

การเพาะเลี้ยงโคพีพอด *Apocyclops royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis suecica* แบบสาหร่ายสดและแบบสาหร่ายเข้มข้นที่เก็บรักษาด้วยความเย็น

Cultivation of Copepod *Apocyclops royi* AMBT201601 Using Microalga *Tetraselmis suecica* in Fresh and Cold-Storage Concentrated Forms

ปวีณา ตปนียารวงศ์^{1,2}, ชลธิชา ช้อยสูงเนิน³, กนิษฐา บุญยโรจน์³, พชร โยควิบูล^{1,2}, ปาริชาติ ชุมทอง^{1,2}, สรวิศ เผ่าทองสุข^{1,2},
จันทรจักร วัฒนะโชติ⁴, ฉัตรดนัย ไชยหาญ³ และมะลิวัลย์ कुตะโค^{3*}

Paveena Tapaneeyaworawong^{1,2}, Chonthicha Choysungnoen³, Kanistha Boonyarot³, Patchari Yocawibun^{1,2},
Parichat Chumtong^{1,2}, Sorawit Powtongsook^{1,2}, Janjarus Watanachote⁴, Chatdanai Chaihar³ and Maliwan Kutako^{3*}

Received date: 22 พ.ย. 67 Revised date: 25 ก.พ. 68 Accepted date: 21 มี.ค. 68

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.265231>

บทคัดย่อ

โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นอาหารมีชีวิตสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน การเพาะเลี้ยงโคพีพอดมักใช้สาหร่ายขนาดเล็กเป็นอาหาร งานวิจัยนี้จึงได้เพาะเลี้ยงโคพีพอด *Apocyclops royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่าย *Tetraselmis suecica* โดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่มีการเติมสาหร่ายสดและชุดทดลองที่เติมสาหร่ายเข้มข้นที่เตรียมจากสาหร่ายสดที่นำมากรองให้มีความเข้มข้นสูงและเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส การทดลองนี้ได้เพาะเลี้ยงโคพีพอดในขวดแก้วปริมาตร 1 ลิตร ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิและให้แสงตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่าการใช้สาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้นเป็นอาหารโคพีพอด ส่งผลให้จำนวนโคพีพอดทุกระยะรวมสูงสุดใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ย $42,000 \pm 5,393$ และ $49,333 \pm 7,910$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อมีการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเป็น 50 ลิตร ภายใต้สภาวะโรงเรือนที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าจำนวนโคพีพอดทุกระยะรวมสูงสุดจากการใช้สาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้นเป็นอาหารมีค่าใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) คือเท่ากับ $18,133 \pm 6,047$ และ $14,067 \pm 2,757$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของโคพีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้น พบว่าโคพีพอดมีองค์ประกอบกรดไขมันที่คล้ายคลึงกัน ($p>0.05$) โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด 18:3n3 มากถึง 3.19-3.64% ของกรดไขมันทั้งหมด และยังพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดอื่นได้แก่ 22:6n3 20:5n3 และ 20:4n6 จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าสามารถเพาะเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่าย *T. suecica* แบบเข้มข้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลผลิตโคพีพอดที่ได้สามารถนำไปใช้ในการอนุบาลลูกปลาหรือลูกกุ้งวัยอ่อนได้ เนื่องจากมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่จำเป็นต่อการเติบโตของสัตว์น้ำ

คำสำคัญ: ไซโคลพอยด์โคพีพอด *Apocyclops royi* สาหร่ายเข้มข้น *Tetraselmis suecica* การเพาะเลี้ยง

Abstract

Copepods play a vital role in aquatic food webs and are a key live feed for the larval stages of aquatic organisms. This study investigates the cultivation of the cyclopoid copepod *Apocyclops royi* AMBT201601 using the microalgae *Tetraselmis suecica*, and compares the effects of fresh and concentrated microalgae diets. The concentrated microalgae were high-density microalgae that had been filtered and stored at 5°C. Copepods were cultured in 1-L glass bottles under controlled laboratory conditions with continuous illumination and temperature control. The results showed no significant differences ($p>0.05$) in the maximum total density of copepod (nauplii and adult) between the fresh and concentrated microalgae, with average densities of $42,000 \pm 5,393$ and $49,333 \pm 7,910$ individuals/L, respectively. The cultivation scale was then expanded to 50 L under indoor conditions with ambient temperature. It was found that maximum copepod densities remained

¹ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ปทุมธานี 12120

² ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

³ สาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จันทบุรี 22170

⁴ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

¹ National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Pathum Thani 12120

² Center of Excellence for Marine Biotechnology, Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

³ Program in Marine Technology, Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi 22170

⁴ Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131

* Corresponding author: maliwan@buu.ac.th

comparable ($p>0.05$) between treatments, averaging $18,133 \pm 6,047$ and $14,067 \pm 2,757$ individuals/L for fresh and concentrated microalgae, respectively. Fatty acid analysis showed no significant differences ($p>0.05$) in composition between copepods fed with fresh and concentrated *T. suecica*. The polyunsaturated fatty acid (PUFA) 18:3n3 represented 3.19–3.64% of total fatty acids, with essential PUFAs such as 22:6n3, 20:5n3, and 20:4n6 also detected. The results indicate that *A. royi* AMBT201601 can be successfully cultured with concentrated *T. suecica* while maintaining density and nutritional quality. This method provides a viable approach for producing copepods as live feed for juvenile fish and shrimp, ensuring the availability of essential PUFAs necessary for their growth and development.

Keywords: cyclopoid copepod, *Apocyclops royi*, concentrated microalgae, *Tetraselmis suecica*, culture

คำนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีความสำคัญต่อประเทศไทยเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นการบริโภคภายในประเทศหรือเพื่อส่งออก สิ่งที่สำคัญอย่างหนึ่งในการทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประสบความสำเร็จคืออาหาร โดยเฉพาะในช่วงของการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน หากได้อาหารที่มีคุณภาพจะช่วยให้ลูกสัตว์น้ำแข็งแรงและมีอัตราการรอดสูง การมีแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีคุณภาพขนาดที่เหมาะสม และปริมาณที่เพียงพอจะทำให้การเพาะพันธุ์สัตว์น้ำเศรษฐกิจประสบความสำเร็จมากขึ้น

โคพีพอด (copepod) เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ และมีรายงานถึงคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสมกับการใช้เป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำ เพราะโคพีพอดเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Highly Unsaturated Fatty Acids, HUFA's) เช่น Docosahexaenoic Acid (DHA), Eicosapentaenoic Acid (EPA) และ Arachidonic Acid (ARA) (Watanabe et al., 1983) ซึ่งปริมาณกรดไขมันจะแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดของโคพีพอดและสาหร่ายที่ใช้เป็นอาหาร นอกจากนี้โคพีพอดยังมีความได้เปรียบทั้งโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียในเรื่องของขนาด เพราะโคพีพอดเติบโตโดยการลอกคราบจนถึงระยะตัวเต็มวัย (adult) มีระยะรวม 12 ระยะ แบ่งเป็นระยะนอเพลียส (naupliar stages) 6 ระยะ โคพีพอดิต (copepodite stage) 5 ระยะ และระยะตัวเต็มวัย โคพีพอดจึงมีขนาดที่แตกต่างกันตลอดระยะการพัฒนานจนถึงตัวเต็มวัย ทำให้โคพีพอดมีส่วนช่วยในการพัฒนาตัวอ่อนของลูกปลา โดยตัวอ่อนระยะนอเพลียสสามารถใช้เป็นอาหารให้ลูกสัตว์น้ำขนาดเล็กที่เริ่มกินอาหารได้ เนื่องจากโคพีพอดระยะดังกล่าวมีขนาดเหมาะสมต่อช่องปากของสัตว์น้ำวัยอ่อนและยังย่อยได้ง่าย (Juntarut, 2015)

สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) มีบทบาทสำคัญต่อสัตว์น้ำระยะวัยอ่อน และจำเป็นต้องใช้ในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น โรติเฟอร์และโคพีพอด หากการเพาะเลี้ยงเพื่อขยายสาหร่ายขนาดเล็กมีปัญหา ก็อาจส่งผลถึงการเพาะเลี้ยงของโคพีพอดด้วย ดังนั้นการเลือกใช้สาหร่ายเข้มข้นหรือสาหร่ายพร้อมใช้งาน อาจเป็นหนึ่งทางเลือกที่สามารถช่วยในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อเพิ่มจำนวนสำหรับใช้ออนุบาลลูกสัตว์น้ำประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น โดยมีการรายงานถึงการใช้สาหร่ายที่ผ่านการเก็บรักษาในรูปแบบต่างๆ ที่พร้อมใช้งานในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ เพราะช่วยลดต้นทุนและลดความเสี่ยงจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก (Sales et al., 2019) และที่ผ่านมามีรายงานการใช้สาหร่ายเข้มข้นในแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มโรติเฟอร์ โดย Seychelles et al. (2009) รายงานว่า การใช้สาหร่ายสดหรือสาหร่ายเข้มข้นในการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในโรติเฟอร์ไม่แตกต่างกัน Sales et al. (2019) รายงานว่าการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Nannochloropsis oculata* เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารของโรติเฟอร์ *Brachionus* sp. สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) และการรวมตะกอน (flocculation) สามารถใช้งานได้ดี แต่วิธีการรวมตะกอนจะได้ตะกอนที่มีขนาดใหญ่ จึงยากต่อการกินของแพลงก์ตอนสัตว์ และ Chainark et al. (2017) ได้ทำการเพาะเลี้ยงคาลานอยด์โคพีพอด (calanoid copepod) *Pseudodiaptomus annandalei* ด้วยสาหร่ายเข้มข้นที่ได้จากวิธีปั่นเหวี่ยง พบว่าการใช้สาหร่ายเข้มข้นแบบผสม (*Chaetoceros* sp. + *Isochrysis* sp. + *Nannochloropsis* sp.) ส่งผลให้ความหนาแน่นของโคพีพอด *P. annandalei* สูงถึง 2,802 ตัวต่อมิลลิลิตร นอกจากการใช้สาหร่ายเข้มข้นหรือสาหร่ายที่พร้อมใช้งานในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์แล้ว Hassan et al. (2021) ได้รายงานการใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana* เข้มข้น (ชื่อทางการค้า *Isochrysis* 1800®) เลี้ยงหอย *Mercenaria mercenaria* พบว่าการใช้สาหร่าย *I. galbana* สดผสมกับเข้มข้น ให้การเติบโตต่ำกว่าการใช้สาหร่ายสด ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ Albentosa et al. (1997) ที่พบว่าการเพาะเลี้ยงหอย *Ruditapes decussatus* ด้วยสาหร่าย *I. galbana*, clone T-ISO แบบสด ทำให้หอยมีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาคือแบบเข้มข้น แบบแช่แข็ง และแบบแห้งเยือกแข็ง ตามลำดับ จากรายงานข้างต้นจึงแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายที่ผ่านการเก็บรักษาสภาพ

หรือสาหร่ายเข้มข้นในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ และแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มโรติเฟอร์ แต่ยังไม่มียางงานการใช้สาหร่ายรูปแบบดังกล่าวในไซโคลพอยด์โคพีพอด (cyclopoid copepod) เช่น *Apocyclops* sp.

โคพีพอด *Apocyclops royi* AMBT201601 เป็นสายพันธุ์ท้องถิ่นประเทศไทย คัดแยกได้จากคลองชลประทานในจังหวัดจันทบุรี ซึ่งโคพีพอดชนิดนี้มีเนื้อเพื่อยขนาดเล็ก เท่ากับ 80-150 ไมโครเมตร ส่วนระยะโคพีพอดถึงตัวเต็มวัยมีขนาดในช่วง 300-600 ไมโครเมตร และมีวงจรชีวิตสั้น (Taibta et al. 2017) รวมถึงเติบโตได้ด้วยความเค็มและอุณหภูมิในช่วงกว้าง สามารถใช้สาหร่ายได้หลากหลายชนิดมาเป็นอาหาร สามารถสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวจากกรดไขมันสายสั้นได้ ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของโคพีพอดชนิดนี้เพราะสามารถสังเคราะห์กรดไขมันสายยาวได้เอง (Desvillettes et al. 1997, Monroig et al. 2013, Rasdi et al. 2016) ซึ่งมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการรอดและการเติบโตของสัตว์น้ำที่นำไปใช้เลี้ยง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทดลองเพาะเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่าย *Tetraselmis suecica* ทั้งรูปแบบสาหร่ายสดและเข้มข้น โดยเพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการเพื่อทราบถึงความเป็นไปได้ในการใช้สาหร่ายเข้มข้นในการเพาะเลี้ยงโคพีพอด และขยายปริมาณการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในถังในสภาวะนอกห้องปฏิบัติการ เพื่อทราบถึงความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอด และแนวทางการใช้สาหร่ายเข้มข้นสำหรับเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงโคพีพอด ข้อมูลจากการวิจัยนี้สามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้ผลิตโคพีพอดซึ่งเป็นอาหารมีชีวิตของสัตว์น้ำวัยอ่อนได้

วิธีการศึกษา

การเตรียมสาหร่าย *Tetraselmis suecica*

เพาะเลี้ยงสาหร่าย *T. suecica* 2 รูปแบบ คือ (1) เพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตร F/2 (Guillard, 1975) ที่เตรียมจากน้ำทะเล ความเค็ม 25 พีเอสยู ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที วางขวดเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ ให้แสงความเข้ม 5,500 ลักซ์ และเติมอากาศตลอดเวลา สาหร่ายที่ได้จะใช้สำหรับทดลองเลี้ยงโคพีพอด ปริมาตร 1 ลิตร และ (2) เลี้ยงสาหร่ายในถังพลาสติกอะคริลิกใสทรงกระบอก ปริมาตร 50 ลิตร ในสภาวะนอกห้องปฏิบัติการให้แสงความเข้ม 1,800 ลักซ์ ตลอดเวลา สาหร่ายที่ได้จะนำไปเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงโคพีพอดในถัง 50 ลิตร สาหร่ายจากทั้ง 2 รูปแบบการเลี้ยง ได้นำไปใช้เป็นอาหารโคพีพอดทั้งในรูปแบบอาหารสดและเข้มข้น โดยเตรียมสาหร่ายเข้มข้นด้วยวิธีการกรองและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งสาหร่ายเข้มข้นที่รักษาด้วยวิธีแช่เย็น ได้เตรียมใหม่ทุก 7 วัน เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมโคพีพอด *Apocyclops royi* AMBT201601

เพาะเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* ให้แสงความเข้ม 5,500 ลักซ์ และเติมอากาศตลอดเวลา โดยโคพีพอดที่ใช้ในการทดลองเลี้ยง ปริมาตร 1 ลิตร เตรียมโคพีพอดในขวดแก้ว ปริมาตร 5 ลิตร ที่บรรจุอาหาร F/2 (Guillard, 1975) ปริมาตร 4.25 ลิตร เติมห่วงเชื้อสาหร่าย 0.25 ลิตร และเพาะเลี้ยงให้สาหร่ายเติบโต จึงเติมโคพีพอด ปริมาตร 0.5 ลิตร ส่วนการทดลองเลี้ยงโคพีพอดในถังปริมาตร 50 ลิตร ได้เตรียมโคพีพอดโดยเลี้ยงโคพีพอดในพลาสติกโพลีคาร์บอเนต ปริมาตร 10 ลิตร ที่บรรจุอาหาร F/2 (Guillard, 1975) ปริมาตร 8.5 ลิตร เติมห่วงเชื้อสาหร่าย 0.5 ลิตร และเพาะเลี้ยงให้สาหร่ายเติบโต จากนั้นเติมโคพีพอด ปริมาตร 1 ลิตร เมื่อโคพีพอดเพิ่มจำนวนมากขึ้น จึงนำไปใช้ในการทดลอง

การเติบโตของโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้นและสาหร่ายสด ในระบบการเลี้ยง ปริมาตร 1 ลิตร

ทดลองเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ในขวดแก้ว ปริมาตรการเลี้ยง 1 ลิตร ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิในช่วง 25-27 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้ม 5,500 ลักซ์ และเติมอากาศที่ผ่านชุดตัวกรอง 0.22 ไมโครเมตร ตลอดเวลา ชุดการทดลองประกอบด้วย (1) ทำการเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* สด เริ่มจากเติมห่วงเชื้อสาหร่าย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในอาหารสูตรกลิลาร์ด F/2 (Guillard, 1975) ปริมาตร 700 มิลลิลิตร นำขวดเลี้ยงสาหร่ายวางบนชั้นไฟ ร้อนสาหร่ายเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ (3 วัน) ความหนาแน่นประมาณ $200.0 \pm 73.0 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จึงเติมห่วงเชื้อโคพีพอด ปริมาตร 200 มิลลิลิตร มีจำนวนโคพีพอดรวมทุกระยะเริ่มต้น เท่ากับ $2,148 \pm 1,002$ ตัวต่อลิตร และ (2) เลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้น โดยเติมโคพีพอดที่กรองผ่านผ้ากรอง ขนาดรูพรุน 33 ไมโครเมตร (เพื่อแยกสาหร่าย *T. suecica*) ลงในขวดเลี้ยงที่บรรจุน้ำทะเล ความเค็ม 25 พีเอสยู ปริมาตร 1 ลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวนโคพีพอดรวมทุกระยะมีจำนวนเริ่มต้น เท่ากับ $3,037 \pm 1,263$ ตัวต่อลิตร เติมหาสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้น ให้มีความหนาแน่นเริ่มต้นประมาณ $73.1 \pm 5.0 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในระหว่างการทดลองเมื่อพบว่าจำนวนสาหร่ายเริ่มลดลงได้เติมหาสาหร่ายให้กับโคพีพอด โดยในชุดที่เลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายสด ได้ดูดน้ำจากขวดเลี้ยงโคพีพอด ประมาณ 30% ของปริมาตรทั้งหมด (หรือ 300 มิลลิลิตร) ผ่านผ้ากรอง (33

ไมโครเมตร) และเติมสาหร่าย *T. suecica* ปริมาตร 300 มิลลิลิตร กลับลงไปในช่วงเลี้ยงโคฟิพอด ส่วนชุดที่เลี้ยงโคฟิพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้น ได้ดูน้ำเลี้ยงโคฟิพอดออกจากขวดเลี้ยง ประมาณ 30% ของปริมาตรทั้งหมด (300 มิลลิลิตร) ผ่านผ้ากรองขนาดรูพรุน 33 ไมโครเมตร เติมน้ำทะเลความเค็ม 25 พีเอสยู ที่ฆ่าเชื้อแล้ว และสาหร่ายเข้มข้น *T. suecica* ลงไป 10-50 มิลลิลิตร แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ชุด และในระหว่างทดลองได้ติดตามนับจำนวนโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 ด้วยสไลด์นับแพลงก์ตอน (Sedgewick rafter) และนับจำนวนสาหร่าย *T. suecica* ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นประจำวัน และเมื่อพบว่าสาหร่ายในขวดเพาะเลี้ยงโคฟิพอดลดลงจะทำการเติมสาหร่ายลงในขวดเพาะเลี้ยงโคฟิพอด และตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียตามวิธีของ Bower and Holm-Hansen (1980) ทุกวัน

การเติบโตของโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* แบบเข้มข้นและสาหร่ายสด ในระบบการเลี้ยง ปริมาตร 50 ลิตร

ทดลองเพาะเลี้ยงโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 ในถังโปร่งแสงขนาด 50 ลิตร ที่ทำจากอะคริลิก (acrylic) ซึ่งเป็นถึงรูปทรงก้นกรวย มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 เซนติเมตร และความสูง 47 เซนติเมตร (Figure 1) โดยวางถังในโรงเพาะฟักที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ในระหว่างการทดลองให้แสงความเข้ม 1,800 ลักซ์ และมีการเติมอากาศตลอดเวลา

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ชุด คือ (1) การเพาะเลี้ยงโคฟิพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* สด เริ่มจากการเติมน้ำทะเลที่มีความเค็ม 25 PSU ปริมาตร 35 ลิตร ลงในถัง จากนั้นเติมคลอรีนเมต (Seprivet 3.0) ตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์ (2 มิลลิกรัม/ลิตร) เพื่อฆ่าเชื้อในน้ำ และเติมอากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายอาหารสูตรกิลลาร์ด F/2 (Guillard, 1975) และหัวเชื้อสาหร่าย *T. suecica* ปริมาตร 5 ลิตร เมื่อสาหร่ายเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ย $10.3 \pm 4.0 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จึงเติมหัวเชื้อโคฟิพอด ปริมาตร 10 ลิตร โดยให้ความหนาแน่นของโคฟิพอดเริ่มต้นทุกระยะ เท่ากับ $1,800 \pm 656$ ตัวต่อลิตร ในระหว่างการทดลองเมื่อพบว่าสาหร่ายในถังเลี้ยงโคฟิพอดลดลงน้อยกว่า 0.5×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ได้ทำการดูน้ำออกจากถังผ่านผ้ากรองขนาด 33 ไมโครเมตร เพื่อป้องกันไม่ให้โคฟิพอดหลุดออก โดยดูดเปลี่ยนถ่ายน้ำออก 15 ลิตร (ประมาณ 30% ของปริมาตรทั้งหมด) และเติมสาหร่ายสดในปริมาณเท่ากับน้ำที่เปลี่ยนถ่ายออก และ (2) การเพาะเลี้ยงโคฟิพอดด้วยสาหร่ายเข้มข้น ขั้นตอนการเตรียมน้ำและการฆ่าเชื้อดำเนินการเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงโคฟิพอดด้วยสาหร่ายสด แต่ไม่เติมอาหารเพาะสาหร่ายสูตรกิลลาร์ด F/2 และสาหร่าย *T. suecica* สด จากนั้นเติมหัวเชื้อโคฟิพอด ปริมาตร 10 ลิตร โดยกรองโคฟิพอดด้วยผ้ากรองขนาด 33 ไมโครเมตร เพื่อแยกสาหร่ายที่ยังมีชีวิตออก ก่อนจะใส่โคฟิพอดลงในถัง โดยให้ความหนาแน่นเริ่มต้นทุกระยะที่ $2,233 \pm 702$ ตัวต่อลิตร และเติมสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้นให้มีความหนาแน่นเริ่มต้น 1×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อจำนวนสาหร่ายในถังเพาะเลี้ยงโคฟิพอดลดลง ทำการดูน้ำออกและเติมสาหร่ายเข้มข้นเช่นเดียวกับการทดลองชุดแรก การทดลองแต่ละชุดทำซ้ำ 3 ครั้ง และนับจำนวนโคฟิพอดด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้สไลด์นับแพลงก์ตอน และนับจำนวนสาหร่ายด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด พร้อมทั้งตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียทุกวัน ด้วยวิธีมาตรฐาน Bower and Holm-Hansen (1980) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ได้กรองโคฟิพอดเพื่อนำมาสกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) ตามวิธีของ Folch et al. (1957) และ Christie (2003) ตามลำดับ

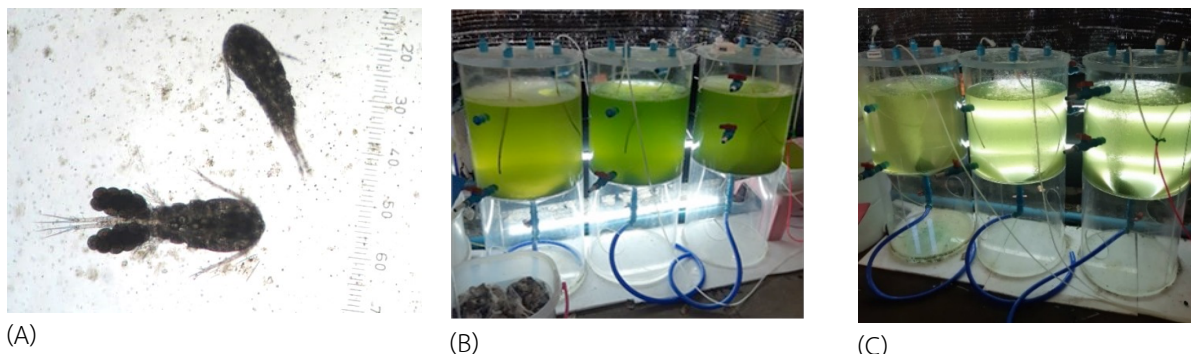


Figure 1 The cultivation of copepod *A. royi* AMBT201601 (A) using fresh (B) and concentrated microalgae *T. suecica* (C) in 50 L tanks

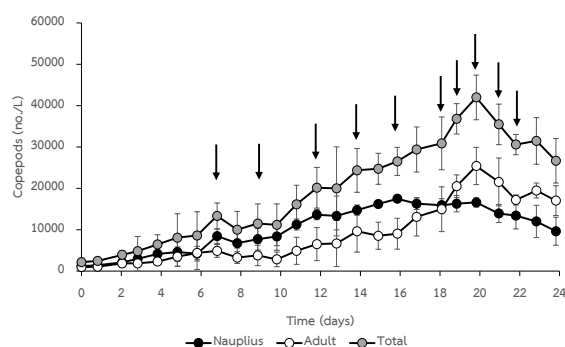
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

คำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนโคพีพอดสูงสุด ปริมาณแอมโมเนียและกรดไขมันของข้อมูลจากชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายสด และชุดทดลองที่ใช้สาหร่ายเข้มข้นที่รักษาด้วยการแช่เย็น จากนั้นใช้ T-test เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลในระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสถิติ R (Team, 2020)

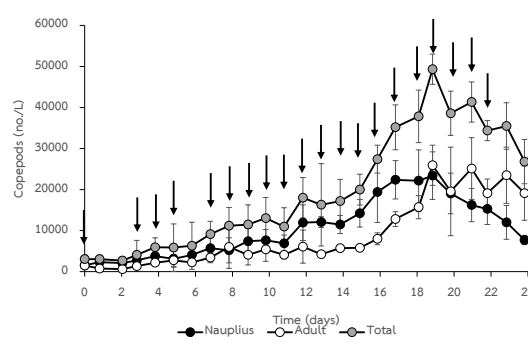
ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเติบโตของโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* สดและสาหร่ายเข้มข้นในระบบการเลี้ยงปริมาตร 1 ลิตร

ผลจากการทดลองพบว่า การเติบโตของโคพีพอดในทั้งชุดควบคุมที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายสด และชุดทดลองที่ใช้สาหร่ายเข้มข้น มีการเติบโตใกล้เคียงกัน โดยโคพีพอดที่ใช้สาหร่าย *T. suecica* สดเป็นอาหาร มีความหนาแน่นเริ่มต้นในระยะนอเพลียส $1,185 \pm 128$ ตัวต่อลิตร และในระยะตัวเต็มวัย $963 \pm 1,002$ ตัวต่อลิตร หลังจากนั้น โคพีพอดมีการเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่องจนความหนาแน่นของโคพีพอดในระยะนอเพลียสเฉลี่ยสูงสุดถึง $17,481 \pm 642$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 16 ของการเลี้ยง และความหนาแน่นของโคพีพอดในระยะตัวเต็มวัยสูงสุดเฉลี่ย $25,407 \pm 4,512$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 20 ของการเลี้ยง โดยความหนาแน่นรวมทุกระยะสูงสุด เท่ากับ $42,000 \pm 5,393$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 20 (Figure 2A) สำหรับการเพาะเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* แบบเข้มข้น เริ่มต้นที่ความหนาแน่นโคพีพอดในระยะนอเพลียส $1,556 \pm 801$ ตัวต่อลิตร และระยะตัวเต็มวัย $1,482 \pm 714$ ตัวต่อลิตร โคพีพอดมีการเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่อง โดยในวันที่ 19 ของการเลี้ยง ความหนาแน่นในระยะนอเพลียสและตัวเต็มวัยสูงสุด เท่ากับ $23,407 \pm 5,796$ และ $25,926 \pm 4,901$ ตัวต่อลิตร และความหนาแน่นรวมทุกระยะเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ $49,333 \pm 7,910$ ตัวต่อลิตร (Figure 2B) จึงเห็นได้ว่าโคพีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้น มีความหนาแน่นรวมทุกระยะสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



(A)



(B)

Figure 2 Growth of copepod *A. royi* AMBT201601 fed with fresh (A) and concentrated microalgae *T. suecica* (B) in 1 L glass bottle. Arrows indicate the removal of water from the copepod culture container, and then microalgae was added to the container as feed for the copepods.

เมื่อนำผลการศึกษาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ เช่น งานวิจัยของ Lee et al. (2013) ได้ศึกษาผลผลิตของโคพีพอดในกลุ่มไฮโคลพอยด์และฮาแพคติกอยด์ (harpacticoid copepod) ที่เพาะเลี้ยงในบีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร โดยใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana* ร่วมกับ *T. suecica* พบว่าโคพีพอด *A. royi* ที่เพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว ให้ความหนาแน่นสูงสุดประมาณ 17,000 ตัวต่อลิตร ขณะที่การศึกษาของ Farhadian et al. (2008) พบว่าโคพีพอด *A. dengizicus* ที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* ร่วมกับ *T. suecica* มีการเติบโตดีที่สุด โดยมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง 6,400-12,600 ตัวต่อลิตร ส่วนการใช้ *T. suecica* เพียงอย่างเดียว โคพีพอดให้ความหนาแน่นประมาณ 4,100-10,800 ตัวต่อลิตร และ Pan et al. (2017) พบว่าโคพีพอด *A. royi* ที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายต่างชนิดกัน มีผลรวมของโคพีพอดทุกระยะในวันสุดท้ายของการเลี้ยง เท่ากับ 4,777.5 ตัวต่อลิตร ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการเพาะเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่าย *T. suecica* ทั้งแบบสดและเข้มข้น สามารถให้ความหนาแน่นรวมทุกระยะ ($42,000 \pm 5,393$ และ $49,333 \pm 7,910$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ) ที่สูงกว่าหรือใกล้เคียงกับงานวิจัยอื่น ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำและการเติมสาหร่ายเป็นอาหารที่เพียงพอตลอดเวลา การติดตามปริมาณ

สาหร่าย *T. suecica* ในขวดเลี้ยง พบว่าจำนวนสาหร่ายค่อยๆ ลดลงเมื่อโคฟิพอดมีจำนวนเพิ่มขึ้น ซึ่งการเติมสาหร่ายสด 300 มิลลิลิตร ลงในขวดเลี้ยงโคฟิพอด ช่วยให้ปริมาณสาหร่ายเพียงพอต่อการเป็นอาหารตลอดเวลา สำหรับการเพาะเลี้ยงโคฟิพอดด้วยสาหร่ายเข้มข้น พบว่ามีจำนวนสาหร่ายเหลือในระบบอยู่ที่ความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย 44.4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นอกจากปริมาณสาหร่ายที่เพียงพอแล้ว คุณภาพน้ำที่เหมาะสมยังช่วยเพิ่มการเติบโตของโคฟิพอด โดยตลอดการทดลองปริมาณแอมโมเนียสูงสุดไม่เกิน 0.6 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร (Figure 3) ซึ่งอยู่ในระดับที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (Jepsen et al., 2015) ผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่าย *T. suecica* แบบเข้มข้น มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ทดแทนสาหร่ายสด เนื่องจากสามารถให้ความหนาแน่นโคฟิพอดที่ใกล้เคียงกับการใช้สาหร่ายสดเป็นอาหาร

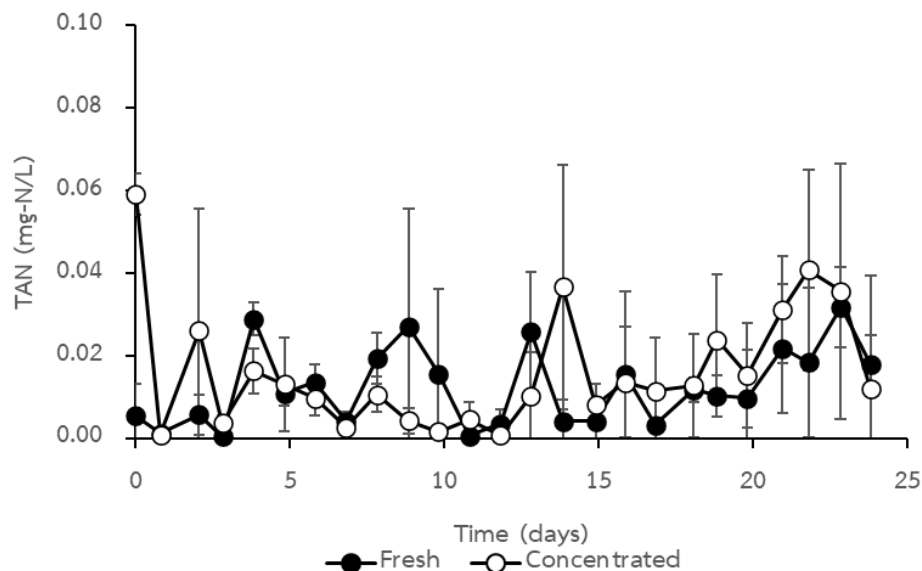


Figure 3 Ammonia concentration in copepod culture bottles during the 24 days experiment

การเติบโตของโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้นและสาหร่ายสด ในระบบการเลี้ยง ปริมาตร 50 ลิตร

การเพาะเลี้ยงโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 ในถังพลาสติกอะคริลิกใส ขนาด 50 ลิตร ทำการเพาะเลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยงที่มีอากาศถ่ายเท ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ แต่มีการให้แสงความเข้ม 1,800 ลักซ์ และเติมอากาศตลอดเวลา พบว่าการใช้สาหร่าย *T. suecica* แบบสด ส่งผลให้โคฟิพอดค่อยๆ เติบโตเพิ่มจำนวนขึ้น จากจำนวนโคฟิพอดรวมทุกระยะเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ $1,800 \pm 656$ ตัวต่อลิตร จนมีโคฟิพอดระยะนอเพเลียสความหนาแน่นเฉลี่ยสูงสุด $6,900 \pm 3,005$ ตัวต่อลิตร (ในวันที่ 6 ของการเลี้ยง) หลังจากนั้นในวันที่ 15 ของการทดลอง ระยะโตเต็มวัยและรวมทุกระยะเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ $12,667 \pm 6,012$ และ $18,133 \pm 6,047$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ (Figure 4A) ส่วนการเติบโตของโคฟิพอดที่ให้สาหร่าย *T. suecica* เข้มข้นเป็นอาหาร มีความหนาแน่นเฉลี่ยของโคฟิพอดรวมทุกระยะเริ่มต้น เท่ากับ $2,233 \pm 702$ ตัวต่อลิตร จากนั้นในวันที่ 12 ของการทดลอง ความหนาแน่นของโคฟิพอดระยะนอเพเลียสและความหนาแน่นรวมทุกระยะเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ $8,833 \pm 1,365$ และ $14,067 \pm 2,757$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ และในวันที่ 15 ของการเลี้ยง พบว่าความหนาแน่นของโคฟิพอดระยะโตเต็มวัยเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ $6,200 \pm 2,300$ ตัวต่อลิตร (Figure 4B) ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงความหนาแน่นรวมของโคฟิพอดทุกระยะที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบสดและสาหร่ายเข้มข้นนั้นมีความใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) โดยพบว่าสาหร่ายสดและเข้มข้นที่เติมลงไปในถังเลี้ยงโคฟิพอด มีความเข้มข้นเฉลี่ย $3.54 \pm 1.04 \times 10^4$ และ $2.34 \pm 0.81 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่การขยายขนาดการเพาะเลี้ยงโคฟิพอดขึ้นเป็น 50 ลิตร ในครั้งนี้จะพบปัญหาอาหารไม่เพียงพอเป็นบางครั้ง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้การเติบโตของโคฟิพอดถูกจำกัด ดังนั้นการเลือกใช้สาหร่ายที่พร้อมใช้งาน เช่น สาหร่ายเข้มข้น อาจจะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารทดแทนสาหร่ายแบบสดได้ เนื่องจากการใช้สาหร่ายสดสามารถจัดการให้มีสาหร่ายไว้พร้อมใช้งานได้ตลอดเวลาเป็นเรื่องที่เป็นไปได้ยาก เพราะความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม (Lubzens et al., 1995) และการใช้สาหร่ายเข้มข้นสามารถใช้ทดแทนสาหร่ายสดในการเลี้ยงโคฟิพอด *A. royi* AMBT201601 เพราะไม่ส่งผลต่อคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงอีกด้วย (Figure 5) ถึงแม้ Milione and Zeng

(2007) กล่าวว่าการใช้สาหร่ายเข้มข้นในแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มโคพีพอดจะพบกับปัญหาเรื่องของเซลล์สาหร่ายตายและการตกตะกอนรวดเร็ว แต่ Chainark et al. (2017) ได้รายงานว่าการใช้สาหร่ายเข้มข้นที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงเป็นอาหารให้โคพีพอด *Pseudodiaptomus annandalei* สามารถเลี้ยงให้โคพีพอดมีความหนาแน่นสูงถึง 2,802 ตัวต่อมิลลิลิตร ได้ซึ่งกระบวนการในการทำสาหร่ายเข้มข้นมีหลากหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการปั่นเหวี่ยง การรวมตัวของตะกอน และการกรอง เป็นต้น (Sales et al., 2019) ซึ่งการวิจัยครั้งนี้เป็นการเตรียมสาหร่าย *T. suecica* เข้มข้นด้วยวิธีการกรอง เพราะทำได้ง่ายและสามารถเก็บรักษาสาหร่ายเข้มข้นด้วยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 4 สัปดาห์ ซึ่งสาหร่ายเข้มข้นที่เก็บรักษาด้วยการแช่เย็น สามารถใช้เป็นอาหารแพลงก์ตอนสัตว์ได้ดีกว่าการแช่แข็ง โดยระยะเวลาในการแช่เย็นสาหร่ายเข้มข้น เป็นเวลา 7-14 วัน จะไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของสาหร่าย แต่การแช่แข็งสาหร่ายแล้วนำสาหร่ายมาละลาย โดยเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นอาหารให้แพลงก์ตอนสัตว์ จะส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันรวมในแพลงก์ตอนสัตว์ลดลง Lubzens et al. (1995) นอกจากนี้ ยังมีรายงานเกี่ยวกับการใช้สาหร่ายในรูปแบบที่พร้อมใช้งานสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกหอยสองฝา โดยสาหร่ายเข้มข้นสามารถใช้แทนสาหร่ายสดได้ อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาสาหร่ายเข้มข้นในระยะยาวอาจส่งผลกระทบต่อคุณค่าทางโภชนาการ แต่ก็ยังมีความเหมาะสมมากกว่าการใช้สาหร่ายอบแห้ง (Aji, 2011) ในการใช้สาหร่ายในรูปแบบต่างๆ ควรคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการด้วย

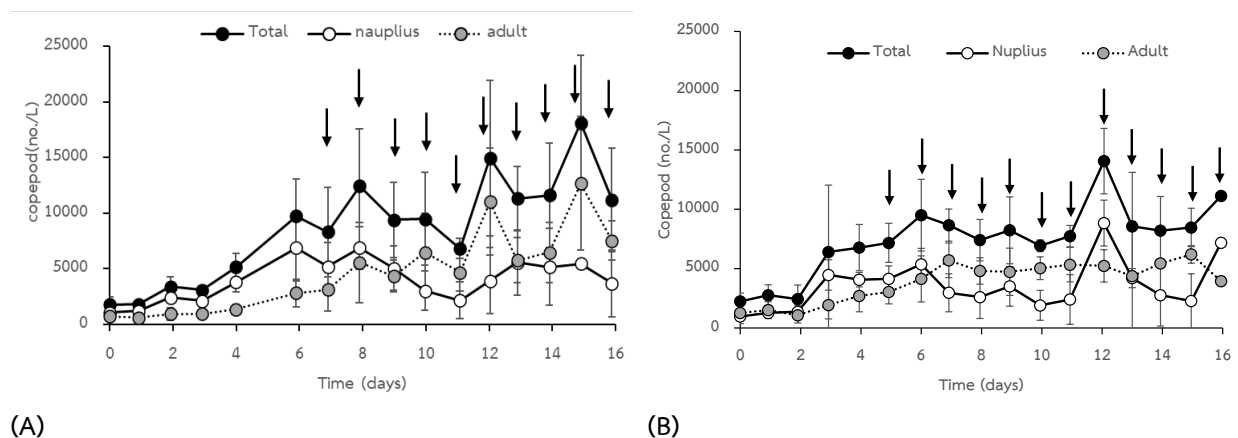


Figure 4 Growth of the copepod *A. royi* AMBT201601 in 50 L tanks, fed with fresh (A) and concentrated *T. suecica*. Arrows indicate water removal from the copepod culture container altogether with microalgae addition.

เมื่อเปรียบเทียบการเติบโตของโคพีพอด *A. royi* AMBT201601 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* แบบสดและเข้มข้น ปริมาณการเลี้ยง 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการ และ 50 ลิตร ในโรงเรือนที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ พบว่าการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในถังปริมาณ 50 ลิตร ด้วยสาหร่าย *T. suecica* แบบสดและเข้มข้น มีผลผลิตโคพีพอดน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงในปริมาณ 1 ลิตร ซึ่งอาจเป็นผลจากปริมาณของอาหารที่ไม่เพียงพอต่อการกินของโคพีพอด โดยพบว่าการใช้สาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้นไม่พบการขาดอาหารในช่วงแรกของการทดลอง เนื่องจากโคพีพอดยังมีจำนวนน้อย แต่เมื่อโคพีพอดมีจำนวนมากขึ้น พบการขาดอาหารทั้งในการใช้สาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้น ถึงแม้ว่าจะมีการเติมสาหร่ายให้กับโคพีพอดทุกวันก็ยังพบกับการขาดอาหารก่อนการให้อาหารในวันถัดไป ซึ่งในการเพาะเลี้ยงในปริมาณ 1 ลิตร มีสาหร่ายเหลือในระบบอยู่ที่ความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยถึง 44.4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ในปริมาณ 50 ลิตร ทั้งการใช้สาหร่ายสดและสาหร่ายเข้มข้นมีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยเพียงวันละ 2.5×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เท่านั้น ซึ่งอาจจะต้องรักษาความหนาแน่นสาหร่ายในระหว่างการเพาะเลี้ยงโคพีพอดให้ไม่น้อยกว่า 44.4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นอกจากนั้นปริมาณแอมโมเนียที่ตรวจวัดได้มีค่าสูงกว่าการเลี้ยงในปริมาณ 1 ลิตร โดยแอมโมเนียจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง และการเปลี่ยนถ่ายน้ำช่วยควบคุมปริมาณแอมโมเนียในถังเลี้ยงให้มีค่าไม่เกิน 1 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร ได้ แต่การเลี้ยงในถัง 50 ลิตร ด้วยสาหร่ายสด พบปริมาณแอมโมเนียมีค่า 1 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร ในวันสุดท้ายของการเลี้ยง (Figure 5) ซึ่งถึงแม้จะเกินค่ามาตรฐานที่เป็นพิษกับสัตว์น้ำ แต่ Jepsen et al. (2015) กลับรายงานว่าโคพีพอด *Acartia tonsa* ในระยะนอเพลียสามารถทนต่อปริมาณแอมโมเนียได้ในช่วงกว้าง (0.55-1.49 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร)

ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าในการเพาะเลี้ยงในถังปริมาตร 50 ลิตร เรื่องของปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพออาจเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ความหนาแน่นโคฟีพอดที่ได้มีปริมาณน้อย

องค์ประกอบกรดไขมันของ *A. royi* AMBT201601 ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* สดและเข้มข้น

การเพาะเลี้ยงโคฟีพอด *A. royi* AMBT201601 ด้วยสาหร่าย *T. suecica* ทั้งในรูปแบบสดและแบบเข้มข้น ไม่ส่งผลต่อชนิดและปริมาณของกรดไขมัน โดยโคฟีพอดมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวที่ใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) (48.43-49.03% ของกรดไขมันทั้งหมด) ในขณะที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งชนิดเชิงเดี่ยว (13.30-14.31% ของกรดไขมันทั้งหมด) และเชิงซ้อน (12.08-12.28% ของกรดไขมันทั้งหมด) ก็มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) ซึ่งโคฟีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบสดและเข้มข้น มีกรดไขมันที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ 24.39 และ 26.19 % ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ

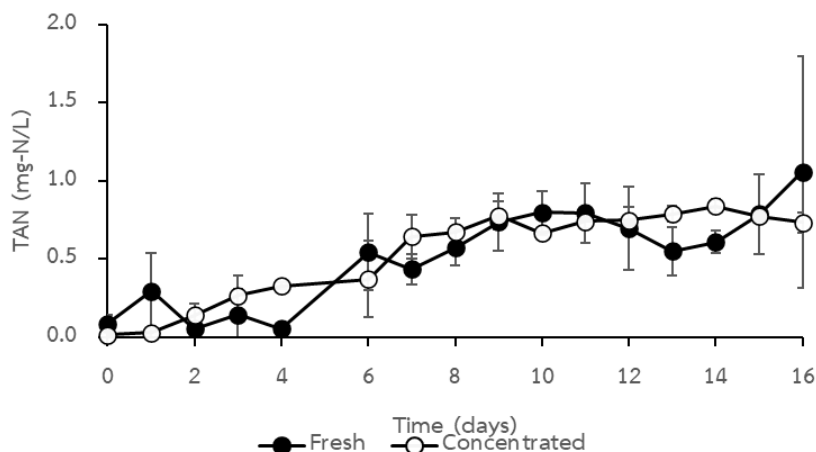


Figure 5 The total ammonia (TAN) concentration in a 50 L copepod culture tank over 16 days experiment.

สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่พบในโคฟีพอด *A. royi* AMBT201601 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายทั้งแบบสดและเข้มข้น พบว่า 18:3n3 หรือ ALA มีปริมาณสูงสุด (3.19-3.64% ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ 22:6n3 หรือ DHA (0.84-1.01% ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 20:5n3 หรือ EPA ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกัน ($p>0.05$) ในขณะที่ 20:4n6 (ARA) พบในโคฟีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบเข้มข้น (0.53% ของกรดไขมันทั้งหมด) ซึ่งมีปริมาณมากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบสด ($p<0.05$) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโคฟีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายเข้มข้นสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำได้ เนื่องจากมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่สำคัญในกลุ่มโอเมกา-3 เช่น ALA DHA และ EPA ซึ่งลูกสัตว์น้ำและลูกปลาทะเลวัยอ่อนต้องการกรดไขมันเหล่านี้สำหรับการเติบโต (Sargent et al., 1997) เนื่องจากสัตว์น้ำไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวได้เอง จึงต้องได้รับผ่านการกินอาหาร เช่น สาหร่ายขนาดเล็ก โรติเฟอร์และโคฟีพอด (Holt, 2011)

สรุปผลการศึกษา

การใช้สาหร่ายสดที่ผ่านการกรองให้เข้มข้นขึ้นและเก็บรักษาโดยการแช่เย็น เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงโคฟีพอด *A. royi* AMBT201601 สามารถทดแทนสาหร่ายสดได้ เนื่องจากโคฟีพอดที่เพาะเลี้ยงด้วยสาหร่ายเข้มข้นมีความหนาแน่นและคุณภาพ (องค์ประกอบกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน) ไม่แตกต่างจากโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสด อย่างไรก็ตาม เมื่อขยายปริมาณการเพาะเลี้ยงโดยใช้สาหร่ายเข้มข้นที่แช่เย็นเป็นอาหาร พบว่าโคฟีพอดมีความหนาแน่นต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการ สาเหตุหลักมาจากปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพอ แม้ว่าจะมีการเติมสาหร่ายเข้มข้นทุกวัน นอกจากนี้ปริมาณแอมโมเนียในน้ำยังเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความหนาแน่นของโคฟีพอด ดังนั้น ในการขยายปริมาณการเพาะเลี้ยง ควรเติมสาหร่ายเข้มข้นให้เพียงพอต่อความต้องการของโคฟีพอด และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำอย่างเหมาะสมเพื่อควบคุมระดับแอมโมเนียให้น้อยกว่า 1 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งจะช่วยรักษาคุณภาพน้ำที่เหมาะสมและเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดได้

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการดำเนินงานจากเงินรายได้ส่วนงาน จากการบริจาค-กองทุนส่วนงาน สนับสนุนและส่งเสริมงานวิจัยส่วนงาน คณะเทคโนโลยีทางทะเล ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 เลขที่สัญญา 02/2566

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และ สมมุติฐาน: ปวีณา ตปนียวรงค์, สรวิต เผ่าทองสุข, มะลิวัลย์ คุดทะโค. การปฏิบัติการวิจัย การมีส่วนร่วมในการออกแบบ การทดลอง การทดสอบ เครื่องมือวัด วิธีการเก็บข้อมูล และ criteria: ชลธิชา ซ้อยสูงเนิน, กนิษฐา บุญโรจน์, พัชรียา โยควิบูล, ปาริชาติ ชุมทอง, ฉัตรดนัย ไชยหาญ, ปวีณา ตปนียวรงค์. การจัดเก็บข้อมูลการวิเคราะห์ข้อมูล และการแปลผล: ฉัตรดนัย ไชยหาญ, ปวีณา ตปนียวรงค์, จันทร์จรัส วัฒนะโชติ, พัชรียา โยควิบูล, ปาริชาติ ชุมทอง. การวิพากษ์วิจารณ์ผล และ การมีส่วนร่วมในการเขียนต้นฉบับบทความ: ปวีณา ตปนียวรงค์, สรวิต เผ่าทองสุข, มะลิวัลย์ คุดทะโค. การให้การสนับสนุน specimens เครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ และ ครุภัณฑ์: ปวีณา ตปนียวรงค์, จันทร์จรัส วัฒนะโชติ, มะลิวัลย์ คุดทะโค.

เอกสารอ้างอิง

- Aji, L. P. (2011). The use of algae concentrates. Dried algae and algal substitutes to feed bivalves. *Makara Journal of Science*, 15(1), 1-9.
- Albentosa, M., Perez-Camacho, A., Labarta, U., & Fernandez-Reiriz, M. (1997). Evaluation of freeze-dried microalgal diets for the seed culture of *Ruditapes decussatus* using physiological and biochemical parameters. *Aquaculture*, 154(3-4), 305-321.
- Bower, C. E., & Holm-Hansen, T. (1980). A salicylate – hypochlorite method for determining ammonia in seawater. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(5), 794-798.
- Chainark, P., Sriveerachai, Y., & Silapajarn, K. (2017). Developing high-density culture system of *Pseudodiaptomus annandalei* (Copepoda: Calanoida) with various microalgae concentrate. *Journal of Engineering and Technology*, 5(2), 1-4.
- Christie, W. W. (2003). *Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids*. 3rd Ed. The Oily Press.
- Desvillettes, Ch., Bourdie, G., & Breton, J. Ch. (1997). On the occurrence of a possible bioconversion of linolenic acid into docosahexaenoic acid by the copepod *Eucyclops serrulatus* fed on microalgae. *Journal of Plankton Research*, 19(3), 273-278.
- Farhadian, O., Yusoff, F., & Arshad, A. (2008). Population growth and production of *Apocyclops dengizicus* (Copepoda: Cyclopoida) fed on different diets. *Journal of World Aquaculture Society*, 39(3), 384-396.
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497-509.
- Guillard, R. R. L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith, W. L., & Chanley, M. H. (Eds.), *Culture of Marine Invertebrate Animals*, pp. 29-60. Plenum Press.
- Hassan, M. M., Parks, V., & Laramore, S. (2021). Assessment of microalgae concentrate as diet for hard clam, *Mercenaria mercenaria*, larvae. *Aquaculture Nutrition*, 27(6), 1871-1879.
- Holt, G. J. (2011). Larval fish nutrition. *Aquaculture International*, 19(5), 1019-1020.
- Jepsen, P. M., Andersen, C. V. B., Schjelde, J., & Hansen, B. W. (2015). Tolerance of un-ionized ammonia in live feed cultures of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *Aquaculture Research*, 46(2), 420-431.
- Juntarut, P. (2015). Copepod cultivation for larviculture in hatchery. *Journal of Agriculture*, 31(2), 225-239. (in Thai).
- Lee, K., Dahms, H., Park, H. G., & Kang, J. (2013). Population growth and productivity of the cyclopoid copepods *Paracyclopsina nana*, *Apocyclops royi* and the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* in mono and polyculture conditions: a laboratory study. *Aquaculture Research*, 44(5), 836-840.
- Lubzens, E., Gibson, O., Zmora, O., & Sukenik, A. (1995). Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis* sp.) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture*, 133(3-4), 295-309.
- Milione, M., & Zeng, C. (2007). The effects of algal diets on population growth and egg hatching success of the tropical calanoid copepod, *Acartia sinjiensis*. *Aquaculture*, 273(4), 656-664.
- Monroig, O., Tocher, D. R., & Navarro, J. C. (2013). Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: Recent advances in molecular mechanisms. *Marine Drugs*, 11(10), 3998-4018.

- Pan, Y., Sadovskaya, I., Hwang, J., & Souissi, S. (2017). Assessment of the fecundity, population growth and fatty acid composition of *Apocyclops royi* (Cyclopoida, Copepoda) fed on different microalgal diets. **Aquaculture Nutrition**, 24(1), 970-978.
- Rasdi, N., W., Qin, J. G., & Li, Y. (2016). Effects of dietary microalgae on fatty acids and digestive enzymes in copepod *Cyclopina kasiginnete*, a potential live food for fish larvae. **Aquaculture Research**, 47(10), 3254-3264.
- Sales, R., Derner, R. B., & Tsuzuki, M. Y. (2019). Effect of different harvesting and processing methods on *Nannochloropsis oculata* concentrates and their application on rotifer *Brachionus* sp. cultures. **Journal of Applied Phycology**, 31(6), 3607-3615.
- Sargent, J. R., McEvoy, L. A., & Bell, J. G. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. **Aquaculture**, 155(1-4), 117-127.
- Seychelles, L. H., Audet, C., Tremblay, R., Fournier, R. P., & Pernet, F. (2009). Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*, Muller) using frozen-concentrated microalgae. **Aquaculture Nutrition**, 15(4), 431-439.
- Taibta, N., Tapaneeyaworawong, P., Chumtong, P., Burut-Archanai, S., Powtongsook, S., & Kutako, M. (2017). Life cycle and growth of cyclopoid copepods *Apocyclops royi* and *Macrocyclus albidus*. In **Proceeding of the 8th National Conference on Algae and Plankton**, pp. 127-137. Burapha University. (in Thai).
- Team, R. C. (2020). **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing.
- Watanabe, T., Kitajima, C., & Fujita, S. (1983). Nutritional profile of live organisms in Japan for mass propagation of fish: a review. **Aquaculture**, 34(1-2), 115-143.