

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา

จ.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานการวิจัย

การศึกษาแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์บริเวณ
จากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก

A Study on the Cultures of Phytoplankton and Zooplankton from the
Eastern Coast of Thailand

โดย

ขวัญเรือน ปิ่นแก้ว

Khwanruan Pinkaew

อมรรัตน์ ชมรุ่ง

Amornrat Chomrung

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
หมวดเงินอุดหนุนประจำปีงบประมาณ 2536 และ 2539

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล

มหาวิทยาลัยบูรพา

การศึกษาแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์บริสุทธิ์จากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเฉียงของไทย

โดย
ขวัญเรือน ปิ่นแก้ว*
อมรรัตน์ ชมรุ่ง*

บทคัดย่อ

จากการรวบรวมตัวอย่างจากบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเฉียงของไทย จากจังหวัดสมุทรปราการ, ชลบุรี, ระยอง, จันทบุรี, และจังหวัดตราด รวม 12 สถานี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2536 ถึงเดือนกันยายน 2537 และเดือนมกราคม 2539 ถึงเดือนพฤษภาคม 2539 พบแพลงก์ตอนพืช 24 ชนิด แพลงก์ตอนสัตว์ 9 ชนิด สามารถแยกชนิดแพลงก์ตอนพืชให้บริสุทธิ์ในอาหารเหลวและอาหารแข็งและเพิ่มปริมาณแบบหมวลได้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิดคือ BG 1 และ BG 2 ไดอะตอม 6 ชนิดคือ *Navicula* sp., *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., *Melosira* sp., *Lithodesmium* sp., และ *Biddulphia* sp. และแพลงก์ตอนสัตว์สามารถแยกชนิดของโคพีพอดให้บริสุทธิ์ได้ 1 ชนิดคือ *Apocyclops* sp.

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเลี้ยงด้วยอาหารสูตร BG-11 และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน โดยมีความหนาแน่น 29.50×10^3 เซลล์ ไดอะตอมเลี้ยงด้วยอาหารสูตร Guillard ที่ pH 7.5 โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน ที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและไดอะตอมเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส โคพีพอดเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ให้ *Isochrysis galbana* เป็นอาหารโดยเริ่มจากไข่จนถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาที่เลี้ยง 9-13 วัน จะได้ *Apocyclops* sp. จำนวน 289 ตัวต่อ มิลลิลิตร เพศเมียตกไข่ประมาณ 13-28 ตัวต่อการปล่อยไข่ 1 ครั้ง และมีการพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะนอพลีซิส 6 ระยะ โคพีไปติด 6 ระยะ ตัวเต็มวัย *Apocyclops* sp. มีอายุขัยประมาณ 18-28 วัน

* สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ. เมือง จ.ชลบุรี 20131

A Study on the Cultures of Phytoplankton and Zooplankton from the Eastern Coast of Thailand

BY

Khwanruan Pinkaew

Amornrat Chomrung

Abstract

Seawater sampling from 12 stations in the eastern coast of Thailand from October 1993 to September 1994 and January to May 1996 in Samutprakran, Chachengsao, Chonburi, Rayong, Chantaburi, and Trad province were examined for interesting phyto- and zooplanktons. Twenty-four species of phytoplankton and nine species of zooplankton were found. Two species of blue green algae and 6 species of diatoms were isolated both in liquid and solid media and were cultured in mass production. They were BG1, BG 2, *Navicula* sp., *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., *Melosira* sp., *Lithodesmium* sp., *Biddulphia* sp. and 1 species of zooplankton; *Apocyclops* sp. is also isolated.

The blue green algae were cultivated in BG-11 medium and gave the highest growth at 29.50×10^3 cells at d 12, salinity 30 ppt. Diatoms were suitably cultivated in Guillard medium at pH 7.5. Blue green algae, diatoms and the copepod were cultured continually in the laboratory until present for over 3 years in 30 ppt seawater at 20-24 °C and 28 °C, respectively. The copepod was fed with *Isochrysis galbana*. The number of *Apocyclops* sp. reached 28.90×10^4 l⁻¹ and developed from eggs to adults within 9-13 days. One brood gave rise to 13 – 28 nauplii developing into six nauplius stages, and six copepodid stages. The life span of adult *Apocyclops* sp. is usually ranging from 18 to 28 days.

* Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi Province 20131, Thailand

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(ก)
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญภาพ	(ค)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
การสำรวจเอกสาร	3
วิธีดำเนินการวิจัย	9
ผลการทดลอง	15
สรุปและวิจารณ์ผล	32
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	37

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แพลงก์ตอนพืช ที่รวบรวมได้จากชายฝั่งทะเลอ่าวไทยทั้งสิ้น 12 สถานี	17
2	แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ที่รวบรวมได้จากชายฝั่งทะเลอ่าวไทย ทั้งสิ้น 12 สถานี	18
3	สูตรอาหารของกิลลาร์ด (Guillard medium) หรือ " f/2 "	34
4	สูตรอาหารของซาโตะ (.Sato medium)	35
5	สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	35
6	สูตรอาหารแข็งโปรทีโอส อาการ์ (proteose agar)	36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงถึงขบวนการผลิตแบบหมวมวลและผลผลิตที่ได้รับ	4
2	แสดงสถานีเก็บตัวอย่างของจังหวัดสมุทรปราการ, ฉะเชิงเทรา, ชลบุรี, ระยอง, จันทบุรี, และจังหวัดตราด ทั้งสิ้น 12 สถานี	10
3	การเก็บรักษาตัวอย่างของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินก่อนแยกเชื้อบริสุทธิ์	19
4	แสดงการแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 1 ให้บริสุทธิ์ในอาหารร่วน	20
5	การเก็บสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 1 ไว้เป็นหัวเชื้อ	20
6	สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 1	21
7	สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 2	21
8	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 ในปริมาตร 150 มิลลิลิตร	22
9	การเพาะขยายสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 ในปริมาตร 2 ลิตร	22
10	การเพาะขยายสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 ในปริมาตร 20 ลิตร	23
11	การเพาะขยายสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 แบบหมวมวลในถัง 500 ลิตร	23
12	การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 1 ที่ความเค็ม 5 ระดับ	24
13	แสดงชนิดของไดอะตอม <i>Navicula</i> sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์	25
14	แสดงชนิดของไดอะตอม <i>Skeletonema</i> sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์	25
15	แสดงชนิดของไดอะตอม <i>Thalassiosira</i> sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์	26
16	แสดงชนิดของไดอะตอม <i>Melosira</i> sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์	26
17	แสดงชนิดของไดอะตอม <i>Lithodesmium</i> sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์	27
18	แสดงชนิดของไดอะตอม <i>Biddulphia</i> sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์	27
19	แสดงภาพโคพีพอด <i>Apocyclops</i> sp. เพศผู้ของตัวเต็มวัย	28
20	แสดงภาพโคพีพอด <i>Apocyclops</i> sp. เพศเมียของตัวเต็มวัย	28
21	แสดงภาพพวงไข่ (egg sac) ของโคพีพอด <i>Apocyclops</i> sp.	29
22	แสดงภาพด้านท้องของโคพีพอด <i>Apocyclops</i> sp. ในระยะนอเพเลียส	30
23	แสดงภาพด้านหลังของโคพีพอด <i>Apocyclops</i> sp. ในระยะโคพีโปดิด	31

คำนำ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวเป็นโคโลนี (colony) หรือเป็นชนิดที่เป็นห่วงโซ่(chain) ดำรงชีพแบบล่องลอย(planktonia algae) ได้ถูกนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนโดยเริ่มมีการนำแพลงก์ตอนพืชเพื่ออนุบาลสัตว์น้ำได้เริ่มกันอย่างจริงจังมากกว่า 59 ปีแล้ว โดยมีชาวญี่ปุ่นชื่อ มัตซึเอะสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ไดอะตอมชนิดหนึ่งคือ สเกเลโตนีมา คอสตาตัม(*Skeletonema costatum*) สำหรับอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนได้สำเร็จในปีพ.ศ. 2484 ตั้งแต่นั้นมาได้มีการพัฒนาและนำไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงลูกสัตว์น้ำเช่นลูกปลาบู่ และหอย เป็นต้น(ลัดดา, 2527)

ในปัจจุบันยังคงใช้แพลงก์ตอนพืช เป็นอาหารสัตว์น้ำโดยนำมาเพาะเลี้ยงเป็นอาหารอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชพวก *Skeletonema sp.*, *Chaetoceros calcitrans* สำหรับอนุบาลลูกกุ้งในระยะโปรโตโซเอีย และเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ (โรติเฟอร์ ไรแดง อาร์ทีเมีย) สำหรับอนุบาลลูกปลา ลูกกุ้ง ช่วงที่เปลี่ยนจากระยะโปรโตโซเอียไปเป็นไมซีต (ลัดดา, 2542) อาหารของลูกกุ้ง ได้แก่ไดอะตอม *Chaetoceros calcitrans* และ *S. costatum* แต่จะต้องเป็นอาหารที่มาจาก การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์(pure culture) เป็นการเลี้ยงสาหร่ายชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้นโดยไม่มีสิ่งมีชีวิตอื่นปนอยู่เลยเพื่อป้องกันการปนเปื้อนแบคทีเรียจากสาหร่าย มีการปฏิบัติการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการที่สะอาดภายในตู้เขี่ยเชื้อโดยเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวมีการถ่ายเชื้อทุก 3-4 เดือน แพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ได้แก่ เตตราเซลลิส (*Tetrasellmis chuii*) ,ไอโซโครซิส (*I. galbana*) และคลอเรลลา (*Chlorella sp.*) แพลงก์ตอนสัตว์ที่บริโภคสาหร่ายเหล่านี้ได้แก่ โรติเฟอร์, อาร์ทีเมีย, และโคพีพอด แต่ถ้าหากจะนำสาหร่ายดังกล่าวนี้ไปเป็นอาหารสัตว์จะต้องมีการขยายปริมาณมากบริเวณกลางแจ้ง(outdoor method)แต่ค่อนข้างจะควบคุมคุณภาพการผลิตค่อนข้างยากจากการปนเปื้อนจากฝุ่นละออง, แมลง, และเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น ซึ่งได้มีการนำไดอะตอมเช่น *Nitzschia spp.* และ *Navicula spp.* ไปเลี้ยงลูกหอยแมลงภู่และลูกหอยเป่าชื่อ(ธานีรินทร์, 2532)

จากการศึกษาเกี่ยวกับแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ในแง่ของชีววิทยาได้แก่วงจรชีวิต(life cycle) การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ รวมถึงการดำรงชีวิตเพื่อให้อยู่ได้หลายชั่วชีวิต (generation) ในห้องปฏิบัติการ เป็นการศึกษาเพื่อนำมาเป็นพื้นฐานในการพิจารณาความเหมาะสมการนำไปใช้ประโยชน์ในแง่อาหารที่มีคุณภาพของลูกสัตว์น้ำต่อไป

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ มีดังต่อไปนี้

1. เพื่อรวบรวมแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์บริสุทธิ์จากทะเล โดยวิธีการเลี้ยงแบบแยกเชื้อบริสุทธิ์
2. เพื่อศึกษาความเหมาะสมในการเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ที่แยกมาได้ในปริมาณมาก
3. เพื่อหาความเหมาะสมที่จะทำแพลงก์ตอนที่เลี้ยงได้มาอนุบาลสัตว์น้ำเค็มวัยอ่อน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

หากการวิจัยนี้บรรลุผลตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ จะทำให้สถานภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจหลายชนิดเช่น กุ้ง หอย และปลาดีขึ้นเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เพราะการเลี้ยงในปัจจุบัน ปัญหาหลักอยู่ที่การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนแรกเกิด (newly hatched larvae) จนกระทั่งเป็นวัยรุ่น (post larvae หรือ juvenile) หรือประมาณอายุ 20 วัน – 2 เดือน ซึ่งมีความยากลำบากเป็นอย่างมากที่สำคัญก็คืออาหารมีชีวิต หากสามารถผลิตอาหารมีชีวิตที่มีคุณภาพเหมาะสม ทำให้โตเร็ว ต้านทานโรคมีอัตราการรอดตายสูง ก็จะช่วยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำก้าวหน้าไปได้เร็ว ต้นทุนการผลิตต่ำ กำไรสูง นอกจากนี้แล้วยังจะเป็นการลดปริมาณยาปฏิชีวนะและสารเคมีในตัวสัตว์อีกด้วย ซึ่งนับว่าจะเป็นผลดีต่อผู้บริโภค

การสำรวจเอกสาร

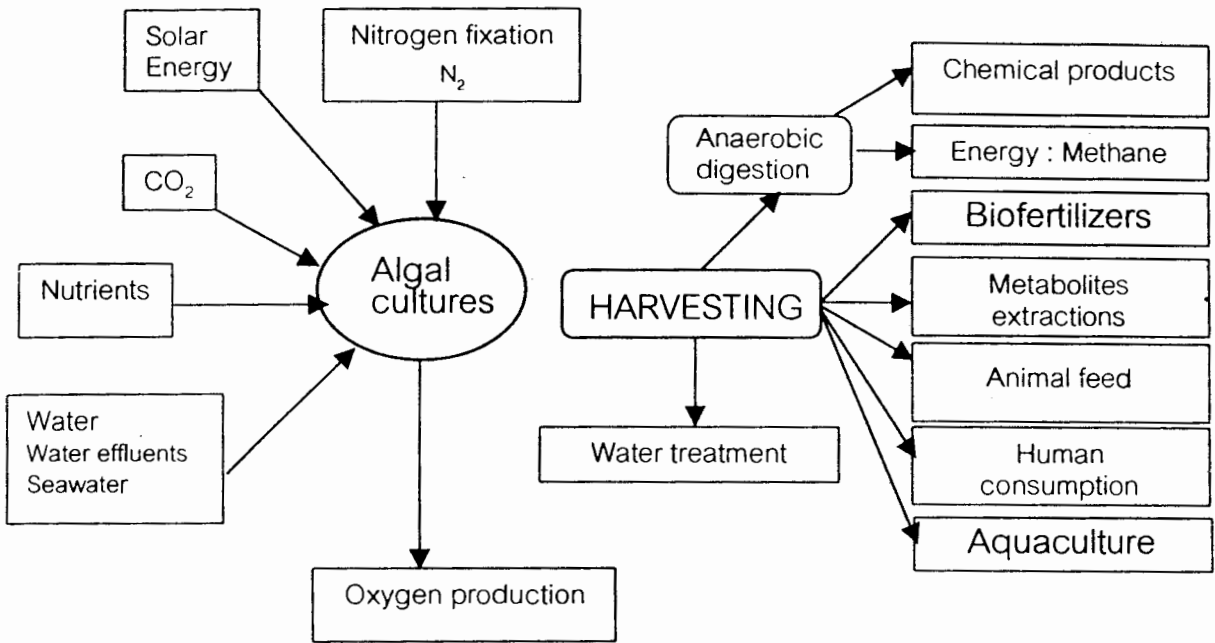
1. แพลงก์ตอนพืช

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) อยู่ในดิวิชัน Cyanophyta ชื่อ Cyanophyta มีความหมายเช่นเดียวกับ Myxophyta แต่ปัจจุบันนิยมคำว่า Cyanophyta มากกว่า นักพฤกษศาสตร์บางท่าน เช่น Robbins จัดให้สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวอยู่ใน Class Schizophycase ดิวิชัน Schizomycophyta ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกับแบคทีเรีย ทั้งนี้เพราะสาหร่ายชนิดนี้มีโครงสร้างของนิวเคลียสคล้ายคลึงกับนิวเคลียสของแบคทีเรีย บางชนิดก็มีคุณสมบัติที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้เช่นเดียวกับแบคทีเรียในกลุ่มของวงจรไนโตรเจน ดังนั้นมีผู้เชี่ยวชาญทางด้านแบคทีเรียจึงจัดให้สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง เรียกว่า Blue-green bacteria แต่ในทางพฤกษศาสตร์ก็ยังคงจัดว่าสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวเป็นสาหร่ายชนิดหนึ่ง ทางด้านวิชาสาหร่ายก็จัดให้อยู่ในดิวิชัน Cyanophyta

ลักษณะของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว

1. เซลล์ของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวเป็นแบบ procaryotic คือนิวเคลียสไม่มีผนังหุ้มและนิวเคลียสไม่ได้แบ่งตัวแบบ mitosis นอกจากนี้ photosynthetic pigments ไม่ได้อยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อนใน chromatophere แต่จะจัดกระจายอยู่ใน cytoplasm
2. สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวทุกชนิดไม่มีหนวด (flagella)
3. ชนิดที่เคลื่อนไหวได้ การเคลื่อนไหวจะเป็นแบบหมุนรอบแกน (gliding)
4. Photosynthetic pigments ประกอบด้วย chlorophyll, B-carotene และ biliprotein สองชนิดที่สำคัญคือ c-phycoyanin และ c-phyocrythrin
5. อาหารสะสมเป็นประเภทโปรตีนคือ cyanophycin



ภาพที่ 1 แสดงถึงขบวนการผลิตแบบหมวมวลและผลผลิตที่ได้รับ (Vonshak และคณะ, 1983)

ไขมัน (lipids) และกรดไขมัน (fatty acids)

เซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดประกอบไปด้วยไขมันและกรดไขมัน นอกจากเป็นองค์ประกอบของเซลล์เมมเบรนแล้ว ไขมันยังสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยเป็นสารที่ถูกสะสมไว้ใช้เป็นพลังงานยามขาดแคลน และให้พลังงานสูงกว่าน้ำตาลในหนึ่งหน่วยน้ำหนักเดียวกัน ไขมันเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียและพืชชั้นสูง เป็นส่วนประกอบของ Cushion tissue และ organs เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์ผิวหนังและเซลล์ของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง และเป็นสารต้นตอ (Precursor) ในการสร้างวิตามิน เอ ดี อี รวมทั้งฮอร์โมนบางชนิด เช่น สเตอรอยด์

ไขมันประกอบด้วยกรดไขมันที่จับอยู่กับกลีเซอรอล น้ำตาล หรือเบส (esterified) แต่อาจพบไขมันในรูปอื่น เป็นว่าไฮโดรคาร์บอน ชี้นี้ sterols และ sterol esters คลอโรฟิลล์ และแคโรทีน ไขมันในสาหร่ายมีทั้ง polar และ non polar เป็นพวกไตรกลีเซอไรด์ แต่อาจพบกรดไขมันอิสระ wax esters ไฮโดรคาร์บอน และ sterols ในส่วนของไขมันที่เป็นโพลาร์ มี phospholipids และ glycolipids ในปัจจุบันพบ polar lipids ชนิดใหม่ ๆ ในสาหร่ายพวก Chrysophyceae, Xanthophyceae, Chlorophyceae และ Cyanobacteria ตัวอย่างของ polar lipids ใหม่ที่พบมี Chlorosulfolipids และ diacyl glycerol (N, N, N-trimethyl) homoserine [1]

ไดอะตอม

ไดอะตอมจัดอยู่ใน Class Bacillariophyceae ส่วนใหญ่จะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวมีการแพร่กระจายของไดอะตอมจะพบทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำกร่อย ลักษณะของไดอะตอมจะมีทั้งแบบล่องลอย(planktonic)และเกาะติดกับแหล่งที่อยู่ของไดอะตอม(benthic) เช่นก้อนหิน ไดอะตอมทั้งสองลักษณะนี้จะพบประมาณ 200 สกุล(Round. F.E,1974)

กาญจนภาชน์ ลีวมโนมนต์ (2527) กล่าวว่าสาหร่ายจำพวกไดอะตอมนี้นับว่าเป็นพวกเซลล์เดี่ยวซึ่งบางครั้งอาจรวมเป็นกลุ่มเซลล์หรือเป็นเส้นสาย มีการแพร่กระจายกว้างขวางมากจัดว่ามีความสำคัญมากในแหล่งน้ำเพราะเป็นผู้ผลิตขั้นปฐมภูมิ(primary producer) เซลล์ของไดอะตอมประกอบด้วยเปลือกซึ่งมี ซิลิกาเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยเรียก ฟรุสตุล(frustule) ฟรุสตุล ประกอบด้วยฝา 2 ฝา ครอบกันอยู่สนิทแน่นแต่ฝาเรียก วาล์ฟ(valve) บนฝาสวนที่เป็นวาล์ฟของไดอะตอมบางชนิดมีร่องพาดอยู่เรียก ราฟี (raphe) โดยจะมีปุ่มที่บั้นอยู่ตรงกลางและปลายทั้งสองข้างระหว่างร่องนี้ ไดอะตอมพวกที่มีราฟีจะสามารถเคลื่อนที่ได้โดยวิธีร่อน(gliding) ไปตามพื้นผิวพวกนี้มักอาศัยอยู่ตามพื้น

ไดอะตอมส่วนใหญ่มีสีน้ำตาลซึ่งเกิดจากรงควัตถุชื่อไดอะโตมิน (diatomin) ที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ สำหรับไดอะตอมที่อยู่ในน้ำมักมีสีน้ำตาลแกมเหลือง ส่วนพวกที่เกาะติดกับพื้นดิน (benthic diatom) มักมีสีน้ำตาลเข้มรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงได้แก่ คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll a, c) ,คาโรทีน(carotene β, Σ), ไดอะโตแซนทิน (diatozanthin) ,ไดอะดิโนแซนทิน (diadinoxanthin), แซนโทฟิล (xanthophyll) อาหารสะสมเป็นพวกหยดน้ำมันและกรดไขมัน (สมถวิล จริตควร,2540)

ลัดดา วงศ์รัตน์ (2524) รายงานว่าชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอนเป็น indicate ของคุณภาพน้ำ เช่นแพลงก์ตอนที่พบพวกไดอะตอมสกุล *Thalassiosira* sp., *Coscinodiscus* sp. เป็นเครื่องชี้ให้ทราบว่าแหล่งน้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์แต่ไดอะตอมสกุล *Rhizosolenia* sp., *Planktonella* sp. แสดงว่าแหล่งน้ำนั้นมีธาตุอาหารต่ำและถ้าแหล่งน้ำใดมีจำนวนชนิดของแพลงก์ตอนน้อยแต่ละชนิดมีปริมาณสูงก็แสดงว่าแหล่งน้ำมีคุณภาพเลวลงหรือน้ำเน่าเสีย

สมภพ อินทสุวรรณ(2524) รายงานการสำรวจสาหร่ายทะเลในทะเลสาบสงขลา(ตอนนอก) พบไดอะตอมหลายชนิดได้แก่ *Navicula*, *Nitzschia* และ *Melosira* ซึ่งพบได้ในน้ำที่มีความเค็มตั้งแต่ 25-33 ส่วนในพันส่วน และกล่าวว่าลักษณะของเซลล์ *Navicula* มีหลายแบบเช่น ยาวเรียวยาวแบบเรือยาวป้อมรูปสิริการ์หรือรูปไข่ ปลายเซลล์เรียวยาวบนผนังมีร่องแบบครึ่งเซลล์จะสังเกตเห็นจุดกลมใสตรงกลางและปลายเซลล์ทั้งสองข้างเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีด้านยาวมากกว่าด้าน

กว้าง เซลล์มีสีน้ำตาลทองเคลื่อนที่ได้คล่องแคล่วอาจอยู่เดี่ยวๆ หรือรวมกันเป็นท่อนเกาะกับวัตถุในน้ำหรือเป็นแผ่นบางส่วนมากเกาะกับวัตถุเช่น ก้อนหิน ลักษณะเป็นเมือกสีน้ำตาลอมเหลืองพบได้ทั่วไป

ได้มีการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Navicula* sp. โดยสมทบ ปานดวงแก้ว(2527) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวพบว่า *Navicula* sp. ในสูตรอาหาร Walne ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพัน ระดับความเป็นกรด - ด่าง 8.0 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่สูตรรองลงมาคือ สูตรอาหารของ Guillard ที่ระดับความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด - ด่าง 6.5

S.M. Renaud (1994) ได้ศึกษาความเค็มที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงว่ามีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้แพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด คือ *Isochrysis* sp. , *Nannochloropsis oculata* และ *Nitzschia flustulum* และพบว่า *Nitzschia flustulum* จะเจริญเติบโตในช่วงความเค็มที่กว้างคือ 10-35 ส่วนในพันส่วน

สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งธรรมชาติในทะเลสามารถที่จะใช้ใส่ในอาหารปลาเพื่อใช้ทดแทนแร่ธาตุ ในการเตรียมอาหารปลาน้ำจืดโดยใช้สาหร่ายทะเลขนาดเล็กที่ทำให้แห้งแล้วป่นเป็นผงละเอียดจะสามารถใช้ทดแทนแร่ธาตุรวมที่ปลาต้องการได้ถึง 33 % สาหร่ายทะเลขนาดเล็กจะมีปริมาณของแร่ธาตุที่แตกต่างกันเช่น *Tetraselmis suecica* 3.8 % *Isochrysis galbana* 5.7% *Dunaliella tertiolecta* 3.57 % และ *Chlorella stigmatophora* 3.9 % (Fabregas. J. and Herrero C.,1986)

Haug Arne(1972) ได้ทำการศึกษาเก็บรวบรวมแพลงก์ตอนพืชจาก Tronaheimsf ในปี 1970 และช่วง 5 เดือนแรกของปี1971 มาทำการวิเคราะห์หาคาร์โบไฮเดรต, โปรตีน, ไขมัน และ phosphorus พบว่าจะมีส่วนประกอบที่สำคัญของโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต, และไขมัน ปริมาณ 90% ของน้ำหนักแห้งของแพลงก์ตอน

สุรพล และชนิษฐา(2536) ได้ทำการศึกษาเทคนิคในการเพาะเลี้ยงหอยนมสาวโดยใช้ไดอะตอม *Navicula* sp. และ *Nitzschia* sp.เป็นอาหารเลี้ยงลูกหอยตั้งแต่ระยะลงเกาะพื้นจนถึงอายุ 2 เดือน

2. แพลงก์ตอนสัตว์

โคพีพอด (Copepod) สามารถจำแนกชนิดของโคพีพอดดังนี้คือจัดอยู่ในไฟลัม (Arthropoda) ชั้น (Class) ครัสเตเชีย(Crustacea) อันดับ(Order) โคพีโปดา (Copepoda) ในอันดับของโคพีโปดาแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ Calanoida, Cyclopoida และ Harpacticoida โคพีพอดมีขนาด 0.5- 5 มิลลิเมตร ตัวผู้มักมีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย รูปร่างโดยทั่วไปยาวรีลำตัวแบนข้าง

หรือแบนทางด้านหลังและด้านท้อง(Dorsall ventrally) ตัวเต็มวัยแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือส่วนหัวอก ส่วนหาง มีลำตัวประกอบด้วย 17 ปล้อง โคพีพอดเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ตัวอ่อนของนอเพลียส (Nauplius)มี 6 ระยะ โคพีโปติด (Copepodid) มี 5 ระยะก่อนเป็นตัวเต็มวัย(adult) เจริญเติบโตโดยการลอกคราบ

Kimoto and et.al. (1986) พบว่าลักษณะการเจริญเติบโตของ calanoid copepod *Sinocalanus tenellus* (Kikuchi) เมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความเค็มนั้น การฟักออกจากไข่ และการพัฒนาของระยะก่อนเอมบริโอ นั้นได้ผลดีช่วงอุณหภูมิ 6.6-31.3 องศาเซลเซียส และ 6.2-27.1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เวลาที่ต้องการหลังจากการวางไข่จนถึงการปล่อยไข่ บางระยะของการพัฒนาการการเพิ่มขึ้นและอุณหภูมิลดลง ปัจจัยของความเค็มในระยะเวลาไม่มี ผลเหมือนอุณหภูมิ ช่วงระยะเวลานั้นสั้น ในนอเพลียสระยะที่ 1 ใกล้เคียงกับนอเพลียสระยะที่ 2 จนถึงโคพีโปติด 3 และช่วงระยะเวลาจะยาวในโคพีโปติด 4 และ โคพีโปติด 5 ตัวผู้มีพัฒนาการเร็วกว่าเพศเมียความยาวของลำตัวของ *S. tenellus* อุณหภูมิลดลงและเพิ่มขึ้นสำหรับแต่ละระยะพัฒนาการยกเว้นนอเพลียส1 ความเค็มไม่ปรากฏว่ามีผลต่อขนาดของลำตัวยกเว้นโคพีโปติด5 และโคพีโปติด 6 ที่ขนาดจะใหญ่ขึ้น 15 % ในแต่ละวันอัตราการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและความเค็มสูงที่ 15 ppt ซึ่งจากรายงานของ วิวัฒนา,(2529) ได้ทำการเลี้ยง *Metacyclops minutus* ด้วยอาหาร *Chaetoceros calcitrans* ในน้ำทะเลความเค็มเฉลี่ย 30 ppt อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส พบว่า *M. minutus* มีการเจริญเติบโตเป็น 2 ระยะ คือ Nauplius ลอกคราบ 5-6 คราบ Copepodid ลอกคราบทั้งสิ้น 5 คราบ ใช้เวลาลอกคราบโดยเฉลี่ย 3 วัน 19 ชั่วโมง และเมื่อเป็นตัวเต็มวัยจะไม่ลอกคราบอีกเลย ภายหลังจากที่ตัวเต็มวัยเพศผู้จับคู่และถ่ายถุงเชื้อ (spermatopore) ให้กับเพศเมียเป็นเวลาโดยเฉลี่ย 15 ชั่วโมง ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วจะฟักเป็นตัวอ่อนในเวลาโดยเฉลี่ย 31.1 ชั่วโมง ดังนั้นระยะเวลาของการเจริญเติบโตและการลอกคราบวงจรชีวิต (life cycle)ใช้เวลาทั้งสิ้น 9 วัน 12 ชั่วโมง อายุของโคพีพอดตั้งแต่ฟักเป็นตัวจนกระทั่งตายเท่ากับ 33.6 วัน

Susumu OHTSUKA and et.al.(1993) พบว่าอาหารที่บรรจุในกระเพาะอาหารของ *Eucalanus bungii* ในโคพีโปติดทั้ง 6 ระยะ อาหารที่พบคือ Diatom, Dinoflagellates, Tintinnids, Crustaceans and mineral particles

ธิดา และ รุณันดร (2521) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงโคพีพอดในน้ำกร่อยบางชนิดโดยใช้แพลงก์ตอนพืช 3 ชนิดเป็นอาหารได้แก่ *Tetraselmis* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. ผลการทดลองพบว่าหลังการเลี้ยงด้วย *Tetraselmis* sp. ,และ *Chaetoceros* sp. เป็นเวลา

5 วัน จำนวนของโคพีพอดได้เพิ่มมากขึ้นพอสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งและลูกปลาวัยอ่อนได้ ส่วน *Cholrella* sp. ไม่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารของโคพีพอดทั้ง 2 ชนิด

Atsushi and et. al. (1988) พบว่า *Acartia tseuensis* เหมาะสมที่จะใช้สำหรับเป็นอาหารของลูกปลาทะเล ได้ทำการเพาะเลี้ยงในถัง 24 ลูกบาศก์เมตร พร้อมให้ปุ๋ย ขนาดของประชากรโคพีพอดิต และตัวเต็มวัยจะเพิ่มขึ้น เมื่อได้เติมปุ๋ย ความหนาแน่นเฉลี่ยของนอเพลียส โคพีพอดิต (1-v) และตัวเต็มวัยมีความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับบับ 374, 101 และ 94 ตัวต่อลิตร ตามลำดับ กับที่สูงสุดของความขุ่น 1, 136, 588 และ 280 ตัวต่อลิตร ตามลำดับ 3 กลุ่มของ *A. tseuensis* ได้จากการเพาะเลี้ยงในถังใช้ระยะเวลาที่ทำการทดลอง 40-50 วัน แต่ละกลุ่มนั้นมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับการเติมปุ๋ย และอายุของประชากรในถัง นอเพลียสจะเจริญเติบโตเป็นระยะตัวเต็มวัย เมื่อความขุ่นของตัวเต็มวัยต่ำขณะที่อัตราการตายสูงเกิดขึ้นระหว่างนอเพลียสระยะปลาย และไม่ได้มีระยะโคพีพอดิต เมื่อความขุ่นของประชากรของตัวเต็มวัยมีมากระหว่างนอเพลียสและตัวเต็มวัย โดยพิจารณาจากสาเหตุหลักของปรากฏการณ์

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. สถานที่เก็บตัวอย่าง

กำหนดสถานที่เก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 12 สถานี โดยสถานีที่ 1 ตั้งอยู่บริเวณบ้านคลองด่าน อำเภอบางบ่อ จังหวัดสมุทรปราการ ,สถานีที่ 2 บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา, สถานีที่ 3 บริเวณเมืองใหม่ จังหวัดชลบุรี, สถานีที่ 4 บริเวณเกาะลอย อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี, สถานีที่ 5 บ้านแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี, สถานีที่ 6 แหลมแม่พิมพ์ จังหวัดระยอง, สถานีที่ 7 บ้านคู้วิมาน จังหวัดจันทบุรี, สถานีที่ 8 บ้านเกาะเบริด จังหวัดจันทบุรี, สถานีที่ 9 ปากแม่น้ำเวฬุ อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี, สถานีที่ 10 อำเภอแหลมงอบ จังหวัดตราด, สถานีที่ 11 บ้านแหลมศอก จังหวัดตราด และสถานีที่ 12 อำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด

2. การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์

ทำการรวบรวมตัวอย่างจากจังหวัด สมุทรปราการ, ฉะเชิงเทรา, ชลบุรี, ระยอง, จันทบุรี และจังหวัดตราด ทำการเก็บตัวอย่างห่างจากบริเวณชายฝั่งประมาณ 200 เมตร ถ้าเป็นบริเวณป่าชายเลนเก็บห่างจากฝั่ง 50 เมตร ส่วนบริเวณปากแม่น้ำจะเก็บบริเวณกลางร่องน้ำของปากแม่น้ำ โดยทำการเก็บตัวอย่างเดือนละ 1 ครั้ง/จังหวัด แพลงก์ตอนพืชทำการเก็บตัวอย่างด้วยถุงลากแพลงก์ตอนขนาด 69 ไมครอน (Bolting cloth No. 25) ความยาวถุง 70 เซนติเมตร ทำการลากในแนวตั้ง แพลงก์ตอนพืชเมื่อลากขึ้นมาได้ในปริมาณที่มากพอให้กรองเอาแพลงก์ตอนสัตว์ออก หลังจากนั้นให้ออกซิเจน และเติมปุ๋ย "Guillard medium" "f/2" ปริมาตร (ตามส่วนดังกล่าว) ต่อ น้ำทะเลและสาหร่ายที่ลากมาได้ปริมาตร 1 ลิตร ส่วนแพลงก์ตอนสัตว์ใช้ถุงลากตัวอย่างขนาด 100 ไมครอน ความยาวถุง 100 เซนติเมตร ลากในแนวตั้ง ถ้าได้ตัวอย่างน้อยให้ลาก 2 ครั้ง หลังจากนั้นเติมสาหร่าย *Isochrysis galbana* ลงไปประมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อเป็นอาหารและให้ออกซิเจนเบาๆ

3. การแยกชนิดของแพลงก์ตอนที่รวบรวมมาได้

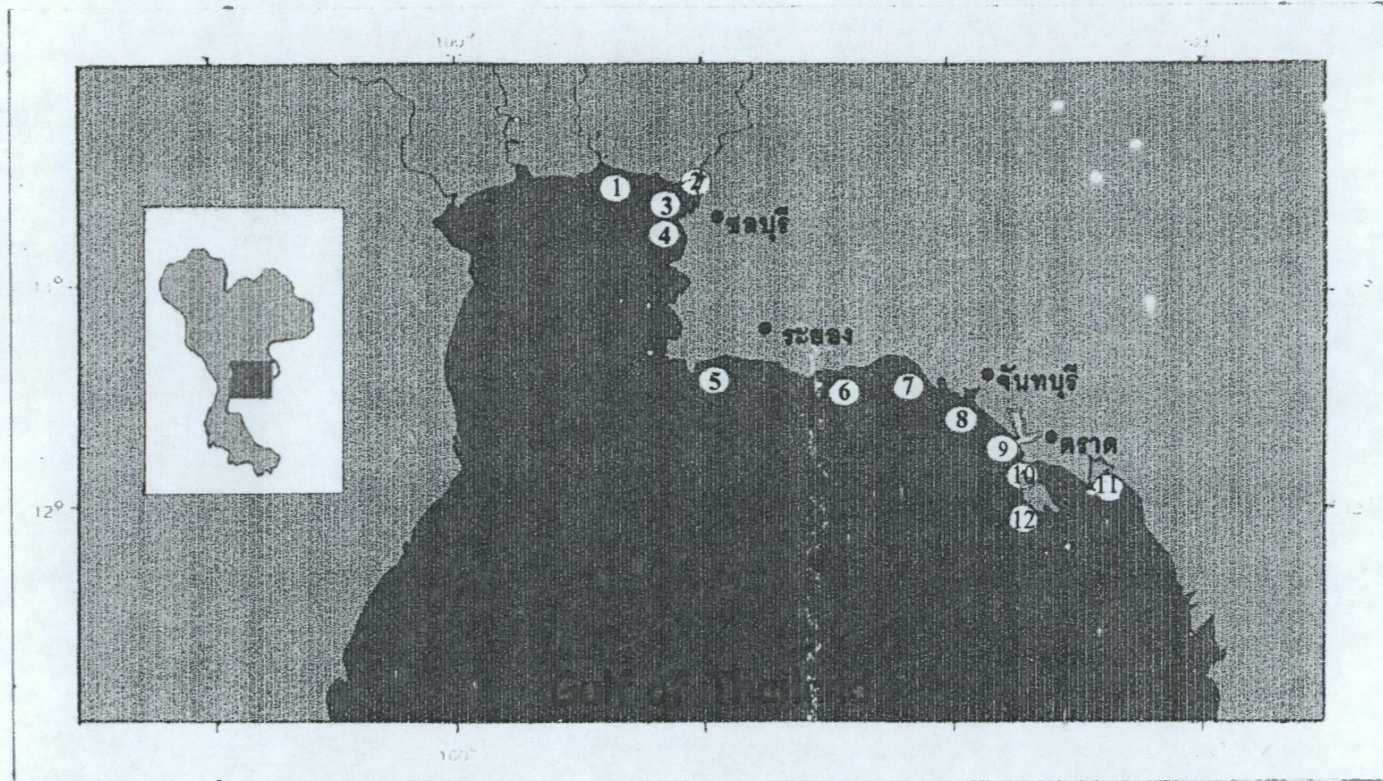
แพลงก์ตอนพืช

การคัดแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์

1. ทำการแยกโดยใช้คอปิลลาลี่ ปิเปต จากนั้นเตรียมคอปิลลาลี่ ปิเปต โดยนำเอาพลาสเจอร์ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไฟ พร้อมใช้คีมคีบด้านปลายแหลม เมื่อเนื้อแก้วอ่อนตัวให้ยกปิเปตออกห่างลำตัวแล้วดึงหลอดแก้วออกตามยาวช้าๆ และตัดปลายของแท่งแก้วที่ดึงให้ใหญ่กว่าขนาดของสาหร่ายโดยทำหลอดแก้วไว้หลายๆขนาดให้เหมาะสมกับขนาดของสาหร่าย

2. หยดอาหารเหลว 5 หยด บนสไลด์หลุม

3. หยดน้ำที่มีสาหร่ายเจือจางแล้ว 2-3 หยดลงบนสไลด์หลุม



ภาพที่ 2 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างของจังหวัดสมุทรปราการ, ฉะเชิงเทรา, ชลบุรี, ระยอง, จันทบุรี, และจังหวัดตราด ทั้งสิ้น 12 สถานี

4. ใช้กล้อง compound microscope ในการตรวจหาสาหร่ายที่ต้องการจะแยกชนิด
5. จุ่มปลายคาปิลลารี ปิเปต ที่สวมจุกยางที่ปลายตรงบริเวณเหนือสาหร่ายที่ต้องการจะแยกแล้วค่อยๆจุ่มปลายคาปิลลารี ปิเปตลงในของเหลว สาหร่ายที่ต้องการแยกจะถูกดูดเข้าสู่คาปิลลารี ปิเปตการไหลของของเหลวจะควบคุมด้วยจุกยาง (Lewin,1959)
6. จุ่มปลายคาปิลลารี ปิเปต ลงในอาหารเหลวที่หยดน้ำไว้ โดยค่อยๆ ล้างในสไลด์หลุมในข้อ2. ค่อยๆล้างและเปลี่ยนหลุมจนครบ 5 หลุม และตรวจดูอีกครั้งว่ามีตัวอย่างที่ต้องการอยู่เพียง 1 ชนิด เท่านั้นที่เรียกว่า unigal culture
7. ถ่ายสาหร่ายลงในอาหารเหลว และนำหลอดที่มีสาหร่ายอยู่ไปเก็บไว้ในห้องที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน จนได้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น
8. หลังจากนั้นนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้แท่งแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจุ่มในหลอดแก้วโดยวิธี aseptic technique หยดลงบนสไลด์และปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ ตรวจดูว่ามีสิ่งมีชีวิตอยู่เพียงชนิดเดียว
9. จะต้องทำการถ่ายเชื้อลงสู่อาหารหลอดใหม่ทุกๆ 15 วัน โดยใช้แท่งแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้วในการถ่ายเชื้อด้วยวิธีการ aseptic technique และนำไปเก็บในที่ห้องอุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส และให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง ไม่มีแสง 12 ชั่วโมง ความเข้มของแสง 1,500 ลักซ์
10. ไดอะตอมชนิดใดที่สามารถเลี้ยงไว้บนอาหารแข็งได้จะทำการเลี้ยงไว้บนอาหารแข็ง (ดังภาคผนวก) และทำการถ่ายเชื้อบนอาหารวันทุกๆ 1 เดือน

การเตรียมอาหารแข็ง (Agar media)

การเตรียมอาหารแข็งเพื่อสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดอะตอม

1. นำจานเพาะเชื้อเข้าอบในตู้อบไฟฟ้า(Drying oven) ยี่ห้อ yamoto ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
2. เตรียมน้ำทะเลที่มีความเค็ม 28-30 ส่วนในพันส่วน ให้ความร้อนโดยตั้งบนเตาไฟฟ้าและเติมวุ้นบรียูทรี(bacto-agar) 1.5% และเติมปุ๋ยตามอัตราส่วน(ดังภาคผนวก) เพื่อเพิ่มธาตุอาหารและให้ความร้อนจนวุ้นละลายระหว่างให้ความร้อนควรมีการกวนโดยใช้แท่งแก้วหรือแท่งแม่เหล็กไฟฟ้า(magnetic stirrer) เพื่อกวนให้วุ้นละลายได้ดีจึงเทใส่ภาชนะขวดกลมและเทใส่ครึ่งหนึ่งของภาชนะพร้อมปิดจุกเกลียวให้แน่นและคลายเกลียวกลับคืน 1 รอบเพื่อคลายแรงดันภายในภาชนะ

3. ในกรณีที่ต้องการทำอาหารในหลอดเกลียวโดยทำอาหารแบบเอียง(slant agar) เพื่อเพิ่มพื้นที่วุ้นจะใช้วุ้น 1.0–1.3 % ซึ่งผสมส่วนของอาหารดังข้อ 2. และเทใส่หลอดเกลียวปริมาณ 1/3 ของหลอด ปิดฝาและคลายเกลียวกลับคืนเล็กน้อย

4. นำเข้าหม้อนึ่งความดันนาน 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

5. จากข้อ 4. เมื่อความดันของหม้อนึ่งลดลงนำออกมาวางภายนอกให้ขวดอาหาร อุณหภูมิลดลง 45-50 องศาเซลเซียส หรือภาชนะอุ่นพอที่จะจับขวดอาหารเทได้ โดยเทใส่จานเพาะเชื้อภายในตู้เย็นหรือที่ปราศจากเชื้อ ควรเทวุ้นหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร เพื่อเก็บไว้สำหรับแยกเชื้อบริสุทธิ์

6. เทเสร็จแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที วุ้นจะแข็งตัวให้ทำการกลับจานเพาะเชื้อเพื่อป้องกันไอน้ำด้านบนจานเพาะเชื้อหยดลงบนอาหารวุ้น

7. ถ้าเป็นหลอดเกลียวหลังจากนำออกจากหม้อนึ่งความดันให้ทำการวางหลอดเกลียวเอียง 45 องศา จนกระทั่งวุ้นแข็งตัวเพื่อเก็บไว้ใช้ในการถ่ายเชื้อที่บริสุทธิ์จากจานเพาะเชื้อ

การเพาะขยาย สหรัยสีเขียวแกมน้ำเงิน และ ไดอะตอม

1. เก็บตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรี นำมาเติมน้ำเค็ม 10 ลิตร ให้แสงและอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับสีเขียวกามน้ำเงินใช้อาหารสูตร BG -11, สูตร MN, และสูตร ASN - III ไดอะตอมเลี้ยงด้วยสูตร Guillard พร้อมให้อากาศ
2. หลังจากนั้น 2-3 วัน เมื่อเซลล์ปรากฏและมีจำนวนเพิ่มขึ้น นำมาทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ให้เป็นเซลล์เดี่ยว (ตั้งขั้นตอนการคัดแยกสำหรับให้บริสุทธิ์จากข้อ 1-10) โดยเลี้ยงในหลอดเกลียวปริมาตร 1 มิลลิลิตร
3. จากนั้นถ่ายเชื้อโดยการนำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในอาหารวุ้น
4. ตั้งทิ้งไว้ภายใต้แสงไฟ 1500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 วัน จะปรากฏเป็นโคโลนีให้เห็นเป็นเซลล์เดี่ยว
5. ทำการเลือกเซลล์เดี่ยวออกมาขยายจำนวน โดยเริ่มจากหลอดเกลียวปริมาตร 10 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ฟลาสก์ (flask) 150 มิลลิลิตร แล้วถ่ายลงสู่ขวด 1 ลิตร เพื่อทำการขยายต่อในโหลขนาด 20 ลิตร จากนั้นเพาะขยายแบบหมวมวลในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร และกรองนำเซลล์ไปแช่แข็ง เพื่อวิเคราะห์หาคุณค่าทางอาหารหรือนำไปเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

การศึกษาการเจริญเติบโตของ BG1 และ BG2 ที่ความเค็ม 5 ระดับ

1. ใช้เซลล์เริ่มต้น 3 เซลล์ต่อ 1 มิลลิลิตร เลี้ยงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร

2. ทำการเลี้ยงที่ความเค็ม 5 ระดับ คือ 20, 25, 30, 35 และ 40 ส่วนในพันส่วน ความเค็มระดับละ 3 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิห้อง 36 องศาเซลเซียส ให้แสง 1500 ลักซ์ ระยะเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน
3. ทำการเพาะเลี้ยงในบีกเกอร์เป็นเวลา 16 วัน ในระหว่างที่ทำกรทดลองถ้าเกิดน้ำมีการระเหยหรือแห้งลงจะเติมน้ำจืดให้พอดีกับความเค็มที่กำหนดไว้
4. ทำการสูบน้ำทุกวันโดยเก็บตัวอย่างดองด้วยฟอร์มาลิน 4 % ในช่วงระยะเวลาเดียวกัน โดยสูบน้ำที่ความเค็มแต่ละระดับ 3 ชั่วโมง
5. ทำการสูบน้ำภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้ Sedwich-Rafter ขนาดความจุ 1 มิลลิลิตร

แปลงกักต่อนสัตว์

การคัดแยกโคพีพอดให้บริสุทธิ์

1. หลังจากที่รวบรวมตัวอย่างมาได้ เตรียมโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่(egg sac) ติดทั้งสองข้าง มาใส่ลงในจานหลุม (cell well) ที่มีน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน หลุมละ 1 ตัว ซึ่งน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงจะต้องผ่านถุงกรอง 1 ไมครอน และนำไปฆ่าเชื้อ
2. ใส่โคพีพอดลงในจานหลุมและให้อาหารคือ *Isochrysis galbana* ประมาณ 0.1 มิลลิลิตร (1.33×10^6) เซลล์
3. น้ำที่ใช้เลี้ยงจะเปลี่ยนทุกวันพร้อมให้อาหาร
4. บันทึกการฟักออกจากไข่ตั้งแต่เริ่มจนตัวอ่อนฟักออกจากไข่หมด
5. เมื่อแม่ที่คัดเลือกไว้จากธรรมชาติให้ลูกหมด ทำการย้ายใส่หลุมต่อไปพร้อมให้อาหาร ส่วนลูกที่ให้จะนับจำนวนและบันทึกข้อมูลเพื่อเลี้ยงลูกที่ได้จากนอเปลีสจนเป็นตัวเต็มวัยมีพวงไข่ ให้คัดเลือกตัวเมียที่มีพวงไข่ทั้งสองข้าง เพื่อนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ (F1)
6. นำเพศเมียแม่พันธุ์ใส่ลงในจานหลุมที่มีน้ำเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน และใส่ลงไปหลุมละ 1 ตัว พร้อมให้อาหาร
7. เมื่อตัวแม่ที่เลี้ยงไว้ให้ลูกในแต่ละแม่ให้ทำการบันทึกข้อมูลและย้ายตัวแม่ใส่หลุมต่อไป สังเกตว่าตัวแม่ที่เลี้ยงต่อไปจะให้ลูกต่อไปทั้งหมดก็รุ่นและเลี้ยงจนกระทั่งตัวแม่ตายไป ใช้เวลาเท่าใด ให้จำนวนลูกกี่ครั้งตลอดชีวิต
8. นำลูกที่ได้มาทำการศึกษาวงจรชีวิตโดยใส่นอเปลีสลงไปหลุมละ 1 ตัว พร้อมให้อาหาร สังเกตการเจริญเติบโตโดยดูจากการลอกคราบและนำลูกแต่ละระยะมาดองเก็บรักษาด้วยฟอร์มาลิน 6 เปอร์เซ็นต์ และใช้กล้อง camera lucida วาดภาพโคพีพอดแต่ละระยะตั้งแต่นอเปลีสจนถึงตัวเต็มวัย

9. เมื่อคัดเลือกได้โคฟีพอดที่บริสุทธิ์โดยทำการเลี้ยงใน vial ขนาด 10 มิลลิลิตร และขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร และเลี้ยงเพิ่มปริมาณต่อในโหลปริมาตร 20 ลิตร ก่อนถ่ายลงสู่ถังขนาด 200 ลิตร และ 500 ลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณแบบหมวมวลด้วยอาหาร *Isochrysis galbana*

ผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกตั้งแต่ชายฝั่งทะเลจังหวัดสมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด รวม 12 สถานี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2536 ถึงกันยายน 2537 และเดือนมกราคม 2539 ถึงเดือนพฤษภาคม 2539 จำนวน 33 ตัวอย่างพบว่า

1. แพลงก์ตอนพืชที่รวบรวมได้จาก 12 สถานี(ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2) สามารถนำมาทดลองเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้นำแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ทำการขยายพันธุ์ (mass culture) ให้ได้ปริมาณแบบมหวมวล คือสำหรับรายสี่เขียวแถมน้ำเงิน 2 ชนิด (ภาพที่ 8-9) โคอะตอม 6 ชนิด (ภาพที่ 13-18) โคพีพอดจำนวน 1 ชนิด (ภาพที่ 19-20)

พบว่าสามารถเพาะขยายโคอะตอมได้ 6 ชนิด คือ *Navicula* sp., *Skeletonema* sp., *Thalassiosira* sp., *Melosira* sp., *Lithodesmium* sp. และ *Biddulphia* sp. โดยเลี้ยงในระดับความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด - ด่าง 7.5 และจากผลการศึกษาพบว่า *Navicula* sp. มีรูปร่างรี ตรงกลางพองออก ปลายทั้งสองข้างจะแหลม กว้างโดยเฉลี่ย 5.18 - 7.68 ไมครอน ความยาวโดยเฉลี่ย 12.8 ไมครอนสามารถเลี้ยงเก็บเป็นหัวเชื้อได้ทั้งบนอาหารแข็งและอาหารเหลว และสามารถเก็บรักษาหัวเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารแข็งเป็นระยะเวลามากกว่า เดือน *Thalassiosira* sp. มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวหรือต่อกันเป็นเส้นสายเซลล์มีขนาดเล็กกว้างโดยเฉลี่ย 9.6 ไมครอน ความยาวเฉลี่ย 6 ไมครอน สามารถเลี้ยงเก็บเป็นหัวเชื้อได้บนอาหารแข็งและอาหารเหลวแต่มีข้อแตกต่างกันคือเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจะเก็บไว้ได้ไม่นาน แต่ถ้าเก็บไว้บนอาหารแข็งสามารถที่จะเก็บไว้ได้เป็นระยะเวลานานมากกว่า 1ปี *Skeletonema* sp. มีลักษณะของเซลล์ที่ต่อกันเป็นเส้นสายสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว พบเซลล์มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 4.4 ไมครอน ความยาวเฉลี่ย 4.0 ไมครอน สามารถเลี้ยงเก็บไว้เป็นหัวเชื้อได้ในอาหารเหลวเป็นระยะเวลานานมากกว่า 1ปี และ *Melosira* sp. เป็นโคอะตอมที่มีลักษณะกลมรีต่อกันเป็นเส้นสายมีขนาดความกว้างเฉลี่ย 10.4 ไมครอน ความยาวเฉลี่ย 13.2 ไมครอน สามารถที่จะเลี้ยงเก็บไว้เป็นหัวเชื้อในอาหารเหลว แต่ไม่สามารถเลี้ยงไว้บนอาหารแข็งได้

และสามารถเพาะขยายสำหรับรายสี่เขียวแถมน้ำเงิน 2 ชนิด ซึ่งสำหรับรายสี่เขียวแถมน้ำเงิน คือ BG 1 สามารถเพาะขยายจากจานเพาะเลี้ยงเชื้อจนถึงการเพิ่มปริมาณแบบมหวมวลได้ขนาด 500 ลิตร ส่วน BG 2 ไม่สามารถเลี้ยงเชื้อในจานเพาะเชื้อได้แต่สามารถแยกเชื้อแบบ unigal culture ในหลอดเกลียวและขยายได้จนถึงขนาด 500 ลิตร ได้เช่นกัน (ดังภาพที่ 12) และจากการเพาะเลี้ยงที่ความเค็ม 5 ระดับ พบว่าที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ

29.50 x 10³ เซลล์ ของวันที่ 12 รองลงมาที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ของวันที่ 6 พบเซลล์มีความหนาแน่น 20.52 x 10³ เซลล์ ซึ่งเซลล์จะมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าที่ความเค็มระดับอื่นที่ระยะเวลา 6 วัน (ดังภาพที่ 12) ที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน อัตราการเจริญเติบโตไม่ค่อยดีนักเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเค็มอื่นๆ

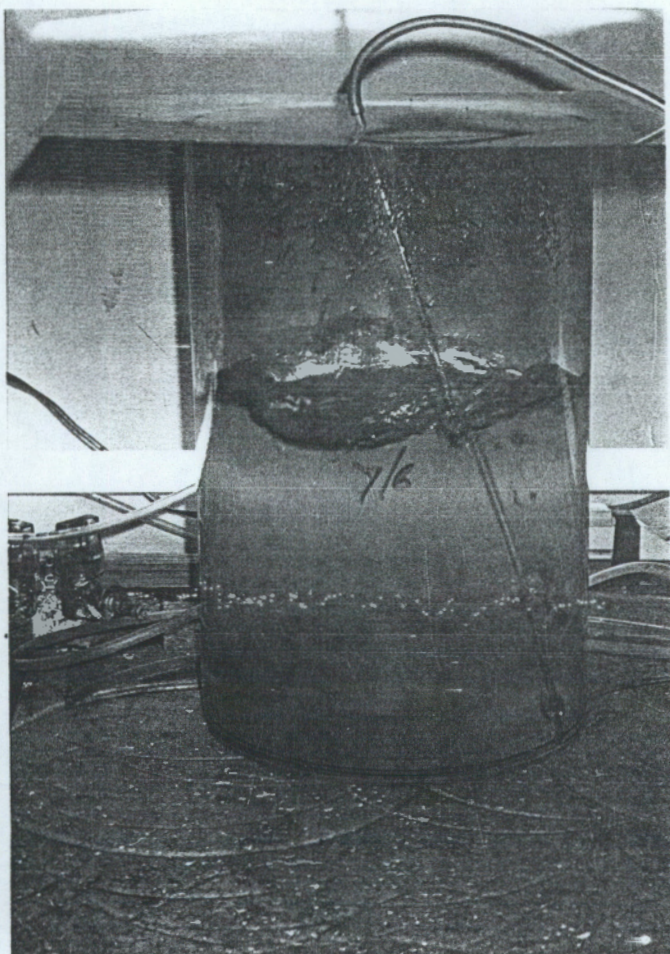
แพลงก์ตอนสัตว์ 1 ชนิด ซึ่งพบจากบริเวณป่าชายเลนของจังหวัดตราด ซึ่งอาศัยอยู่ในน้ำกร่อยและนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ที่ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ให้ *Isochrysis galbana* เป็นอาหารจากการเพาะเลี้ยงโคพีพอด *Apocyclops* sp. พบว่าการพัฒนาการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยเริ่มต้นตั้งแต่โคพีพอดเพศเมีย 1 ตัว มีพวงไข่สองข้างแต่ละพวงมีไข่ 9 - 14 ใบ ตัวเมีย 1 ตัว สามารถผลิตไข่ได้ประมาณ 13-28 ฟอง(เฉลี่ย 21 ฟอง) ตัวเมีย 1 ตัว สามารถผลิตไข่ได้ตลอดอายุขัยโดยได้รับการผสมพันธุ์ครั้งเดียว เมื่อเริ่มต้นมีพวงไข่ภายในระยะเวลา 2 วัน สามารถผลิตตัวอ่อนระยะ Nauplius I ได้ 13-28 ตัว หลังจากไข่ฟักเป็น Nauplius แล้วภายใน 2 ชั่วโมง จะมีพวงไข่เกิดขึ้นอีกครั้งหนึ่ง การพัฒนาการของตัวอ่อนสกุลนี้มีระยะ Nauplius 6 ระยะ, Copepodid 5 ระยะ และเป็นตัวเต็มวัย(Adult) จากระยะ Nauplius I เจริญจนถึงระยะ Nauplius VI ใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน แล้วพัฒนาต่อจากระยะ Copepodid I ถึง Copepodid V ใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน และเจริญเติบโตจนเป็น Copepodid VI หรือตัวเต็มวัยใช้เวลา 1 วัน รวมทั้งสิ้นประมาณ 11-13 วัน (รูปที่ 22-23) แยกรายละเอียดได้คือจากไข่พัฒนาเป็น Nauplius I, Nauplius II, Nauplius III, Nauplius IV, Nauplius V, และ Nauplius VI ใช้เวลาในการพัฒนาโดยเฉลี่ย 49.0, 15.1, 18.9, 20.8, 18.3, และ 19.0 ชั่วโมงตามลำดับ สำหรับการพัฒนาจาก Nauplius VI เป็น Copepodid I, Copepodid II, Copepodid III, Copepodid IV, และ Copepodid V ใช้เวลาในการพัฒนาโดยเฉลี่ย 15.3, 18.8, 18.0, 17.0 และ 18.3 ชั่วโมง ตามลำดับ พร้อมทั้งใช้เวลาอีกประมาณ 25.0 ชั่วโมง ในการเจริญเป็นตัวเต็มวัยระยะจากไข่จนถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาที่เฉลี่ย 9-13 วัน ได้ *Apocyclops* sp. จำนวน 28.90 x 10⁴ l⁻¹ ตัวเต็มวัย *Apocyclops* sp. มีอายุขัยประมาณ 18-28 วัน

ตารางที่ 1 แพลงก์ตอนพืช ที่รวบรวมได้จากชายฝั่งทะเลอ่าวไทยทั้งสิ้น 12 สถานี

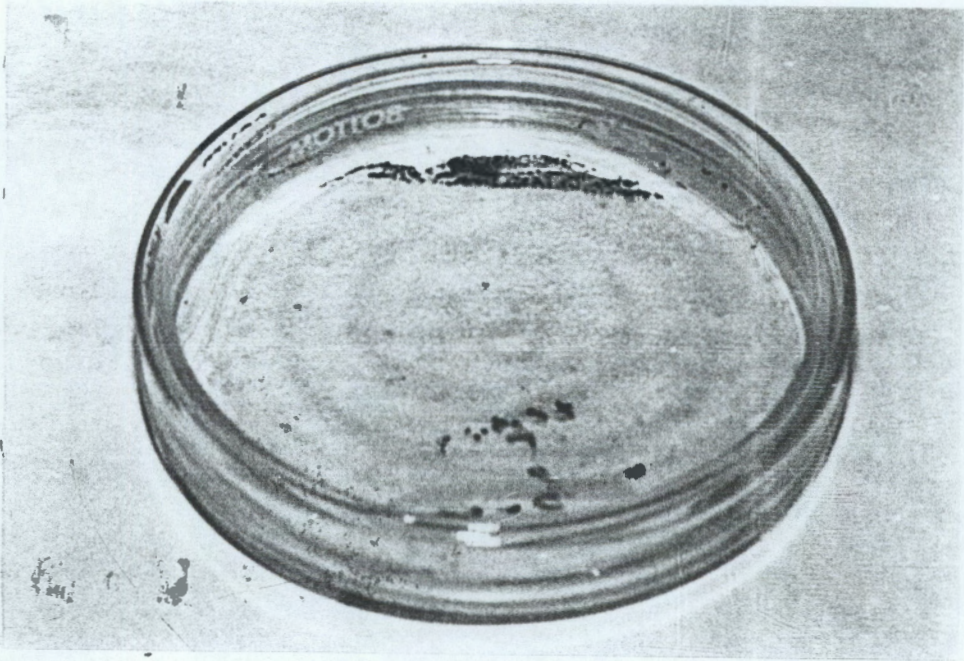
สถานี	ชนิด	ไดอะตอม																					
		<i>Biddulphia</i> sp.	<i>Melosira</i> sp.	<i>Navicula</i> sp.	<i>Thalassiosira</i> sp.	<i>Lithodesmium</i> sp.	<i>Bacteriastrum</i> sp.	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Cosinodiscus</i> sp.	<i>Chaetoceros</i> spp.	<i>lauderia</i> sp.	<i>Rhizosolenia</i> spp.	<i>Guinardia</i> sp.	<i>Eucampia</i> sp.	<i>Pleurosigma</i> spp.	<i>Dicylum</i> sp.	<i>Corethron</i> sp.	<i>Leptotheca</i> sp.	<i>Thalassionema</i> sp.	<i>Amphiphora</i> sp.	<i>Hemidiscus</i> sp.	<i>Nitzschia</i> spp.	<i>Hemiaulia</i> sp.
1. สถานีคลองด่าน		✓		✓			✓		✓	✓	✓		✓		✓	✓				✓	✓	✓	✓
2. สถานีปากแม่น้ำบางปะกง			✓					✓		✓	✓				✓	✓					✓	✓	✓
3. สถานีเมืองใหม่		✓			✓	✓			✓	✓		✓					✓		✓	✓	✓	✓	
4. สถานีเกาะลอย		✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓		✓									✓	✓	✓
5. สถานีแหลมสาร		✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓			✓				✓				✓	✓	
6. สถานีแหลมแม่พิมพ์			✓		✓	✓	✓		✓	✓			✓	✓								✓	
7. สถานีเกาะเบริด				✓	✓		✓	✓		✓		✓				✓	✓				✓	✓	✓
8. สถานีคังวิมาน		✓	✓		✓				✓	✓			✓	✓	✓							✓	
9. สถานีปากแม่น้ำเวฬุ		✓		✓		✓		✓	✓	✓		✓	✓	✓		✓					✓	✓	✓
10. สถานีแหลมงอบ			✓		✓		✓	✓		✓							✓	✓	✓			✓	
11. สถานีแหลมศอก								✓		✓							✓					✓	
12. สถานีเกาะช้าง		✓		✓		✓			✓	✓							✓					✓	✓

ตารางที่ 2 แพลงก์ตอนพืชและสัตว์ที่รวบรวมได้จากชายฝั่งทะเลอ่าวไทยทั้งสิ้น 12 สถานี

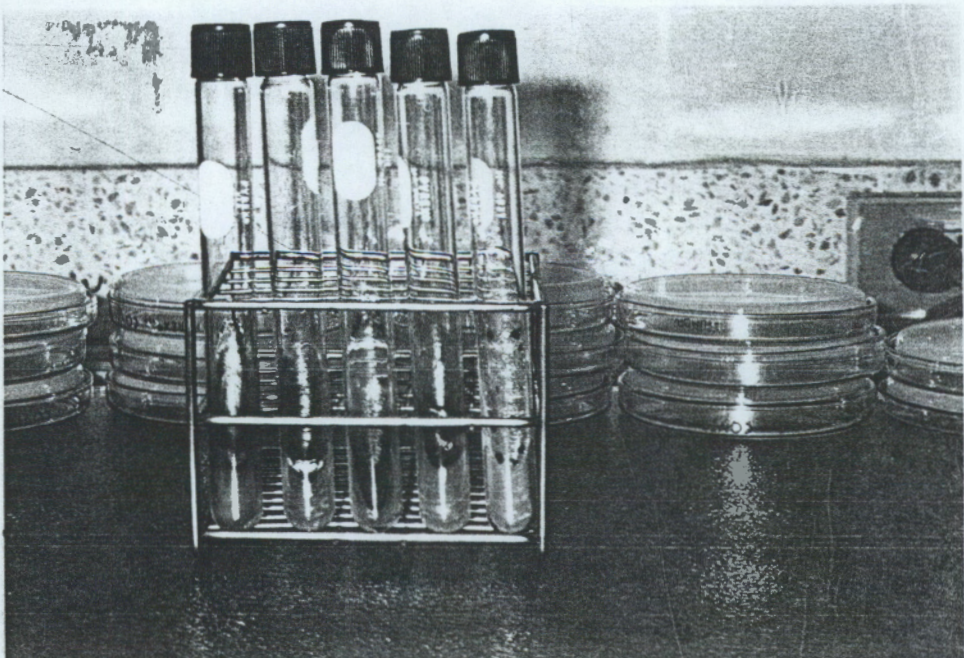
สถานี	ชนิด	สำหรับสี่เขียวแกมน้ำเงิน		โคพีพอด								
		BG1	BG2	<i>Bestiolina similis</i>	<i>Paracalanus crassirostris</i>	<i>Pseudodiaptomus annandalei</i>	<i>Oithona dissimilis</i>	<i>Oithona oculata</i>	<i>Apocyclops</i> sp.	<i>Corycaeus affinis</i>	<i>Macrosetella aculifron</i>	<i>Acartia plumosa</i>
1. สถานีคลองด่าน		√		√		√	√				√	
2. สถานีปากแม่น้ำบางปะกง		√				√	√					√
3. สถานีเมืองใหม่			√					√		√	√	
4. สถานีเกาะลอย				√								
5. สถานีแหลมสาร					√			√				
6. สถานีแหลมแม่พิมพ์				√	√							
7. สถานีเกาะปริ่ม		√	√				√	√			√	
8. สถานีคู้้งวิมาน				√	√	√						
9. สถานีปากแม่น้ำเวฬุ			√	√	√		√					
10. สถานีแหลมออบ									√	√	√	√
11. สถานีแหลมคอก									√			√
12. สถานีเกาะช้าง									√			√



ภาพที่ 3 การเก็บรักษาของสารร้ายสีเขียวแกมน้ำเงินก่อนแยกเชื้อบริสุทธิ์



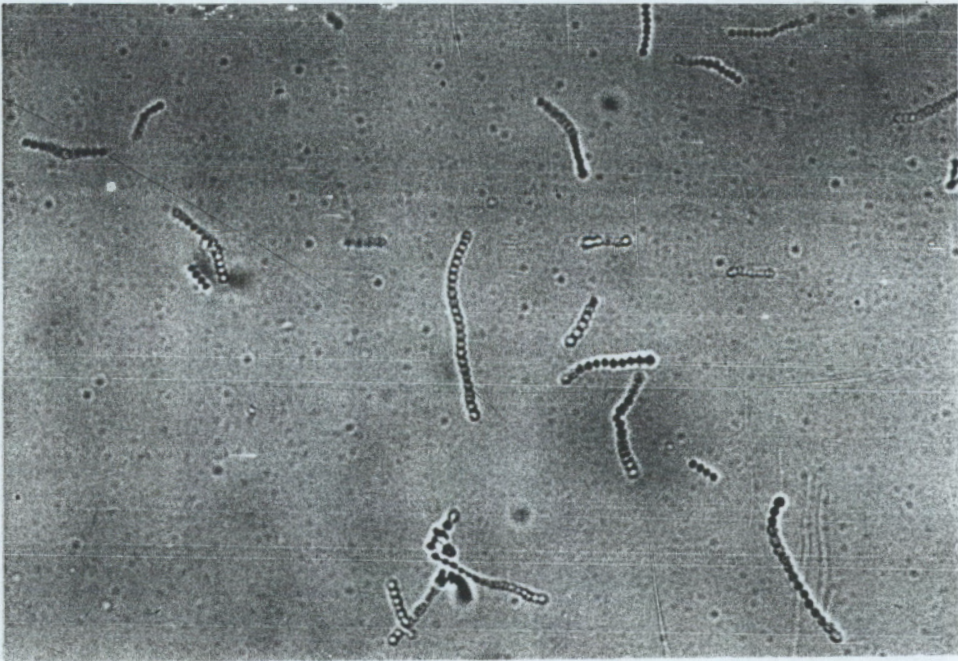
ภาพที่ 4 แสดงการแยกสายร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (BG 1) ให้บริสุทธิ์ในอาหารร่วน



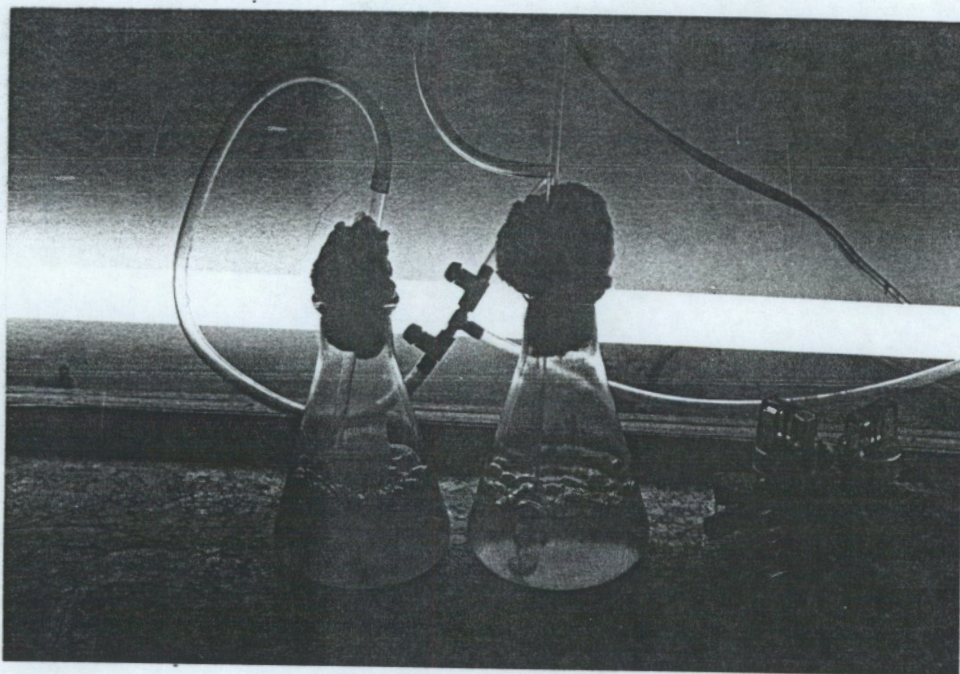
ภาพที่ 5 การเก็บสายพันธุ์สายร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (BG 1) ไว้เป็นหัวเชื้อ



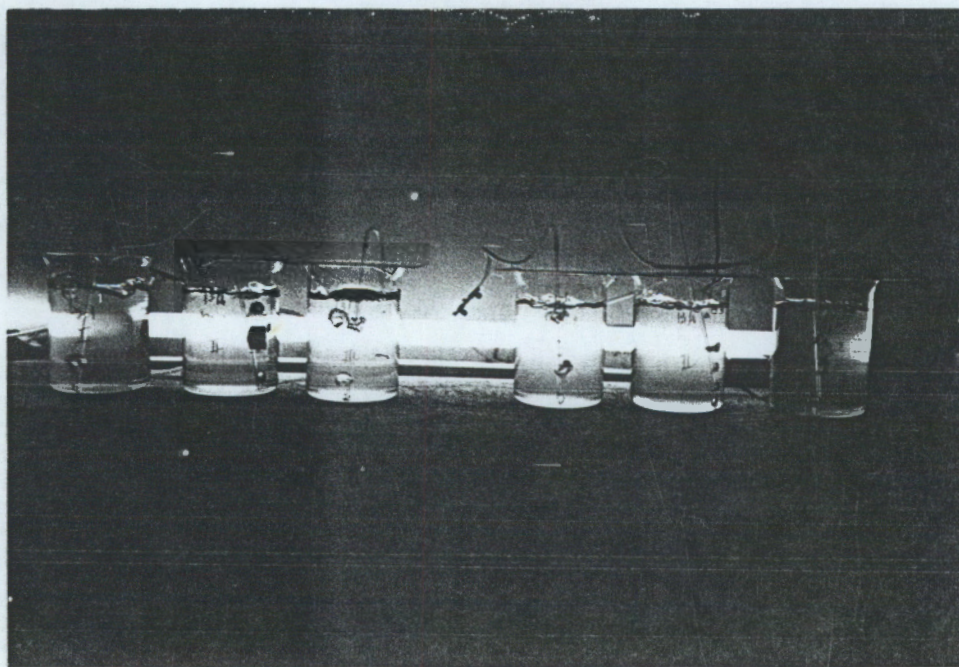
ภาพที่ 6 สานร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 1



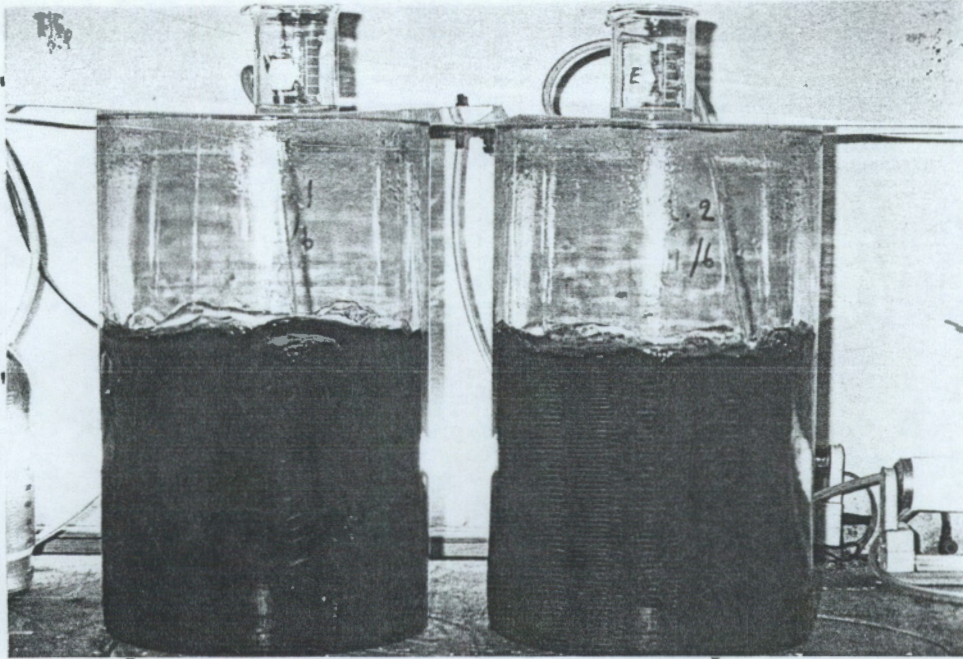
ภาพที่ 7 สานร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 2



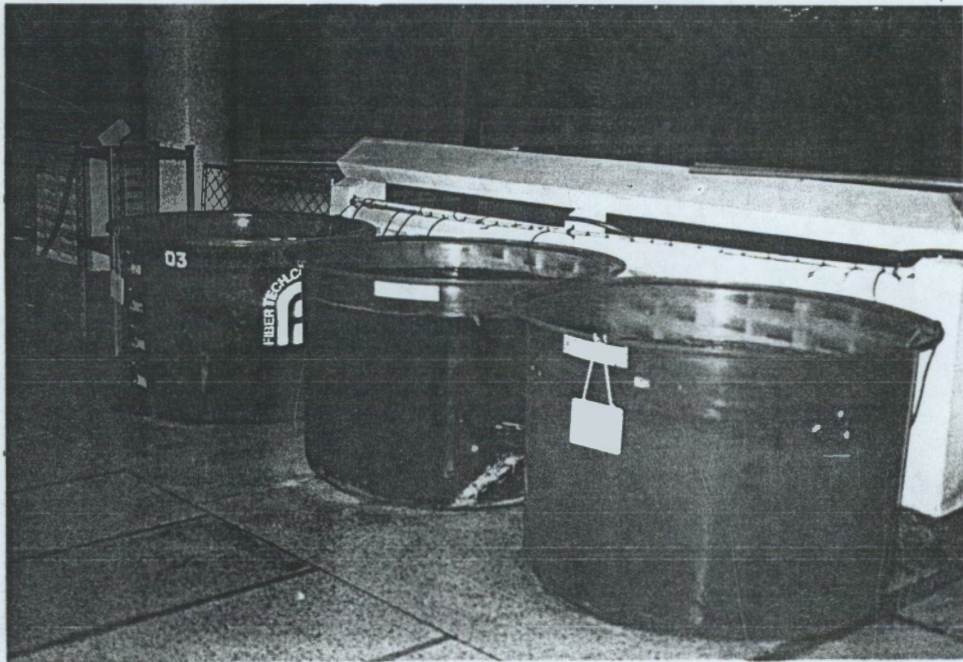
ภาพที่ 8 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 ในปริมาตร 150 มิลลิลิตร



ภาพที่ 9 การเพาะขยายสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 ใน ปริมาตร 2 ลิตร



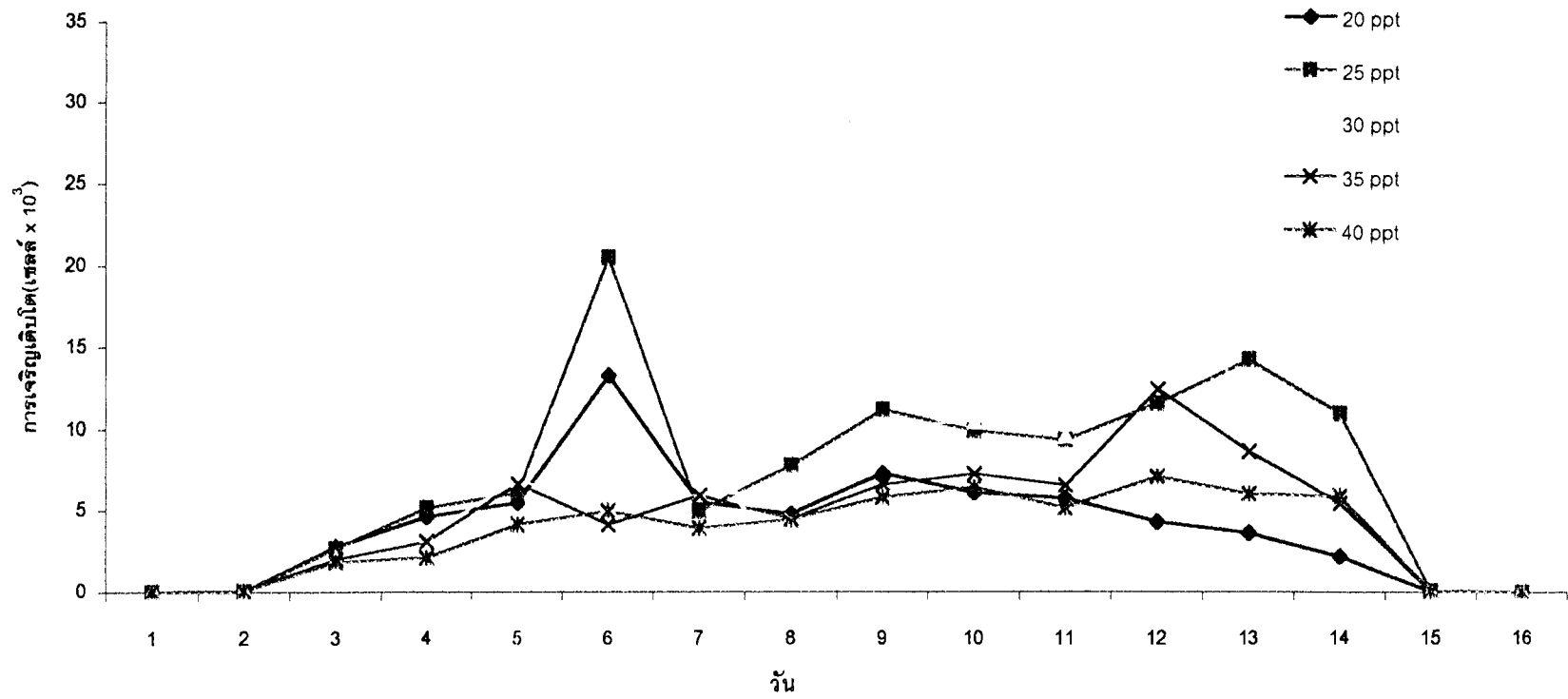
ภาพที่ 10 การเพาะขยายสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 ในปริมาตร 20 ลิตร



ภาพที่ 11 การเพาะขยายสาหร่ายสายพันธุ์ BG 1 และ BG 2 แบบหมวมวลในถัง 500 ลิตร

596.2
๑๒๗๕๓
๓.3

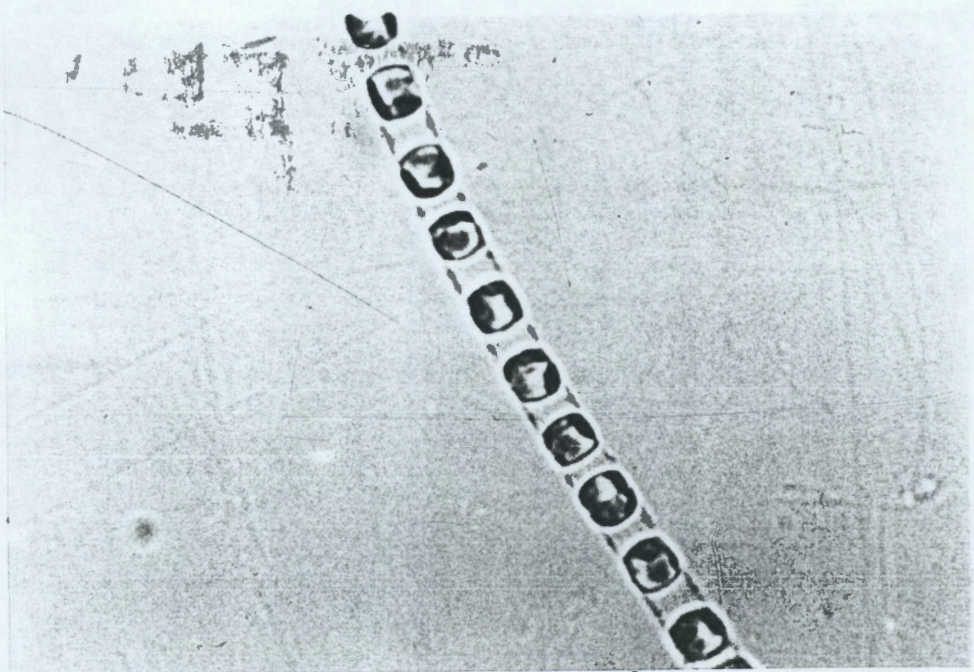
137355



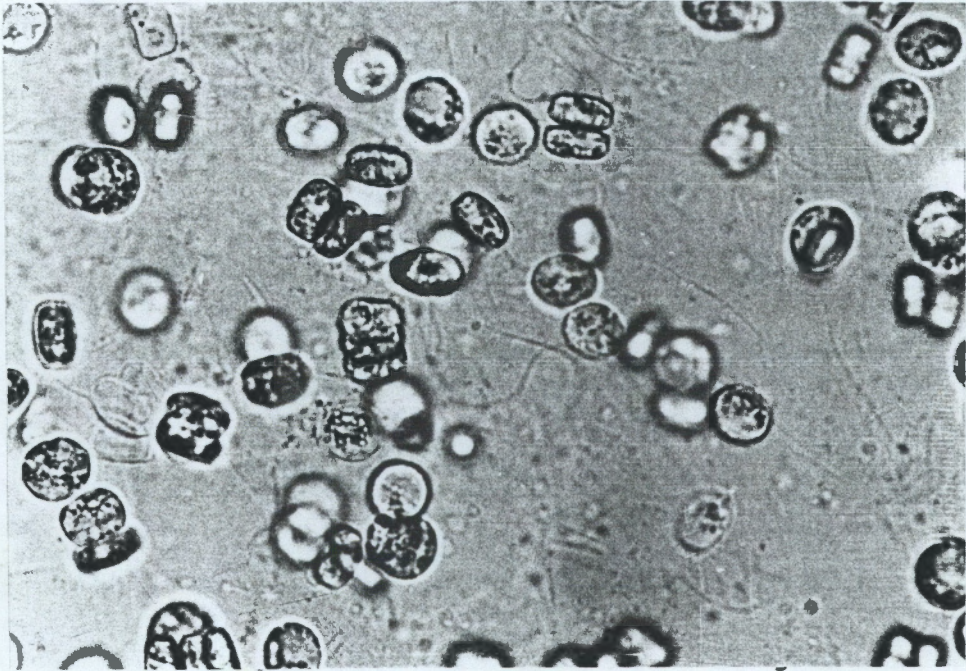
ภาพที่ 12 การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน BG 1 ที่ความเค็ม 5 ระดับ



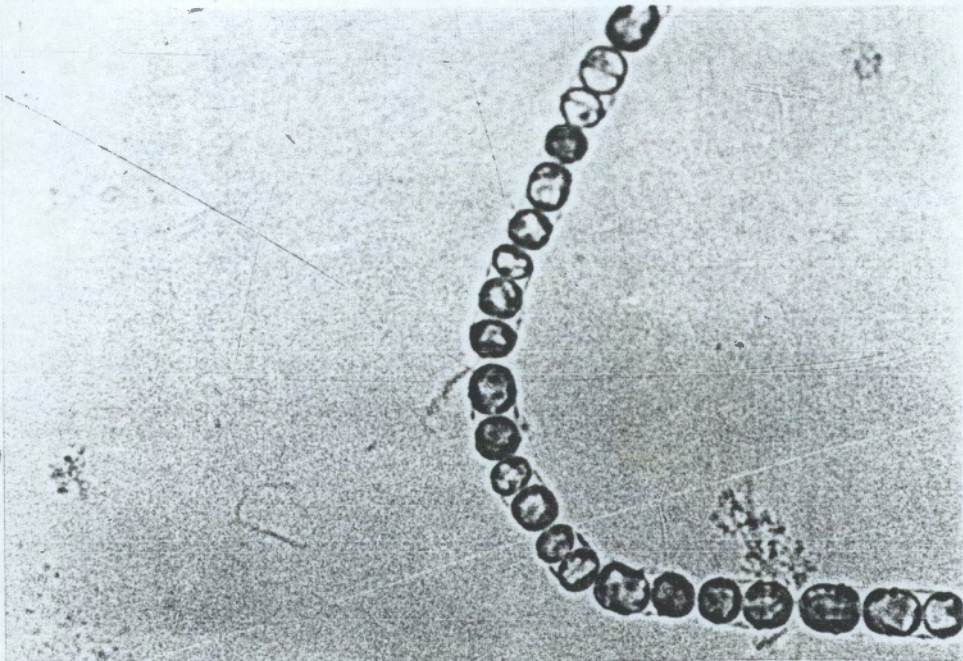
ภาพที่ 13 แสดงชนิดของไดอะตอม *Navicula* sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์



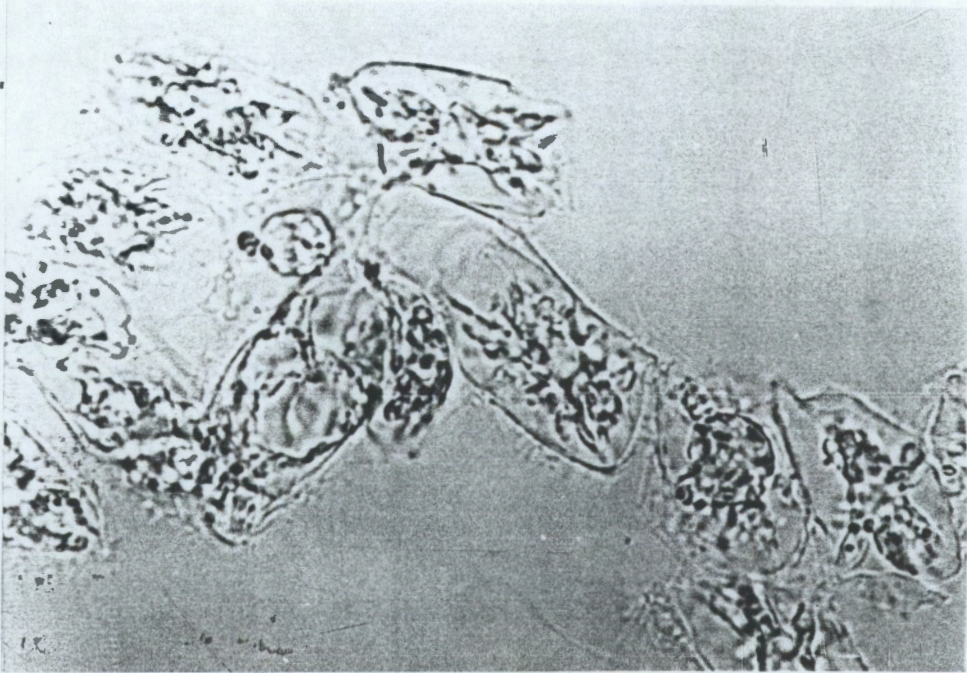
ภาพที่ 14 แสดงชนิดของไดอะตอม *Skeletonema* sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์



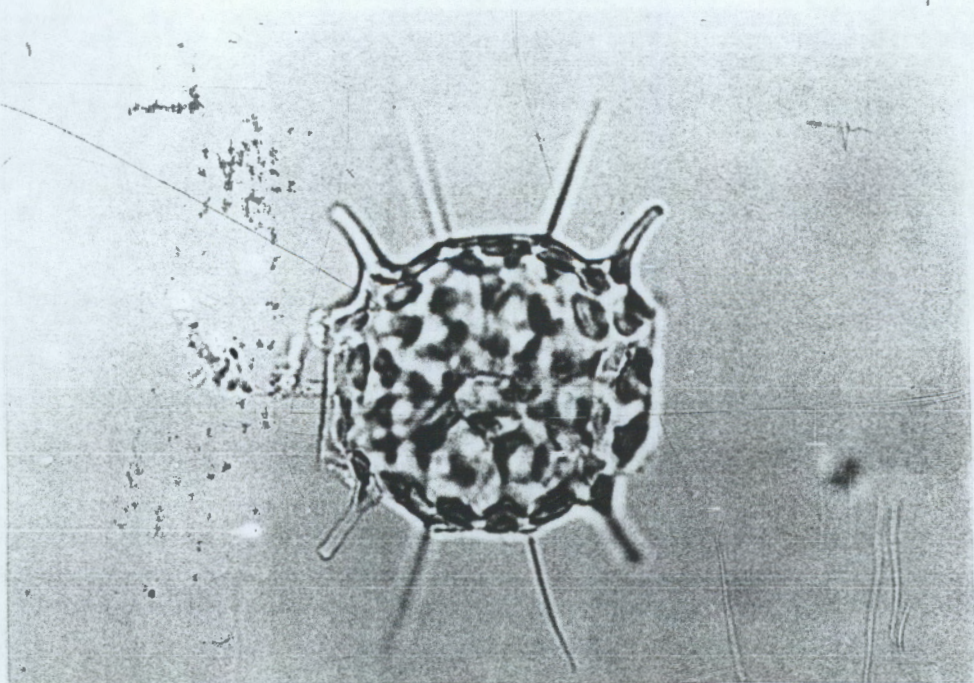
ภาพที่ 15 แสดงชนิดของไดอะตอม *Thalassiosira* sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์



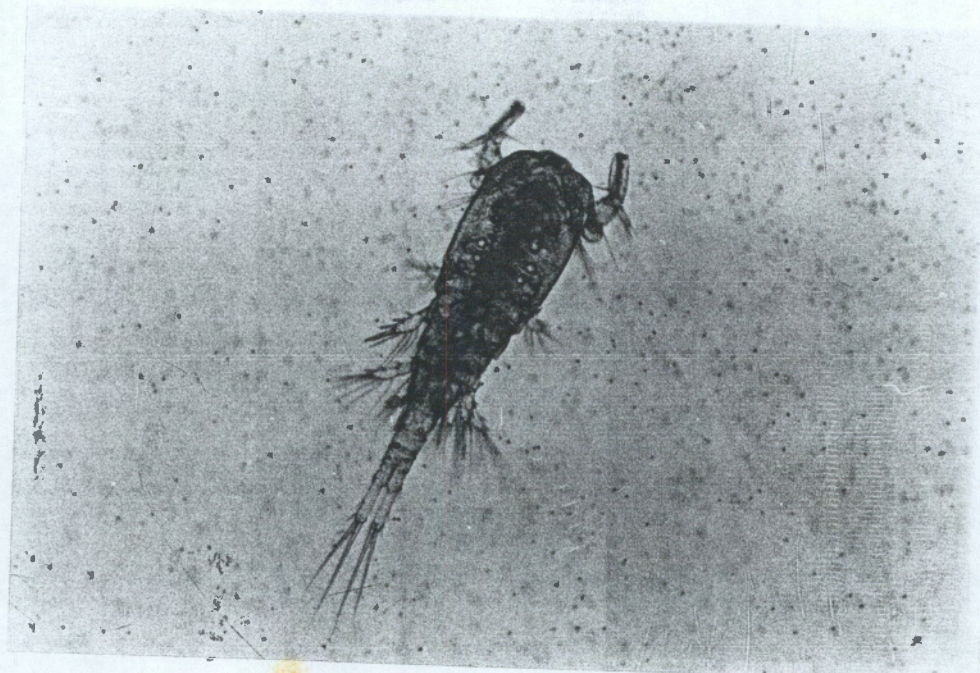
ภาพที่ 16 แสดงชนิดของไดอะตอม *Melosira* sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์



ภาพที่ 17 แสดงชนิดของไดอะตอม *Lithodesmium* sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์



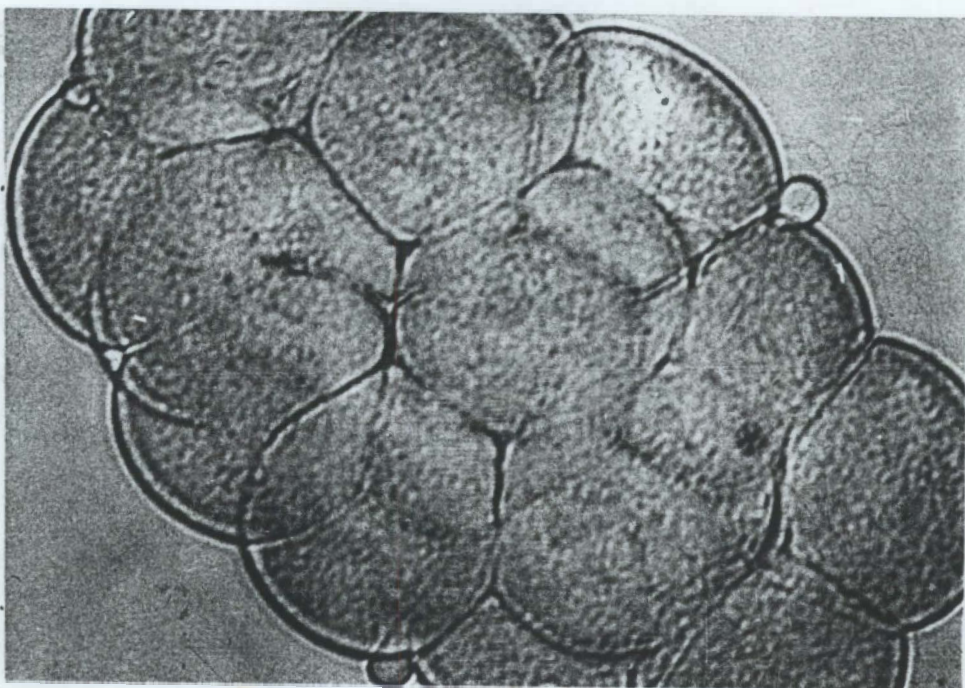
ภาพที่ 18 แสดงชนิดของไดอะตอม *Biddulphia* sp. ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์



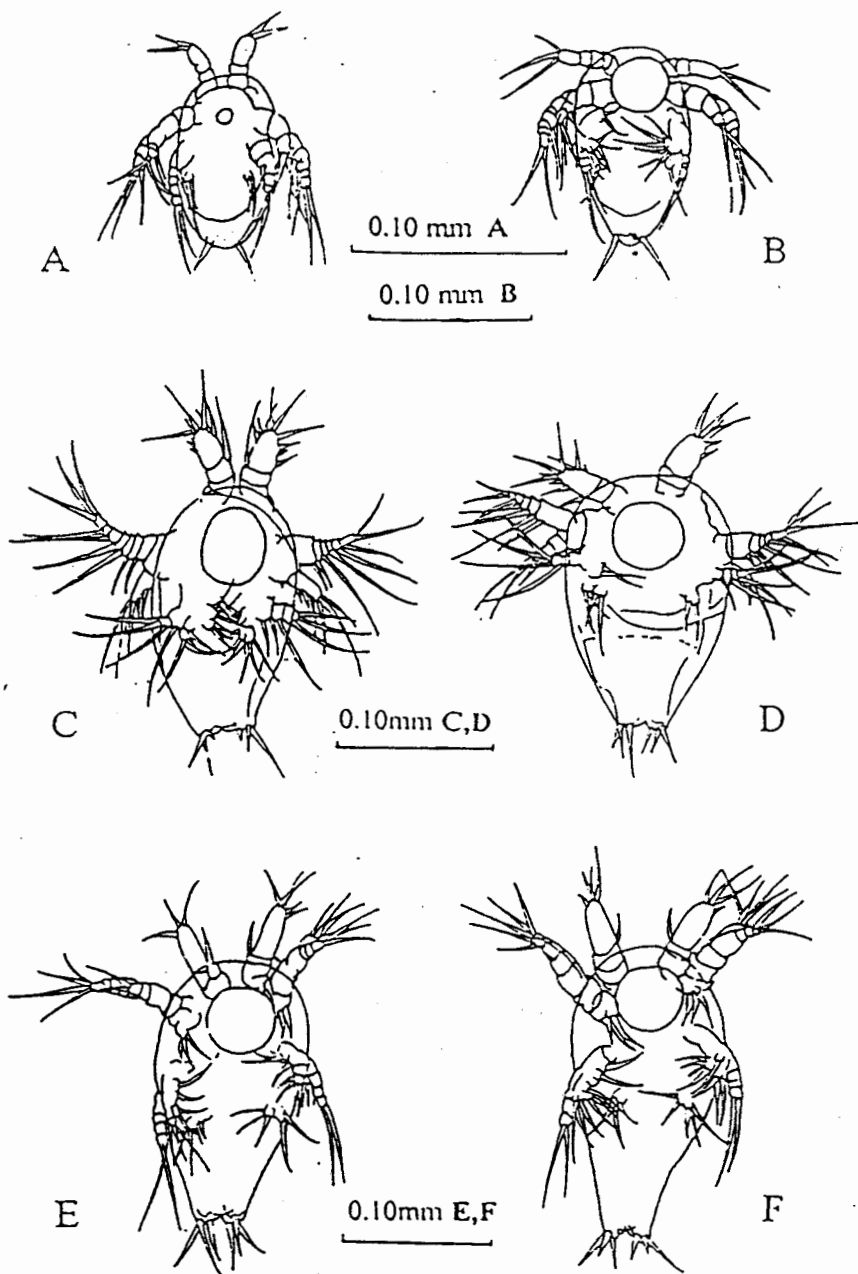
ภาพที่ 19 แสดงภาพโคพีพอด *Apocyclops* sp. เพศผู้ของตัวเต็มวัย



ภาพที่ 20 แสดงภาพโคพีพอด *Apocyclops* sp. เพศเมียของตัวเต็มวัย



ภาพที่ 21 แสดงภาพพวงไข่(egg sac) ของโคพีพอด *Apocyclops* sp.



ภาพที่ 22 แสดงภาพด้านท้องของโคพีพอด *Apocyclops* sp. ในระยะนอเพียด

A: นอเพียด I

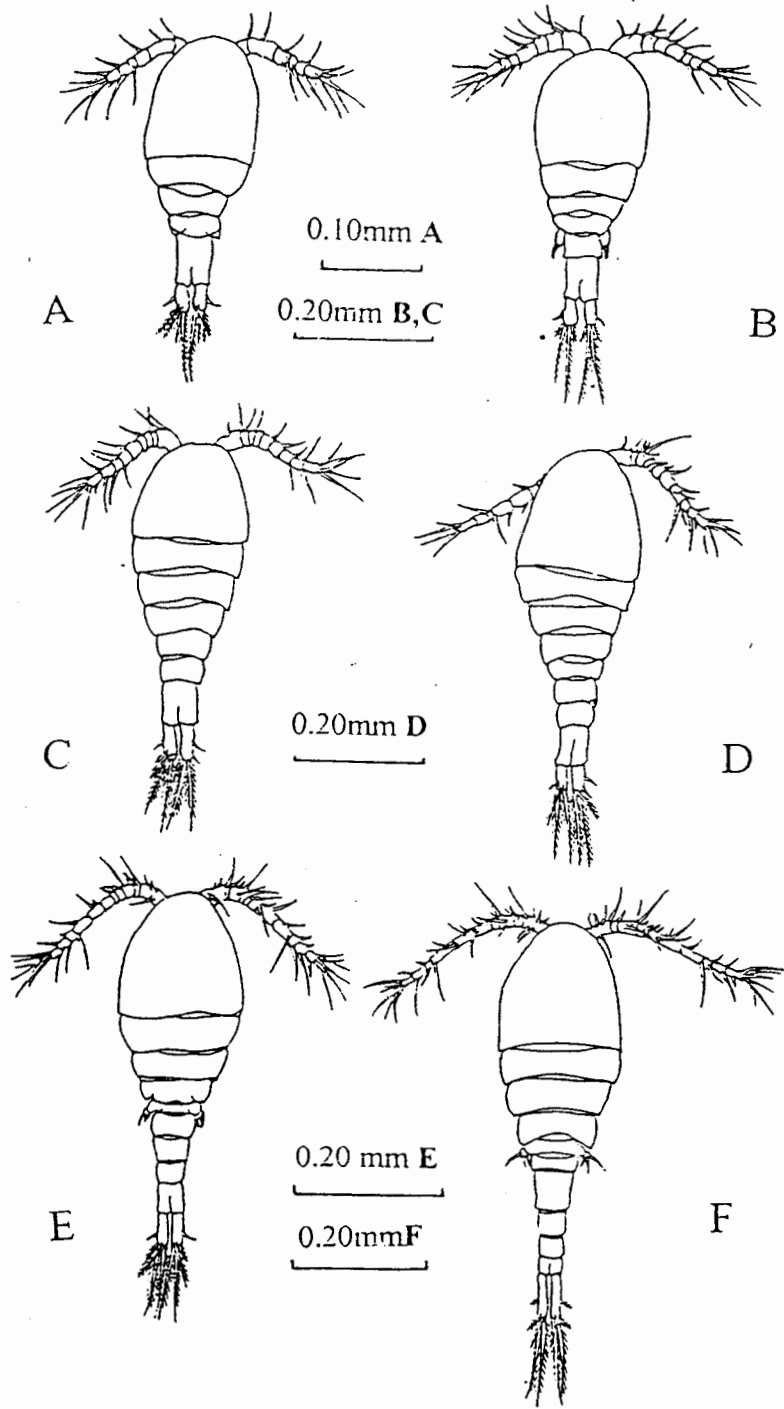
B: นอเพียด II

C: นอเพียด III

D: นอเพียด IV

E: นอเพียด V

F: นอเพียด VI (ตัวเต็มวัย)



ภาพที่ 23 แสดงภาพด้านหลังของโคพีพอด *Apocyclops* sp. ในระยะโคพีไปติด

A : โคพีไปติด I

B : โคพีไปติด II

C : โคพีไปติด III

D : โคพีไปติด IV

E : โคพีไปติด V

F : โคพีไปติด VI (ตัวเต็มวัย)

สรุปและวิจารณ์

สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) ที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ จุดมุ่งหมายเพื่อจะเลือกชนิดและเซลล์ของสาหร่ายที่มีความคงทนต่อสภาวะแวดล้อมในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากบางชนิดมีความอ่อนแอ ไม่คงทนและมีชีวิตอยู่ในช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้นก็จะตาย ซึ่งไม่เหมาะสมกับสัตว์น้ำที่กินอาหารมีชีวิต เช่น *Tetraselmis* sp., *Chaetoceros* sp. เหมาะสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งและลูกปลาวัยอ่อนได้ ส่วน *Chlorella* sp. ไม่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารโคพีพอด (ธิดา และ ฐานันตร์, 2521) และตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากชายฝั่งทะเลที่รวบรวมจากจังหวัดสมุทรปราการ และจากเกาะเปริด จังหวัดจันทบุรี จากทั้งสิ้น 12 สถานีที่ศึกษา จำนวน 2 ชนิด มาทดลองดูการเจริญเติบโตที่ความเค็ม 5 ระดับ คือ 20, 25, 30 35 และ 40 ส่วนในพัน พบว่าที่ความเค็ม 35 ส่วนในพันส่วน เซลล์มีขนาดความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 12.6 ไมครอน ที่กำลังขยาย 200 เท่า พบว่า เซลล์จะมีขนาดความยาวเฉลี่ยมากกว่าที่ระดับความเค็มต่าง ๆ และพบว่าที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพัน เซลล์ของสาหร่ายจะสั้นและหงิกงอเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลายาวนานมากกว่า 15 วันซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นหรือขาดธาตุอาหารที่จำเป็นซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไปในส่วนนี้

จากการศึกษาไดอะตอมในอาหารแข็งไดอะตอมบางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารแข็งแต่บางชนิดสามารถที่จะเจริญเติบโตในอาหารเหลวได้ดี ไดอะตอม *Navicula* sp. ที่ทำการเลี้ยงเป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์นั้นเป็นแพลงก์ตอนขนาดเล็ก เป็นไดอะตอมชนิด pennate diatom มีลักษณะคล้ายกับการศึกษาของ Round (1977) ที่กล่าวว่าเซลล์ของ *Navicula* sp. ประกอบด้วยฝา 2 ฝา อยู่ด้วยกันซึ่งมีลักษณะสมมาตรเคลื่อนที่ได้อิสระ ชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม เกาะติดกับวัสดุเหมือนกับการศึกษาของ สมภพ อินทสุวรรณ (2525) ซึ่งพบว่า *Navicula* sp. ชอบอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่รวมกัน โดยมากมักเกาะอยู่ตามวัสดุ สามารถเลี้ยงเก็บได้ทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลวเหมือนกับการศึกษาของ สมภพ รุ่งสุภา (2534) ซึ่งได้ทำการศึกษากการแยกเชื้อและการทำให้บริสุทธิ์ สำหรับ *Navicula* sp. เพื่อใช้เป็นอาหารวัยอ่อนของหอยเป่าฮื้อ ได้ทำการเลี้ยง *Navicula* sp. บริสุทธิ์บนอาหารแข็งมีการเจริญเติบโตดี ส่วนไดอะตอม *Melosira* sp. มีลักษณะคล้ายกับของ ลัดดา วงศ์รัตน์ (2542) ที่กล่าวว่าลักษณะของ *Melosira* sp. โดยส่วนใหญ่แล้วจะมีรูปร่างกลม รูปไข่ หรือทรงกระบอก เซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นตรงซึ่งส่วนใหญ่มักจะพบตามบริเวณชายฝั่ง ไดอะตอม *Thalassiosira* sp. มีลักษณะเซลล์ที่ต่อกันเป็นเส้นสายด้วยเส้นใยที่ประกอบด้วย chitin หรือ chitan (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542) เซลล์มีรูปร่างกลมคล้ายกับจานแบนๆ ลวดลายบนฝา

เป็นจุดเล็กๆ สีน้ำตาลเรียงกันเป็นรัศมี และไดอะตอม *Biddulphia* sp. ส่วนใหญ่แล้วเซลล์จะมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวๆ (Hasle and Syvertsen, 1997) ไดอะตอม *Skeletonema* sp. ที่ทำการศึกษาค้นคว้ามีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เหมือนกับการศึกษาของ พูนสิน พานิชสุขและคณะ (2538) ได้ทำการเลี้ยง *Skeletonema* sp. ด้วยอาหารสูตร Guillard " F/2" จำนวนเซลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

ในการศึกษาเรื่องการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์เพื่อใช้สำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยจะดูถึงขนาดและปริมาณของจำนวนโคพีพอด เพื่อความเหมาะสมสำหรับการใช้เป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนซึ่งเป็นปัญหาหลักของผู้ที่ทำการศึกษาดังกล่าวถึงการเพาะเลี้ยงปลากระชังที่ไม่สามารถหาขนาดของอาหารเพื่อไว้อนุบาลลูกปลากระชังวัยอ่อนได้ จึงมีผู้ที่สนใจที่จะค้นคว้าศึกษาถึงปัญหาที่เกิดขึ้นเกี่ยวกับความเหมาะสมของอาหารขึ้น (Masanori Doi and et.al. ,1997) จากการเพาะเลี้ยง *Apocyclops* sp. พบว่าประสบความสำเร็จระดับหนึ่งเนื่องจากสามารถเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้เป็นระยะเวลามากกว่า 3 ปี แต่โคพีพอดกลุ่ม cyclopoid นั้นมีข้อเสียคือจะไม่ปล่อยฟองไข่จึงทำให้ไม่สามารถที่จะแยกไข่ที่แม่พันธุ์ปล่อยออกมาได้ ฉะนั้นวิธีการหนึ่งที่จะนำออกเพื่อยสไปใช้ได้คือการกรองแยกพ่อแม่พันธุ์กับออกเพื่อยสออกจากกันซึ่ง Stottrup, J.P. and et.al (1985) ได้ทำการเลี้ยง *Acartia tonsa* ซึ่งได้เลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้มากกว่า 70 รุ่น โดยเลี้ยงในถัง 200-450 ลิตร และให้ *Rhodomonas baltica* ซึ่งใช้โคพีพอดมีความหนาแน่น 50 และ 100 ตัว/ลิตร จากนั้นทำการเก็บไข่ทุกวันเฉลี่ยตัวเมียจะให้ไข่ 25 ฟอง/ตัว/วัน

ระบบที่ใช้เลี้ยงในการทดลองนี้ยังไม่ดีพอต้องมีการปรับปรุงระบบการคัดแยกกระหว่างพ่อแม่พันธุ์และนอเพื่อยส เนื่องจากมีปัญหาในการกรองเอานอเพื่อยสออกมาใช้ ระหว่างการกรองแบบกालักน้ำจะมีตะกอนฟุ้งปนรวมมากับโคพีพอดที่กรองซึ่งจากการศึกษาของ Zhang, Q. and Uhlig, G. (1993) ได้เพาะเลี้ยงโคพีพอดกลุ่ม harpacticoid ; *Tisbe holothuriae* ในห้องปฏิบัติการมากกว่า 20 ปี โดยเลี้ยงในระบบปิดและระบบเปิด โดยให้อาหาร *Dunaliella tertiolecta*, *Skeletonema costatum* พบว่าในระบบเปิดมีอัตราการตายต่ำกว่า 20 % แต่จากการเพาะเลี้ยง *Apocyclops* sp. โดยให้ *Isochrysis galbana* เป็นอาหารพบว่าอัตราการความหนาแน่นต่ำควรมีการทดลองในอาหารชนิดอื่นเพื่อให้ผลผลิตดีขึ้นแต่ควรคำนึงถึงคุณค่าทางอาหารของโคพีพอดที่จะนำไปเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนด้วย

จากการนำเสนอข้อมูลของรายงานฉบับนี้ยังมีข้อบกพร่องในขั้นตอนการทดลองที่จะต้องทำเพิ่มเติมอีกหลายประการ จึงเห็นควรว่าให้มีการวางแผนการทดลองต่อไปอีก และมีการนำสถิติเข้ามาปรับปรุงการทดลองในเรื่องการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance-ANOVA)

ในกรณีที่มีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องหรือการเปรียบเทียบระหว่างเวลาของซ้ำ อีกทั้งการทำค่าความเที่ยงตรง เปรียบเทียบในแต่ละชุดการทดลอง (treatment) ทั้งสองตัวอย่างที่ยกมาประกอบเพื่อจะให้เห็นว่าสถิติจะถูกใช้เป็นตัวช่วยในการตัดสินใจแสดงและแปรผล เพื่อให้งานวิจัยมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น (วิภูษิต, 2540)

เอกสารอ้างอิง

- ธิดา เพชรมณี และ ฐานันดร ทัดตานนท์. 2521. การทดลองเลี้ยงโคพีพอดบางชนิด. รายงานผล การปฏิบัติงานทางวิชาการ. สถานีประมงจังหวัดสงขลา. กรมประมง. 438 น.
- ธานินทร์ สิงห์ไกรวรรณ. 2532. เทคนิคบางประการในการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อ. ศูนย์พัฒนา ประมงทะเลฝั่งตะวันออก, กองประมงทะเล, กรมประมง. 17 หน้า.
- พูนสิน พานิชสุข , มาวิทย์ อัศวอารีย์ และนพรัตน์ มะเห. 2538. การเพาะเลี้ยงสเกลโลนีมา แบบมหมวล. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 13/2538. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา กรมประมง. 16 หน้า.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2537. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. ภาควิชาวิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 151 หน้า.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาวิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. 851 หน้า.
- วิวัฒนา ลิ้มสุวรรณ .2529. การเปลี่ยนแปลงรูปร่างภายนอกและพฤติกรรมบางประการของ โคพีพอด *Metacyclops minutus* (claus, 1863) . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพ. 117 หน้า.
- วิภูษิต มั่นทะจิตร. 2540. การวิเคราะห์สถิติและการออกแบบการทดลอง(ทางวาริชศาสตร์). คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา. 205 หน้า.
- สมภพ รุ่งสุภา . 2534 . การแยกเชื้อและการทำให้บริสุทธิ์สำหรับ *Navicula* sp. เพื่อใช้เป็นอาหาร ตัวอ่อนหอยเป่าฮื้อ. ในการประชุมวิชาการเรื่องทรัพยากรสิ่งมีชีวิตทางน้ำ ครั้งที่ 3 . บรรณาธิการโดย เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวตและคณะ . 477 – 478 ; กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.
- Atsushi and Yugo Okamura. 1988. Propagation of the Calanoid copepod, *Acartia tseuensis* in outdoor tanks. Aquaculture 70 (1988). pp. 39-51.
- C.M. Jame and A.M. AL-Khars. 1986. Studies on the Production of Planktonic Copepods for Aquaculture, Proceeding of the Second International conference on copepoda Syllogens No.58 National Museum of Canada. pp.330-340.

- Hasle gnethe R. and Syvertsen Erik E. 1997. Marine Diatom. In Identifying marine phytoplankton. Edited by Tomas carmeto R., Academic press Harcourt Brace & company Florida. 5 – 385 pp.
- Katsunuri Kimoto, Shin-Ichi Uye and Takashi Onbe. 1986. Growth Characteristics of a Brakish- water Calanoid copepod *Sinocalanus tenellus* in Relation to temperature and salinity. Bulletin of Plankton Society of Japan Vol. 33, No. 1, pp. 43-57.
- Stottrup, J.G.,Richardson, K., Kirkegaard, E. and Pihl, N.J.1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. Aquaculture ,52:87-96.
- Susumi OHTSUKA, Seisi OHAYE, Atsushi Tanimura. Mitsuo Fukuchi, Hiroshi Hattori, Hiroshi Sasaki and Osamu Matsuda. 1993. Feeding Ecology of, copepodid stages of *Eucalanus bungii* in the Chukchi and Northern Bering Seas in October 1988. Proceeding of the NIPR Symposium on Polar Biology, 6, pp. 27-37.
- Vonshak, A., Boussiba S., Abeliovich A. and Richmond A. 1983. Biotechnology and Bioengineering. v.25, pp. 341-349.
- Zhang, Q.,and Uhlig, G. 1993. Effect of density on larvae development and female productivity of *Tisbe holothuriae* Zcopepoda, Harpacticoida) under laboratory conditions. Biological abstracts Vol.97 Iss.1 ref. 2660.

ภาคผนวก

ตารางที่ 2 สูตรอาหารของกิลลาร์ด (Guillard Medium) หรือ “ f / 2 ”

ก. สารละลาย ส่วนที่ 1

โซเดียมไนเตรด (NaNO_3)	42.074 กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	3.0 กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	1.45 กรัม
โซเดียมอีดีทีเอ (Na_2EDTA)	5.0 กรัม
วิตามิน บี-1	0.2 กรัม
วิตามิน บี-12	0.001 มิลลิกรัม
ไบโอติน (Biotin)	0.05 มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ	1 ลิตร

ข. สารละลาย ส่วนที่ 2

คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	1.96 กรัม
ซิงค์ซัลเฟต (ZnSO_4)	4.40 กรัม
โซเดียมโมลิบเดต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1.26 กรัม
(ถ้าใช้แอมโมเนียมโมลิบเดต- (NH_4) $6\text{MoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ แทน)	6.43 กรัม
แมงกานีสคลอไรด์ ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	36.0 กรัม
โคบอลท์คลอไรด์ ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	2.0 กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ	1 ลิตร

ค. สารละลาย ส่วนที่ 3

โซเดียมเมตาซิลิเกต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	16.50 กรัม
เติมน้ำกลั่นจนครบ	1 ลิตร

วิธีเตรียมอาหาร

นำสารละลายส่วนที่ 1 และส่วนที่ 3 มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร และสารละลายส่วนที่ 2 มา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

ตารางที่ 3 สูตรอาหารของ "Sato medium"

เพื่อเอาไว้สำหรับขยายสายพันธุ์ขนาดเล็กเช่น สายพันธุ์สีเขียว, สายพันธุ์สีน้ำตาล และ

ไดอะตอมแบบปริมาณมหวมวล

โซเดียมไนเตรต (NaNO_3)	100	กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	10	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)	2.5	กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)	5	กรัม
น้ำทะเลผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	500	ลิตร

ตารางที่ 4 สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสายพันธุ์สีเขียวกัมมน้ำเงิน

สารเคมี	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)		
	สูตร BG-11	สูตร MN	สูตร ASN-III
NaCl	-	-	25
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-	-	2
KCl	-	-	0.5
NaNO_3	1.5	0.75	0.75
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.04	0.02	0.02
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.075	0.038	3.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.036	0.018	0.5
Citric acid	0.006	0.003	0.003
Ferric Ammonium Citrate	0.006	0.003	.003
EDTA (Na_2Mg salt)	0.001	0.005	0.0005
Trace metal solution	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l
Na_2CO_3	0.02	0.02	0.02
Sea water	-	750 ml	-
Deionized water	1,000 ml	250 ml	1,000 ml
pH after autoclaving and cooling	7.4	8.3	7.5

ตารางที่ 5 สูตรอาหารแข็งโปรตีเอส อาการ์ (protease agar)

วุ้นผง	13-15	กรัม
โปรตีเอส เปปโตน (protease peptone)	1	กรัม
ปุ๋ยสูตร "Guillard" ส่วนที่ 1	2	มิลลิลิตร
ปุ๋ยสูตร "Guillard" ส่วนที่ 2	1	มิลลิลิตร
ปุ๋ยสูตร "Guillard" ส่วนที่ 3	2	มิลลิลิตร
วิตามิน	1	หยด
น้ำทะเลธรรมชาติ	1	ลิตร