



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและผลผลิตโคพีพอด
เพื่อใช้อุบาลลูกกุ้งขาววัยอ่อน

Enhance of Nutritional Value and Productivity of Copepod
for White Shrimp Larvae Rearing

นางมะลิวัลย์ คุดะโค

นางสาวปวีณา ตปนีย์วรวงค์

นายสรวิศ เผ่าทองสุข

นางนภาพร เลียดประถม

หัวหน้าโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล
(งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๑

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 256109A1080047

เลขที่สัญญา 217/2561

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและผลผลิตโคพีพอด

เพื่อใช้ออุนบาลลูกกุ้งขาววัยอ่อน

Enhance of Nutritional Value and Productivity of Copepod
for White Shrimp Larvae Rearing

นางมะลิวัลย์ คุตะโค

นางสาวปวีณา ตปนียรรวงศ์

นายสรวิศ เผ่าทองสุข

นางนภาพร เลียดประถม

หัวหน้าโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

คณะเทคโนโลยีทางทะเล

มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

กันยายน 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพาผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติเลขที่สัญญา 217/2561

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี ที่เอื้อเพื่อให้ใช้สถานที่ในการทดลอง พร้อมทั้งเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ต่างๆ

ขอขอบคุณนิสิตคณะเทคโนโลยีทางทะเลที่มีส่วนช่วยในการขับเคลื่อนผลงานวิจัยฉบับนี้ และขอขอบคุณ นางณิชา สิรินนท์ธนา และ ดร.จันทร์จรัส วัฒนะโชติ นักวิทยาศาสตร์ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ช่วยให้คำปรึกษาการสกัดไขมัน และตรวจวัดปริมาณไขมัน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะลิวัลย์ คุดะโค

กันยายน 2562

บทคัดย่อ

โคฟีพอด *A. royi* ใช้ระยะพัฒนาตั้งแต่ระยะนอเพเลียสถึงตัวเต็มวัย 15-16 วัน นอเพเลียสและโคฟีพอดถึงตัวเต็มวัยมีขนาดเท่ากับ 150 และ 600 ไมโครเมตร ตามลำดับ

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายผสม คือ *T. suesica*+*A. subtropica*, *T. suesica*+*Chaetoceros*, *T. suesica*+*I. galbana* และ *T. suesica*+*Thalassiosira* พบว่าการเลี้ยงสาหร่ายผสม *T. suesica*+*A. subtropica*, *T. suesica*+*Chaetoceros* และ *T. suesica*+*Thalassiosira* มีอัตราการเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกับการเลี้ยงแบบชนิดเดียว แต่ผลผลิตมวลชีวภาพของสาหร่ายต่ำกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียว ส่วนการเลี้ยง *T. suesica*+*Chaetoceros* โดยเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดสามารถเลี้ยงร่วมกันได้ โดยมีผลผลิตมวลชีวภาพในช่วง $8.27-49.65 \times 10^7$ และ $10.57-20.40 \times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ

สาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมมีปริมาณไขมันสะสมสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว ซึ่งการเลี้ยงสาหร่าย *T. suesica*+*A. subtropica* มีไขมันสะสมสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการเลี้ยงผสมด้วยสาหร่ายชนิดอื่น ($P \leq 0.05$) องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและแบบผสม พบว่ามีกรดไขมันชนิดเด่นที่เหมือนกัน คือ กรดไขมันชนิด 16:0, 18:0, 16:1 และ 18:2n6 โดยสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว มีปริมาณกรดไขมัน 16:0 และ 16:1 สูง ในขณะที่สาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมพบว่ามีปริมาณกรดไขมัน 18:0 และ 18:2n6 สูง

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* ให้ความหนาแน่นสูงถึง 10,766 ตัวต่อลิตร ส่วนโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมโดยใช้สาหร่าย *T. suesica*+*Chaetoceros* ให้ความหนาแน่นโคฟีพอดทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 11,604 ตัวต่อลิตร โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวมีกรดไขมันเชิงซ้อน 20:5n3 เป็นชนิดเด่น ส่วนโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบผสม 2 ชนิด มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 18:2n6 เป็นชนิดเด่น และพบ 22:6n3 เฉพาะโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suesica*+*Chaetoceros*, *T. suesica*+*Thalassiosira* และ *T. suesica*+*I. galbana*

ผลจากการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการผลิตโคฟีพอดที่มีความหนาแน่นสูงสำหรับเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมกา-3 ควรเลี้ยงด้วย *Thalassiosira* เพียงชนิดเดียว และเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tetraselmis*+*Chaetoceros*

ABSTRACT

The development of calanoid copepod, *Apocyclops royi*, took 15-16 days from nauplius to adult stage. The body length of *A. royi* was 150 microns during nauplius and 600 microns in adult stage.

Mixed cultures of microalgae including *T. suecica*+*A. subtropica*, *T. suecica*+*Chaetoceros*, *T. suecica*+*I. galbana* and *T. suecica*+*Thalassiosira* were performed. Specific growth rates of mixed cultures of *T. suecica*+*A. subtropica*, *T. suecica*+*Chaetoceros*, and *T. suecica*+*Thalassiosira* were similar to single cultures. However, biomass productivity of mixed culture was lower than in single culture. Mixed culture of *T. suecica* and *Chaetoceros* under semi-continuous culture showed that they could be grown and biomass productivity of *T. suecica* and *Chaetoceros* was $.27-49.65 \times 10^7$ and $10.57-20.40 \times 10^7$ cells/L/day, respectively.

With mixed microalgae culture, lipid content was significantly higher than in single-species culture ($P \leq 0.05$). Dominant fatty acids in single and mixed microalgae were palmitic acid (16:0), stearic acid (18:0), palmitoleic acid (16:1) and linoelaidic acid (18:2n6). High amount of 16:0 and 16:1 was found in single-species culture while 18:0 and 18:2n6 was found in mixed culture.

Copepod fed with *Thalassiosira* gave a high density of 10,766 no./L. With mixed microalgae (*T. suecica*+*Chaetoceros*), copepod had the maximum density of 11,604 no/L. Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n3) was the dominant polyunsaturated fatty acid (PUFA) in copepod fed with single microalgae. Linoelaidic acid was the dominant PUFA in copepod fed with mixed microalgae. Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n3) was found only in copepod fed with *T. suecica*+*Chaetoceros*, *T. suecica*+*Thalassiosira*, and *T. suecica*+*I. galbana*.

The results of this research indicated that the cultivation of calanoid copepod, *A. royi*, with single microalgae (*Thalassiosira*) and mixed microalgae (*Tetraselmis*+*Chaetoceros*) diets could be given the high density and level of n-3 PUFAs.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
ABSTRACT	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
บทนำ	1
เนื้อหา	7
อภิปรายผล	32
สรุปและข้อเสนอแนะ	39
ผลผลิต (Output)	41
รายงานสรุปการเงิน	42
เอกสารอ้างอิง	44
ภาคผนวก	49
ประวัตินักวิจัยพร้อมหน่วยงาน	68

สารบัญตาราง

	หน้า
2.1 การเติบโตของ ที่เลี้ยงร่วมกันแบบแบทช์ อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>I.galbana</i> และ <i>T.suecica</i> เพียงชนิดเดียวและ 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์	15
2.2 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>I. galbana</i> และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง	16
2.3 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>Amphora</i> และ <i>T. suecica</i> เพียงชนิดเดียว และ 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์)	16
2.4 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>Amphora</i> และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง	17
2.5 อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp., <i>T.suesica</i> และทั้งสองชนิดที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์	18
2.6 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp. และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง	18
2.7 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>Thalassiosira</i> sp. และ <i>T. suecica</i> เพียงชนิดเดียวและ 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์	19
2.8 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย <i>Thalassiosira</i> sp. และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง	19
2.9 เพอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว (เพาะเลี้ยงแบบแบทช์) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	20
2.10 องค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected	21

2.11	เปอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบผสม 2 ชนิด โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	22
2.12	องค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบผสม 2 ชนิด (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected	23
2.13	ความหนาแน่นของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว ซึ่งในระหว่างการเลี้ยงได้มีการกรองน้ำเลี้ยงโคฟีพอดออกจากถังเลี้ยงแล้วเติมสาหร่ายเข้าสู่ถังเลี้ยงในปริมาณเท่ากับที่ปริมาณน้ำแล้วโคฟีพอดที่ออกเอา โดยทำทั้งหมด 3 รอบ โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้ง (ที่เลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียวกัน) แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	25
2.14	ความหนาแน่นของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว	26
2.15	ปริมาณไขมันของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายต่างชนิดกัน ทั้งนี้อักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	27
2.16	องค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected	27
2.17	จำนวนสูงสุดของโคฟีพอดในระยะนอเพลียส โคฟีพอดิตและตัวเต็มวัย รวมถึงจำนวนโคฟีพอดทั้งหมด ที่เลี้ยงแบบแบตช์เป็นเวลา 10 วัน โดยใช้อาหารเป็นสาหร่ายผสม โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	29
2.18	ปริมาณไขมันของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม ทั้งนี้อักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	29
2.19	องค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม (เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected	30
3.1	ผลรวมและสัดส่วนของกรดไขมัน ω -3 และ ω -6 (เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) ในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวและสาหร่ายผสม	38

สารบัญญภาพ

	หน้า
2.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp. และ <i>T. suecica</i> แบบแบทช์และการเลี้ยงสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp. และ <i>T. suecica</i> ร่วมกัน ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง	9
2.2 ระบบการเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียว	11
2.3 การเปลี่ยนแปลงของโคฟีพอดระยะต่างๆ ในเพลทหลุม	13
2.4 รูปร่างและขนาดของโคฟีพอดในระยะนอเพเลียส	14
2.5 ลักษณะของโคฟีพอดระยะโคฟีโพดิถึงระยะตัวเต็มวัย	14
2.6 วงจรชีวิตของโคฟีพอด <i>A. royi</i>	15
ก-1 การเติบโตของสาหร่าย <i>I. galbana</i> ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	49
ก-2 การเติบโตของสาหร่าย <i>T. suecica</i> ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	49
ก-3 การเติบโตของสาหร่าย <i>I. galbana</i> และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันแบบแบทช์และกึ่งต่อเนื่อง (โดยลูกศรแสดงว่ามีการนำน้ำเลี้ยงออกจากกระบอก 500 มิลลิลิตร และเติมอาหารเพาะเชื้อปริมาตร 500 มิลลิลิตรเข้าสู่ระบบเพื่อเริ่มเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง)	50
ก-4 การเติบโตของสาหร่าย <i>A. subtropica</i> ที่เลี้ยงในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	50
ก-5 การเติบโตของสาหร่าย <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	51
ก-6 การเติบโตของสาหร่าย <i>Amphora</i> และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ (วันที่ 0-5 ของการเพาะเลี้ยง) และแบบกึ่งต่อเนื่อง (วันที่ 5-12 ของการเพาะเลี้ยง) โดยลูกศรแสดงช่วงที่มีการนำสาหร่ายออกจากกระบอก 500 มิลลิลิตรและเติมอาหารใหม่กับเข้าสู่ระบบให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม	51
ก-7 การเติบโตของสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp. ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	52
ก-8 การเติบโตของสาหร่าย <i>T. suecica</i> ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	52

ก-9 การเติบโตของสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp. และ <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์	53
ก-10 การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงผสมกันของสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp. และ <i>T. suecica</i> ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง มีการเก็บเกี่ยวผลผลิตออกจากระบบทั้งหมด 5 รอบ (โดยลูกศรแสดงช่วงที่นำสาหร่ายออกจากระบบ 300 มิลลิลิตร และมีการเติมสูตรอาหารกิลลาร์ด F/2 กลับเข้าสู่ระบบ 300 มิลลิลิตรให้มีปริมาตรเท่าเดิม)	53
ก-11 การเติบโตของสาหร่าย <i>T. suecica</i> ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	54
ก-12 การเติบโตของสาหร่าย <i>Thalassiosira</i> sp. ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว	54
ก-13 การเติบโตของสาหร่าย <i>T. suecica</i> และ <i>Thalassiosira</i> sp. ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์และการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง	55
ข-1 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสาหร่าย <i>T. suecica</i> และ <i>A. subtropica</i> ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง	56
ข-2 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสาหร่าย <i>T. suecica</i> และ <i>Thalassiosira</i> sp. ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง	56
ข-3 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสาหร่าย <i>T. suecica</i> และ <i>I. galbana</i> ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง	57
ข-4 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสาหร่าย <i>T. suecica</i> และ <i>Chaetoceros</i> sp. ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง	57
ค-1 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>A. subtropica</i>	58
ค-2 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>I. galbana</i>	58
ค-3 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>T. suecica</i>	59
ค-4 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp.	59
ค-5 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>Thalassiosira</i> sp.	60
ค-6 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงผสมกับ <i>A. subtropica</i>	61
ค-7 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงผสมกับ <i>Chaetoceros</i> sp.	61
ค-8 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงผสมกับ <i>I. galbana</i>	62

ค-9 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย <i>T. suecica</i> ที่เลี้ยงผสมกับ <i>Thalassiosira</i> sp.	62
ค-10 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>T. suecica</i>	63
ค-11 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>A. subtropica</i>	63
ค-12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp.	64
ค-13 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>I. galbana</i>	64
ค-14 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>Thalassiosira</i> sp.	65
ค-15 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>T. suecica</i> ผสมกับ <i>A. subtropica</i>	66
ค-16 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>T. suecica</i> กับ <i>Chaetoceros</i> sp.	66
ค-17 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>T. suecica</i> กับ <i>I. galbana</i>	67
ค-18 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>T. suecica</i> กับ <i>Thalassiosira</i> sp.	67

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เช่น การเพาะเลี้ยงกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ ปลากะพง และปู เป็นต้น โดยเป็นการเพาะเลี้ยงเพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก ซึ่งสิ่งที่จะทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้ประสบความสำเร็จจำเป็นต้องมีอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและคุณภาพน้ำที่ดี โดยในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนจะนิยมใช้อาหารมีชีวิต (Live food) เช่น ไรน้ำ อาร์ทีเมีย โรติเฟอร์ และโคพีพอด เป็นอาหารให้แก่ลูกสัตว์น้ำ ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังสามารถอยู่ในแหล่งน้ำได้นาน ไม่ส่งผลเสียต่อคุณภาพของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง

แพลงก์ตอนสัตว์ถือว่ามีสำคัญอย่างยิ่งต่อการเพาะพันธุ์สัตว์น้ำ เนื่องจากใช้เป็นอาหารมีชีวิตในขั้นตอนการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามขั้นตอนในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์มีความยุ่งยากและเกษตรกรทั่วไปไม่มีขีดความสามารถในการเก็บรักษาหัวเชื้อแพลงก์ตอนสัตว์ไว้เพื่อการเพาะขยายพันธุ์ได้ การขาดแคลนแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีคุณภาพทำให้การเพาะพันธุ์สัตว์น้ำเศรษฐกิจเช่น กุ้ง และปลา ประสบปัญหาโดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์น้ำเศรษฐกิจชนิดใหม่ เช่น ปลาเก๋า ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากแพลงก์ตอนสัตว์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเช่น อาร์ทีเมียหรือโรติเฟอร์ยังไม่เหมาะสมกับการอนุบาลลูกปลาเก๋า

อาหารมีชีวิตที่ใช้อยู่ในปัจจุบันจึงถูกจำกัดด้วยขนาด ดังนั้นโคพีพอดจึงเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความน่าสนใจในการนำมาเป็นใช้เป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงลูกปลาเก๋าโคพีพอดจัดเป็นอาหารมีชีวิตที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย มีราคาถูก อีกทั้งยังมีขนาดเล็ก ทำให้สามารถนำไปเป็นอาหารให้กับสัตว์น้ำวัยอ่อนได้หลายชนิด โดยในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดจะมีการใช้จุลสาหร่ายเป็นแหล่งอาหาร ซึ่งภายในเซลล์ของสาหร่ายมีองค์ประกอบชีวเคมีที่สำคัญหลายชนิดที่จำเป็นต่อการเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของสัตว์น้ำ เช่น PUFA และ HUFA เป็นต้น ทำให้เกิดการถ่ายทอดองค์ประกอบชีวเคมีตามห่วงโซ่อาหาร (Kumlu, 1998)

การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารโคพีพอดพบว่าเป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียว (Mono culture) ซึ่งสามารถทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน แต่ในธรรมชาติพบว่าโคพีพอดจะกินสาหร่ายหลายชนิด ทำให้ได้รับคุณค่าทางอาหารที่หลากหลาย ดังนั้นหากการใช้สาหร่ายมากกว่า 1 ชนิดเป็นอาหารให้กับโคพีพอดจึงเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับโคพีพอดได้อีกด้วย โดยทำการเลี้ยงสาหร่าย 2 ชนิด ในระบบเพาะเลี้ยงเดียวกัน และนำไปเป็นอาหารโคพีพอด เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตและเพื่อให้สามารถผลิตโคพีพอดได้ตลอดเวลา จึงได้มีการทำการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) โดยมีการเติมอาหารเลี้ยงสาหร่ายใหม่เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ตลอดเวลา ส่งผลให้สาหร่ายมีอัตราการเติบโตสม่ำเสมอ และโคพีพอดมีอาหารใช้ในการเติบโตตลอดเวลาเช่นเดียวกัน

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงไซโคพอยด์โคพีพอด *Apocyclops royi* ด้วย *Chaetoceros* sp., *Isochrysis galbana*, *Amphora subtropica*, *Tetraselmis suecica* และ *Thalassiosira* sp. ทั้งในรูปสาหร่ายชนิดเดี่ยวและสาหร่ายแบบผสม ซึ่งโดยทั่วไปมักมีการเพาะเลี้ยงโคพีพอดด้วย *Chaetoceros* sp. และ *I. galbana* แต่จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าในช่วงเต็มวัยโคพีพอดมักจะอาศัยอยู่บริเวณพื้นท้องน้ำ ทำให้ไดอะตอม *Amphora* ซึ่งจะเกาะติดอยู่บริเวณพื้นท้องน้ำเป็นอาหารที่เหมาะสมและมีขนาดเล็ก อีกทั้งยังมีการสะสมกรดไขมันและสารสีพวกแคโรทีนอยด์สูง (มะลิวัลย์ และคณะ, 2547) ส่วนสาหร่าย *T. suecica* มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณสูง ซึ่งผลจากการวิจัยนี้อาจเป็นทางเลือกใหม่ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสำหรับเป็นอาหารโคพีพอดต่อไป

1.2 ทบทวนวรรณกรรม

โคพีพอดในกลุ่มคาลานอยด์ *Acartia* sp. และ *Parvocalanus crassirostris* ถูกนำมาใช้เป็นอาหารปลาในแนวปะการัง ทำให้การเลี้ยงปลาประสบความสำเร็จในออสเตรเลียและฮาวาย ข้อดีของโคพีพอดที่เหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารสำหรับลูกสัตว์น้ำคือโคพีพอดมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย เมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่ายมากกว่า 1 ชนิด โดยโคพีพอดเป็นแหล่งของ Highly Unsaturated Fatty Acids (HUFA's), Docosahexaenoic Acid (DHA), Eicosapentaenoic Acid (EPA) และ Arachidonic Acid (ARA) (Watanabe *et al.*, 1983)

ระยะนอเพเลียสของโคพีพอดจะถูกย่อยได้ง่ายกว่าโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย (Pederson, 1984) นอกจากนี้ Buskey (2005) ได้รายงานว่าการเคลื่อนที่แบบ jerking movement ของโคพีพอดช่วยในการกระตุ้นการกินอาหารของลูกปลาได้ และที่สำคัญที่สุดโคพีพอดหลายชนิดมีขนาดเล็กกว่า 100 ไมครอน ซึ่งมีความเหมาะสมกับลูกปลาที่เพิ่งฟักออกจากไข่ ตัวอย่างเช่น *Parvocalanus crassirostris* ระยะนอเพเลียสจนถึงระยะโคพีพอด III มีความกว้างน้อยกว่า 100 ไมครอน (McKinnon และคณะ 2003) แสดงให้เห็นว่าโคพีพอดมีบทบาทสำคัญอย่างมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาเก๋า ซึ่งอัตราการรอดของปลาเก๋าท่ำมากเนื่องจากปลาเก๋าที่ฟักออกจากไข่มีปากขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่นๆ การใช้โรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis* ในการอนุบาลพบว่ายังมีอัตราการรอดต่ำเนื่องจากขนาดไม่เหมาะสม อัตราการรอดจะดีขึ้นเมื่อใช้โรติเฟอร์ S-type, SS-type และตัวอ่อนของหอยนางรม (Duray *et al.*, 1997) นอเพเลียสโคพีพอดจึงถือได้ว่าเป็นอาหารหลักของลูกปลาระยะแรกฟัก

จากการศึกษาของ Toledo *et al.* (1999) ได้ทำการทดลองเลี้ยงปลาเก๋า *Epinephelus coioides* ด้วยโคพีพอดในระยะเริ่มแรกและเริ่มใช้โรติเฟอร์ในวันที่ 7 หลังจากลูกปลาฟักให้การเติบโตและอัตราการรอดดีกว่าการใช้โรติเฟอร์เพียงอย่างเดียวตั้งแต่ลูกปลาฟักออกจากไข่ นอกจากการปลาทะเลแล้วโคพีพอดยังสามารถนำไปเลี้ยงสัตว์ทะเลชนิดอื่นได้อีกด้วย โดยในปี ค.ศ. 2003

Hernandez and Alvarez-Lajonchere ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงโคฟีพอด *Oithona oculata* Farran, 1913 ในรูปแบบการเพาะเลี้ยงต่างๆ เพื่อนำไปอนุบาลลูกปลาทะเล พบว่าโคฟีพอดที่เพาะเลี้ยงภายนอกโรงเรือนในถังขนาด 1000 ลิตร ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย 5 ชนิดผสมกัน (*Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis tetrathele*, *Chlorella* spp., *Dunaliella tertiolecta* และ *Nannochloropsis oculata*) มีความหนาแน่นของโคฟีพอดมากที่สุด เท่ากับ 13 ตัวต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาการทดลอง 15 วัน เมื่อนำไปอนุบาลลูกปลา *E. brasiliensis* ลูกปลาที่ได้รับโคฟีพอดเป็นอาหารมีอัตราการรอดร้อยละ 12.5 มีความหนาแน่นในระยะวัยรุ่นเท่ากับ 10.2 ลิตร และมีอัตราการเติบโตเท่ากับ 0.41 มิลลิเมตรต่อวัน

โคฟีพอดกินสาหร่ายขนาดเล็กที่มีอาหารคุณค่าทางโภชนาการ ส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการของโคฟีพอดเกิดจากสาหร่ายที่ใช้เลี้ยงโคฟีพอด ซึ่ง Puello-Cruz *et al.* (2009) ได้ศึกษาการเติบโตของโคฟีพอดชนิดคาลานอยด์เมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่ายที่แตกต่างกัน พบว่าโคฟีพอดชนิดคาลานอยด์ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chaetoceros muelleri* มีอัตราการเติบโตสูงสุด รองลงมาคือ *Isochrysis galbana* เพราะสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง เช่น PUFA และ HUFA เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและการเติบโตของโคฟีพอดให้สูงขึ้น ทั้งนี้การให้สาหร่ายมากกว่า 1 ชนิดแบบผสมแก่โคฟีพอด ดีกว่าการให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียว เพราะการให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวส่งผลให้ธาตุอาหารที่โคฟีพอดได้รับไม่เพียงพอต่อความต้องการตามธรรมชาติ และการศึกษาของ Payne and Rippingale (2000) ที่ทำการเลี้ยงโคฟีพอดชนิดคาลานอยด์ *Gladioferens imparipes* ที่ได้รับอาหารแตกต่างกันที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส โดยให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 ชนิด คือ *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri*, *Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis oculata* และยีสต์ พบว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Isochrysis galbana* มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด รองลงมาคือ *Chaetoceros muelleri* แต่โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยยีสต์ไม่สามารถเติบโตได้ ทั้งนี้ผลผลิตของโคฟีพอดเกี่ยวข้องกับอัตราส่วนของ DHA:EPA ซึ่งมีอยู่ในสาหร่ายแต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกให้สาหร่ายมากกว่า 1 ชนิด เป็นอาหารสำหรับโคฟีพอดจึงเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับโคฟีพอดด้วย

จากการศึกษาของ Knuckey *et al.* (2005) ศึกษาความเข้มข้นและชนิดของสาหร่ายสำหรับการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดชนิดคาลานอยด์ *Acartia sinjiensis* โดยทำการเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียว (*Tetraselmis* sp., *Rhodomonas* sp., *Cryptomonad* sp., *Isochrysis* sp. และ *Pavlova salina*) และสาหร่ายผสม 2 ชนิด (*Tetraselmis* sp. กับ *Isochrysis* sp.) พบว่าความเข้มข้นของสาหร่ายที่โคฟีพอดได้รับมีผลต่อพัฒนาการของโคฟีพอด ซึ่งความเข้มข้นของสาหร่ายต่ำสุดที่ทำให้โคฟีพอดมีพัฒนาการสูงสุดเท่ากับ 1.13 ไมโครกรัม AFDW ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาหร่ายมากกว่าจุดต่ำสุดแล้ว พัฒนาการของโคฟีพอดไม่แตกต่างกัน และการเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียวพบว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Rhodomonas* sp. หรือ *Cryptomonad* sp. มีพัฒนาการสูงสุด รองลงมาคือ *Pavlova salina* และ *Tetraselmis*

sp. หรือ *Isochrysis* sp. ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบพัฒนาการของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว (*Rhodomonas* sp.) และสาหร่ายผสม 2 ชนิด (*Tetraselmis* sp. กับ *Isochrysis* sp.) พบว่าโคฟีพอดที่ได้รับสาหร่ายแบบผสมมีพัฒนาการของโคฟีพอดไม่แตกต่างจากการให้สาหร่าย *Rhodomonas* sp. เพียงชนิดเดียว แต่พบว่าการให้สาหร่ายแบบผสมสามารถชดเชยการขาดธาตุอาหารบางชนิดได้ ซึ่งในการเลี้ยงโคฟีพอดโดยให้ *Tetraselmis* sp. เพียงอย่างเดียวพบว่าโคฟีพอดมีพัฒนาการของ Eyespot และ Setae ผิดปกติ แต่เมื่อทำการเลี้ยงโคฟีพอดแบบผสมด้วย *Tetraselmis* sp. กับ *Isochrysis* sp. ทำให้ความผิดปกติลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lee et al. (2006) พบว่าการเลี้ยงโคฟีพอดน้ำกร่อยชนิดไซโคพอยด์ *Paracyclopsina nana* Smirnov ด้วยสาหร่าย *T. suecica*, *I. galbana* และสาหร่ายผสม *T. suecica* กับ *I. galbana* เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารเลี้ยงโคฟีพอด เนื่องจากโคฟีพอดเพศเมียที่ได้รับอาหารสาหร่ายผสม *T. suecica* กับ *I. galbana* ให้ปริมาณไข่มากกว่าโคฟีพอดที่ได้รับสาหร่ายเพียงชนิดเดียว และโคฟีพอดระยะอนุเพลียสที่ได้รับสาหร่าย *T. suecica* กับ *I. galbana* เพียงชนิดเดียว และสาหร่ายผสม *T. suecica* กับ *I. galbana* มีพัฒนาการไปยังตัวเต็มวัยและมีอัตราการเติบโตมากกว่าการให้สาหร่ายผสม *T. suecica* กับ *P. tricorutum* และสาหร่ายอื่นๆ เพียงชนิดเดียว

รวมถึงการศึกษาของ Milione and Zeng (2007) ทำการศึกษาการเติบโตของโคฟีพอด *Acartia sinjiensis* และติดตามจำนวนไข่ อนุเพลียสและโคฟีโพติต หลังจากให้อาหารที่แตกต่างกัน 8 ชนิด ดังนี้ สาหร่ายแซ่แข็ง 2 ชนิด, สาหร่ายสด 4 ชนิด และสาหร่ายสดที่เลี้ยงร่วมกัน 2 ชนิด แบบผสมอีก 2 ชนิด เป็นเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส ความเค็ม 34 ± 1 พีเอชยู ช่วงแสง 12L:12D ในพบว่าอาหารที่โคฟีพอดได้รับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่ออัตราการเติบโตและความสำเร็จในการฟักไข่ ซึ่งอาหารสาหร่ายสดที่เลี้ยงร่วมกัน 2 ชนิดแบบผสม (*Tetraselmis chuii* และ *Isochrysis* sp.) ทำให้โคฟีพอดมีอัตราการเติบโตและการฟักไข่สูงกว่าการให้สาหร่ายสดเพียงชนิดเดียว นอกจากนี้พบว่าโคฟีพอดที่กินอาหารสาหร่ายแซ่แข็งมีอัตราการเติบโตและฟักไข่ช้ากว่าเนื่องจากสาหร่ายแซ่แข็งมีคุณค่าทางอาหารน้อยกว่าสาหร่ายสด การศึกษาของ Ohs et al. (2010) ก็รายงานไปในทิศทางเดียวกันว่าการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดชนิดคาลานอยด์ที่ได้รับสาหร่ายที่แตกต่างกัน โดยให้สาหร่ายที่แตกต่างกัน 5 ชนิด คือ *Isochrysis galbana*, *Thalassiosira weissfloggi*, *Chaetoceros gracilis*, *Rhodomonas lens* และ *Tetraselmis suecica* และได้ทำการให้สาหร่ายผสม *Isochrysis galbana* กับ *Thalassiosira weissfloggi* และ *Isochrysis galbana* กับ *Chaetoceros gracilis* ในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 พบว่า โคฟีพอดที่ได้รับ *Isochrysis galbana* เพียงชนิดเดียว หรือ สาหร่ายผสม *Isochrysis galbana* กับ *Thalassiosira weissfloggi* ในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 ให้ปริมาณผลผลิตโคฟีพอดมากที่สุด

Matias-Peralta et al. (2012) ศึกษาการสืบพันธุ์ การเติบโตและระยะเวลาในการพัฒนาการของโคฟีพอดชนิดแฮพพาทิคอยด์ *Nitocra affinis californica* Lang, 1965 ที่ให้สาหร่ายที่แตกต่างกัน คือ สาหร่ายชนิดเดียว (*Chaetoceros calcitrans*, *Tetraselmis tetrahele* และ

Nannochloropsis oculata) และสาหร่ายผสม (*Chaetoceros calcitrans* กับ *Tetraselmis tetrahele* (50:50), *Chaetoceros calcitrans* กับ *Nannochloropsis oculata* (50:50), *Tetraselmis tetrahele* กับ *Nannochloropsis oculata* (50:50) และ *Chaetoceros calcitrans* กับ *Tetraselmis tetrahele* กับ *Nannochloropsis oculata* (50:25:25)) ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 พีเอสยู ช่วงแสง 12L:12D พบว่า โคฟีพอดระยะนอเพลียสที่เลี้ยงด้วย *Tetraselmis tetrahele* สามารถพัฒนาไปยังตัวเต็มวัยได้เร็วที่สุด แต่อายุของโคฟีพอดเพศเมียยาวนานสุดเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม 3 ชนิดและสาหร่ายผสม *Chaetoceros calcitrans* กับ *Tetraselmis tetrahele* (50:50) แต่ทั้งนี้สาหร่ายที่เหมาะสมเป็นอาหารสำหรับโคฟีพอดคือ *Chaetoceros calcitrans* เนื่องจากโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Chaetoceros calcitrans* มีอัตราการเติบโตสูงที่สุด อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่นๆ รองลงมาคือสาหร่ายผสมทั้ง 3 ชนิดและ *Tetraselmis tetrahele* นอกจากนี้การพัฒนารูปร่างของโคฟีพอดในแต่ละระยะขึ้นกับขนาดและโภชนาการของสาหร่าย โดยเฉพาะปริมาณของ DHA และ EPA ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อการพัฒนารูปร่างของตัวอ่อน

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

3.1 ศึกษาวงจรชีวิตของไซโคพอยด์โคฟีพอด *Apocyclops royi*

3.2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายด้วยรูปแบบผสม 2 ชนิด และชนิดเดียวเพื่อทราบถึงรูปแบบสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารให้แก่โคฟีพอด และรูปแบบการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม

3.3 เพื่อทราบถึงศักยภาพการผลิต และคุณค่าทางโภชนาการของโคฟีพอด *A. royi* ในรูปของกรดไขมัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถประเมินระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และช่วงระยะเวลาที่ผลิตโคฟีพอด *A. royi* ในระยะต่างๆ

1.4.2 ได้รู้รูปแบบสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารให้แก่โคฟีพอดที่สามารถส่งเสริมการเติบโต คุณค่าทางโภชนาการของโคฟีพอดในรูปกรดไขมัน และรูปแบบการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม

1.5 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.5.2 ทำการศึกษาวงจรชีวิตและวัดขนาดของโคฟีพอด *A. royi* ทุกระยะที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *I. galbana*

1.5.2 เพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยรูปแบบผสม 2 ชนิด คือ (1) สาหร่าย *A. subtropica* ผสมกับ *T. suecica* (2) *Chaetoceros* sp. ผสมกับ *T. suecica*. (3) *I. galbana* ผสมกับ *T. suecica* และ

(4) *Thalassiosira* sp. ผสมกับ *T. suecica* โดยแพะเลี้ยงแบบปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการด้วยรูปแบบแบตช์และกึ่งต่อเนื่อง

1.5.3 ศึกษาการเติบโตของโคพีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียว จำนวนทั้งสิ้น 5 ชนิด คือ *T. suecica*, *Chaetoceros* sp., *A. subtropica*, *I. galbana* และ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

1.5.4 แพะเลี้ยงโคพีพอดในระบบการแพะเลี้ยงแบบแบตช์ด้วยสาหร่ายผสม 2 ชนิดคือ (1) สาหร่าย *A. subtropica* ผสมกับ *T. suecica* (2) *Chaetoceros* sp. ผสมกับ *T. suecica* (3) *I. galbana* ผสมกับ *T. suecica* และ (4) *Thalassiosira* sp. ผสมกับ *T. suecica*.

2. เนื้อเรื่อง

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 : การศึกษาวงจรชีวิตของไซโคพอยด์โคฟีพอด *Apocyclops royi*

แยกโคฟีพอดตัวเต็มวัยที่มีไข่มาใส่ในเพลทหลุมที่มีสาหร่าย *I. galbana* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 24 หลุม หลุมละ 1 ตัว นำเพลทหลุมมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของระยะของโคฟีพอด และบันทึกผลระยะของโคฟีพอดในแต่ละหลุมทุกวันจนครบรอบวงจรชีวิตคือพบตัวเต็มวัยที่มีไข่อีกครั้ง โดยทุกๆ 7 วัน จะทำการดูน้ำออกจากหลุม 1 มิลลิลิตร ผ่านผ้ากรองขนาด 100 ไมครอน และเติมสาหร่าย *I. galbana* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการเปลี่ยนถ่ายน้ำและเติมอาหารให้กับโคฟีพอด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่พบโคฟีพอดตัวเต็มวัยที่มีไข่เกิดขึ้น เนื่องจากปริมาณที่ใช้เลี้ยงมีขนาดเล็กเพียง 3 มิลลิลิตร ทำให้โคฟีพอดมีความหนาแน่นมากเกินไป จึงได้ทำการทดลองซ้ำอีกครั้งใน micro well-plate ขนาด 6 หลุม ที่มีปริมาตรการเลี้ยง 5 มิลลิลิตร ชนิดละ 12 หลุม โดยทำการเลี้ยงที่สภาวะเดียวกันและติดตามการเติบโตเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ได้ศึกษารูปร่าง ลักษณะและขนาดของโคฟีพอด โดยทำการแยกโคฟีพอดตัวเต็มวัยที่มีไข่มาใส่ในเพลทหลุมปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 24 หลุม ที่ได้เติมสาหร่าย *I. galbana* ไว้แล้ว เมื่อตัวอ่อนระยะนอเพเลียสเริ่มฟักออกจากไข่ จึงนำตัวแม่ที่มีไข่ออกเพื่อควบคุมให้นอเพเลียสที่เกิดขึ้นเป็นนอเพเลียสในระยะเดียวกัน ทำการติดตามและจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงของขนาดตัวอ่อนโคฟีพอดตั้งแต่ระยะนอเพเลียสจนถึงระยะตัวเต็มวัยที่มีไข่ ด้วยการถ่ายรูปและวัดขนาดด้วยกล้องสเตอริโอทุกวัน

การทดลองที่ 2: การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยรูปแบบเซลล์ชนิดเดี่ยวและผสม 2 ชนิด ในระบบการเลี้ยงแบบแบตช์และกึ่งต่อเนื่องภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ

1. การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ที่เลี้ยงร่วมกับ *T. suecica* ด้วยระบบการเลี้ยงแบบแบตช์และกึ่งต่อเนื่อง

ทำการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย *I. galbana*, *T. suecica* และสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบตช์ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ เลี้ยงสาหร่ายในขวดแก้วปริมาตร 1 ลิตร ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรกิลลาร์ด F/2 (Guillard, 1973) ที่เตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ปริมาตร 900 มิลลิลิตร โดยในการทดลองเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวจะเติมหัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้นที่ 100 มิลลิลิตร ส่วนการเลี้ยงสาหร่ายแบบสองชนิดร่วมกันจะเติมหัวเชื้อ *I. galbana*, *T. suecica* ในสัดส่วน 1:3 ตามลำดับ ในการเลี้ยงมีการเติมอากาศและให้แสงที่ 4,500 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง ชุด

การทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวจะเลี้ยงแบบแบทช์ แต่การเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ร่วมกัน ในช่วงวันที่ 1-7 จะเป็นการเลี้ยงแบบแบทช์ หลังจากนั้นในวันที่ 7-12 จะเป็นการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยจะนำน้ำเลี้ยงสาหร่ายออก 500 มิลลิลิตร และเติมอาหารเพาะเชื้อกลับเข้าไปเพื่อต่อการเติบโตร่วมกันในระยะยาวของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ซึ่งในการทดลองจะนำน้ำเลี้ยงออก 3 ครั้ง และเก็บตัวอย่างเซลล์สาหร่ายก่อนและหลังเติมอาหาร

ระหว่างการทดลองได้ติดตามการเติบโตของสาหร่ายด้วยการนับเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือดทุกวัน และในวันสุดท้ายของการทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายแบบแบทช์ด้วยรูปแบบเซลล์ชนิดเดียว และในวันสุดท้ายของการทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายแบบผสม ด้วยวิธีการแบบกึ่งต่อเนื่อง ได้นำสาหร่ายมาวิเคราะห์ปริมาณไขมันและกรดไขมัน โดยนำเซลล์แห้ง 50 มิลลิกรัม มาสกัดไขมันตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) โดยใช้สารละลายผสม Chloroform:Methanol เมื่อได้สารละลายไขมันจะนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator (รุ่น R-210, Buchi) ฟนด้วยก๊าซไนโตรเจนและชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักไขมัน จากนั้นละลายไขมันด้วยสารละลายผสม Chloroform:Methanol ที่ผสม BHT แล้วทำการทรานเอสเทอริฟิเคชัน (tranesterification) ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Christie (2003) และนำสารละลายไประเหยและเป่าแห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นละลายกรดไขมันด้วย n-hexane ปริมาตร 1 มล. นำสารละลายกรดไขมันไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (รุ่น 7890A, Agilent) ที่มีอุปกรณ์ตรวจวัดเป็น Flame Ionization Detector (FID) คอลัมน์รุ่น 19091N-133, HP-INNOWAX (Agilent) ฉีดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร แบบ split (5:1) อัตราการไหลของก๊าซฮีเลียม 1.1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิจุดฉีดสาร 240 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ detector 260 องศาเซลเซียส โดยเริ่มต้นที่ 35 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้นาน 0.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 170 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงอุณหภูมิไว้ 3 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 240 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 2 องศาเซลเซียสต่อนาที คงไว้ 3 นาที รวมเวลาวิเคราะห์ 86.5 นาที จำแนกชนิดกรดไขมันโดยเปรียบเทียบกับ Retention Time ของกรดไขมันมาตรฐาน 37 Component FAME Mix (Supelco)

2. การเติบโตของสาหร่าย *A. subtropica* ที่เลี้ยงร่วมกับ *T. suecica* ด้วยระบบการเลี้ยงแบบแบทช์และกึ่งต่อเนื่อง

ทำการเตรียมอาหารเพาะเชื้อเช่นเดียวกับการทดลองหัวข้อที่ 1 ปริมาตร 700 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสาหร่าย *A. subtropica* หรือ *T. suecica* 300 มิลลิลิตร ลงในชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายชนิดเดียว ส่วนในชุดที่เลี้ยงสาหร่ายผสมระหว่าง *A. subtropica* และ *T. suecica* ชนิดละ 150 มิลลิลิตร มีการให้อากาศที่ผ่านการกรองด้วยไส้กรองขนาด 0.3 ไมครอน และให้แสงความเข้ม 5,500 ลักซ์ ตลอดเวลา ภายในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในชุดทดลองที่เลี้ยงร่วมกันระหว่าง *T. suecica* และ *A. subtropica* เมื่อสาหร่ายเติบโตเข้าสู่ระยะคงที่ทำการนำสาหร่ายออกปริมาณ 500 มิลลิลิตร และเติมอาหารเลี้ยงสาหร่ายลงไป 500 มิลลิลิตร (ภาพที่ 2.1)

โดยทำการนำสาหร่ายออกทุกๆ 3-4 วัน ทำการติดตามการเติบโตเช่นเดียวกับในการทดลองในหัวข้อข้างต้น และนำตัวอย่างสาหร่ายไปวิเคราะห์ปริมาณไขมันและกรดไขมัน ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) และ Christie (2003) ตามลำดับ

3. การเติบโตของสาหร่าย *Chaetoceros sp.* ที่เลี้ยงร่วมกับ *T. suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบแบคทีเรียและกึ่งต่อเนื่อง

ศึกษาการเติบโตของสาหร่าย *T. suecica*, *Chaetoceros sp.* และสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร โดยใช้อาหารเพาะเชื้อและสภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น (ภาพที่ 2.1) ในชุดทดลองที่เลี้ยง *T. suecica* หรือ *Chaetoceros sp.* เพียงชนิดเดียว จะเตรียมอาหารเพาะเชื้อ 900 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการเติมหัวเชื้อสาหร่ายลงไป โดยเติม *T. suecica* หรือ *Chaetoceros sp.* ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ส่วนในชุดที่เลี้ยงสาหร่ายสองชนิดร่วมกัน เตรียมอาหารเพาะเชื้อ 800 มิลลิลิตร และเติมหัวเชื้อสาหร่าย *T. suecica*, และ *Chaetoceros sp.* ชนิดละ 100 มิลลิลิตร ในชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายสองชนิดร่วมกัน เมื่อสาหร่ายเข้าสู่ระยะคงที่ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตออก 300 มิลลิลิตร และเติมอาหารเพาะเชื้อลงไป 300 มิลลิลิตร ทำการเก็บเกี่ยวทุกๆ 2-3 วัน ทำการติดตามการเติบโต และนำตัวอย่างสาหร่ายไปวิเคราะห์ปริมาณไขมันและกรดไขมัน ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) และ Christie (2003) ตามลำดับ



ภาพที่ 2.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chaetoceros sp.* และ *T. suecica* แบบแบคทีเรียและการเลี้ยงสาหร่าย *Chaetoceros sp.* และ *T. suecica* ร่วมกัน ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

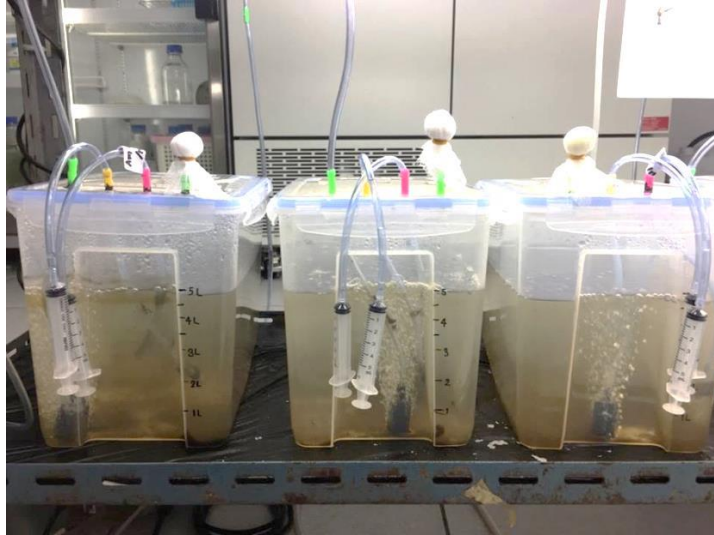
4. การเติบโตของสาหร่าย *Thalassiosira* sp. ร่วมกับ *T. suecica* ด้วยรูปแบบการเลี้ยงแบบแบตซ์และกึ่งต่อเนื่อง

ทำการศึกษากการเติบโตของสาหร่าย *T. suecica*, *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกับ *Thalassiosira* sp. ที่เลี้ยงในขวดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยเตรียมอาหารและเติมหัวเชื้อ *T. suecica*, *Thalassiosira* sp. ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดอาหารที่เตรียมไว้ และเติม *T. suecica* และ *Thalassiosira* sp. อย่างละ 50 มิลลิลิตร ในชุดทดลองที่เลี้ยงร่วมกันของสาหร่ายสองชนิด ใช้สภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น ในชุดทดลองที่เลี้ยงสาหร่ายสองชนิดร่วมกันเมื่อสาหร่ายเติบโตจนถึงระยะคงที่จะทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตออก 300 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมอาหารเลี้ยงสาหร่ายกลับลงไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม ทำการเก็บเกี่ยวและเติมอาหารกลับเข้าไปแบบนี้เป็นระยะเวลา 1-2 วัน ติดตามผลการเติบโตของสาหร่ายด้วยการนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือดทุกวัน และนำตัวอย่างสาหร่ายไปวิเคราะห์ปริมาณไขมันและกรดไขมัน ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) และ Christie (2003) ตามลำดับ

การทดลองที่ 3 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

เตรียมสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* จำนวน 5 ชนิด คือ *T. suecica*, *I. galbana*, *A. subtropica*, *Thalassiosira* sp. และ *Chaetoceros* sp. โดยเลี้ยงในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร โดยใช้สูตรอาหาร F/2 ความเค็ม 25 พีพีที และเติมหัวเชื้อสาหร่าย 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรการเลี้ยง เลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25-26 องศาเซลเซียส มีการให้อากาศและให้แสงที่ความเข้ม 6,085 ลักซ์ ตลอดเวลา รोजนสาหร่ายเติบโตแบบทวีคูณจึงเก็บเซลล์ครั้งละ 500 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมอาหาร F/2 ลงในถังเลี้ยงสาหร่ายด้วยปริมาตรเท่ากับที่เก็บสาหร่ายออก

ถังเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* (ภาพที่ 2.2) เป็นถังพลาสติกที่มีปริมาตรการทำงาน 5 ลิตร โดยมีหัวเชื้อโคพีพอดและสาหร่ายอย่างละ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรการเลี้ยง วางถังเลี้ยงโคพีพอดภายใต้สภาวะเช่นเดียวกันกับขวดเลี้ยงสาหร่าย ทั้งนี้ได้เลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียว (*T. suecica*, *I. galbana*, *A. subtropica*, *Thalassiosira* sp. และ *Chaetoceros* sp.) และแต่ละชุดการทดลองจะทำการเลี้ยง 3 ซ้ำ และในระหว่างการทดลองจะดูดน้ำเลี้ยงออกจากถังเลี้ยงปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร โดยผ่านผ้ากรองที่มัดไว้ปลายสายยางเพื่อป้องกันการหลุดรอดของโคพีพอดออกจากถังเลี้ยง จากนั้นเติมสาหร่ายลงถังเลี้ยงด้วยปริมาตรที่เท่ากับดูดออก โดยในระหว่างการทดลองนี้จะเก็บน้ำเลี้ยงโคพีพอดออก 3 รอบ และมีการนับจำนวนเซลล์สาหร่ายกับโคพีพอดทั้งระยะนอเพเลียสและโคพีพอดใต้กล้องจุลทรรศน์ ในวันสุดท้ายของการทดลองได้เก็บโคพีพอดไปวัดปริมาณไขมันและกรดไขมัน ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) และ Christie (2003) ตามลำดับ



ภาพที่ 2.2 ระบบการเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียว

การทดลองที่ 4 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม 2 ชนิด ในระบบการเลี้ยงแบบแบตช์

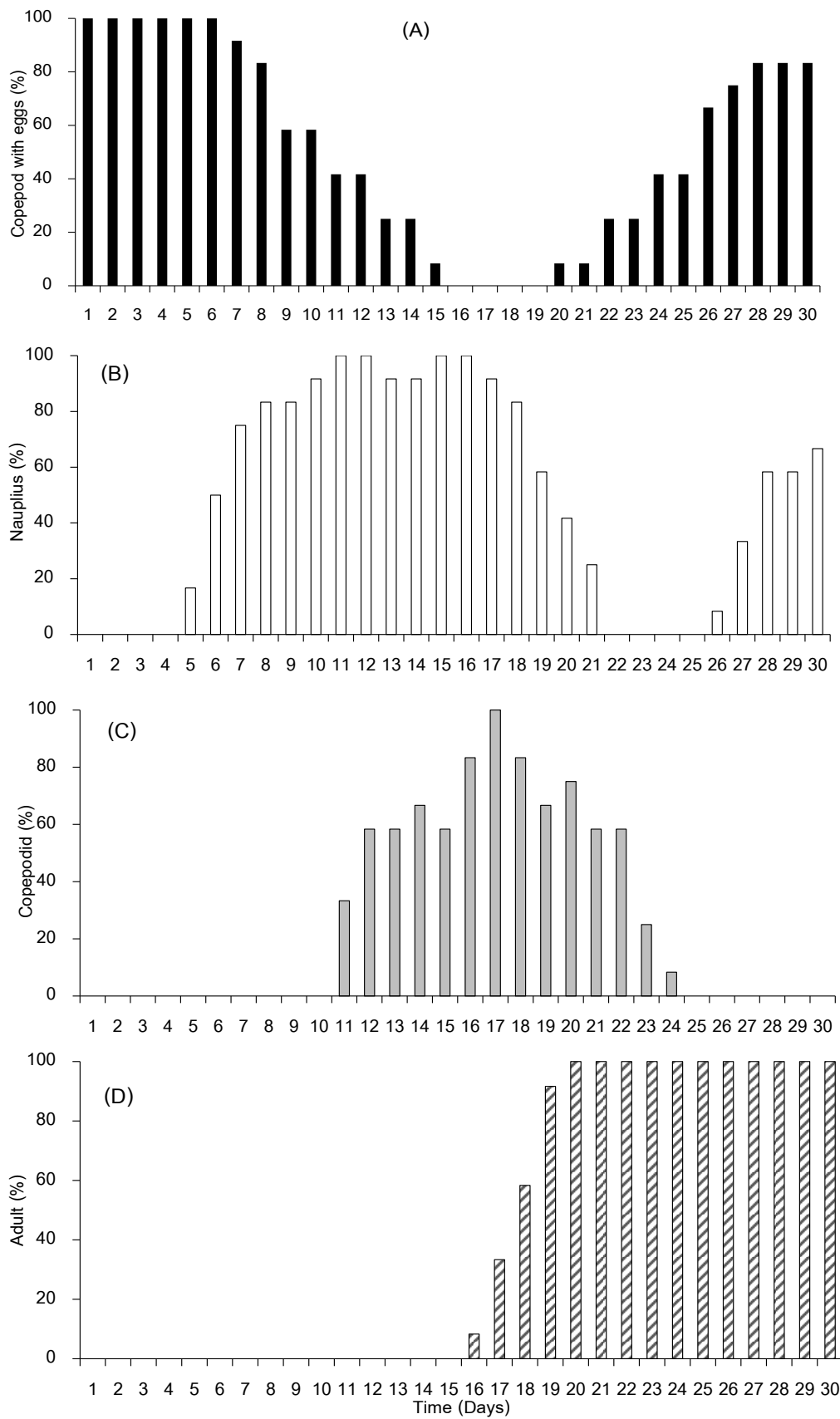
เนื่องจากผลการเลี้ยงสาหร่ายแบบผสม (การทดลองที่ 2) พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมเมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบทช์ต่อเนื่องจะให้การเติบโตและผลผลิตมวลชีวภาพที่ค่อนข้างน้อยกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียว ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการเลี้ยงสาหร่ายแยกขวดเลี้ยง จากนั้นใช้ปั๊มสุบสาหร่ายมาเพื่อเติมลงในขวดเลี้ยงโคฟีพอด เพื่อให้เลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายผสมแบบแบตช์ โดยใช้สาหร่าย *A. subtropica*+*T. suecica*, *Chaetoceros sp.*+*T. suecica*, *I. galbana*+*T. suecica* และ *Thalassiosira*+*T. suecica* โดยเลี้ยงในขวดแก้ว วางบนชั้นเลี้ยงสาหร่ายที่อุณหภูมิ 26-27 องศาเซลเซียส ให้อากาศและความเข้มแสงที่ 3,000-5,600 ลักซ์ ตลอดเวลา ติดตามการเติบโตโคฟีพอดด้วยการนับจำนวนไตกล้องจุลทรรศน์ด้วย Sedwick rafter และในวันสุดท้ายของการทดลองได้เก็บโคฟีพอดไปวัดปริมาณไขมันและกรดไขมัน ตามวิธีของ Folch *et al.* (1957) และ Christie (2003) ตามลำดับ

2.2. ผลการทดลอง

2.1 วงจรชีวิตของไซโคพลอยด์โคฟีพอด *Apocyclops royi*

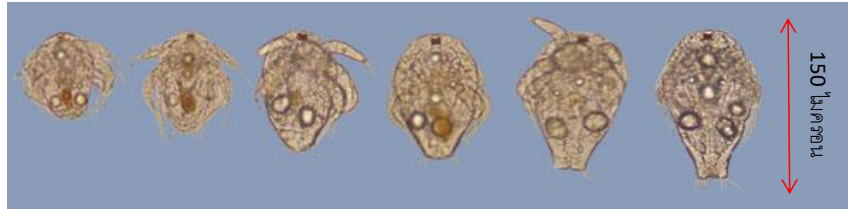
โคฟีพอด *A. royi* เพศเมียที่มีไข่เลี้ยงในงานหุ้มพลาสติก พบว่าเริ่มมีการฟักออกจากไข่ (8.3 เปอร์เซ็นต์) ในวันที่ 5 ของการทดลอง และตัวอ่อนระยะนอเพเลียสพบเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนพบครบทุกหุ้มหรือ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 11 ของการทดลอง แสดงให้เห็นว่าโคฟีพอด *A. royi* ใช้ระยะเวลาประมาณ 5 วัน ในการฟักออกจากไข่ และในวันที่ 11 ของการทดลอง เริ่มพบโคฟีพอดิต และพบระยะนี้ครบ 100เปอร์เซ็นต์ หรือพบทุกหุ้มในวันที่ 17 ของการทดลอง จากนั้นเปอร์เซ็นต์

การพบระยะโคฟีโพติดกลับลดลง จนกระทั่งวันที่ 25 ไม่พบระยะโคฟีโพติด แสดงให้เห็นว่าโคฟีพอดใช้เวลาพัฒนาจากระยะนอเปลีสเข้าสู่ระยะโคฟีโพติดใช้เวลาในช่วง 6 วัน จากนั้นในวันที่ 16 เริ่มพบโคฟีพอดตัวเต็มวัย และพบตัวเต็มวัยครบทั้ง 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 20 ของการทดลอง โคฟีพอดตัวเต็มวัยจะเริ่มออกไข่โดยมีถุงฟักไข่จำนวน 1 คู่ และอยู่ก่อนออกมาทางด้านข้างลำตัว หลังจากนั้นในวันที่ 28 ของการทดลอง จึงพบโคฟีพอดตัวเต็มวัยที่มีไข่ครบ 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าโคฟีพอด *A. royi* ใช้เวลาพัฒนาจากโคฟีโพติดเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยและจากตัวเต็มวัยเป็นตัวเต็มวัยที่มีไข่เท่ากับ 5 วันและประมาณ 4 วัน ตามลำดับ (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงของโคพีพอดระยะต่างๆ ในเพลทหลุม

โคฟีพอด *A. royi* มีระยะพัฒนา 6 ระยะ ตั้งแต่ระยะนอเพเลียส 1 (N1) ไปถึงระยะนอเพเลียส 6 (N6) มีขนาดลำตัวตั้งแต่ 80 - 150 ไมโครเมตร ดังแสดงภาพที่ 2.4 ใช้ระยะเวลา 11 วัน ก่อนพัฒนาเข้าสู่ระยะโคฟีโพดิต ดังแสดงในภาพที่ 2.6

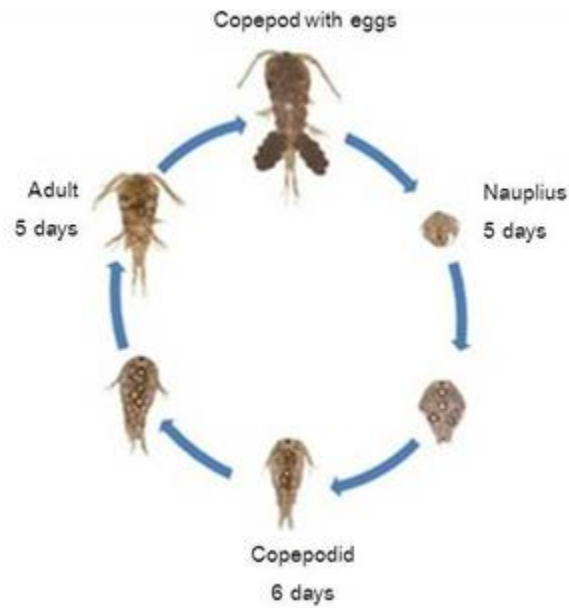


ภาพที่ 2.4 รูปร่างและขนาดของโคฟีพอดในระยะนอเพเลียส

โคฟีพอด *A. royi* ระยะโคฟีโพดิตถึงตัวเต็มวัยจะมีขนาดตั้งแต่ 300 - 600 ไมโครเมตร ดังแสดงภาพที่ 2.5 ระยะโคฟีโพดิตใช้ระยะเวลาพัฒนา 5 วันเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยดังแสดงภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของโคฟีพอดระยะโคฟีโพดิตถึงระยะตัวเต็มวัย



ภาพที่ 2.6 วงจรชีวิตของโคพีพอด *A. royi*

2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยรูปแบบเซลล์ชนิดเดี่ยวและผสม 2 ชนิด ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ

2.2.1 การเติบโตของสาหร่าย

(1) *I. galbana* ผสมกับ *T. suecica*

การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* และ *T. suecica* ในการเลี้ยงแบบแบตช์ พบว่า *I. galbana* และ *T. suecica* ที่เลี้ยงเพียงชนิดเดียวมีอัตราการเติบโตจำเพาะในวันที่ 0-2 เท่ากับ 1.01 และในวันที่ 1-3 เท่ากับ 1.07 ต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 2.1) และในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด แบบผสม พบว่าสาหร่าย *I. galbana* สามารถเติบโตได้ดี และ *T. suecica* กลับเติบโตได้ลดลง ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายแบบผสมส่งผลให้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ลดลง

จากการเลี้ยงสาหร่ายผสมแบบกึ่งต่อเนื่องแสดงให้เห็นแนวโน้มการเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ที่พบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด เติบโตได้ดีเมื่อเลี้ยง 7 วัน แต่เมื่อมีการเก็บเกี่ยว น้ำเลี้ยงออก (ที่มีเซลล์และอาหารเลี้ยงเชื้อ) แล้วเติมอาหารใหม่กลับเข้าสู่ขวดเลี้ยงกับพบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มีการเติบโตลดลง (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.1 การเติบโตของ ที่เลี้ยงร่วมกันแบบแบตซ์ อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *I. galbana* และ *T. suecica* เพียงชนิดเดียวและ 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบตซ์

รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ชนิดสาหร่าย	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
เลี้ยงชนิดเดียว	<i>I. galbana</i>	1.01 (วันที่ 0-2)	1,757	1,774.57
	<i>T. suecica</i>	1.07 (วันที่ 0-2)	250	267.5
เลี้ยงแบบผสม	<i>I. galbana</i>	1.01 (วันที่ 0-2)	485	489.85
	<i>T. suecica</i>	0.73 (วันที่ 0-2)	113	82.49

ตารางที่ 2.2 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *I. galbana* และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

ชนิดสาหร่าย	รอบที่	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
<i>I. galbana</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.54 (วันที่ 0-7)	594	320.76
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.30 (วันที่ 7-10)	48	14.4
<i>T. suecica</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.47 (วันที่ 0-7)	353	165.91
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.18 (วันที่ 7-10)	35	6.3

(2) *A. subtropica* ผสมกับ *T. suecica*

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *A. subtropica* ผสมกับ *T. suecica* โดยเลี้ยงแบบแบตซ์ พบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด สามารถเติบโตร่วมกันได้ โดยที่สาหร่ายแต่ละชนิดมีอัตราการเติบโตจำเพาะที่ใกล้เคียงกับการเลี้ยงสาหร่ายแบบชนิดเดียว (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *Amphora* และ *T. suecica* เพียงชนิดเดียว และ 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบตซ์

รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ชนิดสาหร่าย	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
เลี้ยงชนิดเดียว	<i>A. subtropica</i>	0.85 ^a (วันที่ 0-2)	62.22±31.45	45.21±5.73
	<i>T. suecica</i>	0.98 ^a (วันที่ 0-2)	71.50±10.40	78.28±17.58
เลี้ยงแบบผสม	<i>A. subtropica</i>	1.20 ^a (วันที่ 0-2)	46.04±37.31	68.16±18.18
	<i>T. suecica</i>	0.79 ^a (วันที่ 0-2)	46.88±34.05	36.46±17.48

หมายเหตุ: อัตราการเติบโตจำเพาะที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *A. subtropica* ผสมกับ *T. suecica* โดยเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องที่มีการเก็บเกี่ยวผลผลิตเซลล์ 3 รอบ พบว่าในรอบแรกของการเก็บเกี่ยว สาหร่าย *Amphora* สามารถเติบโตได้ดี แต่หลังจากนั้นพบว่า *Amphora* สามารถเติบโตได้ลดลง ในขณะที่สาหร่าย *Tetraselmis* กลับเติบโตได้ดีถึงแม้ว่าจะมีการเก็บเกี่ยวเซลล์ถึง 3 รอบ (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *Amphora* และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

ชนิดสาหร่าย	รอบที่	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
<i>A. subtropica</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	1.20 ^a (วันที่ 0-2)	46.04 \pm 37.31	68.16 \pm 18.18
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.29 ^b (วันที่ 5-7)	45.42 \pm 31.39	18.69 \pm 8.14
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3	0.40 ^b (วันที่ 8-10)	32.71 \pm 22.89	12.95 \pm 11.19
<i>T. suecica</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.79 ^a (วันที่ 0-2)	46.88 \pm 34.05	36.46 \pm 17.48
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.63 ^a (วันที่ 5-6)	57.42 \pm 40.05	35.22 \pm 6.07
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3	0.76 ^a (วันที่ 8-9)	50.50 \pm 33.98	39.65 \pm 16.58

หมายเหตุ: อัตราการเติบโตจำเพาะที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

(3) *Chaetoceros* sp. ผสมกับ *T. suecica*

การเลี้ยงสาหร่ายแบบแบตช์ พบว่าสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* สามารถเลี้ยงแบบผสมร่วมกันได้ดี โดยอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มีค่าใกล้เคียงกับการเลี้ยงสาหร่ายแบบชนิดเดียว (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่าย *Chaetoceros* sp., *T.suecica* และทั้งสองชนิดที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบตซ์

รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ชนิดสาหร่าย	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
เลี้ยงชนิดเดียว	<i>Chaetoceros</i> sp.	1.05 (วันที่ 0-2)	513.58 \pm 39.83	1.05
	<i>T. suecica</i>	0.79 (วันที่ 0-2)	117.90 \pm 42.17	0.79
เลี้ยงแบบผสม	<i>Chaetoceros</i> sp.	0.95 (วันที่ 0-2)	298.27 \pm 22.52	0.95
	<i>T. suecica</i>	0.81 (วันที่ 0-2)	73.77 \pm 5.27	0.81

ในการเลี้ยงสาหร่ายผสมแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยมีการเก็บเกี่ยวน้ำเลี้ยงสาหร่าย และเติมอาหารใหม่ทดแทนเป็นจำนวน 5 รอบ พบว่าสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* สามารถเลี้ยงร่วมกันได้ แต่เมื่อมีการเก็บเกี่ยวเซลล์มากกว่า 3 รอบ จะพบว่าสาหร่าย *Chaetoceros* sp. จะเติบโตได้รวดเร็วกว่าสาหร่าย *T. suecica* แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนผลผลิตเซลล์ของ *T. suecica* ก่อนช่วงครั้งที่ลดการทดลอง (ตารางที่ 2.6) แสดงให้เห็นว่า *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* สามารถเลี้ยงแบบผสมได้

ตารางที่ 2.6 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

ชนิดสาหร่าย	รอบที่	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
<i>Chaetoceros</i> sp.	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.51 (วันที่ 0-5)	191.10 \pm 123.66	49.65
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.08 (วันที่ 5-7)	121.29 \pm 81.84	8.27
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3	1.09 (วันที่ 7-10)	96.65 \pm 61.33	10.61
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 4	1.09 (วันที่ 10-13)	79.94 \pm 34.78	11.58
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 5	1.02 (วันที่ 13-15)	65.06 \pm 34.85	29.41
<i>T. suecica</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.77 (วันที่ 0-5)	53.73 \pm 40.30	10.57
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.32 (วันที่ 5-7)	77.31 \pm 59.87	17.07
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3	0.29 (วันที่ 7-10)	91.66 \pm 70.67	20.40
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 4	0.20 (วันที่ 10-13)	89.10 \pm 68.24	15.14
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 5	0.18 (วันที่ 13-15)	82.38 \pm 71.97	12.62

(4) *Thalassiosira* sp. ผสมกับ *T. suecica*

จากการเลี้ยงเซลล์แบบชนิดเดียวส่งผลให้สาหร่ายแต่ละชนิดมีผลผลิตมวลชีวภาพที่สูงกว่าการเลี้ยงแบบเซลล์ผสม ซึ่งการเลี้ยงแบบผสมทำให้ *Thalassiosira* เติบโตได้ต่ำกว่า *T. suecica* (ตารางที่ 2.7) และเมื่อทำการเลี้ยงสาหร่ายผสมแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าสาหร่าย *Thalassiosira* ไม่สามารถเติบโตได้เลย ในขณะที่ *T. suecica* สามารถเติบโตได้ (ตารางที่ 2.8)

ตารางที่ 2.7 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* เพียงชนิดเดียวและ 2 ชนิด ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์

รูปแบบการเพาะเลี้ยง	ชนิดสาหร่าย	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
เลี้ยงชนิดเดียว	<i>Thalassiosira</i>	1.08 (วันที่ 0-2)	122 \pm 5.29	131.76
	<i>T. suecica</i>	0.95 (วันที่ 0-2)	151 \pm 6.23	143.45
เลี้ยงแบบผสม	<i>Thalassiosira</i>	0.71 (วันที่ 0-2)	26 \pm 0.45	18.46
	<i>T. suecica</i>	0.95 (วันที่ 0-2)	97 \pm 1.55	92.15

ตารางที่ 2.8 อัตราการเติบโตจำเพาะ ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและปริมาณผลผลิตของสาหร่าย *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

ชนิดสาหร่าย	รอบที่	อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณผลผลิต ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน)
<i>Thalassiosira</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.36(วันที่ 0-8)	24.95 \pm 0.45	8.98
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	ND (วันที่ 8-9)	8.01 \pm 0.13	ND
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3	ND (วันที่ 9-10)	5.48 \pm 0.07	ND
<i>T. suecica</i>	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1	0.71 (วันที่ 0-8)	96.90 \pm 1.55	68.80
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2	0.71 (วันที่ 8-9)	96.85 \pm 1.71	68.76
	เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3	0.26 (วันที่ 9-10)	99.17 \pm 1.61	25.78

หมายเหตุ: ไม่สามารถคำนวณหาค่าได้ เนื่องจากสาหร่ายไม่เติบโต

2.2.2 ไขมันและกรดไขมันของสาหร่าย

(1) สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์ชนิดเดียว

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 5 ชนิด ด้วยรูปแบบเซลล์ชนิดเดียว พบว่าสาหร่ายทั้ง 5 ชนิด คือ *Chaetoceros* sp., *Thalassiosira* sp., *T. suecica*, *I. galbana* และ *A.*

subtropica มีปริมาณไขมันที่ใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) โดยมีค่าในช่วง 12.98 ถึง 22.11 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.9 เปอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว (เพาะเลี้ยงแบบแบตช์) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ชนิดสาหร่าย	เปอร์เซ็นต์ไขมัน (ในน้ำหนักแห้ง)
<i>Chaetoceros</i> sp.	16.08±6.23 ^a
<i>Thalassiosira</i> sp.	12.98±7.83 ^a
<i>T. suecica</i>	18.20±6.11 ^a
<i>I. galbana</i>	22.11±6.84 ^a
<i>A. subtropica</i>	21.86±0.08 ^a

องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย *Chaetoceros* sp., *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว หรือ MUFAs และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน หรือ PUFAs) ที่สูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว โดยสาหร่าย *T. suecica* กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึง 63.14 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด (MUFAs และ PUFAs เท่ากับ 20.39 และ 42.75 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม สาหร่าย *Chaetoceros* sp. มีปริมาณ MUFAs 51.17 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งสูงกว่าสาหร่ายชนิด ($P \leq 0.05$) ส่วนสาหร่าย *T. suecica* มีปริมาณ PUFAs สูงกว่าสาหร่ายชนิด ($P \leq 0.05$) โดยพบสะสมในรูปของกรดไขมัน 18:2n6 (linoleic acid), 18:3n3 (linolenic acid) และ 18:3n6 (gamma linoleic acid) (ตารางที่ 2.10)

สาหร่ายทุกชนิดมีกรดไขมันชนิด 14:0 (myristic acid), 16:0 (palmitic acid), 18:0 (stearic acid), 16:1 (palmitoleic acid) และ 18:2n6 เป็นองค์ประกอบ โดยชนิดที่มีปริมาณสูงคือ 16:0 และ 16:1 ทั้งนี้สาหร่าย *Thalassiosira* sp., *T. suecica*, *I. galbana* และ *A. subtropica* พบว่ามีกรดไขมัน 20:5n3 (eicosapentaenoic acid, EPA) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งไดอะตอม *Thalassiosira* มีปริมาณ EPA สูงที่สุด ($P \leq 0.05$) ถึง 15.26 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ส่วน *A. subtropica* ยังพบว่ามีกรดไขมัน 22:6n3 (docosahexaenoic acid, DHA)

ตารางที่ 2.10 องค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และ ND=Not detected

ชนิดกรดไขมัน	ชนิดสาหร่าย				
	<i>Chaetoceros</i>	<i>Thalassiosira</i>	<i>T. suecica</i>	<i>I. galbana</i>	<i>A. subtropica</i>
<u>กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid, SFA)</u>					
14:0	10.80±0.18 ^{ab}	16.78±1.52 ^a	1.28±0.38 ^b	23.82±10.55 ^a	7.78±0.38 ^{ab}
15:0	ND	ND	8.10±0.17 ^a	8.57±0.07 ^a	1.80±0.29 ^a
16:0	25.66±0.36 ^{ab}	6.62±7.24 ^c	20.18±8.94 ^{abc}	16.06±7.83 ^{bc}	26.40±1.31 ^a
17:0	3.86±0.16 ^c	20.53±1.42 ^a	1.12±0.09 ^d	ND	6.01±0.38 ^b
18:0	2.14±0.13 ^{ab}	0.47±0.45 ^b	3.58±0.99 ^a	4.98±2.25 ^a	1.12±0.36 ^{ab}
20:0	ND	ND	ND	ND	0.32±0.09 ^a
21:0	ND	ND	2.14±0.49 ^b	ND	5.69±2.13 ^a
23:0	ND	0.33±0.57 ^a	ND	ND	1.42±1.85 ^a
24:0	ND	4.20±0.39 ^a	0.47±1.99 ^b	5.12±2.10 ^a	ND
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid, MUFA)</u>					
14:1	ND	2.11±0.38 ^a	1.80±0.60 ^{ab}	1.68±0.02 ^b	1.46±0.90 ^{bc}
16:1	49.36±0.43 ^a	26.03±2.24 ^c	3.96±1.32 ^d	7.21±3.42 ^d	30.83±1.61 ^b
17:1	ND	6.21±1.84 ^b	14.63±3.63 ^a	11.28±0.01 ^b	2.15±0.94 ^b
18:1n9c	1.66±0.08 ^a	0.056±0.05 ^b	ND	ND	ND
24:1	0.16±0.48 ^a	0.75±0.68 ^a	ND	1.69±2.19 ^a	1.67±2.57 ^a
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid, PUFA)</u>					
18:2n6c	1.27±0.07 ^b	0.15±0.27 ^b	16.75±4.0 ^a	3.65±1.53 ^b	0.65±0.20 ^b
18:2n6t	1.00±0.50 ^a	ND	1.08±0.06 ^a	ND	ND
18:3n6	ND	ND	18.33±4.58 ^a	6.75±3.02 ^b	1.73±0.54 ^b
18:3n3	2.85±0.09 ^a	ND	3.62±0.8 ^{8a}	7.85±3.37 ^a	ND
20:3n3	ND	ND	ND	ND	0.76±0.27 ^a

20:3n6	1.25±0.09 ^a	ND	ND	ND	ND
20:5n3	ND	15.26±13.35 ^a	2.99±0.70 ^{ab}	1.34±1.55 ^b	9.66±0.74 ^{ab}
22:6n3	ND	ND	ND	ND	0.56±0.18 ^a
SFAs	42.45±9.27 ^{bc}	48.93±9.82 ^{ab}	36.86±7.10 ^c	58.55±8.13 ^a	50.53±8.56 ^{ab}
MUFAs	51.17±22.85 ^a	35.65±3.66 ^b	20.39±6.81 ^c	21.85±4.67 ^c	36.10±14.54 ^b
PUFAs	6.38±0.74 ^c	15.42±13.35 ^{bc}	42.75±8.28 ^a	19.60±2.96 ^b	13.36±3.94 ^{bc}

(2) สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบผสม 2 ชนิด

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบผสม 2 ชนิด ส่งผลให้มีปริมาณไขมันสูง (ตารางที่ 2.11) โดยการเลี้ยงสาหร่ายผสม คือ *T. suecica* + *Chaetoceros*, *T. suecica* + *Thalassiosira*, *T. suecica* + *I. galbana* และ *T. suecica* + *A. subtropica* มีปริมาณไขมันใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์ชนิดเดียว (12.98 ถึง 22.11 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง) พบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบผสม 2 ชนิด มีค่าไขมันสูงกว่า (23.23 ถึง 44.37 เปอร์เซ็นต์ไขมันในน้ำหนักแห้ง)

ตารางที่ 2.11 เปอร์เซ็นต์ไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบผสม 2 ชนิด โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ชนิดสาหร่าย	เปอร์เซ็นต์ไขมัน (ในน้ำหนักแห้ง)
<i>T. suecica</i> + <i>Chaetoceros</i>	23.23±0.09 ^a
<i>T. suecica</i> + <i>Thalassiosira</i>	28.92±6.87 ^a
<i>T. suecica</i> + <i>I. galbana</i>	38.70±10.92 ^a
<i>T. suecica</i> + <i>A. subtropica</i>	44.37±7.34 ^a

กรดไขมันชนิดเด่นที่พบในการเลี้ยงสาหร่ายผสมมี 6 ชนิด คือ กรดไขมันชนิด 14:0, 16:0, 17:0 (heptadecenoic acid), 18:0, 16:1 และ 18:2n6 (ตารางที่ 2.12) โดยสะสมในรูปแบบของกรดไขมัน 18:0 มากที่สุด รองลงมาคือ 18:3n6

การเลี้ยงสาหร่าย *T. suecica* ผสมกับไดอะตอม *Thalassiosira* ส่งผลให้สาหร่ายผสมมีปริมาณไขมันอิ่มตัว (SFAs) เท่ากับ 53.59 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงสาหร่ายผสมรูปแบบอื่นๆ ($P \leq 0.05$) โดยไม่พบกรดไขมันไม่อิ่มตัว 17:1, 18:1n9, 18:3n3 และ 20:3n6 ในขณะที่การเลี้ยงสาหร่ายผสมชนิดอื่น (*T. suecica*+*Chaetoceros*, *T. suecica*+*I. galbana* และ *T. suecica*+*A. subtropica*) จะพบไขมันชนิดดังกล่าว ทั้งนี้การเลี้ยงสาหร่าย *T.*

suecica ผสมกับไดอะตอม *Thalassiosira* พบว่ามีกรดไขมัน 18:2n6t (inolelaidic acid) สูงถึง 20.07 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด โดยจะไม่พบกรดไขมันชนิดนี้ในการเลี้ยงสาหร่ายรูปแบบอื่น

เมื่อเลี้ยง *T. suecica* ผสมกับ *I. galbana* กลับส่งผลให้สาหร่ายผสมมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (60.33 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงสาหร่ายผสมชนิดอื่น ($P \leq 0.05$) โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 18:3n6 สะสมสูงที่สุด (17.80 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ 18:1n9t, 17:1 และ 18:1n9c ที่มีค่า 11.17, 8.63 และ 8.31 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ แต่การเลี้ยง *T. suecica* ผสมกับ *I. galbana* ไม่พบว่าสาหร่ายมีกรดไขมัน 20:4n6 ซึ่งกรดไขมันชนิดนี้จะพบในการเลี้ยงเลี้ยงสาหร่ายผสมชนิดอื่น

ตารางที่ 2.12 องค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแบบผสม 2 ชนิด (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected

ชนิดกรดไขมัน	ชนิดสาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสม			
	<i>T. suecica</i>	<i>T. suecica</i>	<i>T. suecica</i>	<i>T. suecica</i>
	+	+	+	+
	<i>Chaetoceros</i>	<i>Thalassiosira</i>	<i>I. galbana</i>	<i>A. subtropica</i>
<u>กรดไขมันอิ่มตัว</u> (Saturated fatty acid, SFA)				
14:0	1.75±0.31 ^c	3.72±0.13 ^{bc}	5.67±2.25 ^b	9.25±0.47 ^a
16:0	5.48±0.89 ^{ab}	4.86±0.15 ^b	10.06±3.05 ^a	3.88±0.15 ^b
17:0	ND	13.14±0.80	ND	ND
18:0	35.52±0.12 ^a	31.87±0.76 ^b	23.94±1.78 ^c	29.40±0.89 ^b
20:0	1.53±0.19 ^a	ND	ND	1.65±0.06 ^a
24:0	ND	ND	ND	1.96±0.39
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว</u> (Monounsaturated fatty acid, MUFA)				
15:1	ND	5.53±0.40 ^b	6.82±0.41 ^a	ND
16:1	3.11±1.46 ^b	10.3±1.57 ^a	3.95±0.30 ^b	1.78±0.14 ^b
17:1	11.33±0.17 ^a	ND	8.63±0.91 ^b	8.06±0.20 ^b
18:1n9c	5.39±0.03 ^a	ND	8.31±2.16 ^a	7.66±0.01 ^a
18:1n9t	10.84±0.17 ^a	ND	11.17±0.94 ^a	12.0±0.35 ^a
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน</u> (Polyunsaturated fatty acid, PUFA)				

18:2n6c	1.85±0.11 ^a	ND	ND	1.39±0.27 ^a
18:2n6t	ND	20.07±1.01	ND	ND
18:3n6	13.71±0.33 ^b	3.65±0.03 ^c	17.80±1.34 ^a	13.04±0.27 ^b
18:3n3	2.87±0.42 ^b	ND	2.00±2.83 ^b	6.08±0.21 ^a
20:2	ND	2.89±0.41	ND	ND
20:3n6	2.21±0.14 ^a	ND	1.65±2.34 ^a	1.33±0.14 ^a
20:4n6	4.41±0.14 ^a	3.44±0.45 ^{ab}	ND	2.53±0.17 ^b
SFAs	44.29±14.20 ^b	53.59±11.27 ^a	39.67±9.54 ^c	46.14±10.45 ^b
MUFAs	30.67±3.52 ^b	16.36±2.65 ^c	38.88±2.65 ^a	29.50±3.65 ^b
PUFAs	25.05±4.44 ^{ab}	30.05±7.26 ^a	21.45±9.22 ^b	24.36±4.43 ^b

2.3 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

2.3.1 การเติบโตของโคฟีพอด

เมื่อเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* พบว่าโคฟีพอดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาทดลอง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณนอเพล็ซิสและระยะโคฟีโพดิที่รวมกับตัวเต็มวัย พบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกันถึงแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทั้ง 3 รอบ แต่กลับพบว่าปริมาณรวมทั้งหมดของโคฟีพอด (นอเพล็ซิสและระยะโคฟีโพดิที่รวมกับตัวเต็มวัย) ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำรอบที่ 3 มีความหนาแน่นสูงกว่ารอบอื่น ($P \leq 0.05$) โดยมีค่า 6,966.7 ตัวต่อลิตร (ตารางที่ 2.13)

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *I. galbana* และ *A. subtropica* พบว่าโคฟีพอดเติบโตได้ต่ำ และปริมาณโคฟีพอดทั้งหมดทั้ง 3 รอบของการเปลี่ยนถ่ายน้ำ มีความหนาแน่นคงที่ ($P \geq 0$)

ส่วนโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Chaetoceros* พบว่าในรอบที่ 3 ของการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ความหนาแน่นของนอเพล็ซิสเพิ่มสูงขึ้นเป็น 3,733 ตัวต่อลิตร ระยะตัวเต็มวัยและโคฟีโพดิกลับมีความหนาแน่นคงที่ แต่ความหนาแน่นโคฟีพอดทั้งหมดมีค่าสูง 5,400 ตัวต่อลิตร

จำนวนนอเพล็ซิส โคฟีโพดิและตัวเต็มวัย รวมถึงจำนวนโคฟีพอดรวมทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* มีค่าคงที่ตลอดการทดลอง แต่จำนวนนอเพล็ซิส โคฟีโพดิและตัวเต็มวัย โคฟีพอดรวมทั้งหมด มีค่าสูงถึง 7,166, 4,066 และ 10,766 ตัวต่อลิตร

ตารางที่ 2.13 ความหนาแน่นของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว ซึ่งในระหว่างการเลี้ยงได้มีการกรองน้ำเลี้ยงโคฟีพอดออกจากถังเลี้ยงแล้วเติมสาหร่ายเข้าสู่ถังเลี้ยงในปริมาตรเท่ากับที่ปริมาตรน้ำแล้วโคฟีพอดที่ออกเอา โดยทำทั้งหมด 3 รอบ โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้ง (ที่เลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายชนิดเดียวกัน) แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

รอบการเลี้ยง	วันที่	ความหนาแน่นของโคฟีพอด (ตัว/ลิตร)		
		นอเพเลียส	โคฟีพอดและตัวเต็มวัย	โคฟีพอดทั้งหมด
เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>T. suecica</i>				
โคฟีพอด				
1	0-10	2,466.7±1,850.2 ^a (วันที่ 10)	666.7±513.2 ^a (วันที่ 10)	3,133.3±2,003.3 ^b (วันที่ 10)
2	10-18	5,200±1,389.2 ^a (วันที่ 18)	1,533.3±1,258.3 ^a (วันที่ 14)	5,900±1,473.1 ^{ab} (วันที่ 18)
3	18-24	5,400±1,708.8 ^a (วันที่ 24)	1,566.7±1,026.3 ^a (วันที่ 24)	6,966.7±702.4 ^a (วันที่ 24)
เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>I. galbana</i>				
1	0-10	1,400±1,510.5 ^a (วันที่ 1)	1,000±1,113.6 ^a (วันที่ 3)	1,533.3±1,527.5 ^a (วันที่ 1)
2	10-18	1,533.3±305.5 ^a (วันที่ 18)	1,066.7±1,674.3 ^a (วันที่ 15)	2,600±1,389.2 ^a (วันที่ 15)
3	18-24	2,400±2,179.4 ^a (วันที่ 22)	866.7±1,078.6 ^a (วันที่ 21)	3,066.7±2,914.3 ^a (วันที่ 22)
เลี้ยงสาหร่าย <i>A. subtropica</i>				
1	0-10	566.7±288.7 ^b (วันที่ 10)	533.3±923.8 ^a (วันที่ 1)	800±1,039.2 ^a (วันที่ 1)
2	10-18	1,900±818.5 ^a (วันที่ 17)	953.9±66.7 ^a (วันที่ 12)	2,133.3±945.2 ^a (วันที่ 17)
3	18-24	1,566.7±351.2 ^{ab} (วันที่ 24)	400±529.2 ^a (วันที่ 22)	1,800±173.2 ^a (วันที่ 24)
เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>Chaetoceros</i> sp.				
1	0-10	1,666.7±1026.3 ^b (วันที่ 10)	533.3±416.3 ^a (วันที่ 5)	1,666.7±1026.3 ^b (วันที่ 10)
2	10-18	4,200±854.4 ^{ab} (วันที่ 17)	1,833.3±1150.4 ^a (วันที่ 17)	6,033.3±971.3 ^a (วันที่ 17)
3	18-24	3,733±986.6 ^a	1,666.7±635.1 ^a	5,400±1360.6 ^a

		(วันที่ 24)	(วันที่ 24)	(วันที่ 24)
เลี้ยงด้วยสาหร่าย <i>Thalassiosira</i> sp.				
1	0-10	6,366.7±5,118.9 ^a (วันที่ 10)	1,666.7±1,701 ^a (วันที่ 7)	7,333.3±4,868.6 ^a (วันที่ 10)
2	10-18	6,766.7±3,669.2 ^a (วันที่ 16)	4,066.7±3,239.3 ^a (วันที่ 17)	10,766.7±7,239 ^a (วันที่ 17)
3	18-24	7,166.7±1,950.2 ^a (วันที่ 23)	3,433.3±4,827.4 ^a (วันที่ 20)	9,366.7±2,379.8 ^a (วันที่ 23)

อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* ส่งผลให้โคฟีพอดมีความหนาแน่นสูงกว่าการเลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดอื่น โดยจะเห็นได้ว่าการเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* ยังมีแนวโน้มในการเพาะเลี้ยงได้ระยะเวลานาน โดยที่ยังคงมีความหนาแน่นสูงและไม่มีการปนเปื้อน ลำดับรองลงมาคือ การเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *T. suecica* ที่ให้ความหนาแน่นโคฟีพอดในปริมาณสูงสุด 6,966.7 ตัวต่อลิตร (ตารางที่ 2.14)

ตารางที่ 2.14 ความหนาแน่นของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว

รอบเปลี่ยน ถ่ายอาหาร	โคฟีพอดทั้งหมดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายต่างชนิดกัน (ตัวต่อลิตร)				
	<i>T. suecica</i>	<i>I. galbana</i>	<i>A. subtropica</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>Thalassiosira</i>
1	3,133.3	1,533.3	800.0	1,833.3	7,333.3
2	5,900.0	2,600.0	2,133.3	6,033.3	10,766.7
3	6,966.7	3,066.7	1,800.0	5,400.0	9,366.7

2.3.2 ไขมันและกรดไขมันของโคฟีพอด

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* มีการสะสมไขมันได้สูงกว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดอื่น ($P \leq 0.05$) โดยมีไขมันสูงถึง 32.03 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* ที่มีปริมาณไขมัน 25.41 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง ส่วน *Chaetoceros*, *I. galbana* และ *A. subtropica* มีปริมาณไขมัน 14.68, 14.29 และ 15.94 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 2.15)

การเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายเพียงชนิดเดียว คือ *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, *T. suecica*, *I. galbana* และ *A. subtropica* พบว่าโคฟีพอดมีกรดไขมันชนิดเด่นที่คล้ายกัน 9 ชนิด คือ 14:0, 16:0, 18:0, 24:0, 14:1, 16:1, 18:1n9, 18:2n6 และ 20:5n3 โดยกรดไขมันชนิด 16:0 ที่มีปริมาณสูง ทั้งนี้สาหร่าย *T. suecica* มีกรดไขมันชนิด 18:0 สูงถึง 26.21 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมัน

ทั้งหมด ในขณะที่สาหร่ายชนิดอื่นจะมีกรดไขมัน 16:1 สูง โดย *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, *I. galbana* และ *A. subtropica* มีค่าเท่ากับ 38.67, 25.33, 21.82 และ 27.51 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ (ตารางที่ 2.16)

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Chaetoceros* มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) สูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว โดยอยู่ในรูปของ MUFAs มากถึง 42.42 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ในขณะที่ โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดอื่นๆ กลับมีการสะสมกรดไขมันอิ่มตัวสูง แต่อย่างไรก็ตาม โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suecica* กลับมี PUFAs สะสมสูงถึง 25.14 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด

การเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* ส่งผลให้ฟีพอดมีกรดไขมัน EPA สะสมสูงที่สุด โดยมีค่า 12.87 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ($P \leq 0.05$) และยังมี DHA ถึง 0.59 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด

ตารางที่ 2.15 ปริมาณไขมันของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายต่างชนิดกัน ทั้งนี้อักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย	เปอร์เซ็นต์ไขมัน (ในน้ำหนักแห้ง)
<i>Chaetoceros</i> sp.	14.68±8.91 ^b
<i>Thalassiosira</i> sp.	32.03±6.67 ^a
<i>T. suecica</i>	25.41±6.56 ^{ab}
<i>I. galbana</i>	14.29±1.42 ^b
<i>A. subtropica</i>	15.94±4.82 ^b

ตารางที่ 2.16 องค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected

ชนิดกรดไขมัน	โคฟีพอดที่กินสาหร่ายชนิดเดียว				
	<i>Chaetoceros</i>	<i>Thalassiosira</i>	<i>T. suecica</i>	<i>I. galbana</i>	<i>A. subtropica</i>
<u>กรดไขมันอิ่มตัว</u> (Saturated fatty acid, SFA)					
14:0	10.91±0.35 ^b	15.28±1.28 ^a	0.93±0.28 ^d	8.09±1.10 ^{bc}	5.67±0.26 ^c
15:0	ND	ND	1.79±1.05 ^a	2.03±1.59 ^a	2.42±1.04 ^a
16:0	23.26±0.55 ^c	21.07±3.52 ^c	26.83±0.56 ^{bc}	31.0±0.84 ^{ab}	38.84±1.94 ^a

17:0	2.02±0.10 ^b	8.95±0.64 ^a	0.54±0.18 ^c	ND	1.18±0.51
18:0	2.25±0.13 ^c	2.23±0.55 ^c	26.21±0.89 ^a	8.48±1.09 ^b	3.95±1.02 ^c
21:0	ND	ND	0.79±0.09 ^b	1.77±0.16 ^b	3.13±0.28 ^a
22:0	0.83±0.26 ^a	0.15±0.26 ^b	ND	ND	ND
23:0	0.30±0.09 ^a	ND	0.50±0.12 ^a	ND	0.59±0.40 ^a
24:0	4.18±0.19 ^b	6.91±0.58 ^a	2.12±0.25 ^c	3.71±0.86 ^b	1.02±0.17 ^c
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid, MUFA)</u>					
14:1	1.24±0.11 ^b	1.31±0.17 ^b	1.81±0.24 ^b	3.86±0.73 ^a	2.68±0.98 ^a
16:1	38.67±0.22 ^a	25.33±2.39 ^b	4.24±0.11 ^c	21.82±1.17 ^b	27.51±3.58 ^{ab}
17:1	ND	1.03±1.04 ^a	3.50±0.53 ^a	6.36±3.97 ^a	4.79±1.98 ^a
18:1n9c	1.83±0.42 ^b	1.21±0.58 ^b	5.18±0.28 ^a	1.61±0.29 ^b	0.98±0.17 ^b
18:1n9t	0.34±0.13 ^a	0.20±0.35 ^a	ND	ND	ND
24:1	0.34±0.08 ^a	0.22±0.19 ^a	0.43±0.29 ^a	ND	0.58±0.40 ^a
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid, PUFA)</u>					
18:2n6c	2.06±0.55 ^c	1.11±0.19 ^c	5.11±0.22 ^a	3.44±0.35 ^c	1.24±0.22 ^c
18:2n6t	ND	0.32±0.38 ^c	12.71±0.32 ^a	2.10±0.16 ^b	0.67±0.25 ^c
18:3n3	ND	0.44±0.50 ^b	2.10±0.20 ^a	1.43±0.35 ^a	0.76±0.24 ^b
20:3n3	ND	ND	0.74±0.06	ND	ND
20:3n6	3.52±0.11 ^a	0.79±0.39 ^b	ND	ND	ND
20:4n6	ND	ND	0.68±0.12	ND	ND
20:5n3	7.59±0.20 ^b	12.87±1.18 ^a	3.12±0.32 ^d	4.30±0.36 ^c	3.52±0.30 ^{cd}
22:6n3	0.66±0.01 ^a	0.59±0.29 ^a	0.67±0.29 ^a	ND	0.48±0.20 ^a
SFAs	43.75±0.47 ^b	54.59±1.12 ^a	59.71±11.78 ^a	55.07±11.08 ^a	56.80±12.93 ^a
MUFAs	42.42±0.26 ^a	29.30±1.37 ^{ab}	15.15±1.91 ^b	33.65±9.15 ^{ab}	36.54±11.42 ^{ab}
PUFAs	13.83±0.61 ^{bc}	16.12±0.78 ^b	25.14±4.34 ^a	11.28±1.30 ^c	6.66±1.25 ^d

2.4 การเติบโตของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม 2 ชนิด ในระบบการเลี้ยงแบบแบตซ์

2.4.1 การเติบโตของโคฟีพอด

การเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายผสม *T. suecica* + *Thalassiosira*, *T. suecica* + *Chaetoceros*, *T. suecica* + *I. galbana* และ *T. suecica* + *A. subtropica* พบว่าให้จำนวนนอเพลียสที่ใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) โดยมีค่าในช่วง 4,033-5,925 ตัวต่อลิตร แต่การเลี้ยงโคฟีพอดด้วย *T. suecica* + *Chaetoceros* กลับมีจำนวนโคฟีพอดในระยะโคฟีพอดิตและตัวเต็มวัย 5,679 ตัวต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงด้วย *T. suecica* + *Thalassiosira*, *T. suecica* + *I. galbana* และ *T. suecica* + *A. subtropica* ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 2.17)

ตารางที่ 2.17 จำนวนสูงสุดของโคฟีพอดในระยะนอเพลียส โคฟีพอดิตและตัวเต็มวัย รวมถึงจำนวนโคฟีพอดทั้งหมด ที่เลี้ยงแบบแบตซ์เป็นเวลา 10 วัน โดยใช้อาหารเป็นสาหร่ายผสม โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ระยะของโคฟีพอด	จำนวนโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม (ตัวต่อลิตร)			
	<i>T. suecica</i>	<i>T. suecica</i>	<i>T. suecica</i>	<i>T. suecica</i>
	+	+	+	+
	<i>Thalassiosira</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>I. galbana</i>	<i>A. subtropica</i>
นอเพลียส	4,592.15±1,163.91 ^a	5,925.92±2,566.0 ^a	4,100.0±1,367.1 ^a	4,033.33±518.54 ^a
	วันที่ 9	วันที่ 10	วันที่ 10	วันที่ 9
โคฟีพอดิตและตัวเต็มวัย	2,345.68±1,936.65 ^b	5,679.01±2,039.8 ^a	2,266.7±377.1 ^b	2,100.±329.98 ^b
	วันที่ 10	วันที่ 10	วันที่ 10	วันที่ 8
โคฟีพอดทั้งหมด	6,654.32±1,685.22 ^b	11,604.93±174.59 ^a	6,366.7±1,744.2 ^b	4,700.0±518.54 ^b
	วันที่ 10	วันที่ 10	วันที่ 10	วันที่ 8

2.4.2 ไขมันและกรดไขมันของโคฟีพอด

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม โดยมีสาหร่าย *T. suecica* ผสมกับ *Chaetoceros* หรือ *Thalassiosira* หรือ *I. galbana* มีปริมาณไขมันใกล้เคียงกันและยังมีค่าไขมันสะสมสูงกว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suecica* ผสมกับ *A. subtropica* ($P \leq 0.05$) ดังตารางที่ 2.18

ตารางที่ 2.18 ปริมาณไขมันของโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม ทั้งนี้อักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม	เปอร์เซ็นต์ไขมัน (ในน้ำหนักแห้ง)
<i>T. suecica</i> + <i>Chaetoceros</i> sp.	26.99±0.78 ^a
<i>T. suecica</i> + <i>Thalassiosira</i> sp.	26.27±3.67 ^a
<i>T. suecica</i> + <i>I. galbana</i>	27.32±0.03 ^a
<i>T. suecica</i> + <i>A. subtropica</i>	16.20±1.25 ^b

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบผสมมีกรดไขมันชนิดเด่นที่เหมือนกัน 6 ชนิด คือ กรดไขมันชนิด 16:0, 17:0, 18:0, 14:1, 18:2n6 และ 18:3n6 ซึ่งโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suecica*+*Thalassiosira*, *T. suecica*+*I. galbana* และ *T. suecica*+*A. subtropica* พบว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสะสมสูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suecica*+*Thalassiosira* มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึง 68.57 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งมี MUFAs และ PUFAs เท่ากับ 7.30 และ 61.27 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ทั้งนี้ PUFAs ที่พบสูงสุดคือ linoleic acid (LA) หรือ 18:2n6 ที่พบมากถึง 26.25 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด รองลงมา คือ arachidonic acid (AA) หรือ 20:4n6 (15.21 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) และยังพบ DHA (22:6n3) ถึง 7.80 เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 2.19)

ตารางที่ 2.19 องค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม (เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) โดยอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และ ND=Not detected

ชนิดกรดไขมัน	โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม			
	<i>T. suecica</i> +	<i>T. suecica</i> +	<i>T. suecica</i> +	<i>T. suecica</i> +
	<i>Chaetoceros</i>	<i>Thalassiosira</i>	<i>I. galbana</i>	<i>A. subtropica</i>
<u>กรดไขมันอิ่มตัว</u> (Saturated fatty acid, SFA)				
14:0	2.14±0.48 ^a	ND	ND	0.92±0.52 ^b
15:0	4.02±1.19	ND	ND	ND
16:0	29.04±0.15 ^a	2.67±0.01 ^b	1.41±0.05 ^d	5.48±0.42 ^b
17:0	4.68±0.53 ^b	12.42±0.02 ^a	11.65±0.08 ^a	12.50±0.04 ^a
18:0	17.03±1.67 ^b	16.35±0.01 ^b	26.66±0.01 ^a	26.44±0.60 ^a

20:0	1.62±0.05 ^a	ND	ND	1.18±0.19 ^a
24:0	1.47±0.13	ND	ND	ND
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว</u> (Monounsaturated fatty acid, MUFA)				
14:1	1.19±0.05 ^b	7.30±0.0 ^a	1.67±0.71 ^b	1.82±0.05 ^b
16:1	5.49±1.39 ^b	ND	10.81±0.11 ^a	11.07±0.10 ^a
17:1	4.58±0.84	ND	ND	ND
18:1n9t	4.90±0.42 ^a	ND	2.93±0.09 ^b	2.33±0.07 ^b
20:1	ND	ND	0.13±0.19	ND
22:1n9	ND	ND	1.01±0.12 ^a	1.12±0.33 ^a
24:1	ND	ND	ND	2.72±0.03
<u>กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน</u> (Polyunsaturated fatty acid, PUFA)				
18:2n6c	11.37±1.08 ^a	2.22±0.25 ^b	ND	ND
18:2n6t	0.63±0.02 ^c	24.03±0.15 ^a	20.24±0.02 ^b	19.52±0.66 ^b
18:3n6	7.14±0.79 ^a	4.49±0.27 ^b	6.06±0.69 ^{ab}	4.31±0.39 ^b
18:3n3	0.81±0.02 ^a	1.59±0.17 ^a	ND	ND
20:2	ND	4.00±0.14 ^c	5.45±0.15 ^a	4.61±0.0 ^b
20:3n3	1.66±0.28 ^b	ND	6.91±0.17 ^a	5.98±0.19 ^a
20:3n6	ND	1.93±0.15 ^a	0.89±0.03 ^b	ND
20:4n6	ND	15.21±0.51	ND	ND
20:5n3	1.64±0.18	ND	ND	ND
22:2	ND	ND	0.54±0.14	ND
22:6n3	0.60±0.07 ^c	7.80±0.27 ^a	3.63±0.36 ^b	ND
SFAs	59.98±9.76 ^a	31.43±5.75 ^d	39.72±12.70 ^c	46.53±9.54 ^b
MUFAs	16.17±1.68 ^a	7.30±0.0 ^b	16.56±4.32 ^a	19.06±4.06 ^a
PUFAs	23.85±3.89 ^d	61.27±9.27 ^a	43.72±6.65 ^b	34.42±6.33 ^c

3. อภิปรายผลการทดลอง

3.1 วงจรชีวิตของไซโคพอยด์โคพีพอด *Apocyclops royi*

โคพีพอด *A. royi* เป็น euryhaline calanoid copepod (Dhanker and Hwang, 2013) จึงทนความเค็มได้ในช่วงกว้าง ผลจากการทดลองพบว่าโคพีพอดใช้ระยะเวลาพัฒนาจากนอเพลียสเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเท่ากับ 15-16 วัน อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาพัฒนาของโคพีพอดยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ และความเข้มแสง เป็นต้น ซึ่ง Farhadian *et al.* (2014) พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาการเติบโตของ *A. dengizicus* จากระยะที่มีตัวแม่ที่มีไข่ไปถึงระยะตัวเต็มวัยใช้เวลาในการเติบโตของระยะ ทั้งหมดประมาณ 11.70 วัน โดยทดลองภายในอุณหภูมิห้องและใช้ความเค็ม 20 พีเอสยู แต่ *A. royi* ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้แยกมาจากแหล่งน้ำที่มีความเค็มเปลี่ยนแปลงกว้างในช่วง 20-25 พีเอสยู ทั้งนี้ระยะนอเพลียสและโคพีพอดติดถึงตัวเต็มวัยของโคพีพอดมีขนาดเท่ากับ 150 และ 600 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งอนันต์และคณะ (2536) ได้รายงานว่ไข่อาร์ทีเมียมีขนาดประมาณ 200-300 ไมโครเมตร และระยะนอเพลียสที่ฟักออกจากไข่จะมีขนาด 400-500 ไมโครเมตร แสดงให้เห็นชัดเจนว่านอเพลียสของอาร์ทีเมียมีขนาดที่ใหญ่กว่านอเพลียสของ *A. royi* ดังนั้นนอเพลียสของ *A. royi* จึงน่าจะมีขนาดที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจโดยเฉาะอย่างยิ่งลูกปลาเก๋าซึ่งมีปากขนาดเล็ก

3.2 การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยรูปแบบเซลล์ชนิดเดียวและผสม 2 ชนิด ในระบบการเลี้ยงแบบแบตช์และกึ่งต่อเนื่อง

การเลี้ยงสาหร่ายแบบแบตช์เป็นเทคนิคการเลี้ยงให้สาหร่ายเติบโตแล้วจึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ แต่การเลี้ยงแบบนี้จะมีปัญหาเรื่องอาหารเป็นปัจจัยจำกัดในช่วงที่เซลล์เติบโตในระยะคงที่ (stationary growth phase) และเมื่อเลี้ยงเสร็จในแต่ละรอบต้องมีการล้างระบบเลี้ยงและเตรียมอาหารเพื่อเลี้ยงสาหร่ายในรอบใหม่ ซึ่งใช้เวลาและแรงงานมาก (Benvenuti *et al.*, 2016) อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงด้วยเทคนิคแบบแบตช์นี้เป็นที่นิยมในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่าสาหร่ายแบบชนิดเดียว พบว่าสาหร่ายทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองสามารถเติบโตได้ดี อาจเนื่องจากปริมาณสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร F/2 มีปริมาณที่เพียงพอต่อการเติบโตของสาหร่าย แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบผสม พบว่าสามารถเลี้ยงสาหร่ายแบบผสมได้ แต่ปริมาณผลผลิตของสาหร่ายทุกชนิดมีค่าต่ำกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียว ทั้งนี้การที่สาหร่าย 2 ชนิด เติบโตร่วมกันได้ อาจเนื่องมาจากอาหารสูตร F/2 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล และลักษณะการดำรงชีวิตของสาหร่ายไม่มีการรบกวนหรือยับยั้งการเติบโตซึ่งกันและกัน โดย Novoveska *et al* (2016) ได้รายงานว่าการเลี้ยงสาหร่ายผสม 2 ชนิด คือ *Dunaliella* และ *Phaeodactylum tricornutum*

ในระบบการเลี้ยงแบบแบตซ์ พบว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด สามารถเติบโตได้ปกติในการเลี้ยงร่วมกัน และมีอัตราการเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกับที่เลี้ยงเพียงชนิดเดียว ซึ่ง *Dunaliella* จะล่องลอยในมวลน้ำ ส่วน *Phaeodactylum* เป็น benthic diatom จึงอาศัยอยู่ที่ท้องน้ำ สอดคล้องกับผลการทดลองนี้ เช่น การเลี้ยง *T. suecica* ร่วมกับ *Amphora subtropica* พบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดสามารถสามารถเลี้ยงด้วยกันได้และมีการเติบโตปกติ ทั้งนี้สาหร่าย *T. suecica* เป็นสาหร่ายที่สามารถเคลื่อนที่ได้ดีในมวลน้ำ แต่สาหร่าย *Amphora* ดำรงชีวิตแบบยึดเกาะอยู่กับพื้นผิววัตถุทำให้ไม่เกิดการแย่งอาหารซึ่งกันและกัน ส่วนสาเหตุที่ปริมาณผลผลิตของสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบผสมมีค่าต่ำกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียวนั้น อาจเนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดอาจจะมีอัตราการใช้อาหารและต้องการปริมาณธาตุอาหารที่แตกต่างกัน

การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องเป็นเทคนิคการเลี้ยงสาหร่ายที่เมื่อสาหร่ายเติบโตในระยะทวีคูณจะมีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายออกประมาณ 3/4 ของปริมาตรการเลี้ยง และเซลล์ที่เหลือจะทำหน้าที่เป็นหัวเชื้อในการเลี้ยงรอบต่อไป ซึ่งต้องมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าสู่ระบบเลี้ยงอีกครั้ง เทคนิคนี้สามารถเลี้ยงสาหร่ายได้เป็นระยะเวลานาน โดยที่มีการเก็บเกี่ยวเซลล์ได้หลายๆ รอบ ดังนั้นจึงสูญเสียแรงงานและเวลาในการเตรียมระบบเลี้ยงน้อย อีกทั้งปริมาณธาตุอาหารก็ยังมีเพียงพอเนื่องจากจะทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ในระยะทวีคูณ (Bosma et al., 2014; Benvenuti et al., 2016) ซึ่งผลจากการทดลองพบว่า *T. suecica* ที่เลี้ยงผสมกับสาหร่าย *Chaetoceros* แบบกึ่งต่อเนื่องที่มีการเก็บเกี่ยวเซลล์ 5 รอบ พบว่าสาหร่ายเติบโตร่วมกันได้ดี โดย *T. suecica* และ *Chaetoceros* มีผลผลิตมวลชีวภาพในช่วง $8.27-49.65 \times 10^7$ และ $10.57-20.40 \times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ สาหร่าย *T. suecica* และ *Chaetoceros* มีการดำรงชีวิตโดยล่องลอยในมวลน้ำเหมือนกัน ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เซลล์เติบโตร่วมกันได้ดีในการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องนั้นอาจเนื่องจากมีปริมาณธาตุอาหารที่เพียงพอ และเซลล์สาหร่ายแต่ละชนิดสามารถนำอาหารไปใช้ได้ด้วยอัตราที่ใกล้เคียงกัน จึงส่งผลให้มีการเติบโตได้ดีใกล้เคียงกัน ซึ่ง Phatarpekar et al. (2000) หากเซลล์มีขนาดใกล้เคียงกันย่อมมีพื้นที่ผิวเซลล์ที่ใกล้เคียงกันด้วย และพื้นที่ผิวเซลล์มีผลต่อการดูดซึมธาตุอาหารจึงมีผลต่อการเติบโตด้วย ทั้งนี้ขนาดของเซลล์สาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดย *Tetraselmis* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 8 ไมครอน (Arkronrat et al, 2016) ส่วน *Chaetoceros* เท่ากับ 5-9 ไมครอน อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Isocrysis+Tetraselmis*, *Amphora+Tetraselmis* และ *Thalassiosira+Tetraselmis* แบบกึ่งต่อเนื่อง กลับพบว่าสาหร่ายไม่สามารถเติบโตได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาหร่ายดังกล่าวมีการผลิตสารในกลุ่มของ exopolysaccharides (EPS) ออกมานอกเซลล์ ซึ่งสารดังกล่าวจะใช้ในการเคลื่อนที่ และการยึดกับวัตถุต่างๆ ของ benthic diatom เช่น *Amphora* ส่วนไดอะตอม *Thalassiosira* ก็มีรายงานว่าสามารถผลิต EPS ได้เช่นกัน (Staats et al., 1999) ซึ่ง EPS เป็นสารเหนียวซึ่งอาจจะมีผลให้เซลล์สาหร่ายมีการรวมกลุ่มและตกตะกอนจึงทำให้ไม่สามารถเติบโตได้ดี (Lind et al., 1997)

การเลี้ยง *T. suesica* ผสมกับ *Chaetoceros* ด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่องจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้ในการผลิตเซลล์สาหร่าย โดยสามารถเกี่ยวเกี่ยวเซลล์ได้หลายครั้งต่อการเตรียมระบบเลี้ยงสาหร่ายเพียงรอบเดียว

3.3 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวและสาหร่ายผสม

เมื่อเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายแบบชนิดเดียวด้วย *Thalassiosira* ส่งผลให้ได้โคพีพอดสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากชนิดและขนาดของสาหร่ายอาจมีผลต่อการเลือกกินของโคพีพอด ซึ่ง Teixeira *et al.* (2010) พบว่าหากเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายที่มีขนาดแตกต่างกันส่งผลให้สาหร่ายมีการเติบโตและความดกไข่แตกต่างกัน โดยโคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *Thalassiosira weissflogii* (ขนาดเซลล์ 13.2 ไมครอน) ให้ผลผลิตไข่มากกว่าโคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *I. galbana* (4.7 ไมครอน) มีขนาดที่เล็กกว่า *Chaetoceros muelleri* (7.3 ไมครอน) ทั้งนี้โคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira sp.* โดยโคพีพอดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำในแต่ละรอบ ถึงแม้จะใช้เวลาในการเลี้ยงโคพีพอดนาน 24 วัน แต่ก็สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตโคพีพอดได้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น อีกทั้ง Helenius and Saiz (2017) ได้รายงานว่าการใช้สาหร่ายชนิดเดียว *Paracartia grani* จะมีพฤติกรรมเลือกชนิดอาหารตามขนาดและองค์ประกอบทางเคมีของเหยื่อ โดยโคพีพอดจะเลือกกินอาหารที่มีขนาดในช่วง 4.5–19.8 ไมครอน นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณสาหร่ายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดอาจมีปริมาณมากเกินไป โดย Knuckey *et al.* (2005) พบว่าการใช้สาหร่ายในปริมาณสูงเกินไปไม่สามารถส่งเสริมการเติบโตของ calanoid copepod, *Acartia sinjiensis* ได้ ส่วนโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *A. subtropica* BUUC1502 มีความหนาแน่นต่ำกว่าการเลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดอื่นๆ และ Decho (1986) ซึ่งเลี้ยงโคพีพอด ชนิด *Scottolana canadensis* ซึ่งมีความหนาแน่นของโคพีพอดอยู่ที่ 10 ตัวต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ *Amphora* จัดเป็น benthic diatom ที่อาศัยอยู่ที่ท้องน้ำโดยยึดเกาะกับวัสดุต่างๆ ในมวลน้ำแต่โคพีพอดมักจะว่ายอยู่ในมวลน้ำ ดังนั้นในธรรมชาติ โคพีพอดจึงอาจจะไม่ค่อยเลือกกินไดอะตอม *Amphora* จึงส่งผลให้โคพีพอดมีการเติบโตได้ต่ำ แต่อย่างไรก็ตาม Cano *et al.* (2004) รายงานว่าในลำไส้ของโคพีพอด *Apocyclops panamensis* พบไดอะตอม *Amphora* และ *Navicula* เพียงเล็กน้อย แต่สาหร่ายที่พบในลำไส้โคพีพอดส่วนมากจะเป็น *Chlorella* แสดงให้เห็นว่า *Apocyclops* อาจจะไม่ค่อยเลือกกินไดอะตอมกลุ่มดังกล่าว อย่างไรก็ตาม โคพีพอดกินสาหร่ายขนาดเล็กที่มีอาหารคุณค่าทางโภชนาการ ส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการของโคพีพอดเกิดจากสาหร่ายที่ใช้เลี้ยงโคพีพอด ซึ่ง Puello-Cruz *et al.* (2009) ได้ศึกษาการเติบโตของ calanoid copepod ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายที่แตกต่างกัน พบว่าโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chaetoceros muelleri* มีอัตราการเติบโตสูงสุด รองลงมาคือ *Isochrysis galbana* เพราะสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง เช่น PUFA และ HUFA เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและการเติบโตของโคพีพอดให้สูงขึ้น

ในขณะที่ การศึกษาครั้งนี้พบว่า การเลี้ยงโคพีพอดด้วย *Thalassiosira* ส่งผลให้ได้โคพีพอดสูง รองลงมาคือ การเลี้ยงด้วย *Tetraselmis* และ *Chaetoceros* ตามลำดับ

การให้สาหร่ายมากกว่า 1 ชนิดแบบผสมแก่โคพีพอด ส่งผลดีกว่าการให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียว เพราะการให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวส่งผลให้ธาตุอาหารที่โคพีพอดได้รับไม่เพียงพอต่อความต้องการตามธรรมชาติ (Puello-Cruz *et al.*, 2009) ซึ่งในแง่ของการเติบโตของโคพีพอดพบว่า การเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายผสมทั้ง 4 แบบ คือ *T. suecica*+*Thalassiosira*, *T. suecica*+*Chaetoceros*, *T. suecica*+*I. galbana* และ *T. suecica*+*A. subtropica* พบว่าความหนาแน่นของอนุเซลล์มีแนวโน้มที่สูงกว่าการเลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว ทั้งนี้โคพีพอดในระยะอนุเซลล์เป็นระยะที่สามารถนำไปใช้ในการอนุบาลลูกบอลวัยอ่อนได้ เพราะมีขนาดเล็ก (Bell *et al.*, 1997) ส่วนปริมาณโคพีพอดรวมทั้งหมด ซึ่งเป็นค่าที่รวมปริมาณระยะอนุเซลล์ โคพีพอดติดและตัวเต็มวัย พบว่าการเลี้ยงด้วย *T. suecica*+*Chaetoceros* มีปริมาณที่สูงที่สุด

3.4 ไขมันและกรดไขมันของสาหร่ายและโคพีพอด

การเลี้ยงสาหร่ายแบบผสมส่งผลให้มีไขมันสะสมได้สูงกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียว ทั้งนี้สาเหตุเพราะสาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมมีการเติบโตได้ต่ำกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียว ซึ่งการสะสมไขมันของสาหร่ายจะเกิดขึ้นในสถานะที่ไม่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย เช่น การขาดไนโตรเจน เพราะการขาดไนโตรเจนส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ที่ทำงานในวิถีการสังเคราะห์ไขมันทำงานได้ดีขึ้น (Shen *et al.*, 2009) นอกจากนี้ระยะการเติบโตและปัจจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายก็มีผลต่อการสะสมไขมันในสาหร่ายด้วยเช่นกัน (Liu *et al.*, 2012) ทั้งนี้การเลี้ยงสาหร่าย *Tetraselmis* ผสมกับ *Amphora* ส่งผลให้มีปริมาณไขมันสูงถึง 44.37 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง ซึ่งหากพิจารณาผลการเติบโตของสาหร่ายดังกล่าวก็จะพบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Tetraselmis* ผสมกับ *Amphora* เซลล์ไม่สามารถเติบโตได้ดี ดังนั้นจึงสอดคล้องกับรายงานของ Liu *et al.* (2012) ทั้งนี้เซลล์สาหร่ายจากการเลี้ยง *T. suecica* ผสมกับ *Chaetoceros* มีไขมันสะสม 23.23 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง ซึ่งการเลี้ยงสาหร่ายผสม 2 ชนิดนี้ สามารถเติบโตได้ดี

กรดไขมันชนิดเด่นของสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและเซลล์สาหร่ายผสม พบว่ามีคือ กรดไขมันชนิด 16:0, 18:0, 16:1 และ 18:2n6 โดยสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวจะมีปริมาณกรดไขมัน 16:0 และ 16:1 สูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Patil *et al.* (2007) ที่พบว่าสาหร่ายทุกชนิดจะมีกรดไขมัน 16:0 เป็นกรดไขมันอิ่มตัวชนิดเด่น และมีกรดไขมัน 16:1 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดเด่น เซลล์สาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมมีปริมาณกรดไขมัน 18:0 และ 18:2n6 สูง ซึ่ง C18:2n6 และ linolenic acid จะเฉพาะในพืชเท่านั้น เพราะพืชจะมีเอนไซม์ Δ^{15} desaturase (Brett and Muller-Navarra, 1997) อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงสาหร่ายผสมทำให้องค์ประกอบของกรดไขมันมีการเปลี่ยนแปลงไป

Pan et al. (2017) พบไขมันในโคฟีพอด *A. royi* เท่ากับ 5.58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาในครั้งนี้ ทั้งนี้ Parrish et al. (2012) พบว่าไขมันในโคฟีพอดมีหลายประเภทคือ triacylglycerols, free fatty acids, sterols, neutral lipid, acetone mobile, polar lipids, phospholipids และ polar lipid ดังนั้นโคฟีพอดจึงเป็นแหล่งกรดไขมันที่มีความสำคัญ ซึ่งโคฟีพอดสามารถเปลี่ยน n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs) เป็นกรดไขมันจำเป็น เช่น docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) เพื่อเป็นแหล่งวิตามินที่สำคัญและจำเป็นสำหรับการรอดชีวิตของลูกปลาและพัฒนาในเรื่องความดกไข่ (McEvoy et al., 1998) อย่างไรก็ตามโคฟีพอดมีการสะสมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในปริมาณมากหรือน้อยอาจขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง ซึ่งรูปแบบการเปลี่ยนแปลงพันธะของกรดไขมันในกลุ่ม n-3 ซึ่งปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดอาจที่มีค่ามากหรือน้อยอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ มาเกี่ยวข้อง เช่น แสง อุณหภูมิ ความเค็ม เป็นต้น ในขณะที่ทำการเลี้ยง การเก็บเกี่ยว วิธีการสกัดและการวิเคราะห์ผลก็เป็นส่วนมีผลทำให้ค่านั้นแตกต่างกัน (Pan et al., 2017)

สำหรับ *T. suecica* พบว่ามีกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวมีปริมาณสูง คือ 16:0 และ 17:1 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Almutairi and Toulbah (2017) แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณกรดไขมันดังกล่าวจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะการเลี้ยง เช่น ความเค็ม ปริมาณไนโตรเจน เป็นต้น ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนจะสะสมสูงในรูปของ 18:2n6 และ 18:3n6 ซึ่งกรดไขมันดังกล่าวจะพบเฉพาะในพืช เพราะพืชจะมีเอนไซม์ $\Delta 15$ desaturase (Brett and Muller-Navarra, 1997) อย่างไรก็ตาม ในโคฟีพอดก็ยังคงพบ 18:2n6 และ 18:3n6 แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันดังกล่าวมีการถ่ายทอดไปสู่โคฟีพอดผ่านทางอาหารที่กิน

จากงานวิจัยของ Dörner et al. (2014) พบว่า *I. galbana* มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและเชิงซ้อนสูงถึง 39.2 และ 29.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่างานวิจัยในครั้งนี้สาเหตุเพราะ Dörner et al. (2014) ได้เลี้ยงสาหร่ายโดยใช้ความเข้มข้นของไนเตรตสูงถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างจากการทดลองนี้ เมื่อนำสาหร่ายมาเลี้ยงโคฟีพอดพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและเชิงซ้อนเปลี่ยนแปลงไปโดยมีค่าสูงกว่าในสาหร่าย และพบว่าโคฟีพอดมี EPA เป็นองค์ประกอบอีกด้วย

สาหร่าย *A. subtropica* มีกรดไขมัน 16:1 สูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jiménez-Valera and del Pilar Sánchez-Saavedra (2016) ที่พบว่า 16:1 เป็นกรดไขมันชนิดเด่นที่พบในปริมาณสูงในไดอะตอม *Amphora* โดยพบสูงในช่วง 18.6-30.4 เปอร์เซ็นต์ และเช่นเดียวกันโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *A. subtropica* ก็มีกรดไขมัน 16:1 สะสมในปริมาณสูง และนอกจากนี้ไดอะตอม *Amphora* ยังถือว่าเป็นแหล่ง EPA โดย Jiménez-Valera and del Pilar Sánchez-Saavedra (2016) รายงานว่า *Amphora* มี EPA สูง 19.5-25.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการศึกษาค้นคว้า

เนื่องจากสปีชีส์ของไดอะตอมอาจมีความแตกต่างกัน รวมทั้งการเลี้ยงไดอะตอมก็มีความแตกต่างกันด้วย

สำหรับ *Thalassiosira* sp. มี EPA ร้อยละ 15.26 แต่ไม่พบ DHA ในขณะที่ Ishida *et al.* (2000) รายงานว่า *Thalassiosira* sp. อุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง โดยมี EPA และ DHA ร้อยละ 10.6-13.9 และ 2.3-4.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำ *Thalassiosira* sp. มาเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* กลับส่งผลให้โคพีพอดมี EPA และ DHA สูงถึง 12.87 และ 0.59 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่ง Chen *et al.* (2011) พบว่าสำหรับ *Thalassiosira oceanica* มีกรดไขมัน EPA และ DHA 9.7 และ 4.3 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน ซึ่งในระหว่างการทดลองได้มีการเพิ่มธาตุเหล็กในสูตรอาหาร และเมื่อนำสาหร่ายไปเลี้ยงโคพีพอด *Acartia tonsa* พบว่าโคพีพอดมีกรดไขมัน EPA และ DHA ถึง 9.7 และ 16.8 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ที่แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* sp. สามารถส่งเสริมให้โคพีพอดมีทั้ง EPA และ DHA

เมื่อนำสาหร่าย *Chaetoceros* ไปเลี้ยงโคพีพอดพบว่าโคพีพอดไม่สะสมกรดไขมัน 18:3n3 (ALA) แต่พบ EPA และ DHA ทั้งนี้จากการสังเคราะห์ LC-PUFA อาจเป็นไปได้ว่าโคพีพอด *A. royi* สามารถเปลี่ยน ALA เป็น EPA และ DHA ได้โดยผ่านกระบวนการ elongation และ desaturation ซึ่ง Farhadian *et al.* (2008) รายงานว่าโคพีพอด *Apocyclops dengizicus* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* มี EPA และ DHA ร้อยละ 1.77 และ 4.07 ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ และจากการศึกษาครั้งนี้พบข้อดีของการเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *Chaetoceros* คือ โคพีพอดมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสะสมสูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัว

โคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมมีความแตกต่างขององค์ประกอบกรดไขมันเมื่อเปรียบเทียบกับโคพีพอดที่เลี้ยงสาหร่ายชนิดเดียว โดยกรดไขมัน EPA จะพบในโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวทุกชนิด ในขณะที่โคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมจะพบเพียง โคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *Tetraselmis+Chaetoceros* เท่านั้น ซึ่งโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมจะพบว่ามี DHA สะสมอยู่ ยกเว้นการเลี้ยงด้วย *Tetraselmis+Amphora* ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการที่ไม่พบ EPA ในโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม เนื่องจากในวิถีการสังเคราะห์ PUFA ของ invertebrate พบว่า EPA ถูกเปลี่ยนไปเป็น DHA ได้ (Monring *et al.*, 2013) ทั้งนี้โคพีพอดในธรรมชาติจะพบ DHA เสมอ ซึ่งทั้ง DHA และ EPA (precursor ของ DHA) มีความสำคัญต่อการตกไข่ของโคพีพอดด้วย (Jónasdóttir, 1994) ดังนั้นจึงส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการเติบโตของโคพีพอด ซึ่งจากงานวิจัยนี้พบว่าโคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *Tetraselmis+Amphora* มีการเติบโตได้น้อยที่สุด ซึ่งโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายดังกล่าวไม่มีกรดไขมันทั้ง EPA และ DHA

กรดไขมัน ω -3 โดยเฉพาะ EPA และ DHA มีผลดีต่อการพัฒนาการ การเติบโตและอัตราการรอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน (Puello-Cruz *et al.*, 2009) ซึ่งหากพิจารณาถึงคุณภาพของโคพีพอด

เพื่อเป็นแหล่งของกรดไขมัน ω -3 พบว่าควรเลี้ยงด้วย *Thalassiosira* เพียงชนิดเดียว ซึ่งเลี้ยงด้วย *Thalassiosira* เพียงชนิดเดียวนี้อาจสามารถส่งเสริมให้โคฟีพอดเติบโตได้ดี แต่หากจะเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายผสมเพื่อเป็นแหล่งของกรดไขมัน ω -3 ก็ควรที่จะเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *Tetraselmis+Chaetoceros* (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ผลรวมและสัดส่วนของกรดไขมัน ω -3 และ ω -6 (เปอร์เซ็นต์ในกรดไขมันทั้งหมด) ในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวและสาหร่ายผสม

โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย	$\Sigma\omega$ -3	$\Sigma\omega$ -6	ω -3/ ω -6
<i>T. suecica</i> ชนิดเดียว	6.63	18.50	0.36
<i>Chaetoceros</i> sp. ชนิดเดียว	7.59	6.24	1.22
<i>T. suecica</i> + <i>Chaetoceros</i> sp.	19.14	4.71	4.04
<i>T. suecica</i> ชนิดเดียว	6.63	18.50	0.36
<i>Thalassiosira</i> sp. ชนิดเดียว	29.43	2.22	13.26
<i>T. suecica</i> + <i>Thalassiosira</i> sp.	9.39	47.88	0.20
<i>T. suecica</i> ชนิดเดียว	6.63	18.50	0.36
<i>I. galbana</i> ชนิดเดียว	5.57	5.54	1.01
<i>T. suecica</i> + <i>I. galbana</i>	10.54	27.19	0.39
<i>T. suecica</i> ชนิดเดียว	6.63	18.50	0.36
<i>A. subtropica</i> ชนิดเดียว	4.76	1.19	3.95
<i>T. suecica</i> + <i>A. subtropica</i>	5.98	23.83	0.25

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการทดลอง

4.1.1 โคฟีพอด *A. royi* ใช้ระยะพัฒนาตั้งแต่ระยะนอเพเลียสไปถึงระยะตัวเต็มวัยประมาณ 15-16 วัน นอเพเลียสและโคฟีพอดถึงตัวเต็มวัยมีขนาดเท่ากับ 150 และ 600 ไมโครเมตร ตามลำดับ

4.1.2 สาหร่าย *T. suesica* ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวมีอัตราการเติบโตจำเพาะในช่วง 0.79-1.07 ต่อวัน ซึ่งเมื่อนำ *T. suesica* มาเลี้ยงผสมกับสาหร่าย *A. subtropica*, *Chaetoceros* และ *Thalassiosira* พบว่ามีอัตราการเติบโตจำเพาะในช่วง 0.79-0.95 ต่อวัน ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการเลี้ยงแบบชนิดเดียว แต่ผลผลิตมวลชีวภาพของ *T. suesica* มีปริมาณต่ำกว่าการเลี้ยงแบบชนิดเดียว

4.1.3 การเลี้ยง *T. suesica* ผสมกับสาหร่าย *Chaetoceros* โดยเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องที่มีการเก็บเกี่ยวเซลล์ 5 รอบ พบว่าสาหร่าย *T. suesica* และ *Chaetoceros* สามารถเลี้ยงร่วมกันได้ โดยที่ *T. suesica* มีผลผลิตมวลชีวภาพในช่วง $8.27-49.65 \times 10^7$ และ $10.57-20.40 \times 10^7$ เซลล์ต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ

4.1.4 สาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมมีปริมาณไขมันสะสมสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว ซึ่งการเลี้ยงสาหร่าย *T. suesica* ผสมกับ *A. subtropica* จะมีไขมันสะสมสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการเลี้ยงผสมด้วยสาหร่ายชนิดอื่น ($P \leq 0.05$) โดยมีค่า 44.37 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้ง

4.1.5 องค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและแบบผสม พบว่ามีกรดไขมันชนิดเด่นที่เหมือนกัน คือ กรดไขมันชนิด 16:0, 18:0, 16:1 และ 18:2n6 โดยสาหร่ายทุกชนิดที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวจะมีปริมาณกรดไขมัน 16:0 และ 16:1 สูง ในขณะที่ สาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสมพบว่ามีปริมาณกรดไขมัน 18:0 และ 18:2n6 สูง

4.1.6 โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* ให้ความหนาแน่นสูงถึง 10,766 ตัวต่อลิตร ส่วนโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมโดยใช้สาหร่าย *T. suesica* ผสมกับ *Chaetoceros* ให้ความหนาแน่นโคฟีพอดทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 11,604 ตัวต่อลิตร

4.1.7 โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียว พบว่ามีกรดไขมันเชิงซ้อน EPA เป็นชนิดเด่น แต่การเลี้ยงโคฟีพอดด้วย *Isochrysis* จะไม่พบ DHA

4.1.8 โคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบผสม 2 ชนิด พบว่ามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 18:2n6 เป็นชนิดเด่น และพบ DHA เฉพาะโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suesica+Chaetoceros*, *T. suesica+Thalassiosira* และ *T. suesica+I. galbana*

4.1.9 การผลิตโคฟีพอดที่มีความหนาแน่นสูงและเป็นแหล่งของกรดไขมัน $\omega-3$ ควรเลี้ยงด้วย *Thalassiosira* เพียงชนิดเดียว และเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tetraselmis+Chaetoceros*

4.2 ข้อเสนอแนะ

4.2.1 ในการวิจัยนี้ไม่ได้มีการติดตามการใช้ธาตุอาหารของสาหร่ายทั้งที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและแบบผสม ซึ่งหากทราบอัตราการใช้อาหารของสาหร่ายแต่ละชนิดทั้งที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและแบบผสม ก็อาจจะสามารถทราบแนวทางการเลี้ยงสาหร่ายแบบผสมให้มีปริมาณผลผลิตที่สูงเท่ากับการเลี้ยงแบบชนิดเดียวได้

4.2.2 การออกแบบระบบเลี้ยงโคฟีพอดจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่ารูปทรงของภาชนะเลี้ยงก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดเช่นกัน

4.3 แนวทางการวิจัยในอนาคต

4.3.1 นำโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมไปใช้ประโยชน์ในการอนุบาลสัตว์น้ำ โดยอาจใช้ทั้งในด้านการส่งเสริมการเติบโตและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ

4.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันที่มีการถ่ายทอดไปในห่วงโซ่อาหารคือ จากสาหร่ายไปโคฟีพอด โดยลงรายละเอียดไปที่วิธีการสังเคราะห์กรดไขมัน ที่อาจจะใช้เทคนิคทางเอนไซม์ หรืออณูวิทย์มาใช้เป็นเครื่องมือ

5. ผลผลิต (Output)

5.1 ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการทั้งในระดับชาติและนานาชาติ

(1) ปวีณา ตปนียวรวงศ์, อณินาถ ประสพวงศ์, มะลิวัลย์ คุดตะโค และ สรวิต เผ่าทองสุข. 2562. การเติบโตของโคพีพอด *Apocyclops royi* (Lindberg, 1940) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tetraselmis suecica* และ *Thalassiosira* sp. ในระบบแบบกึ่งต่อเนื่องและแบบต่อเนื่อง. แก่นเกษตร 47 (ฉบับพิเศษ 1): 305-311.

(2) ปวีณา ตปนียวรวงศ์, สุรีพร เฉลยสุข, มะลิวัลย์ คุดตะโค และ สรวิต เผ่าทองสุข. 2561. การเลี้ยงสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 และ *Tetraselmis suecica* แบบชนิดเดียวและแบบผสมเพื่อเป็นอาหารโคพีพอด *Apocyclops royi* (Lindberg, 1940). เรื่องเต็มใน “การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 6” มหาวิทยาลัยบูรพา 18 - 20 มิถุนายน 2561. หน้า 480-488.

5.2 การจดสิทธิบัตร

ไม่มี

5.3 ผลงานเชิงพาณิชย์ (มีการนำเสนอไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ หรือบุคคลทั่วไป)

ไม่มี

5.4 ผลงานเชิงสาธารณะ (เน้นประโยชน์ต่อสังคม ชุมชน ท้องถิ่น)

ไม่มี

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย รหัสโครงการ 256109A1080047

เลขที่สัญญา 217/2561

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและผลผลิตโคฟีพอด เพื่อใช้ออนุบาลลูกกุ้งขาววัยอ่อน
(Enhance of Nutritional Value and Productivity of Copepod for White Shrimp
Larvae Rearing)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผศ.ดร.มะลิวัลย์ คุตะโค

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 เดือนตุลาคม 2560 – 30 เดือนกันยายน 2561

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 เดือนตุลาคม 2560 – 30 เดือนกันยายน 2561

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%)	172,000 บาท	เมื่อ	30 ตุลาคม 2560
งวดที่ 2 (40%)	137,600 บาท	เมื่อ	27 กันยายน 2561
งวดที่ 3 (10%)	34,400 บาท	เมื่อ	-
รวม	344,000 บาท		

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	34,400	34,400	0
2. ค่าจ้าง	72,000	72,000	0
3. ค่าวัสดุ	172,000	172,000	0
4. ค่าใช้สอย	31,200	31,200	0
5. ค่าครุภัณฑ์	0	0	0
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ	34,400	34,400	0
ค่าดำเนินโครงการ 10%			
รวม	344,000	344,000	0

.....
ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน
วันที่ กันยายน 2562

เอกสารอ้างอิง

- มะลิวัลย์ คุดทะโค, สรวิต เผ่าทองสุข และ สรัญญา พันธุ์พฤษ (2547) การเพาะเลี้ยงไดอะตอมน้ำเค็ม *Amphora delicatissima* AM9901 แบบกะและแบบต่อเนื่องภายใต้สภาวะเฮเทอโรโทรฟิก. *วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (section T) ฉบับพิเศษ 3(1): 309-321.*
- อนันต์ ต้นสุตะพานิช, นกตล ภูพานิช, ธนัญชัญ สังกรธนกิจ และธงชัย เพิ่มงาม. (2536). *คู่มือการเพาะเลี้ยงและการใช้ประโยชน์จากอาร์ทีเมีย*. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรมประมง, กองส่งเสริมการประมง.
- Almutairi, A. W. and Toulibah, H. E. 2017. Effect of salinity and pH on fatty acid profile of the green algae *Tetraselmis suecica*. *J Pet Environ Biotechnol* 8(3): 1-6.
- Arkronrat, W., Deemark, P. and Oniam, V. 2016. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp. & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 38 (1): 1-5.
- Bell J. G., Stottrup, J. G. and Shields, R. J. 1997. Utilization of copepod diets for larviculture of halibut, cod and grouper. *Aquaculture Asia*. 1998, 42-49.
- Benvenuti, G., Bosma, R., Ji, F., Lamers, P., Barbosa, M. J. and Wijffels, R. H. 2016. Batch and semi-continuous microalgal TAG production in lab-scale and outdoor photobioreactors. *J Appl Phycol* 28:3167–3177.
- Brett, M. T. and Muller-Naverra, D. C. 1997. The role of highly unsaturated fatty acid in aquatic food web processes. *Freshwater Biology*. 38, 483-499.
- Bosma, R., de Vree J. H., Slegers, P. M., Janssen, M., Wijffels, R. H. and Barbosa, M. J. 2014. Design and construction of the microalgal pilot facility Algae PARC. *Algal Res* 6 Part B:160–169.
- Buskey, E. J. 2005. Behavioural characteristic of copepods that affect their suitability as food for larval fishes. In: *Copepod in Aquaculture* (ed by C. S. Lee, P. J. O'Bryan, N. H. Marcus), pp. 91-105. *Blackwell Publishing*, Iowa USA.
- Cano, R., Ráudez, S. and Hooker, E.. 2004. The Natural Diet of *Apocyclops panamensis* at a Shrimp Farm on the Pacific Coast of Nicaragua. *Zoological Studies*, 43 (2). pp. 344-349.
- Christie, W. W. 2003. Preparation of derivatives of fatty acids,. In W.W. Christie, *Lipid Analysis: isolation, separation and structural analysis of lipids*. 3rd ed. J. Barnes and Associates. 205-225.

- Decho, A. W. 1986. Water-cover influences on diatom ingestion rate by meiobenthic copepods. *Mar Ecol Prog Ser* 33:139–146
- Dhanker, R. and Hwang, J-S. 2013. Predation by *Apocyclops royi* (CYCLOPOID: COPEPOD) on ciliates and rotifers. *Journal of Marine Science and Technology* 21(Suppl): 246-251.
- Dörner, J., Carbonell, P., Pino, S. and Fariás, A. 2014. Variation of fatty acids in *Isochrysis galbana* (T-Iso) and *Tetraselmis suecica*, cultured under different nitrate availabilities. *Fisheries and Aquaculture Journal*.
- Duray, M. N., Estudillo, C. B. and Alpasan, L. G. 1997. Larval rearing of the grouper *Epinephelus suillus* under laboratory conditions. *Aquaculture*. 150: 63-76.
- Farhadian, O., Yusoff F.M. and Arshad, A. 2007. Ingestionrate of postlarvae *Penaeus monodon* fed *Apocyclops dengizicus* and *Artemia*. *Aquaculture*, 269, 265-70.
- Farhadian, O., Md Yusoff, F. and Arshad, A. 2014, Effects of salinity, temperature, light intensity and light regimes on production, growth and reproductive parameters of *Apocyclops dengizicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 30, 30-46.
- Folch, J. Lees, M. and 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, 497-509.
- Guillard, R.R.L. 1973. *Method for Microflagellates and Nanoplankton*. In Stein, J.R. (ed). *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. New York: Cambridge University. pp. 69-89.
- Helenius, L. and Saiz, E. 2017. Feeding behaviour of the nauplii of the marine calanoid copepod *Paracartia grani* Sars: Functional response, prey size spectrum, and effects of the presence of alternative prey. *PLoS ONE*, 12(3).
- Hernandez Molejon, O. G. and Alvarez-Lajonchere, L. 2003. Culture experiments with *Oithona oculata* Farran, 1913 (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. *Aquaculture*, 219, 471-483.
- Jiménez-Valera, S. and del Pilar Sánchez-Saavedra, M. 2016. Growth and fatty acid profiles of microalgae species isolated from the Baja California Peninsula, México. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 44(4), 689-702.
- Jónasdóttir, S. H. 1994. Effects of food quality on the reproductive success of

- Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: laboratory observations. *Mar. Biol.* 121, 67-81.
- Knuckey, R. M., Semmens, G. L., Mayer, R. J. and Rimmer, M. A. 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. *Aquaculture*, 249, 339-351.
- Kumlu, M. 1998. Larval growth and Survival of *Penaeus indicus* (Decapoda: Penaeidae) on Live Feeds. *Tr. J. of Biology.* 22: 235-245.
- Lee, K.W., Park, H.G., Lee, S.M. and Kang, H.K. 2006. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclopina nana* Smirnov. *Aquaculture*, 256, 346-353.
- Lind, J.L., Heimann, K., Miller, E. A., van Vlier, C., Hoogenraad, N. J. and Wetherbee R. 1997. Substratum adhesion and gliding in a diatom are mediated by extracellular proteoglycans. *Planta* 203: 213-221.
- Liu, J., Yuan, C., Hu, G. and Li, F. 2012. Effects of light intensity on the growth and lipid accumulation of microalga *Scenedesmus* sp. 11-1 under nitrogen limitation. *Appl. Biochem. Biootechnol.* 166: 2127-2137.
- Novoveska, L., Franks, T.D., Wulfers, A.T. and Henley, J.W. 2016. Stabilizing continuous mixed culture of microalgae. *Algal Research*, 13, 126-133.
- Matias-Peralta, H.M., Yusoff, F.M., Shariff, M. and Mohamed, S. 2012. Reproductive performance, growth and development time of a tropical harpacticoid copepod, *Nitocra affinis californica* Lang, 1965 fed with different microalgal diets. *Aquaculture*, 344-349, 168-173.
- McEvoy, L.A., Navarro, J.C., Bell, J.G., Sargent, J.R., 1995. Autoxidation of oil emulsions during the *Artemia* enrichment process. *Aquaculture* 134, 101-112.
- Mckinnon, A. D., Duggan, S., Nichols, P. D., Rimmer, M. A., Semmens, G. and Robino, B. 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. *Aquaculture*, 223: 89-106.
- Milione, M. and Zeng, C. 2007. The effects of algal diets on population growth and egg hatching success of the tropical calanoid copepod, *Acartia sinjiensis*. *Aquaculture*, 273, 656-664.

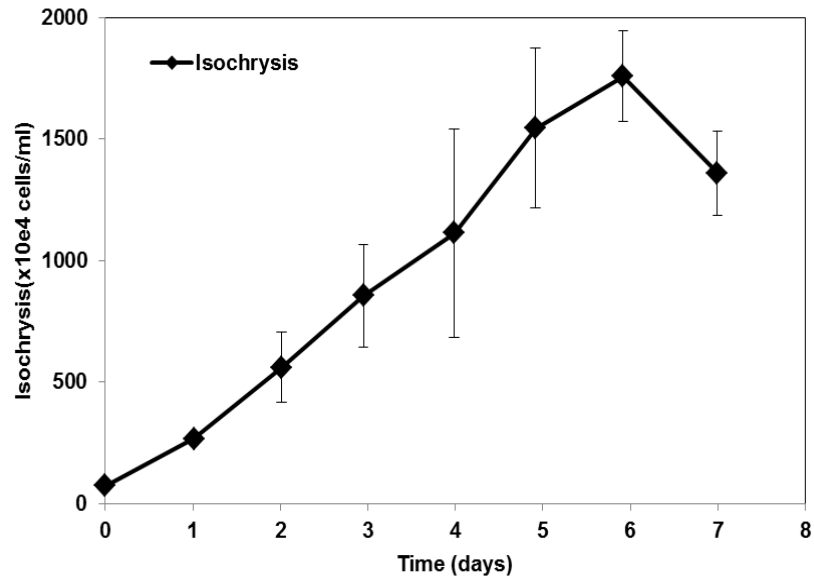
- Monroig, O., Tocher, D. R. and Navarro, J. C. 2013. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: Recent advances in molecular mechanisms. *Mar. Drugs* 11: 3998-4018.
- Ohs, C. L., Chang, K. L., Grabe, S. W., DiMaggio, M. A. and Stenn, E. 2010. Evaluation of dietary microalgae for culture of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*. *Aquaculture*, 307, 225-232.
- Ishida, Y., Hiraguchi, N. I., Kitaguchi, H. I., Mitsutan, A. I., Nagai, S. and Yoshimura, M. 2000. A highly CO₂-tolerant diatom, *Thalassiosira weissflogii* H1, enriched from coastal sea, and its fatty acid composition. *Fish. Sci.*, 66, 655-659.
- Parrish, C. C., French, V. M. and Whitticar, M. J. 2012. Lipid class and fatty acid composition of copepods (*Calanus finmarchicus*, *C. glacialis*, *Pseudocalanus* sp., *Tisbe furcata* and *Nitokra lacustris*) fed various combinations of autotrophic and heterotrophic protists. *JOURNAL OF PLANKTON RESEARCH*. 34(5), 356–375.
- Patil, W., Kallqvist, T., Olsen, E., Vogt, G. and Gislerød, H. R. 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquacult Int* 15: 1–9.
- Pan, Y. J., Sadvovskaya, I., Hwang J. S, and Souissi, S. 2017. Assessment of the fecundity, population growth and fatty acid composition of *Apocyclops royi* (Cyclopoida, Copepoda) fed on different microalgal diets. *Wiley Aquaculture Nutrition*.
- Payne, M. F. and Rippingale, R. J. 2000. Evaluation of diets for culture of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture*, 187, 85-96.
- Perderson, B. H. (1984). The intestinal evacuation rate of larval herring (*Clupea harengus*) predating on wild zooplankton. *Dana*, 3:21-30.
- Phatarpekar, P. V., Sreepada, R. A., Pednekar, C. and Achuthankutty, C.T. 2000. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. *Aquaculture*. 181, 141-155.
- Puello-Cruz, A.C. S. Mezo-Villalobos, B. Gonzalez-Rodriguez and D. Voltolina. 2009. Culture of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson 1939) with different microalgal diets. *Aquaculture*, 290, 317-319.

- Shen, Y., Pei, Z. Yuan, W. and Mao, E. 2009. Effect of nitrogen and extraction method on algae lipid yield. *Int. J. Agric. & Biol. Eng.* 2:51-57.
- Staats, N., de Winder, B., Stal, L. and Mur, L. 1999. Isolation and characterization of extracellular polysaccharides from the epipelagic diatoms *Cylindrotheca closterium* and *Navicula salinarum*. *European Journal of Phycology*, 34:2, 161-169.
- Teixeira, P. F., Kaminski, S. M., Avila, T. R., Cardozo, A. P., Besano, J. G.F. and Bianchini, A. 2010. Diet influence on egg production of the copepod *Acartia tonsa* (Dana, 1896). *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 82(2): 333-339.
- Toledo, J. D. Golez, M. S. Doi, M. and Ohno, A. 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*. *Fisheries Science*. 65(3), 390-397.
- Watanabe, T., Kitajima, C. and Fujita, S. 1983. Nutritional profile of live organisms in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34:115-143.

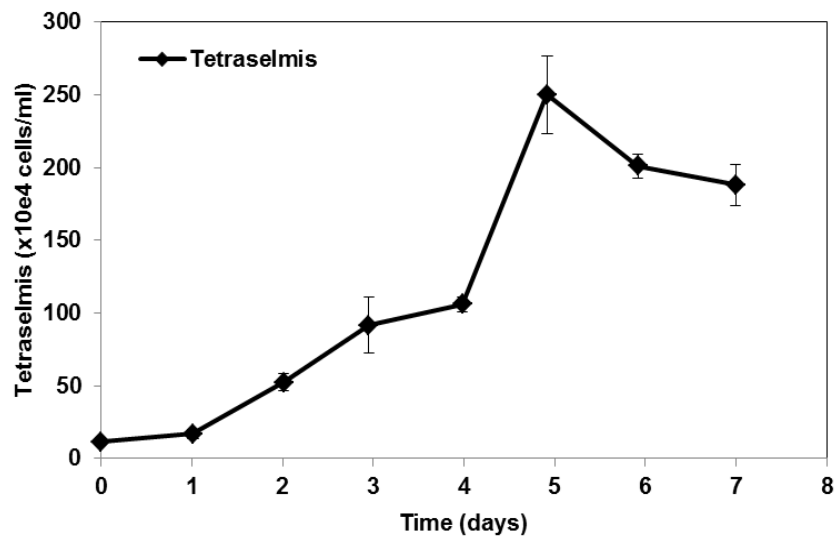
ภาคผนวก ก

การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและแบบผสม 2 ชนิด

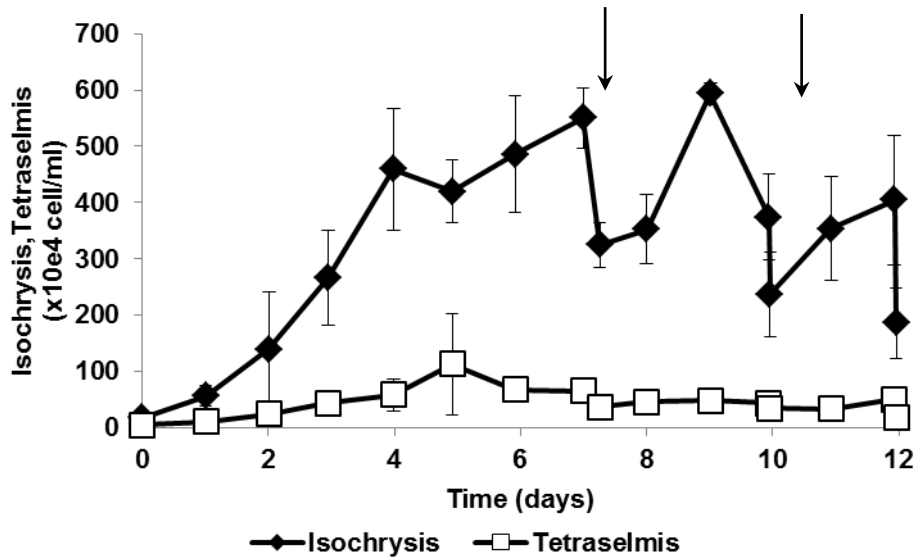
1. การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* และ *T. suecica*



ภาพที่ ก-1 การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

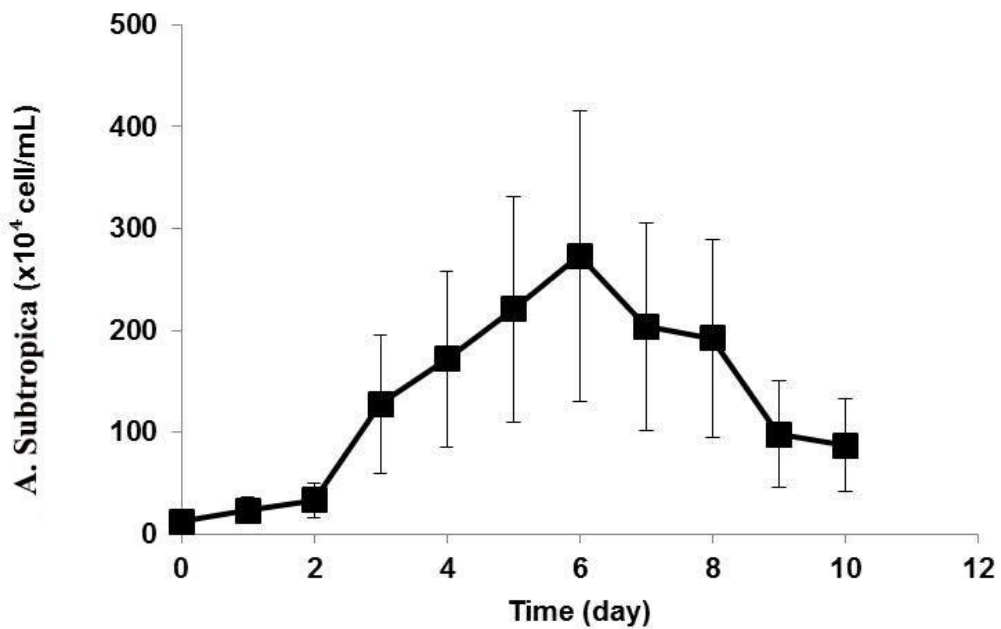


ภาพที่ ก-2 การเติบโตของสาหร่าย *T. suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

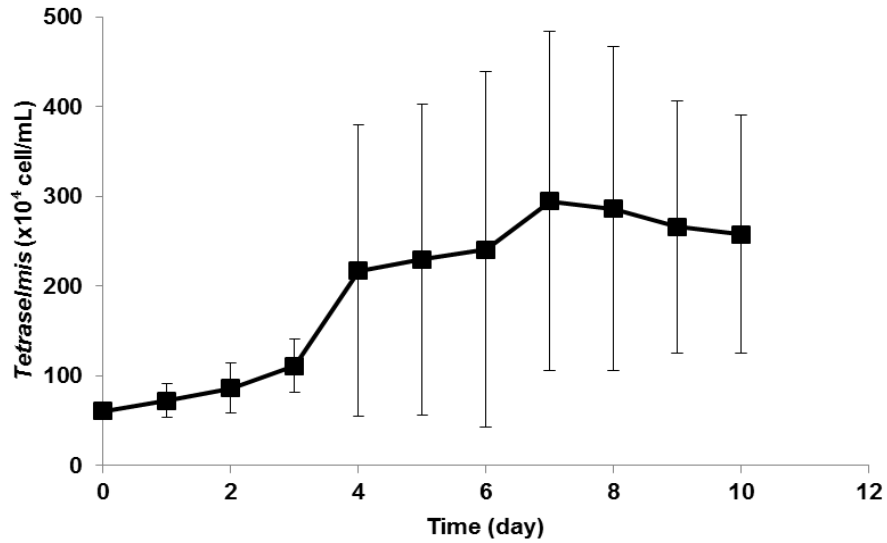


ภาพที่ ก-3 การเติบโตของสาหร่าย *I. galbana* และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันแบบแบทช์และกึ่งต่อเนื่อง (โดยลูกศรแสดงว่ามีการนำน้ำเลี้ยงออกจากระบบ 500 มิลลิลิตร และเติมอาหารเพาะเชื้อปริมาณ 500 มิลลิลิตรเข้าสู่ระบบเพื่อเริ่มเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง)

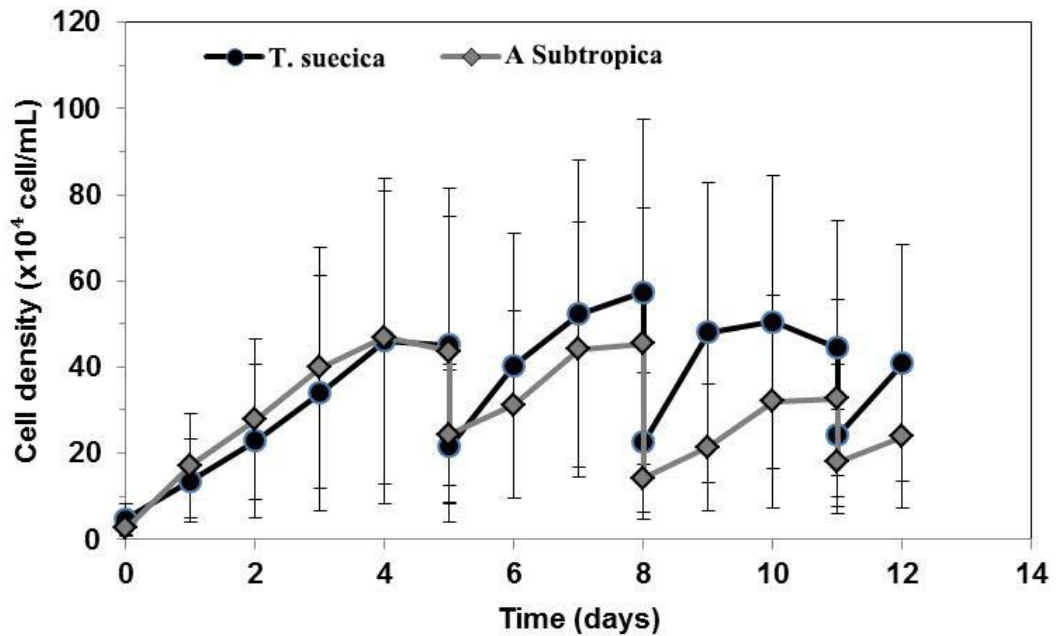
2. การเติบโตของสาหร่าย *A. subtropica* และ *T. suecica*



ภาพที่ ก-4 การเติบโตของสาหร่าย *A. subtropica* ที่เลี้ยงในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

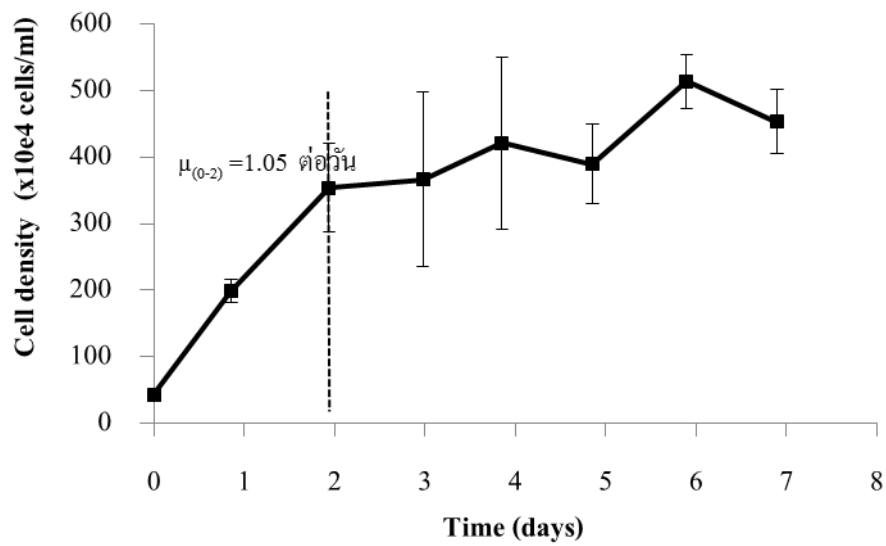


ภาพที่ ก-5 การเติบโตของสาหร่าย *T. suecica* ที่เลี้ยงในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

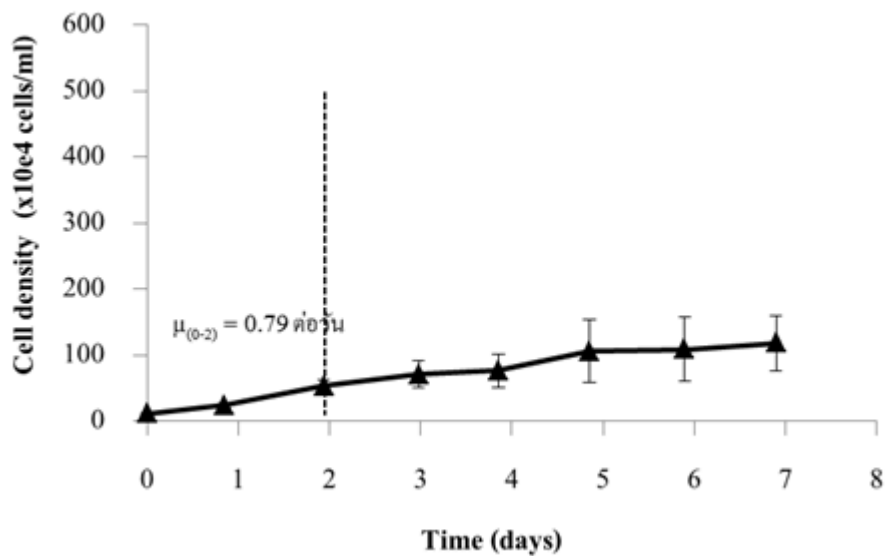


ภาพที่ ก-6 การเติบโตของสาหร่าย *Amphora* และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเพาะเลี้ยงแบบแบทช์ (วันที่ 0-5 ของการเพาะเลี้ยง) และแบบกึ่งต่อเนื่อง (วันที่ 5-12 ของการเพาะเลี้ยง) โดยถูกตรวจแสดงช่วงที่มีการนำสาหร่ายออกจากกระบอก 500 มิลลิลิตรและเติมอาหารใหม่กับเข้าสู่ระบบให้ได้ปริมาณเท่าเดิม

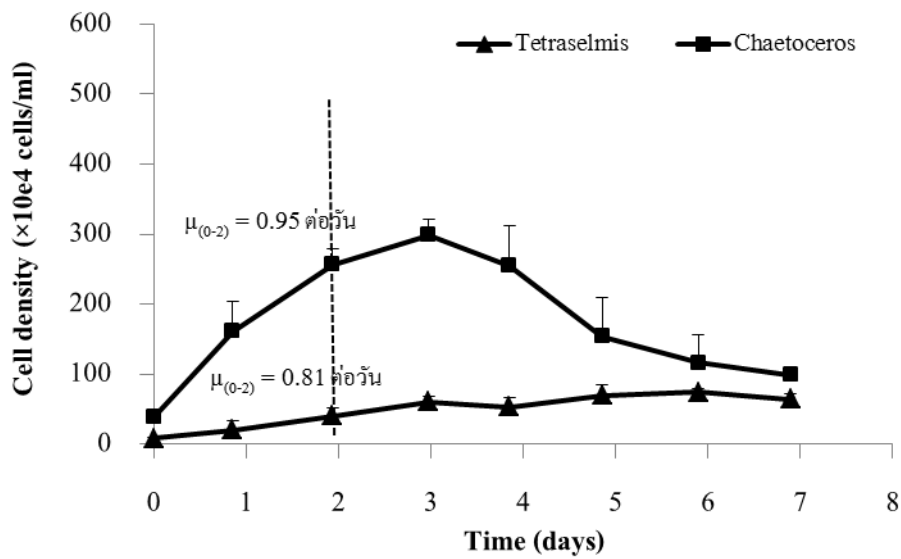
3. การเติบโตของสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica*



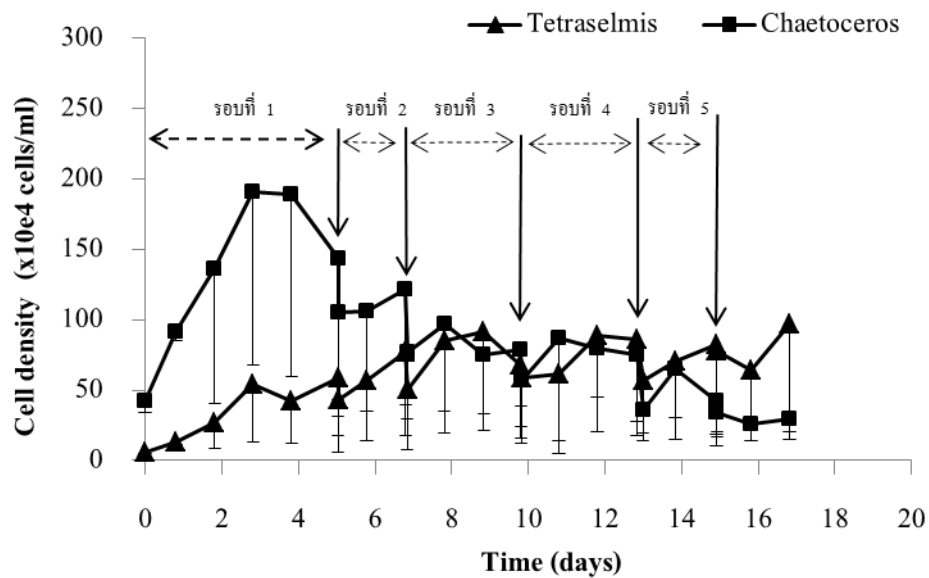
ภาพที่ ก-7 การเติบโตของสาหร่าย *Chaetoceros* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว



ภาพที่ ก-8 การเติบโตของสาหร่าย *T. suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

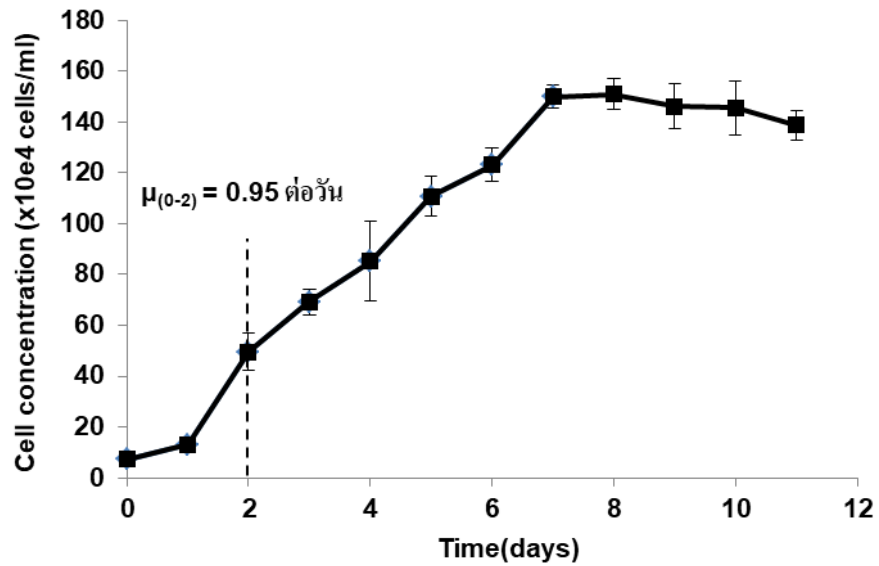


ภาพที่ ก-9 การเติบโตของสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์

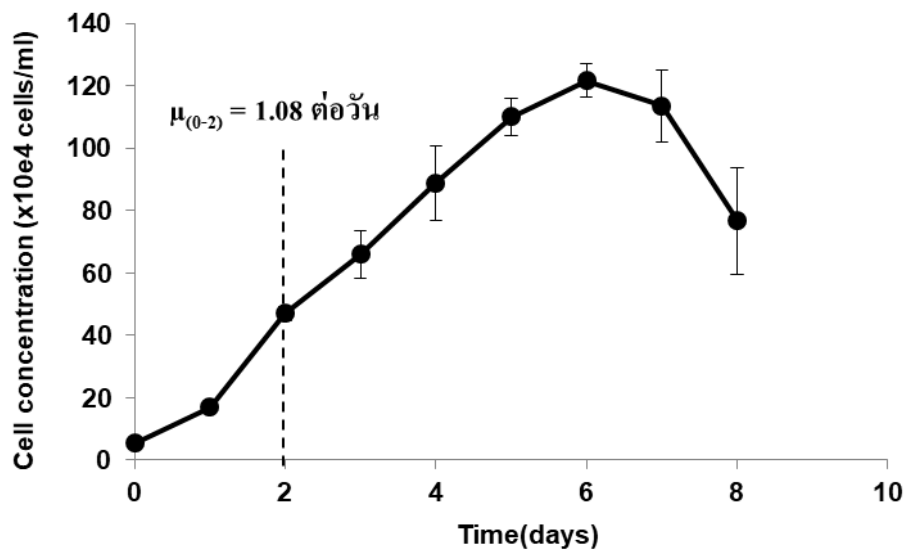


ภาพที่ ก-10 การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงผสมกันของสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง มีการเก็บเกี่ยวผลผลิตออกจากระบบทั้งหมด 5 รอบ (โดยลูกศร แสดงช่วงที่นำสาหร่ายออกจากระบบ 300 มิลลิลิตร และมีการเติมสูตรอาหารกิลลาร์ด F/2 กลับเข้าสู่ระบบ 300 มิลลิลิตรให้มีปริมาตรเท่าเดิม)

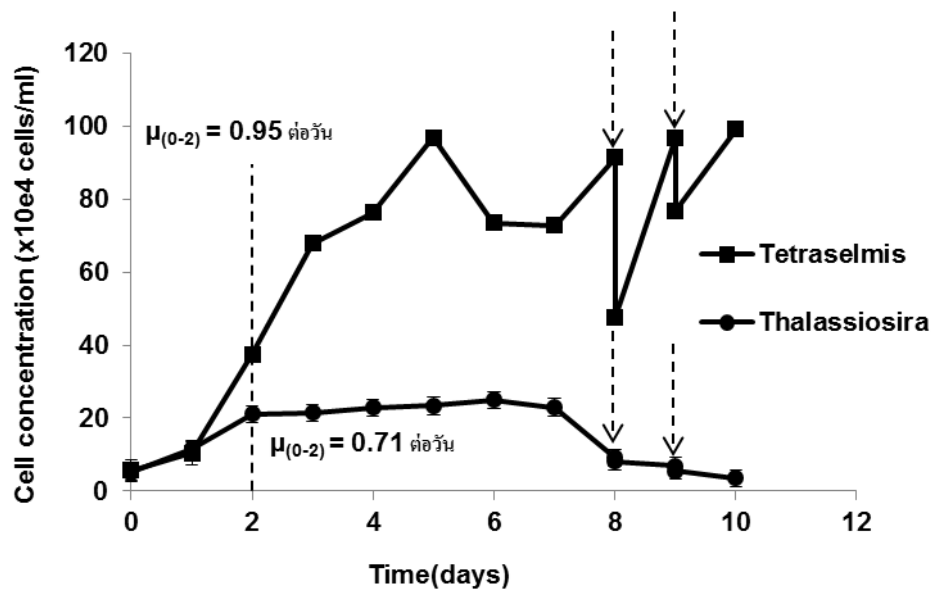
4. การเติบโตของสาหร่าย *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียวและแบบผสมกัน 2 ชนิด



ภาพที่ ก-11 การเติบโตของสาหร่าย *T. suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

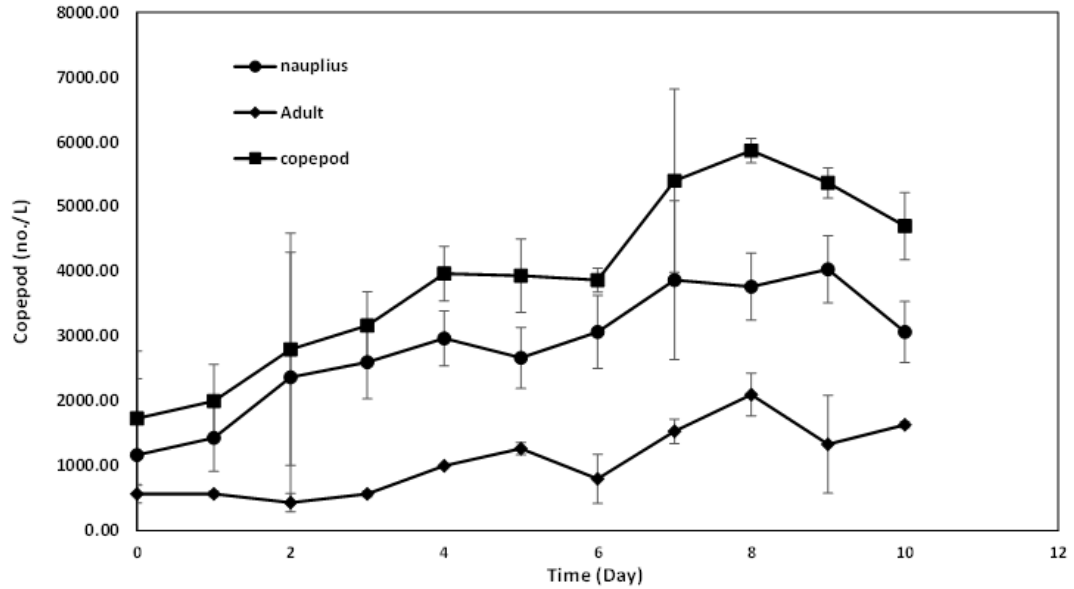


ภาพที่ ก-12 การเติบโตของสาหร่าย *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์ที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว

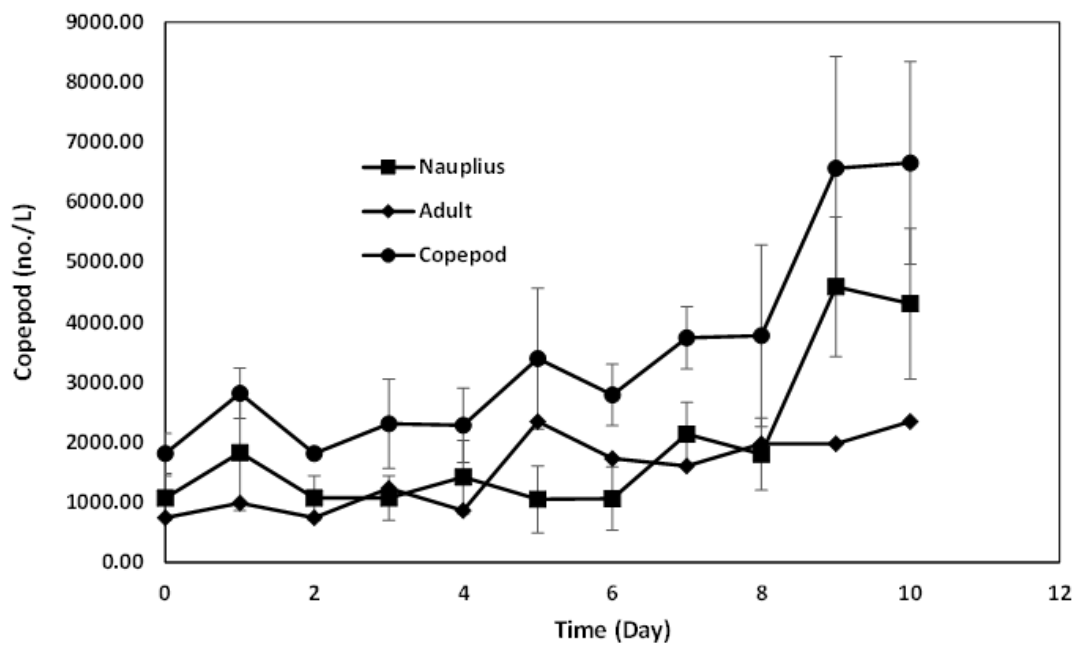


ภาพที่ ก-13 การเติบโตของสาหร่าย *T. suecica* และ *Thalassiosira* sp. ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบแบทช์และการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง

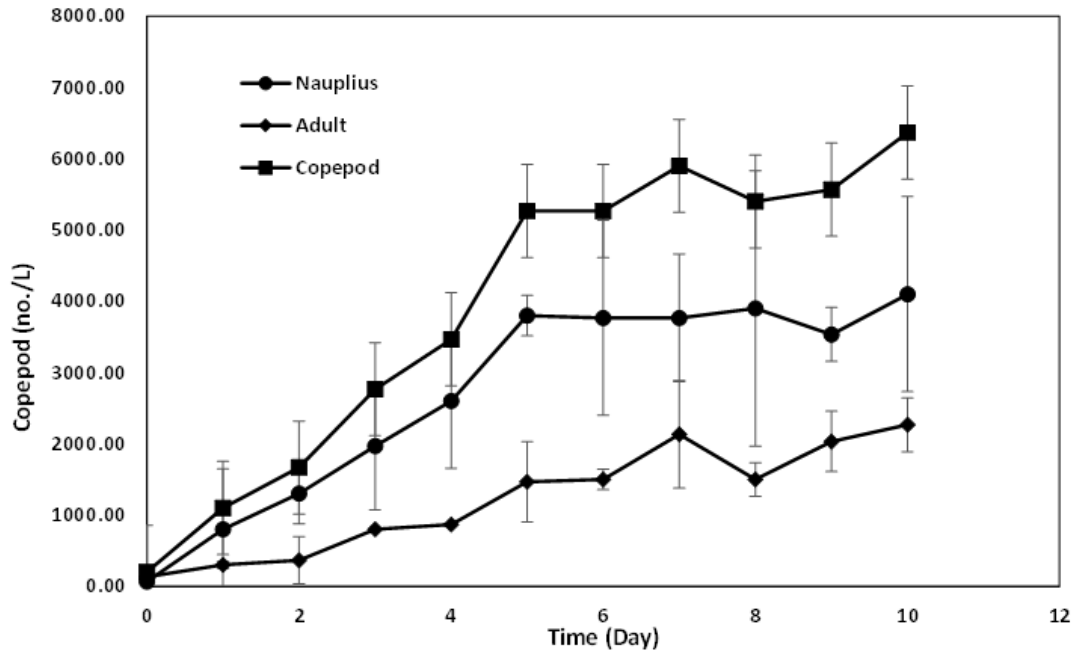
ภาคผนวก ข
การเติบโตของโคพีพอด



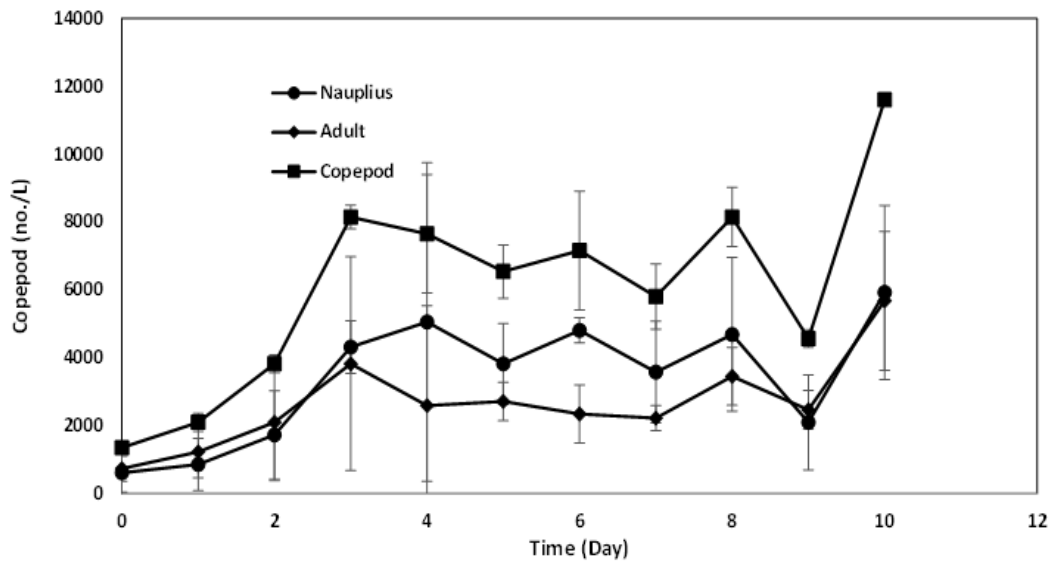
ภาพที่ ข-1 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสำหรับ *T. suecica* และ *A. subtropica* ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง



ภาพที่ ข-2 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสำหรับ *T. suecica* และ *Thalassiosira* sp. ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง



ภาพที่ ข-3 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสาหร่าย *T. suecica* และ *I. galbana* ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง

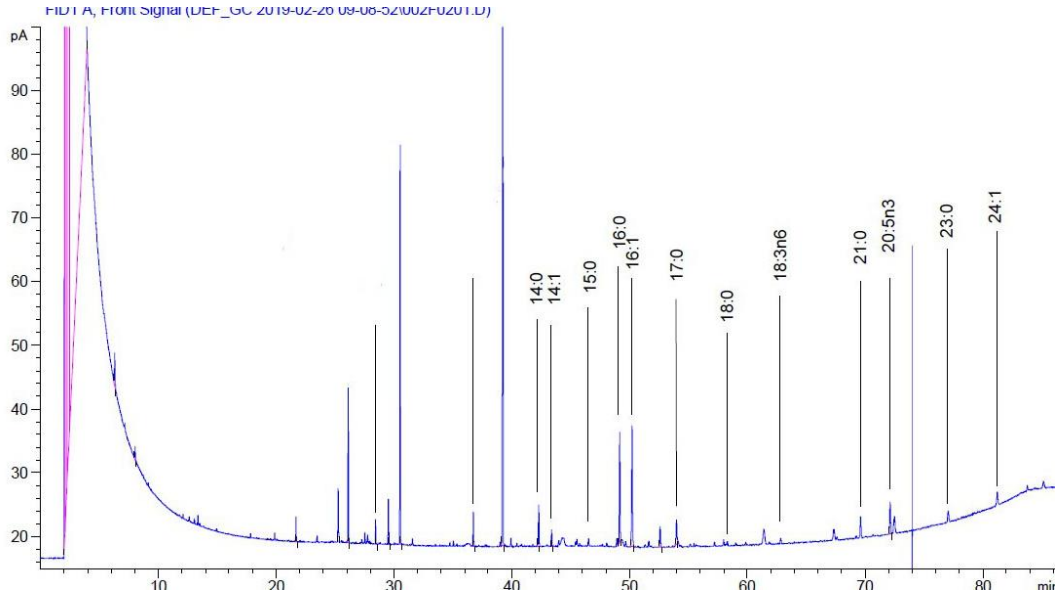


ภาพที่ ข-4 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสาหร่าย *T. suecica* และ *Chaetoceros* sp. ในช่วงวันที่ 8-10 ของการทดลอง

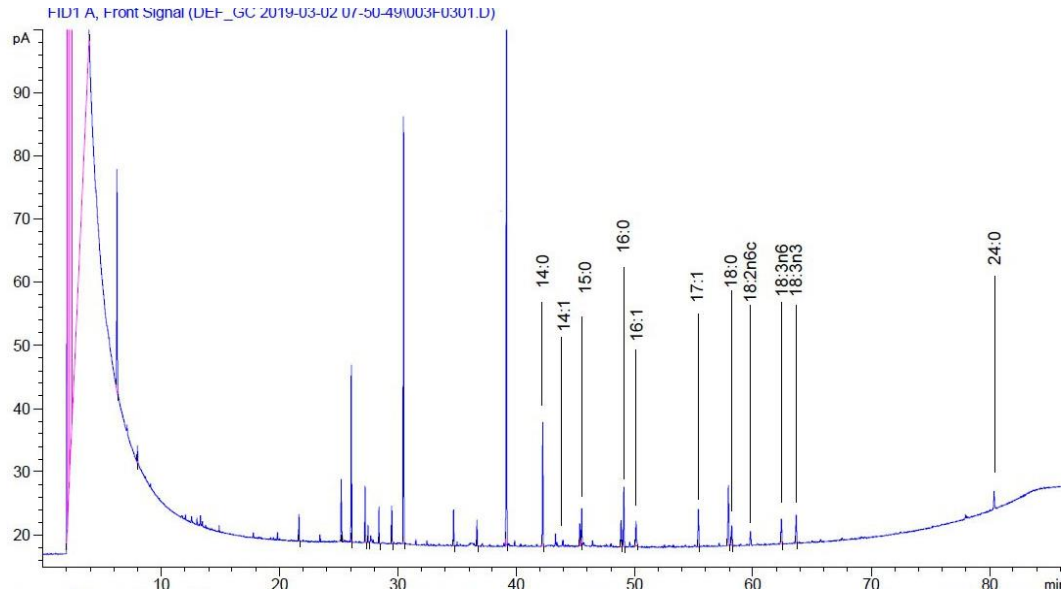
ภาคผนวก ค

โครมาโตแกรมแสดงองค์ประกอบกรดไขมัน

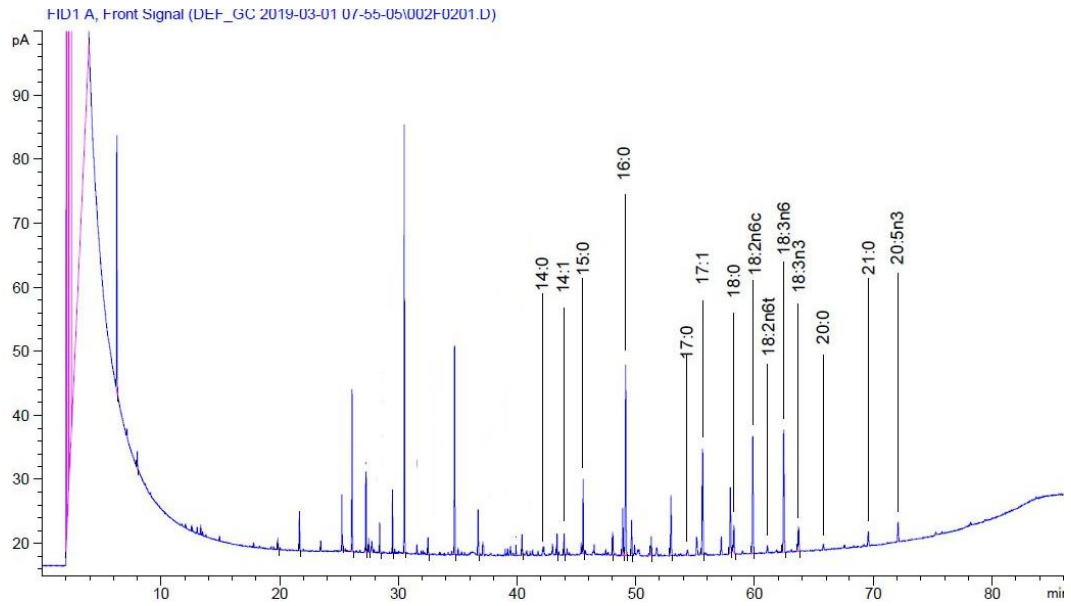
1. โครมาโตแกรมแสดงองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่ายที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว



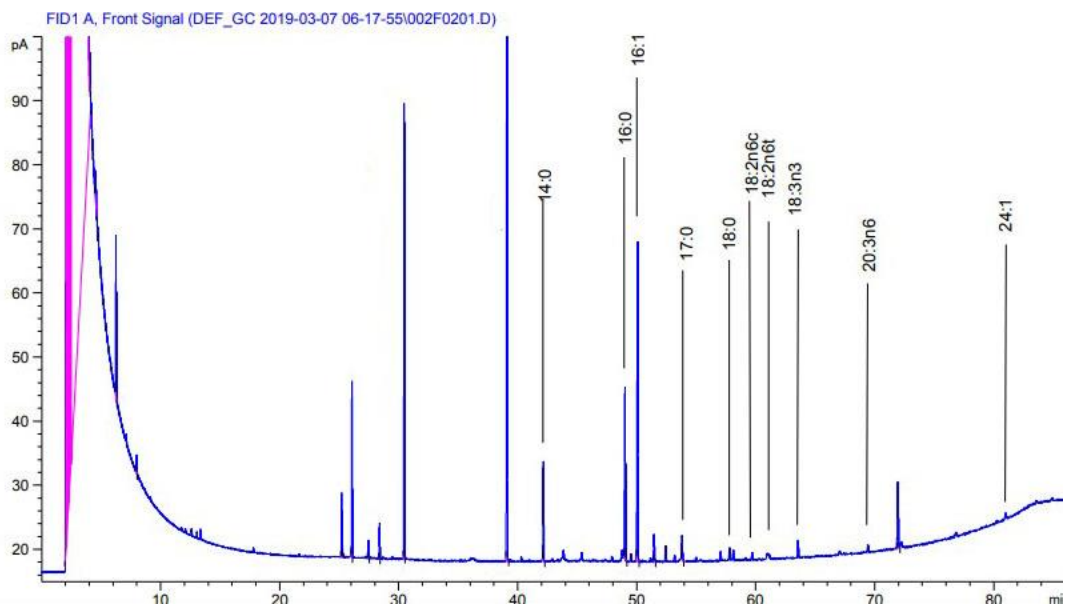
ภาพที่ ค-1 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *A. subtropica*



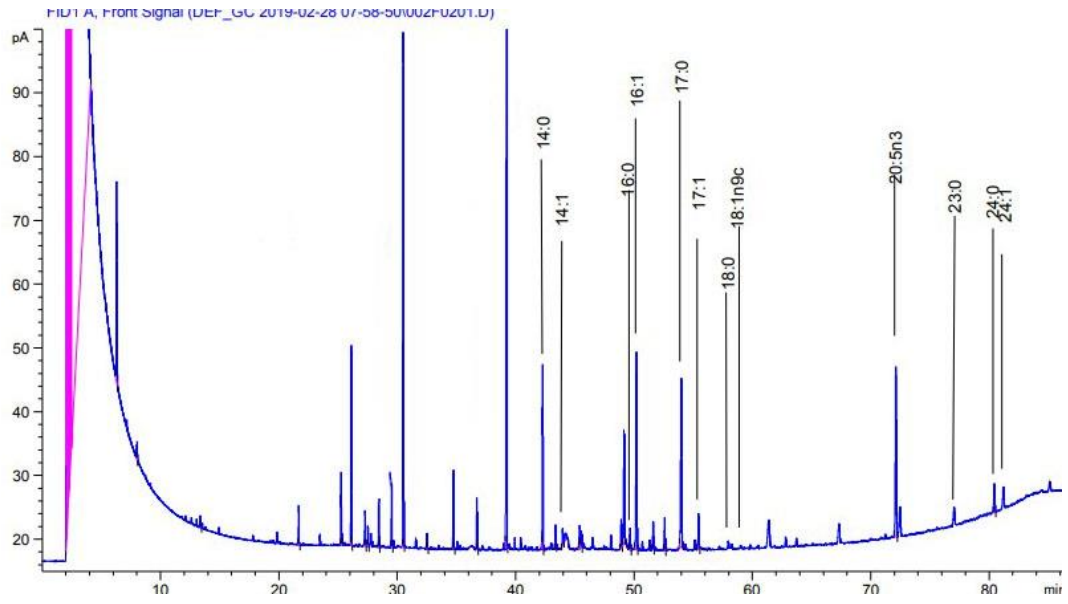
ภาพที่ ค-2 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *I. galbana*



ภาพที่ ค-3 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *T. suecica*

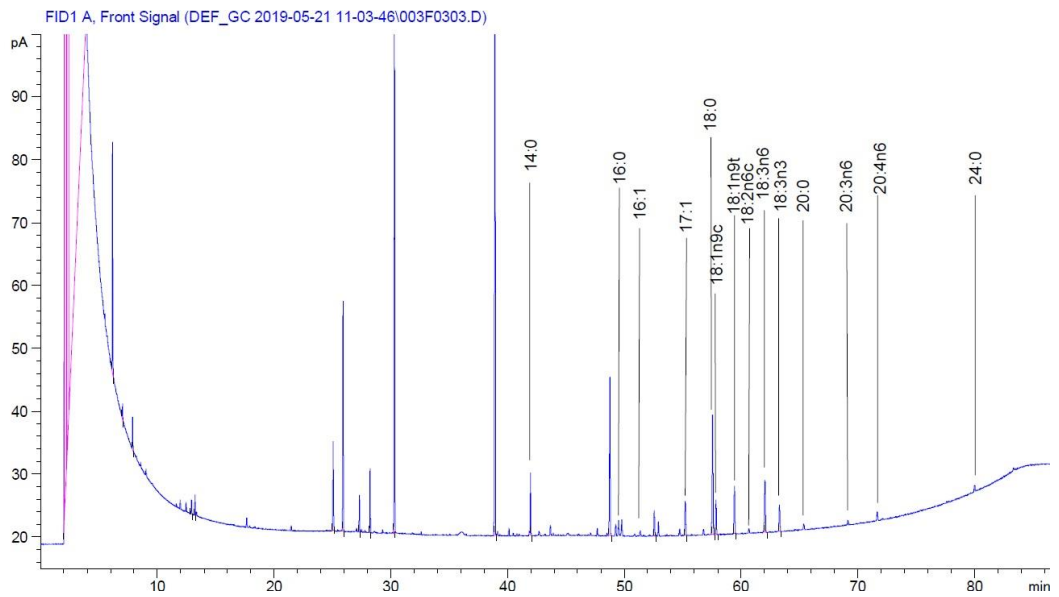


ภาพที่ ค-4 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *Chaetoceros* sp.

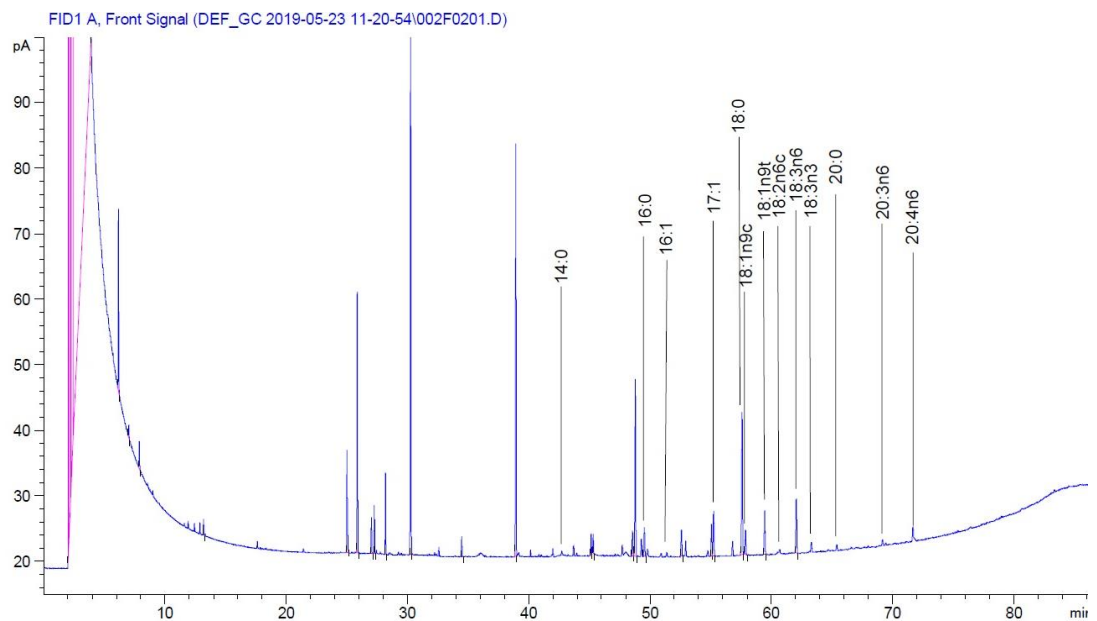


ภาพที่ ค-5 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *Thalassiosira* sp.

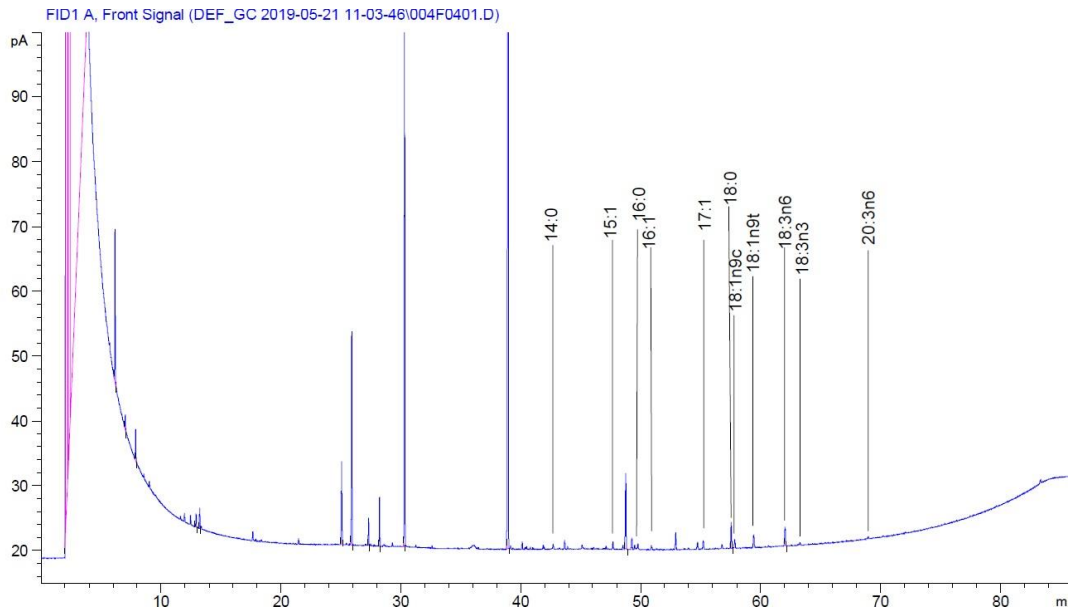
2. โครมาโตแกรมแสดงองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่ายที่เลี้ยงแบบผสม



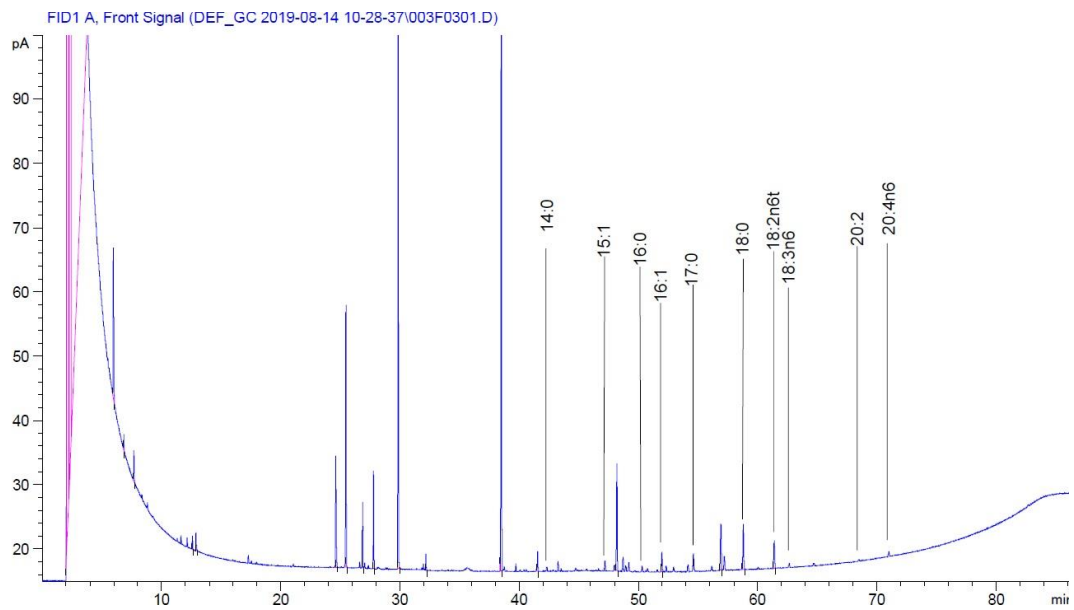
ภาพที่ ค-6 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *T. suecica* ที่เลี้ยงผสมกับ *A. subtropica*



ภาพที่ ค-7 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *T. suecica* ที่เลี้ยงผสมกับ *Chaetoceros* sp.

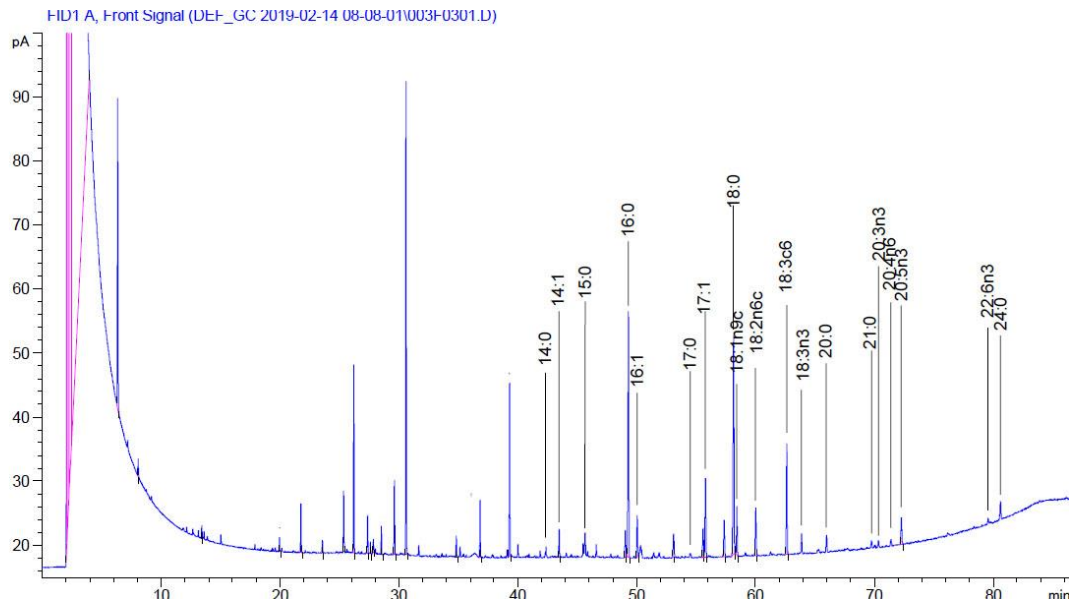


ภาพที่ ค-8 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *T. suecica* ที่เลี้ยงผสมกับ *I. galbana*

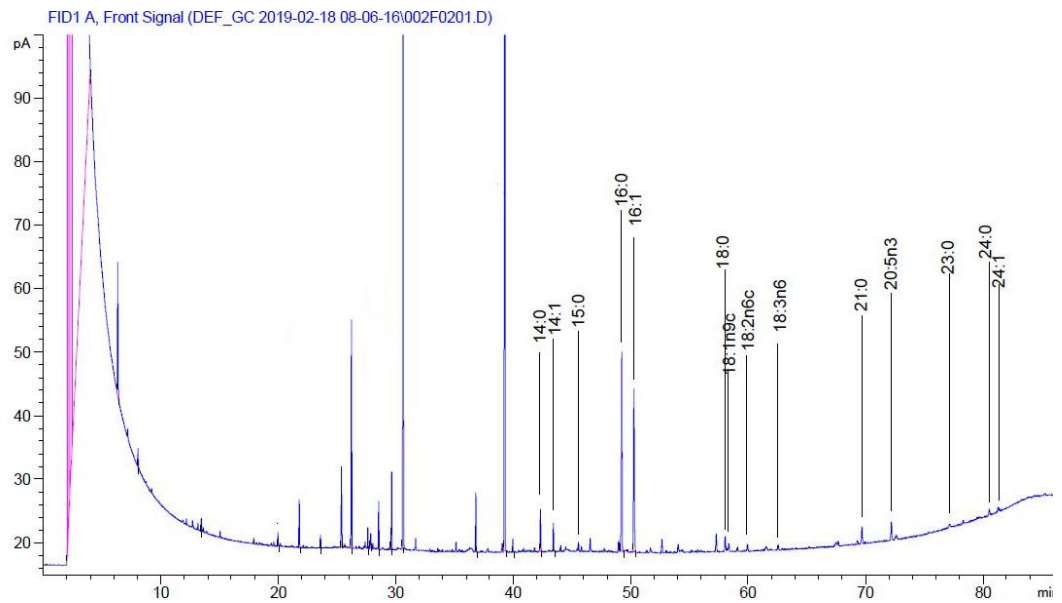


ภาพที่ ค-9 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในสาหร่าย *T. suecica* ที่เลี้ยงผสมกับ *Thalassiosira* sp.

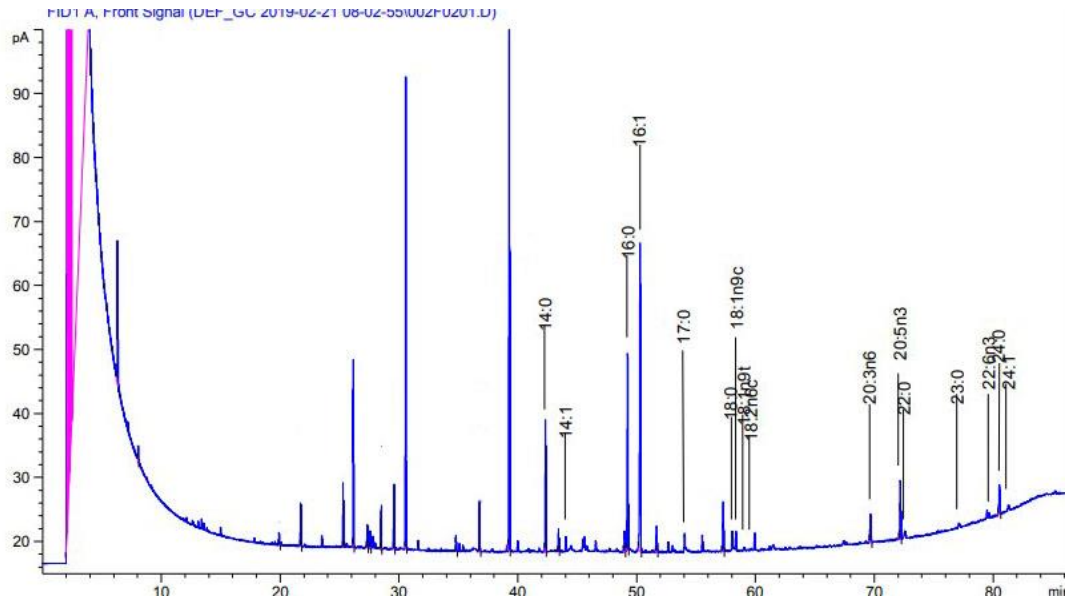
3. โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบชนิดเดียว



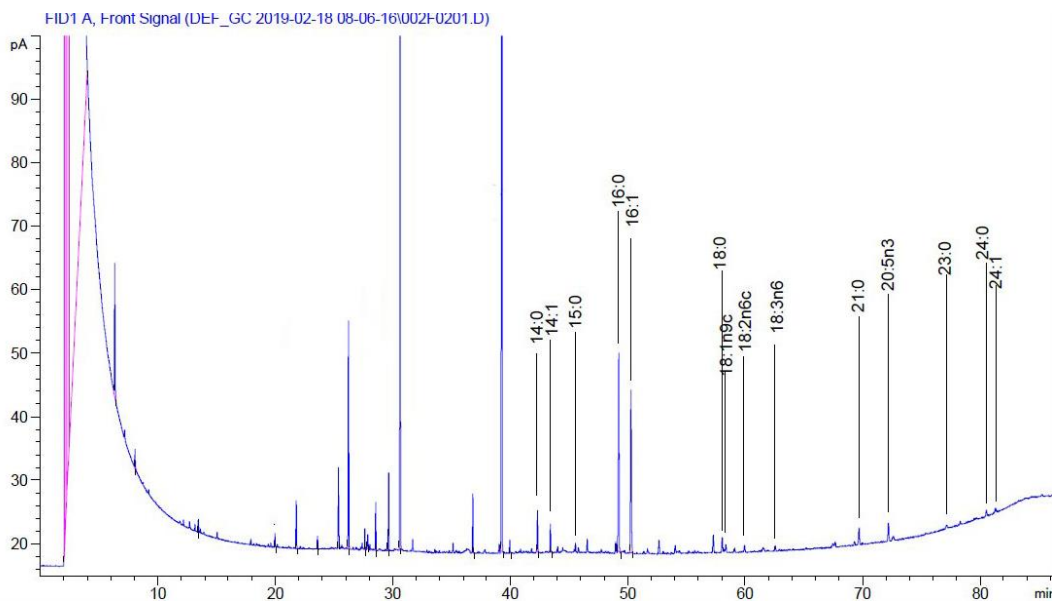
ภาพที่ ค-10 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica*



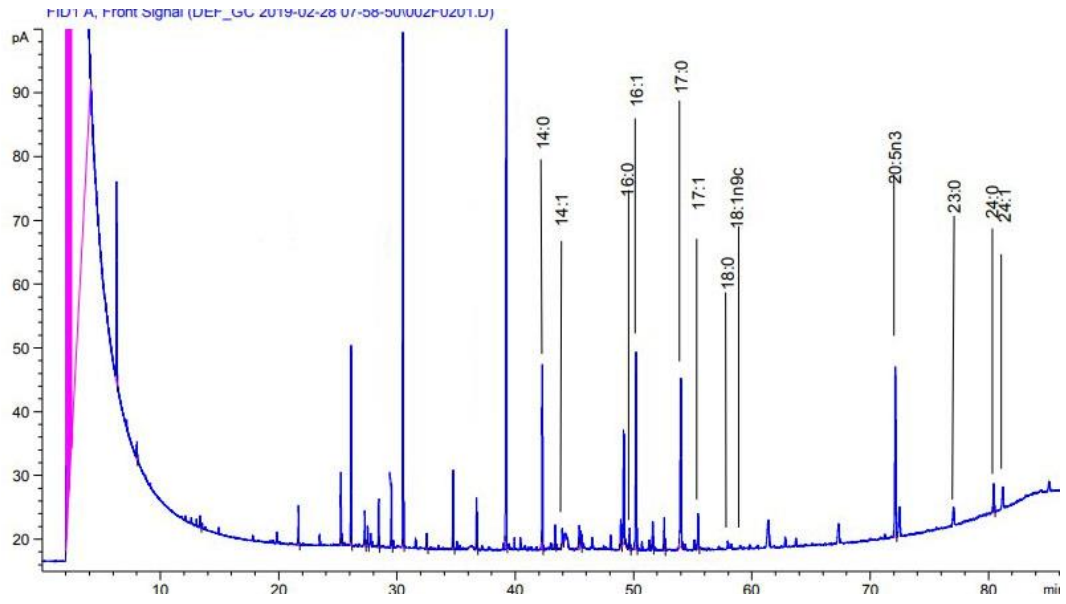
ภาพที่ ค-11 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *A. subtropica*



ภาพที่ ค-12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chaetoceros* sp.

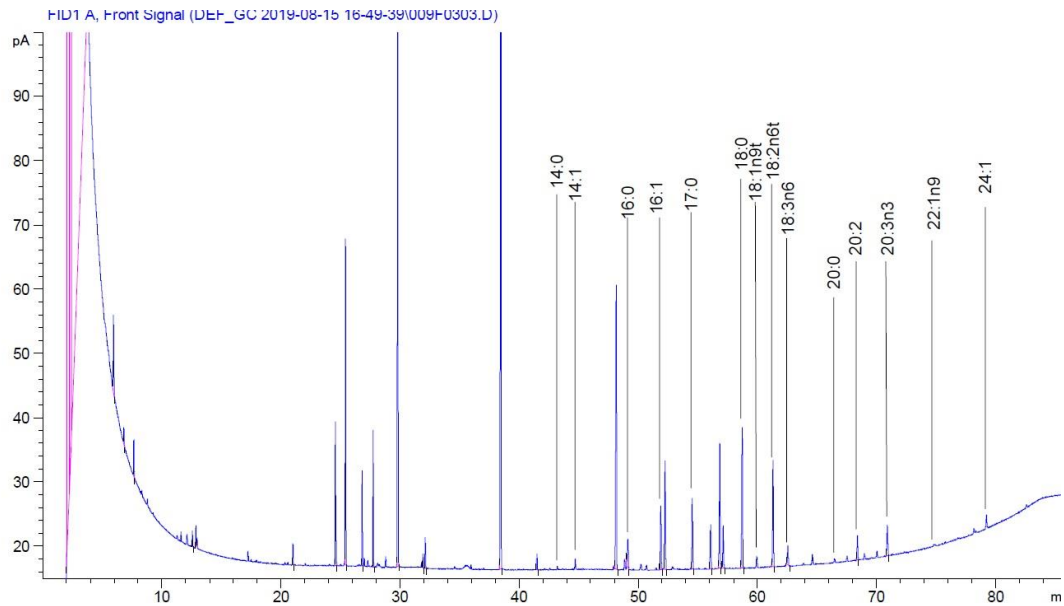


ภาพที่ ค-13 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *I. galbana*

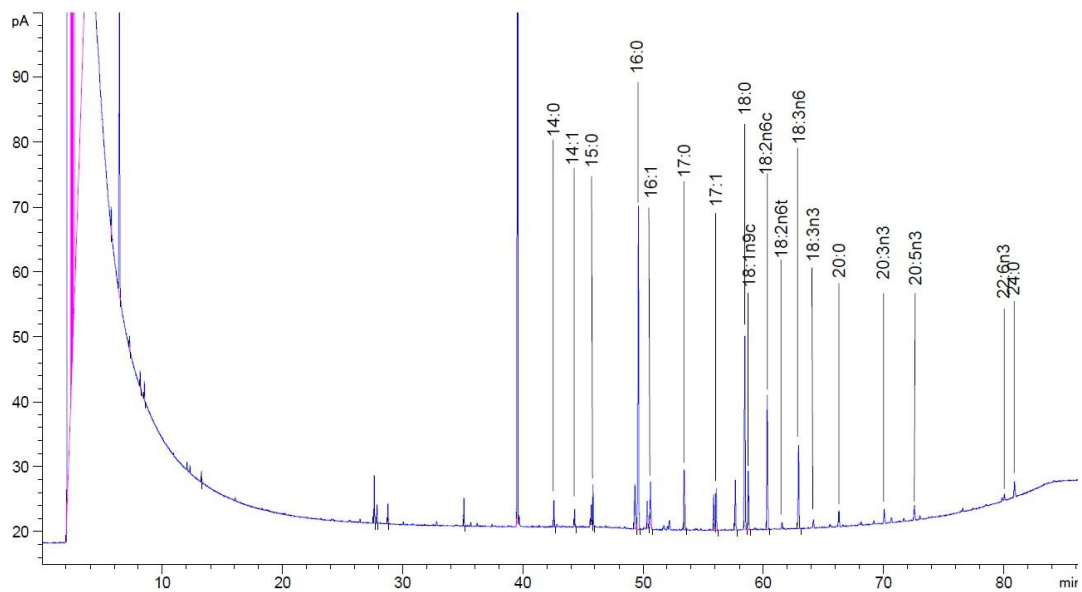


ภาพที่ ค-14 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* sp.

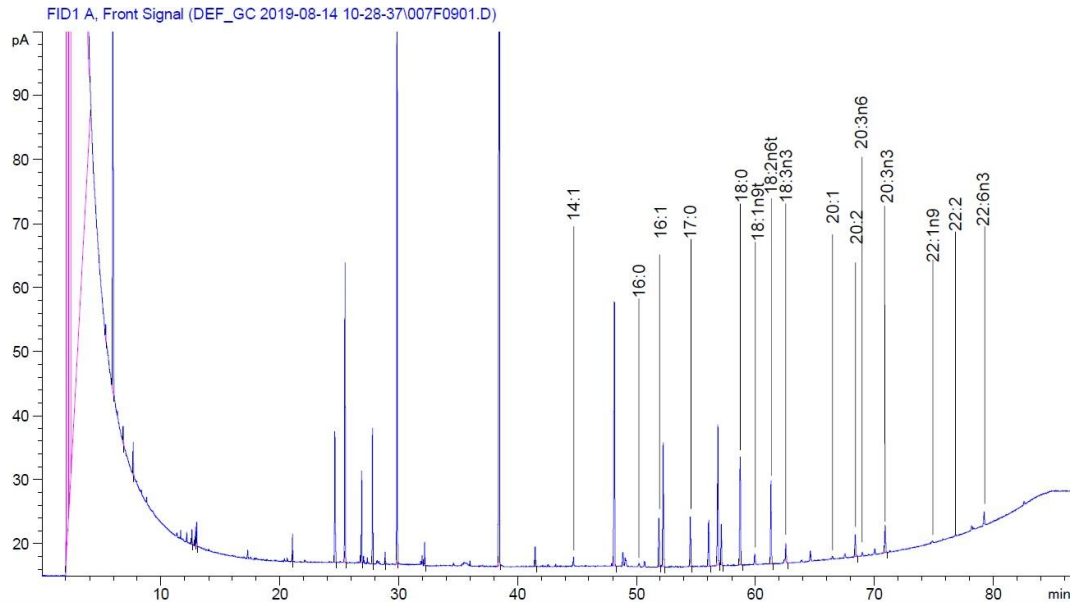
4. โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบผสม



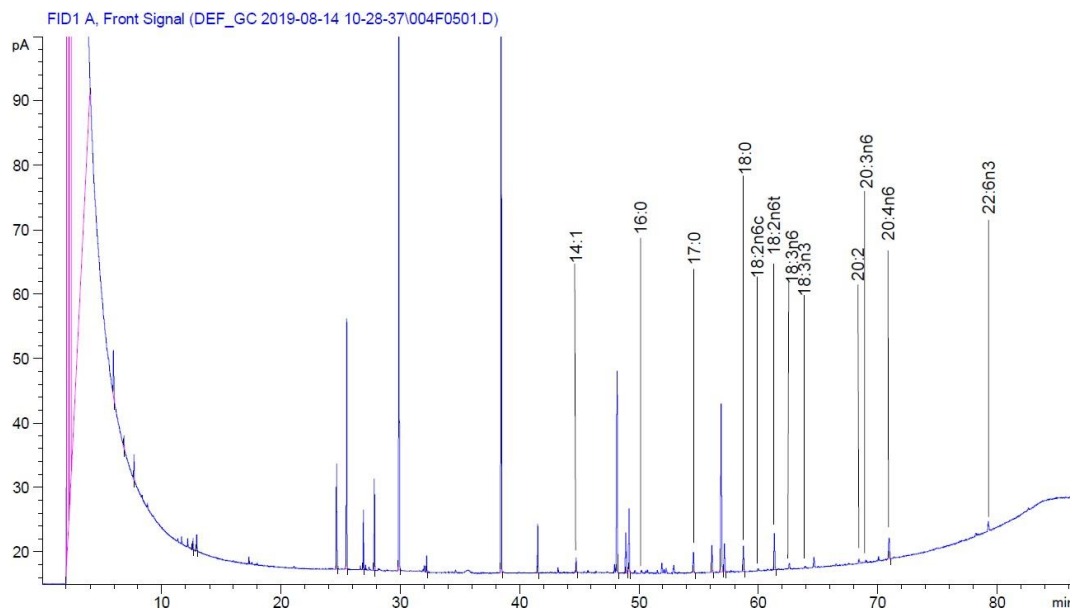
ภาพที่ ค-15 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* ผสมกับ *A. subtropica*



ภาพที่ ค-16 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* กับ *Chaetoceros* sp.



ภาพที่ ค-17 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* กับ *I. galbana*



ภาพที่ ค-18 โครมาโตแกรมองค์ประกอบกรดไขมันในโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* กับ *Thalassiosira* sp.

ประวัตินักวิจัยพร้อมหน่วยงาน

นางมะลิวัลย์ คุดะโค

คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

นางสาวปวีณา ตปนียวรงค์

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นายสรวิศ เผ่าทองสุข

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นางนภาพร เลียดประดม

การเลี้ยงสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 และ *Tetraselmis suecica*
แบบชนิดเดียวและแบบผสมเพื่อเป็นอาหารโคพีพอด *Apocyclops royi* (Lindberg, 1940)
Single and mixed culture of *Amphora* sp. AM9901 and *Tetraselmis suecica*
for copepod *Apocyclops royi* (Lindberg, 1940) feeding

ปวีณา ตปนียวรวงศ์^{1,2}, สุรีพร เฉลยสุข³, มะลิวัลย์ คุตะโค³ และ สรวิต เผ่าทองสุข^{1,2*}

Paveena Tapneeyaworawong^{1,2}, Sureeporn Chalersuk³, Maliwan Kutako³ and Sorawit Powtongsook^{1,2*}

¹ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

²ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

³คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

บทคัดย่อ

โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความสำคัญ เพราะสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น กุ้งและปลาได้ งานวิจัยนี้ได้เพาะเลี้ยงโคพีพอดน้ำเค็ม *Apocyclops royi* โดยให้อาหารเป็นไดอะตอม *Amphora* sp. AM9901 และสาหร่าย *Tetraselmis suecica* ที่เลี้ยงเพียงชนิดเดียวและที่เลี้ยงร่วมกัน โดยเพาะเลี้ยงแบบ Fed-batch ในขวดแก้ว ปริมาตร 1 ลิตร พบว่าโคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *Amphora* sp. AM9901 ร่วมกับ *T. suecica* มีผลผลิตของโคพีพอดระยะ นอเพลียส และตัวเต็มวัยเท่ากับ 610 ± 134 และ $1,141 \pm 488$ ตัวต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่ายทั้งสองชนิด และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในขวดแก้วปริมาตร 1 ลิตร ด้วย *Amphora* sp. AM9901 และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกัน ที่อัตราการเจือจางเฉลี่ย 0.10 ต่อวัน เป็นเวลา 27 วัน สามารถให้ความหนาแน่นของนอเพลียสและตัวเต็มวัยสูงสุดเท่ากับ $14,667 \pm 1,414$ และ $20,667 \pm 942$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ และให้ปริมาณผลผลิตของนอเพลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 546 ± 79 และ $1,110 \pm 55$ ตัวต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้อาหารในรูปของสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 ผสมกับ *T. suecica* สามารถส่งเสริมการเติบโตของโคพีพอด *A. royi* ความหนาแน่นสูงได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ : *Amphora* sp. AM9901, *Tetraselmis suecica*, โคพีพอด, การเพาะเลี้ยงแบบ Fed-batch, การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

Abstract

Copepod is one of the important zooplankton which practically used as live feed for shrimp and fish larvae. In this research, marine copepod *Apocyclops royi*, was cultured using single and mixed species of microalgae (*Amphora* sp. AM9901 and *Tetraselmis suecica*). Fed-batch culture of copepod was also performed in 1L Duran bottle. The results revealed that productivity of copepod fed with mixed species of *Amphora* sp. AM9901 and *T. suecica* were 610 ± 134 and $1,141 \pm 488$ no./L/day for nauplius and adult copepod, respectively. With 1L continuous culture, copepod fed with mixed *Amphora* sp. AM9901 and *T. suecica* was successfully maintained with 0.10 day^{-1} dilution rate for 27 days. Of these, the maximum concentration of $14,667 \pm 1,414$ nauplius/L and $20,667 \pm 942$ copepodid/L were obtained. The productivities of

nauplius and copepodid were 546 ± 79 and $1,110 \pm 55$ no/L/day, respectively. The results suggested that mixed microalgae *Amphora* sp. AM9901 and *T. suecica* could be an alternative feed for high density culture of copepod *A. royi*.

Keywords : *Amphora* sp. AM9901, *Tetraselmis suecica*, Copepod, Fed-batch culture, Continuous culture

*Corresponding author. E-mail : paveena.tap@biotec.or.th

บทนำ

ปัจจุบันในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนิยมใช้อาร์ทีเมียและโรติเฟอร์ในการอนุบาลลูกปลาหรือลูกสัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเชียน แต่ด้วยขนาดของโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียไม่เหมาะสมกับขนาดปากของลูกสัตว์น้ำบางชนิด และพฤติกรรมการว่ายน้ำของแพลงก์ตอนสัตว์ยังมีผลต่อการจับกินของลูกสัตว์น้ำอีกด้วย จากปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการพยายามศึกษาหาอาหารมีชีวิตที่มีขนาดเล็กซึ่งจะช่วยเพิ่มอัตราการรอดให้กับลูกสัตว์น้ำ ซึ่งโคฟีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความน่าสนใจเนื่องจากมีขนาดที่หลากหลายและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง

โคฟีพอดเป็นอาหารมีชีวิตที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย มีราคาถูก อีกทั้งยังมีขนาดที่เล็กจึงสามารถนำไปเป็นอาหารให้กับสัตว์น้ำวัยอ่อนได้หลายชนิด โดยในการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดจะมีการใช้จุลสาหร่ายหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ยีสต์ เป็นแหล่งอาหาร ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายนั้นมีความน่าสนใจเพราะภายในเซลล์ของสาหร่ายมีองค์ประกอบชีวเคมีที่สำคัญหลายชนิดที่จำเป็นต่อการเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของสัตว์น้ำ เช่น โปรตีน ไขมัน กรดอะมิโนจำเป็น และกรดไขมันจำเป็นกลุ่ม Polyunsaturated fatty acids (PUFA) และ Highly unsaturated fatty acids (HUFA) เป็นต้น สารประกอบชีวเคมีเหล่านี้จะมีการถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร (Kumlu, 1998) ซึ่งการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารโคฟีพอดเกือบทั้งหมดเป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียว (Monoculture) สามารถทำได้ง่ายและระบบเพาะเลี้ยงไม่ซับซ้อน แต่ในธรรมชาติพบว่าโคฟีพอดจะกินสาหร่ายหลายชนิดจึงส่งผลให้ได้รับคุณค่าทางอาหารที่หลากหลาย ทำให้โคฟีพอดเติบโตได้ดีและมีคุณภาพ ดังนั้นจึงได้มีการเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่ายหลายชนิดด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบผสม (Mixed culture) (Vidhya et al., 2014) ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงโคฟีพอดสามารถทำได้ด้วยแบบ Fed-batch ที่มีการเติมสาหร่ายเข้าสู่ขวดเลี้ยงโคฟีพอดในระหว่างการเลี้ยง และเมื่อปริมาณของสาหร่ายลดลงจะนำน้ำเลี้ยงโคฟีพอดออก โดยกรองผ่านผ้ากรองเพื่อป้องกันไม่ให้โคฟีพอดหลุดออกจากขวดเลี้ยง จากนั้นจึงเติมสาหร่ายเพิ่มลงในขวดเลี้ยงโคฟีพอดอีกครั้ง ซึ่งการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดแบบดังกล่าวจำเป็นต้องทำการใช้แรงงานในการเปลี่ยนถ่ายน้ำเลี้ยงโคฟีพอดและเติมสาหร่ายค่อนข้างบ่อย ส่งผลให้สิ้นเปลืองเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่าย (Matias-Peralta et al., 2011) ซึ่งแนวทางในการลดต้นทุนในการผลิตและยังผลิตโคฟีพอดได้ตลอดเวลา จึงมีการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) โดยมีการเติมอาหารเข้าสู่ขวดเลี้ยงสาหร่าย และสาหร่ายจากขวดเลี้ยงจะไหลเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดตลอดเวลา ส่งผลให้มีสาหร่ายเพียงพอต่อความต้องการของโคฟีพอดตลอดเวลา (Zillioux and Lackie, 1970)

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาระบบการเพาะเลี้ยงโคฟีพอด *Apocyclops royi* ซึ่งแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติในจังหวัดจันทบุรี ในระบบการเลี้ยงแบบ Fed-batch และแบบต่อเนื่องโดยใช้ไดอะตอม *Amphora* sp. AM9901 และสาหร่ายสีเขียว *Tetraselmis suecica* ทั้งในรูปแบบชนิดเดียวและแบบผสม โดยในช่วงเติมวัยโคฟีพอดมักจะอาศัยอยู่บริเวณพื้นท้องน้ำ ทำให้ไดอะตอม *Amphora* sp. AM9901 ซึ่งมักเติบโตโดยยึดเกาะติดอยู่บริเวณพื้นท้องน้ำ

(Benthic diatom) เป็นอาหารที่เหมาะสมและมีขนาดเล็ก อีกทั้งยังมีการสะสมกรดไขมันและสารสีพวกแคโรทีนอยด์สูง (มะลิวัลย์ และคณะ, 2547) ส่วนสาหร่าย *T. suecica* มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเลอิก (Oleic acid, C18:1) ในปริมาณสูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นๆ ทำให้การใช้สาหร่ายผสม *Amphora* sp. AM9901 และ *T. suecica* อาจเป็นทางเลือกใหม่ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสำหรับเป็นอาหารโคพีพอดต่อไป

วิธีการทดลอง

1. การเลี้ยงโคพีพอดแบบ Fed-batch ด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 และ *Tetraselmis suecica* เพียงชนิดเดียวและสาหร่ายผสม *Amphora* sp. AM9901 ร่วมกับ *T. suecica*

ทำการเลี้ยงโคพีพอด *Apocyclops royi* แบบ Fed-batch โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ (1) ใช้สาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 (2) ใช้สาหร่าย *T. suecica* และ (3) ใช้สาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 ผสมกับ *T. suecica* เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* โดยความหนาแน่นของเริ่มต้นของระยะอนุเพเลียสเท่ากับ 444 ± 192 , 889 ± 693 และ 444 ± 509 ตัวต่อลิตร ตามลำดับและตัวเต็มวัยเท่ากับ 222 ± 385 , 333 ± 333 และ 667 ± 333 ตัวต่อลิตร ตามลำดับ การศึกษาเริ่มจากเพาะเลี้ยงสาหร่ายด้วยอาหารสูตรกิลลาร์ด F/2 (Guillard, 1973) ที่เตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู บรรจุในขวดแก้วปริมาตร 1 ลิตร และเติมหัวเชื้อสาหร่าย 100 มิลลิลิตร วางขวดเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้อากาศที่ผ่านการกรองด้วยไส้กรองรูพรุนขนาด 0.3 ไมครอนและแสงความเข้ม 5,500 ลักซ์ ตลอดเวลา

เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายนาน 3-4 วัน สาหร่ายจะมีการเติบโตเพิ่มขึ้น จึงทำการเติมหัวเชื้อโคพีพอด *A. royi* ลงไปขวดละ 100 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงแบบแบทช์จนโคพีพอดมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นและกินสาหร่ายหมด โดยสังเกตจากสีที่จางลง จึงทำการดูน้ำปริมาตร 300 มิลลิลิตร ออกจากขวดเลี้ยงโคพีพอด โดยผ่านผ้ากรองขนาดช่องตา 33 ไมครอนเมตรเพื่อป้องกันไม่ให้โคพีพอดหลุดออกจากขวดเลี้ยง จากนั้นเติมสาหร่ายกลับเข้าขวดเลี้ยง ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ซึ่งได้ดำเนินการดังกล่าวในวันที่ 8, 11 และ 14 ของการทดลอง ทั้งนี้ระหว่าง 16 วันที่ทำการทดลอง ได้เก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเติบโตของสาหร่ายด้วยวิธีการนับเซลล์โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด และนับจำนวนโคพีพอดทุกวันด้วย Sedgwick Rafter ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์

2. การเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 ผสมกับสาหร่าย *T. suecica*

ทำการเลี้ยงสาหร่าย *T. suecica* ผสมกับ *Amphora* sp. AM9901 ในขวดเดียวกันปริมาตร 1 ลิตร และวางขวดเลี้ยงภายใต้สภาวะเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น เริ่มจากเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบแบทช์เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งพบว่าสาหร่ายเติบโตขึ้น ดังนั้นจึงเริ่มดำเนินการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายนำอาหารสูตรกิลลาร์ด F/2 เข้าสู่ระบบเลี้ยงสาหร่าย เมื่ออาหารเข้าสู่ระบบเลี้ยงจะผสมเข้ากับสาหร่ายเพราะมีการให้อากาศอย่างทั่วถึง และเมื่ออาหารเลี้ยงสาหร่ายถูกเติมเข้าสู่ระบบเลี้ยงจะทำให้ปริมาณในขวดเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น และปริมาณน้ำเลี้ยงสาหร่ายส่วนที่เกินจะไหลออกทางท่อด้านบนเข้าสู่ขวดเลี้ยงโคพีพอดที่มีปริมาตร 2 ลิตร ที่ทำการเลี้ยงโคพีพอดแบบแบทช์จนโคพีพอดมีการเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้น โดยมีความหนาแน่นเริ่มต้นของตัวอ่อนระยะอนุเพเลียสและตัวเต็มวัยก่อนเริ่มต้นการเลี้ยงแบบต่อเนื่องเท่ากับ $5,000 \pm 2,828$ และ 833 ± 707 ตัวต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อสาหร่ายทั้งสองชนิดจากขวดเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องไหลเข้าสู่ขวดเลี้ยงโคพีพอด ทำให้ปริมาณน้ำในขวดเลี้ยงโคพีพอดเพิ่มมากขึ้น และปริมาณของน้ำเลี้ยงโคพีพอดส่วนเกินที่มีสาหร่ายและโคพีพอดจะถูกดันออกที่ปลายท่อด้านบนด้วยแรงดันอากาศเข้าสู่ขวดเก็บผลผลิต

ทำการติดตามการเติบโตของสาหร่ายและโคฟีพอดด้วยการนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน วัดปริมาณผลผลิตที่เก็บได้ทุกวันเพื่อคำนวณอัตราการเจริญของทั้งขวดเลี้ยงสาหร่ายและขวดเลี้ยงโคฟีพอด

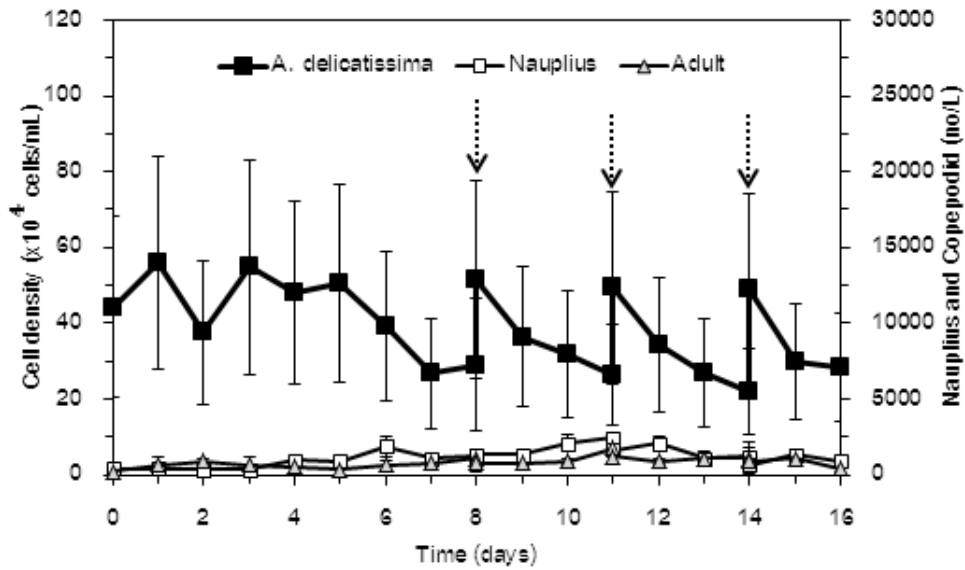
ผลและอภิปราย

1. การเลี้ยงโคฟีพอดแบบ Fed-batch ด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 และ *T. suecica* เพียงชนิดเดียวและสาหร่ายผสม *Amphora* sp. AM9901 ร่วมกับ *T. suecica*

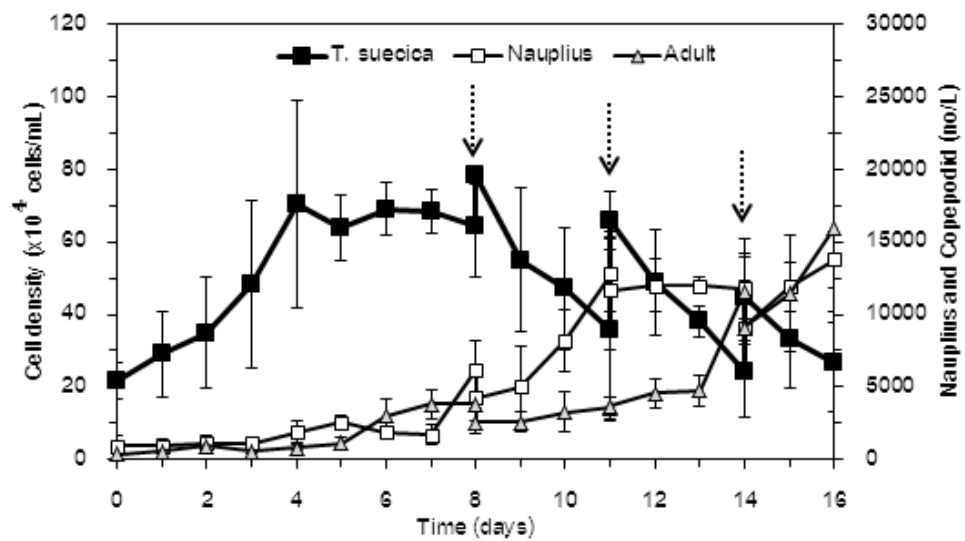
จากการเพาะเลี้ยงโคฟีพอด *A. royi* แบบ Fed-batch พบว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 เพียงชนิดเดียว ให้ความหนาแน่นของนอเพลียสและตัวเต็มวัยสูงสุด $2,444 \pm 384$ และ $1,778 \pm 192$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ดังภาพที่ 1 และเมื่อทำการเติมสาหร่ายเข้าสู่ขวดเลี้ยงพบว่าความหนาแน่นของนอเพลียสและตัวเต็มวัย ส่วนโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* เพียงชนิดเดียว ให้ความหนาแน่นของ

นอเพลียสและตัวเต็มวัยสูงสุด $13,778 \pm 1,895$ และ $16,000 \pm 6,557$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 และเมื่อทำการเติมสาหร่ายเข้าสู่ขวดเลี้ยงพบว่าความหนาแน่นของนอเพลียสและตัวเต็มวัยลดลง และเมื่อเลี้ยงโคฟีพอดด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 และ *T. suecica* ให้ความหนาแน่นของนอเพลียสสูงสุด $9,778 \pm 1,667$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง และให้ความหนาแน่นของตัวเต็มวัยสูงสุด $21,111 \pm 3,595$ ตัวต่อลิตร ในวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง ดังภาพที่ 3 และเมื่อทำการเติมสาหร่ายเข้าสู่ขวดเลี้ยงทำให้ความหนาแน่นของนอเพลียสและตัวเต็มวัยลดลง

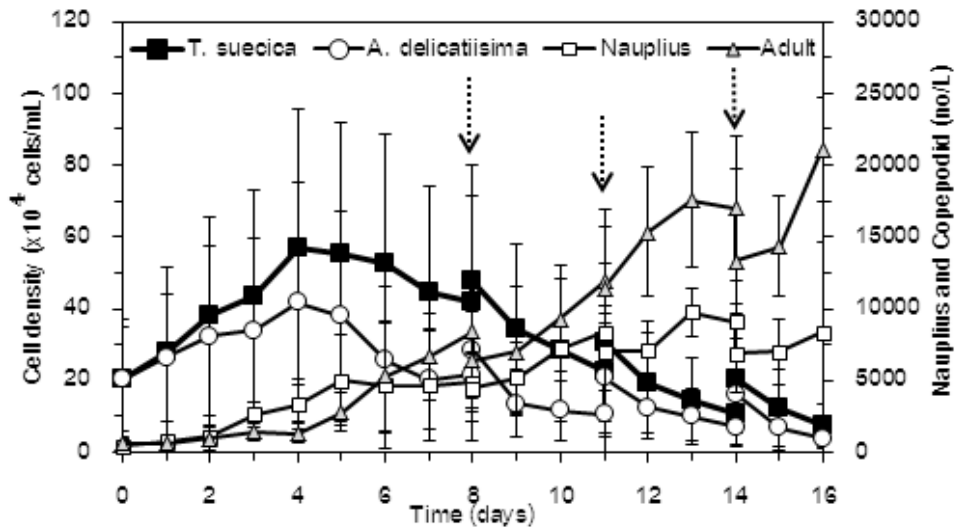
จากภาพที่ 3 และตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Amphora* sp. AM9901 และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกัน ให้ผลผลิตของตัวอ่อนระยะนอเพลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 610 ± 134 และ $1,141 \pm 488$ ตัวต่อลิตรต่อวัน ซึ่งสูงกว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วย *Amphora* sp. AM9901 เพียงชนิดเดียว ($P < 0.05$) ทั้งนี้ Hernandez และ Alvarez-Lajonchere (2003) พบว่าการเพาะเลี้ยงโคฟีพอดโดยเลี้ยงด้วยสาหร่าย 5 ชนิดผสมกัน พบว่าโคฟีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม 5 ชนิด มีความหนาแน่นของโคฟีพอดมากที่สุด เท่ากับ 13,000 ตัวต่อลิตร เพราะการให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวส่งผลให้สารอาหารที่โคฟีพอดได้รับไม่เพียงพอต่อความต้องการตามธรรมชาติ (Cruz et al., 2009) ดังนั้นการให้สาหร่ายมากกว่า 1 ชนิด จึงช่วยลดการขาดสารอาหารบางชนิดและยังช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของโคฟีพอดให้สูงขึ้น และเมื่อนำโคฟีพอดไปใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำจะส่งผลให้อัตราการรอดของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน โดยในสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 มีการสะสมกรดไขมันและสารสีพวกแคโรทีนอยด์สูง (มะลิวัลย์ และคณะ, 2547) ส่วนสาหร่าย *T. suecica* มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเลอิก (Oleic acid, C18:1) ในปริมาณสูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นๆ (Fabregas et al., 2001)



ภาพที่ 1 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 เพียงชนิดเดียวในระบบการเลี้ยงแบบ Fed-batch โดยลูกศรแสดงช่วงที่มีการดูดน้ำเลี้ยงโคพีพอดออกจากขวดเลี้ยงปริมาตร 300 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมสาหร่ายเข้าสู่ขวดเลี้ยงโคพีพอดด้วยปริมาตร 300 มิลลิลิตร



ภาพที่ 2 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tetraselmis suecica* เพียงชนิดเดียวในระบบการเลี้ยงแบบ Fed-batch โดยลูกศรแสดงช่วงที่มีการดูดน้ำเลี้ยงโคพีพอดออกจากขวดเลี้ยง



ภาพที่ 3 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM901 และ *Tetraselmis suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบ Fed-batch โดยลูกครแสดงช่วงที่มีการดูน้ำเลี้ยงโคพีพอดออกจากขวดเลี้ยง

ตารางที่ 1 ความหนาแน่นของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM901 และ *Tetraselmis suecica* เพียงชนิดเดียวและแบบผสมในระบบการเลี้ยงแบบ Fed-batch ในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง

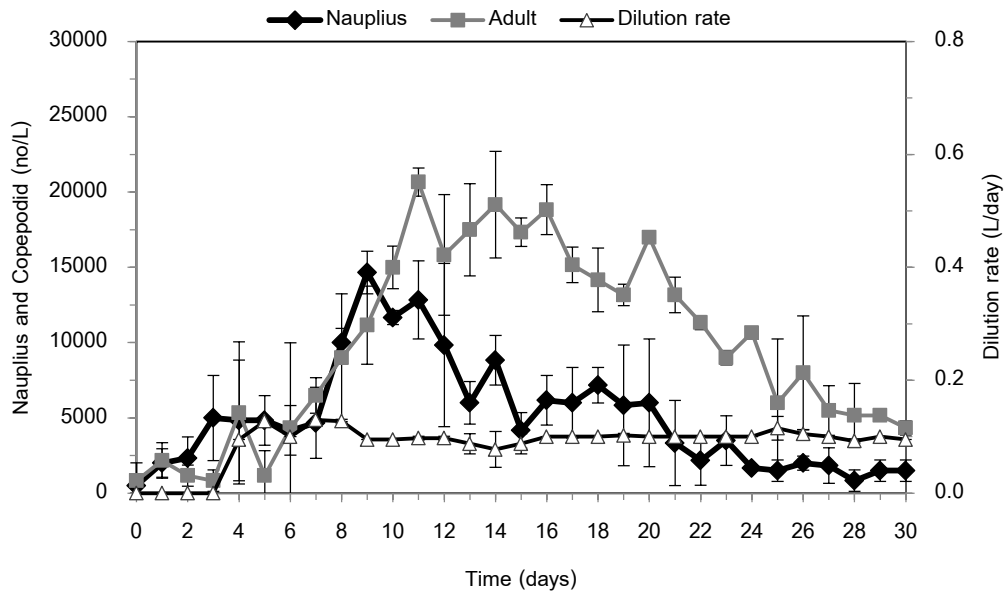
รูปแบบการเพาะเลี้ยงโคพีพอด	ชนิดสาหร่าย	ความหนาแน่นของโคพีพอด (ตัวต่อลิตร)		
		นอเพลียส	ตัวเต็มวัย	โคพีพอดทุกระยะ
การเลี้ยงด้วยสาหร่ายเพียงชนิดเดียว	<i>Amphora</i> sp. AM901 และ <i>T. suecica</i>	889±192 ^a	444±192 ^a	1,333±333 ^a
การเลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบผสม	<i>Amphora</i> sp. AM901 และ <i>T. suecica</i>	13,778±1,895 ^b	16,000±6,557 ^b	29,777.78±8,342 ^b
การเลี้ยงด้วยสาหร่ายแบบผสม	<i>Amphora</i> sp. AM901 และ <i>T. suecica</i>	8,333±1,667 ^{ab}	21,111±3,595 ^b	29,444.44±8,261 ^b

หมายเหตุ ข้อมูลในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2. การศึกษาการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM901 และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกัน

การเติบโตของโคพีพอดด้วยระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในขวดเลี้ยงขนาด 2 ลิตร พบว่าในช่วงแรกได้ทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบแบทช์ (วันที่ 0-3 ของการเพาะเลี้ยง) โคพีพอดมีความหนาแน่นของนอเพลียสและตัวเต็มวัยในวันที่ 3 ของการเลี้ยง (ก่อนเริ่มการทดลองเลี้ยงแบบต่อเนื่อง) เฉลี่ยเท่ากับ $5,000 \pm 2,828$ และ 833 ± 707 ตัวต่อลิตร ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจางเฉลี่ย 0.10 ลิตรต่อวัน ตลอดระยะเวลาการทดลอง (วันที่ 4-30 ของการเพาะเลี้ยง) พบว่าโคพีพอดมีความหนาแน่นเฉลี่ยของนอเพลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ $5,462 \pm 3,747$ และ $11,098 \pm 6,146$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ (ดังภาพที่ 4) และมีปริมาณผลผลิตของนอเพลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 546 ± 79 และ $1,109 \pm 55$ ตัวต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วย *Amphora* sp. AM901 และ *T. suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบ Fed-batch ซึ่งมีผลผลิตของนอเพลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 610 ± 134 และ $1,141 \pm 488$ ตัวต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของประภัสสร

(2558) ทำการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.17 ต่อวัน ด้วยสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. suecica* ที่เลี้ยงร่วมกันแบบต่อเนื่องพบว่าผลผลิตของนอเพล็ยสและตัวเต็มวัยเท่ากับ $3,407 \pm 1,337$ และ $2,417 \pm 1,195$ ตัวต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีผลผลิตของนอเพล็ยสและตัวเต็มวัยใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. Suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องซึ่งมีผลผลิตนอเพล็ยสและตัวเต็มวัยเท่ากับ $1,172 \pm 1,113$ และ $4,012 \pm 363$ ตัวต่อลิตรต่อวันตามลำดับ แต่ทั้งนี้พบว่า การเลี้ยงแบบต่อเนื่องเป็นระบบการเลี้ยงแบบอัตโนมัติทำให้เกิดความสะดวกรวดเร็วและทำให้โคพีพอดมีอาหารเพียงพอตลอดเวลา เนื่องจากมีการเติมสาหร่ายให้แก่โคพีพอดตลอดเวลา และเมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงโคพีพอดด้วยสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *T. Suecica* แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงโคพีพอดด้วย *Amphora* sp. AM9901 และ *T. suecica* โคพีพอดมีความหนาแน่นที่ต่ำกว่าเล็กน้อย เนื่องจากเซลล์ของ *Amphora* sp. AM9901 บางส่วนมีลักษณะเกาะกันเป็นกลุ่มและยึดเกาะกับผิวขวดเลี้ยง ซึ่งจากรายงานของ Frost (1972) พบว่าโคพีพอด *Calanus pacificus* กินไดอะตอมที่เลี้ยงแบบชนิดเดียว โดยสามารถกินไดอะตอมที่มีขนาด 11-87 ไมโครเมตร แต่จากการศึกษาครั้งนี้โคพีพอดเลือกกิน *T. suecica* ก่อน เนื่องจากโคพีพอดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นโคพีพอดที่อาศัยในมวลน้ำจึงเลือกกิน *T. suecica* ซึ่งอยู่ในมวลน้ำมากกว่า *Amphora* sp. AM9901 ที่เกาะอยู่ตามขวดเลี้ยง ซึ่งจากการศึกษาของ Buffan-Dubau et al. (1996) ทำการติดตามการกินอาหารของ *Canuella perplexa* ซึ่งอยู่ในกลุ่มหยาแพคติกคอยด์โคพีพอดที่อาศัยอยู่บนน้ำดิน (benthic copepod) ด้วยเทคนิค HPLC (High Performance Liquid Chromatography) พบรงควัตถุชนิด Fucoxanthin เเด่นที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *C. perplexa* เลือกกินไดอะตอมที่ยึดเกาะอยู่บนผิว (benthic diatom) ได้ แต่การเลี้ยงโคพีพอดด้วย *Amphora* sp. AM9901 เพียงชนิดเดียวมีผลทำให้นอเพล็ยสไม่สามารถพัฒนาการไปยังตัวเต็มวัยได้ดีเท่าที่ควรซึ่งจะเห็นได้จากภายในขวดเลี้ยงโคพีพอดมีปริมาณ *Amphora* sp. AM9901 เหลือในระบบปริมาณมาก ซึ่งการที่มีสาหร่ายคงเหลือมากเกินไปก็อาจส่งผลกระทบต่อ การเติบโตของแพลงก์ตอนสัตว์ได้ด้วยเช่นกัน (James and Abu-Rezq, 1988)



ภาพที่ 4 การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 และ *Tetraselmis suecica* ที่เลี้ยงร่วมกัน โดยในช่วงวันที่ 0-3 ได้เพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบแบทช์ จากนั้นวันที่ 4-30 ของการเพาะเลี้ยง จึงได้เพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยมีการเติมสาหร่ายเข้าสู่ขวดเลี้ยงโคพีพอดตลอดเวลา

บทสรุป

การเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบ Fed-batch ด้วยสาหร่าย *Amphora* sp. AM9901 ผสมกับ *T. suecica* ให้ปริมาณผลผลิตและความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอดในระยะตัวเต็มวัยสูงที่สุด และเมื่อทำการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องด้วยสาหร่ายผสม 2 ชนิด จากระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องพบว่าโคพีพอดมีความหนาแน่นเฉลี่ยของนอพลีซและตัวเต็มวัยเท่ากับ $5,462 \pm 3,747$ และ $11,098 \pm 6,146$ ตัวต่อลิตร ตามลำดับ ที่อัตราการเจือจาง 0.1 ต่อวัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* ใช้อาหารในรูปของสาหร่าย *Amphora* sp. AM990 ผสมกับ *T. suecica* สามารถพัฒนาต่อไปเพื่อเพิ่มผลผลิตโคพีพอดได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพาผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 217/2561

เอกสารอ้างอิง

มะลิวัลย์ คุตะโค, สรวิต เผ่าทองสุข และ สรัญญา พันธุ์ฤกษ์. (2547). การเพาะเลี้ยงไดอะตอมน้ำเค็ม *Amphora delicatissima* AM9901 แบบกะและแบบต่อเนื่องในสภาวะเฮเทอโรโทรฟิก. *วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T)* 1: 309-321.

- ประภัศสร อ่ำมาร. (2558). การเลี้ยงสาหร่าย *Chaetoceros* sp. และ *Tetraselmis suecica* ร่วมกันในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องเพื่อใช้เป็นอาหารโคพีพอด. ปรินญานิพนธ์ วท.บ., มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี.
- Buffan-Dubau, E., Wit, R. and Castel, J. (1996). Feeding selectivity of the harpacticoid copepod *Canuella perplexa* in benthic muddy environments demonstrated by HPLC analyses of chlorin and carotenoid pigments. *Marine Ecology Progress Series* 137: 71-82.
- Cruz, A.C., Villalobos, M.S., Rodriguez, G.B. and Voltolina, D. (2009). Culture of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson 1939) with different microalgal diets. *Aquaculture* 290: 317-319.
- Fabregas, J., Otero, A., Dominguez, A. and Patinot, M. (2001). Growth rate of the microalgae *Tetraselmis suecica* changes the biochemical composition of *Artemia* Species. *Marine Biotechnology* 3: 256-263.
- Frost, B. W. (1972) Effect of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography* 17(6): 805-815.
- Guillard, R.R.L. (1973). *Method for Microflagellates and Nanoplankton*. In Stein, J.R. (ed). *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. New York: Cambridge University. pp. 69-89.
- Hernandez-Molejon, O.G. and Alvarez-Lajonchere, L. (2003). Culture experiments with *Oithona oculata* Farran, 1913 (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. *Aquaculture* 219: 471-483.
- James, C.M. and Abu-Rezq, T.S. (1988). Effect of different cell densities of *Chlorella capsulate* and Marine *Chlorella* sp. For feeding the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 68: 43-56.
- Kumlu, M. (1998). Larval growth and Survival of *Penaeus indicus* (Decapoda: Penaeidae) on Live Feeds. *Turkish Journal of Biology* 22: 235-245.
- Matias-Peralta, H. M., Yusoff, F. M., Shariff, M. and Mohamed, S. (2011). Small-scale continuous production of a tropical marine copepod, *Nitocra affinis californica* lang and its potential as live food for aquaculture. *Journal of Agricultural Research* 6(6): 1611-1620.
- Vidhya, K., Uthayakumar, V., Muthhukumar, S., Munirasu, S. and Ramasubramanian, V. (2014). The effects of mixed algal diets on population growth, egg productivity and nutritional profiles in cyclopoid copepods (*Thermocyclops hyalinus* and *Mesocyclops aspericornis*). *Journal of Basic & Applied Zoology* 67: 58-65.
- Zillioux, E. J. and Lackie, N. F. (1970). Advances in the continuous culture of planktonic copepods. *Hegolander wiss. Meeresunters* 20: 325-332.

การเติบโตของโคพีพอด *Apocyclops royi* (Lindberg, 1940) ที่เลี้ยงด้วย
สาหร่าย *Tetraselmis suecica* และ *Thalassiosira* sp. ในระบบ
แบบกึ่งต่อเนื่องและแบบต่อเนื่อง

Growth of copepod *Apocyclops royi* (Lindberg, 1940) fed with
Tetraselmis suecica and *Thalassiosira* sp. in semi-continuous and
continuous culture systems

ปวีณา ตปนีย์วรวงษ์^{1,2*}, อภินาถ ประสพวงศ์³, มะลิวัลย์ कुตะโค³ และ สรวิต เผ่าทองสุข^{1,2}
Paveena Tapaneeyaworawong^{1,2*}, Aninart Prasopwong³, Maliwan Kutako³ and
Sorawit Powtongsook^{1,2}

บทคัดย่อ: โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความสำคัญเพราะสามารถนำมาใช้เป็นอาหารมีชีวิตสำหรับอนุบาลลูกปลารายอ่อนได้ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากการเติบโตของโคพีพอด *Apocyclops royi* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* หรือ *Thalassiosira* sp. เพียงชนิดเดียว และการเลี้ยง *T. suecica* ร่วมกับ *Thalassiosira* sp. ในระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าความหนาแน่นโคพีพอดรวมทุกระยะ (นอเพเลียสและตัวเต็มวัย) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* เพียงชนิดเดียว และ *T. suecica* ร่วมกับ *Thalassiosira* sp. มีค่าสูงสุดเท่ากับ 12,765 และ 10,679 ตัว/ล. ตามลำดับ เมื่อทำการเลี้ยงโคพีพอดในระบบต่อเนื่องด้วยสาหร่าย *T. suecica* ผสมกับ *Thalassiosira* และใช้อัตราการให้อาหาร 0.26 ต่อวัน พบว่าความหนาแน่นของโคพีพอดระยะนอเพเลียสและตัวเต็มวัยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $9,008 \pm 3,701$ และ $3,083 \pm 1,256$ ตัว/ล. ตามลำดับ คิดเป็นผลผลิตโคพีพอดระยะนอเพเลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 2,376 และ 813 ตัว/ล./วัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องให้ผลผลิตโคพีพอดดี จึงอาจจะสามารถผลิตโคพีพอดเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำแบบอัตโนมัติได้

คำสำคัญ: *Apocyclops royi*, *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira* sp., การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง, การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

ABSTRACT: Copepod is one of the important zooplankton which has been used as live feed for fish larviculture. This research involved the study on growth of a marine copepod, *Apocyclops royi*, fed with single and mixed culture of *Tetraselmis suecica* and *Thalassiosira* sp. Copepods were grown in semi-continuous culture system. It was found that copepod fed with single culture of *T. suecica* and mixed culture of *T. suecica* and *Thalassiosira* sp. had the maximum density

¹ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency

² ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Center of Excellence for Marine Biotechnology, Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

³ หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

Marine Biotechnology Research Unit, Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chantaburi Campus

* Corresponding author: paveena.tap@biotec.or.th

of 12,765 and 10,679 no./L, respectively. With continuous culture at 0.26 per day dilution rate, copepod fed with mixed culture of *T. suecica* and *Thalassiosira* had the average density of nauplii and adult at $9,008 \pm 3,701$ and $3,083 \pm 1,256$ no./L, respectively. Productivity of nauplii and adult were 2,376 and 813 no./L/day, respectively. It was indicated that continuous culture system gave the high copepod productivity. Of these, it can be used for automated feeding to aquatic larva.

Keywords: *Apocyclops royi*, *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira* sp., continuous culture, semi-continuous culture

บทนำ

โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มครัสเตเชียนขนาดเล็กที่มีความหลากหลาย พบได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม (Dahm, 2000) โคพีพอดมีความสำคัญในระบบนิเวศน์โดยทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมโยงระหว่างผู้ผลิตขั้นต้นกับผู้บริโภคในลำดับถัดไป โคพีพอดหลายชนิดจึงถูกนำมาเป็นอาหารสำหรับสัตว์น้ำในโรงเพาะฟัก เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าไรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย (Olivotto et al., 2010) นอกจากนี้โคพีพอดจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว (HUFA) สูงแล้ว ยังมีวิตามินต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของลูกสัตว์น้ำอีกด้วย โคพีพอดระยะนอเพเลียสมีขนาดเล็กกว่า 100 ไมโครเมตร จึงเหมาะสมกับขนาดปากของลูกปลาแรกฟักออกจากไข่ (McKinnon et al., 2003) โดยเฉพาะลูกปลาเก่าที่พบว่าในการอนุบาลมักมีอัตราการรอดต่ำ มีสาเหตุมาจากปากของลูกปลาแรกฟักมีขนาดเล็ก จึงมีความน่าสนใจในการนำโคพีพอดระยะนอเพเลียส มาใช้เป็นอาหารแก่ลูกปลาเก่าเพื่อเพิ่มอัตราการรอดและการเติบโต โดยคุณค่าทางโภชนาการของโคพีพอดนั้นเกิดจากอาหารที่โคพีพอดกินเข้าไป โดยสาหร่ายหรือแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดที่โคพีพอดกินเข้าไปจะมีคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้สาหร่ายมากกว่าหนึ่งชนิดเพื่อเป็นอาหารแก่โคพีพอด จึงเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจ โดย Milione et al. (2007) พบว่าการใช้สาหร่ายสองชนิดเป็นอาหารให้โคพีพอด *Acartia sinjiensis* จะส่งผลให้โคพีพอดมีพัฒนาเร็วกว่าการใช้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวเป็นอาหาร รวมถึงการศึกษาผลผลิตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่องเพื่อให้ได้ผลผลิตโคพีพอดที่สูงขึ้นและมีคุณภาพมากขึ้น งานวิจัยนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบการเติบโตของโคพีพอด *Apocyclops*

royi ซึ่งเป็นโคพีพอดน้ำจืดสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้เป็นอย่างดีและนิยมนำมาใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำในประเทศได้ทุกวัน (Pan et al., 2017) โดยทำการเลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวและสาหร่ายผสมประกอบด้วยสาหร่ายสีเขียว *Tetraselmis suecica* และไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ซึ่งสาหร่ายทั้งสองเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่นิยมใช้เป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำในโรงเพาะฟักทั่วไป จะทำการเลี้ยงทั้งในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องและแบบต่อเนื่องในห้องปฏิบัติการ เพื่อนำมาพัฒนาระบบผลิตโคพีพอดต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

การเติบโตของโคพีพอด *A. royi* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* ร่วมกับ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

ทำการเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* ด้วยสาหร่าย *T. suecica*, *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* ร่วมกับ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องในขวดขนาด 1 ลิ. โดยการเติมหัวเชื้อสาหร่ายลงในอาหารสูตรของกิลลาร์ด F/2 (Guillard, 1973) ความเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 800 ลิ. โดยชุดการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุด คือชุดที่หนึ่งเลี้ยงสาหร่าย *T. suecica* เพียงชนิดเดียว โดยเติมหัวเชื้อสาหร่าย ปริมาตร 100 มล. และเมื่อสาหร่ายเติบโตจึงเติมหัวเชื้อโคพีพอดลงในขวดสาหร่ายปริมาตร 100 มล. ชุดที่สองเลี้ยงสาหร่าย *Thalassiosira* sp. เพียงชนิดเดียว ใช้หัวเชื้อสาหร่าย ปริมาตร 100 มล. และใช้หัวเชื้อโคพีพอดปริมาตร 100 มล. และชุดที่สามเลี้ยงสาหร่าย *T. suecica* ร่วมกับ *Thalassiosira* sp. โดยใช้หัวเชื้อสาหร่ายชนิดละ 50 มล. และหัว

เชื้อโคพีพอด 100 มล. โดยทั้งสามชุดการทดลองมีความหนาแน่นโคพีพอดเริ่มต้นที่ประมาณ 1,400 ตัว/ล. จากนั้นวางขวดเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส โดยให้อากาศที่ผ่านตัวกรอง 0.22 ไมครอนเมตร และให้แสงความเข้ม 5,500 ลักซ์ ตลอด 16 วันที่ทดลอง และได้ติดตามผลการเติบโตของโคพีพอดด้วยการนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การเก็บผลผลิตแบบกึ่งต่อเนื่องทำในวันที่ 10 และ 13 ของการทดลอง ทำโดยการนำโคพีพอดปริมาตร 300 มล. ออกจากขวดเลี้ยง และได้เติมสาหร่ายปริมาตรเท่ากันกลับเข้าไปในขวดเลี้ยง

การเติบโตของโคพีพอด *A. royi* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T.suecica* และ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

การเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* แบบต่อเนื่องในการทดลองนี้เลือกให้อาหารโคพีพอดด้วยสาหร่าย *T.suecica* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวผสมกับไดอะตอม *Thalassiosira* sp. โดยได้เลี้ยงสาหร่าย *T.suecica* และ *Thalassiosira* sp. แยกกันในขวดแก้วปริมาตร 1 ล. เมื่อสาหร่ายมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นจึงนำสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มาเชื่อมต่อกับขวดเลี้ยงโคพีพอดปริมาตร 2 ล. เมื่อเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องอาหารสูตร F/2 จะถูกสูบเข้าสู่ขวดเลี้ยงสาหร่ายแต่ละชนิดด้วยปั๊มแบบปริมาตร (peristaltic pump) อาหาร F/2 ที่ถูกเติมเข้ามาเพื่อเป็นอาหารให้กับสาหร่ายจะทำให้ปริมาตรของน้ำในขวดเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้นจนเกินปริมาตร 1 ล. ที่ถูกกำหนดไว้ ดังนั้นสาหร่ายแต่ละชนิดจะถูกดันออกทางท่อด้านบนด้วยแรงดันลมจากอากาศที่พ่นในขวดเลี้ยงสาหร่าย จากนั้นสาหร่ายจากทั้ง 2 ชนิดจะไหลลงเข้าสู่ขวดเลี้ยงโคพีพอด เพื่อเป็นอาหารสำหรับโคพีพอดและเมื่อปริมาตรน้ำในขวดเลี้ยงโคพีพอดเพิ่มขึ้น น้ำส่วนที่เกินกว่าปริมาตร 2 ล. ที่กำหนดไว้จะถูกดันออกเข้าสู่ขวดเก็บเกี่ยวผลผลิต ติดตามการเติบโตของโคพีพอดด้วยการนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน และวัดปริมาตรผลผลิตโคพีพอดเพื่อคำนวณอัตราการเจริญ (ต่อวัน) ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยสมการดังนี้ $D = F/V$ โดยที่ F คือ อัตราการไหล (ล./วัน) และ V คือ ปริมาตร การเลี้ยงโคพีพอด (ล.) (Bailey and Ollis, 1986)

ผลการศึกษา

การเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T.suecica*, *Thalassiosira* sp. และ *T.suecica* ร่วมกับ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

เมื่อเลี้ยงโคพีพอดที่มีความหนาแน่นเริ่มต้นเฉลี่ยของนอเพเลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 988 ± 271 และ 494 ± 370 ตัว/ล. ตามลำดับ และเลี้ยงด้วยสาหร่าย *Thalassiosira* sp. เพียงชนิดเดียว และในวันที่ 10 ของการทดลอง พบว่าโคพีพอดระยะนอเพเลียส, ตัวเต็มวัยและโคพีพอดรวมทุกระยะมีความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับ $3,086 \pm 642$, $3,580 \pm 741$ และ $6,667 \pm 3,333$ ตัว/ล. ตามลำดับ (Figure 1A) ซึ่งในช่วงที่เก็บเกี่ยวผลผลิตโคพีพอดออกสามารถคำนวณผลผลิตเฉลี่ยของโคพีพอดระยะนอเพเลียส, ตัวเต็มวัยและโคพีพอดรวมทุกระยะได้เท่ากับ 331, 195 และ 321 ตัว/ล./วัน

จากการเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* ด้วยสาหร่าย *T.suecica* เพียงชนิดเดียว พบว่าความหนาแน่นเฉลี่ยของโคพีพอดระยะนอเพเลียสและระยะตัวเต็มวัยเริ่มต้นเท่ากับ $1,062 \pm 271$ และ 617 ± 0 ตัว/ล. ตามลำดับ ในวันที่ 12 ของการทดลอง โคพีพอดระยะนอเพเลียสมีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $9,567 \pm 1,835$ ตัว/ล. ในขณะที่ในวันที่ 19 ของการทดลอง มีโคพีพอดตัวเต็มวัยความหนาแน่นสูงสุด $5,432 \pm 1,518$ ตัว/ล. ทั้งนี้ความหนาแน่นของโคพีพอดรวมทุกระยะสูงสุดในวันที่ 15 ของการทดลองเท่ากับ $12,765 \pm 4,376$ ตัว/ล. (Figure 1B) ผลการเก็บเกี่ยวผลผลิตโคพีพอดแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยนำออก 300 มล. 2 ครั้ง คือวันที่ 10 และ 13 ของการทดลอง พบว่าผลผลิตเฉลี่ยของโคพีพอดระยะนอเพเลียส, ตัวเต็มวัยและรวมทุกระยะได้ เท่ากับ 1,007, 508 และ 952 ตัว/ล./วัน ตามลำดับ

ส่วนผลการเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม 2 ชนิด ได้แก่ *T.suecica* และ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยมีความหนาแน่นเริ่มต้นของโคพีพอดระยะนอเพเลียสและระยะตัวเต็มวัยเริ่มต้นเท่ากับ $1,074 \pm 370$ และ 741 ± 332 ตัว/ล. พบว่านอเพเลียสและโคพีพอดรวมทุกระยะมีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ

10,679±1,657 และ 12,037±819 ตัว/ล. ตามลำดับ ในวันที่ 13 ของการทดลอง ในขณะที่ตัวเต็มวัยมีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5,185±872 ตัว/ล. ในวันที่ 16 ของการเลี้ยง (Figure 1C) เมื่อทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตโคพีพอด 2 ครั้ง พบว่าผลผลิตเฉลี่ยของนอเพลียส, ตัวเต็มวัยและโคพีพอดรวมทุกระยะเท่ากับ 894, 314 และ 1,208 ตัว/ล./วัน ตามลำดับ

ถึงแม้ว่าความหนาแน่นโคพีพอดจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วง 10 วันแรกที่ไม่มีการเก็บเกี่ยวผลผลิต

โคพีพอดออก แต่เมื่อทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตโคพีพอดออก 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการเลี้ยง ในวันที่ 10 และ 13 ซึ่งผลการทดลองได้ชี้ให้เห็นว่าหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตโคพีพอดออกในแต่ละครั้งสามารถส่งเสริมให้โคพีพอดเติบโตได้ดีขึ้นโดยมีความหนาแน่นสูงกว่าในช่วง 10 วันแรกของการทดลอง โดยเฉพาะในชุดที่ให้สาหร่าย *T. suecica* และชุดที่ให้สาหร่ายผสมเป็นอาหาร

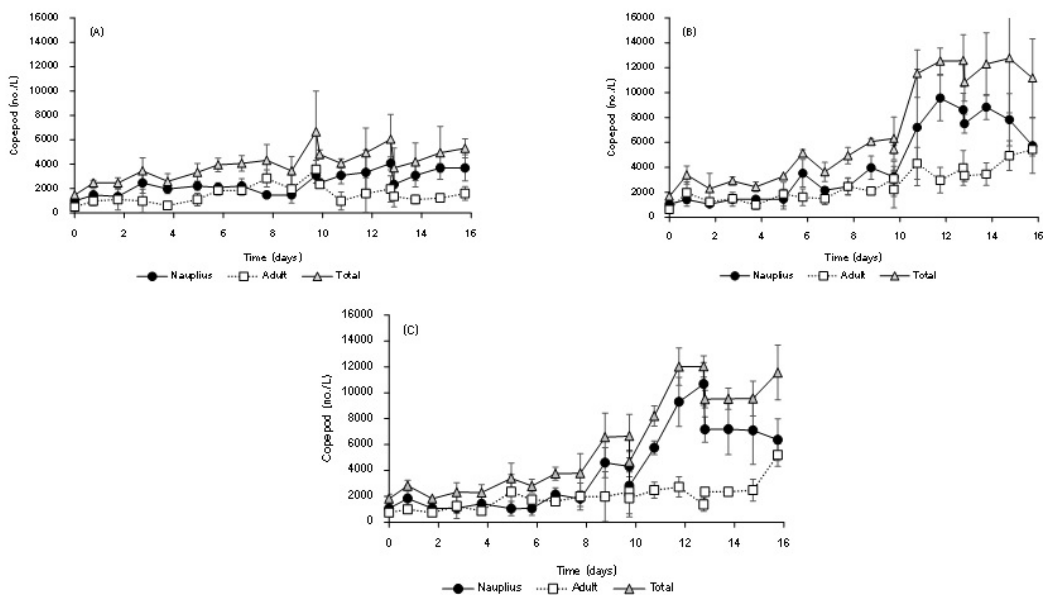


Figure 1 Growth of copepod *A. royi* fed with *Thalassiosira* sp. (A), *T. suecica* (B) and mixed culture of *Thalassiosira* sp. and *T. suecica* (C) in semi-continuous culture system. Semi-continuous harvesting were performed in day 10 and 13 in which thirty percentage of copepod culture was harvested and replaced with fresh microalgae culture.

การเติบโตของโคพีพอด *A. royi* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* ผสมกับ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

เมื่อเริ่มต้นการทดลองมีระยะนอเพลียสและตัวเต็มวัยเริ่มต้นเท่ากับ 4,568±271 และ 4,321±329 ตัว/ล. ตามลำดับ โดยใช้สาหร่าย *T. suecica* ผสมกับ *Thalassiosira* sp. และในวันที่ 5 ของการทดลองได้เริ่มระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง มีความหนาแน่นของโคพีพอดระยะนอเพลียสและตัวเต็มวัยเฉลี่ยเท่ากับ 7,407±2,289 และ 3,210±239 ตัวต่อลิตร

ตามลำดับ ทำการเลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจือจางเฉลี่ยเท่ากับ 0.26±0.03 ต่อวัน ผลการทดลองพบว่าในระหว่างวันที่ 5-35 พบว่ามีโคพีพอดระยะนอเพลียส ตัวเต็มวัยและรวมทุกระยะเฉลี่ย 9,008±3,701 3,083±1,256 และ 12,091±4,304 ตัว/ล. ตามลำดับ (Figure 2) เมื่อคำนวณผลผลิตตลอดการทดลองพบว่าผลผลิตโคพีพอดระยะนอเพลียส โคพีพอดระยะตัวเต็ม และโคพีพอดทุกระยะเท่ากับ 2,376, 813 และ 3,189 ตัว/ล./วัน ตามลำดับ

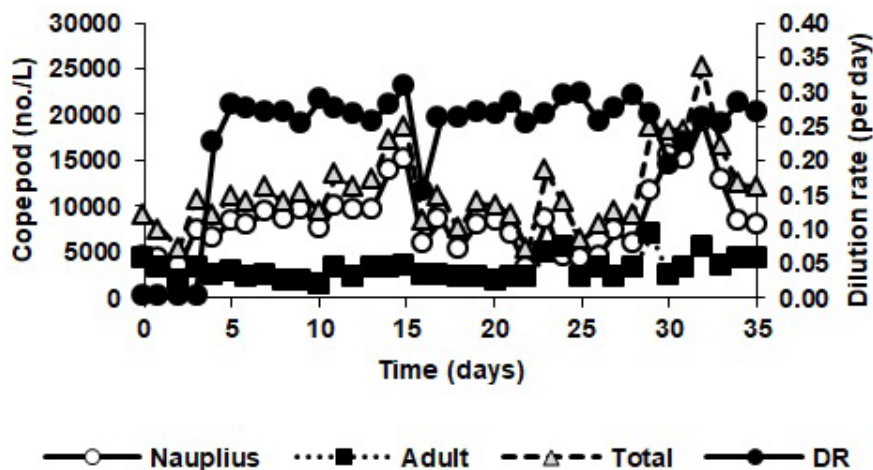


Figure 2 Growth of *A. royi* fed with mixed culture of *Thalassiosira* sp. and *T. suecica*. Continuous mode of cultivation with 0.26 per day dilution rate (DR) was operated after day 5 of the experiment.

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเติบโตของโคพีพอด *A. royi* แบบกึ่งต่อเนื่อง โดยใช้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวและผสม 2 ชนิด พบว่าโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยไดอะตอม *Thalassiosira* sp. เพียงชนิดเดียวให้ความหนาแน่นของโคพีพอดต่ำที่สุด เนื่องจากระหว่างเลี้ยงพบตะกอนสาหร่ายเกาะอยู่บริเวณผนังขวดเลี้ยง ทำให้เซลล์มีลักษณะเป็นกลุ่ม ไม่เหมาะสมต่อการกินของโคพีพอดและนอกจากนั้น Ianora et al. (1996) รายงานว่า *Thalassiosira rotula* มีผลต่อการพัฒนาของไข่โคพีพอด ซึ่งอาจมีผลจากคุณค่าทางอาหารไม่เพียงพอ หรืออาจเป็นได้จากระหว่างการเติบโตของ *Thalassiosira rotula* มีการสร้างสารที่เป็นตัวยับยั้งการพัฒนาของไข่จึงส่งผลให้ส่งผลให้โคพีพอดได้ผลผลิตน้อยกว่า แต่จากการศึกษาของ Arendt et al. (2005) ซึ่งใช้ *Thalassiosira weissflogii* เป็นอาหารแก่โคพีพอด *Temora longicornis* กลับให้ผลการศึกษาดูกันโดยพบว่าทำให้โคพีพอดเติบโตได้ดีมีผลผลิตไข่สูง เนื่องจาก *T. weissflogii* มี PUFAs สูง ทั้งนี้ทั้งนั้นอาจจะเป็นไปได้ว่าสาหร่ายชนิดเดียวกันอาจใช้เป็นอาหารโคพีพอดแต่ละชนิดได้ผลผลิตที่แตกต่างกัน

โคพีพอดที่เลี้ยงด้วย *T. suecica* เพียงชนิดเดียว และสาหร่ายผสม *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* มีความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอดระยะนอพลีซิสและตัวเต็มวัยใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการใช้สาหร่าย *T. suecica* เพียงชนิดเดียวเลี้ยงโคพีพอด *A. royi* สามารถให้การเติบโตที่ดีได้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Knuckey et al. (2005) พบว่าหากเลี้ยงโคพีพอด *Acartia tonsa* ด้วยสาหร่าย *Tetraselmis* จะทำให้โคพีพอดในระยะนอพลีซิสมีการพัฒนาที่เร็วกว่าการเลี้ยงด้วย *Rhodomonas* sp. และการศึกษาของ Rajkumar and Rahmam (2016) ซึ่งรายงานว่าการเลี้ยงโคพีพอด *Acartia erythraea* และ *Oithona brevicornis* ด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* และสาหร่ายผสม 4 ชนิด (*I. galbana*, *Chaetoceros affinis*, *Chlorella marina* และ *Nannochloropsis oculata*) ให้ความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอดไม่แตกต่างกัน เช่นกัน โดยมีความหนาแน่นของนอพลีซิสสูงสุดเท่ากับ 4,583 ตัว/ล. ในขณะที่โคพีพอดระยะโคพีโพไต์และตัวเต็มวัยมีความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับ 2,097 และ 1,429 ตัว/ล. ตามลำดับ ถึงแม้ว่าการให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวสามารถให้การเติบโตที่ดีแก่โคพีพอดได้ แต่การให้สาหร่ายมากกว่าหนึ่งชนิด

เพื่อเป็นอาหารแกโคพีพอด จะทำให้โคพีพอดได้รับคุณค่าทางโภชนาการที่หลากหลายมากขึ้น โดยเฉพาะกรดไขมันและสารสีคารอทีนอยด์ ซึ่งจากรายงานของ Pan et al. (2017) พบว่าโคพีพอด *A. royi* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *I. galbana* และ *Nannochloropsis oculata* ให้การเติบโตและความดกไข่ของโคพีพอดสูงที่สุด และโคพีพอดที่เลี้ยง *I. galbana* เพียงชนิดเดียว และ *I. galbana* ผสมกับ *N. oculata* ให้ปริมาณ DHA สูง ซึ่ง DHA มีผลโดยตรงต่อความดกไข่ของโคพีพอด *A. royi* โดยมีผลไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาของ Ohs et al. (2010) ที่พบว่าโคพีพอด *Pseudodiaptomus pelagicus* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสม *I. galbana* และ *T. weissflogii* ให้ผลผลิตโคพีพอดสูงกว่าการใช้สาหร่ายเพียงชนิดเดียวเป็นอาหาร และการศึกษาของ Camus et al. (2009) ที่เลี้ยงโคพีพอด *Bestiolina similis* ด้วยสาหร่ายผสม 3 ชนิด *Isochrysis* sp., *Tetraselmis chuii* และ *Pavlova* sp. ก็พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการผลิตไข่และอัตราการฟักสูงถึง 91 เปอร์เซ็นต์ ใน 48 ชั่วโมง จากผลการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการใช้สาหร่ายมากกว่าหนึ่งชนิดเพื่อเป็นอาหารโคพีพอดจะช่วยให้ได้ผลผลิตโคพีพอดที่สูงกว่า และโคพีพอดได้สารอาหารที่ครบถ้วน และเพื่อให้โคพีพอดได้สารอาหารครบถ้วนจึงได้นำสาหร่าย *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* มาใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงโคพีพอดด้วยระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยอัตราการเจือจางเฉลี่ย 0.26 ต่อวัน นาน 30 วัน (ระหว่างวันที่ 5-35) พบว่าระบบนี้สามารถได้ความหนาแน่นเฉลี่ยของโคพีพอดระยะนอเพเลียส, ตัวเต็มวัยและทุกระยะรวมกันเท่ากับ $9,008 \pm 3,701$ $3,083 \pm 1,256$ และ $12,091 \pm 4,304$ ตัว/ล. ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการศึกษาของ นฤมล (2550) ที่ทำการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังขนาด 5 ล. ด้วยสาหร่าย *Isochrysis* sp. และเลี้ยงเป็นเวลา 79 วัน ด้วยอัตราการเจือจาง 0.2 ต่อวัน พบว่า ความหนาแน่นเฉลี่ยของโคพีพอดทุกระยะรวมกันในระบบเลี้ยงเท่ากับ $10,873 \pm 4,388$ ตัว/ล. สำหรับโคพีพอดที่เก็บเกี่ยวได้จากระบบการผลิตส่วนใหญ่เป็นระยะนอเพเลียส โดยมีผลผลิตเท่ากับ 1,856 ตัว/ล./วัน และเมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตของโคพีพอดที่เลี้ยงแบบต่อเนื่องด้วยสาหร่ายผสมระหว่าง *Thalassiosira* sp. และ *T. suecica* ที่ให้ผลผลิต

ของระยะนอเพเลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 2,376 และ 813 ตัว/ล./วัน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าผลผลิตของโคพีพอดที่ได้จากการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องด้วยสาหร่ายแบบชนิดเดียว ซึ่งมีผลผลิตนอเพเลียสและตัวเต็มวัยเท่ากับ 894 และ 314 ตัว/ล./วัน ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงแบบต่อเนื่องโดยใช้สาหร่าย 2 ชนิด ให้ผลผลิตของโคพีพอดสูงกว่าการใช้สาหร่ายเพียงชนิดเดียว และเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่มีการให้อาหารตลอดเวลาทำให้โคพีพอดมีอาหารที่เพียงพอ จึงสามารถเติบโตได้ดีกว่าการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องและสามารถเลี้ยงได้เป็นระยะเวลานาน (Novoveska et al. 2016)

สรุป

จากการศึกษาการเติบโตของโคพีพอด *A. royi* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. suecica* และ *Thalassiosira* sp. เพียงชนิดเดียวและ *T. suecica* ผสมกับ *Thalassiosira* sp. ในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าให้ความหนาแน่นโคพีพอดรวม ทุกระยะเท่ากับ 12,765, 6,667 และ 10,679 ตัว/ล. และเมื่อทำการเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน ด้วยสาหร่ายสองชนิดที่ใช้ระบบผลิตสาหร่ายแยกแต่ละชนิดนำมาเติมรวมกันลงในขวดเลี้ยงโคพีพอดอย่างต่อเนื่อง พบว่าได้ความหนาแน่นของโคพีพอดรวมทุกระยะเฉลี่ยเท่ากับ $12,091 \pm 4,304$ ตัว/ล. และมีผลผลิตโคพีพอดรวม 3,189 ตัว/ล./วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงแบบต่อเนื่องให้ผลผลิตและความหนาแน่นของโคพีพอดที่สูง และสามารถใช้งานได้สะดวกมีความเป็นไปได้ในอนาคตในการนำระบบผลิตโคพีพอดแบบต่อเนื่องมาใช้เป็นระบบให้อาหารแบบอัตโนมัติ เพื่อลดการใช้แรงงานและทำให้มีอาหารที่เพียงพอตลอดระยะเวลาการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพาผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 217/2561

เอกสารอ้างอิง

- นฤมล ไบพัต. 2550. การผลิตโคพีพอดด้วยระบบการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Arendt, K. E., S. H. Jonasdottir, and P. J. Hansen. 2005. Effects of dietary fatty acids on the reproductive success of the calanoid copepod *Temora longicornis*. *Marine Biology*. 146:513-530.
- Bailey, J. E. and D. F. Oillis. 1986. *Biochemical Engineering Fundamental*. 2^{ed}. McGraw-Hill. Singapore.
- Camus, T., C. Zeng, and A. D. McKinnon. 2009. Egg production, egg hatching success and population increase of tropical paracalanoid copepod, *Bestiolina similis* (Calanoida: Paracalanidae) fed different microalgal diets. *Aquaculture*. 297: 169-175.
- Dahm, HU. 2000. Phylogenetic implications of the Crustacean Nauplius. *Advance in copepod taxonomy*. *Hydrobiologia*. 417: 91-99.
- Guillard, R. R. L. 1973. Method for Microflagellates and Nanoplankton. In Stein, J. R. (ed). *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. New York: Cambridge University.
- Ianora, A., S.A. Poulet, A. Mariralto, and R. Grotoli. 1996. The diatom *Thalassiosira rotula* affects reproductive success in the copepod *Acartia clausi*. *Marine Biology*. 125: 279-286.
- Knuckey, R. M., G. L. Semmens, R. J. Mayer, and M. A. Rimmer. 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. *Aquaculture*. 249: 339-351.
- McKinnon, A. D., S. Duggan, P. D. Nichols, M. A. Rimmer, G. Semmen, and B. Robino. 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. *Aquaculture*. 223: 89-106.
- Milione, M., C. and C. Zeng. Tropical Crustacean Aquaculture Research Group. 2007. The effects of algal diets on population growth and egg hatching success of the tropical calanoid copepod, *Acartia sinjiensis*. *Aquaculture*. 273: 656-664.
- Novoveska, L., D. T. Franks, T. A. Wulfer, and W. J. Henley. 2016. Stabilizing continuous mixed cultures of microalgae. *Algal Research*. 13: 126-133.
- Ohs, C. L., K. L. Chang, S. W. Grabe, M. A. DiMaggio, and E. Stenn. 2010. Evaluation of dietary microalgae for culture of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*. *Aquaculture*. 307: 225-232.
- Olivotto, I., N. E. Togle, V. Nozzi, L. Cossignani, and O. Carnevali. 2010. Preserved copepods as a new technology for the marine ornamental fish aquaculture: A feeding study. *Aquaculture*. 308:124-131.

- Pan, Y. J., I. Sadvskaya, J. S. Hwang, and S. Souissi. 2017. Assessment of the fecundity, population growth and fatty acid composition of *Apocyclops royi* (Cyclopoida, Copepod) fed on different microalgal diets. *Aquaculture Nutrition*. 2017; 1-9.
- Rajkumar, M. and M. M. Rahman. 2016. Culture of calanoid copepod, *Acartia erythraea* and Cyclopoid copepod, *Oithona brevicornis* with various microalgal diets. *Sains Malaysiana*. 45(4):615-620.