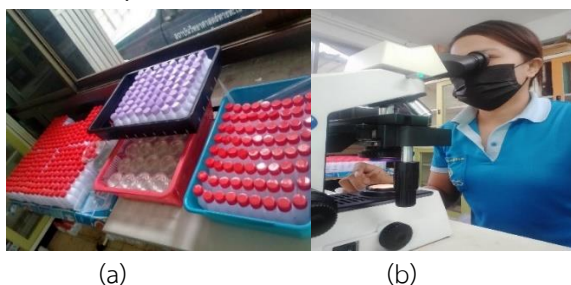


Figure 3 (a) Example of copepods (b) Classification copepods under the microscope

ทำการสุ่มตัวอย่างแพลงก์ตอนทุกวันเว้นวันจากทุกภาชนะทดลองละ 3 ตัวอย่าง ในการสุ่มตัวอย่างเก็บตัวอย่างน้ำจำนวน 50 มิลลิลิตร เติมน้ำยาเก็บรักษาตัวอย่าง (บัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน) ความเข้มข้นที่ 10% จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ต่อปริมาตรน้ำ 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 1 คืน (Figure 3 (a)) เพื่อให้ตัวอย่างตกตะกอนแล้วจึงดูดน้ำใสส่วนบนออกไป และเก็บตัวอย่างส่วนล่างที่มีตะกอนไว้ ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปนับจำนวน และทำการสุ่มตัวอย่างในแต่ละตู้ทดลองทุกวันเว้นวัน นำไปจำแนกกลุ่มของโคพีพอดที่พบ และนับจำนวนที่พบตลอดการทดลองในช่วงระยะเวลา 30 วัน และทำการนับความหนาแน่นโคพีพอดที่เก็บไว้ด้วย Sedgewick Rafter Counting Chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ระหว่างการนับทำการจำแนกกลุ่มของไซโคลพอยด์หรือคาลานอยด์หรือฮาร์แพคติกอยด์ที่พบในน้ำตัวอย่างแยกออกจากกัน ตลอดจนนับแยกระยะการเจริญเติบโตของโคพีพอด ระยะ นอเพลียส โคพีโพดิด ตัวเต็มวัยและตัวเต็มวัยที่มีไข่ พร้อมกับบันทึกภาพ โดยเทียบตัวอย่างกับ Ocular micrometer ที่ผ่านการปรับตั้งค่ากำลังขยายกับ Stage micrometer เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ที่กำลังขยายของกล้อง 4x หรือ 10x หรือ 40x แล้วจึงนำภาพที่บันทึกไว้ไปทำการวัดขนาดด้วยโปรแกรมวัดขนาดภาพ Image J (Figure 3 (b))

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบสูงสุด และค่าเฉลี่ยของกลุ่มของแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละปัจจัยและผลรวมของปัจจัยด้วยวิธีเปรียบเทียบแบบออร์ทोगอนอล (orthogonal comparison)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการทดลองที่แสดงใน (Figure 4) แสดงให้เห็นว่าโคฟิพอดที่ได้รับอาหารความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ และความถี่ในการให้ที่แตกต่างกัน คือ 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง ตลอดระยะเวลาการทดลอง 30 วัน มีรูปแบบการตอบสนอง (เพิ่มและลดจำนวน) เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีการเพิ่มจำนวนขึ้นหลังจากมีการให้อาหาร และมีความหนาแน่นสูงสุดในช่วงระหว่างวันที่ 8 ถึงวันที่ 16 ของการทดลอง โดยความหนาแน่นที่พบมากที่สุด (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE) เท่ากับ 6.4 ± 0.2^a ตัวต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 14 ของการทดลอง ในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารความเข้มข้น 150 ppm เพียงครั้งเดียว และพบว่าเมื่อให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็นสองครั้งที่ความเข้มข้นสูงสุด (150 ppm) ความหนาแน่นของโคฟิพอดเพิ่มขึ้นสูงสุดเพียง 2.1 ± 0.5 ตัวต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 2 ของการทดลอง แต่ความหนาแน่นสูงสุดของโคฟิพอดกลับเพิ่มสูงขึ้นเมื่อให้อาหารน้อยลง คือ พบว่ามีความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับ 3.4 ± 0.6^{ab} และ 2.3 ± 0.1^b ตัวต่อมิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นอาหาร 100 และ 50 ppm ในวันที่ 12 และวันที่ 8 ของการทดลอง ตามลำดับ และเมื่อจำนวนของโคฟิพอดเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุดในแต่ละชุดการทดลองแล้ว ความหนาแน่นของโคฟิพอดจึงเริ่มลดลงสู่จุดต่ำสุด (0.1-0.4 ตัวต่อมิลลิลิตร) ในวันที่ 18 ของการทดลอง และพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของโคฟิพอดและลดจำนวนลงอีกครั้งหนึ่งในช่วงสัปดาห์ระหว่างวันที่ 20-26 ของการทดลอง ซึ่งแพลงก์ตอนสัตว์ที่เพิ่มขึ้นนี้มักจะเกิดขึ้นภายในหนึ่งสัปดาห์หลังจากมีการเติมรำหมักลงไป และชนิดเด่นของแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบ คือ โคฟิพอด (Romano and Kumar, 2017; Nisar et al., 2022) และผลการทดลองของ Magouz et al. (2021) ที่แสดงว่าสามารถใช้ ถั่วเหลือง ยีสต์ รำข้าว และแป้งข้าวโพด ในการเลี้ยงโคฟิพอด (*Oithona nana*) ได้ โดยโคฟิพอดมีอัตราการเพิ่มจำนวนสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยแป้งข้าวโพด แต่โคฟิพอดที่เลี้ยงด้วยรำข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการ (MUFA, PUFA, and the lowest SFA and SFA/UFA) สูงที่สุด และมีเพียงโคฟิพอดที่เลี้ยงด้วยรำข้าวเท่านั้นที่ตรวจพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 (Eicosapentaenoic acid (EPA); C20:5 ω 3)

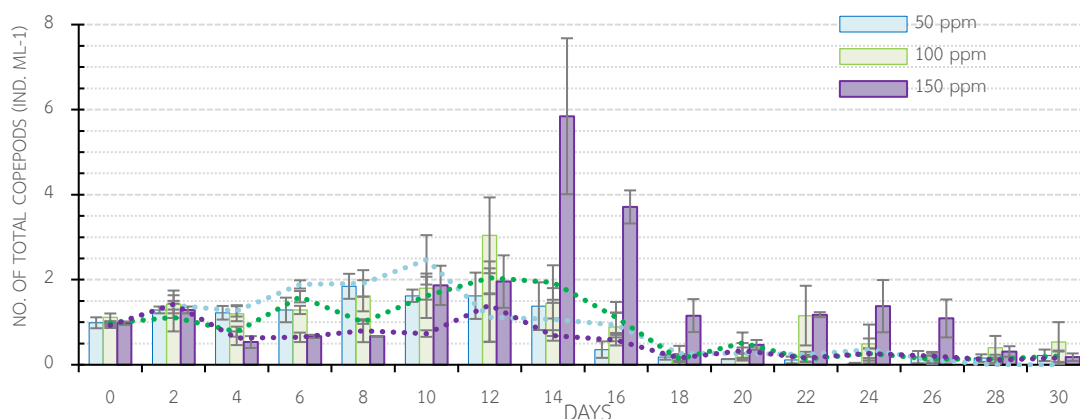


Figure 4 Number of total copepods (ind./mL) at three different concentrations, 50, 100, 150 ppm and two different frequencies, first feeding only and second feeding on day 4 after first feeding

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยที่ทดสอบ คือ ความเข้มข้นของอาหารและจำนวนครั้งของการให้อาหารต่อการเพิ่มจำนวนของโคฟิพอด ผลการทดลองพบว่าความหนาแน่นของโคฟิพอดที่เพิ่มขึ้นสูงสุดนั้นเกิดจากอิทธิพลร่วมกันของความเข้มข้นของอาหารและจำนวนครั้งที่ให้อาหาร ($p<0.05$) (Figure 4) และเมื่อพิจารณาปัจจัยทดสอบแต่ละปัจจัยพบว่าความหนาแน่นของโคฟิพอดมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของอาหารที่ให้ (Figure 5 (a)) หรือจำนวนครั้งที่ให้อาหารเพิ่มขึ้น (Figure 5 (b)) เช่นกัน ($p<0.05$) โดยความหนาแน่นโคฟิพอดที่พบสูงสุดในการทดลองที่ให้อาหารเพียงครั้งเดียวตลอดการทดลองที่ความเข้มข้นสูง 150, 100, และ 50 ppm (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE) เท่ากับ 6.4 ± 1.4^a , 3.4 ± 0.6^{ab} , 2.3 ± 0.1^b ตัวต่อมิลลิลิตร และในขณะที่เมื่อให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็นสองครั้งใน

วันที่สี่ของการทดลอง พบว่าความเข้มข้นที่ต่างกัน 50, 100 และ 150 ppm พบว่าที่ความเข้มข้นของอาหารต่ำความหนาแน่นของโคฟีพอดกับมีค่าสูง แต่ไม่มีผล ($p>0.05$) โดยความหนาแน่นสูงสุดของโคฟีพอดค่าเท่ากับ ($\pm$ SE) 2.7 ± 0.4 , 2.4 ± 0.3 , 2.1 ± 0.5 ตัวต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสาเหตุที่เนื่องมาจากโคฟีพอดชีวิตมีวงจรชีวิตอยู่ระหว่าง 20-30 วัน การเลี้ยงโคฟีพอดสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เมื่อจำนวนโคฟีพอดเพิ่มสูงสุดซึ่งอยู่ในช่วง 10-25 วัน (ขึ้นอยู่กับชนิด) (Santhosh et al., 2018) การเพิ่มอาหารเข้าไปในวันที่ 4 ขณะที่ความหนาแน่นของโคฟีพอดยังอยู่ในระดับต่ำ (เฉลี่ย 0.9 ตัวต่อมิลลิลิตร) ใกล้เคียงกับเมื่อเริ่มต้น (เฉลี่ย 1.0 ตัวต่อมิลลิลิตร) อาหารที่ให้จึงมากเกินไปจนเกิดการเน่าเสีย ส่งผลต่อคุณภาพของน้ำ และส่งผลกระทบต่อโคฟีพอด ซึ่งคุณภาพน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญและเป็นปัจจัยจำกัดของการเพาะเลี้ยงโคฟีพอด (Jepsen et al., 2018)

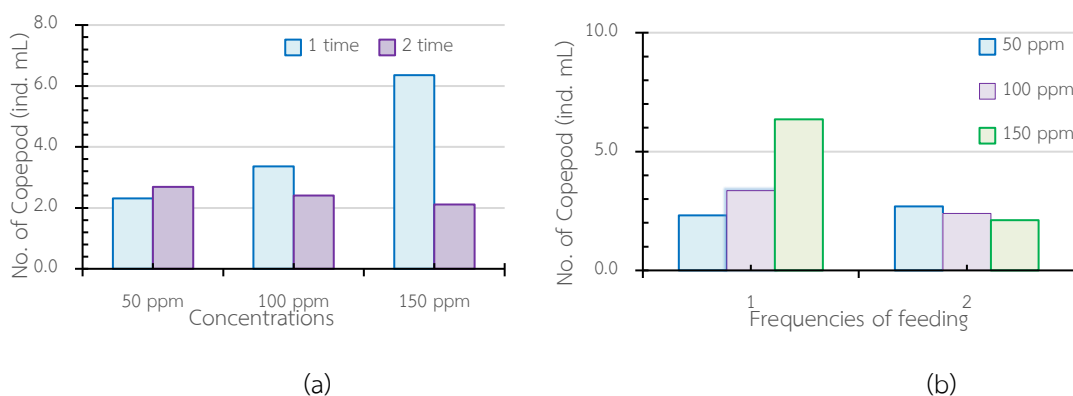


Figure 5 Effect of food (fermented rice bran) different three concentrations, two frequencies, and two frequencies, three concentrations to the higher density of copepods (ind./mL)

ประเภท ขนาด และระยะของการเจริญเติบโตของโคฟีพอดที่พบในการทดลอง

ผลการจำแนกกลุ่มของโคฟีพอดที่พบในการทดลองนี้ พบว่าประกอบไปด้วยโคฟีพอดสามกลุ่มด้วยกัน คือ ไชโคลพอยด์ หรือคาลานอยด์หรือฮาร์แพคติกอยด์และพบระยะของการเจริญสามระยะด้วยกัน คือ ระยะนาอพลีซ โคฟีพอดิต ตัวเต็มวัยและตัวเต็มวัยที่มีไข่ (Figure 6-8)



Figure 6 Calanoid copepod of stage Nauplius (left) Copepodite (mid) Adult (Right) (Note: not to scale)



Figure 7 Cyclopoid copepod of stage Nauplius (left) Copepodite (mid) Adult (Right) (Note: not to scale)



Figure 8 Harpacticoid copepod of stage Nauplius (left) Copepodite (mid) Adult (Right) (Note: not to scale)

เมื่อทำการสุ่มตัวอย่างโคพีพอดกลุ่มต่าง ๆ ที่พบในการทดลองครั้งนี้มาบันทึกภาพและวัดขนาดพบว่า ระยะนอเพลียสของโคพีพอดที่พบมีขนาดความกว้างลำตัว (Width of cephalothorax) อยู่ในช่วง 51-102 ไมโครเมตร และมีความยาวทั้งหมด อยู่ในช่วง 71-193 ไมโครเมตร (Figure 9) ส่วนระยะโตเต็มวัยมีความลึกของลำตัว (Body depth) อยู่ในช่วง 71-132 ไมโครเมตร และมีความยาว (Total length = length of cephalothorax + length of abdomen) อยู่ในช่วง 223-469 ไมโครเมตร (Figure 10)

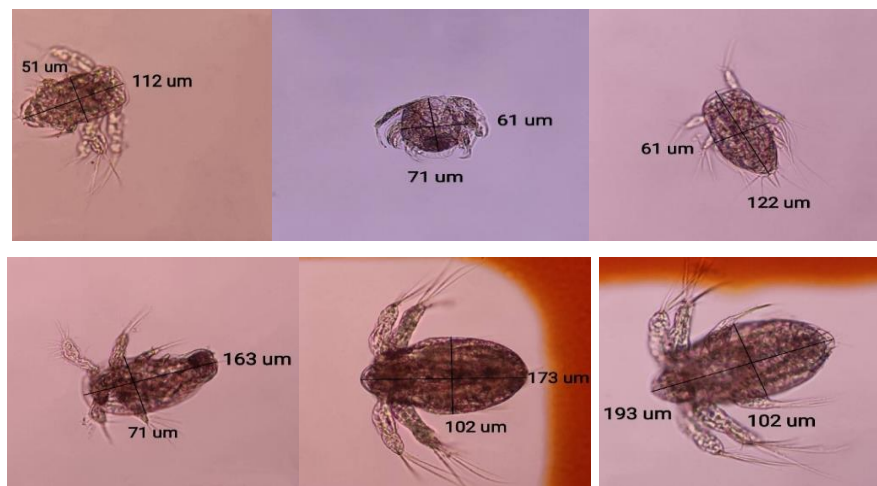


Figure 9 Copepod nauplii stage of Width of cephalothorax and Total length (micrometer)

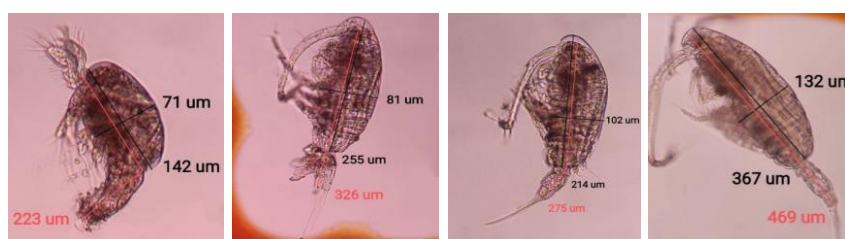


Figure 10 Copepod adult stage of Width of cephalothorax and Total length (micrometer)

ผลการวิเคราะห์สัดส่วนของโคพีพอดกลุ่มต่าง ๆ ที่พบเมื่อโคพีพอดเพิ่มจำนวนจนมีความหนาแน่นสูงสุดของแต่ละชุดทดลอง พบว่ากาลานอยด์โคพีพอดเป็นกลุ่มเด่นที่พบมากที่สุดในทุกชุดการทดลอง คิดเป็นร้อยละ 64.9 ของโคพีพอดที่พบรวมทั้งหมด รองลงมาคือไซโคลพอยด์โคพีพอดพบร้อยละ 23.3 และที่พบเป็นสัดส่วนน้อยที่สุด คือ ฮาร์แพคติกอยด์โคพีพอดพบเพียงร้อยละ 11.8 ของจำนวนโคพีพอดรวม (Figure 11)

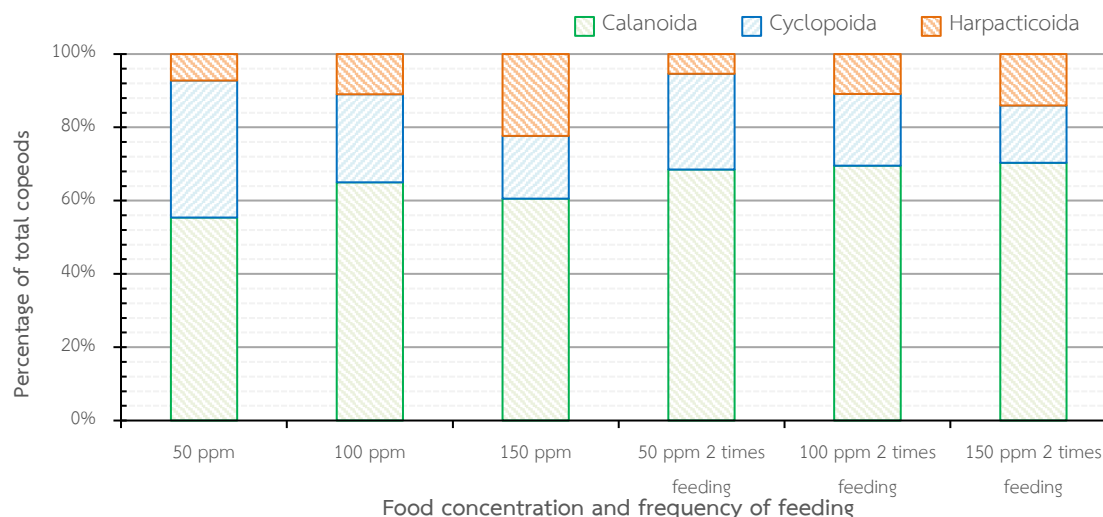


Figure 11 the percentage of all order of copepod (Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida)

ผลการวิเคราะห์สัดส่วนร้อยละ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE) ของระยะการเจริญเติบโตของโคพีพอดที่พบตลอดการทดลองที่แสดง (Figure 12) พบว่า ระยะการเจริญเติบโตของโคพีพอดที่พบมากที่สุดตลอดการทดลอง คือ ตัวเต็มวัยและนอเพลียสซึ่งพบเป็นสัดส่วนมากถึงร้อยละ 38.9 $\pm$ 2.0 และร้อยละ 37.0 $\pm$ 1.7 ของโคพีพอดทั้งหมด รองลงมาคือโคพีพอดที่พบเป็นสัดส่วนร้อยละ 23.6 $\pm$ 1.4 ส่วนตัวเต็มวัยที่มีถุงไข่พบน้อยที่สุดเพียงร้อยละ 0.5 $\pm$ 0.2

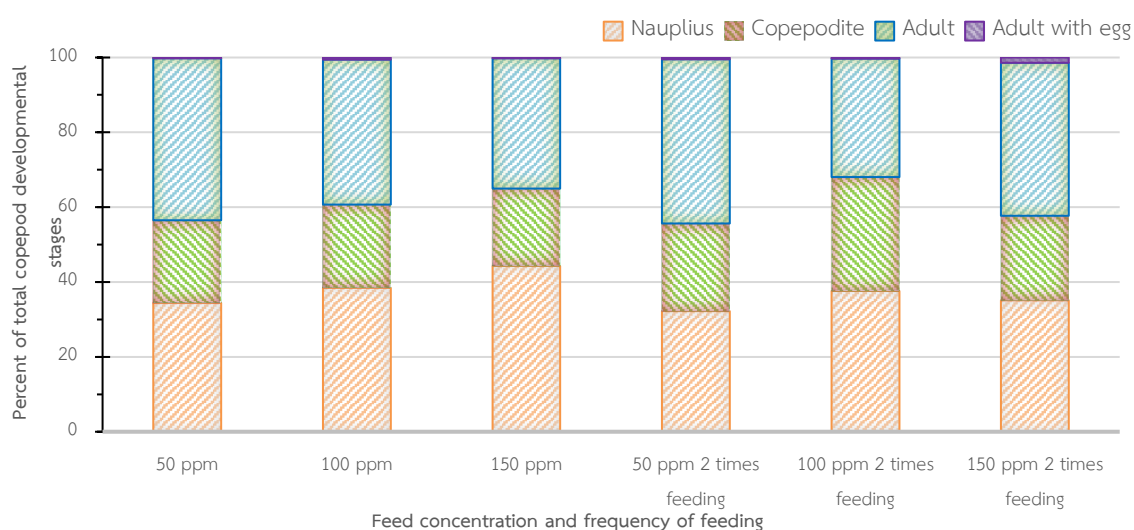


Figure 12 the percentage of all stages of copepod (Nauplius, Copepodite, Adult, Adult with egg)

สรุปผลการศึกษา

ผลการทดลองใช้รำหมักเป็นอาหารของโคพีพอดจากธรรมชาติพบว่าสามารถใช้รำหมักที่เติมลงไปเป็นอาหารได้ความหนาแน่นของโคพีพอดเริ่มเพิ่มจำนวนมากขึ้นตั้งแต่วันที่ 6 และเพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วงวันที่ 8-16 หลังจากการให้อาหารครั้งแรก ในขณะที่ความถี่ในการให้อาหาร 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งของการให้อาหารเป็น 2 ครั้ง ในวันที่ 4 ของการทดลอง ทำให้ความหนาแน่นของโคพีพอดต่ำกว่าการให้อาหารเพียงครั้งเดียว ซึ่งผลการทดลองปรากฏชัดเจนในชุดการทดลองที่ให้อาหารความเข้มข้นสูงสุด (150 ppm) ทั้งการให้อาหาร 1 และ 2 ครั้ง โดยพบว่าความหนาแน่นโคพีพอดต่ำกว่าในชุดการทดลองที่ให้อาหารความเข้มข้นต่ำกว่า (50 และ 100 ppm) สรุปได้ว่าการเพาะเลี้ยงโคพีพอดโดยใช้รำหมัก ควรให้อาหารเพียงครั้งเดียว ที่

ความเข้มข้น 150 ppm และควรเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อโคฟีพอดเพิ่มจำนวนสูงสุดในช่วง 12-14 วัน ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาปกติของการเก็บเกี่ยวผลผลิต เพราะโคฟีพอดจะเพิ่มจำนวนสูงสุดในช่วง 10-20 วัน (ขึ้นอยู่กับชนิด) และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงปริมาณความเข้มข้นของอาหาร (รำหุง) และช่วงเวลาที่ต้องมีการให้อาหารเพิ่มอีกครั้ง เพื่อให้สัมพันธ์กับความต้องการของโคฟีพอดที่ต้องการเลี้ยงในบ่อเลี้ยงโคฟีพอดจำนวนมากจากธรรมชาติต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2563 ภายใต้โครงการวิจัย เรื่อง การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเลสวยงาม กลุ่มปลาชนิดหิน (Damselfishes) ปลาตู้ (Gobies) และกุ้งมดแดง (Dancing shrimp) จากธรรมชาติสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ โดย ดร.วรเทพ มุธุวรรณ หัวหน้าโครงการวิจัย และสำเร็จได้ด้วยความร่วมมือจากหลายหน่วยงาน คือ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา, คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำเพชรบุรี กรมประมง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมให้งานวิจัยนี้สำเร็จตลอดระยะเวลาของโครงการวิจัยจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Aquamimicry. (2014). **Protocol for an Extensive Aqua Mimicry Aquaculture: Natural Synbiotics Management 'Extensive Culture)**. Retrieved from: <https://baxelcompany.com>
- Chakravarty, S., Kumar, S., & Prakash, S. (2018). Back to the Basics: Biomimicry in Shrimp Farming. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 7(5), 2172-2184. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.253>.
- De, Taily. J-B. D. (2019). Study of an economical shrimp farming protocol aiming at improving control over water quality. **Skretting a Nutreco Company**. Retrieved from: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>
- Jepsen, M. P., Christina, V. T., Thibaut, Carron-Cabaret., Aleix, Pinyol-Gallemlé., Søren, L. N., & Benni, W. H. (2018). Effects of salinity, commercial salts, and water type on cultivation of the Cryptophyte Microalgae *Rhodomonas salina* and the Calanoid Copepod *Acartia tonsa*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 50(1), 104-118. <https://doi.org/10.1111/jwas.12508>
- Magouz, F. I., Essa, M. A., Matter, M., Tageldein Mansour, A., Alkafafy, M., & Ashour, M. (2021). Population Dynamics, Fecundity and Fatty Acid Composition of *Oithona nana* (Cyclopoida, Copepoda), Fed on Different Diets. **Animals an Open Access Journal from MDPI**, 11(5), 1188. <https://doi.org/10.3390/ani11051188>
- Mubarak, A. S., Jusadi, D., Junior, M. Z., & Suprayudi, M. A. (2017). The population growth and the nutritional status of *Moina macrocopa* feed with rice bran and cassava bran suspensions. **Journal Akuakultur Indonesia**, 16(2), 223-233.
- Nisar, U., Peng, D., Mu, Y., & Sun, Y. (2022). A Solution for sustainable utilization of aquaculture waste: a comprehensive review of biofloc technology and aquamimicry. **Frontiers in Nutrition**, 8, 791738. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.791738>
- Romano, N., & Kumar, V. (2017). Vegetarian shrimp: Pellet-free shrimp farming. **World Aquaculture**, 48(4), 36-39.
- Santhosh, B., Anil, M. K., Anzeer, F. M., Aneesh, K. S., Abraham, M. V., Gopakumar, G., George, R. M., Gopalakrishnan, A., & Unnikrishnan, C. K. (2018). **Culture Techniques of Marine Copepods**. ICAR-Central Marine Fisheries Research Institute, Kochi Kerala India.