จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2556

รายงานผลการวิจัย

การศึกษาการเลี้ยงเพรียงทราย *Perinereis nuntia* ร่วมกับฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod) ในระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์ (ระยะที่ 1): ชีววิทยา และการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

Integrated Cultivation of Sand worm (*Perinereis nuntia*) and Harpacticoid Copepod in Commercial Culture System (1st phase): Biology and Cultivation of Harpacticoid Copepod

โดย

พรเทพ พรรณรักษ์
สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ

สิงหาคม 2557

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยคือ นายณัฐพล พิมพ์ขจร และนางสาวสุพพัตรา วงษ์จำรัส ที่ช่วยกันทำการทดลองและพยายามเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดอย่างสุดความสามารถ แม้บางครั้งจะต้องเข้ามาทำงานวิจัยในนอกเวลาราชการรวมทั้งเวลากลางคืนด้วย ขอขอบคุณสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข จ.ชลบุรี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์หัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 3 ชนิดเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยต่างๆ ขอขอบคุณผู้บริหารและเจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ ต้นสังกัดของผู้วิจัยที่ช่วยสนับสนุนอำนวยความสะดวกต่างๆ ในการวิจัยครั้งนี้

งานวิจัยนี้ได้รับสนับสนุนทุนโครงการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2556 โดยมีท่าน รองศาสตราจารย์ ดร. เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์ เป็นที่ปรึกษาโครงการ

โครงการวิจัย: การศึกษาการเลี้ยงเพรียงทราย *Perinereis nuntia* ร่วมกับฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod) ในระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์ (ระยะที่ 1): ชีววิทยา และการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ชื่อผู้วิจัย: ดร. พรเทพ พรรณรักษ์

ปี พ.ศ. : สิงหาคม 2557

บทคัดย่อ

ศึกษาการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อพัฒนาสำหรับการเลี้ยงร่วมกับเพรียงทราย และศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการที่มีความสำคัญต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่อาศัยอยู่กับสาหร่ายทะเลในบริเวณชายฝั่งด้านหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตฯ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี พบฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด 4 สกุล 6 ชนิด 4 วงศ์ โดยพบฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในสกุล *Tigriopus* และในวงศ์ Laophontidae เป็นกลุ่มเด่น เมื่อทำการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดแบบชนิดเดียว (mono-species) ในห้องปฏิบัติการสามารถเพาะเลี้ยงได้จนถึงระยะโคพีโพดิด ในขณะที่เมื่อทดลองเลี้ยงแบบคละชนิด (multi-species) โดยใส่ทรายและสาหร่ายทะเลให้สภาพแวดล้อมในตู้เลี้ยงคล้ายกับสภาพในธรรมชาติพบว่า สามารถเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจนครบวงชีวิตได้โดยสามารถพบตัวอ่อนระยะนอเพลียสและโคพีโพดิด รวมทั้งยังพบโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่เพิ่มจำนวนขึ้นในตู้เลี้ยง

การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการที่มีความสำคัญต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตราการรอดเฉลี่ยสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C (46.7±10.1 %) รองลงมาคือ ที่อุณหภูมิ 25 °C (21.7±18.9 %) และฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจะตายทั้งหมดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 °C เมื่อทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยด์โคพีพอดที่ความเค็มต่างๆ กัน พบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสามารถดำรงชีวิตอยู่ในความเค็มตั้งแต่ 10-40 PSU แต่ความเค็มที่ทำให้อัตรารอดเฉลี่ยของฮาร์แพคทิคอยด์โคพีพอดมีค่าสูงสุดคือ 30 PSU (42.8±8.6 %) รองลงมาคือ ความเค็ม 20, 40 และ 10 PSU โดยมีอัตรารอดเท่ากับ 35.8±16.3 %, 33.3±12.6 % และ 26.7±23.1 % ตามลำดับ และพบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมากกว่า 60% จะตายภายใน 1 ชั่วโมงเมื่อทดลองเลี้ยงที่ความเค็ม 0 PSU และจะตายทั้งหมดภายใน 3 วัน เมื่อให้สาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิดคือ *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* ร่วมกันจะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุด (44.4±11.7 %) และสูงกว่าการให้สาหร่ายเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นอาหาร เมื่อเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกันคือ ทรายหยาบ ทรายละเอียด ทรายเทียม (Vermiculite) ทรายปนโคลนและพื้นโล่งไม่มีตะกอนนั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (*P*-value>0.05) ของอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด แต่อย่างไรก็ตามฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดน่าจะชอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่เป็นพื้นทะเลที่มีอนุภาคตะกอนขนาดเล็กเนื่องจากพบว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในภาชนะที่มีทรายปนโคลนและทรายละเอียดอยู่จะมีอัตราการรอดสูงกว่าภาชนะอื่นๆ โดยพบอัตรารอดเฉลี่ยเท่ากับ 76.11±2.36 % และ 68.33±7.07 % ตามลำดับ ความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดคือประมาณ 100-500 ตัว/ลิตร ซึ่งจะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่า 50% เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นอกจากนี้ เมื่อทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดร่วมกับเพรียงทรายพบว่า เพรียงทรายมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากกว่าเมื่อให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวเล็กน้อย

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยง, เพรียงทราย, ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด, ปัจจัยทางกายภาพ

Project title: **Integrated Cultivation of Sand worm (*Perinereis nuntia*) and Harpacticoid Copepod in Commercial Culture System (1st phase): Biology and Cultivation of Harpacticoid Copepod**

Name: **Dr. Porntep Punnarak**

Year: **August, 2014**

Abstract

To establish an integrated cultivation system of harpacticoid copepods and sand worm (*Perinereis nuntia*), the biology of harpacticoid copepods with emphasis on environmental factors affecting survival of the copepods in a laboratory was conducted at Sichang Marine Research and Training Station, Chonburi Province, Thailand. Among six species of harpacticoid copepods from 4 genera, 4 families collected from macroalgae *Padina* sp. and *Amphiroa* sp., the copepod *Tigriopus* and harpacticoid copepod from family Laophontidae were the dominant species. Under the mono-species culture, egg-bearing female copepod grew and produced larvae which lived up to the copepodid stage. The multi-species of copepods cultured in a small aquarium with fine sand and seaweed could grow to complete life cycle as indicated by the presence of nauplii, copepodids and newly egg-bearing female copepods.

Survival rates of harpacticoid copepods in the laboratory scale were determined under various conditions of temperature, salinity, food type, grain size and initial density. After 7 days of the experiments, harpacticoid copepods rearing at 30 °C showed the highest survival rate of 46.7±10.1 % followed by the copepods cultivated at 25 °C (21.7±18.9 %). All harpacticoid copepods could not survive when cultivated at 35 °C toward the end of the experiment. Our harpacticoid copepods can survive in brackish water to hyper-saline water between 10 PSU and 40 PSU. However, they showed the highest survival rate (42.8±8.6 %) in 30 PSU seawater and the survival rates of 35.8±16.3 %, 33.3±12.6 % and 26.7±23.1 % were recorded from copepods cultured in 20, 40 and 10 PSU seawater, respectively. Moreover, over 60 % of copepods were dead within 1 hour in freshwater (0 PSU) and all of them were dead within 3 days. Harpacticoid copepods fed by combination of microalgae including *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis gracilis* showed high survival rate (44.4±11.7%) in comparison by the treatments fed with mono-species of algae. There was no significantly different (*P*-value>0.05) in survival rate of copepods rearing in coarse sand, fine sand, vermiculite, sandy clay and without substrate conditions. However, harpacticoid copepod showed preference for fine grain particle since the survival rates of 76.11±2.36 % and 68.33±7.07 % were obtained from the copepods reared in sandy clay and fine sand substrate, respectively. An initial culture density of 100-500 individuals/Litre was the optimal condition for culture of harpacticoid copepods under laboratory scale where the resulting survival rate of more than 50 % was noticed toward the end of the experiment. In addition, co-culture of sand worms and harpacticoid copepods lead to more increased in body weight of sand worm compared to that fed by only commercial food.

Keywords: culture, sand worm, harpacticoid copepod, physical conditions

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	iii
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	iv
สารบัญ	v
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและเหตุผล	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการดำเนินงาน	2
บทที่ 2 การสำรวจเอกสาร	3
2.1 เพรียงทราย (Sand worm)	3
2.2 โคพีพอด (Copepod)	4
2.3 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod)	5
2.4 การเพาะเลี้ยงโคพีพอด	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	8
3.1 การเก็บตัวอย่างและการคัดแยกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	8
3.2 การศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ	9
3.2.1 การเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ	9
3.2.2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	10
3.2.2.1 อิทธิพลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	10
3.2.2.2 อิทธิพลของความเค็มต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	11
3.2.2.3 อิทธิพลของชนิดอาหาร (สาหร่ายขนาดเล็ก) ต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	12
3.2.2.4 อิทธิพลของลักษณะตะกอนต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	12
3.2.2.5 อิทธิพลของความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	13
3.3 การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)	14
3.4 การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*) แบบครบวงจรชีวิต	15

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย	16
4.1 ความหลากชนิดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่พบในบริเวณชายฝั่งเกาะสีชัง จ.ชลบุรี	16
4.2 การศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ	19
4.2.1 การเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมาก	19
4.2.2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	22
4.2.2.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	22
4.2.2.2 ผลของความเค็มต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	23
4.2.2.3 ผลของชนิดของอาหารต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	24
4.2.2.4 ผลของชนิดตะกอนต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	25
4.2.2.5 ผลของความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด	26
4.3 ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)	28
4.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)	29
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	31
5.1 ความหลากชนิดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่พบในบริเวณชายฝั่งเกาะสีชัง จ.ชลบุรี	31
5.2 การศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ	32
5.3 ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)	34
5.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)	35
บทที่ 6 ปัญหาและข้อเสนอแนะ	36
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	40

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและเหตุผล

เพรียงทราย (*Perinereis* sp.) เป็นสัตว์ทะเลหน้าดินกลุ่มไส้เดือนทะเล (polychaete) ชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์มากมายต่อวงการเพาะเลี้ยงของไทย โดยนิยมใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์ทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดเช่น พ่อแม่พันธุ์กุ้ง ปูและปลาสวยงามทั้งปลาน้ำจืดและปลาทะเล รวมทั้งยังนิยมใช้เป็นเหยื่อสำหรับกีฬาตกปลา อีกทั้งยังมีศักยภาพในการที่จะนำไปพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์ด้วย เนื่องจากมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดที่มีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์จากน้ำเลือดของเพรียงทราย และยังพบฮอร์โมนที่สำคัญอีกหลายชนิดที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นอาหารและยาของมนุษย์ได้ ด้วยเหตุนี้ทำให้มีการเพาะเลี้ยงเพรียงทรายขึ้นอย่างจริงจังในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2551 ต่อมาในปี 2554 สุรพล ชุณหบัณฑิต และคณะ ได้คิดรูปแบบการเลี้ยงเพรียงทรายแบบใหม่ขึ้น โดยเป็นระบบการเลี้ยงเพรียงทรายแบบแนวตั้งและพบว่าเพรียงทรายที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบแนวตั้งนี้จะมีการเจริญเติบโตดีและมีอัตรารอดตายที่สูง อีกทั้งยังใช้พื้นที่ในการเลี้ยงน้อยกว่าระบบการเลี้ยงแบบดั้งเดิม และจากการวิจัยครั้งนั้นยังพบว่ามีโคพีพอดชนิดที่อาศัยอยู่ที่พื้น (benthic copepod) ในกลุ่ม Harpacticidae สกุล *Tigriopus* sp. เกิดขึ้นในกล่องเลี้ยงเพรียงทรายวัยอ่อนด้วย โดยโคพีพอดจะอาศัยอยู่ร่วมกับเพรียงทรายและกินเศษอาหารและของเสียจากเพรียงทรายเป็นอาหาร เมื่อเฝ้าสังเกตก็พบว่าไม่ได้ทำอันตรายใดๆ แก่เพรียงทราย แต่ยังพบว่าเพรียงทรายวัยอ่อนอายุ 2 สัปดาห์ถึง 1 เดือน สามารถกินซากของโคพีพอดที่ตายแล้วเป็นอาหารได้อีกด้วย และพบว่าคุณภาพน้ำทะเลในกล่องที่เลี้ยงเพรียงทรายยังมีคุณภาพดีตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 2 เดือน ก่อนที่จะย้ายลูกเพรียงทรายที่อนุบาลไปเลี้ยงในระบบเลี้ยงแนวตั้งต่อไป

สำหรับโคพีพอดนั้นเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดหนึ่งที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในสายใยอาหาร และยังเป็นอาหารมีชีวิตที่มีความสำคัญและมีประโยชน์เหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง โดยเฉพาะตัวมีขนาดเล็กมากเหมาะพอดีกับขนาดปากของลูกกุ้งและลูกปลาแรกฟักได้เป็นอย่างดี แต่สำหรับประเทศไทยนั้นยังไม่ค่อยให้ความสนใจกับโคพีพอดมากนัก ซึ่งในต่างประเทศนั้นมีการศึกษาชีวประวัติและทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารมีชีวิตแก่ลูกพันธุ์สัตว์น้ำ โดยเฉพาะลูกปลา ปูและกุ้งที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและปลาสวยงามที่มีราคาแพง และจากการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร (2553) ที่รายงานการค้นพบฮาร์แพคติคอยโคพีพอดชนิดใหม่ของโลก (new species) ในสกุล *Tigripus* และยังได้ทำการศึกษาความหลากหลายของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในบริเวณ จังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด และทำการคัดเลือกฮาร์แพคติคอยโคพีพอดชนิดที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ พบว่า ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดสกุล *Tigripus* sp. เพาะเลี้ยงได้ง่าย มีความอดทนต่อสภาวะแวดล้อมและปรับตัวได้ดีในช่วงกว้าง จึงทำให้ *Tigripus* sp. ได้รับความสนใจจากวงการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอด ซึ่งนอกจากจะใช้เป็นอาหารมีชีวิตสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนแล้ว ยังใช้ในงานทดลองด้านอื่นๆ ได้ด้วย

ในงานวิจัยครั้งนี้จะศึกษาเกี่ยวกับสภาพปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมที่ทำให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดมีอัตรารอดสูงที่สุดในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory condition) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นแนวทางในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในระดับมหมวล (mass culture) ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาชีววิทยา และนิเวศวิทยาของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่พบในบริเวณชายหาด เกาะสีชัง จ.ชลบุรี
- เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด สำหรับใช้เป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
- เพื่อศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

1.3 ขอบเขตการดำเนินงาน

การศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการศึกษาความรู้พื้นฐานของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เก็บตัวอย่างจากบริเวณชายหาดหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี โดยจะศึกษาชีววิทยา และทำการศึกษาเกี่ยวกับสภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด คือ ความเค็ม อุณหภูมิ ชนิดของดินตะกอน ชนิดของอาหาร รวมทั้งปริมาณความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง เพื่อจะนำความรู้ที่ได้จากการศึกษาเบื้องต้นมาเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการให้ได้ผลดีและมีจำนวนมากเพียงพอกับการทดลองเลี้ยงร่วมกับเพรียงทรายในระบบเลี้ยงเชิงพาณิชย์ต่อไป

บทที่ 2
การสำรวจเอกสาร

2.1 เพรียงทราย (Sand worm)

เพรียงทรายเป็นสัตว์ประเภทหนอนทะเล (polychaete) ที่มีขาหลายคู่ ลักษณะลำตัวเป็นปล้องๆ มีอยู่มากกว่า 8,000 ชนิด (Pettibone, 1963) จัดอยู่ใน Phylum Annelida (Olive, 1999) สามารถจำแนกเพรียงทรายออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่เคลื่อนที่ไว เรียกว่า errant polychaete ส่วนกลุ่มที่สองเป็นพวกที่อาศัยอยู่ในรูและประจำที่ เรียก sedentary polychaete (Rouse and Fauchald, 1997) เพรียงทรายที่พบในประเทศไทยทั้งทางด้านอ่าวไทยและด้านทะเลอันดามันมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น *Perinereis aibuhitensis, P. quatrefagesi*, *P. singaporiensis, P. striolata, P. vancaurica* และ *P. nuntia* แต่ชนิดที่พบมากและมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง จัดอยู่ในกลุ่มที่เคลื่อนที่ได้ไวและอาศัยอยู่ตามหาดทรายในเขตน้ำขึ้นน้ำลง คือ เพรียงทรายชนิด *P. nuntia* และจากการสำรวจชนิดและลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสายพันธุ์เพรียงทรายตลอดแนวชายฝั่งอ่าวไทยและอันดามันทั้ง 37 จุดใน 11 จังหวัด ของ สุรพล ชุณหบัณฑิต และคณะ (2549) พบว่าตัวอย่างเพรียงทรายที่ได้จากหาดบางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี เพียงแห่งเดียวที่เป็นเพรียงทราย *P. nuntia* โดยลักษณะทางนิเวศวิทยาของชายหาดที่พบเพรียงทรายนั้นจะเป็นหาดทรายหยาบ และทรายหยาบปนเปลือกหอย ซึ่งมีสภาพค่อนข้างสะอาด

เพรียงทราย *P. nuntia* เป็นสัตว์ที่มีเพศแยกกัน อวัยวะสืบพันธุ์เจริญมาจากเยื่อเพอริโทเนียมซึ่งบวมกลายเป็นก้อนยื่นเข้าไปในช่องลำตัว วิธีที่จะสามารถแยกเพศเพรียงทราย *P. nuntia* ได้นั้น อาศัยการสังเกตลักษณะสีของลำตัวในบริเวณส่วนหัวซึ่งเป็นที่บรรจุเซลล์สืบพันธุ์ไว้ โดยเพศผู้จะมีลักษณะสีครีม ส่วนเพศเมียจะมีลักษณะสีเขียว เซลล์สืบพันธุ์เจริญเต็มที่ในช่องลำตัวแล้วปล่อยออกสู่ภายนอกโดยการปริแตกของผนังลำตัว และปฏิสนธิทันทีในน้ำทะเลนอกร่างกาย เพรียงทรายใช้เวลาในการเจริญหลังจากที่มีการปฏิสนธิจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ย 4-5 เดือน หลังจากนั้นก็จะพัฒนาเข้าสู่ระยะสืบพันธุ์ หลังจากนั้นจะมีการรวมกลุ่มกัน (swarming) เพื่อจับคู่ผสมพันธุ์กัน โดยจะมีการว่ายน้ำวนเวียนกันไปมาระหว่างทั้งสองเพศ คล้ายกับการเต้นระบำที่เรียกว่า “nuptial dance” โดยจะมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างนั้น เมื่อปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หมดแล้วเพรียงทรายทั้งเพศผู้และเพศเมียก็จะตาย ดังนั้นเพรียงทรายจะมีการสืบพันธุ์ได้เพียงครั้งเดียวในช่วงชีวิต และจากการศึกษาพบว่าเพรียงทรายสามารถที่จะทำการผสมพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี (Hardege and Bartels-Hardege, 1995)

เพรียงทรายเป็นสัตว์ที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจ และเป็นอาหารสัตว์น้ำที่มีความต้องการสูงในหลายกิจกรรม เช่น ใช้เป็นอาหารเลี้ยงแม่พันธุ์กุ้งทะเลมีผลให้รังไข่พัฒนาสมบูรณ์อย่างเต็มที่ทำให้ได้ผลผลิตไข่ที่ดีและมีคุณภาพ นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ปลาทะเลที่สำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ ได้ เช่น ปลากะพง ปลากะรัง และปลาการ์ตูน อีกทั้งใช้เป็นอาหารของสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เช่น ปูทะเล ปลาเศรษฐกิจ ทั้งปลาเนื้อและปลาสวยงาม เนื่องจากในเพรียงทรายอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการทั้งโปรตีน ไขมันและแร่ธาตุต่างๆ รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ เช่น กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว Docosa-hexaenoic acid (DHA) และ Eicosopentaenoic acid (EPA) อีกทั้งประกอบด้วยฮอร์โมนหลายชนิด เช่น โปรเจสเตอโรน (Koskela *et al*.,1992) โพรสตาแกลนดิน (D’Croz *et al*., 1988) เมธิลฟาร์นีโซเอท (Laufer *et al*., 1987) ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญพันธุ์ในสัตว์น้ำได้ด้วย ปัจจุบันความต้องการเพรียงทรายในประเทศไทยเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากความนิยมของเกษตรกรในการเลี้ยงกุ้งทะเล ทำให้เกิดอาชีพการจับเพรียงทรายจากธรรมชาติมาป้อนโรงเพาะพันธุ์กุ้งทะเลมากขึ้น จนอาจทำให้ประชากรเพรียงทรายในธรรมชาติลดลงอย่าง

รวดเร็ว จึงได้มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเพรียงทรายปลอดเชื้อขึ้น จนสามารถจะผลิตเพรียงทรายปลอดเชื้อในระดับอุตสาหกรรมได้

จากการศึกษาด้านการเพาะเลี้ยงเพรียงทรายในปัจจุบันของไทยนั้น พบว่า มีฟาร์มเพาะเลี้ยงเพรียงทรายอยู่ 2 ระบบด้วยกัน ได้แก่ ระบบที่เลี้ยงเพรียงทรายในกระบะพลาสติกโดยใช้ทรายเทียม (vermiculite) เป็นวัสดุเลี้ยง โดยการวางเรียงกระบะเลี้ยงเพรียงทรายในระบบแนวราบซ้อนกันขึ้น ซึ่งทำให้เกิดพื้นที่ว่างเปล่าที่ใช้ประโยชน์ไม่ได้เกิดขึ้น ส่วนระบบที่สองจะเลี้ยงเพรียงทรายในบ่อคอนกรีตโดยใช้ทรายน้ำจืดและทรายธรรมชาติเป็นวัสดุเลี้ยง โดยต่อมา สุรพล ชุณหบัณฑิต และคณะ (2554) ได้ศึกษารูปแบบการเลี้ยงเพรียงทรายปลอดเชื้อแบบใหม่ขึ้น เป็นระบบการเลี้ยงเพรียงทรายแบบแนวตั้ง โดยจะตั้งวางกล่องพลาสติกสูงขึ้นไปในแนวตั้งซ้อนกัน 3 กล่องและปิดฝากล่องตลอดเวลา ซึ่งจะแตกต่างจากการเลี้ยงแบบดั้งเดิมทั้ง 2 ระบบ โดยเพรียงทรายที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงแบบแนวตั้งจะมีการเจริญเติบโตดีและมีอัตรารอดตายที่สูงกว่าและใช้พื้นที่น้อยกว่าระบบเลี้ยงแบบดั้งเดิม จากการวิจัยครั้งนี้พบว่าไม่ต้องถ่ายน้ำในกล่องบ่อยๆ การเลี้ยงด้วยรูปแบบใหม่นี้จะเริ่มจากการนำลูกเพรียงทรายอายุ 3 วันมาอนุบาลจนมีอายุ 60 วัน (อัตรารอด 8.54%) แล้วจึงนำมาเลี้ยงในระบบการเลี้ยงเพรียงทรายแบบแนวตั้งต่อไปอีก 2 เดือนจนอายุครบ 4 เดือน จะทำให้มีอัตราการรอดตายที่สูงขึ้น (อัตรารอด 25.68%) เพราะระบบการเลี้ยงสามารถที่จะควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่สำคัญสำหรับการเลี้ยง เช่น อุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลที่เลี้ยง และการใช้วัสดุเลี้ยงที่เป็นทรายเทียม ทำให้เพรียงทรายที่เลี้ยงเจริญเติบโตได้เร็ว ใช้เวลาในการเลี้ยงสั้น ส่วนวิธีการเลี้ยงเพรียงทรายแบบผสมผสานร่วมกับสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ นั้น ยังไม่เคยมีการรายงานไว้

2.2 โคพีพอด (Copepod)

โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนถาวรอยู่ในไฟลัม Arthopod อยู่ในกลุ่มเดียวกับแมลง กุ้ง กั้งและปู เป็นสัตว์ที่มีเปลือกแข็งหุ้ม มีระยางค์และลำตัวเป็นปล้องๆ โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีปริมาณมากที่สุดในโลก และโคพีพอดมีความหลากหลายอยู่ประมาณ 12,000 ชนิด กระจายอยู่ในแหล่งน้ำทุกแห่งทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม และแหล่งน้ำกร่อยชายฝั่ง โคพีพอดเป็นองค์ประกอบหลักของสายใยอาหารโดยเฉพาะในทะเล มีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยจะทำหน้าที่เป็นผู้บริโภคขั้นต้นของสายใยอาหารเนื่องจากโคพีพอดส่วนใหญ่มักจะกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร แต่ก็มีบางกลุ่มที่กินสารอินทรีย์หรือตะกอนเป็นอาหาร ส่วนตัวของโคพีพอดนั้นจะเป็นแหล่งอาหารชั้นดีของสัตว์น้ำที่มีขนาดใหญ่กว่าตั้งแต่กลุ่มกุ้ง หอย ปู ปลาไปจนถึงปลาวาฬ ทำให้โคพีพอดทำหน้าที่เป็นผู้ถ่ายทอดพลังงานจากผู้ผลิตไปยังกลุ่มผู้บริโภคลำดับที่สูงขึ้นไปในระบบนิเวศอีกด้วย โคพีพอดส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงกระบอก รูปไข่หรือรูปกระบอง ลำตัวแบ่งเป็นปล้องและมีรยางค์ เป็นสัตว์ที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี โคพีพอดเจริญเติบโตด้วยวิธีการลอกคราบ (metamorphosis) หลังการฟักตัวออกจากไข่ โดยทำการลอกคราบทั้งหมด 10 ครั้งก่อนเป็นตัวเต็มวัย โคพีพอดแบ่งออกเป็นหลายกลุ่มแต่ที่พบเป็นกลุ่มหลักๆ ในระบบนิเวศทางน้ำโดยเฉพาะในทะเลได้แก่ กลุ่มคาลานอยด์โคพีพอด (Calanoid copepod) กลุ่มไซโคลพอยด์โคพีพอด (Cyclopoid copepod) และกลุ่มฮาร์แพคติคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod) (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

2.3 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod)

ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มหนึ่งอยู่ใน Subclass Copepoda, Order Harpacticoida มีขนาดเล็กต้องส่องด้วยกล้องจุลทรรศ์จึงจะสามารถมองเห็นได้ ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดนั้นจะมีตัวยาวแต่มีหนวดสั้น มักพบอยู่ใกล้พื้น หรือบางชนิดก็อยู่ในดิน จะเป็นโคพีพอดกลุ่มที่ไม่เหมือนตัวอื่นๆ ซึ่งเป็นกลุ่มที่ชอบกินซากพืช ซากสัตว์ และไม่ค่อยว่ายน้ำ เป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ตามพื้นหน้าดิน (benthic species) ในแหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม ซึ่งมีสัตว์ชนิดอื่นอาศัยอยู่ด้วย และมีบางชนิดเป็นพาราสิต (parasitic forms) ตัวอ่อนของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด มี 2 ระยะ ระยะแรกเรียกว่า นอเพลียส (nauplius larva) ระยะต่อมาเรียกว่า โคพีโพดิด (copepodid larva) ตัวอย่างเช่น ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดชนิด *Tigriopus* sp. จะมีระยะนอเพลียส (nauplius) ทั้งหมด 6 ระยะ ทุกระยะเป็นสัตว์หน้าดินที่คลานบนพื้นผิว นอเพลียสมีรูปร่างค่อนข้างแบน มีลักษณะรูปไข่ ตัวไม่มีสี มีตาสีแดง และระยะโคพีโพดิด มี 5 ระยะ หลังระยะโคพีโพดิดที่ 5 จะเป็นระยะเต็มวัย (adult) โคพีพอดมีเพศผู้และโคพีพอดเพศเมียแยกกันคนละตัว (dioecious) ระบบสืบพันธุ์ของตัวเมียประกอบด้วยถุงไข่ 1-2 ถุง ท่อนำไข่ (oviducts) 2 ท่อ แต่ละท่อมี diverticula ซึ่งจะเปิดออกนอกตัวที่ genital opening ที่ด้านท้องของปล้องท้องปล้องแรก genital opening ทั้ง 2 ช่อง มีถุงเก็บสเปิร์ม (seminal receptache) 1 คู่ พวก harpacticoid ส่วนใหญ่มี genital opening เพียง 1 ช่อง ระบบสืบพันธุ์ของตัวผู้ประกอบด้วย testis 1 ข้าง และท่อนำเชื้อ 1 ท่อ ซึ่งเปิดออกนอกตัวที่ปล้องอกปล้องที่ 1 โดยช่องเปิดอยู่ที่ด้านข้างของด้านท้อง ระยะการเจริญเติบโตของแต่ละชนิดแตกต่างกันไป โคพีพอดบางชนิดมีการสืบพันธุ์เพียง 1 ครั้ง ในรอบปีหรือมี 1 generation ต่อปี เรียกว่า monocyclic ชนิดที่มีการสืบพันธุ์ 2 ครั้งในรอบปีเรียกว่า bicyclic แต่จำนวนครั้งการสืบพันธุ์อาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญมีผลต่อการเจริญเติบโตหรือการลอกคราบของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (Itô, 1970; ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดนี้มีคุณค่ามหาศาล เช่น เป็นอาหารธรรมชาติที่มีชีวิตของลูกกุ้ง ลูกปลา ในประเทศสหรัฐอเมริกามีสถาบันทางทะเล แห่งมหาวิทยาลัยฮาวายแปซิฟิก (Ocean Institute, Hawaii Pacific University) ได้ทำการศึกษาชีวประวัติและทำการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารมีชีวิตแก่ลูกกุ้งและลูกปลา โดยเฉพาะปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่นิยมนำมาบริโภคและปลาสวยงามที่มีราคาแพง (O'Bryen and Lee, 2005) Wan-Loy (2004) ได้รายงานไว้ว่าโคพีพอดเป็นอาหารมีชีวิตที่สำคัญและเหมาะสมมากที่สุดเนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูงและมีขนาดเล็กมากซึ่งเหมาะพอดีกับขนาดปากของลูกกุ้งและลูกปลาแรกฟัก (early hatching) เป็นอย่างดี ส่วน Zaleha and Jamaludin (2010) ได้สนับสนุนว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นอาหารหลักให้แก่สัตว์น้ำขนาดใหญ่ เป็นแหล่งอาหารมีชีวิตที่สำคัญมากต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ในขณะเดียวกันก็จะกินแบคทีเรีย ไดอะตอม ซากตะกอน ยีสต์ ฟังไจและโปรโตซัว โดยเฉพาะกลุ่มซิลิเอตเป็นอาหาร (Coull, 1983 และ Carman and Thistle, 1985 อ้างถึงใน สุภาวดี จุลละศร, 2553) นอกจากนี้ ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดยังทำหน้าที่เป็นตัวสกัดไม่ให้เกิดฟิล์มคลุมผิวดินเพื่อไม่ให้มีการสะสมพิษและไม่เกิดโรค ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดช่วยทำให้บริเวณพื้นดินที่อาศัยผสมผสานกันโดยจะช่วยกินขี้กุ้งและย่อยสลายซากตะกอน (Norsker and Støttrup, 1994 อ้างถึงใน สุภาวดี จุลละศร, 2553) ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดยังเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพแหล่งน้ำที่อาศัยได้เนื่องจากมันมีชีวิตอยู่ได้เฉพาะบริเวณที่มีออกซิเจนเท่านั้น ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีวงจรชีวิตสั้นประมาณ 1 เดือน แต่สามารถผลิตลูกหลานได้มากมายภายในระยะเวลาอันสั้น จึงทำให้มีประชากรฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นจำนวนที่มากกว่าสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ในระยะเวลาที่เท่ากัน ซึ่งสอดคล้องกับ สุภาวดี จุลละศร (2553) ที่พบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพศเมียสามารถสร้างถุงไข่ได้เฉลี่ย 7 ครั้ง/ตัว และมีความดกไข่สูง

Cutts (2003) กล่าวว่าโคพีพอดเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อปลาทะเลทั้งในแง่คุณค่าทางอาหารและความสะดวกในการเพาะเลี้ยง เช่น ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในสกุล *Tisbe* spp. เป็นโคพีพอดมีความดกไข่สูงและมีประโยชน์มาก และสามารถสังเคราะห์สารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญหลายอย่าง เช่น กรดไขมันที่จำเป็น (Essential Fatty Acid: EFA) จึงเหมาะสำหรับการใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงปลาทะเล นอกจากนี้ยังพบว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมสูง หากอยู่ในขอบเขตของอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดสายพันธุ์ด้วย ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นอาหารที่ดีสำหรับตัวอ่อนของปลาซึ่งดีกว่าอาร์ทีเมีย เนื่องจากสามารถสังเคราะห์ EFAs ได้ และสามารถกระตุ้นความอยากกินอาหารของปลาได้ดี สำหรับฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่มีความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงทั้งในโรงเรือนเพื่อให้ได้ปริมาณหนาแน่นมากๆ หรือเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลองต่างๆ ที่นิยมเลี้ยงและได้ผลดี ได้แก่ *Tigriopus* spp., *Nitokra* spp., *Paramphiascella* spp. และ *Tisbe* spp. เป็นต้น (Fukusho, 1980; Norsker and Støttrup, 1994 อ้างถึงใน สุภาวดี จุลละศร, 2553)

2.4 การเพาะเลี้ยงโคพีพอด

ในต่างประเทศมีการเลี้ยงโคพีพอดเพื่อใช้สำหรับเป็นอาหารที่มีชีวิตของสัตว์น้ำกันอย่างแพร่หลายเช่น คาลานอยด์โคพีพอด *Acartia* sp. และ *Parvocalanus crassirostris* (Schipp, 2006) *Pseudodiaptomus pelagicus*, *Acartia tonsa*, *Parvocalanus* sp., (Drillet *et al*., 2011) ไซโคลพอยด์โคพีพอด *Oithona rigida* (Vasudevan *et al*., 2013) และฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tisbe holothuriae* (Miles *et al*., 2001) *Tisbe* sp. และ *Nitokra lacustris* (Drillet *et al*., 2011) เป็นต้น สำหรับในประเทศไทยนั้นยังไม่ค่อยให้ความสนใจกับการเลี้ยงโคพีพอดมากนัก แต่ก็มีการศึกษาและค้นพบฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เป็นชนิดใหม่ของโลก (new species) โดย สุภาวดี จุลละศร (2555) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในบริเวณ จ.ชลบุรี ระยองและตราด และได้ทดลองเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *Tigriopus thailandensis, T. japonicas*, *Paramphiascella choi*, *Nitokra karanovici* และ *Tigriopus* sp. ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25-30 °C ความเค็ม 25-33 PSU ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนท์พร้อมให้อากาศตลอดเวลาและให้สาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana, Chaetoceros* sp. และ *Tetraselmis* sp. เป็นอาหาร พบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพศเมียสามารถสร้างถุงไข่ได้เฉลี่ย 7 ครั้ง/ตัว จำนวนฟอง/ถุงไข่ของ *T. thailandensis* 28, *T. japonicas* 22, *P. choi*, *N. karanovici* 18 และ *Tigriopus* sp. 20 การพัฒนาตัวอ่อนระยะนอเพลียส N1-N5 ใช้เวลา 5 วัน และได้สรุปว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tigripus* sp. เพาะเลี้ยงได้ง่ายที่สุดมีความอดทนต่อสภาวะแวดล้อมปรับตัวได้ดีในช่วงกว้าง และยังพบว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วย *T. Thailandensis* จะมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดสูงที่สุดอีกด้วย (สุภาวดี จุลละศร, 2553) ซึ่งการวิจัยนี้สามารถเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดได้อัตราความหนาแน่นอยู่ระหว่าง 80,000-100,000 ตัวต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานต่างประเทศของ Rhodes (2003) ที่เพาะเลี้ยง *Nitokra lacustris* ได้ 100,000 ตัวต่อลิตร

ในการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดนั้นจะต้องมีการจัดการระบบเพาะเลี้ยงและควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ดีและมีความเหมาะสม ซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม และชนิดของอาหารจะแตกต่างกันไปในโคพีพอดแต่ละชนิด โดยการสืบพันธุ์และการพัฒนาของตัวฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเป็นอย่างมาก ระยะเวลาในการพัฒนาจะลดลงเมื่อมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น Williams and Jones (1999) รายงานว่า การสืบพันธุ์ของ *Tisbe battagliai* จะเกิดขึ้นเมื่อมีอุณหภูมิเหมาะสมคือ 20 °C และพบว่าเพศเมียที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 15 °C จะมีชีวิตอยู่ยาวเป็นสองเท่าอยู่ใน 25 °C แต่ถ้าอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นก็จะไปลด

จำนวนของลูกหลานต่อวันลงได้ เช่นเดียวกับที่ Rhyne *et al*. (2009) รายงานว่า อุณหภูมิมีความสำคัญมากต่อการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเช่นกัน โดยพบว่าช่วงอุณหภูมิที่ดีที่สุดของการผลิตนอเพลียส คือ 26-30 °C ส่วนช่วงอุณหภูมิที่ดีที่สุดที่ทำให้นอเพลียสโตเร็ว คือ 28-32 °C และจากการศึกษาของ Zaleha and Jamaludin (2010) พบว่า เมื่อเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดชนิด *Pararobertsonia* sp. ที่อุณหภูมิ 25±1 °C มีอัตรารอดดี ส่วนที่อุณหภูมิ 5±1 °C จะไม่มีชีวิตรอดเลย

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดนั้น Rhodes (2003) ได้ทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอย *Nitokra lacustris* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *N. lacustris* สามารถทนได้ในช่วงกว้าง โดยทนได้ในอุณหภูมิระหว่าง 7-33 °C และความเค็มระหว่าง 10-40 PSU ส่วน *Tisbe pori* จะทนได้ดีในช่วงความเค็มระหว่าง 26-48 PSU และตายที่ความเค็ม 20 PSU (Betouhim-El and Kahan, 1972) ส่วน Matias-Peralta *et al*. (2005) รายงานว่า *Nitocra affinis f. californica* Lang มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (*K*) ที่ความเค็ม 30-35 PSU และลดลงที่ความเค็ม10-25 PSU และมีอัตรารอดมากกว่า 80% เมื่อเลี้ยงที่ความเค็มระหว่าง 10-30 PSU

อาหารที่ใช้เลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดส่วนใหญ่จะเป็นสาหร่ายขนาดเล็กหรือแพลงก์ตอนพืชซึ่งมีรายงานว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (*Tisbe holothuriae*) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *Chaetoceros mulleri* และ *Rhinomonas reticulata* จะให้ผลผลิตนอเพลียสดีที่สุดและควรนำมาให้เป็นอาหารแก่พ่อแม่พันธุ์โคพีพอด แต่หากต้องการให้โคพีพอดโตเร็วควรให้สาหร่าย *C. mulleri*, *R. reticulata* และ *Isochrysis galbana* ผสมกันจะทำให้มีอัตรารอดสูงสุด และมีปริมาณ DHA ที่เพียงพอ (34.7% ของกรดไขมัน) และมีอัตราส่วนระหว่าง DHA/EPA ที่ดี (3.3) การเสริมอาหารที่มีสาหร่ายสามารถดำเนินการได้โดยไม่มีผลกระทบและเป็นอันตรายกับการผลิตโคพีพอด และปริมาณอินทรีย์สารที่อยู่ในระบบก็มีการจัดการอย่างเหมาะสม (Miles *et al*., 2001)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการเก็บตัวอย่างฮาร์แพคติคอยโคพีพอดภาคสนามจากบริเวณชายหาดหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี และนำมาทดลองเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่สถานีวิจัยฯ โดยมีวิธีทำการศึกษาดังนี้

3.1 การเก็บตัวอย่างและการคัดแยกฮาร์แพคติคอยโคพีพอด

ทำการเก็บตัวอย่างฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในบริเวณที่มีสาหร่ายทะเล โดยพยายามระมัดระวังไม่ให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่อาศัยอยู่กับสาหร่ายหนีได้ โดยเก็บสาหร่ายใส่ในถังพลาสติก โดยเก็บหลายๆ ต้นจากหลายๆ แห่งที่อยู่ใกล้ๆ กัน จากนั้นนำกลับมาที่ห้องปฏิบัติการ ทำการปัดหรือเขย่าต้นสาหร่ายลงในน้ำทะเลสะอาดที่ผ่านการกรองด้วยถุงกรองขนาดตา 5 ไมโครเมตร เพื่อให้โคพีพอดหลุดออกจากต้นสาหร่าย ทำการกรองน้ำที่ได้ปัดโคพีพอดลงไปด้วยผ้ากรองขนาดตา 100 ไมโครเมตร

รูปที่ 3.1 บริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง จ. ชลบุรี ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายขึ้นมาเพื่อคัดแยกฮาร์แพคติคอยโคพีพอดสำหรับนำมาทำการศึกษา

รูปที่ 3.2 สาหร่ายทะเลสกุล *Padina* sp. และสกุล *Amphiroa* sp. ที่พบในบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง

จากนั้นทำการคัดแยกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo microscope) ตามคู่มือของ สุภาวดี จุลละศร (2553) เพื่อการศึกษาลักษณะภายนอก โดยจะทำการคงสภาพฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดด้วยน้ำยาฟอร์มาลินที่ผสมโรสเบงกอลเข้มข้น 4-6% ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 24 ชั่วโมง เมื่อต้องการศึกษาจึงนำมาล้างสีออกด้วยน้ำประปาผ่านถุงกรองที่มีขนาดตา 100 ไมโครเมตร ซึ่งฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจะติดสีแดงของโรสเบงกอลช่วยให้คัดแยกชนิดและศึกษารายละเอียดได้ง่ายยิ่งขึ้น

รูปที่ 3.3 ลักษณะของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ย้อมติดสีแดง (หรือสีชมพู) ของโรสเบงกอล

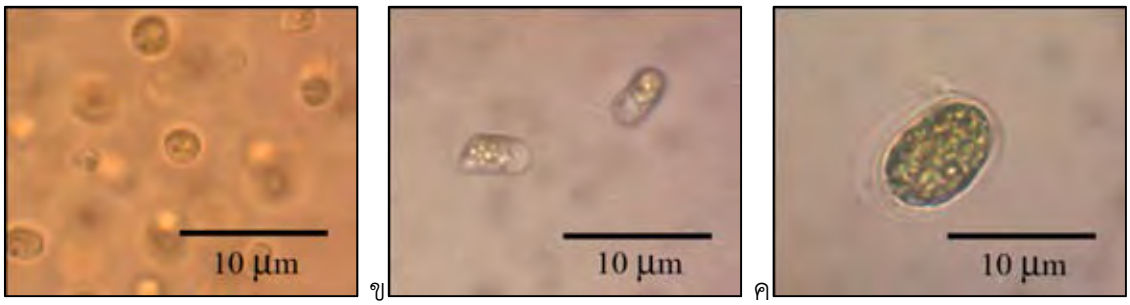
3.2 การศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

ทำการคัดแยกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดแบบคละชนิดเพื่อนำมาศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยอ้างอิงตามวิธีการของ สุภาวดี จุลละศร (2553) โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ

3.2.1 การเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ

ทำการศึกษาโดยใช้หลอดแก้ว (pasture pipette) ดูดเอาเฉพาะตัวเมียที่มีถุงไข่ (ไม่คำนึงว่าเป็นฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดชนิดใด) ทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ แยกใส่ในจานเพาะเชื้อ (Petri disc) ขนาดเล็ก จานละ 1 ตัว ซึ่งต้องกระทำอย่างระมัดระวังเพื่อไม่ให้แม่พันธุ์โคพีพอดบอบช้ำ และทำการเพาะเลี้ยงต่อไปโดยใช้น้ำทะเลที่ผ่านการกรอง ในขั้นแรกให้สาหร่ายสามชนิดที่มีขนาดต่างกันคือ *Isochrysis*

galbana, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางอาหารและสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย โดยได้รับความอนุเคราะห์หัวเชื้อสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข จ.ชลบุรี โดยให้วันเว้นวันในปริมาณที่เพียงพอ ตรวจดูการฟักของตัวอ่อนโคพีพอดทุกวันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบตัวอ่อนระยะนอเพลียสเกิดขึ้นในจานเลี้ยงเชื้อจานใดจะทำการแยกแม่พันธุ์ออกเพื่อป้องกันการกินกันเอง (cannibalism) ของแม่โคพีพอด จากนั้นทำการเลี้ยงตัวอ่อนโคพีพอดต่อไปจนกระทั่งพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28-32 °C มีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง และให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย และทำการเติมน้ำทะเลความเค็มประมาณ 27-30 PSU ที่กรองแล้ว เมื่อปริมาณน้ำในจานเพาะเชื้อลดลงประมาณ 1 ใน 3



รูปที่ 3.4 สาหร่าย *Isochrysis galbana* (ก), *Chaetoceros calcitrans* (ข) และ *Tetraselmis gracilis* (ค) ที่ใช้เลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

3.2.2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ใช้หลอดแก้วดูดคัดแยกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด แบบคละชนิด โดยพยายามเลือกที่มีลักษณะคล้ายกันมากที่สุดและขนาดใกล้เคียงกันโดยจะไม่เลือกตัวเมียที่มีถุงไข่ติดอยู่ โดยทำการพักฮาร์แพคทิคอยที่แยกได้ไว้ในบีกเกอร์ประมาณ 1 คืน จากนั้นจึงนำมาทำการทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและอัตรารอด คือ อุณหภูมิ ความเค็ม ชนิดอาหาร (สาหร่ายขนาดเล็ก) ลักษณะของตะกอนดิน และอัตราความหนาแน่นในการเลี้ยง โดยทำการทดลองดังรายละเอียดต่อไปนี้

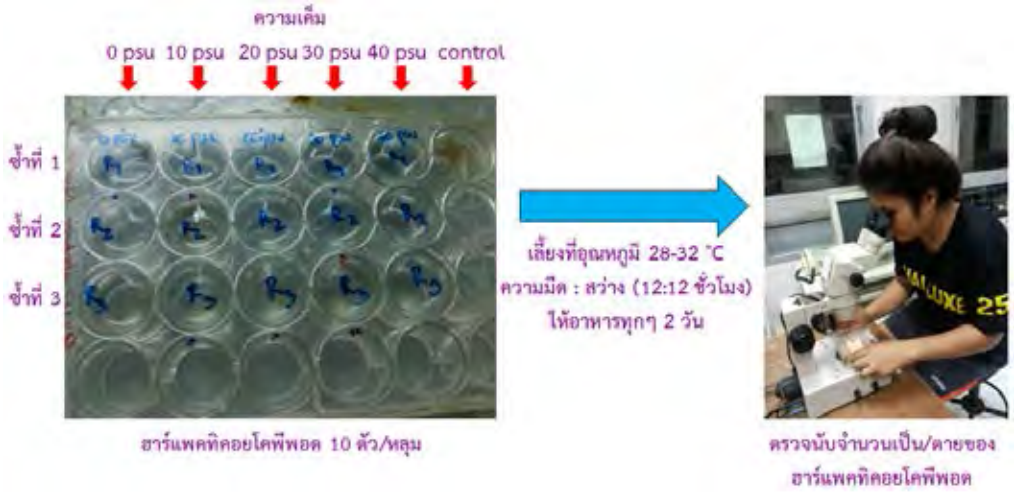
3.2.2.1 <u>อิทธิพลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด</u>

ทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกัน โดยทำการแยกโคพีพอดใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มีน้ำทะเลความเค็มประมาณ 27-30 PSU ที่ผ่านการกรองแล้วปริมาตร 20 มิลลิลิตร (เพื่อให้สะดวกต่อการตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์) จำนวนบีกเกอร์ละ 10 ตัว จากนั้นนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 °C ซึ่งในแต่ละอุณหภูมิจะมีการทดลอง 3 ซ้ำ (3 บีกเกอร์) (รูปที่ 3.5) ทำการเลี้ยงต่อไปโดยให้อาหารเป็นสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 3 ชนิดรวมกันทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย และมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวเป็น/ตัวตายเพื่อหาอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 (ครบ 7 วัน)

รูปที่ 3.5 การทดลองอิทธิพลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอด

3.2.2.2 <u>อิทธิพลของความเค็มต่ออัตรารอดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอด</u>

ทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน โดยทำการแยกโคพีพอดใส่ในถาดหลุมพลาสติก (multi-well plate) หลุมละ 10 ตัว ซึ่งในถาดหลุมนั้นจะมีน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้วปริมาตรประมาณ 3 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองที่ความเค็มแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 10, 20, 30 และ 40 PSU และมีชุดควบคุม (ความเค็มประมาณ 27 PSU) โดยแต่ละชุดการทดลองจะทำ 3-4 ซ้ำ ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28-32 °C) (รูปที่ 3.6) โดยให้อาหารเป็นสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 3 ชนิดรวมกันทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย และมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวเป็น/ตัวตายเพื่อหาอัตรารอดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 (ครบ 7 วัน)



รูปที่ 3.6 การทดลองอิทธิพลของความเค็มต่ออัตรารอดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอด

3.2.2.3 อิทธิพลของชนิดอาหาร (สาหร่ายขนาดเล็ก) ต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดโดยให้อาหารแตกต่างกัน โดยทำการแยกโคพีพอดใส่ในถ้วยพลาสติก ถ้วยละ 10 ตัว ซึ่งบรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว (ความเค็มประมาณ 27-30 PSU) และทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28-32 °C) และมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง ให้อาหารทุกวัน โดยทำการทดลองชนิดของอาหารที่ให้คือ สาหร่ายขนาดเล็ก (แพลงก์ตอนพืช) 3 ชนิด ได้แก่ *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* และอาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด (อาหารที่ใช้เลี้ยงเพรียงทราย) โดยมีการกำหนดชุดการทดลองดังนี้คือ

ชุดที่ 1 ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว (I: ปริมาณ 2,500-3,000 เซลล์/ถ้วย/วัน)

ชุดที่ 2 ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว (C: ปริมาณ 2,500-3,000 เซลล์/ถ้วย/วัน)

ชุดที่ 3 ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว (T: ปริมาณ 2,500-3,000 เซลล์/ถ้วย/วัน)

ชุดที่ 4 ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน (ICT: ปริมาณเซลล์รวม 2,500-3,000 เซลล์/ถ้วย/วัน)

ชุดที่ 5 ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด (F: ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย)

ชุดที่ 6 ไม่ให้อาหารเลย (NO)

โดยในแต่ละการทดลองจะทำ 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวเป็น/ตัวตายเพื่อหาอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดทุกๆ 24 ชั่วโมง จนครบ 7 วัน (รูปที่ 3.7)

รูปที่ 3.7 การทดลองอิทธิพลของชนิดอาหารต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

3.2.2.4 อิทธิพลของลักษณะตะกอนต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในตะกอนที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยคัดแยกโคพีพอดใส่ในถ้วยพลาสติก ถ้วยละ 30 ตัว ซึ่งแต่ละถ้วยบรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว (ความเค็มประมาณ 27-30 PSU) และมีตะกอนที่แตกต่างกันคือ 1) พื้นที่โล่งไม่มีตะกอน 2) ทรายหยาบปนเปลือกหอย (ขนาดใหญ่กว่า 1.0 มิลลิเมตร) 3) ทรายละเอียด (ขนาดเล็กกว่า 1.0 มิลลิเมตร) 4) ทรายเทียม vermiculite (ทรายที่ใช้เลี้ยงเพรียงทราย) และ 5) ทรายละเอียดปนโคลน โดยในแต่ละการทดลองจะทำ 3 ซ้ำ (รูปที่ 3.8) จากนั้นทำการเลี้ยงโคพีพอดที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28-32 °C) และมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง ให้อาหารเป็นสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 3 ชนิดรวมกันทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย หลังจาก

ทำการเลี้ยงจนครบ 7 วันแล้ว จะทำการรักษาสภาพโคพีพอดด้วยสารละลายฟอร์มาลินที่ผสมโรสเบงกอลให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณร้อยละ 4-5 จากนั้นจะนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวเป็น/ตัวตายเพื่อหาอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

รูปที่ 3.8 การทดลองอิทธิพลของลักษณะตะกอนต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

3.2.2.5 <u>อิทธิพลของความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด</u>

ทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ความหนาแน่นต่างๆ กัน โดยทำการคัดแยกโคพีพอดใส่ลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว (ความเค็มประมาณ 27-30 PSU) โดยแต่ละบีกเกอร์จะใส่ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในจำนวนที่ต่างกันและใส่น้ำในปริมาตรที่ต่างกันโดยคำนวณให้มีความหนาแน่นตามที่กำหนดคือ 1) 100 ตัว/ลิตร 2) 500 ตัว/ลิตร 3) 1,000 ตัว/ลิตร 4) 3,000 ตัว/ลิตร และ 5) 8,000 ตัว/ลิตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำ 3 ซ้ำ (รูปที่ 3.9) ทำการเลี้ยงโคพีพอดที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28-32 °C) และมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง ให้อาหารเป็นสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 3 ชนิดรวมกันทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย จากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวเป็น/ตัวตายเพื่อหาอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในชั่วโมงที่ 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 (ครบ 7 วัน)

รูปที่ 3.9 การทดลองอิทธิพลของความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

3.3 การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)

ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับเพรียงทรายในแง่ของการเป็นอาหารโดยวัดการเติบโตของเพรียงทรายจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเมื่อให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นอาหาร โดยทำการชั่งน้ำหนักเพรียงทรายจำนวน 5 ตัว ก่อนนำไปเลี้ยงในตู้กระจกขนาดเล็กที่เตรียมไว้โดยใส่ทรายลงไปให้มีความสูงประมาณ 4-5 เซนติเมตร และใส่น้ำทะเลสะอาด (ความเค็มประมาณ 27-30 PSU) ที่ผ่านการกรองแล้วให้มีความสูงจากระดับผิวหน้าของทรายอีกประมาณ 4-5 เซนติเมตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28-32 °C) ให้อากาศตลอดเวลาและมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง และทำการทดลองโดยให้อาหารที่แตกต่างกันดังนี้

1) ให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นอาหารอย่างเดียวในปริมาณ 100 ตัว/วัน (C)

2) ให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด 50 ตัว/วัน และให้อาหารกุ้งสำเร็จรูป 0.015 กรัม/วัน (CF)

3) ให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด 50 ตัว/วัน และให้อาหารกุ้งสำเร็จรูป 0.030 กรัม/วัน (CFF)

4) ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปเป็นอาหารอย่างเดียวในปริมาณ 0.030 กรัม/วัน (F)

โดยให้อาหารทุกวัน วันละครั้งในเวลาเช้า และมีการเปลี่ยนน้ำประมาณครึ่งหนึ่งทุกวันเพื่อลดปริมาณของเสียที่อาจเกิดจากการขับถ่ายของเพรียงทราย ทำการทดลองเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นจะนำเพรียงทรายแต่ละตัวขึ้นมาชั่งน้ำหนักและจดบันทึกเพื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของเพรียงทรายในแต่ละชุดการทดลอง (รูปที่ 3.10)

รูปที่ 3.10 การทดลองความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย

หลังจากเสร็จสิ้นแต่ละการทดลอง (ข้อ 3.2.2.1 - 3.2.2.5 และข้อ 3.3) จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธี Turkey's comparison test ให้ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 15 (ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

3.4 การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*) แบบครบวงจรชีวิต

ทำการเลี้ยงเพรียงทรายเพื่อเตรียมไว้สำหรับการเลี้ยงร่วมกับฮาร์แพคติคอยด์โคพีพอดในการดำเนินงานวิจัยในปีที่ 2 โดยจัดตั้งระบบเลี้ยงเพรียงทรายที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี โดยเลี้ยงเพรียงทรายในกระบะไฟเบอร์กลาสสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 0.8x1.2x0.35 ลูกบาศก์เมตร จัดตั้งระบบหมุนเวียนน้ำและอากาศ (รูปที่ 3.11) เมื่อเริ่มต้นได้นำเพรียงทรายที่ซื้อจากฟาร์มเกษตรกรในจังหวัดสุราษฎร์ธานี เลี้ยงในกระบะที่ใส่ทรายทะเล 2 กระบะและกระบะที่ใส่ทรายเทียม (vermiculite) 2 กระบะ เพื่อทดลองเปรียบเทียบอัตรารอดและการวางไข่ของเพรียงที่เลี้ยงในทรายต่างชนิดกัน โดยใส่ทรายความสูงประมาณ 5-10 เซนติเมตร ให้อาหารสำเร็จสำหรับเลี้ยงกุ้ง (เบอร์ 2) บดละเอียด วันละ 2 ครั้ง คือ เวลาเช้าและเย็น

ทำการสังเกตเพรียงที่ขึ้นมาว่ายน้ำเพื่อปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในตอนกลางคืน (เวลาประมาณ 22.00-23.00 น.) และตอนเช้า (เวลาประมาณ 8.00-9.00 น.) ซึ่งโดยปกติเพรียงทรายเพศเมียและเพศผู้ที่พร้อมจะสืบพันธุ์จะขึ้นมาว่ายน้ำและมีการผสมพันธุ์ในเวลากลางคืนจนถึงช่วงเช้าตรู่ โดยเพรียงเพศเมียจะเห็นลำตัวเป็นสีเขียวซึ่งเป็นสีของไข่ ส่วนเพรียงเพศผู้จะเห็นเป็นสีขาวขุ่นของสเปิร์ม เพรียงทรายจะมีพฤติกรรมการรวมกลุ่มผสมพันธุ์ที่ผิวน้ำ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า "สวอร์มมิ่ง (swarming)" ซึ่งเกิดในช่วงสั้นๆ เพื่อเป็นการเพิ่มโอกาสในการปฏิสนธิให้มากขึ้น ในช่วงชีวิตของเพรียงทรายจะมีการสืบพันธุ์เพียงครั้งเดียว หลังจากผสมพันธุ์เสร็จแล้วพ่อแม่พันธุ์เพรียงทรายจะตายในเวลาต่อมา เช่นเดียวกับพ่อแม่พันธุ์ที่ไม่ได้ผสมพันธุ์ ซึ่งเมื่อพบเพรียงทรายที่ขึ้นมาว่ายน้ำเพื่อจะสืบพันธุ์แล้วจะช้อนเพรียงทรายเพศผู้และเพศเมียแยกออกมาใส่ในกะละมังพลาสติกขนาดเล็กโดยใส่รวมอยู่ในกะละมังเดียวกันเพื่อเป็นการเพิ่มโอกาสในการผสมของไข่และสเปิร์ม หลังจากพ่อ-แม่เพรียงทรายปล่อยเซลล์สืบพันธุ์แล้วจะทำการแยกพ่อ-แม่พันธุ์ออกไปและทำการสุ่มไข่ไปส่องดูใต้กล่องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูว่ามีการผสมเกิดขึ้นหรือไม่ หากมีการผสมของไข่และสเปิร์มจะสังเกตเห็นไข่มีการพัฒนาแบ่งตัวก็จะทำการกรองไข่ด้วยผ้ากรองขนาดตา 60 ไมโครเมตร จากนั้นจะนับจำนวนไข่แล้วนำไปใส่ในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร และให้อากาศเบาๆ และสังเกตพัฒนาการของไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นระยะๆ โดยปกติไข่ของเพรียงทรายจะใช้เวลาประมาณ 24-36 ชั่วโมง ในการพัฒนาจนกระทั่งถึงระยะตัวอ่อนเมตาโทรโคฟอร์ (metatrochophore larvae) ซึ่งจะดำรงชีพเป็นแพลงก์ตอนชั่วคราว มีแถบซิเลียช่วยในการว่ายน้ำ หลังจากนั้นภายใน 2-3 วันจะเข้าสู่ระยะเนคโทคีต (nectochaete) ซึ่งเป็นระยะที่ตัวอ่อนเริ่มลงเกาะและคลืบคลานหากินตามพื้นทราย ถ้าสังเกตเห็นตัวอ่อนระยะนี้จะเตรียมกระบะไฟเบอร์กลาสที่ใส่ทรายและจัดระบบหมุนเวียนน้ำและให้อากาศซึ่งเตรียมไว้สำหรับเลี้ยงเพรียงทรายจนเป็นตัวเต็มวัยต่อไป โดยให้อาหารกุ้งบดละเอียดเป็นอาหารเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย

รูปที่ 3.11 ระบบเลี้ยงเพรียงทรายในกระบะไฟเบอร์กลาส

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ความหลากชนิดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่พบในบริเวณชายฝั่งเกาะสีชัง จ.ชลบุรี

บริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ซึ่งทำการศึกษาในครั้งนี้พบสาหร่ายทะเล 2 สกุล คือ สกุล *Padina* (สาหร่ายเห็ดหูหนู) และสกุล *Amphiroa* (สาหร่ายข่อก้านเข็ม) โดยสาหร่ายทั้งสองสกุลนี้มีการผันแปรสลับกันในรอบปีโดยช่วงเดือนมีนาคม-กันยายนจะพบสาหร่ายสกุลเด่นคือ *Amphiroa* sp. ส่วนในช่วงเดือนตุลาคม-กุมภาพันธ์จะพบสาหร่ายสกุล *Padina* เป็นสกุลเด่น โดยในช่วงที่ทำการศึกษานั้นไม่ได้ทำการนับจำนวนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่พบในกอสาหร่ายทั้ง 2 สกุล แต่อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตพบว่าในช่วงที่มีสาหร่ายสกุล *Amphiroa* เป็นสกุลเด่นจะพบปริมาณและความหลากหลายของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมากกว่าช่วงที่มีสาหร่ายสกุล *Padina* เป็นสกุลเด่น

ซึ่งจากการศึกษาและเก็บตัวอย่างสาหร่ายเพื่อนำมาคัดแยกหาฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจากบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง ในครั้งนี้ พบฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด 4 สกุล 6 ชนิด จาก 4 วงศ์ ดังนี้

1. วงศ์ Ameiridae Monard, 1927 พบ 1 ชนิด คือ

Nitokra sp. (รูปที่ 4.1)

ลักษณะสำคัญของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในวงศ์นี้คือ โรสตรัมเรียวยาว ลำตัวเพรียวยาว ขนาดของปล้องอกและขนาดของยูโรโซม (Urosome) ใกล้เคียงกัน ปล้องอกแยกกันแต่มองเห็นรอยต่อไม่ชัดเจนนัก ยูโรโซมมี 5 ปล้อง พบได้ทั้งปีในกอสาหร่ายทั้งสองสกุลแต่มีจำนวนไม่มากนัก

รูปที่ 4.1 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Nitokra* sp. (วงศ์ Ameiridae) เพศเมียมีถุงไข่

2. วงศ์ Harpacticidae Dana, 1846 พบ 3 ชนิด คือ

Tigriopus thailandensis (cf.) (รูปที่ 4.2)

Tigriopus sp.1 (รูปที่ 4.3)

Tigriopus sp.2 (รูปที่ 4.4)

ลักษณะสำคัญของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในวงศ์นี้คือ โรสตรัมมนกลม บางชนิดลำตัวเพรียวยาวขนาดปล้องอกใกล้เคียงกับยูโรโซม บางชนิดอาจมีส่วนปล้องหัวและปล้องอกกว้างกว่ายูโรโซม ปล้องอกแต่ละปล้องแยกกันชัดเจน ส่วนขอบอาจมีลักษณะเรียวแหลม ยูโรโซมเรียวเล็กมีประมาณ 5 ปล้อง พบได้ตลอดทั้งปีในกอสาหร่ายทั้งสองสกุลโดยพบหนาแน่นเป็นสกุลเด่นในบริเวณที่ศึกษา

ก. ข.

รูปที่ 4.2 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tigriopus thailandensis* (cf.) (วงศ์ Harpacticidae)
ก. เพศเมีย ข. เพศผู้

ก. ข.

รูปที่ 4.3 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tigriopus* sp.1 (วงศ์ Harpacticidae)
ก. เพศเมียมีถุงไข่ (ด้านข้าง) ข. เพศผู้ (ด้านหลัง)

ก. ข.

รูปที่ 4.4 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tigriopus* sp.2 (วงศ์ Harpacticidae) เพศเมีย
ก. ด้านหลัง ข. ด้านข้าง

3. วงศ์ Laophontidae T. Scott, 1905 พบ 1 ชนิด (ไม่สามารถจำแนกสกุล/ชนิดได้) (รูปที่ 4.5)

ลักษณะสำคัญของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในวงศ์นี้คือ โรสตรัมโค้งมนส่วนปลายเรียวแหลม ลำตัวเพรียวยาวขนาดปล้องอกใกล้เคียงกับยูโรโซม ปล้องอกและยูโรโซมแต่ละปล้องแยกกันชัดเจน เมื่อมองด้านข้างจะเห็นเป็นร่องเว้าชัดเจน ยูโรโซมมี 5 ปล้อง พบได้ตลอดทั้งปีในกอสาหร่ายทั้งสองสกุล แต่จะพบมากในช่วงที่มีสาหร่ายเห็ดหูหนู (*Padina* sp.) เป็นสกุลเด่นในบริเวณที่ศึกษา

ก.

ข.

ค.

ง.

รูปที่ 4.5 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด วงศ์ Laophontidae

ก. เพศเมีย (ด้านหลัง) ข. เพศเมีย (ด้านข้าง)

ค. เพศผู้(ด้านหลัง) ง. เพศผู้ (ด้านข้าง)

4. วงศ์ Tisbidae Stebbing, 1910 พบ 1 ชนิด คือ

Tisbe sp. (รูปที่ 4.6)

ลักษณะสำคัญของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในวงศ์นี้คือ โรสตรัมโค้งมน ลักษณะลำตัวป้อมอ้วน โดยขนาดส่วนหัวและปล้องอกใหญ่กว่าส่วนยูโรโซม ปล้องอกและยูโรโซมแยกกันชัดเจน ยูโรโซมมี 4 ปล้อง พบได้น้อย โดยจะพบในช่วงที่มีสาหร่ายช่อก้านเข็ม (*Amphiroa* sp.) เป็นสกุลเด่นในบริเวณที่ศึกษา

ก.

ข.

รูปที่ 4.6 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tisbe* sp. (วงศ์ Tisbidae) เพศเมีย

ก. ด้านหลัง ข. ด้านข้าง

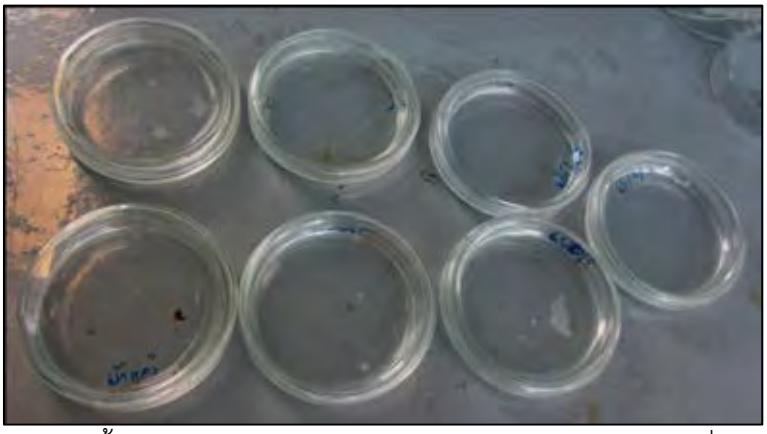
4.2 การศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษารูปแบบและวิธีการในการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในระดับห้องปฏิบัติการซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าของสภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมในการทำให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดมีอัตรารอดสูงที่สุดและนำไปใช้ต่อยอดเพื่อทำการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดให้มีปริมาณมากขึ้น เป็นดังนี้

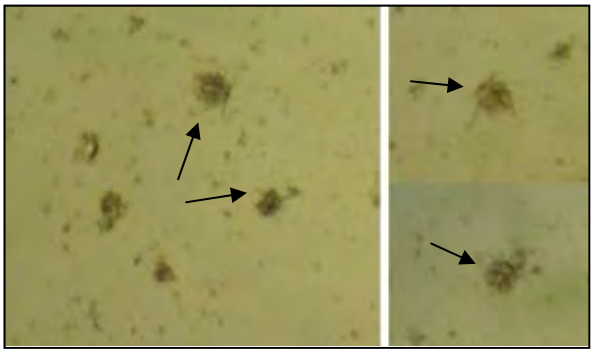
4.2.1 การเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมาก

ทำการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเพื่อเพิ่มจำนวน โดยคัดเลือกฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเฉพาะเพศเมียที่มีถุงไข่ติดอยู่ไม่คำนึงถึงชนิดของโคพีพอด (รูปที่ 4.7) โดยใช้หลอดแก้วดูดแล้วแยกใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเล็ก จานละ 1 ตัว ครั้งละ 7-8 จาน (รูปที่ 4.8) ให้สาหร่าย *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* เป็นอาหารวันเว้นวันในปริมาณที่เพียงพอ ทำการเลี้ยงและสังเกตการรอดตายหรือการตายเป็นระยะๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมทั้งตรวจดูการฟักของตัวอ่อนโคพีพอดทุกวันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบตัวอ่อนระยะนอเพลียสเกิดขึ้นในจานเลี้ยงเชื้อจานใดจะทำการแยกแม่พันธุ์ออกเพื่อป้องกันการกินกันเองของแม่โคพีพอด และทำการอนุบาลตัวอ่อนฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในระยะ nauplius ต่อไปจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย สำหรับในจานที่ไม่พบตัวอ่อนซึ่งเกิดจากการที่แม่พันธุ์ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดตายก่อน ก็จะทำความสะอาดจานเพาะเชื้อแล้วทำการคัดเลือกแม่พันธุ์ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่มีถุงไข่ติดอยู่มาใส่ใหม่และสังเกตการฟักไข่เช่นเดิม ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการคัดเลือกและสามารถอนุบาลฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในระยะนอเพลียส (รูปที่ 4.9ก) ที่ถูกปล่อยออกมาจนถึงระยะโคพีโพดิด (รูปที่ 4.9ข) โดยมีจำนวนจานละประมาณ 4-5 ตัว ทั้งนี้โคพีพอดที่เลี้ยงไว้ไม่มีการออกไข่และเมื่อเลี้ยงได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดก็จะตาย จึงต้องทำการเลือกแม่พันธุ์และทำการเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดใหม่และทำซ้ำไปเรื่อยๆ

รูปที่ 4.7 ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ติดอยู่ที่คัดแยกเพื่อมาทำการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.8 การเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดโดยเลือกโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ติดมาเลี้ยงในจานเพาะเชื้อขนาดเล็กจานละ 1 ตัว

ก. 

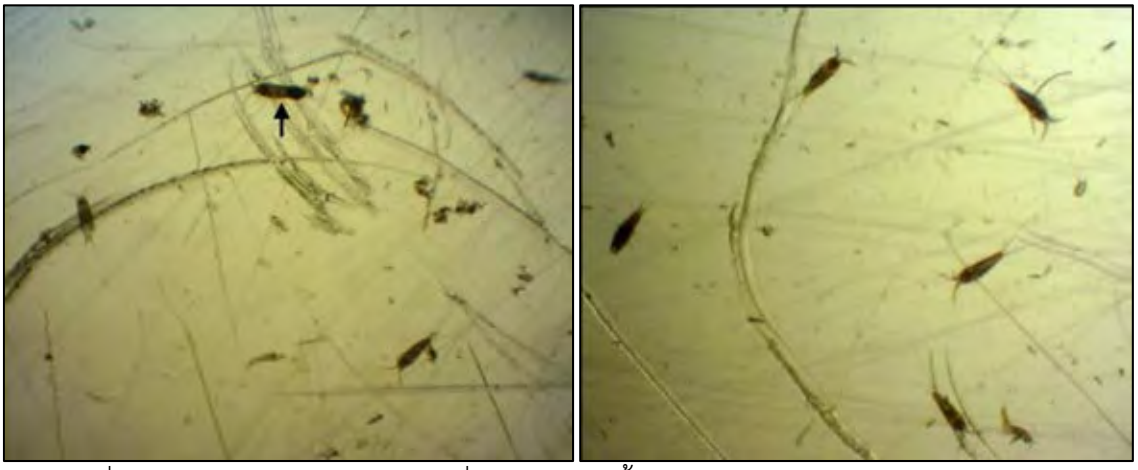
ข.

รูปที่ 4.9 พัฒนาการของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อขนาดเล็ก
ก. ตัวอ่อนระยะนอเพลียส ข. ตัวอ่อนระยะโคพีโพดิด

นอกจากนี้ ผู้วิจัยได้พยายามทดลองคัดเลือกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (คละชนิด) จำนวนมาก นำไปใส่ในตู้กระจกใสโดยภายในบรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว (ความเค็มประมาณ 27-30 PSU) ใส่ทรายละเอียดและใส่สาหร่ายที่ได้เก็บมาจากทะเลบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง ซึ่งเป็นบริเวณเดียวกับที่ทำการเก็บสาหร่ายมาคัดแยกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อให้สภาพในตู้กระจกใกล้เคียงกับสภาพในธรรมชาติ (รูปที่ 4.10) และทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 28-32 °C) ให้อากาศตลอดเวลาและมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง ให้สาหร่ายทั้งสามชนิดเป็นอาหารวันละครั้ง และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณครึ่งหนึ่งสัปดาห์ละ 2 ครั้ง โดยใช้สายยางดูดเฉพาะน้ำส่วนบนผ่านผ้ากรองขนาดตา 100 ไมโครเมตร เพื่อไม่ให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดหลุดออกมากับน้ำ และเวลาที่เปลี่ยนถ่ายน้ำในตู้นั้นได้ทำการสุ่มตัวอย่างในตู้กระจกเพื่อตรวจหาฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงไว้ในตู้ พบว่า ฮาร์แพคทิคอยมีสุขภาพแข็งแรงดีและสังเกตพบตัวอ่อนของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดทั้งในระยะนอเพลียสและระยะโคพีโพดิด และพบฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดบางตัวมีถุงไข่ติดอยู่ที่ท้องด้วย (รูปที่ 4.11) แสดงให้เห็นว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสามารถสืบพันธุ์และเพิ่มจำนวนได้ภายในตู้เพาะเลี้ยงที่ทดลองสร้างขึ้นมา ผู้วิจัยจึงได้พยายามเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในสภาพนี้ควบคู่ไปกับการเลี้ยงแบบชนิดเดียว (ในจานเพาะเชื้อขนาดเล็ก) เพื่อเพิ่มจำนวนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการให้เพียงพอต่อสำหรับการที่จะนำไปใช้ทดลองเพื่อหาความเหมาะสมของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ได้จากการ

เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการทั้งสองวิธีนี้ก็ยังไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้ทำการทดลองดังกล่าว จึงได้มีการเปลี่ยนแปลงแผนการดำเนินการทดลองโดยใช้วิธีการคัดเลือกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจากธรรมชาติเพื่อนำมาทดลองปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการดังจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

รูปที่ 4.10 การเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในตู้กระจก

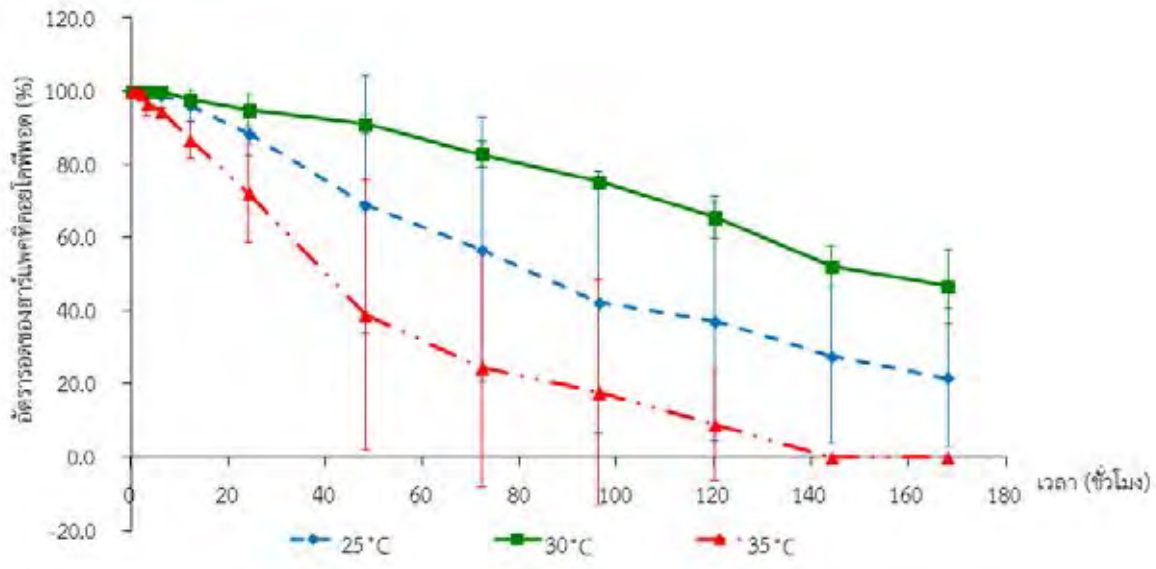


รูปที่ 4.11 ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ทำการเพาะเลี้ยงในตู้กระจกในห้องปฏิบัติการ โดยสังเกตพบว่าบางตัวมีการสร้างถุงไข่อยู่ใต้ท้อง (ลูกศรชี้)

4.2.2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

4.2.2.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

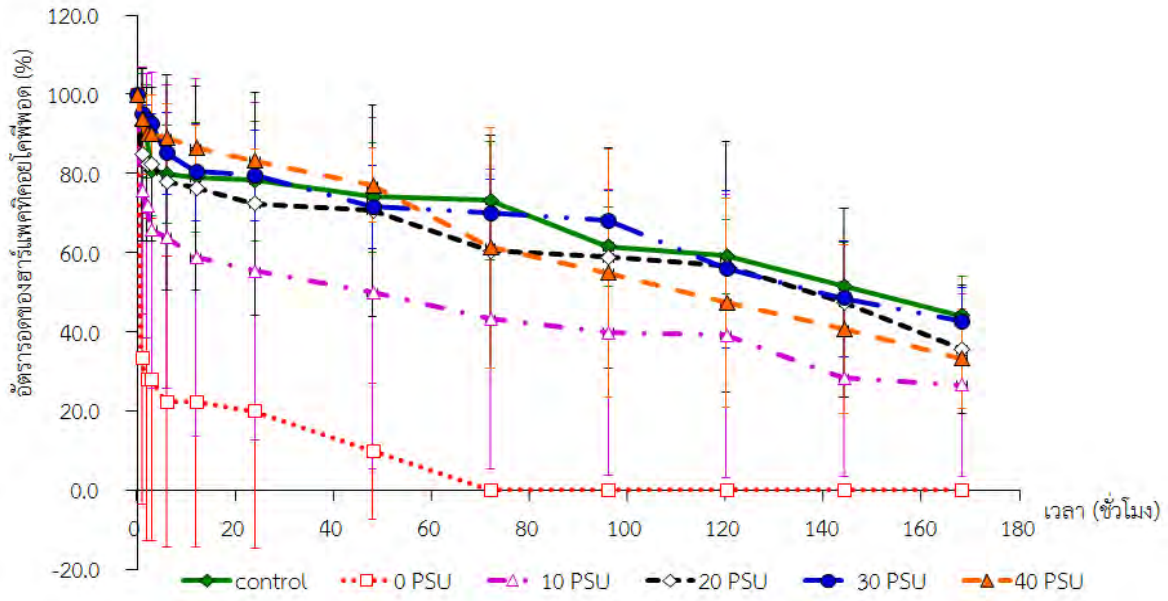
ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด โดยทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกันคือ 25, 30 และ 35 °C โดยควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เช่น ความเค็ม ช่วงเวลามืด:สว่าง และการให้อาหาร ให้เหมือนกันทุกชุดการทดลอง และได้ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ดังแสดงในภาคผนวกที่ 1) พบว่า อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) โดยฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C จะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุด โดยฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจะเริ่มตายในชั่วโมงที่ 12 หลังจากเริ่มทดลอง (อัตรารอดเฉลี่ย 97.8±2.5 %) และอัตรารอดจะค่อยๆ ลดลงจนมีอัตรารอดเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (7 วัน) เป็น 46.7±10.1 % รองลงมาคือ ที่อุณหภูมิ 25 °C ซึ่งฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจะเริ่มตายในชั่วโมงที่ 6 หลังจากเริ่มทดลอง (อัตรารอดเฉลี่ย 98.9±1.0 %) และมีอัตรารอดเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 21.7±18.9 % และพบว่าที่อุณหภูมิ 35 °C ฮาร์แพคทิคอยจะมีอัตรารอดต่ำที่สุด โดยโคพีพอดจะเริ่มตายตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 (อัตรารอดเฉลี่ย 99.4±1.0 %) และฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจะตายทั้งหมดในชั่วโมงที่ 144 (6 วัน) (รูปที่ 4.12)



รูปที่ 4.12 อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน

4.2.2.2 ผลของความเค็มต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

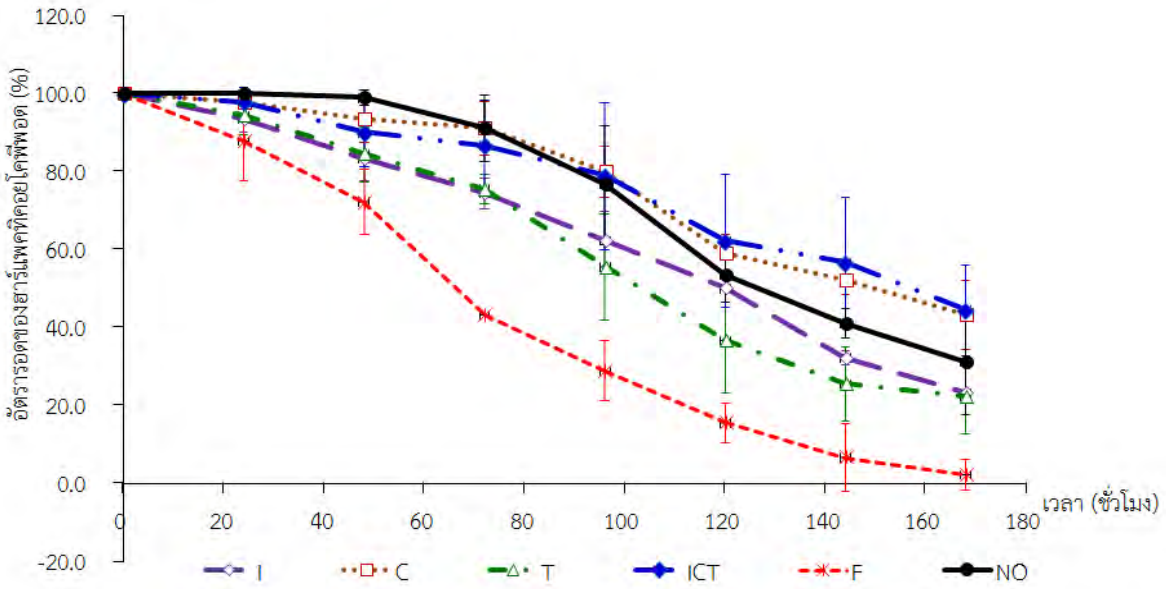
ผลการศึกษาอิทธิพลของความเค็มต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด โดยควบคุมสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดให้เหมือนกันแต่มีการผันแปรระดับความเค็มของน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงให้แตกต่างกันคือ 0, 10, 20, 30 และ 40 PSU และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ภาคผนวกที่ 2) พบว่าอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในความเค็มต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) และพบว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีความสามารถในการทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ในช่วงกว้างและสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในความเค็มตั้งแต่ 10-40 PSU โดยฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในความเค็ม 30 PSU จะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (7 วัน) เท่ากับ 42.8±8.6 % ใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่เลี้ยงในความเค็ม 27 PSU (44.7±11.0 %) รองลงมาคือ ที่ความเค็ม 20, 40 และ 10 PSU มีอัตรารอดเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็น 35.8±16.3 %, 33.3±12.6 % และ 26.7±23.1 % ตามลำดับ และพบว่า เมื่อทดลองเลี้ยงที่ความเค็ม 0 PSU ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมากกว่า 60 % จะตายภายใน 1 ชั่วโมง (อัตรารอดเฉลี่ย 33.3±36.9 %) และฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดทั้งหมดจะตายภายใน 72 ชั่วโมง (3 วัน) เท่านั้น (รูปที่ 4.13)



รูปที่ 4.13 อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มต่างกัน

4.2.2.3 ผลของชนิดของอาหารต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ผลการศึกษาชนิดของอาหารต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด โดยการทดลองให้อาหารที่แตกต่างกัน 6 แบบคือ 1) ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว, 2) ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว, 3) ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว, 4) ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน, 5) ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด และ 6) ไม่ให้อาหารเลย และได้ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ภาคผนวกที่ 3) พบว่าอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่จะสังเกตเห็นว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 (168 ชั่วโมง) ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปเป็นอาหารจะมีอัตรารอดเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 2.2±3.8 % ส่วนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกันและให้สาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* เป็นอาหารจะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 44.4±11.7 % และ 43.3±8.8 % ตามลำดับ ส่วนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ไม่ให้อาหารเลย (ชุดควบคุม), ให้สาหร่าย *Isochrysis galbana* และให้สาหร่าย *Tetraselmis gracilis* นั้นมีอัตรารอดเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ 31.1±13.5 %, 23.3±0.0 % และ 22.2±9.6 % ตามลำดับ (รูปที่ 4.14)



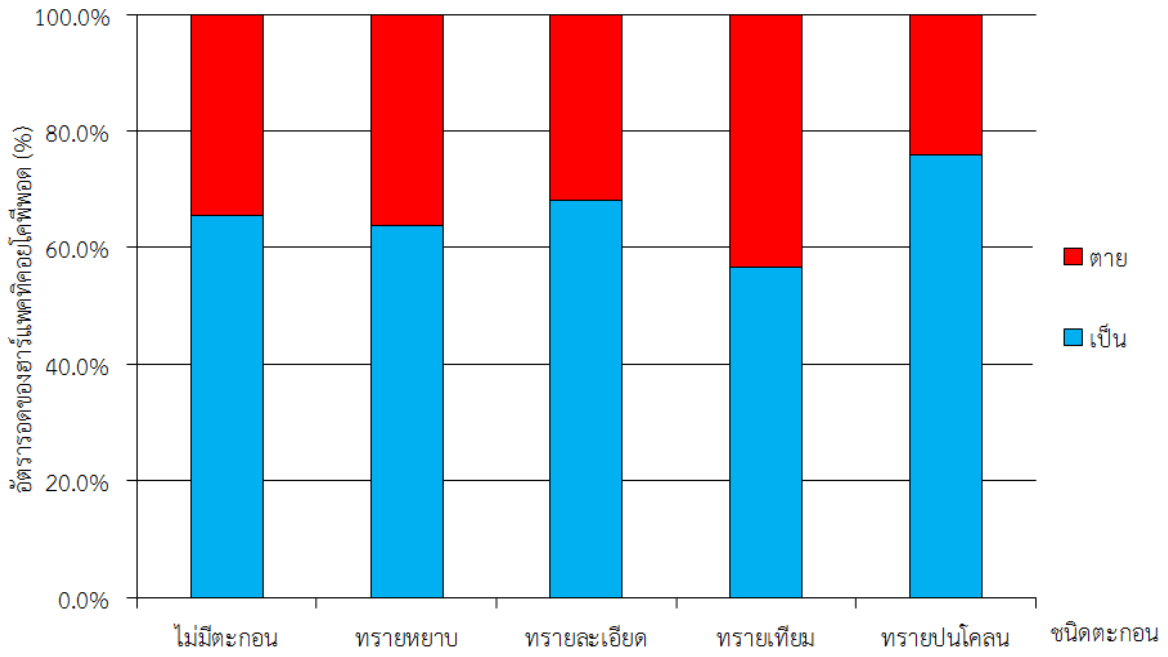
รูปที่ 4.14 อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงโดยให้อาหารต่างชนิดกัน

I = ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว
C = ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว
T = ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว
ICT = ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน
F = ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด
NO = ไม่ให้อาหาร)

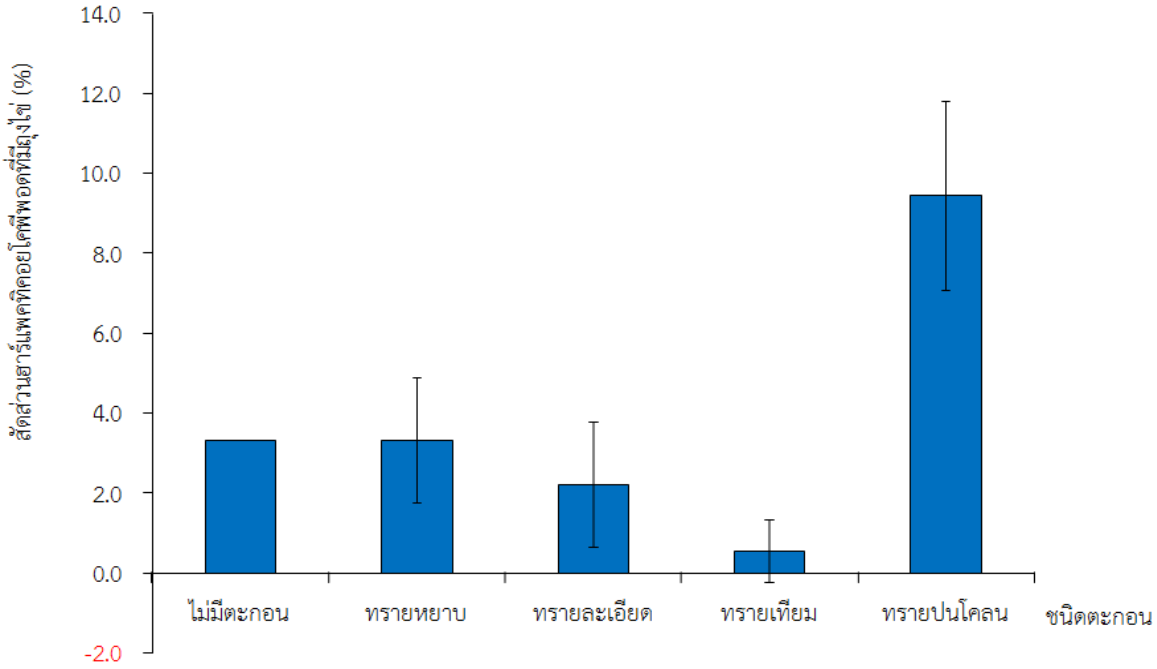
4.2.2.4 ผลของชนิดตะกอนต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ผลการศึกษาอิทธิพลของชนิดตะกอนต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด โดยทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกันคือ 1) ไม่มีตะกอน 2) ทรายหยาบปนเปลือกหอย 3) ทรายละเอียด 4) ทรายเทียม และ 5) ทรายละเอียดปนโคลน และทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ภาคผนวกที่ 4) พบว่า อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในตะกอนต่างชนิดกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (7 วัน) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่า 50% ในตะกอนทุกชนิด แต่อย่างไรก็ตาม ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในภาชนะที่ใส่ทรายละเอียดปนโคลนซึ่งมีค่าเท่ากับ 76.11±2.36 % รองลงมาเป็น ทรายละเอียด ไม่มีตะกอน และทรายหยาบ โดยมีอัตรารอดเฉลี่ยเท่ากับ 68.33±7.07 %, 65.56±11.00 % และ 63.89±13.36 % ตามลำดับ ส่วนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในภาชนะที่มีทรายเทียมจะมีอัตรารอดเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 56.67±1.57 % (รูปที่ 4.15)

ทั้งนี้ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการคัดแยกเฉพาะฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ไม่มีถุงไข่ติดอยู่ที่ท้องเพื่อทำการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองได้สังเกตและทำการตรวจนับจำนวนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่มีถุงไข่เกิดขึ้นด้วย พบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในภาชนะที่ใส่ทรายละเอียดปนโคลนมีจำนวนโคพีพอดที่มีถุงไข่เกิดขึ้นมากที่สุด (คิดเป็น 9.44±2.36 %) ส่วนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในภาชนะที่ใส่ทรายหยาบ ทรายละเอียด และภาชนะที่ไม่มีตะกอน จะพบฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่มีถุงไข่เกิดขึ้นเท่ากับ 3.33±1.57 %, 2.22±1.57 % และ 3.33±0.00 % ตามลำดับ ในขณะที่ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในภาชนะที่ใส่ทรายเทียมจะมีถุงไข่เกิดขึ้นเพียง 0.56±0.79 % เท่านั้น (รูปที่ 4.16)



รูปที่ 4.15 อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกันเมื่อทำการทดลองครบ 7 วัน

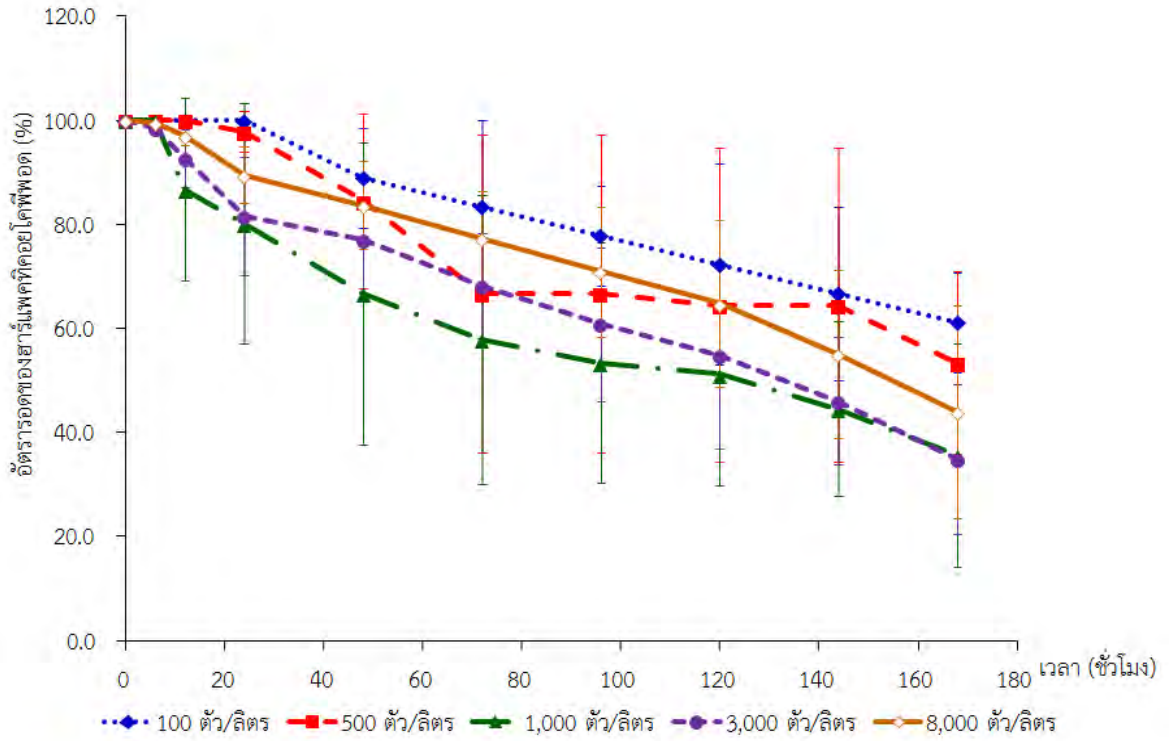


รูปที่ 4.16 สัดส่วนของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่มีถุงไข่เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกันเมื่อทำการทดลองครบ 7 วัน

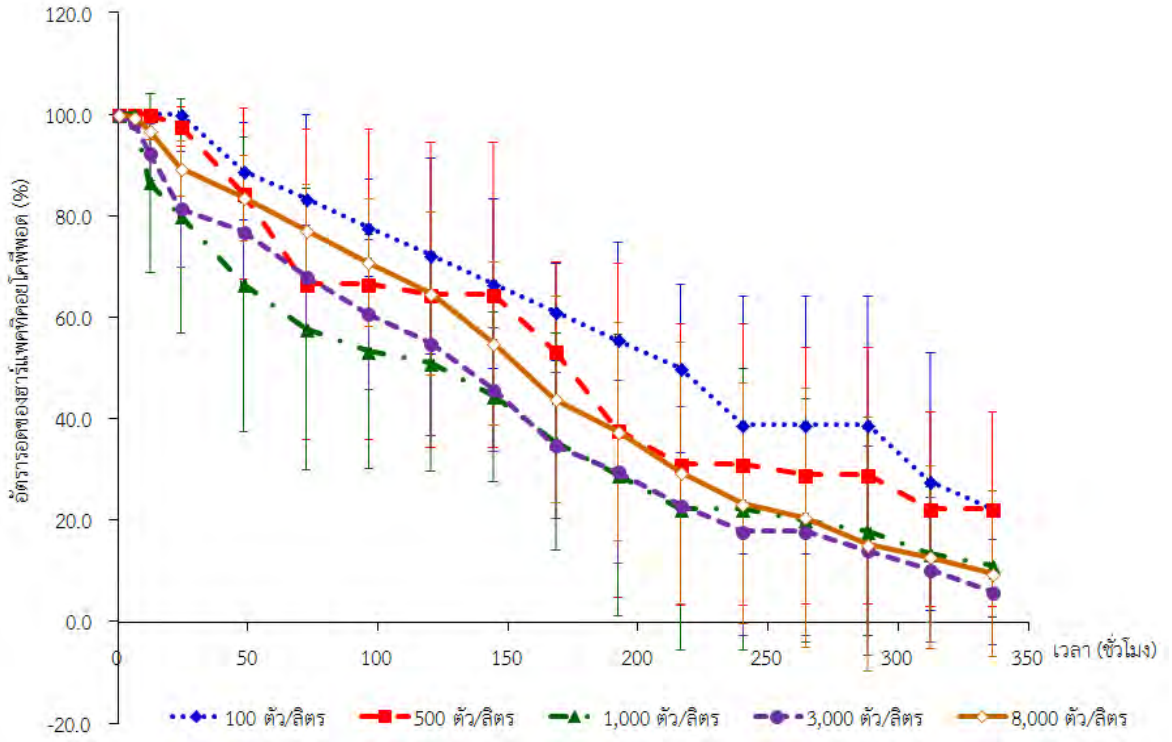
4.2.2.5 ผลของความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด

ผลการศึกษาความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด โดยทำการทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในความหนาแน่นต่างกัน โดยได้ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ภาคผนวกที่ 5) พบว่าอัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในความหนาแน่นต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และพบว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดเฉลี่ยลดลงเรื่อยๆ โดยฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงที่ระดับความหนาแน่น 100 ตัว/ลิตร มีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (7 วัน) เท่ากับ 61.1±9.6 % รองลงมาคือ ที่ระดับความหนาแน่น 500 ตัว/ลิตร มีอัตรารอดเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 53.3±17.6 % ส่วนอัตรารอดเฉลี่ยฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงที่ระดับความหนาแน่น 1,000, 3,000 และ 8,000 ตัว/ลิตร จะมีค่าเท่ากับ 35.6±21.4 %, 34.8±14.5 % และ 43.9±20.5 % ตามลำดับ (รูปที่ 4.17)

ทั้งนี้ ได้ทดลองเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ นี้ต่อไปอีกจนครบ 14 วัน (2 สัปดาห์) โดยยังคงได้ผลการทดลองเช่นเดิมคือ ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงที่ระดับความหนาแน่น 100 และ 500 ตัว/ลิตร (อัตรารอดเฉลี่ย 22.2±19.2 % เท่ากัน) ในขณะที่อัตรารอดเฉลี่ยของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงที่ระดับความหนาแน่น 1,000, 3,000 และ 8,000 ตัว/ลิตร มีค่าเท่ากับ 11.1±10.2 %, 5.9±10.3 % และ 9.4±16.4 % ตามลำดับ (รูปที่ 4.18)



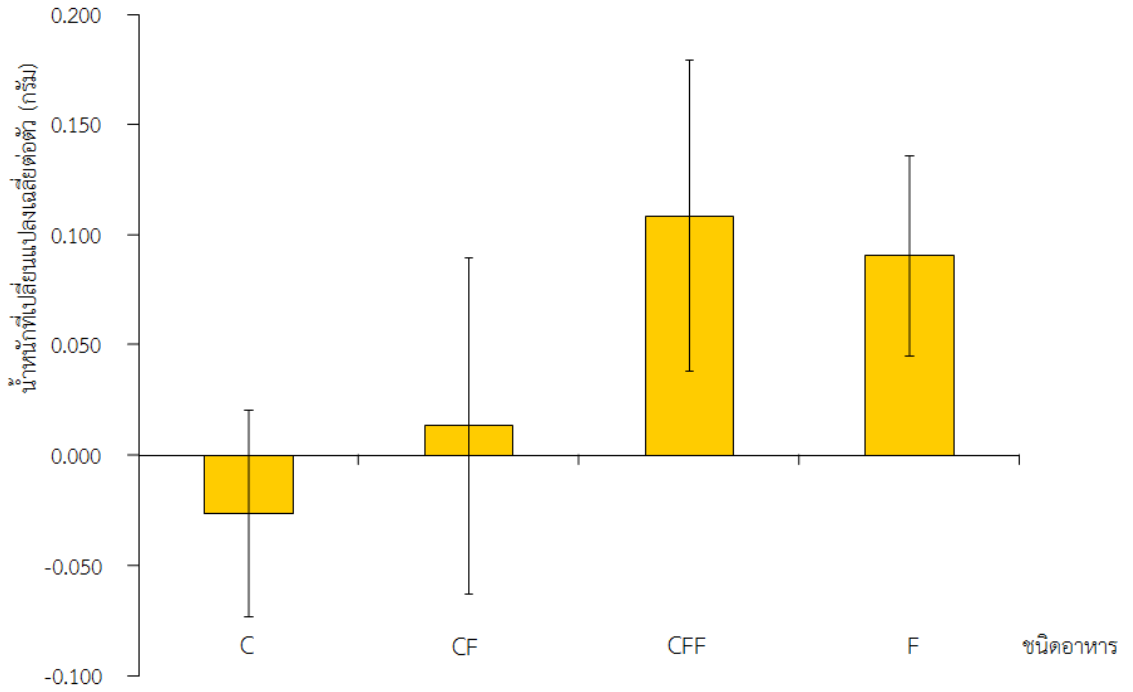
รูปที่ 4.17 อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในความหนาแน่นต่างกัน เมื่อทำการทดลองครบ 7 วัน



รูปที่ 4.18 อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในความหนาแน่นต่างกัน เมื่อทำการทดลองครบ 14 วัน

4.3 ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)

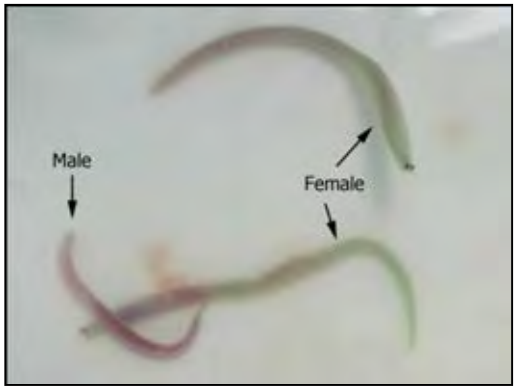
จากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในแง่ของการเป็นอาหารให้กับเพรียงทรายและทำการวัดการเติบโตโดยวิธีชั่งน้ำหนักก่อน-หลังการทดลอง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเพรียงทรายเมื่อให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดและอาหารกุ้งในปริมาณต่างๆ กัน พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม จะเห็นว่าเพรียงทรายที่ให้อาหารเป็นฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในปริมาณ 50 ตัว/วัน ร่วมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป 0.030 กรัม/วัน (CFF) จะทำให้เพรียงทรายมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุด (น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นตัวละ 0.109±0.071 กรัม) และสูงกว่าชุดควบคุมที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปเป็นอาหารเพียงอย่างเดียวในปริมาณ 0.030 กรัม/วัน (F) ซึ่งทำให้เพรียงทรายมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นตัวละ 0.091±0.045 กรัม และเมื่อให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในปริมาณ 50 ตัว/วัน ร่วมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูปเพียงครึ่งเดียว (0.015 กรัม/วัน) เป็นอาหาร (CF) จะทำให้เพรียงทรายมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเพียง 0.014±0.076 กรัมเท่านั้น แต่ทั้งนี้ เมื่อให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นอาหารเพียงอย่างเดียวในปริมาณ 100 ตัว/วัน (C) กลับพบว่าจะทำให้น้ำหนักเฉลี่ยของเพรียงทรายลดลงถึงตัวละ 0.026±0.047 กรัม (รูปที่ 4.19)



รูปที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเพรียงทรายเมื่อทดลองให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเป็นอาหารในสัดส่วนต่างๆ กัน

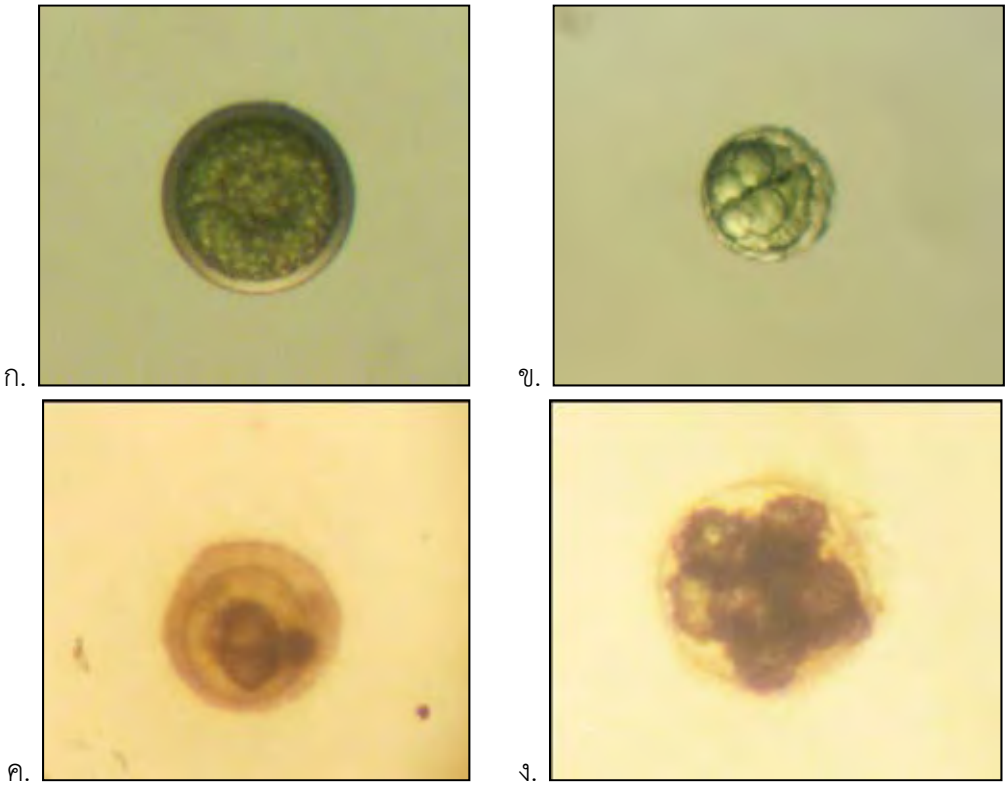
4.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเพรียงทรายในกระบะไฟเบอร์กลาส โดยให้มีระบบหมุนเวียนน้ำและอากาศ ให้อาหารสำเร็จสำหรับเลี้ยงกุ้ง (เบอร์ 2) บดละเอียด วันละ 2 ครั้ง คือ เวลาเช้าและเย็น และทำการสังเกตเพรียงที่ขึ้นมาว่ายน้ำเพื่อปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในเวลากลางคืนประมาณ 22.00-23.00 น. และเวลาเช้าประมาณ 8.00-9.00 น. เมื่อพบเพรียงทรายเพศผู้ (เห็นลำตัวสีขาว) และเพศเมีย (เห็นลำตัวสีเขียว) ดังรูปที่ 4.20ก ขึ้นมาว่ายน้ำเพื่อสืบพันธุ์ จึงทำการช้อนเพรียงทรายออกมาใส่รวมกันในกะละมังหรือถังพลาสติกขนาดเล็ก (รูปที่ 4.20ข) หลังจากพ่อ-แม่เพรียงทรายปล่อยเซลล์สืบพันธุ์แล้วได้ทำการแยกพ่อ-แม่พันธุ์ออกไปและทำการสุ่มไข่ไปส่องดูภายใต้กล่องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูการผสมของไข่และสเปิร์ม พบไข่มีการพัฒนาแบ่งตัว (รูปที่ 4.21ข) จึงทำการกรองไข่ด้วยผ้ากรองขนาดตา 60 ไมโครเมตร เมื่อนับจำนวนไข่แล้วจึงนำไปใส่ในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร และให้อากาศเบาๆ และสังเกตพัฒนาการของไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นระยะๆ และทำการบันทึกภาพในระยะต่างๆ คือ ตัวอ่อนระยะโทรโคฟอร์ (trochophore larvae, รูปที่ 4.21ค และ ง), ระยะเมตาโทรโคฟอร์ (metatrochophore larvae, รูปที่ 4.22ก), ระยะเนคโทคีต (nectochaete, รูปที่ 4.22ข) และตัวอ่อนระยะลงเกาะ (รูปที่ 4.22ค และ ง) ซึ่งเริ่มคลีบคลานหากินตามพื้นทราย จึงย้ายลงในกระบะไฟเบอร์กลาสที่มีทรายและมีการจัดระบบหมุนเวียนน้ำและให้อากาศ แล้วทำการเลี้ยงเพรียงทรายต่อไปจนเป็นตัวเต็มวัย โดยให้อาหารกุ้งบดละเอียดวันละ 2 ครั้งคือ เช้า-เย็น ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้สามารถเพาะเลี้ยงเพรียงทรายได้จนเป็นตัวเต็มวัยได้ประมาณ 1,000 ตัว และได้ทำการเลี้ยงต่อไปเพื่อให้เพรียงทรายชุดนี้สามารถใช้เป็นพ่อ-แม่พันธุ์ต่อไปได้

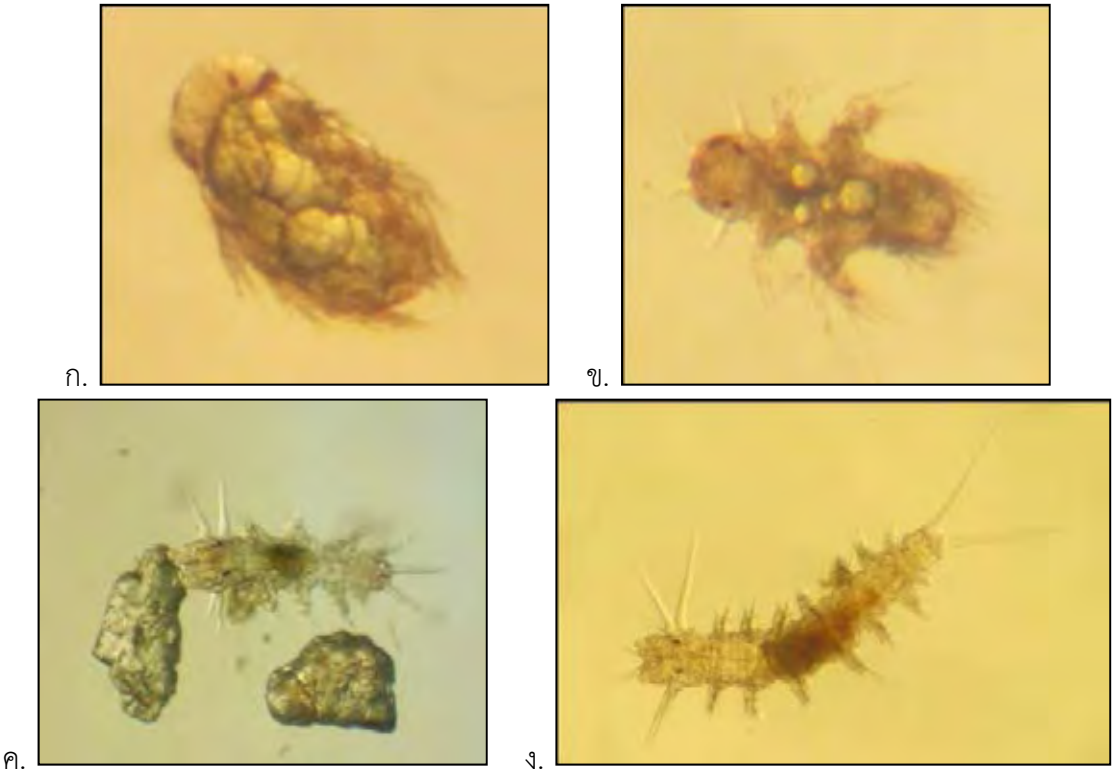
ก. 

ข.

รูปที่ 4.20 เพรียงทรายเพศผู้และเพศเมียที่ขึ้นมาว่ายน้ำเพื่อวางไข่ (ก) และไข่ของเพรียงทรายที่ได้รับการผสมที่เลี้ยงในถังพลาสติก (ข)



รูปที่ 4.21 พัฒนาการของไข่เพรียงทราย: ไข่ของเพรียงทราย (ก) ระยะแบ่งตัวของไข่ระยะ (ข) จนถึงตัวอ่อนระยะโทรโคฟอร์ (trochophore larvae) (ค และ ง)



รูปที่ 4.22 พัฒนาการของตัวอ่อนเพรียงทราย: ตัวอ่อนระยะเมตาโทรโคฟอร์ (metatrochophore larvae) (ก), ตัวอ่อนระยะเนคโทคีต (nectochaete) (ข), ตัวอ่อนระยะลงเกาะ (ค) และตัวอ่อนเพรียงทรายที่อายุมากขึ้น (ง)

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

5.1 ความหลากชนิดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่พบในบริเวณชายฝั่งเกาะสีชัง จ.ชลบุรี

การศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในบริเวณที่มีสาหร่ายชายฝั่งด้านหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี โดยพบทั้งสิ้น 4 สกุล 6 ชนิด จาก 4 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Ameiridae พบ *Nitokra* sp., วงศ์ Harpacticidae พบ *Tigriopus thailandensis* (cf.), *Tigriopus* sp.1 และ *Tigriopus* sp.2, วงศ์ Laophontidae พบฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่ไม่ได้จำแนกชนิด 1 สกุล และวงศ์ Tisbidae พบ *Tisbe* sp. โดยชนิดที่พบเป็นกลุ่มเด่นในบริเวณนี้คือ ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในสกุล *Tigriopus* และฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในวงศ์ Laophontidae ซึ่งได้พยายามนำมาทดลองเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในอดีตพบว่า ความหลากชนิดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่พบในการศึกษาครั้งนี้ต่ำกว่าการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร (2553) ซึ่งทำการศึกษาในบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของไทยได้แก่ จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง และจังหวัดตราด ที่รายงานไว้ว่าพบมากถึง 28 สกุล 35 ชนิด จาก 15 วงศ์ ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีพื้นที่ไม่กว้างมากนักซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ในการศึกษาครั้งนี้พบความหลากชนิดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดต่ำกว่าการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร (2553) และนอกจากนี้ความหลากหลายของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดยังขึ้นกับความหลากหลายของแหล่งที่อยู่อาศัยซึ่งก็คือชนิดของสาหร่ายที่พบในบริเวณชายฝั่งอีกด้วย โดยในบริเวณชายฝั่งที่ทำการศึกษาครั้งนี้พบสาหร่ายเพียง 2 สกุล คือ สกุล *Padina* sp. และสกุล *Amphiroa* sp. ต่างจากการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร (2553) ที่ทำการศึกษาในหลายพื้นที่และพบสาหร่ายหลายชนิด เช่น สาหร่ายไส้ไก่ *Enteromorpha clathrata*, สาหร่ายพวงองุ่น *Caulerpa* spp., สาหร่ายทุ่น *Sagassum*, สาหร่ายเห็ดหูหนู *Padina*, สาหร่ายรากไม้ *Neomeris vanbosseae* และสาหร่ายข้อ *Gracilaria salicornia* เป็นต้น จึงทำให้พบฮาร์แพคติคอยโคพีพอดหลากหลายชนิด เช่นเดียวกับ Hicks (1977) ที่ทำการศึกษาสาหร่ายทะเลในประเทศนิวซีแลนด์และได้รายงานว่าสาหร่ายทะเลเป็นแหล่งอาศัยที่สำคัญของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดหลากหลายชนิด เช่น สาหร่าย *Enteromorpha intestinalis* พบโคพีพอดชนิด *Tisbe holothuriae* และ *Robertsonia propinqua*, สาหร่าย *Corallina officinalis* พบโคพีพอดชนิด *Eupelte regalis*, *Amphiascopsis cinctus*, *Amonardia perturbata*, *Paralaophonte meinerti* และ *Lourinia armata*, สาหร่าย *Zonaria turneriana* พบโคพีพอดชนิด *Porcellidium dilatatum* และ *Porcellidium rubrum*, สาหร่าย *Xiphophora chondrophylla* พบโคพีพอดชนิด *Porcellidium erythrum* และสาหร่าย *Pterocladia lucida* พบโคพีพอดชนิด *Alteutha littoralis* และ *Neopeltopsis pectinipes* เป็นต้น

สำหรับความหนาแน่นของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่พบนั้นก็มีความสัมพันธ์กับความหลากหลายและชนิดของสาหร่ายทะเลที่พบในบริเวณชายฝั่งเช่นกัน โดยแม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการนับจำนวนและจำแนกชนิดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่พบในกอสาหร่ายแต่ละ 2 สกุล แต่จากการสังเกตในขณะเก็บตัวอย่างสาหร่ายที่นำมาคัดแยกฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเพื่อนำมาทำการทดลองและเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการพบว่า ปริมาณและความหลากหลายของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่พบในกอสาหร่ายสกุล *Amphiroa* sp. จะมากกว่าที่ได้จากกอสาหร่าย *Padina* sp. ซึ่งอาจเป็นเพราะสาหร่าย *Amphiroa* sp. มีลักษณะทัลลัสเป็นกิ่งก้านทำให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดสามารถเข้าไปอาศัยตามซอกหลืบของสาหร่ายได้ต่างจากสาหร่าย *Padina* sp. ที่มีทัลลัสเป็นใบซึ่งจะมีซอกหลืบให้หลบอาศัยน้อยกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร (2555) ที่รายงานว่าฮาร์แพคติคอยโคพีพอดจะชอบอาศัยอยู่กับสาหร่ายทะเลทุกชนิด

แต่อาจพบปริมาณมากน้อยต่างกันขึ้นกับชนิดของสาหร่ายและฤดูกาล และได้แนะนำว่าสาหร่ายไส้ไก่ (สกุล *Enteromorpha*) น่าจะเป็นชนิดที่ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดชอบเนื่องจากโคพีพอดจะมีความสุขเมื่อได้เข้าไปอาศัยอยู่ในทัลลัสของสาหร่ายซึ่งมีลักษณะเป็นหลอดกลวง รวมทั้งจะกินสาหร่ายเป็นอาหารอีกด้วย ดังนั้นในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในอนาคตอาจต้องพิจารณาการเลี้ยงสาหร่ายทะเลควบคู่ไปด้วย

5.2 การศึกษารูปแบบและวิธีการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้พยายามทดลองแยกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดหลายสกุลจากสาหร่ายทะเลมาทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยพยายามทำการเพาะเลี้ยงใน 2 ส่วนคือ เพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว (monoculture) ซึ่งทำการเลี้ยงในจานเพาะเชื้อขนาดเล็ก และเพาะเลี้ยงแบบคละชนิด (mix-culture) ที่ทำการเลี้ยงในตู้กระจกสำหรับการเพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียว ส่วนใหญ่เมื่อเลี้ยงไปได้ระยะหนึ่งก็จะตายหรือมีพัฒนาการจนถึงเป็นระยะโคพีโพดิดแล้วก็ตายไม่สามารถผสมพันธุ์และผลิตลูกหลานได้ ในขณะที่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบบคละชนิดโดยมีการใส่สาหร่ายและทรายในตู้เพาะเลี้ยงเพื่อให้มีสภาพคล้ายธรรมชาตินั้นแม้จะพบว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดหลายตัวมีการพัฒนาสร้างถุงไข่ซึ่งหมายความว่าจะสามารถผลิตลูกหลานในปริมาณมากได้ในอนาคต แต่ก็ยังมีปริมาณไม่เพียงพอในการจะนำไปใช้ประโยชน์หรือนำมาทำการทดลองอื่นๆ ที่วางแผนไว้ได้ จึงต้องทำการปรับแผนการทดลองโดยใช้วิธีคัดเลือกฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจากธรรมชาติมาทำการทดลองเพื่อหาความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมที่จะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดที่สูงและมีการเจริญเติบโตที่ดี ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่มีศักยภาพสามารถพัฒนาการเพาะเลี้ยงได้ในระดับห้องปฏิบัติการคือ ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในสกุล *Tigriopus* ซึ่งเป็นสกุลเด่นที่พบในบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง ซึ่งเป็นบริเวณที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากผลการทดลองเพาะเลี้ยงแบบชนิดเดียวจะเห็นว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสกุลนี้มีพัฒนาการที่ดีกว่าชนิดอื่นๆ โดยสามารถพัฒนาการเลี้ยงได้จนถึงระยะโคพีโพดิดถึงแม้ว่าจะไม่สามารถเลี้ยงจนโคพีพอดมีการสืบพันธุ์เพิ่มจำนวนก็ตาม ซึ่งหากมีการดูแลและพัฒนาปรับปรุงวิธีการที่ดีขึ้นก็น่าจะสามารถทำการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสกุล *Tigriopus* ได้ในระดับห้องปฏิบัติการและสามารถพัฒนาขยายเพิ่มปริมาณเพื่อเลี้ยงในระดับมหมวลต่อไป สอดคล้องกับที่ สุภาวดี จุลละศร (2553) ได้รายงานว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสกุล *Tigriopus* นั้นเลี้ยงได้ง่ายที่สุด มีความอดทนต่อสภาวะแวดล้อมและปรับตัวได้ดีในช่วงกว้าง เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงและสามารถเลี้ยงให้มีความหนาแน่นดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังมีฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสกุลอื่นๆ ที่นิยมเพาะเลี้ยงในต่างประเทศด้วย เช่น สกุล *Tigriopus* (Fukusho, 1980), สกุล *Paramphiascella* (Kim *et al*., 2000), สกุล *Nitokra* (Rhodes, 2003) สกุล *Tisbe* (Norsker and Støttrup, 1994; Miles *et al*., 2001)

จากผลการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดพบว่าช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25-30 ℃ จะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดสูงที่สุด (รูปที่ 4.12) สอดคล้องกับการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร (2553) ที่ทำการเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่อุณหภูมิ 25-30 ℃ เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม ความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดนั้นยังขึ้นกับชนิดและแหล่งที่อยู่ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดอีกด้วย เช่น ในประเทศสกอตแลนด์อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Tisbe holothuriae* อยู่ในช่วง 19-20 ℃ (Miles *et al*., 2001) ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Tisbe biminiensis* ในบราซิลจะอยู่ในช่วง 28-32 ℃ (Ribeiro and Souza-Santos, 2011) หรืออุณหภูมิที่เหมาะสำหรับฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสกุล *Pararobertsonia* เท่ากับ 25±1 ℃ (Zaleha and Jamaludin,

2010) เป็นต้น เช่นเดียวกับช่วงของความเค็มที่เหมาะสมซึ่งจะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดสูงก็จะขึ้นกับชนิดและสภาพแวดล้อมที่ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดอาศัยอยู่เช่นเดียวกัน โดยความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในช่วงความเค็มค่อนข้างกว้างคือช่วงความเค็มตั้งแต่ 10-40 PSU (รูปที่ 4.13) ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Matias-Peralta *et al.* (2005) ที่รายงานว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดชนิด *Nitokra affinis* ซึ่งอาศัยอยู่ในเขตร้อนชื้น (tropical) มีความสามารถในการทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ในช่วง 10-35 PSU เช่นกัน แต่อย่างไรก็ดี ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในการศึกษาครั้งนี้จะมีช่วงความเค็มที่เหมาะสมคือ ช่วงความเค็มประมาณ 27-30 PSU ซึ่งเป็นช่วงการผันแปรของความเค็มในบริเวณชายฝั่งของเกาะสีชังที่มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 22-33 PSU (สมภพ รุ่งสุภา, 2553; สมภพ รุ่งสุภา, 2554; สมภพ รุ่งสุภา, 2555) และสอดคล้องกับรายงานของ สุภาวดี จุลละศร (2553) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่ความเค็ม 30-33 PSU

ชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด โดยในการศึกษาครั้งนี้พบว่า เมื่อให้อาหารเป็นสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิดรวมกันคือ *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* จะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดสูงที่สุด (รูปที่ 4.14) ซึ่งอาจมีสาเหตุจากที่การศึกษาในครั้งนี้ใช้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่คละชนิดและขนาด ถึงแม้ว่าจะพยายามเลือกโคพีพอดที่เป็นชนิดเดียวกันและขนาดใกล้เคียงกันก็ตาม แต่ก็อาจจะยังมีความแตกต่างของอายุของโคพีพอดที่นำมาใช้ทำการทดลองได้ ซึ่งอาจจะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่นำมาทำการทดลองมีความชอบชนิดและขนาดอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดเป็นอาหารจึงทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดสามารถเลือกอาหารที่เหมาะกับขนาดของปากของมันได้และทำให้มีอัตรารอดสูงกว่าเมื่อให้สาหร่ายเพียงชนิดเดียว สอดคล้องกับการศึกษาของ Miles *et al*. (2001) ที่ได้แนะนำว่าการให้อาหารเป็นสาหร่าย 3 ชนิดรวมกัน ได้แก่ *Chaetoceros mulleri*, *Rhinomonas reticulata* และ *Isochrysis galbana* จะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดชนิด *Tisbe holothuriae* มีอัตรารอดและผลผลิตตัวอ่อนสูงที่สุด และยังทำให้โคพีพอดมีการสร้างปริมาณกรดไขมัน (DHA) ในตัวสูงขึ้นอีกด้วย ส่วนชุดการทดลองที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปเป็นอาหารนั้นจะทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีอัตรารอดต่ำที่สุด (2.2±3.8%) ซึ่งอาจจะเกิดจากการที่อาหารกุ้งสำเร็จรูปนั้นมีปริมาณไขมันหรือน้ำมันเคลือบมากเกินไป เนื่องจากในระหว่างที่ทำการศึกษาผู้วิจัยสังเกตพบว่า เมื่อเวลาในการทดลองผ่านไปชุดการทดลองที่ให้อาหารกุ้งนั้นจะเกิดเป็นคราบมันในถ้วยพลาสติกที่ทำการทดลองและทำให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดตายเกือบหมด

ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจัดเป็นสัตว์หน้าดินขนาดเล็ก (meiofauna) ซึ่งมักจะอาศัยอยู่ในบริเวณใกล้กับพื้นท้องทะเลหรืออาศัยอยู่ตามซอกหลืบของต้นสาหร่ายทะเล ดังนั้นชนิดและขนาดของตะกอนก็จะมีความสำคัญต่อการอยู่รอดและการสืบพันธุ์ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเช่นกัน จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองในระยะเวลา 7 วัน ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนขนาดต่างๆ รวมทั้งชุดควบคุม (ไม่มีตะกอน) มีอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่า 50% ทุกการทดลอง แต่จะพบว่าฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดจะมีอัตรารอดและการสร้างถุงไข่สูงในภาชนะที่มีตะกอนขนาดเล็ก เช่น ในทรายละเอียดปนโคลน และทรายละเอียดและมีอัตรารอดต่ำที่สุดในภาชนะที่มีทรายเทียมซึ่งมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ (รูปที่ 4.15 และ 4.16) ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chandler (1986) ที่รายงานว่าการเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดในสภาพพื้นที่เป็นโคลนที่มีขนาดอนุภาคตะกอนเล็กกว่า 125 ไมโครเมตร จะทำให้มีการเติบโตที่ดีหรืออาจจะเลี้ยงแบบไม่ใส่ตะกอนเลยเพื่อให้ง่ายต่อการเก็บเกี่ยว

ในการเพาะเลี้ยงสิ่งมีชีวิตเพื่อใช้เป็นอาหารหรือด้วยวัตถุประสงค์อื่นๆ จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมากที่สุดในพื้นที่น้อยที่สุดเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงที่สุด โดยการเพาะเลี้ยงดังกล่าวจะเรียกว่าเป็น "การเพาะเลี้ยงแบบมหมวล (mass culture)" แต่ทั้งนี้ การเพาะเลี้ยงแบบมหมวลนั้นก็จำเป็นต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพและคุณภาพของสิ่งมีชีวิตที่เราเพาะเลี้ยงด้วย เพราะหากมีปริมาณหนาแน่นมากเกินไปก็อาจจะทำให้สิ่งมีชีวิตที่เราเพาะเลี้ยงนั้นมีสุขภาพไม่ดี การเติบโตไม่ปกติหรืออาจส่งผลให้เกิดความเครียดและเกิดโรคในระบบเพาะเลี้ยงตามมาได้ จากผลการศึกษาความหนาแน่นในการเลี้ยงต่ออัตรารอดของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในครั้งนี้พบว่า ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดจะมีอัตรารอดสูงเมื่อเลี้ยงที่ความหนาแน่นต่ำคือ 100 และ 500 ตัว/ลิตร (รูปที่ 4.17 และ 4.18) ต่ำกว่าผลการศึกษาในอดีตที่รายงานว่าสามารถเลี้ยงฮาร์แพคติคอยให้มีความหนาแน่นสูงได้ เช่น 3,700 ตัว/ลิตร (Zaleha and Jamaludin, 2010), 10,000 ตัว/ลิตร (Støttrup and Norsker, 1997), 10,000-22,000 ตัว/ลิตร (Fukusho, 1980), 28,000 ตัว/ลิตร (Ribeiro and Souza-Santos, 2011), 80,000-100,000 ตัว/ลิตร (สุภาวดี จุลละศร, 2553) และ 100,000 ตัว/ลิตร (Rhodes, 2003) เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการคัดแยกฮาร์แพคติคอยโคพีพอดจากธรรมชาติมาเลี้ยงในระบบห้องปฏิบัติการ ซึ่งโคพีพอดที่นำมาทดลองอาจจะมีความเครียดที่เกิดจากขั้นตอนการเก็บตัวอย่างหรือขั้นตอนการดูดเพื่อคัดแยกอยู่ในระดับหนึ่ง เมื่อนำมาเลี้ยงในความหนาแน่นสูงๆ จึงทำให้เกิดความเครียดมากขึ้นไปอีกและเมื่อเลี้ยงในปริมาณความหนาแน่นสูงก็อาจมีของเสียที่เกิดจากการขับถ่ายของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดออกมาในปริมาณมากขึ้นด้วยจึงทำให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่เลี้ยงในความหนาแน่นสูงมีอัตรารอดที่ต่ำกว่าเมื่อเลี้ยงในความหนาแน่นที่ต่ำกว่า อย่างไรก็ตาม ความหนาแน่นที่ทำให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดมีอัตรารอดสูงสุดที่ได้จากผลการศึกษาในครั้งนี้คือ 100 และ 500 ตัว/ลิตร นั้นถือว่าเป็นความหนาแน่นที่ไม่เพียงพอและไม่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ ดังนั้นจำเป็นต้องมีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดให้ได้ปริมาณมากโดยใช้ผลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงต่อไป

5.3 ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างฮาร์แพคติคอยโคพีพอดกับการเติบโตของเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)

ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดนั้นถูกนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อวัตถุประสงค์ในการใช้เป็นอาหารมีชีวิตสำหรับเลี้ยงลูกสัตว์น้ำหลายชนิดทั้งลูกกุ้ง เช่น ลูกกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*), ลูกกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) และลูกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (สุภาวดี จุลละศร, 2553) และลูกปลาหลายชนิด เช่น ลูกปลา Turbot (Støttrup and Norsker, 1997), ลูกปลา Halibut (Miles *et al*., 2001) และลูกปลา *Amphiprion clarkii* (Olivotto *et al*., 2008) เป็นต้น แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดในการเป็นอาหารของเพรียงทรายเลย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดลองศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเป็นอาหารสำหรับเพรียงทรายเนื่องจากฮาร์แพคติคอยโคพีพอดนั้นมีคุณค่าทางอาหารสูง ซึ่งจากผลการศึกษาจะเห็นว่าเพรียงทรายที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปในปริมาณปกติร่วมกับการให้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเสริมนั้นจะมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าเมื่อให้อาหารกุ้งอย่างเดียวและเมื่อให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปในปริมาณเพียงครึ่งเดียวร่วมกับฮาร์แพคติคอยโคพีพอด (รูปที่ 4.19) แต่จะไม่สามารถใช้ฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเป็นอาหารหลักของเพรียงทรายได้ เนื่องจากอาจจะไม่เพียงพอต่อความต้องการของเพรียงทรายและจะทำให้เพรียงทรายมีการเติบโตน้อยลงได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ยังเป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น หากต้องการพัฒนาการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเพรียงทรายนั้นจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาในรายละเอียดเชิงลึกต่อไป เช่น การศึกษาในด้านคุณค่าทางอาหารที่จำเป็นต่อเพรียงทราย การศึกษาประสิทธิภาพในการเพิ่มการเติบโตของเพรียงทราย รวมทั้งความ

เป็นไปได้ในการใช้เพรียงทรายเป็นอาหารเสริมในช่วงเจริญพันธุ์และการเพิ่มความดกไข่ของเพรียงทรายได้หรือไม่ เป็นต้น

5.4 การเพาะเลี้ยงเพรียงทราย (*Perinereis nuntia*)

ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเพรียงทรายในกระบะไฟเบอร์กลาสตามวิธีการของ สุรพล ชุณหบัณฑิต และ พอจำ อรัณยกานนท์ (2548) และศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต (2547) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้สามารถเพาะเลี้ยงได้จนสามารถนำมาใช้เป็นพ่อ-แม่พันธุ์ต่อไปได้ แต่ยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงจนมีปริมาณมากได้ เนื่องจากพ่อ-แม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงได้นั้นมีความสมบูรณ์เพศไม่พร้อมกันจึงทำให้ไม่สามารถทำการผสมพันธุ์และเลี้ยงขยายอย่างต่อเนื่องได้ แต่อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยยังพยายามเลี้ยงและเพาะพันธุ์เพรียงทรายต่อไปเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเพรียงทรายกับฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดได้ในอนาคต

บทที่ 6
ปัญหาและข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยครั้งนี้พบกับปัญหาดังนี้

1. แต่เดิมวางแผนการศึกษาโดยจะใช้ตัวอย่างฮาร์แพคทิคอยด์โคพีพอดที่ได้จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมาทำการทดลองเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและอัตรารอด แต่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการทำการทดลองข้างต้นได้จึงเปลี่ยนแผนการมาเป็นการใช้ตัวอย่างฮาร์แพคทิคอยด์โคพีพอดที่เก็บจากธรรมชาติ มาทำการทดลองแต่ละปัจจัยแบบครั้งต่อครั้งแทน

2. มีการเปลี่ยนแผนการวิจัยจากเดิมวางแผนการเก็บตัวอย่างฮาร์แพคทิคอยด์โคพีพอดจากบริเวณชายหาดบางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี เปลี่ยนมาเป็นการเก็บตัวอย่างฮาร์แพคทิคอยด์โคพีพอดจากบริเวณหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง และจากบริเวณชายหาดหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี เพื่อความสะดวกต่อการดำเนินการทดลองและประหยัดเวลาและงบประมาณในการเดินทางเก็บไปตัวอย่างภาคสนาม

3. สาหร่ายทะเลไม่ได้มีให้เก็บตลอดทั้งปี และมีบางช่วงเวลาที่สาหร่ายมีการเปลี่ยนแปลงชนิดเด่นระหว่าง สกุล *Padina* sp. และสกุล *Amphiroa* sp. ทำให้บางช่วงไม่สามารถเก็บตัวอย่างโคพีพอดเพื่อนำมาทดลองและเพาะเลี้ยงได้

4. ในการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดแบบผสมคละชนิดนั้นอาจจะต้องทดลองสร้างสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงให้คล้ายคลึงกับธรรมชาติเช่น อาจมีการใส่ทรายในตู้เพาะเลี้ยงหรือใส่สาหร่ายในตู้เพาะเลี้ยงเพื่อให้ฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดมีที่หลบซ่อนจากโคพีพอดที่ตัวใหญ่กว่า เป็นต้น รวมทั้งมีการกำจัดของเสียในระบบที่ดีเช่น อาจมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำวันเว้นวัน หรือมีการสร้างระบบหมุนเวียนน้ำโดยผ่านตัวกรองเพื่อป้องกันไม่ให้โคพีพอดติดไปกับน้ำที่หมุนเวียน หรือการเลี้ยงโคพีพอดในถาดพลาสติกหลายใบที่เรียงซ้อนกันในตู้เพาะเลี้ยงเดียวกันเพื่อเป็นการประหยัดพื้นที่และเพื่อความสะดวกในการเก็บเกี่ยวผลผลิต เป็นต้น

5. หากต้องการใช้ประโยชน์จากฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อวัตถุประสงค์อื่นที่ไม่ใช่การเป็นอาหารสัตว์น้ำ ควรทำการเพาะเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดให้ได้ชนิดเดียวเพื่อที่จะสามารถควบคุมปัจจัยที่ใช้ในการทำการทดลองหรือทำการศึกษาได้ เช่น อายุ หรือชนิดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่จะนำไปใช้ทำการทดลอง เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 127 หน้า.

สมภพ รุ่งสุภา. 2553. รายงานคุณภาพน้ำและแพลงก์ตอนบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ปี พ.ศ. 2553. สืบค้นได้จาก http://www.arri.chula.ac.th/Academic/BOD% 20Report/BOD_2010.pdf

สมภพ รุ่งสุภา. 2554. รายงานคุณภาพน้ำและแพลงก์ตอนบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ปี พ.ศ. 2554. สืบค้นได้จาก http://www.arri.chula.ac.th/Academic/BOD%20Report/2011.pdf

สมภพ รุ่งสุภา. 2555. รายงานคุณภาพน้ำและแพลงก์ตอนบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ปี พ.ศ. 2555. สืบค้นได้จาก http://www.arri.chula.ac.th/Academic/BOD% 20Report/2012.pdf

สุภาวดี จุลละศร. 2553. การศึกษาความหลากหลายของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่อาศัยอยู่กับสาหร่ายทะเลและเพาะเลี้ยงเป็นอาหารมีชีวิตของลูกกุ้ง. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2553.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง จังหวัดภูเก็ต, 2547. เพรียงทราย. ว.เทคโนโลยีชาวบ้าน. 17 (349):55.

สุรพล ชุณหบัณฑิต และ พอจำ อรัณยกานนท์. 2548. โครงการ การผลิตเพรียงทราย *Perinereis nuntia*, Savigny ปลอดเชื้อเชิงพาณิชย์เพื่อเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาว*Litopenaeus vannamei*, Boone. รายงานฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุรพล ชุณหบัณฑิต จรรยา ชัยเจริญพงศ์ และมลิวัลย์ จรรยาวณิชกุล. 2549. การวิจัยเพื่อสำรวจและการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสายพันธุ์เพรียงทราย *Perinereis nuntia*, Savigny ที่พบตลอดแนวชายฝั่งอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ปีที่ 1. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการเสริมสร้างงานวิจัยและพัฒนาเพรียงทรายสู่การใช้ประโยชน์เชิงอุตสาหกรรมปีที่ 1. 135 หน้า.

สุรพล ชุณหบัณฑิต พอจำ อรัณยกานนท์ สรินทิพ สุกใส และศจี น้อยตั้ง. 2554. โครงการการศึกษาการผลิตเพรียงทรายปลอดเชื้อด้วยการเลี้ยงในระบบแนวตั้ง. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการเสริมสร้างงานวิจัยและพัฒนาเพรียงทรายสู่การใช้ประโยชน์เชิงอุตสาหกรรม ปีที่ 3.

Betouhim-El, T. and Kahan, D. 1972. *Tisbe pori* n sp. (Copepoda: Harpacticoida) from the Mediterranean coast of Israel and its cultivation in the laboratory. Mar. Biol. 16: 201-209.

Chandler, G.T. 1986. High-density culture of meiobenthic harpacticoid copepods within a muddy sediment substrate. Canadian J. Fish. Aqua. Sci. 43(1): 53-59.

Cutts, C.J. 2003. Culture of harpacticoid copepods: potential as live feed for rearing marine fish. Adv. Mar. Biol. 2003; 44: 295-316.

D' Croz, L., Wong, L., Justines, G. and Gupta, M. 1988. Prostaglandins and related compounds from the Polychaete Worm *Americonuphis reesei* Fauchald as possible inducer of gonad maturation in pennaeid hrimps. Rev. Biol. Trop. 36(1): 331 – 332.

Drillet, G., Frouël, S., Sichlau, M.H., Jepson, P.M., Højgaard, J.K., Joarder, A.K. and Hansen, B.W. 2011. Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed. Aquaculture. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.02.027.

Fukusho, K. 1980. Mass production of a copepod, *Tigriopus japonicus* in combination culture with a rotifer *Brachionus plicatilis* fed ω-yeast as food source. Bull. Japanese. Soc. Fish. Sci. 46: 625-629.

Hardege, J.D. and Bartels-Hardege, H.D. 1995. Spawning Behaviour and Development of *Perinereis nuntia* var. *brevicirrus* (Annelida: Polychaeta). Invert. Biol. 114(1): 39-45.

Hicks, G.R.F. 1977. Breeding activity of marine phytal harpacticoid copepods from cook strait. New Zealand J. Mar. Fresh. Res. 11(4): 645-666.

Ito, T. 1970. The biology of harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus* Mori. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool. 17(3): 474-500.

Kim, H-S., Jung, M-M. and Lee, H-J. 2000. The larval development of *Paramphiascella vararensis* (T. Scott) (Copepoda: Harpacticoida: Diosaccidae) reared in laboratory: I. Larval developmant of nauplius stage. J. Korean Soc. Oceano. 5(3): 233-237.

Koskela, R.W., Greenwood, J.G. and Rothlisberg, P.C.1992. The influence of prostaglandins E2 and the steroid hormones, 17–hydroxyprogesteron development the tiger prawn, *Penaeus esculentus* . Comp. Biochem. Physiol. 101(A): 295 – 299.

Laufer, H., Borst, D., Baker, F.C., Carrasco, C., Sinkus, M., Reuter, C.C., Tsai, L.W. and Schooley, D.S. 1987. Identification-of a juvenile hormone-like compound in a crustacean. Science 235.

Matias-Peralta, H., Fatimah, M.Y., Mohamed, S. and Aziz, A. 2005. Effect of some environmental parameters on the reproduction and development of a tropical marine harpacticoid copepod *Nitocra affinis* f. *californica* Lang. Mar. Poll. Bull. 51: 722-728.

Miles, D., Auchterlonie, N., Cutts, C. and de Quero, C.M. 2001. Rearing of the Harpacticoid Copepod *Tisbe holothuriae* and its Application for the Hatchery Production of Atlantic Halibut *Hippoglossus hippoglossus*. SEAFISH Development Aquaculture. Link Project FIN 23. 43 p.

Norsker, N.H. and Støttrup, J.G. 1994. The importance of dietary HUFAs for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. Aquaculture. 125: 155-166.

O'Bryen, P.J. and Lee, C.S. 2005. Culture of copepods and applications to marine finfish larvae rearing, workshop discussion summary. In Lee, C.S., O'Bryen, P.J. and Marcus, N.H. (eds.) Copepods in Aquaculture. Blackwell, Ames, Iowa, USA. pp. 245-254.

Olive, P.J.W. 1999. Polychaete aquaculture and polychaete science: a mutual synergism. Hydrobiologia. 402: 175 – 183.

Olivotto, I., Capriotti, F., Buttino, I., Avella, A.M., VitielloV., Maradonna, F. and Carnevali, O. 2008. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: Effects on larval survival and growth. Aquaculture. 274: 347-352.

Pettibone, M.H. 1963. Marine polychaete worms of the new England Region. I. Aphroditidae though Trochochaetidae. Bull. United States National Museum, 227(1): 1 – 356.

Rhodes, A. 2003. Methods for high density batch culture of *Nitokra lacustris*, a marine harpacticoid copepod. The Big Fish Bang. Proceedings of the 26th Annual Larval Fish Conference. pp. 449-465.

Rhyne, A.L., Ohs, C.L. and Stenn, E. 2009. Effect of temperature on reproduction and survival of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*. Aquaculture. 292: 53-59.

Ribeiro, A.C.B. and Souza-Santos, L.P. 2011. Mass culture and offspring production of marine harpacticoid copepod *Tisbe biminiensis*. Aquaculture. 321: 280-288.

Rouse, G.W. and Fauchald, K. 1997. Cladistics and Polychaetes. Zoologica Scripta. 26(2): 139–204.

Schipp, G. 2006. The use of calanoid copepods in semi-intensive, Tropical marine fish larviculture. In: Editores: Suárez, L.E.C., Marie, D.R., Salazar, M.T., López, M.G.N., Cavazos, D.A.V., Cruz, A.C.P. and Ortega, A.G. Advance en Nutrición Acuícola VIII. VIII Symposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 November, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterray, Nuevo León, México. pp. 84-94.

Støttrup, J.G. and Norsker, N.H. 1997. Production and use of copepods in marine fish laviculture. Aquaculture. 155: 231-247.

Vasudevan, S., Arulmoorthy, M.P., Gnanamoorthy, P. and Ashok prabu, V. 2013. Intensive cultivation of the cyclopoid copepod *Oithona rigida* for mariculture purpose. Int. J. Phar. Biol. Sci. 3(4): 317-323.

Wan-Loy, C. 2004. Live feeds in marine aquaculture. J. Applied Phycol. 16(1): 77-78.

Williams, T.D. and Jones, M.B. 1999. Effect of temperature and food quantity on the reproduction of *Tisbe battagliai* (Copepoda: Harpacticoid). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 236: 273-290.

Zaleha, K. and Jamaludin, F.I. 2010. Culture and Growth of a Marine Harpacticoid, *Pararobertsonia* sp. In Different Salinity and Temperature. Sains Malaysiana 39(1)(2010): 135-140.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1

อัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

การทดลองครั้งที่ 1

วัน/เดือน/ปี		22-Nov-13	22-Nov-13	22-Nov-13	22-Nov-13	22-Nov-13	23-Nov-13	23-Nov-13	24-Nov-13	25-Nov-13	26-Nov-13	27-Nov-13	28-Nov-13	29-Nov-13
เวลา (น.)		13.10	12.10	15.10	16.10	19.10	1.10	13.10	13.10	13.10	13.10	13.10	13.10	13.10
วันที่ของการทดลอง		0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7
อุณหภูมิ	ซ้ำ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	1	100	100	100	100	100	95	90	25	15	0	0	0	0
	2	100	100	100	100	95	85	75	10	5	5	0	0	0
	3	100	100	100	100	100	95	80	50	25	0	0	0	0
30 ℃	1	100	100	100	100	100	100	100	90	85	80	70	35	25
	2	100	100	100	100	100	100	100	95	95	85	80	65	50
	3	100	100	100	100	100	100	100	90	80	70	65	50	45
35 ℃	1	100	100	100	90	90	85	75	10	0	0	0	0	0
	2	100	100	100	95	95	75	65	0	0	0	0	0	0
	3	100	100	100	95	95	85	80	15	0	0	0	0	0

การทดลองครั้งที่ 2

วัน/เดือน/ปี		29-Nov-13	29-Nov-13	29-Nov-13	29-Nov-13	29-Nov-13	29-Nov-13	30-Nov-13	01-Dec-13	02-Dec-13	03-Dec-13	04-Dec-13	05-Dec-13	06-Dec-13
เวลา (น.)		12.00	13.00	14.00	15.00	18.00	0.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
วันที่ของการทดลอง		0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7
อุณหภูมิ	ซ้ำ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	1	100	100	100	100	100	100	90	85	75	60	50	35	25
	2	100	100	100	100	100	100	95	90	75	50	45	35	30
	3	100	100	100	100	100	100	85	85	80	60	55	50	50
30 ℃	1	100	100	100	100	100	100	95	90	80	70	60	55	55
	2	100	100	100	100	100	95	90	85	80	75	65	60	60
	3	100	100	100	100	100	90	90	90	85	75	70	60	60
35 ℃	1	100	100	100	100	95	85	50	20	10	0	0	0	0
	2	100	100	100	100	95	90	60	25	15	0	0	0	0
	3	100	100	100	100	95	85	65	40	10	0	0	0	0

การทดลองครั้งที่ 3

วัน/เดือน/ปี		13-Dec-13	13-Dec-13	13-Dec-13	13-Dec-13	13-Dec-13	14-Dec-13	14-Dec-13	15-Dec-13	16-Dec-13	17-Dec-13	18-Dec-13	19-Dec-13	20-Dec-13
เวลา (น.)		12.00	13.00	14.00	15.00	18.00	0.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
วันที่ของการทดลอง		0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7
อุณหภูมิ	ซ้ำ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	1	100	100	100	100	100	95	90	90	80	75	65	40	25
	2	100	100	100	100	95	95	95	90	70	55	50	30	25
	3	100	100	100	100	100	100	95	95	85	75	70	60	40
30 ℃	1	100	100	100	100	100	95	95	95	80	75	70	60	45
	2	100	100	100	100	100	100	95	95	75	75	60	40	40
	3	100	100	100	100	100	100	90	90	85	75	50	45	40
35 ℃	1	100	100	95	95	90	90	80	70	60	55	40	0	0
	2	100	100	100	100	100	95	85	80	65	55	40	0	0
	3	100	100	100	95	95	90	90	90	60	50	0	0	0

ค่าเฉลี่ยอัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

ครั้งที่ 1

อุณหภูมิ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	98.3	91.7	81.7	28.3	15.0	1.7	0.0	0.0	0.0
30 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7	86.7	78.3	71.7	50.0	40.0
35 ℃	100.0	100.0	100.0	93.3	93.3	81.7	73.3	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ครั้งที่ 2

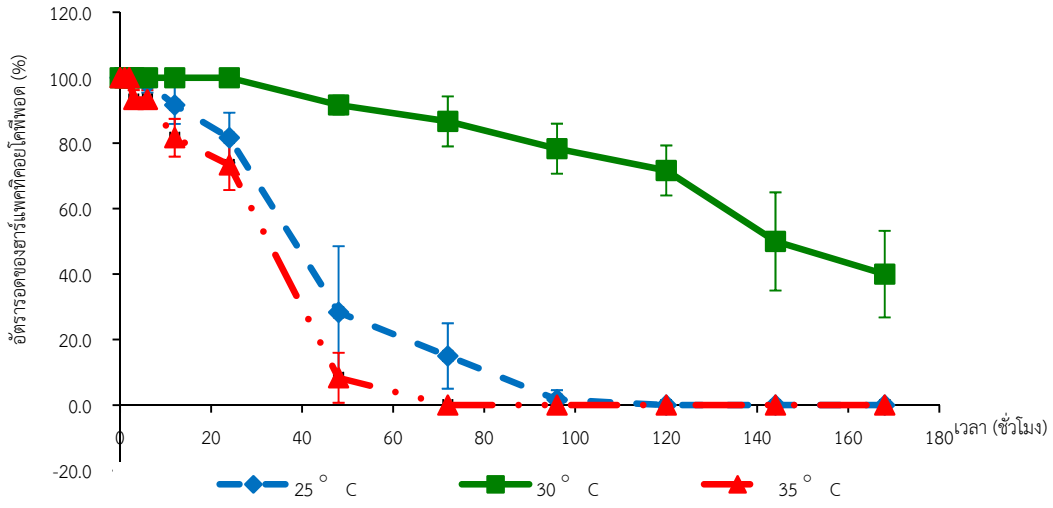
อุณหภูมิ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	86.7	76.7	56.7	50.0	40.0	35.0
30 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	91.7	88.3	81.7	73.3	65.0	58.3	58.3
35 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	95.0	86.7	58.3	28.3	11.7	0.0	0.0	0.0	0.0

ครั้งที่ 3

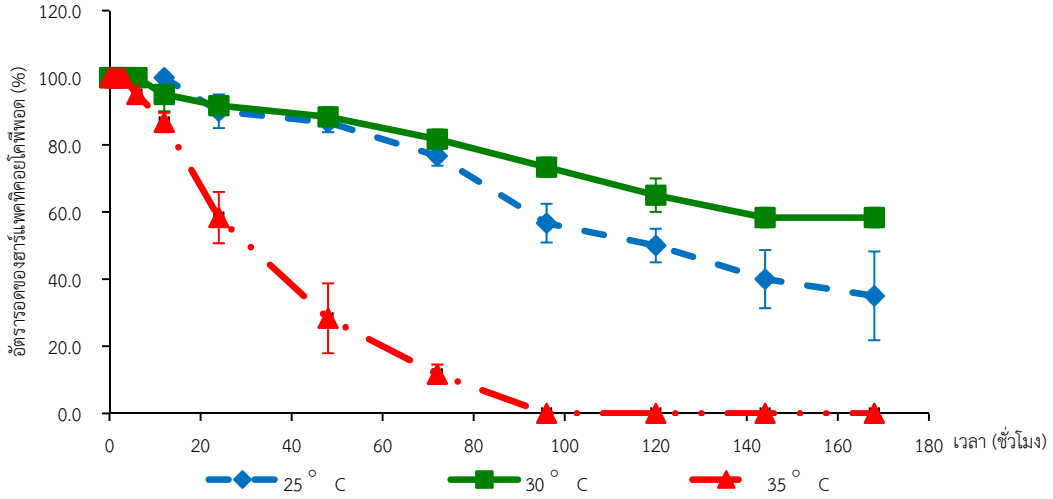
อุณหภูมิ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	98.3	96.7	93.3	91.7	78.3	68.3	61.7	43.3	30.0
30 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.3	93.3	93.3	80.0	75.0	60.0	48.3	41.7
35 ℃	100.0	100.0	98.3	96.7	95.0	91.7	85.0	80.0	61.7	53.3	26.7	0.0	0.0

ค่าเฉลี่ยทั้ง 3 ครั้ง

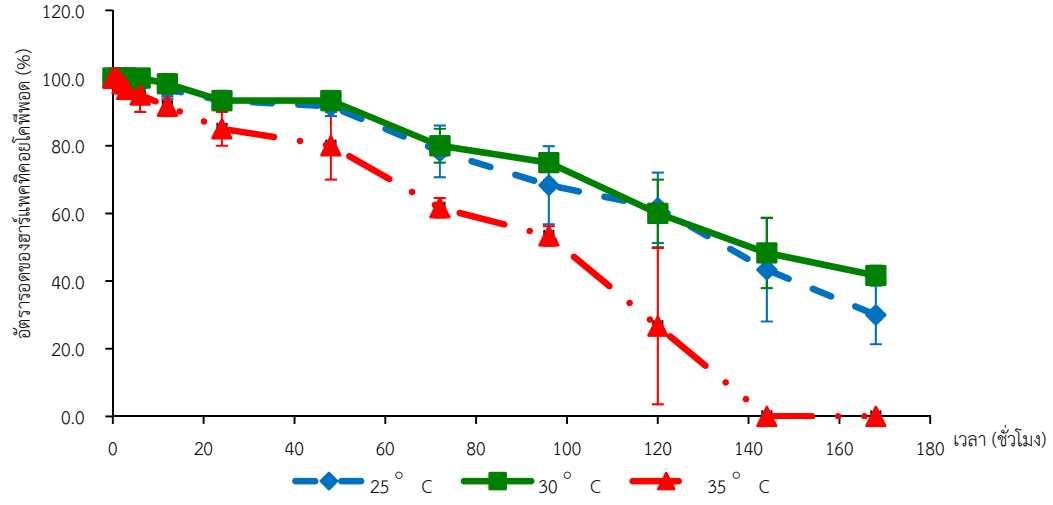
อุณหภูมิ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
25 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	98.9	96.1	88.3	68.9	56.7	42.2	37.2	27.8	21.7
30 ℃	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	97.8	95.0	91.1	82.8	75.6	65.6	52.2	46.7
35 ℃	100.0	100.0	99.4	96.7	94.4	86.7	72.2	38.9	24.4	17.8	8.9	0.0	0.0



ก.



ข.



ค.

อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

ก) ครั้งที่ 1 ข) ครั้งที่ 2 ค) ครั้งที่ 3

ภาคผนวกที่ 2

อัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มต่างๆ กัน

การทดลองครั้งที่ 1

วัน/เดือน/ปี		19-Jul-13	19-Jul-13	19-Jul-13	19-Jul-13	19-Jul-13	19-Jul-13	20-Jul-13	21-Jul-13	22-Jul-13	23-Jul-13	24-Jul-13	25-Jul-13	26-Jul-13
เวลา (น.)		9.40	10.40	11.40	12.40	15.40	21.40	9.40	9.40	9.40	9.40	9.40	9.40	9.40
วันที่ของการทดลอง		0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7
ความเค็ม	ซ้ำ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	1	100	100	100	60	60	60	60	60	60	40	40	40	20
	2	100	100	100	80	80	80	80	80	80	60	60	60	60
	3	100	100	100	80	80	80	80	60	60	60	40	20	20
	4	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	40	40
0	1	100	80	80	80	80	80	80	0	0	0	0	0	0
	2	100	60	40	40	20	20	0	0	0	0	0	0	0
	3	100	100	100	100	100	100	80	40	0	0	0	0	0
	4	100	60	80	80	60	60	80	80	0	0	0	0	0
10	1	100	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	2	100	100	80	80	80	80	80	80	80	80	80	40	40
	3	100	100	100	80	80	80	80	80	40	40	40	20	20
	4	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	40	20
20	1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	40
	2	100	100	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	40
	3	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	60	40
	4	100	100	100	100	100	80	80	60	60	60	60	20	20
30	1	100	100	100	100	100	100	100	100	80	60	60	60	40
	2	100	100	80	80	80	80	80	80	80	80	80	60	60
	3	100	80	80	80	80	80	80	60	60	60	60	60	60
	4	100	100	100	100	100	100	80	80	80	80	60	20	20
40	1	100	100	100	100	100	100	100	80	60	40	40	20	20
	2	100	100	80	80	80	80	80	80	80	80	80	60	60
	3	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	60
	4	100	80	80	80	80	80	60	60	60	60	0	0	0

การทดลองครั้งที่ 2

วัน/เดือน/ปี		02-Aug-13	02-Aug-13	02-Aug-13	02-Aug-13	02-Aug-13	02-Aug-13	02-Aug-13	03-Aug-13	04-Aug-13	05-Aug-13	06-Aug-13	07-Aug-13	08-Aug-13
เวลา (น.)		9.00	9.00	10.00	11.00	12.00	15.00	21.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
วันที่ของการทดลอง		0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7
ความเค็ม	ซ้ำ*	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	1	100	100	100	90	90	90	90	90	90	80	80	80	50
	2	100	100	90	90	90	90	90	90	90	90	80	80	80
	3	100	100	100	100	100	100	100	80	80	60	60	40	40
0	1	100	40	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	100	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	100	40	40	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	100	20	20	20	20	20	20	0	0	0	0	0	0
	3	100	60	40	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0
20	1	100	60	60	60	40	40	20	20	20	20	20	20	20
	2	100	80	80	80	60	60	60	60	60	60	40	40	40
	3	100	40	40	40	40	40	40	40	0	0	0	0	0
30	1	100	80	80	80	40	20	20	0	0	0	0	0	0
	2	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	3	100	100	100	100	80	80	80	80	80	80	0	0	0
40	1	100	80	80	80	80	80	80	80	0	0	0	0	0
	2	100	100	80	80	80	80	80	80	80	60	60	60	60
	3	100	80	80	80	80	80	80	40	0	0	0	0	0

* ทำการทดลองเพียง 3 ซ้ำ เนื่องจากฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่คัดแยกได้มีปริมาณไม่เพียงพอ

การทดลองครั้งที่ 3

วัน/เดือน/ปี		23-Aug-13	23-Aug-13	23-Aug-13	23-Aug-13	23-Aug-13	23-Aug-13	24-Aug-13	25-Aug-13	26-Aug-13	27-Aug-13	28-Aug-13	29-Aug-13	30-Aug-13
เวลา (น.)		9.00	10.00	11.00	12.00	15.00	21.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
วันที่ของการทดลอง		0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7
ความเค็ม	ซ้ำ	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	1	100	60	60	50	40	30	30	30	20	20	20	20	20
	2	100	90	90	90	90	90	90	80	80	80	80	80	60
	3	100	60	60	50	50	50	50	50	50	40	40	40	30
	4	100	100	100	90	90	90	80	80	80	70	70	70	60
0	1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	100	20	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0
10	1	100	80	80	80	80	80	70	70	60	50	50	40	40
	2	100	90	90	90	90	90	80	80	80	50	50	50	50
	3	100	100	100	100	100	90	80	40	40	40	40	40	40
	4	100	100	100	100	80	80	70	70	60	60	50	30	30
20	1	100	100	90	90	90	90	90	90	70	70	50	40	30
	2	100	90	90	90	90	90	80	80	50	50	70	60	60
	3	100	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	70	60
	4	100	100	100	100	100	100	90	90	90	90	90	80	60
30	1	100	100	100	100	90	70	90	90	90	90	70	70	70
	2	100	100	100	90	90	90	90	90	90	90	90	70	50
	3	100	90	90	90	90	80	80	80	80	80	80	70	60
	4	100	100	100	100	100	100	90	40	40	40	40	40	20
40	1	100	100	100	100	100	90	90	90	90	90	90	80	40
	2	100	100	100	100	90	80	80	80	80	70	60	60	40
	3	100	100	100	100	100	100	90	90	80	80	60	50	40
	4	100	100	100	100	100	90	80	80	80	80	80	60	60

ค่าเฉลี่ยอัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มต่างๆ กัน

ครั้งที่ 1

ความเค็ม	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	100.0	100.0	100.0	80.0	80.0	80.0	80.0	75.0	75.0	60.0	55.0	40.0	35.0
0 PSU	100.0	75.0	75.0	75.0	65.0	65.0	60.0	30.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 PSU	100.0	95.0	90.0	85.0	85.0	85.0	85.0	85.0	70.0	70.0	70.0	45.0	40.0
20 PSU	100.0	100.0	95.0	95.0	95.0	90.0	90.0	85.0	80.0	75.0	75.0	60.0	35.0
30 PSU	100.0	95.0	90.0	90.0	90.0	90.0	85.0	80.0	75.0	70.0	65.0	50.0	45.0
40 PSU	100.0	95.0	90.0	90.0	90.0	90.0	85.0	80.0	75.0	65.0	50.0	40.0	35.0

ครั้งที่ 2

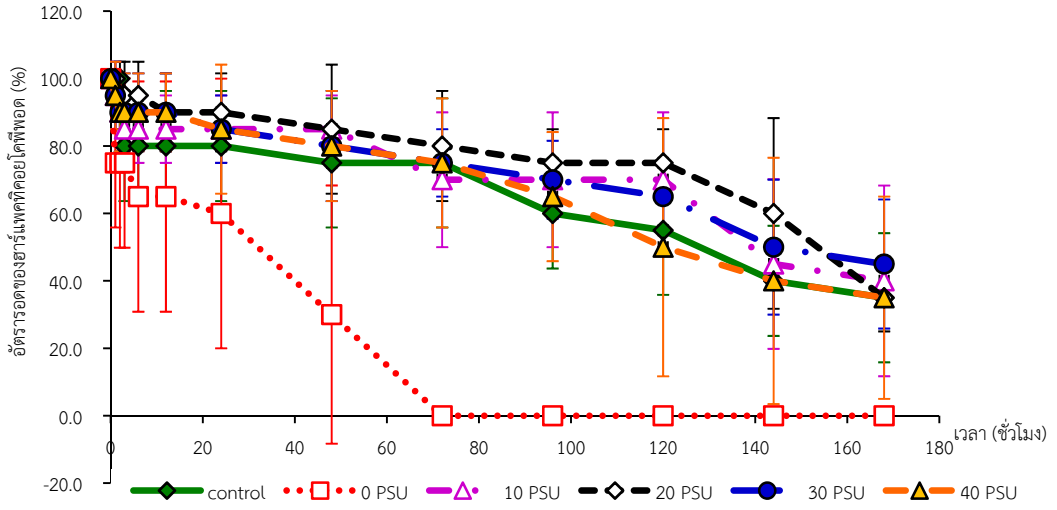
ความเค็ม	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	100.0	100.0	96.7	93.3	93.3	93.3	93.3	86.7	86.7	76.7	73.3	66.7	56.7
0 PSU	100.0	20.0	6.7	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 PSU	100.0	40.0	33.3	20.0	20.0	6.7	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20 PSU	100.0	60.0	60.0	60.0	46.7	46.7	40.0	40.0	26.7	26.7	20.0	20.0	20.0
30 PSU	100.0	93.3	93.3	93.3	73.3	66.7	66.7	60.0	60.0	60.0	33.3	33.3	33.3
40 PSU	100.0	86.7	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	66.7	26.7	20.0	20.0	20.0	20.0

ครั้งที่ 3

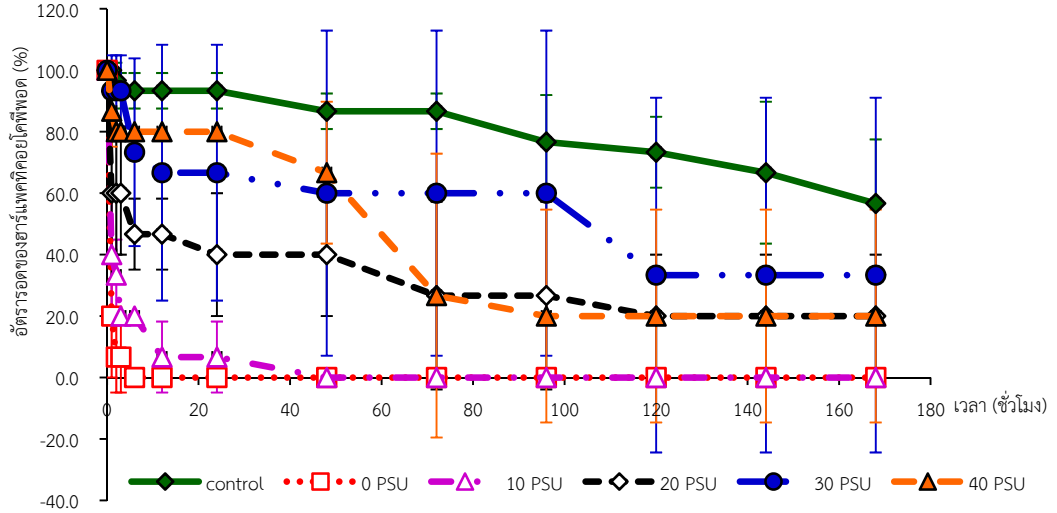
ความเค็ม	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	100.0	77.5	77.5	70.0	67.5	65.0	62.5	60.0	57.5	52.5	52.5	52.5	42.5
0 PSU	100.0	5.0	2.5	2.5	2.5	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 PSU	100.0	92.5	92.5	92.5	87.5	85.0	75.0	65.0	60.0	50.0	47.5	40.0	40.0
20 PSU	100.0	95.0	92.5	92.5	92.5	92.5	87.5	87.5	75.0	75.0	75.0	62.5	52.5
30 PSU	100.0	97.5	97.5	95.0	92.5	85.0	87.5	75.0	75.0	75.0	70.0	62.5	50.0
40 PSU	100.0	100.0	100.0	100.0	97.5	90.0	85.0	85.0	82.5	80.0	72.5	62.5	45.0

ค่าเฉลี่ยทั้ง 3 ครั้ง

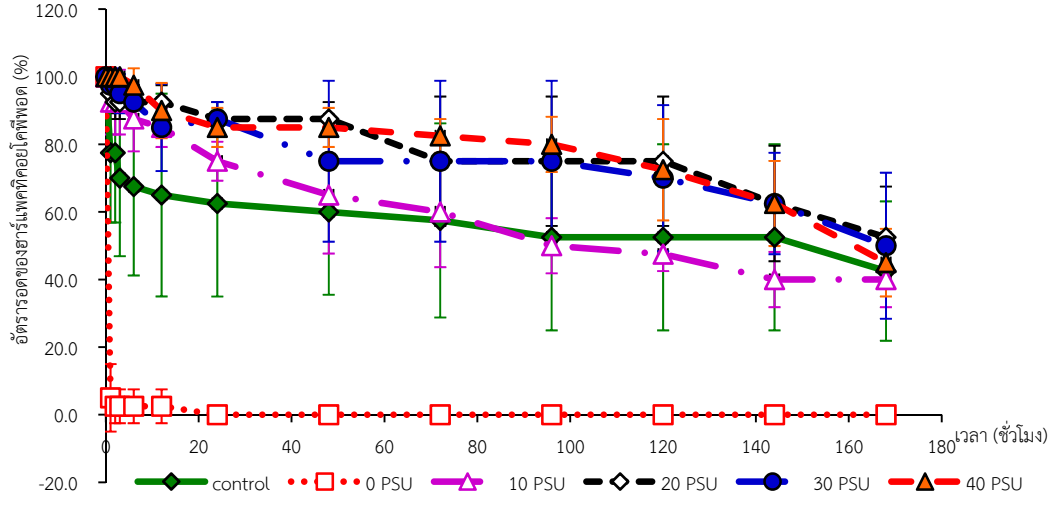
ความเค็ม	0 hr.	1 hrs.	2 hrs.	3 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
control	100.0	92.5	91.4	81.1	80.3	79.4	78.6	73.9	73.1	63.1	60.3	53.1	44.7
0 PSU	100.0	33.3	28.1	28.1	22.5	22.5	20.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10 PSU	100.0	75.8	71.9	65.8	64.2	58.9	55.6	50.0	43.3	40.0	39.2	28.3	26.7
20 PSU	100.0	85.0	82.5	82.5	78.1	76.4	72.5	70.8	60.6	58.9	56.7	47.5	35.8
30 PSU	100.0	95.3	93.6	92.8	85.3	80.6	79.7	71.7	70.0	68.3	56.1	48.6	42.8
40 PSU	100.0	93.9	90.0	90.0	89.2	86.7	83.3	77.2	61.4	55.0	47.5	40.8	33.3



ก.



ข.



ค.

อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มต่างๆ กัน

ก) ครั้งที่ 1 ข) ครั้งที่ 2 ค) ครั้งที่ 3

ภาคผนวกที่ 3

อัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงโดยให้อาหารต่างชนิดกัน

การทดลองครั้งที่ 1

วัน/เดือน/ปี		01-Apr-14	02-Apr-14	03-Apr-14	04-Apr-14	05-Apr-14	06-Apr-14	07-Apr-14	08-Apr-14
เวลา (น.)		9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
วันที่ของการทดลอง		0	1	2	3	4	5	6	7
ชนิดอาหาร*	ซ้ำ	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	1	100	70	50	50	50	40	20	20
	2	100	100	90	80	70	60	50	20
	3	100	100	100	80	80	50	30	30
C	1	100	100	90	90	60	60	50	40
	2	100	100	100	100	100	70	50	40
	3	100	100	100	100	80	60	50	20
T	1	100	90	90	70	50	20	10	10
	2	100	90	80	70	60	20	20	0
	3	100	100	100	100	50	30	30	40
ICT	1	100	100	100	100	100	80	70	60
	2	100	100	100	100	100	80	80	50
	3	100	100	100	100	100	70	70	60
F	1	100	70	60	40	40	30	30	0
	2	100	80	60	40	0	0	0	0
	3	100	80	70	50	20	20	20	20
NO	1	100	100	100	100	80	40	20	0
	2	100	100	100	100	100	60	50	40
	3	100	100	100	100	100	60	60	10

หมายเหตุ * I = ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว

C = ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว

T = ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว

ICT = ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน

F = ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด

NO = ไม่ให้อาหารเลย

การทดลองครั้งที่ 2

วัน/เดือน/ปี**		20-Apr-14	21-Apr-14	22-Apr-14	23-Apr-14	24-Apr-14	25-Apr-14	26-Apr-14	27-Apr-14
เวลา (น.)		9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
วันที่ของการทดลอง		0	1	2	3	4	5	6	7
ชนิดอาหาร*	ซ้ำ	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	1	100	90	90	80	70	40	10	0
	2	100	90	80	70	60	60	60	50
	3	100	100	100	80	70	60	30	20
C	1	100	100	100	90	90	70	70	70
	2	100	100	100	100	90	50	40	30
	3	100	100	90	90	80	60	60	50
T	1	100	100	80	70	70	30	30	30
	2	100	100	90	80	80	60	30	30
	3	100	100	90	70	60	60	50	40
ICT	1	100	80	80	80	80	90	70	50
	2	100	100	90	90	90	80	70	60
	3	100	100	80	70	50	30	30	20
F	1	100	100	80	40	50	0	0	0
	2	100	100	80	40	20	10	10	0
	3	100	90	80	50	30	20	0	0
NO	1	100	100	100	100	90	80	70	60
	2	100	100	100	100	70	30	30	30
	3	100	100	100	70	60	30	30	40

หมายเหตุ * I = ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว

C = ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว

T = ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว

ICT = ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน

F = ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด

NO = ไม่ให้อาหารเลย

** การทดลองครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 ทำในช่วงเวลาเดียวกัน

การทดลองครั้งที่ 3

วัน/เดือน/ปี**		20-Apr-14	21-Apr-14	22-Apr-14	23-Apr-14	24-Apr-14	25-Apr-14	26-Apr-14	27-Apr-14
เวลา (น.)		10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
วันที่ของการทดลอง		0	1	2	3	4	5	6	7
ชนิดอาหาร*	ซ้ำ	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	1	100	90	60	80	10	10	0	0
	2	100	100	100	70	80	80	60	50
	3	100	100	80	80	70	50	30	20
C	1	100	90	90	90	70	60	40	30
	2	100	100	80	70	60	30	40	40
	3	100	90	90	90	90	70	70	70
T	1	100	90	70	70	30	20	0	0
	2	100	80	80	80	30	30	30	30
	3	100	100	80	70	70	60	30	20
ICT	1	100	100	80	70	60	50	50	40
	2	100	100	90	90	60	30	30	30
	3	100	100	90	80	70	50	40	30
F	1	100	100	80	40	50	20	0	0
	2	100	100	70	40	20	30	0	0
	3	100	70	70	50	30	10	0	0
NO	1	100	100	100	90	60	60	30	30
	2	100	100	100	80	70	60	60	50
	3	100	100	90	80	60	60	20	20

หมายเหตุ * I = ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว

C = ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว

T = ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว

ICT = ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน

F = ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปแบบเกล็ด

NO = ไม่ให้อาหารเลย

** การทดลองครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 ทำในช่วงเวลาเดียวกัน

ค่าเฉลี่ยอัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงโดยให้อาหารต่างชนิดกัน

ครั้งที่ 1

ชนิดอาหาร	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	100.0	90.0	80.0	70.0	66.7	50.0	33.3	23.3
C	100.0	100.0	96.7	96.7	80.0	63.3	50.0	33.3
T	100.0	93.3	90.0	80.0	53.3	23.3	20.0	16.7
ICT	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	76.7	73.3	56.7
F	100.0	76.7	63.3	43.3	20.0	16.7	16.7	6.7
NO	100.0	100.0	100.0	100.0	93.3	53.3	43.3	16.7

ครั้งที่ 2

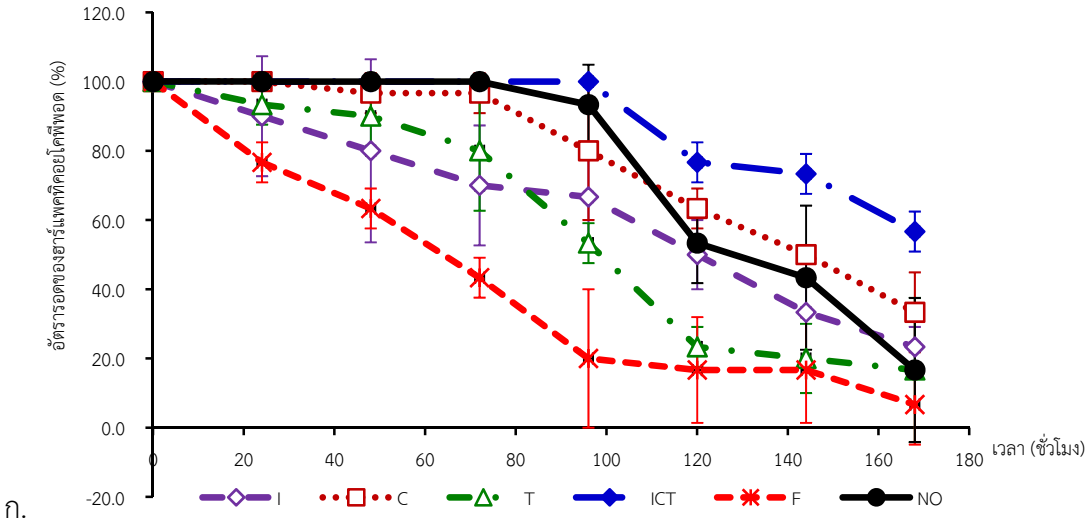
ชนิดอาหาร	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	100.0	93.3	90.0	76.7	66.7	53.3	33.3	23.3
C	100.0	100.0	96.7	93.3	86.7	60.0	56.7	50.0
T	100.0	100.0	86.7	73.3	70.0	50.0	36.7	33.3
ICT	100.0	93.3	83.3	80.0	73.3	66.7	56.7	43.3
F	100.0	96.7	80.0	43.3	33.3	10.0	3.3	0.0
NO	100.0	100.0	100.0	90.0	73.3	46.7	43.3	43.3

ครั้งที่ 3

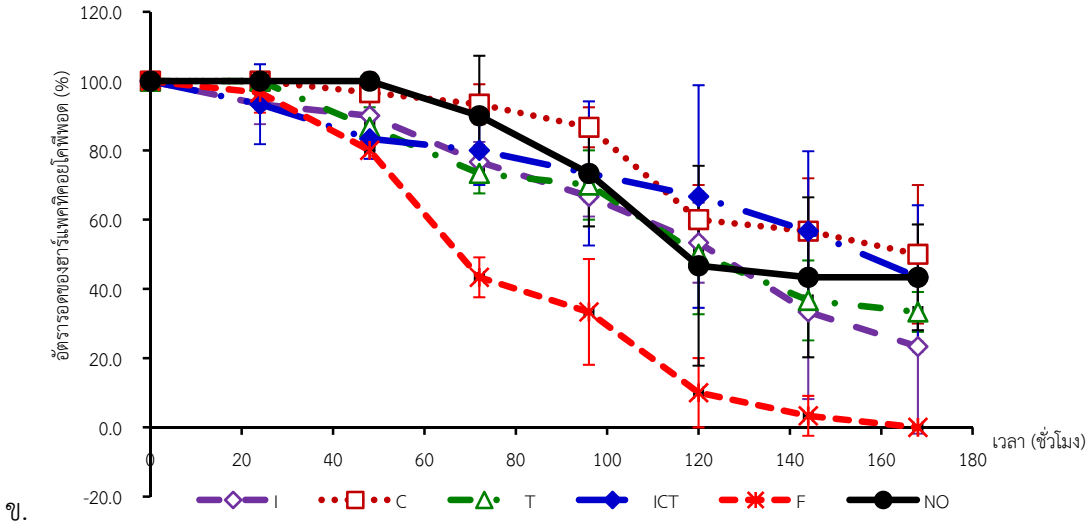
ชนิดอาหาร	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	100.0	96.7	80.0	76.7	53.3	46.7	30.0	23.3
C	100.0	93.3	86.7	83.3	73.3	53.3	50.0	46.7
T	100.0	90.0	76.7	73.3	43.3	36.7	20.0	16.7
ICT	100.0	100.0	86.7	80.0	63.3	43.3	40.0	33.3
F	100.0	90.0	73.3	43.3	33.3	20.0	0.0	0.0
NO	100.0	100.0	96.7	83.3	63.3	60.0	36.7	33.3

ค่าเฉลี่ยทั้ง 3 ครั้ง

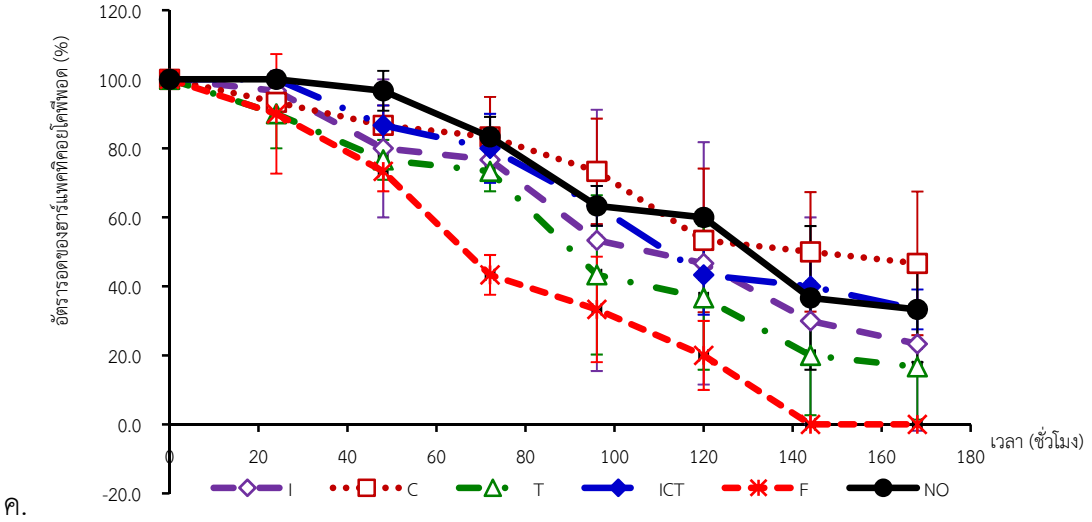
ชนิดอาหาร	0 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.
I	100.0	93.3	83.3	74.4	62.2	50.0	32.2	23.3
C	100.0	97.8	93.3	91.1	80.0	58.9	52.2	43.3
T	100.0	94.4	84.4	75.6	55.6	36.7	25.6	22.2
ICT	100.0	97.8	90.0	86.7	78.9	62.2	56.7	44.4
F	100.0	87.8	72.2	43.3	28.9	15.6	6.7	2.2
NO	100.0	100.0	98.9	91.1	76.7	53.3	41.1	31.1



ก.



ข.



ค.

อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงโดยให้อาหารต่างชนิดกัน

ก) ครั้งที่ 1 ข) ครั้งที่ 2 ค) ครั้งที่ 3

ภาคผนวกที่ 4

อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกัน

การทดลองครั้งที่ 1

วัน/เดือน/ปี		09-Jan-14		16-Jan-14					
ชนิดตะกอน	ซ้ำ	เริ่มต้นการทดลอง		เมื่อครบ 7 วัน					
				เป็น		ตาย		เพศเมียมีถุงไข่	
		จำนวนตัว	ร้อยละ	จำนวนตัว	ร้อยละ	จำนวนตัว	ร้อยละ	จำนวนตัว	ร้อยละ
ไม่มีตะกอน	1	30	100	13	43.33	17	56.67	2	6.67
	2	30	100	24	80.00	6	20.00	1	3.33
	3	30	100	15	50.00	15	50.00	0	0.00
ทรายหยาบ	1	30	100	16	53.33	14	46.67	1	3.33
	2	30	100	13	43.33	17	56.67	1	3.33
	3	30	100	20	66.67	10	33.33	0	0.00
ทรายละเอียด	1	30	100	18	60.00	12	40.00	1	3.33
	2	30	100	28	93.33	2	6.67	1	3.33
	3	30	100	20	66.67	10	33.33	1	3.33
ทรายเทียม	1	30	100	12	40.00	18	60.00	0	0.00
	2	30	100	18	60.00	12	40.00	0	0.00
	3	30	100	20	66.67	10	33.33	1	3.33
ทรายปนโคลน	1	30	100	25	83.33	5	16.67	1	3.33
	2	30	100	23	76.67	7	23.33	5	16.67
	3	30	100	19	63.33	11	36.67	4	13.33

การทดลองครั้งที่ 1

วัน/เดือน/ปี		28-Jan-14		04-Feb-14					
ชนิดตะกอน	ซ้ำ	เริ่มต้นการทดลอง		เมื่อครบ 7 วัน					
				เป็น		ตาย		เพศเมียมีถุงไข่	
		จำนวนตัว	ร้อยละ	จำนวนตัว	ร้อยละ	จำนวนตัว	ร้อยละ	จำนวนตัว	ร้อยละ
ไม่มีตะกอน	1	30	100	20	66.67	10	33.33	2	6.67
	2	30	100	24	80.00	6	20.00	1	3.33
	3	30	100	22	73.33	8	26.67	0	0.00
ทรายหยาบ	1	30	100	19	63.33	11	36.67	2	6.67
	2	30	100	22	73.33	8	26.67	2	6.67
	3	30	100	25	83.33	5	16.67	0	0.00
ทรายละเอียด	1	30	100	23	76.67	7	23.33	0	0.00
	2	30	100	16	53.33	14	46.67	0	0.00
	3	30	100	18	60.00	12	40.00	1	3.33
ทรายเทียม	1	30	100	15	50.00	15	50.00	0	0.00
	2	30	100	17	56.67	13	43.33	0	0.00
	3	30	100	20	66.67	10	33.33	0	0.00
ทรายปนโคลน	1	30	100	27	90.00	3	10.00	3	10.00
	2	30	100	22	73.33	8	26.67	3	10.00
	3	30	100	21	70.00	9	30.00	1	3.33

ค่าเฉลี่ยอัตรารอด (%) ของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกัน

ครั้งที่ 1

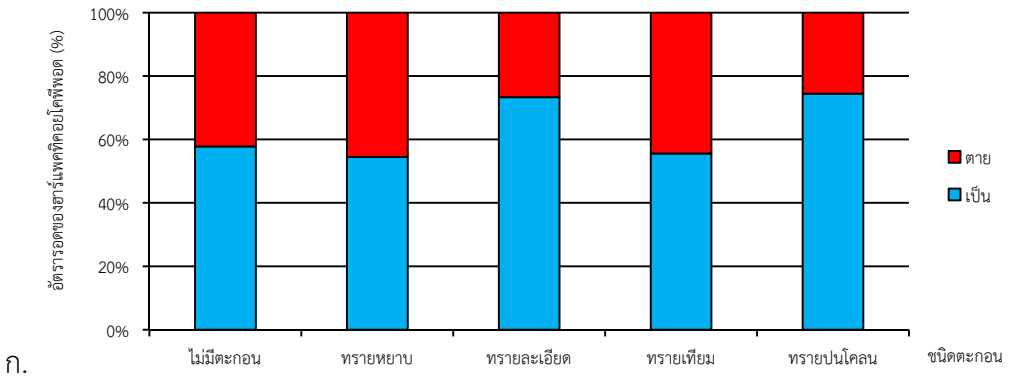
ชนิดตะกอน	ร้อยละของจำนวนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (เทียบกับเมื่อเริ่มการทดลอง)		
	เป็น	ตาย	เพศเมียมีถุงไข่
ไม่มีตะกอน	57.78	42.22	3.33
ทรายหยาบ	54.44	45.56	2.22
ทรายละเอียด	73.33	26.67	3.33
ทรายเทียม	55.56	44.44	1.11
ทรายปนโคลน	74.44	25.56	11.11

ครั้งที่ 2

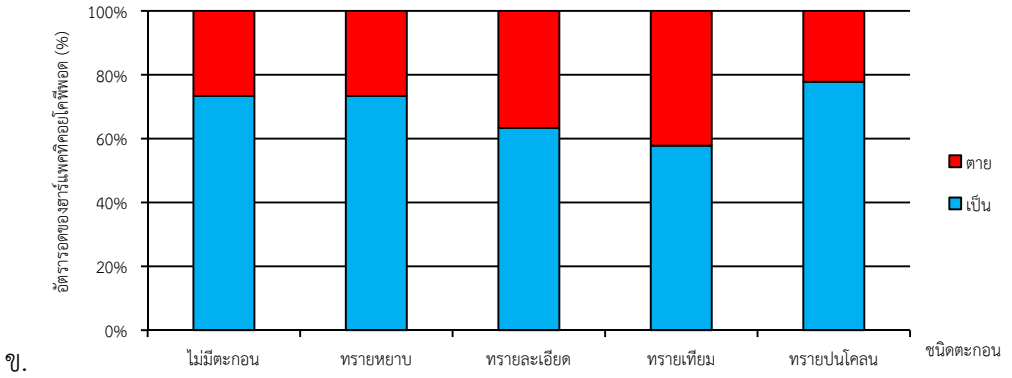
ชนิดตะกอน	ร้อยละของจำนวนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (เทียบกับเมื่อเริ่มการทดลอง)		
	เป็น	ตาย	เพศเมียมีถุงไข่
ไม่มีตะกอน	73.33	26.67	3.33
ทรายหยาบ	73.33	26.67	4.44
ทรายละเอียด	63.33	36.67	1.11
ทรายเทียม	57.78	42.22	0.00
ทรายปนโคลน	77.78	22.22	7.78

ค่าเฉลี่ย 2 ครั้ง

ชนิดตะกอน	ร้อยละของจำนวนฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (เทียบกับเมื่อเริ่มการทดลอง)		
	เป็น	ตาย	เพศเมียมีถุงไข่
ไม่มีตะกอน	65.56	34.44	3.33
ทรายหยาบ	63.89	36.11	3.33
ทรายละเอียด	68.33	31.67	2.22
ทรายเทียม	56.67	43.33	0.56
ทรายปนโคลน	76.11	23.89	9.44



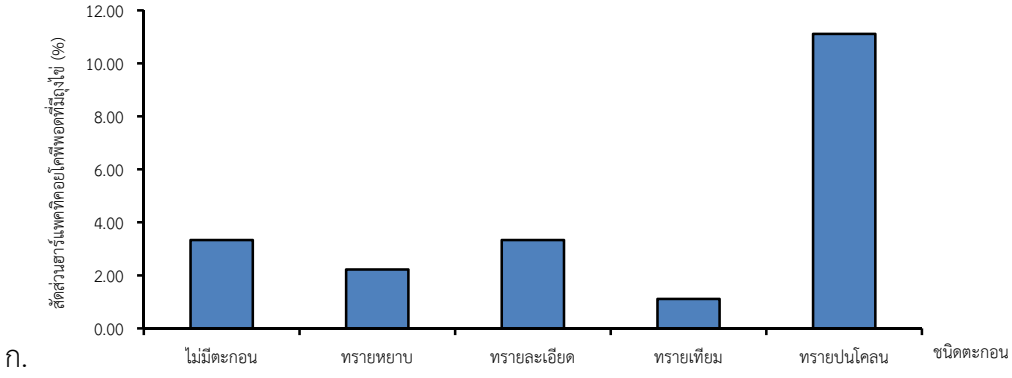
ก.



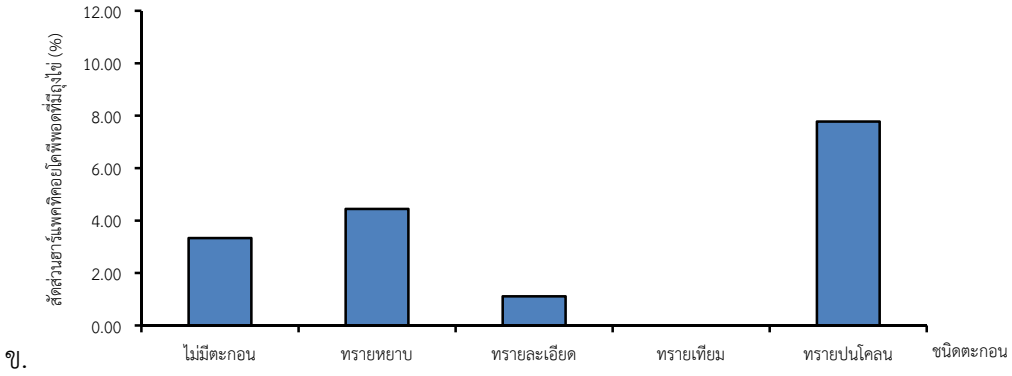
ข.

อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ก) ครั้งที่ 1 ข) ครั้งที่ 2



ก.



ข.

สัดส่วนของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดที่มีถุงไข่เมื่อเลี้ยงในภาชนะที่มีตะกอนต่างชนิดกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ก) ครั้งที่ 1 ข) ครั้งที่ 2

ภาคผนวกที่ 5

อัตรารอดของฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเมื่อเลี้ยงในความหนาแน่นที่ต่างกัน

ค่าเฉลี่ยการทดลองครั้งที่ 1

วัน/เดือน/ปี	05-Sep-13	05-Sep-13	06-Sep-13	06-Sep-13	07-Sep-13	08-Sep-13	09-Sep-13	10-Sep-13	11-Sep-13	12-Sep-13	13-Sep-13	14-Sep-13	15-Sep-13	16-Sep-13	17-Sep-13	18-Sep-13	19-Sep-13
เวลา (น.)	15.00	21.00	3.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
วันที่ของการทดลอง	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ความหนาแน่น (ตัว/ลิตร)	0 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.	192 hrs.	216 hrs.	240 hrs.	264 hrs.	288 hrs.	312 hrs.	336 hrs.
100	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	66.7	66.7	50.0	50.0	50.0	33.3	33.3	16.7	16.7	16.7	0.0	0.0
500	100.0	100.0	100.0	100.0	66.7	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1,000	100.0	100.0	66.7	53.3	33.3	26.7	26.7	26.7	26.7	20.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3,000	100.0	100.0	86.7	68.9	64.4	57.8	51.1	44.4	37.8	35.6	26.7	17.8	13.3	13.3	4.4	4.4	0.0
8,000	100.0	100.0	95.8	83.3	78.3	70.8	58.3	47.5	43.3	42.5	33.3	24.2	18.3	12.5	1.7	5.0	0.0

ค่าเฉลี่ยการทดลองครั้งที่ 2

วัน/เดือน/ปี	20-Sep-13	20-Sep-13	21-Sep-13	21-Sep-13	22-Sep-13	23-Sep-13	24-Sep-13	25-Sep-13	26-Sep-13	27-Sep-13	28-Sep-13	29-Sep-13	30-Sep-13	01-Oct-13	02-Oct-13	03-Oct-13	04-Oct-13
เวลา (น.)	15.00	21.00	3.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
วันที่ของการทดลอง	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ความหนาแน่น (ตัว/ลิตร)	0 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.	192 hrs.	216 hrs.	240 hrs.	264 hrs.	288 hrs.	312 hrs.	336 hrs.
100	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	83.3	83.3	66.7	66.7	50.0	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3
500	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	93.3	93.3	93.3	93.3	66.7	53.3	40.0	40.0	40.0	40.0	33.3	33.3
1,000	100.0	100.0	100.0	93.3	80.0	80.0	66.7	60.0	46.7	26.7	20.0	13.3	13.3	13.3	13.3	13.3	13.3
3,000	100.0	97.8	97.8	91.1	82.2	68.9	53.3	44.4	40.0	20.0	13.3	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
8,000	100.0	99.2	99.2	91.7	79.2	73.3	70.8	67.5	48.3	24.2	18.3	6.7	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0

ค่าเฉลี่ยการทดลองครั้งที่ 3

วัน/เดือน/ปี	08-Oct-13	08-Oct-13	09-Oct-13	09-Oct-13	10-Oct-13	11-Oct-13	12-Oct-13	13-Oct-13	14-Oct-13	15-Oct-13	16-Oct-13	17-Oct-13	18-Oct-13	19-Oct-13	20-Oct-13	21-Oct-13	22-Oct-13
เวลา (น.)	15.00	21.00	3.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
วันที่ของการทดลอง	0	0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ความหนาแน่น (ตัว/ลิตร)	0 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.	192 hrs.	216 hrs.	240 hrs.	264 hrs.	288 hrs.	312 hrs.	336 hrs.
100	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	83.3	83.3	83.3	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7	50.0	33.3
500	100.0	100.0	100.0	93.3	86.7	73.3	73.3	66.7	66.7	60.0	60.0	53.3	53.3	46.7	46.7	33.3	33.3
1,000	100.0	100.0	93.3	93.3	86.7	66.7	66.7	66.7	60.0	60.0	60.0	53.3	53.3	46.7	40.0	26.7	20.0
3,000	100.0	97.8	93.3	84.4	84.4	77.8	77.8	75.6	60.0	48.9	48.9	44.4	40.0	40.0	37.8	26.7	17.8
8,000	100.0	99.2	95.8	93.3	93.3	87.5	83.3	79.2	73.3	65.0	60.8	57.5	49.2	49.2	44.2	33.3	28.3

ค่าเฉลี่ยการทดลองทั้ง 3 ครั้ง

ความหนาแน่น (ตัว/ลิตร)	0 hrs.	6 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.	144 hrs.	168 hrs.	192 hrs.	216 hrs.	240 hrs.	264 hrs.	288 hrs.	312 hrs.	336 hrs.
100	100.0	100.0	100.0	100.0	88.9	83.3	77.8	72.2	66.7	61.1	55.6	50.0	38.9	38.9	38.9	27.8	22.2
500	100.0	100.0	100.0	97.8	84.4	66.7	66.7	64.4	64.4	53.3	37.8	31.1	31.1	28.9	28.9	22.2	22.2
1,000	100.0	100.0	86.7	80.0	66.7	57.8	53.3	51.1	44.4	35.6	28.9	22.2	22.2	20.0	17.8	13.3	11.1
3,000	100.0	98.5	92.6	81.5	77.0	68.1	60.7	54.8	45.9	34.8	29.6	23.0	17.8	17.8	14.1	10.4	5.9
8,000	100.0	99.4	96.9	89.4	83.6	77.2	70.8	64.7	55.0	43.9	37.5	29.4	23.3	20.6	15.3	12.8	9.4