

อิทธิพลของระยะเวลาการขนส่งต่อการเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตกลุ่มแพลงก์ตอนพืช สำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน

Influence of Transportation Period on Cultivation of Live Feed Phytoplankton for Nursery of Aquatic Animal Larvae

ชลดา ลีอราม^{*} รุ่งทิวา คนสันทัด และ วาสนา อากรรัตน์
Chonlada Leearam^{*}, Rungtiwa Konsantad and Wasana Arkronrat

สถานีวิจัยประมงคลองวาฬ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จ.ประจวบคีรีขันธ์ 77000

Klongwan Fisheries Research Station, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

^{*}Corresponding author: E-mail: Cld.leearam.77180@gmail.com

(Received: 5 July 2024; Accepted: 30 September 2024)

Abstract: Study of the influence of transportation period on cultivation of live feed phytoplankton 4 species such as *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira weissflogii*, *Chlorella* spp., and *Tetraselmis suecica* for nursery of aquatic larvae. Five experiments with four replicates: Phytoplankton inoculum that had been stored for 0(Control), 1(T1), 3(T2), 5(T3), and 7(T4) days. Key growth parameters, including cell density, specific growth rate (μ), and doubling time (D), were monitored and compared, cultivation period for 7 days to study (1) Effect of transportation time on growth performance of phytoplankton. It was found that transportation storage duration did not affect the growth performance of the four plankton species ($P>0.05$). (2) Durability of phytoplankton during transportation. It was found that the specific growth rate of *C. calcitrans* was the highest, while *T. suecica* was the lowest ($P<0.05$). Transportation storage duration of 0-3 days, *T. suecica* had a doubling time than *C. calcitrans*, but not significantly different from other plankton. However, the purpose of large-scale phytoplankton cultivation should be considered to develop or increase the production potential of phytoplankton used in aquatic larval nurseries.

Keywords: Live feed, phytoplankton, transportation duration, inoculum quality

บทคัดย่อ: การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการขนส่งต่อการเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตกลุ่มแพลงก์ตอนพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira weissflogii*, *Chlorella* spp. และ *Tetraselmis suecica* สำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน การทดลองถูกแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดละ 4 ซ้ำ คือ หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชที่เก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งมาแล้ว 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) และ 7 (T4) วัน มาเพาะขยายพันธุ์ ตรวจสอบและเปรียบเทียบพารามิเตอร์การเจริญเติบโตที่สำคัญ ได้แก่ ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) และระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (D) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 7 วัน เพื่อศึกษา (1) ผลของระยะเวลาการขนส่งต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช พบว่า ระยะเวลาการขนส่งไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนทั้ง 4 ชนิด ($P>0.05$) และ (2) ความทนทานของแพลงก์ตอนพืชตามระยะเวลาการขนส่ง พบว่า ในชุดการทดลอง *C. calcitrans* มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงที่สุดในขณะที่ *T. suecica* มีค่าต่ำที่สุด ($P<0.05$) และที่ระยะเวลาการขนส่งที่ 0-3 วัน *T. suecica* ใช้ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่ามากกว่า *C. calcitrans* แต่ไม่ต่างต่างกับแพลงก์ตอนชนิดอื่น อย่างไรก็ตาม ควรคำนึงถึงวัตถุประสงค์ของการนำแพลงก์ตอนพืชไปเพาะขยายแบบปริมาณมาก ทั้งนี้เพื่อการพัฒนาหรือเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตแพลงก์ตอนพืชที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป

คำสำคัญ: อาหารมีชีวิต แพลงก์ตอนพืช ระยะเวลาการขนส่ง คุณภาพหัวเชื้อ

คำนำ

อาหารมีชีวิต (แพลงก์ตอนพืช) มีบทบาทสำคัญในการสนับสนุนอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากมีขนาดเล็กตั้งแต่ 5 ถึง 25 ไมครอน ทั้งนี้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ การผลิตสัตว์น้ำ หรือการทำฟาร์มสัตว์น้ำ การเติมแพลงก์ตอนพืชระหว่างการเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบโรงเพาะฟัก จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต การอยู่รอด การพรางตัว ลดความเครียด และเป็นอาหารที่ดีของลูกปลาในช่วง 2-3 วันแรกหลังจากฟักเป็นตัว (Gutierrez *et al.*, 2023) แพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว กลุ่มไดอะตอม และกลุ่มแฟลกเจลเลตมักถูกใช้เป็นอาหารมีชีวิตที่สำคัญสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนไม่ว่าจะเป็นลูกกุ้ง ลูกปู ลูกปลา หรือแม้แต่หอยสองฝา แพลงก์ตอนพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหาร ได้แก่ *Nannochloropsis*, *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, และ *Isochrysis* เนื่องจากย่อยง่ายและมีขนาดที่เหมาะสม มีคุณค่าทางอาหารสูงที่สุดไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid, PUFA) เช่น EPA, ARA สามารถให้กับสัตว์น้ำโดยตรง หรือให้เป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ และนำแพลงก์ตอนสัตว์มาเป็นอาหารแก่ลูกสัตว์น้ำอีกต่อหนึ่ง (Arkronrat *et al.* (2016); Arkronrat and Oniam (2019); Hemtanon

et al. (2012); Tapaneeyaworawong *et al.* (2017); Taufik *et al.* (2016)) เป็นที่ทราบกันดีว่า ความสำเร็จของการผลิตแพลงก์ตอนพืชขึ้นขึ้นอยู่หลายปัจจัย โดยส่วนใหญ่เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม แสง สารอาหาร และ pH (Borowitzka (2016); Ramlee *et al.* (2021))

ปัจจุบัน แพลงก์ตอนพืชสำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนมีการคัดแยกหัวเชื้อสายพันธุ์บริสุทธิ์เพื่อจำหน่ายหรือแจกจ่ายจากห้องปฏิบัติการของหน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน หรือจากฟาร์มการค้าให้กับเกษตรกร โดยนำหัวเชื้อเหล่านี้มาเพาะขยายและเพิ่มจำนวนเซลล์สำหรับใช้ให้มีปริมาณมาก จากกรณีของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งที่มีการซื้อโคโรนาโรสสดมาเพาะขยายเพื่อเป็นอาหารอนุบาลลูกกุ้งในระยะซูลี (zoea) มักประสบปัญหาเรื่องการเพาะขยายไม่ขึ้นเนื่องจากคุณภาพที่ไม่แน่นอนของหัวเชื้อที่เป็นผลมาจากระยะเวลาการขนส่งในรูปของเซลล์สดที่มีคุณภาพไม่คงที่และเก็บได้ไม่นาน (Kumar *et al.* (2023); Oostlander *et al.* (2020); Wongwilairat *et al.* (2016)) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการขนส่งต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช และ (2) ศึกษาความทนทานของแพลงก์ตอนพืชระหว่างสายพันธุ์ตามระยะเวลาการ

ขนส่งภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมแบบเดียวกัน จากแพลงก์ตอนพืชเชิงพาณิชย์ 4 ชนิด ได้แก่ *Chaetoceros calcitrans* (CC), *Thalassiosira weissflogii* (Th), *Chlorella* spp. (Ch) และ *Tetraselmis suecica* (Te) มีการตรวจสอบและเปรียบเทียบพารามิเตอร์การเจริญเติบโตเพื่อเป็นข้อมูลที่สำคัญต่อการพัฒนาหรือเพิ่มศักยภาพการผลิตแพลงก์ตอนพืชที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ (1) ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการขนส่งต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด และ (2) ศึกษาความทนทานของแพลงก์ตอนพืชระหว่างสายพันธุ์ตามระยะเวลาการขนส่งภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมแบบเดียวกัน ตรวจสอบและเปรียบเทียบพารามิเตอร์การเจริญเติบโตที่สำคัญ ได้แก่ ความหนาแน่นของเซลล์ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; μ) และระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (doubling time; D) ของแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *Chaetoceros calcitrans* (CC) และ *Thalassiosira weissflogii* (Th) และแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว ได้แก่ *Chlorella* spp. (Ch) และ *Tetraselmis suecica* (Te) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 7 วัน โดยแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดถูกแบ่งออกเป็น 5 ชุด การทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ขั้ว คือ หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชที่เก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งมาแล้ว 0 (หัวเชื้อ CC, Th, Ch และ Te ที่ไม่ได้ผ่านการบรรจุในกล่องโฟม; Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) และ 7 (T4) วัน ตามลำดับ

การเตรียมบรรจุหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช

ทำการศึกษาแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *C. calcitrans* (CC) และ *T. weissflogii* (Th) และแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว ได้แก่ *Chlorella* spp. (Ch) และ *T. suecica* (Te) ที่ได้รับมาจากศูนย์วิจัยและ

พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ กรมประมง มาเพาะขยายที่ระดับความเค็มน้ำ 28 ppt ภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชของสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ เพื่อทำเป็นหัวเชื้อ (stock culture) ใช้ในการศึกษา สุ่มตรวจนับปริมาณความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด โดยใช้ Haemocytometer นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อกำหนดความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วบรรจุหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชปริมาตร 1 ลิตร ในถุงพลาสติกใสชั้น 2 ชั้น ขนาด 14×22 นิ้ว แล้วมัดถุงด้วยยาง กำหนดให้มีการใส่ขวดน้ำแข็งปริมาตรน้ำ 600 มิลลิลิตร จำนวน 2 ขวด ต่อแพลงก์ตอนพืช 4 ถุง ลงในกล่องโฟม ขนาด $15 \times 11.5 \times 13.5$ นิ้ว พร้อมด้วยเทอร์มอมิเตอร์ชนิดปรอท 1 อัน และปิดผลึกกล่องโฟมด้วยเทปกาบ เก็บกล่องโฟมที่บรรจุหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชตามจำนวนวันที่ใช้ในการขนส่ง คือ ที่ระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (Figure 1a)

การเตรียมน้ำและภาชนะเพาะเลี้ยง

ดำเนินการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ให้อากาศ (สายให้อากาศ และหัวทราย) และถังทดลอง (ถังพลาสติกสีขาว) ขนาด 10 ลิตร จำนวน 20 ถัง พร้อมตากให้แห้ง แล้วล้างทำความสะอาดถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร สำหรับเตรียมน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ผ่านถุงกรองขนาด 5 ไมครอน ลงในถังพลาสติกปริมาตร 200 ลิตร ใส่เชื้อด้วยคลอรีนผง 65 เปอร์เซ็นต์ ระดับความเข้มข้น 5 ppm พร้อมทั้งให้อากาศ รอกจนคลอรีนสลายหมดและมีตรวจสอบคลอรีนโดยใช้โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) จากนั้นปิดอากาศพักให้น้ำตกตะกอนและดูดตะกอนออก

วิธีการดำเนินการทดลอง

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *C. calcitrans* (CC) และ *T. weissflogii* (Th) และแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว *Chlorella* spp. (Ch) และ *T. suecica* (Te) เพื่อหาเซลล์เริ่มต้นก่อนบรรจุลงในกล่องโฟมระยะเวลา 0 (หัวเชื้อ CC, Th, Ch และ Te ที่ไม่ได้ผ่านการบรรจุในกล่องโฟม; Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) และ 7 (T4) วัน ตามลำดับ โดยไม่มีการ

เคลื่อนย้ายภายใต้อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดจึงนำแพลงก์ตอนพืชจากกล่องโฟมในแต่ละกลุ่มการทดลองมาเพาะขยายแบบปริมาณมาก เป็นการเลี้ยงแบบกลางแจ้ง ใช้แสงธรรมชาติ ในถังทดลองปริมาตร 10 ลิตร (Figure 1b) ด้วยอาหารสูตรดัดแปลงมาจาก Sato and Serikawa (1978) สำหรับแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม และใช้อาหารสูตรดัดแปลงมาจาก Wongrat (2000) สำหรับแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว โดยใช้สารละลายแต่ละส่วนในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อน้ำเลี้ยง 1 ลิตร และใส่หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช 1 มิลลิลิตรต่อน้ำเลี้ยง 25 มิลลิลิตร ระหว่างการทดลองสุ่มตรวจนับปริมาณความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์ตอนพืช โดยใช้ Haemocytometer นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน เพื่อศึกษาการเพิ่มจำนวนสูงสุด อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละชุดการทดลอง ตามสมการ (1)

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

Where; N_2 and N_1 are the number of cells (N) at the start (t_2) and end (t_1), respectively, of the logarithmic growth phase (Leearam *et al.*, 2024)

นำค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ที่ได้มาคำนวณระยะเวลาการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (D) ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เซลล์สาหร่ายใช้ในการแบ่งเซลล์ออกเป็นสองเซลล์มีหน่วยเป็นวัน และสามารถคำนวณได้ ตามสมการ (2)

$$D = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (2)$$

Where; $\ln 2 = 0.693$ and specific growth rate (μ) (Leearam *et al.*, 2024)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และ ระยะเวลาเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า เพื่อหาความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิเคราะห์และประมวลผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS statistics for windows (version 24.0; IBM Corp., Armonk, NY. USA)

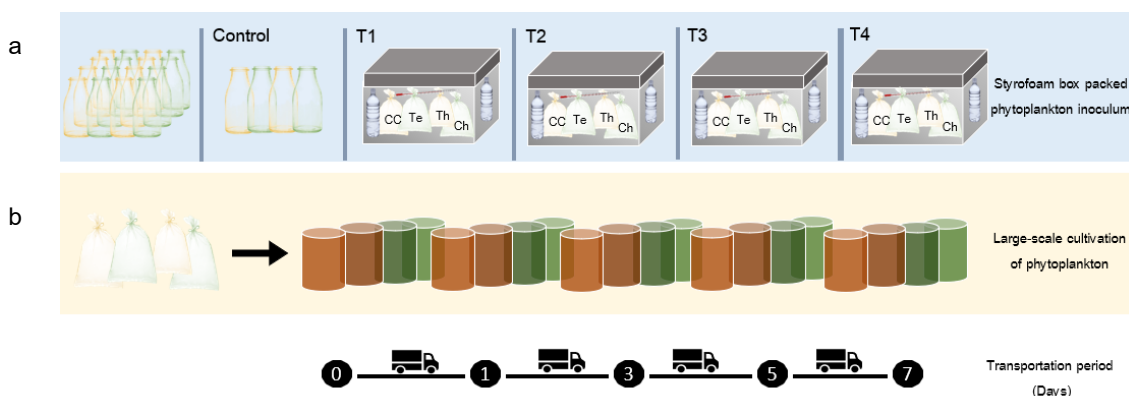


Figure 1. An overview of the experimental workflow implemented in this study. (a) Packaging of phytoplankton inoculum in Styrofoam box (b) Large-scale cultivation of phytoplankton after

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการขนส่งต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด

หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *C. calcitrans* (CC) และ *T. weissflogii* (Th) และกลุ่มสีเขียว ได้แก่ *Chlorella* spp. (Ch) และ *T. suecica* (Te) จากห้องปฏิบัติการ แพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดมีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น เท่ากับ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีอุณหภูมิเริ่มต้นเฉลี่ย เท่ากับ 26.6 ± 0.38 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุในกล่องโฟมที่มีขวดน้ำแข็งตามระยะเวลาการขนส่ง 1(T1), 3(T2), 5(T3) และ 7(T4) วัน เมื่อครบกำหนดการเก็บรักษาหัวเชื้อ พบว่า CC, Th, Ch และ Te มีอุณหภูมิเฉลี่ยหลังเปิดกล่องบรรจุ เท่ากับ 25.8 ± 1.63 , 26.4 ± 1.72 , 26.4 ± 1.72 , 26.3 ± 1.02 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มาเพาะขยายอีกครั้ง

อัตราการเจริญเติบโตของ CC มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น เท่ากับ $0.20 \pm 0.02 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 5 ของการเลี้ยงในทุกชุดการทดลอง ตามระยะเวลาการขนส่งที่ 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) และ 7 (T4) วัน มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $16.56 \pm 6.54 \times 10^5$, $13.41 \pm 3.60 \times 10^5$, $10.41 \pm 5.13 \times 10^5$, $9.44 \pm 2.56 \times 10^5$ และ $12.29 \pm 4.85 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2a)

อัตราการเจริญเติบโตของ Th มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น เท่ากับ $1.05 \pm 0.53 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 4 ของการเลี้ยงในทุกชุดการทดลอง ตามระยะเวลาการขนส่งที่ 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) และ 7 (T4) วัน มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $20.37 \pm 5.18 \times 10^5$, $13.57 \pm 3.91 \times 10^5$, $17.66 \pm 5.78 \times 10^5$, $14.11 \pm 4.47 \times 10^5$ และ $15.59 \pm 5.86 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2b)

อัตราการเจริญเติบโตของ Ch มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น เท่ากับ $3.41 \pm 0.85 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาเพาะขยายแบบปริมาณมากกลางแจ้ง ใน

ชุดการทดลอง Control จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 7 ของการเลี้ยง มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $37.18 \pm 30.27 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนการเก็บระยะเวลาขนส่งที่ 1 (T1) วัน เข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 4 ของการเลี้ยง มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $31.28 \pm 19.28 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และการเก็บตามระยะเวลาการขนส่งที่ 3 (T2), 5 (T3) และ 7 (T4) วัน จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 2 ของการเลี้ยง มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $23.50 \pm 14.51 \times 10^5$, $28.26 \pm 19.68 \times 10^5$ และ $29.97 \pm 12.66 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2c)

อัตราการเจริญเติบโตของ Te มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น เท่ากับ $0.33 \pm 0.03 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในชุดควบคุม เข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $5.40 \pm 2.00 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนการเก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งที่ 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) และ 7(T4) วัน ในแต่ละชุดการทดลองมีการเข้าสู่ระยะ exponential phase ในวันที่ 7 ของการเลี้ยง มีปริมาณความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย เท่ากับ $6.14 \pm 0.97 \times 10^5$, $4.73 \pm 1.50 \times 10^5$, $5.22 \pm 1.60 \times 10^5$ และ $4.83 \pm 2.77 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2d)

นอกจากนี้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด (max.CD) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) และระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (D) ของ CC, Th, Ch และ Te ในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 1) ซึ่ง แสดงให้เห็นว่า แพลงก์ตอนทั้ง 4 ชนิดนี้มีอัตราการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ใกล้เคียงกันภายใต้เงื่อนไขการทดลองนี้

การศึกษาความทนทานของแพลงก์ตอนพืชระหว่างชนิดตามระยะเวลาการขนส่ง

จากการเพาะขยายพันธุ์แพลงก์ตอนทั้ง 4 ชนิด โดยที่ไม่ได้ผ่านการเก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งในกล่องโฟม (0 วัน) พบว่า *C. calcitrans* (CC) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) เท่ากับ 0.93 ± 0.12 เซลล์ต่อวัน สูงกว่า *T. weissflogii* (Th), *Chlorella* spp. (Ch) และ *T. suecica* (Te) เท่ากับ 0.63 ± 0.12 , 0.62 ± 0.22 และ

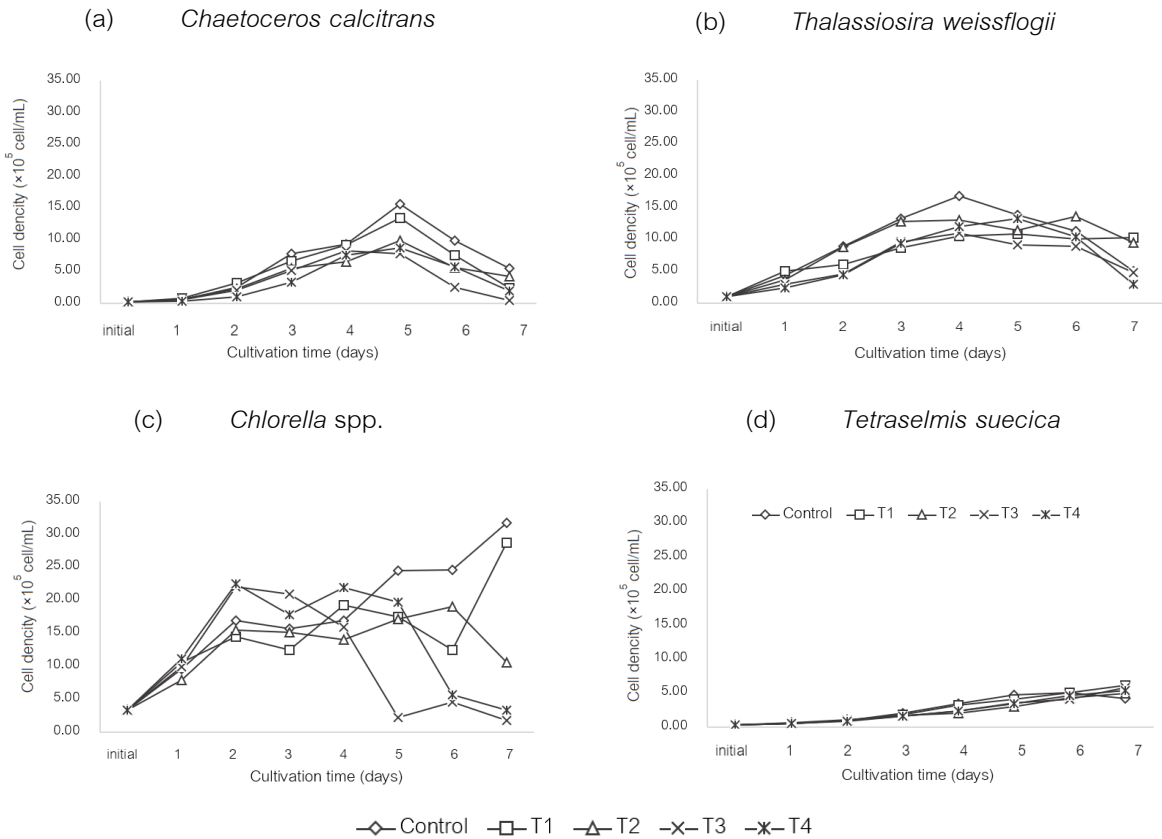


Figure 2. Cell densities of *C. calcitrans* (CC), *T. weissflogii* (Th), *Chlorella* spp. (Ch) and *T. suecica* (Te) re-cultures ability after stored for 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3), and 7 (T4) days.

0.49 $\pm$ 0.06 เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งที่ 1 และ 3 วัน CC มี μ เท่ากับ 0.83 $\pm$ 0.05 และ 0.95 $\pm$ 0.25 เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ) สูงกว่า Te (มี μ เท่ากับ 0.47 $\pm$ 0.07 และ 0.40 $\pm$ 0.01 เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ) ($P < 0.05$) ในขณะเดียวกัน Th (มี μ เท่ากับ 0.53 $\pm$ 0.14 และ 0.66 $\pm$ 0.24 เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ) และ Ch (มี μ เท่ากับ 0.78 $\pm$ 0.23 และ 0.68 $\pm$ 0.22 เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกับ CC และ Te แต่ถ้าเก็บรักษาที่ระยะเวลาการขนส่งที่ 5 วันแพลงก์ตอนพืช CC, Th, Ch และ Te มี μ เท่ากับ 0.85 $\pm$ 0.12, 0.64 $\pm$ 0.22, 0.60 $\pm$ 0.37, และ 0.43 $\pm$ 0.26 เซลล์ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และจากการเก็บรักษาตาม

ระยะเวลาการขนส่งนานที่สุด 7 วัน ทำให้แพลงก์ตอนพืชชนิด Te มี μ เท่ากับ 0.39 $\pm$ 0.14 เซลล์ต่อวัน น้อยที่สุด แต่ไม่แตกต่างกับ Th ($P > 0.05$) (Figure 3) นอกจากนี้การเพาะขยายพันธุ์แพลงก์ตอนทั้ง 4 ชนิด หลังจากเก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งที่ 0 1 และ 3 วัน พบว่า CC มีระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (D) เท่ากับ 0.75 $\pm$ 0.09, 0.83 $\pm$ 0.05, และ 0.76 $\pm$ 0.20 วัน ตามลำดับ ดีกว่า Te (มี D เท่ากับ 1.41 $\pm$ 0.19, 1.49 $\pm$ 0.22, และ 1.72 $\pm$ 0.07 วันตามลำดับ) ซึ่งไม่แตกต่างกับ Th และ Ch และเมื่อเก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งที่ 5 และ 7 วัน พบว่า แพลงก์ตอนทั้ง 4 ชนิด มีค่า D ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Figure 4)

Table 1. Maximum cell density (max.CD; $\times 10^5$ cells/mL) specific growth rate (μ ; cells/day) and doubling time (D; day) of phytoplankton re-cultures ability after stored for 0, 1, 3, 5, and 7 days. (n = 4)

Phytoplankton	Re-cultures ability after stored (days)				
	0	1	3	5	7
<i>Chaetoceros calcitrans</i>					
max.CD	16.56 $\pm$ 6.54	13.41 $\pm$ 3.60	10.41 $\pm$ 5.13	9.44 $\pm$ 2.56	12.29 $\pm$ 4.85
μ	0.93 $\pm$ 0.12	0.83 $\pm$ 0.05	0.95 $\pm$ 0.25	0.85 $\pm$ 0.12	0.83 $\pm$ 0.21
D	0.75 $\pm$ 0.09	0.83 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.20	0.81 $\pm$ 0.10	0.86 $\pm$ 0.20
<i>Thalassiosira weissflogii</i>					
max.CD	20.37 $\pm$ 5.18	13.57 $\pm$ 3.91	17.66 $\pm$ 5.78	14.11 $\pm$ 4.47	15.59 $\pm$ 5.86
μ	0.63 $\pm$ 0.12	0.53 $\pm$ 0.14	0.66 $\pm$ 0.24	0.64 $\pm$ 0.22	0.57 $\pm$ 0.17
D	1.12 $\pm$ 0.21	1.38 $\pm$ 0.39	1.16 $\pm$ 0.41	1.17 $\pm$ 0.40	1.29 $\pm$ 0.40
<i>Chlorella</i> spp.					
max.CD	37.18 $\pm$ 30.27	31.28 $\pm$ 19.28	23.50 $\pm$ 14.51	28.26 $\pm$ 19.68	29.97 $\pm$ 12.66
μ	0.62 $\pm$ 0.22	0.78 $\pm$ 0.23	0.68 $\pm$ 0.22	0.60 $\pm$ 0.37	0.71 $\pm$ 0.20
D	1.21 $\pm$ 0.37	0.95 $\pm$ 0.30	1.11 $\pm$ 0.39	3.46 $\pm$ 5.14	1.04 $\pm$ 0.31
<i>Tetraselmis suecica</i>					
max.CD	5.40 $\pm$ 2.00	6.14 $\pm$ 0.97	4.73 $\pm$ 1.50	5.22 $\pm$ 1.60	4.83 $\pm$ 2.77
μ	0.49 $\pm$ 0.06	0.47 $\pm$ 0.07	0.40 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.02	0.39 $\pm$ 0.14
D	1.41 $\pm$ 0.19	1.49 $\pm$ 0.22	1.72 $\pm$ 0.07	1.58 $\pm$ 0.09	2.02 $\pm$ 1.02

No letter indicates no significant difference, where $P>0.05$

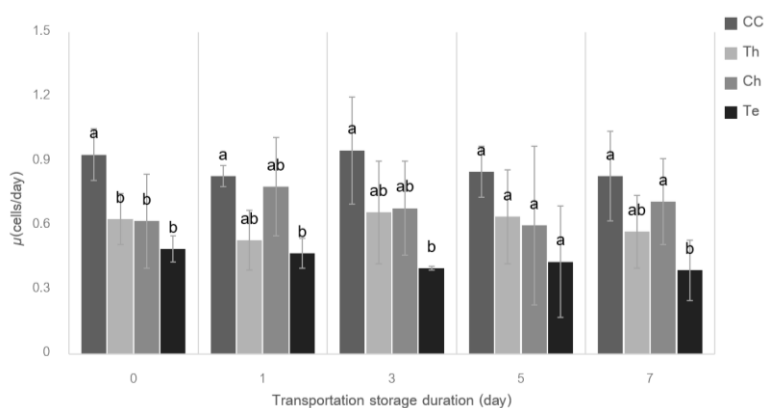


Figure 3. Specific growth rate (μ ; cells/day) of phytoplankton (CC, Th, Ch, and Te) re-cultures ability after stored for 0, 1, 3, 5, and 7 days. (n = 4) Lowercase letters indicate significant differences in specific growth rates of phytoplankton species at different transportation duration storage ($P<0.05$) (same letter or no letter indicates no significant difference, where $P>0.05$).

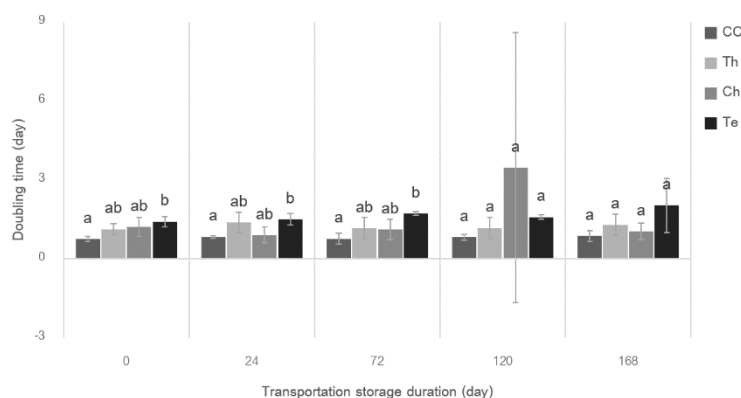


Figure 4. Doubling time (D ; day) (b) of phytoplankton (CC, Th, Ch, and Te) re-cultures ability after stored for 0, 1, 3, 5, and 7 days. ($n = 4$) Lowercase letters indicate significant differences in the doubling time of phytoplankton species at different transportation duration storage ($P < 0.05$) (same letter or no letter indicates no significant difference, where $P > 0.05$).

ความสำเร็จของการผลิตสัตว์น้ำวัยอ่อนในโรงเพาะฟักขึ้นอยู่กับสุขภาพสัตว์น้ำที่ปราศจากโรคและความพร้อมของอาหารมีชีวิต แพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด แต่ละชนิดมีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น *Chlorella* sp., *Isochrysis* sp., *Chaetoceros* spp. และ *Thalassiosira* spp. เป็นต้น (Arkronrat and Oniam (2012); Wongrat (1999)) คุณภาพของแพลงก์ตอนพืชเป็นสิ่งสำคัญโดยเฉพาะระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวหรือนำไปขยายต่อเพื่อนำไปอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป ประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชแบบหมวนนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเพื่อให้ได้ผลผลิตดีขึ้น (Leearam *et al.* (2024); Sani *et al.* (2021)) การศึกษาก่อนหน้านี้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเก็บรักษาคุณภาพหัวเชื้อที่มีปริมาณมากเกินความต้องการด้วยวิธีและกระบวนการต่าง ๆ ที่เหมาะสมเพื่อให้มีความใกล้เคียงกับอาหารสด เช่น การเก็บรักษาโดยใช้อุณหภูมิต่ำ การแช่แข็ง และการทำให้แห้ง เป็นต้น (Harith *et al.* (2010); Pankaew *et al.* (2011); Pimolrat *et al.* (2017); Pimolrat *et al.* (2023)) ในขณะเดียวกัน การเก็บรักษาหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชในกล่องโฟม โดยปราศจากแสง และสารอาหาร

ทำให้ในระยะแรกของการเพาะขยายแพลงก์ตอนพืช จะไม่มีการแบ่งเซลล์หรือการเจริญเติบโต เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดมีความทนทานต่อปัจจัยแวดล้อมหรือมีการปรับตัวเพื่อให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ที่แตกต่างกัน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่ อยู่ในช่วง 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส (Jalal *et al.* (2013); Singh *et al.* (2015); Liammai (2018)) จากการศึกษาผลระยะเวลากการขนส่งต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช CC, Th, Ch และ Te ที่ระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน นั้นสามารถทำได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อทางลบในการเพาะขยายต่อ กล่าวคือ เกษตรกรในพื้นที่ห่างไกลสามารถเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 กลุ่มได้ ถึงแม้หากเกิดความล่าช้าจากการขนส่งมากที่สุดที่ 7 วัน ระยะเวลากการขนส่งไม่ได้ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชสามารถเพาะขยายได้เป็นปกติเพื่อนำมาอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน และจากการศึกษาความทนทานของแพลงก์ตอนพืชระหว่างชนิดตามระยะเวลากการขนส่ง พบว่าแพลงก์ตอนพืช CC มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) สูงที่สุด โดยที่แพลงก์ตอนพืช Th ไม่ได้แตกต่างกับ CC ตามระยะเวลากการเก็บรักษาเพื่อการขนส่งที่เพิ่มขึ้น

สนับสนุนคำกล่าวของ Vona *et al.* (2016) กล่าวว่า ลักษณะทางชีววิทยาของแพลงก์ตอนกลุ่มไดอะตอมมีเปลือก diatom frustules เป็นผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยซิลิกา ปรับตัวได้เร็ว ส่วนแพลงก์ตอนกลุ่มสีเขียว Ch ที่มีลักษณะผนังเซลล์หนา (Weber *et al.*, 2016) จึงมีความทนทานต่อการเก็บรักษาในสภาวะไม่มีแสง (กล่องโฟม) ได้ ในขณะเดียวกัน Te มีความสามารถในการปรับตัวได้น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น เนื่องจากโครงสร้างเซลล์ของ Te มีลักษณะเป็นเส้นสาย (flagellate) ความสามารถในการปรับตัวจึงช้ากว่าแพลงก์ตอนกลุ่มอื่น สอดคล้องกับการศึกษาของ Leearam *et al.* (2024) จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า Te มีค่า μ เท่ากับ 0.39-0.49 เซลล์ต่อวัน และค่า D เท่ากับ 1.41-2.02 วัน โดย Te มี D มากกว่า CC ตามระยะเวลาการขนส่งที่ 0 1 และ 3 วัน แต่ไม่แตกต่างกับ Th และ Ch แต่เมื่อเก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งที่ 5 และ 7 วัน พบว่า แพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 ชนิดมีค่า D ไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการทดลองของ Fakhri *et al.* (2015) ที่รายงานว่าค่า μ และค่า D ของ Te มีค่าอยู่ในช่วง 0.41-0.44 เซลล์ต่อวัน และ 1.24-1.56 วัน ตามลำดับ

สรุป

การเก็บรักษาหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *C. calcitrans* (CC) และ *T. weissflogii* (Th) และกลุ่มสีเขียว ได้แก่ *Chlorella* spp. (Ch) และ *T. suecica* (Te) ในกล่องโฟมตามระยะเวลาการขนส่งไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนแต่ละชนิด ดังนั้น หากเกิดความล่าช้าจากการขนส่งมากที่สุดที่ 7 วัน ยังสามารถเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 กลุ่มได้ นอกจากนี้ความทนทานของแพลงก์ตอนพืชระหว่างชนิดตามระยะเวลาการขนส่ง เมื่อมีการตรวจสอบและเปรียบเทียบพารามิเตอร์การเจริญเติบโตที่สำคัญ พบว่า CC มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) สูงกว่า Te และ Te ใช้ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (D) นานกว่า CC ในช่วง 0-3 วันตามระยะเวลาขนส่ง โดยที่แพลงก์ตอนพืช Th และ Ch มี μ และ D

ไม่แตกต่างกับ CC และ Te ตามระยะเวลาการเก็บรักษาเพื่อการขนส่งที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม แม้ผลการทดลองจะแสดงว่าแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 ชนิดสามารถทนต่อระยะเวลาการขนส่งได้ดี แต่ควรพิจารณาถึงวัตถุประสงค์และความต้องการเฉพาะของเกษตรกรในพื้นที่ห่างไกล เพื่อการพัฒนาและเพิ่มศักยภาพการผลิตอาหารมีชีวิตที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ควรมีการวางแผนการขนส่งและการเก็บรักษาที่เหมาะสมเพื่อรักษาคุณภาพและประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Arkronrat, W. and V. Oniam. 2012. Effects of light color on microalgae production (*Isochrysis* sp., *Thalassiosira* spp., *Chlorella* sp. and *Tetraselmis* spp.) in laboratory. pp. 574-581. In: Proceedings of 50th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Arkronrat, W. and V. Oniam. 2019. Growth performance and production cost of laboratory-scale marine microalgae culture using a light emitting diode. Songklanakarin Journal of Science and Technology 41(5): 1093-1100.
- Arkronrat, W., P. Deemark and V. Oniam. 2016. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp. & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. Songklanakarin Journal of Science and Technology 38(1): 1-5.
- Borowitzka, M.A. 2016. Algal physiology and large-scale outdoor cultures of microalgae. pp. 601-652 In: M.A. Borowitzka, J. Beardall and J.A. Raven (eds.). The Physiology of Microalgae, Springer, Cham

- Fakhri, M., N.B. Arifin, B. Budianto, A. Yuniarti and A.M. Hariati. 2015. Effect of salinity and photoperiod on growth of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. Nature Environment and Pollution Technology 14(3): 563-566.
- Gutierrez, R.C., M.P. Rutaquio, F.A. Aya and M.R.R. Romana-Eguia. 2023. Culture of Natural Food for Farmed Freshwater Fish and Prawn Larvae. Aquaculture Extension Manual No. 71. Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department, Iloilo. 34 p.
- Harith, Z.T., F.M. Yosoff, M. Shariff and A.B. Ariff. 2010. Effect of different separation techniques and storage temperature on the viability of marine microalgae, *Chaetoceros-calcitrans*, during storage. Biotechnology 9(3): 387-391.
- Hemtanon, P., S. Chumworathayi, K. Koolkaew and M. Tamtin. 2012. Nursing of Blue Swimming Crab Larvae (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) with Zooplankton Enriched *Chaetoceros gracilis* and *Nannochloropsis* sp. with Various Ratios. Technical Document. Coastal Fisheries Research and Development Center, Nakomsrithammarat. 16 p. (in Thai)
- Jalal, K.C.A., A.A. Shamsuddin, M.F. Rahman, N.Z. Nurzatul and M. Rozihan. 2013. Growth and total carotenoid, chlorophyll a and chlorophyll b of tropical microalgae (*Isochrysis* sp.) in laboratory cultured conditions. Journal of Biological Sciences 13(1): 10-17.
- Kumar, A.N., S. Sridhar, K.R. Jayappriyan and R. Raja. 2023. Applications of microalgae in aquaculture feed. pp. 421-433. In: E. Jacob-Lopes, M.I. Queiroz, M.M. Maroneze, and L.Q. Zepka (eds.) Handbook of Food and Feed from Microalgae. Academic Press, London.
- Leearam, C., R. Konsantad and W. Arkronrat. 2024. Effects of transportation period on change in *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) inoculum quality. pp. 164-170. In: Proceedings of the 62nd Kasetsart University Annual Conference: Fisheries. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Liammai, S. 2018. Enrichment technique of rotifers with *Isochrysis* aff. *galbana* clone T- Iso supplemented with nitrate under optimal salinity and light intensity. M.S. Thesis, Kasetsart University Bangkok. 88 p.
- Oostlander, P.C., J. van Houcke, R.H. Wijffels and M.J. Barbosa. 2020. Microalgae production cost in aquaculture hatcheries. Aquaculture 52510.1016/j.aquaculture. 2020.735310.
- Pankaew, A., S. Powtongsook, W. Klaypradit, and J. Salaenoi. 2011. Study on storage duration of *Thalassiosira* sp. for shrimp larviculture. Khon Kaen Agriculture Journal 39(4): 369-378.
- Pimolrat, P., P. Sriyasak, S. Direkbusarakom, S. Wuthisuthimethavee, and P. Chotipuntu. 2017. Effects of cold storage duration on survival rate, growth, and biochemical compositions of diatom *Chaetoceros gracilis*. Khon Kean Science Journal 45(4): 782-792. (in Thai)
- Pimolrat, P., P. Pimonrat, S. Suwanpakdee, P. Sriyasak. 2023. Effect of culture media on the growth and water quality during culture of *Nannochloropsis* sp. pp. 131-139. In: Proceedings of the 2nd National Conference on Natural Resources and

- Health Science: Faculty of Natural Resource, Rajamangala University of Technology Isan Sakonnakhon Campus, Sakonnakhon. (in Thai)
- Ramlee, A., N.W. Rasdi, M.E.A. Wahid and M. Jusoh. 2021. Microalgae and the factors involved in successful propagation for mass production. *Journal of Sustainability Science and Management* 16(3): 21-42.
- Sani, E.R.A., W.T.L. Yong, G.J.W.L. Chin and M. Misson. 2021. Growth and lipid production of *Isochrysis galbana* in an upscale cultivation system. *Transactions on Science and Technology* 8(2): 203-209.
- Sato, T. and M. Serikawa. 1987. Mass culture of marine diatom, *Nitzschia cloctinum*. *Bulletin of the Plankton Society of Japan* 15(1): 13-16.
- Singh, S. and P. Singh. 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Review* 50(1): 431-44.
- Tapaneeyaworawong, P., N. Peungla-aw, P. Chumtong, M. Kutako and S. Powtongsook. 2017. Growth of a small-sized diatom *Amphora coffeaeformis* BUUC1601 isolated from estuary, Chanthaburi province, under batch and continuous cultivation. *Khon Kaen Agriculture Journal* 45 (suppl.1): 133-139. (in Thai)
- Taufik, M., Z. Bachok, M.N. Azra and M. Ikhwanuddin. 2016. Effects of various microalgae on fatty acid composition and survival rate of the blue swimming crab *Portunus pelagicus* larvae. *Indian Journal of Geo Marine Sciences* 45(11): 1512-1521
- Vona, D., L. Urbano, M.A. Bonifacio, E.D. Giglio, S. Cometa, M. Mattioli-Belmonte, F. Palumbo, R. Ragni, S.R. Cicco and G.M. Farinola. 2016. Data from two different culture conditions of *Thalassiosira weissflogii* diatom and from cleaning procedures for obtaining monodisperse nanostructured biosilica. *Data in Brief* 8: 312-319.
- Weber, S., P.M. Grande, L.M. Blank and H. Klose. 2022. Insights into cell wall disintegration of *Chlorella vulgaris*. *PLoS One* 17(1): doi.10.1371/journal.pone.0262500.
- Wongrat, L. 1999. *Phytoplankton*. Kasetsart University Pres, Bangkok. 851 p. (in Thai)
- Wongrat, L. 2000. *Plankton*. Kasetsart University Pres, Bangkok. 366 p. (in Thai)
- Wongwilairat, K., V. Vuthiphandchai, S. Powtongsook and B. Pratoomchat. 2016. Precipitation and preservation of concentrated *Chaetoceros* (*Chaetoceros gracilis*). *Khon Kaen Agriculture Journal* 44(2): 201-208. (in Thai)
-