ผลของความเค็มและการเก็บเกี่ยวผลผลิตต่อการเพิ่มจำนวนและองค์ประกอบของโคพีพอดธรรมชาติที่เลี้ยงด้วยรำหมัก

Effect of Salinity and Harvesting on Population Dynamics and Composition of Natural Copepods Fed with Fermented Bran

ดวงทิพย์ อู่เงิน*, วรเทพ มุธุวรรณ, ศิรประภา ฟ้ากระจ่าง และ ชลธิชา สุขประเสริฐ

Doungtip Ourgern*, Vorathep Muthuwan, Siraprapa Fakrajung and Chonticha Sakpraseat

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

Institute of Marine Science, Burapha University

Received : 3 August 2022

Revised : 27 September 2022

Accepted : 19 October 2022

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการทดสอบผลของความเค็มที่ต่างกัน 3 ระดับ (28, 30, 32 ppt) และการเก็บเกี่ยวผลผลิตระหว่างการเก็บเกี่ยวผลผลิตหนึ่งครั้ง (วันที่ 30 สิ้นสุดการทดลอง) และสองครั้ง (ครึ่งหนึ่งวันที่ 12 และ วันที่ 30 สิ้นสุดการทดลอง) ต่อการเพิ่มจำนวน และองค์ประกอบของโคพีพอดในธรรมชาติ โดยการให้อาหาร (รำหมัก) เป็นอาหารครั้งเดียวเมื่อเริ่มทดลองที่ความเข้มข้น 150 ppm วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial design) ที่ความจุน้ำ 10 ลิตร ทั้งหมด 18 ใบ เป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองพบว่าโคพีพอดมีการตอบสนองโดยการเพิ่มจำนวนโคพีพอดในช่วงแรกก่อนลดจำนวนลงในแนวทางเดียวกัน ที่ความเค็ม 28 ppt ทั้งชุดการทดลองที่เก็บเกี่ยวผลผลิต 1 ครั้งและ 2 ครั้ง ในวันที่ 2 พบความหนาแน่นของโคพีพอดมีค่าสูงสุด(ค่าเฉลี่ย±SE) 3.1±0.3 ตัว/ มล. และ 2.8 ±0.3 ตัว/ มล. ก่อนความหนาแน่นกลับเพิ่ม สูงขึ้น ในวันที่ 10 มีค่าเฉลี่ย (±SE) 2.8±0.4 ตัว/ มล. และ 1.0 ±0.2 ตัว/ มล. ตามลำดับ แตกต่าง ($p<0.01$) จากโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 30 ppt และ 32 ppt พบว่าความหนาแน่นของโคพีพอดเพิ่มขึ้น(ค่าเฉลี่ย±SE) 1.3±0.1 ตัว/ มล. และ 0.9-0.1 ตัว/ มล. ในช่วงวันที่ 12-14 ก่อนมีการลดลงในแนวทางเดียวกัน สำหรับการเก็บเกี่ยวผลผลิตพบว่าการเก็บเกี่ยวผลผลิตครึ่งหนึ่ง ในวันที่ 12 ไม่ทำให้ความหนาแน่นของโคพีพอดลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยกลุ่มชนิดของโคพีพอดที่พบมากที่สุดคือ คาลานอยล์ ไซโคลพอยด์ ฮาร์แพคทิคอยด์ (ร้อยละ 59.1±0.1, 27.9, 12.5) และสัดส่วนร้อยละของระยะการเติบโตของโคพีพอดที่พบมากที่สุดคือ นอเพลียส ตัวเต็มวัย โคพีโพดิด และตัวเต็มวัยที่มีไข่ (ร้อยละ 55.8±4.8, 24.5±3.4, 19.2±2.1, 0.5±0.2) ตามลำดับ ผลการทดลองสรุปได้ว่าโคพีพอดเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่ความเค็มต่ำ (28 ppt) และการเก็บเกี่ยวผลผลิต 2 ครั้ง ทำให้ผลผลิตของโคพีพอดมากขึ้น

คำสำคัญ : ความเค็ม ; การเก็บเกี่ยว ; รำหมัก ; โคพีพอด

Abstract

An experiment was conducted to study the effect of 3 different salinity levels (28, 30, 32 ppt) and frequency of harvesting at the end (30 days.) and double harvesting on days 12 and 30 (the end) fed with fermented bran as concentration 150 ppm first feeding only. Factorial design in eighteen of 10-liter plastic tanks for 30 days. The results showed that responded copepods by increasing the maximum copepod density was (mean±SE) 3.1±0.3 and 2.8±0.3 ind./mL on day 2 before the reversal at high density (Mean±SE) 2.8±0.4 and 1.0±0.2 ind./ mL in day 10 at salinity 28 ppt in both 2 harvests, respectively. Different ($p<0.01$) at high salinity 30 and 32 ppt to copepod density was (mean±SE) 1.3±0.1 and 0.9-0.1 ind./mL at 12-14 days before increasing at the same approach. Half-harvested copepods at 12 days did not affect of density copepods in the end. Most types of copepod were order calanoid, cyclopoid and harpacticoid copepod (Percent 59.1±0.1, 27.9, 12.5) and the stage were nauplii, adult, copepodite and adult with eggs (Percent 55.8±4.8, 24.5±3.4, 19.2±2.1, 0.5±0.2), respectively. Concluded there were copepods prefer salinity of 28 ppt and double harvesting increased the production of copepods.

Keywords : salinity; harvest ; rice bran ; copepod

***Corresponding author.** E-mail : Doungtip@go.buu.ac.th

บทนำ

การเพาะเลี้ยงโคพีพอดมักมีขั้นตอนและความยากของการเพาะเลี้ยงมาก โคพีพอดแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ดีในการสภาพแวดล้อมและชนิดของอาหารที่แตกต่างกัน ปัจจุบันจึงได้มีการนำการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการเลี้ยงกุ้งระบบอิงธรรมชาติ (Aquamimicry) เป็นเทคโนโลยีการปรับสมดุลระหว่างแพลงก์ตอนในธรรมชาติที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก ด้วยแนวคิดจำลองสภาพของบริเวณปากแม่น้ำที่มีประชากรส่วนใหญ่เป็นโคพีพอดหลากหลายชนิดมาเสริมในการเลี้ยงกุ้งและทำให้เกิดแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อคุณภาพน้ำ ซึ่งสามารถทำได้โดยการหมักวัตถุดิบที่เป็นแหล่งคาร์บอน เช่น ข้าวหรือรำข้าวกับโปรไบโอติก เช่น *Bacillus* sp. และปล่อยสารอาหารออกมา (Health & Welfare, 2017) เป็นเทคโนโลยีการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบใหม่ที่มีความยั่งยืน โดยอาศัยอิงธรรมชาติ ลดการใช้สารเคมี และใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อสร้างสภาพแวดล้อมในบ่อเลี้ยงให้เกิดความสมดุล พิสูจน์ว่าสามารถแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงหนาแน่นแล้วก่อให้เกิดของเสีย และโรคตามมา ซึ่งการใช้สารเคมีไม่สามารถแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นได้ ระบบเลี้ยงกุ้งอิงธรรมชาตินี้ใช้แบคทีเรียที่คัดเลือกสายพันธุ์แล้ว (*Bacillus subtilis, B. amyloliquefaciens, B. valismortis*) (Aquamimicry, 2002) มาย่อยสลายวัตถุดิบ ได้แก่ รำละเอียด ถั่วเหลือง เพื่อให้เกิด แล้วใช้รำหมัก และ/หรือถั่วหมัก (Symbiotic) ในการเตรียมบ่อ ปรับปรุงคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยง หรือผสมอาหาร และจากการใช้รำหมักในการเตรียมบ่อ ทำให้เกิดแพลงก์ตอนสัตว์จำนวนมากขึ้นภายในบ่อในระยะเวลา 3 ถึง 5 วัน หลังจากที่มีการเติมรำหมัก ในอัตราส่วนที่กำหนดลงไปในบ่อ และชนิดเด่นของแพลงก์ตอนสัตว์ที่พบ คือ โคพีพอด (Romano, 2017) แต่ยังพบว่ากำลังการผลิตโคพีพอดยังมีไม่เพียงพอ ทั้งนี้อาจเป็นสาเหตุมาจากหลายๆ ปัจจัยหนึ่งในนั้นคือสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม และช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิตปัจจัยเหล่านี้ควรมีการศึกษาเพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงโคพีพอด ความเค็มจัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่ออัตรารอดการเจริญเติบโตและการวางไข่ของโคพีพอด (Nagaraj, 1992; Miller & Marcus, 1994; Long & He, 1995; Wang, 1995; Lin *et al.*, 1998; Huang *et al.*, 2000) หากความเค็มที่เพาะเลี้ยงโคพีพอดไม่เหมาะสมจะส่งผลต่อการเติบโต เช่น โคพีพอด *Pseudodiaptomus annandalei* เมื่อเลี้ยงที่ความเค็ม 5, 10, 15, 20, 25 ppt พบว่าทำให้โคพีพอดชนิดนี้มีผลผลิตสูง แต่หากเลี้ยงไว้ที่ความเค็ม 30 และ 35 ppt โคพีพอดไม่สามารถวางไข่ได้ ถุงไข่จะหลุดออกและไข่ไม่ฟักถึงแม้เลี้ยงในอัตราส่วนเพศเมียสูงกว่าเพศผู้และส่วนใหญ่ตายหมดในวันที่ 10 ที่ความเค็ม 30 และ 35 ppt (Chen *et al.*, 2006) หรือในโคพีพอดกลุ่มคาลานอยด์โคพีพอด *Acartia ohtsukai* ที่ทดสอบการเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน 10, 15, 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียสและความเค็มที่ต่างกัน 10, 15, 20, 25, 27, 30 และ 33 ppt สำหรับการเก็บเกี่ยวผลผลิตของโคพีพอดเมื่อเลี้ยงก็มีผลต่อการทำให้ทราบว่าควรมีการเกี่ยวผลผลิตในช่วงใดไปใช้งานเพื่อที่จะให้โคพีพอดสามารถเพิ่มจำนวนและเลี้ยงต่อไปได้ ในรายงานของ Santhosh *et al.*, (2018) สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตของโคพีพอดในช่วงวันที่ 15-30 เพื่อให้จำนวนโคพีพอดเพิ่มขึ้น 1000 ตัว/ ล. และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตต่อเนื่องที่ประมาณ 10% ของถังเลี้ยง หากต้องการเก็บเกี่ยวนอเพลียสให้กรองผ่านสวิงกรองขนาด 200 ไมโครเมตรลงสู่ 30 ไมโครเมตร และนำโคพีพอดระยะนอเพลียส ที่สวิงกรอง 30ไมโครเมตร มาลงเลี้ยงที่ถัง 50 ล.หรือ 100 ล. ดังนั้นผลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้สามารถใช้เป็นพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดธรรมชาติให้ได้จำนวนมากต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ผลของระดับความเค็มและการเก็บเกี่ยวผลผลิตต่อการเพิ่มจำนวนของโคพีพอด

ออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial design) ประกอบไปด้วย 2 ปัจจัย คือ ระดับความเค็มของน้ำที่ต่างกัน 3 ระดับ คือ 28, 30 และ 32 ส่วนในพันส่วน และผลของการเก็บเกี่ยวผลผลิต คือ มีการเก็บเกี่ยวผลผลิตครึ่งหนึ่ง (วันที่ 12 ของการทดลอง) และเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (วันที่ 30 ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการทดลอง) จำนวน 3 ซ้ำ แบ่งการทดลองออกเป็นสองการทดลอง คือ การทดลองแรก เพื่อศึกษาการตอบสนองของโคพีพอดต่อระดับความเค็มและการเก็บเกี่ยว และการทดลองที่สอง เพื่อศึกษาการตอบสนองของโคพีพอดต่อระดับความเค็มและการเก็บเกี่ยว ซึ่งทั้งสองการทดลองมีปัจจัยและระดับของการทดสอบเช่นเดียวกัน

การเตรียมภาชนะเพื่อการทดลองและน้ำทะเลที่ใช้ในการทดลอง

ทดลองในถังพลาสติกขนาดความจุ 10 ลิตร จำนวนทั้งสิ้น 18 ใบ จำนวน 36 ใบ (Figure 1) ในแต่ละถังมีหัวจ่ายอากาศจำนวน 1 หัว เพื่อหมุนเวียนน้ำและเพิ่มออกซิเจนละลายน้ำ กรองน้ำทะเลธรรมชาติชายฝั่งในขณะนั้นที่ความเค็ม 32 ppt ผ่านผ้ากรองขนาด 1 มล. เพื่อกำจัดตัวอ่อนสัตว์น้ำรวมถึงไฮโดรซัวและใช้ผ้ากรองขนาด 32 ไมโครเมตร และพักลงเลี้ยงในบ่อความจุน้ำ 500 ลิตร จำนวน 3 บ่อ ก่อนค่อยๆ ปรับลดความเค็มน้ำตามแผนการทดลองวันละ 1 ppt จนได้ความเค็มที่กำหนดไว้ตามแผนการทดลอง และเพื่อเพิ่มความหนาแน่นของโคพีพอดให้เพียงพอต่อการทดลอง จากนั้นนำมากรองผ่านสวิงกรองมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และนับความหนาแน่นเริ่มต้นด้วย Sedgewick Rafter Counting Chamber

Figure 1 Copepod culture tanks

แหล่งของโคพีพอดเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองและวิธีการเตรียมเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

สูบน้ำทะเลด้วยปั๊มขนาด 3 นิ้ว จากชายฝั่ง ณ ชายทะเล บริเวณหน้าสถานีวิจัยย่อยชะอำ ต.บางเก่า อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี ในช่วงเวลาน้ำขึ้น แพลงก์ตอนสัตว์ที่เป็นกลุ่มเป้าหมาย คือ โคพีพอดระยะต่างๆ คือ Nauplii, Copepodite, Adult และ Adult with egg กรองน้ำทะเลจนได้ตัวอย่างของโคพีพอดเพียงพอสำหรับใช้ในการทดลอง 1 ตัว/ มล. รวบรวมโคพีพอดที่กรองได้ ย้ายไปใส่ในภาชนะที่มีน้ำทะเลเตรียมไว้แล้วและปรับปริมาตรให้ได้ 50 ล. หลังจากนั้นสุ่มตัวอย่างน้ำที่มีโคพีพอดอยู่ นำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Sedgewick Rafter Counting Chamber หากจำนวนโคพีพอดเริ่มต้นไม่มากพอ เติมโคพีพอดที่กรองเพิ่มไว้ใส่ลงไปแล้วนับอีกครั้ง จนกว่าโคพีพอดที่ใช้ในการทดลองมีจำนวนที่นับได้อยู่

ระหว่าง 500-1,000 ตัว/ล. เนื่องจากน้ำทะเลขณะที่ทำการสูบมานั้นมีความเค็มเท่ากับ 34 ppt จึงทำการปรับความเค็มของน้ำให้ลดลงด้วยน้ำจืด โดยใช้ระยะเวลาในการลดความเค็ม 1 ppt ต่อระยะเวลา 1 วัน จนได้ความเค็มที่กำหนดในการทดลอง และทำการสุ่มนับอีกครั้งเพื่อประเมินจำนวนโคพีพอดที่มีอยู่เพื่อนำไปใช้ในงานทดลองที่ความหนาแน่นเริ่มต้น 1.0±0.2 ตัว/ มล. โดยฝนระหว่างการทดลองมีการดำเนินการตัวสอบคุณสมบัติของน้ำให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม เช่น ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม และอุณหภูมิ ทุกวัน

วิธีการเตรียมรำข้าวหมัก และการเติมรำข้าวหมักในภาชนะทดลอง

นำรำละเอียดมาหมักด้วยแบคทีเรียที่คัดเลือกสายพันธุ์ไว้ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งทะเลในระบบอิงธรรมชาติ (*Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus valismortis*; Total bacillus count : >1.0 x 10^9 cfu ml^-) ตามกรรมวิธีที่ระบุไว้โดยผู้ผลิตล่วงหน้าก่อนการทดลอง วิธีใช้ อิงตามคำแนะนำของคู่มือการใช้ผลิตภัณฑ์ของบริษัท คือ รำละเอียด 100 กก. ต่อปริมาตน้ำ 1,000 ลูกบาศก์เมตร (100 ppm หรือ 100 ก. ต่อ 1 ลูกบาศก์เมตร) โซเดียมไบคาร์บอเนต 20 กก. (20 ของน้ำหนักรำละเอียด) แบคทีเรียจำนวน 1 ขวด (500 มล.) หรือ 5 มิลลิตรต่อรำละเอียด 1 กิโลกรัม หมักทิ้งไว้ 24-48 ชั่วโมง ไม่มีการให้อากาศ (ใช้ถังใหญ่กว่าปริมาณหมักอย่างน้อย 4-5 เท่าและกวนเป็นช่วงๆ เพื่อมิให้เกิดฟองและเนื้อรำละเอียดล้นถัง) เมื่อหมักเสร็จ รำหมักจะกลายของเหลวเกือบหมด (ซินไบโอติคส์คือเยื่อใยไฟเบอร์ที่ละลายแล้วบางส่วนและจุลินทรีย์ที่รวมอยู่ในเนื้อผิวรูพรุนของเนื้อรำ) ก่อนจะนำน้ำรำหมักไปใช้ กรองเศษข้าวหักและแกลบออกก่อนโดยใช้ผ้ากรองขนาดตา 1 มม.แล้วจึงนำของเหลวที่ผ่านผ้ากรองไปใช้เป็นอาหาร ที่ความเข้มข้น 150 ppm เมื่อเริ่มทดลองเพียงครั้งเดียว (Figure 2)

Figure 2 Fermented rice bran (Rice bran, $NaHCO_3$, *Bacillus* sp.)

วิธีการสุ่มเก็บการเก็บรักษาการนับการจำแนกกลุ่ม ระยะของการเจริญ วิธีบันทึกภาพตัวอย่าง และการวัดขนาด

สุ่มตัวอย่างแพลงก์ตอนทุกวันเว้นวันจากทุกภาชนะทดลองละ 3 ตัวอย่าง (Figure 3) ปริมาตรของการสุ่มขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของจำนวนโคพีพอดที่พบในภาชนะทดลอง โดยในการสุ่มตัวอย่างเก็บตัวอย่างน้ำจำนวน 50 มิลลิลิตร เติมน้ำยาที่ใช้เก็บรักษาตัวอย่าง (บัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน) ความเข้มข้นที่ 0.1% จำนวน 0.5 มล. ต่อปริมาตรน้ำ 50 มล. หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้ตัวอย่างตกตะกอนแล้วจึงดูดน้ำใสส่วนบนออกไป และเก็บตัวอย่างส่วนล่างที่มีตะกอนไว้ปริมาณ 10 มล. เพื่อนำไปนับจำนวน และทำการสุ่มตัวอย่างในแต่ละตู้ทดลองทุกวันเว้นวัน นำไปจำแนกกลุ่มของโคพีพอดที่พบ และนับจำนวนที่พบตลอดการทดลองในช่วงระยะเวลา 30 วัน และนับความหนาแน่นโคพีพอดที่เก็บไว้ด้วย

Sedgewick Rafter Counting Chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ระหว่างการนับทำการจำแนกกลุ่มของ Cyclopoid หรือ Calanoid หรือ Harpacticoid ที่พบในน้ำตัวอย่างแยกออกจากกัน ตลอดจนนับแยกระยะการเจริญเติบโตของโคพีพอด ระยะ Nauplii, Copepodite, Adult และ Adult with egg พร้อมกับบันทึกภาพ โดยเทียบตัวอย่างกับ Ocular micrometer ที่ผ่านการปรับตั้งค่ากำลังขยายกับ Stage micrometer เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ที่กำลังขยายของกล้อง 4x หรือ 10x หรือ 40x แล้วจึงนำภาพที่บันทึกไว้ไปทำการวัดขนาดด้วยโปรแกรมวัดขนาดภาพ ImageJ เพื่อใช้เป็นข้อมูลชนิดและขนาดสำหรับนำไปปรับใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Figure 3 Example of copepods keep in the tube during the experiment

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนโคพีพอดที่พบสูงสุดในแต่ละชุดการทดลอง และค่าเฉลี่ยของกลุ่มของโคพีพอดที่พบเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 30 วัน ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละปัจจัยและผลร่วมของปัจจัยด้วยวิธีเปรียบเทียบแบบออโทโกนอล (orthogonal comparison) โดยโปรแกรมทางสถิติ SPSS

ผลการวิจัย

ผลของระดับความเค็มและการเก็บเกี่ยวต่อการเพิ่มจำนวนของโคพีพอด

จากผลการทดลองที่แสดงใน Figure 4 แสดงให้เห็นว่าโคพีพอดที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเลี้ยงด้วยความเค็มที่ต่างกัน 28, 30 และ 32 ppt และการเก็บเกี่ยวผลผลิตระหว่างการเก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งเดียวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และการเก็บเกี่ยวผลผลิต 2 ครั้ง (ครึ่งหนึ่งในวันที่ 12 ของการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง) ตลอดระยะเวลาการทดลอง 30 วัน มีรูปแบบการตอบสนองเพิ่มจำนวนในช่วงแรกจากนั้นจึงลดจำนวนลงเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 28 ppt ทั้งชุดการทดลองที่เก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งเดียวและสองครั้ง มีความหนาแน่นที่พบมากสุด 3.1±0.3 และ 2.8±0.3 ตัว/ มล. ในวันที่ 2 จากนั้นในวันที่ 4-6 ความหนาแน่นของโคพีพอดมีการลดลง ก่อนที่ความหนาแน่นเพิ่มขึ้นในวันที่ 8-10 ก่อนกับมาขึ้นสูงในวันที่ 10 เฉลี่ย 2.8±0.4 และ 1.0±0.2 ตัว/ มล. แตกต่าง (p<0.01) กับโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 30 ppt มีความหนาแน่นสูงสุดเฉลี่ย 1.3±0.1 ตัว/ มล. มีแนวโน้มการเพิ่มและลดจำนวนเช่นเดียวกัน ในขณะที่

โคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 32 ppt ในแต่ละชุดการทดลองมีความหนาแน่นของโคพีพอดเพิ่มขึ้นสูงสุดเพียง 0.9-0.1 ตัว/ มล. ในช่วง 2-14 วันแรก จากนั้นความหนาแน่นลดลงเหลือ 0.5 ตัว/ มล. ตั้งแต่ในวันที่ 12

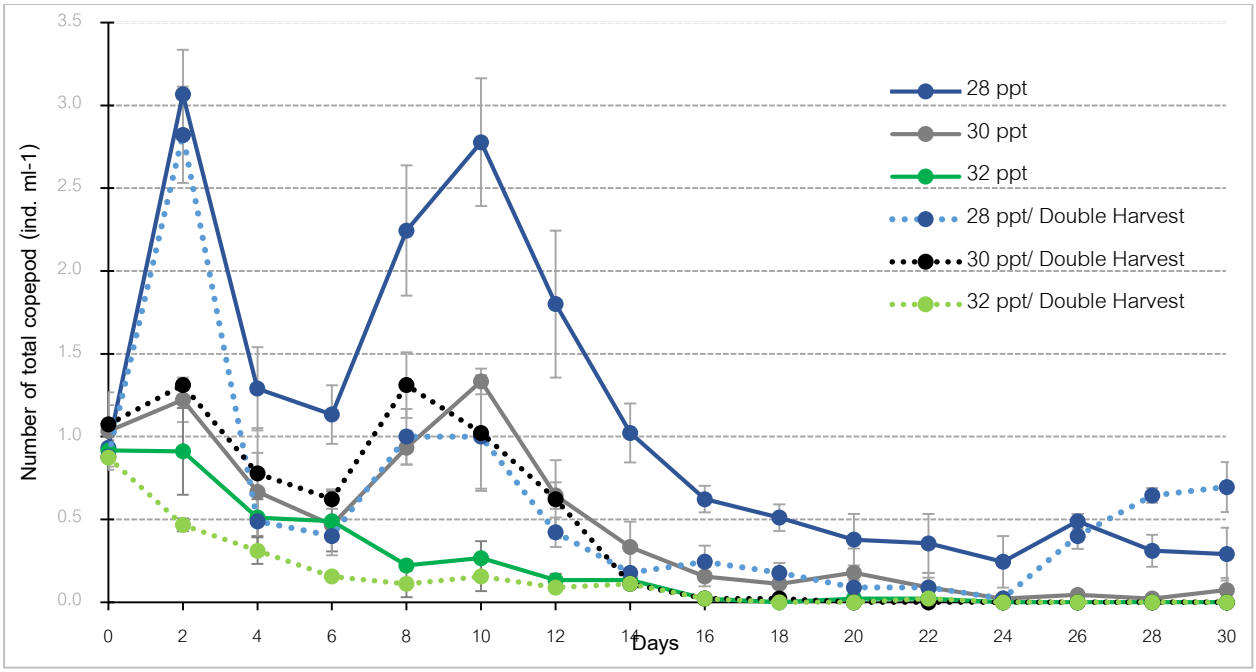
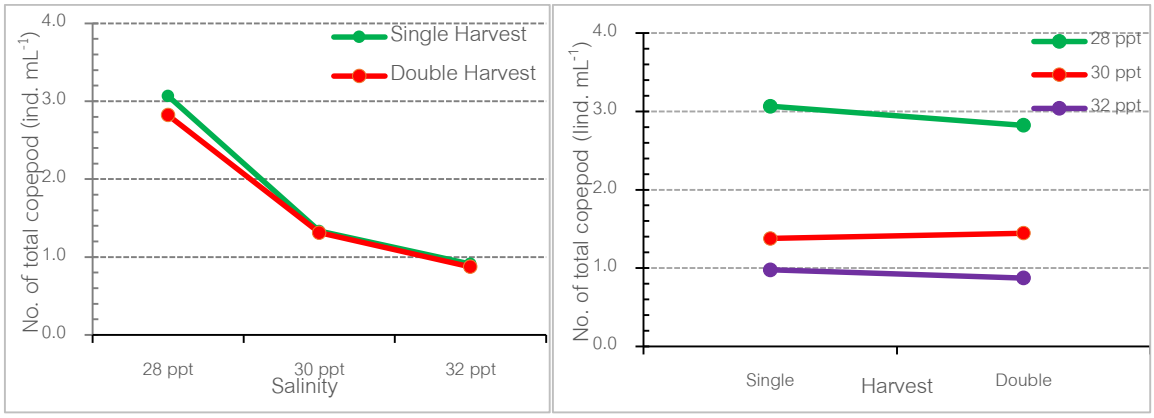


Figure 4 Number of total copepods (Ind./ mL.) to three different salinity levels 28, 30 32 ppt and frequency of harvesting at the end (30 days) and twice harvesting on days 12 and 30 (end)

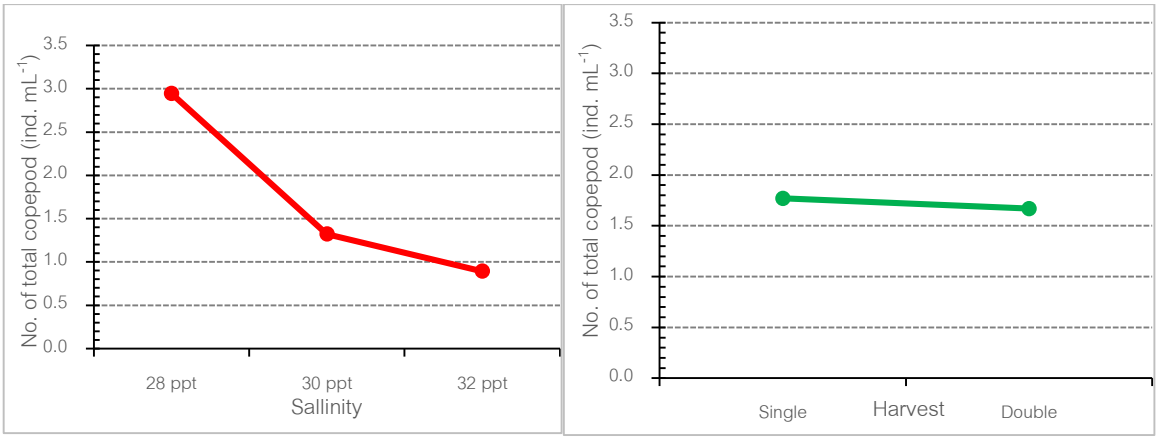
เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลร่วมของปัจจัยทดสอบทั้งสองปัจจัย (Interation) คือ ความเค็ม 3 ระดับ 28, 30 และ 32 ppt และการเก็บเกี่ยวผลผลิต (1 ครั้ง และ 2 ครั้ง) ต่อการเพิ่มจำนวนของโคพีพอด ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของโคพีพอดที่เพิ่มขึ้นสูงสุดนั้นไม่เกิดจากอิทธิพลร่วมกันของระดับความเค็มและการเก็บเกี่ยวผลผลิต *(p>0.05)* การเก็บเกี่ยวผลผลิตครึ่งหนึ่งในวันที่ 12 ไม่ทำให้ความหนาแน่นของโคพีพอดลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Figure 5 a และ b)

หากพิจารณาแยกแต่ละปัจจัยทดสอบ พบว่าระดับของความเค็มที่แตกต่างกันนั้นมีผลต่อความหนาแน่นของโคพีพอด คือ โคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุดที่ระดับความเค็ม 28 ppt และความหนาแน่นลดลงเมื่อความเค็มสูงขึ้น โดยมีความหนาแน่นเฉลี่ย 2.9±0.1, 1.3±0, 0.9±0 ตัว/ มล. *(p<0.01)* (Figure 6 a) ในขณะที่การเกี่ยวผลผลิต 2 ครั้ง ไม่ส่งผลต่อการลดลงของความหนาแน่นของโคพีพอด โดยมีความหนาแน่น 1.8±0.8 และ 1.7±0.7 ตัว/ มล. *(p>0.05)* ตามลำดับ (Figure 6 b)



a b

Figure 5 Effect of different (a) salinity levels 28, 30 32 ppt and (b) frequency of harvesting at the end (30 days) and twice harvesting on days 12 and 30 (end) to the higher density of copepods (Ind./mL)



a b

Figure 6 Effect of different (a) salinity levels 28, 30 32 ppt and (b) frequency of harvesting at the end (30 days) and twice harvesting on days 12 and 30 (end) to the higher density of copepods (Ind./mL)

ประเภท ขนาด และระยะของการเจริญเติบโตของโคพีพอดที่พบในการทดลอง

ผลการจำแนกกลุ่มของโคพีพอดที่พบในการทดลองนี้ พบว่าประกอบไปด้วยโคพีพอด 3 กลุ่มด้วยกัน คือ Calanoid copepod, Cyclopoid copepod และ Harpacticoid copepod โดยพบระยะของการเจริญสามระยะด้วยกัน คือ Nauplius stage, Copepodite stage และ Adult stage (Figure 7-9)

a b c

Figure 7 Calanoid copepod of the stage (a) Nauplius (40X) (b) Copepodite (10X) (C) Adult (4X)

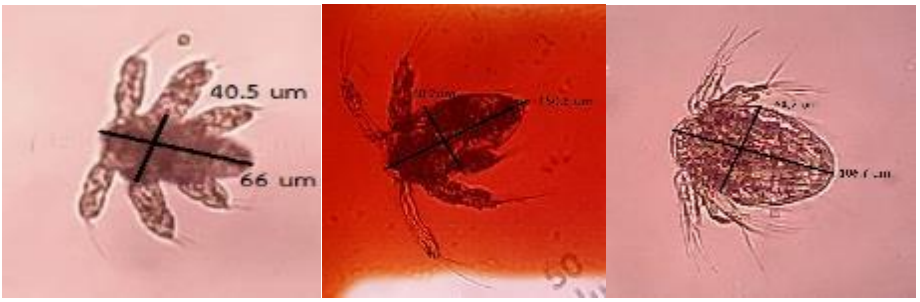
a b c

Figure 8 Cyclopoid copepod of the stage (a) Nauplius (40X) (b) Copepodite (10X) (c) Adult (4X)

a b c

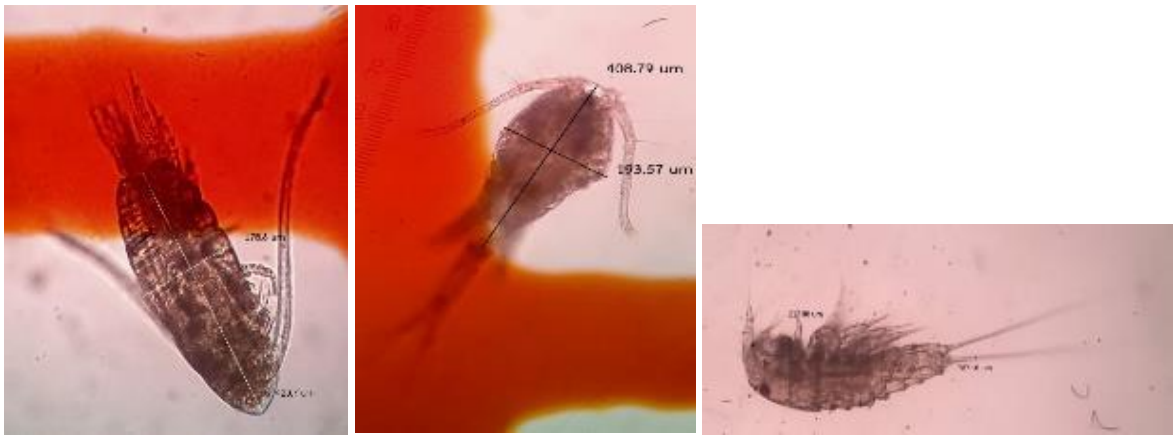
Figure 9 Harpacticoid copepod of the stage (a) Nauplius (40X) (b) Copepodite (10X) (c) Adult (4X)

เมื่อสุ่มตัวอย่างโคพีพอดกลุ่มต่างๆ ในการทดลองครั้งนี้มาบันทึกภาพและวัดขนาดพบว่า ระยะนอเพลียสของโคพีพอดที่พบมีขนาดความกว้างลำตัว (Width of cephalothorax) อยู่ในช่วง 40.5-97.1 ไมโครเมตร 65.02±4.28 ไมโครเมตร และมีความยาวทั้งหมดอยู่ในช่วง 66-191.6 ไมโครเมตร 115.4±7.7 ไมโครเมตร (Figure 10) ส่วนระยะโตเต็มวัยมีความลึกของลำตัว (Body depth) อยู่ในช่วง 111.2-495.3 ไมโครเมตร 232.9±24.74 ไมโครเมตร และมีความยาว (Total length = length of cephalothorax+length of abdomen) อยู่ในช่วง 408.8-1357.2 ไมโครเมตร 761.8±86.7 ไมโครเมตร (n=30) (Figure 11)



a b c

Figure 10 Copepod nauplii stage of Width of the cephalothorax and total length (micrometer)
(a) Calanoid copepod (b) Cyclopoid copepod (c) Harpacticoid copepod in experiment



a b c

Figure 11 Copepod adult stage of body depth) and total length (micrometer)
(a) Calanoid copepod (b) Cyclopoid copepod (c) Harpacticoid copepod in experiment

ผลการวิเคราะห์สัดส่วนของโคพีพอดกลุ่มต่างๆ ที่พบเมื่อโคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุดของแต่ละชุดทดลอง Calanoid copepod เป็นกลุ่มเด่นที่พบมากที่สุดในทุกชุดการทดลอง คิดเป็นร้อยละ 59.6±0.1 ของโคพีพอดที่พบรวมทั้งหมด รองลงมาได้แก่ Cyclopoid copepod ร้อยละ 27.9±0 และที่พบเป็นสัดส่วนน้อยที่สุด คือ Harpacticoid copepod เพียงร้อยละ 12.5±0 ของจำนวนโคพีพอดรวม (Figure 12)

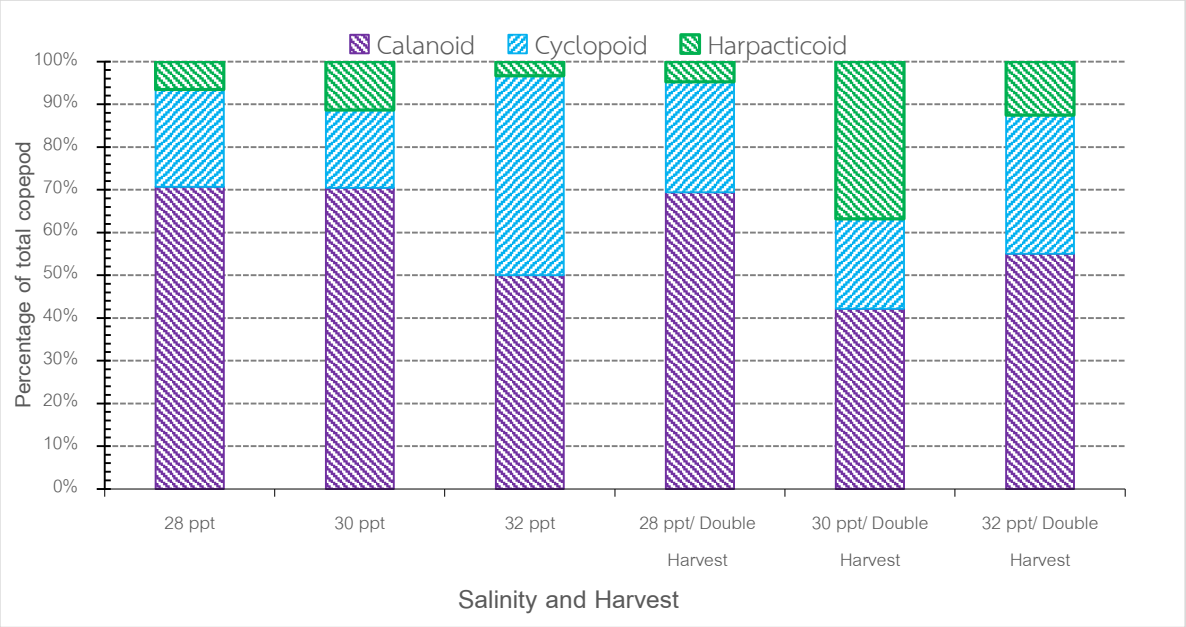


Figure 12 The percentage of all orders of copepod (Calanoida, Cyclopoda, Harpacticoida)

ผลการวิเคราะห์สัดส่วนร้อยละของระยะการเจริญเติบโตของโคพีพอดที่พบตลอดการทดลองที่แสดงในภาพที่ 5.3 ระยะการเจริญเติบโตของโคพีพอดที่พบมากตลอดการทดลอง คือ Nauplii ซึ่งพบสัดส่วนมากถึงร้อยละ 55.8±4.8 ของโคพีพอดทั้งหมด รองลงมาได้แก่ Adult เป็นสัดส่วนร้อยละ 24.5±3.4 และ Copepodite เป็นสัดส่วนร้อยละ 19.2±2.1 ส่วนตัวเต็มวัยที่มีถุงไข่พบน้อยที่สุดเพียงร้อยละ 0.5±0.2 (Figure 13)

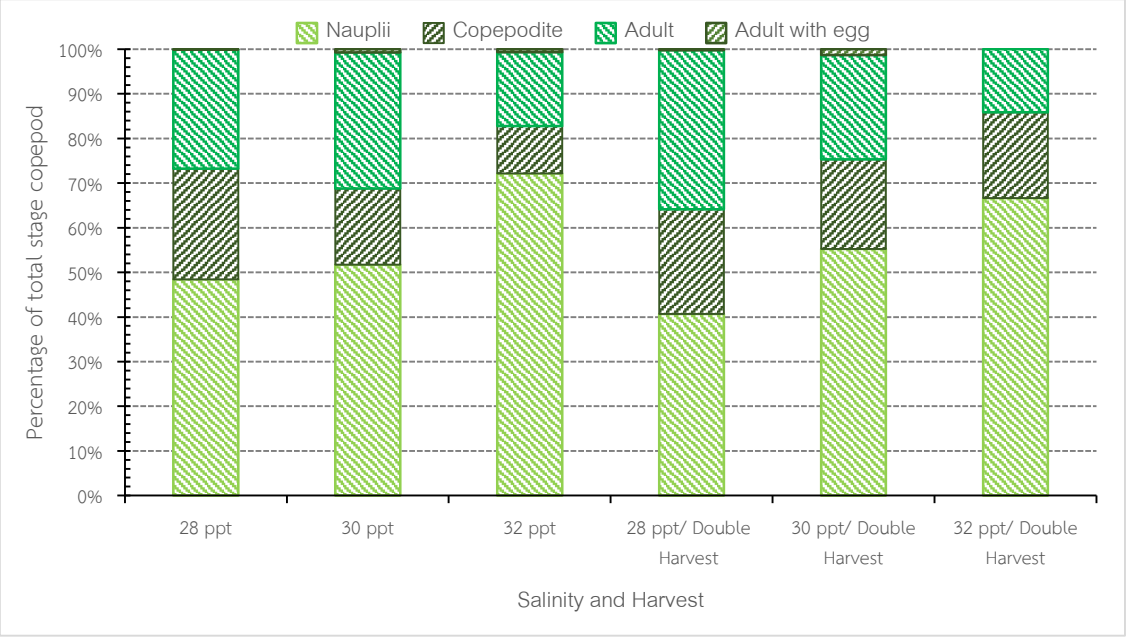


Figure 13 The percentage of all stages of copepod (Nauplius, Copepodite, Adult, Adult with egg

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถรำหมัก ที่ประยุกต์มาจากการใช้เทคโนโลยี Aquamimicry ด้วยการใช้แบคทีเรียที่คัดเลือกสายพันธุ์ย่อยวัตถุดิบ (รำข้าว) เพื่อให้เกิดเป็น Synbiotic (Probiotic+Prebiotic) แล้วนำไปเลี้ยงโคพีพอดได้ โดยโคพีพอดมีแนวโน้มเพิ่มจำนวนมากขึ้นที่ความเค็ม 28 ppt สอดคล้องกับโคพีพอดชนิด *P. annamdalei* ที่เลี้ยงด้วยความเค็มต่างกัน 5, 10, 15, 20, 25 ppt พบว่าโคพีพอดชนิดนี้จะไม่สามารถวางไข่หรือทิ้งไข่เมื่อความเค็มสูงที่ 30 และ 35 ppt (Chen *et al.*, 2006) นอกจากนี้โคพีพอดแต่ละชนิดจะสามารถเติบโตได้ดีที่ความเค็มต่างกัน เช่น *Apocyclops royi* สามารถพัฒนาการและสืบพันธุ์ได้ที่อุณหภูมิ 16.2-19.2 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 7–28 ppt (Liu & Chen, 1995) หรือใน *Acartia spinicauda* โคพีพอดสายพันธุ์นี้สามารถผลิตนอเพลียและมีอัตรารอดที่สูงมีพัฒนาการเร็วเมื่อทำการเลี้ยงที่ความเค็ม 17 ppt (Lin *et al.*, 1998) หรือ *Acartia ohtsukai* สามารถเลี้ยงให้เลี้ยงให้พร้อมวางไข่ที่ความเค็มน้ำ 27 ppt (Peck and Linda, 2006) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าความเค็มมักมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรโดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำ (Costa, 2008) และสามารถปรับตัวอาศัยอยู่ในน้ำที่ความเค็มต่างกันโดยเฉพาะกลุ่มคาลานอยด์เมื่อมีโคพีพอดกลุ่มหนึ่งตายลงจะมีกลุ่มอื่นเข้ามาแทนที่ และจากผลการทดลองพบว่า ควรเก็บเกี่ยวผลผลิตในระหว่างการเลี้ยงครึ่งหนึ่งในวันที่ 12 เช่นเดียวกับ Santhosh *et al.*, (2018) ควรมีการเก็บเกี่ยวผลผลิตของโคพีพอดเมื่อมีจำนวนของโคพีพอดขึ้นสูงสุดในวันที่ 10 -12 ซึ่งปัจจัยนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของโคพีพอดแต่ละชนิด เช่นเดียวกับในรายงานของ Santhosh *et al.*, (2018) การเก็บเกี่ยวโคพีพอด ระยะนอเพลียส (Nauplii) ควรดำเนินการตั้งแต่วันที่ 2-12 ของการนำโคพีพอด จากธรรมชาติเข้าสู่บ่อเลี้ยง (Mass Culture) จึงทำให้สามารถเก็บเกี่ยว Nauplii copepod (กลุ่มคาลานอยด์ Calanoid และ กลุ่มไซโคลพอยด์ Cyclopoid เป็นกลุ่มที่มีความโดดเด่น (Dominance) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ผลิตนอเพลียสที่มีขนาดเล็กเหมาะสำหรับนำไปอนุบาลลูกปลาทะเลสวยงามวัยอ่อนที่มีขนาดเล็ก จากนั้นตั้งแต่วันที่ 10-24 จะพบโคพีอดกลุ่มฮาร์แพคติคอยด์ที่พบมีความโดดเด่น (Harpacticoid Dominance)

เพื่อใช้ในการอนุบาลสัตว์ทะเลสวยงามเพราะว่าโคพีพอดส่วนใหญ่ที่ทำการเลี้ยงหรือแม้แต่ในธรรมชาติเองนั้นแต่ละชนิดมีวงจรชีวิตและช่วงเวลาในการพัฒนาแต่ระยะที่แตกต่างกันทำให้หากเก็บเกี่ยวผลผลิตเพียงครั้งเดียวเมื่อสิ้นสุดการทดลองอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มโคพีพอดและมีอัตราการรอดตายของโคพีพอดที่ต่ำหรือตายหมดจนมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการนำไปอนุบาลสัตว์น้ำและสำหรับโคพีพอดที่พบเป็นสัดส่วนที่มากที่สุดในการทดลองนี้ คือ Calanoids ซึ่งเป็นไปตามที่คาดไว้เพราะโคพีพอดกลุ่มนี้มีนิสัยการกินอาหารแบบ Filter feeding และการทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นว่าโคพีอดระยะวัยอ่อนเป็นระยะที่พบมากซึ่งเป็นเหตุผลว่าแนวโน้มของความเค็มที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเติบโตของโคพีพอดและการเพิ่มจำนวนความหนาแน่น ซึ่งข้อมูลที่พบนี้จะถูกนำไปใช้ในการปรับปรุงวิธีการเพื่อขยายผลการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบธรรมชาติจำนวนมากต่อไป

สรุปผลการวิจัย

โคพีพอดในบริเวณสถานีวิจัยย่อยชะอำ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล ม.บูรพา ต.บางเก่า อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่น้ำความเค็มต่ำ (28 ppt) และการเก็บเกี่ยวผลผลิตระหว่างการเลี้ยงไม่ทำให้ความหนาแน่นของโคพีพอดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บเกี่ยวผลผลิตเพียงครั้งเดียวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งผลการทดลองสรุปได้ว่าควรเลี้ยงโคพีพอดที่ความเค็ม 28 ppt และเพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตควรเก็บเกี่ยวโคพีพอดในช่วงระหว่างการเลี้ยงที่โคพีพอดเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 10-12 วัน เนื่องจากเป็นช่วงที่โคพีพอดมีการเพิ่มจำนวนสูงสุด ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย เรื่อง การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเลสวยงามกลุ่มปลาสลิดหิน (Damselfishes) ปลาบู่ (Gobies) และกุ้งมดแดง (Dancing shrimp) จากธรรมชาติสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ โดย ดร.วรเทพ มุฑุวรรณ หัวหน้าโครงการวิจัย ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปงบประมาณ 2563 และความร่วมมือจากหลายหน่วยงาน คือ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา, คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ และศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำเพชรบุรี กรมประมง คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้บริหารหน่วยงานทุกท่านที่อนุญาตให้บุคลากรเข้ามามีส่วนร่วมในการทำงานวิจัย รวมถึงให้ความอนุเคราะห์สถานที่และความสะดวกในการทำวิจัย ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

Aquamimicry. (2002). Color cap manual Documentation for using the product (in Thai)

Cheng, S. H., AOKI, S., Maeda, M. and Hino, A. 2004. Competition between the rotifer *Brachionus rotundiformis* and the ciliate Euplotes vannus fed on two different algae. *Aquaculture*, *241* (26) 331-343.

Costa, K. G., Pereira, L. C. C., & Costa, R. M. (2008). Short and long-term temporal variation of the zooplankton in a tropical estuay (Amazon region, Brazil). *CienciasNaturais, 3*(2), 127-141.

Dahm, H. (2000). Phylogenetic Implications of the Crustacean Nauplius. Advance in Copepod Taxonomy. *Hydrobiologia*, *417,* 91-99.

Huang, J.Q., Li, S.J., Hou, H.B., et al., (2000). Community characteristics of planktonic copepods in Luoyuan Bay, Fujian. *Marine Sciences ,24* (6), 1–4.

Long, L.J., He, W.H., (1995). The effect of various salinity on the growth and reproduction of *Euterpe acutifrons*. *Supplement to the Journal of Sun Yatsen University , 3*, 61–63.

Lin, L.M., Xu, F., Lin, J., (1998). The effect of various salinity on the growth and development of *Acartia spinicauda*. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 17, 53–55 (supplement).

Liu, M., Chen, S.J., (1995). Study on the culturing *Apocyclops royi*. *Fujian Fisheries ,2*, 19–22.

McKinnon, A.D., S. Duggan, P.D. Nichols, M.A. Rimmer, G. Semmens & B. Robino. (2003). The Potential of Tropical Paracalanid Copepods as Live Feeds in Aquaculture. *Aquaculture*, *223* (1), 89-106.

Miller, Denise D., Marcus, Nancy H., (1994). The effects of salinity and temperature on the density and sinking velocity of eggs of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *179* (2), 235–252.

Nagaraj, M., (1992). Combined effects of temperature and salinity on the development of the copepod *Eurytemora affinis*. *Aquaculture* ,*103* (1), 65–71.

Peck, A. M and Linda Holste. (2006). Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): Optimizing intensive cultures. *Aquaculture*, *255,* 341–350.

Romano, N. & Kumar, V. (2017). Vegetarian shrimp: Pellet-free shrimp farming. *World Aquaculture*, *48*(4), 36-39.

Santhosh B., Anil M. K., Muhammed Anzeer F., Aneesh K. S.,Mijo V. Abraham, Gopakumar G., Rani Mary George, Gopalakrishnan A. and Unnikrishnan C. (2018). Culture Techniques of marine Copepods. CMFRI Booklet No.9/2018. ISBN 978-93-82263-23-4. *Indian Council of Agricultural Research Central Marine Fisheries Research Institute.* 142 p.

Sanomuang, L. (2002). Freshwater zooplankton. Calanoid copepods in Thailand. Khon Kaen: Applied Taxonomy Research Center, Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University. (in Thai)

Wang, Z.L., (1995). Distribution of pelagic copepods in Dalian Bay.*Journal of Oceanography of Huanghai & Bohai Seas ,13* (1),47–54.

Wongrat, L. (1998). Zooplankton. First type 1. Publisher, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

Wongrat, L. (2000). A Guide to Plankton Cultivation. 3rd printing, KU Publishing House. (in Thai)