สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 หัวเชื้อสาหร่าย *Tetraselmis suecica* และโรติเฟอร์ *Brachionus plicatilis*

เชื้อสาหร่ายเตตราเซลมิส (*Tetraselmis suecica*) และโรติเฟอร์น้ำเค็ม *(Brachionus plicatilis*) ที่ใช้ในวิทยานิพนธ์นี้ ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี โดยทำการเก็บรักษาหัวเชื้อภายในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาประยุกต์ของศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การศึกษาการเติบโตของสาหร่าย เตตราเซลมิส และโรติเฟอร์ในการเลี้ยงแบบแบตช์

3.2.1 การเติบโตของสาหร่าย เตตราเซลมิส ในการเลี้ยงแบบแบตช์

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิส ในอาหารเพาะเชื้อเหลวสูตรกิลลาร์ด F/2 (รายละเอียดวิธีการเตรียมอาหารเพาะเชื้อแสดงในภาคผนวก) ที่เตรียมจากน้ำความเค็ม 30 พีเอสยู กรองผ่านชุดกรองขนาด 0.3 ไมครอนและฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงที่ความเข้มแสงประมาณ 1,500-2,000 ลักซ์ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ตลอดเวลา และให้อากาศที่ผ่านการกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอน (Gelman Acrodisc 50) ทำการส่องตรวจเพื่อติดตามการเติบโตของสาหร่ายเตตราเซลมิส ภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน ด้ วยวิธีการนับจำนวนเซลล์ด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (haemacytometer)

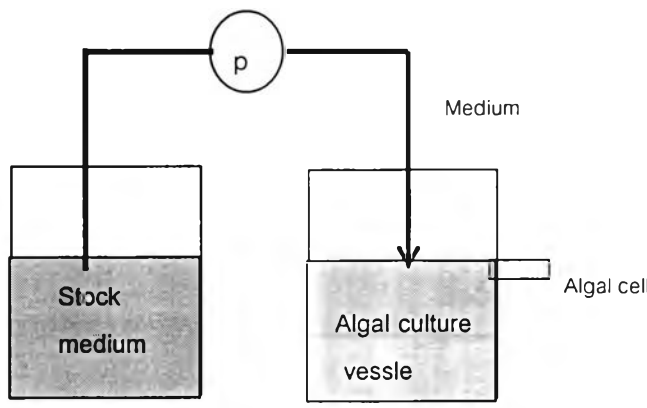
3.2.2 การเติบโตของโรติเฟอร์ในการเลี้ยงแบบแบตช์

การเลี้ยงโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) ใช้สาหร่ายเตตราเซลมิสเป็นอาหาร โดยเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสในภาชนะที่ใช้เลี้ยงโรติเฟอร์โดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1 พร้อมกับมีการพ่นฟองอากาศในภาชนะตลอดเวลา เมื่อสาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นเกิน $50x10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จึงเติมหัวเชื้อโรติเฟอร์ลงไปให้มีความหนาแน่นของโรติเฟอร์เริ่มต้นประมาณ 30 ตัวต่อมิลลิลิตร โดยในระหว่างการทดลองทำการเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสเพิ่มเติมไว้สำหรับเติมเป็นอาหารให้กับโรติเฟอร์ทุกวัน เติมสาหร่ายโดยนำน้ำจากภาชนะเลี้ยงโรติเฟอร์ออกก่อน โดยกรองผ่านผ้ากรองขนาด 33 ไมครอน และเติมสาหร่ายเตตราเซลมิสที่เตรียมไว้ลงไปด้วยปริมาตรที่เท่ากับน้ำที่ดึงออกมาเพื่อให้ปริมาตรน้ำที่เลี้ยงคงที่ ทำการตรวจนับการเติบโตของโรติเฟอร์ทุกวันด้วยสไลด์ Sedgewick-Rafter

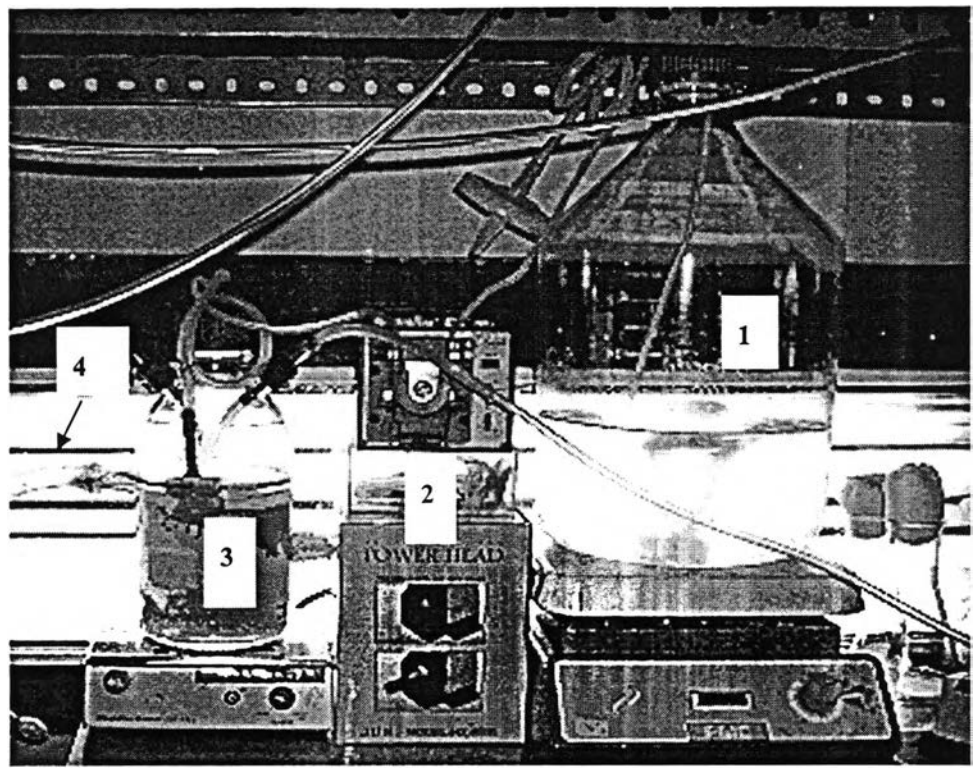
3.3 การศึกษาการเติบโตของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

3.3.1 การเติบโตของสาหร่ายเตตราเซลมิสในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

ทำการเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสแบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (Duran bottle) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรที่มีปริมาตรอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายสูตร F/2 ปริมาตร 700 มิลลิลิตร และผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน โดยใช้สภาวะการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกับการเลี้ยงแบบแบตช์ (หัวข้อ 3.2) เมื่อสาหร่ายมีการเติบโตเข้าสู่ระยะทวีคูณ (log phase) จึงทำการจัดระบบเป็นแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องสูบน้ำชนิดรีดสายสูบอาหารเพาะเชื้อที่เตรียมขึ้นใหม่เข้าสู่ขวดเพาะเลี้ยงสาหร่ายและผสมเป็นเนื้อเดียวกับอาหารเพาะเชื้อในขวดเลี้ยงสาหร่าย เนื่องจากในขวดมีการพ่นอากาศอยู่ตลอดเวลา ปริมาตรอาหารเพาะเชื้อที่มีเซลล์สาหร่ายแขวนลอยอยู่ถูกแทนที่ด้วยอาหารเพาะเชื้อใหม่ทำให้ไหลล้นออกทางท่อด้านข้างของขวดเลี้ยง (ภาพที่3-1 และ 3-2) ทำการวัดปริมาตรผลผลิตที่ได้และนับจำนวนสาหร่ายทุกวัน



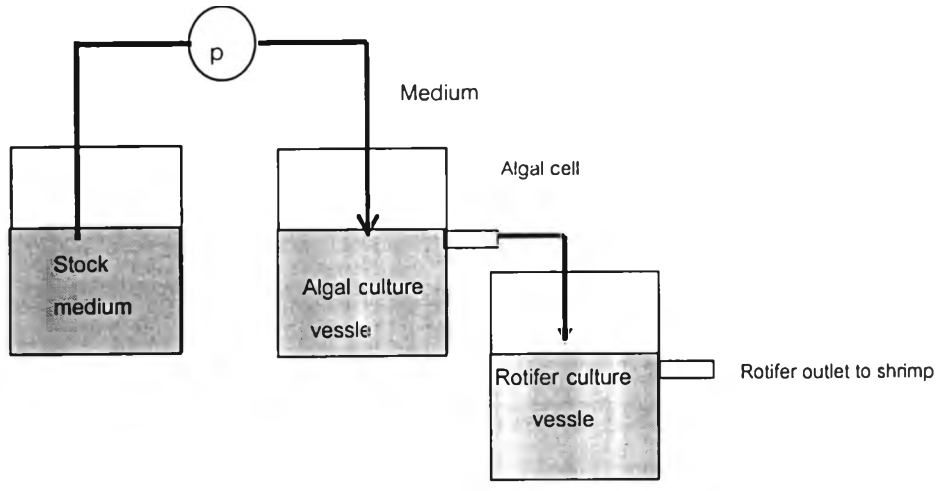
ภาพที่ 3-1 แผนภาพแสดงระบบเลี้ยงสาหร่าย เตตราเซลมิสแบบต่อเนื่อง



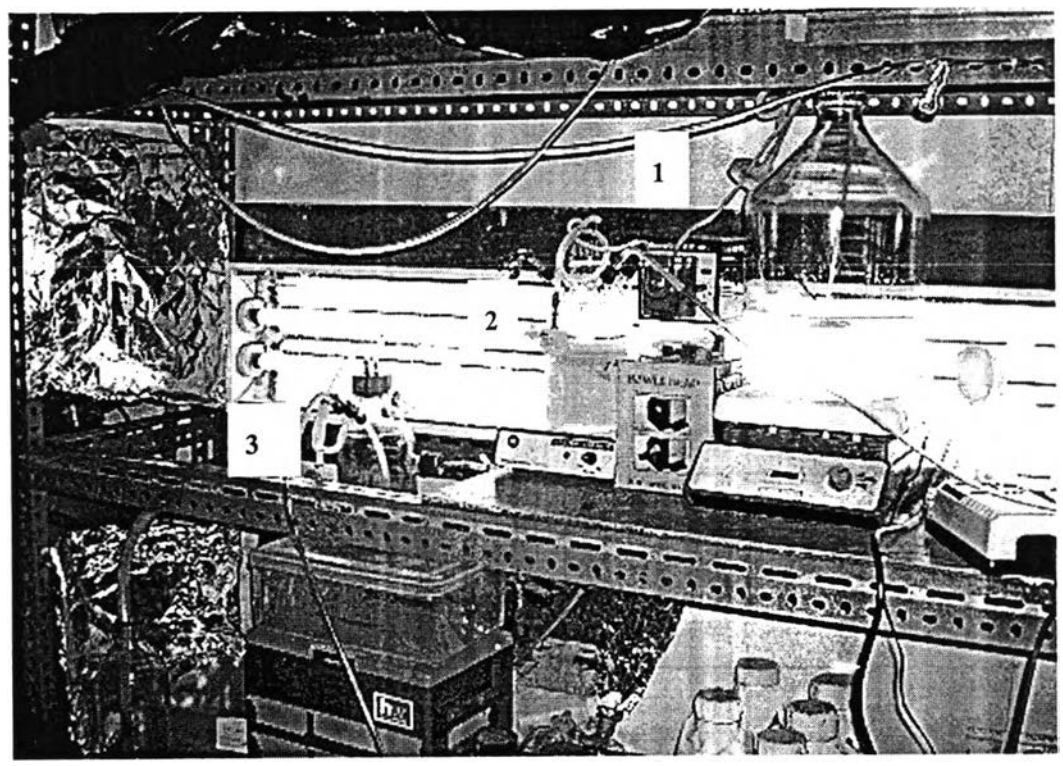
ภาพที่ 3-2 ระบบเลี้ยงสาหร่าย เตตราเซลมิสแบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (1) ขวดเก็บอาหารเพาะเชื้อใหม่ (2) เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยาง (3) ขวดเลี้ยงเซลล์สาหร่าย (4) ช่องทางสำหรับให้เซลล์สาหร่ายและอาหารเพาะเชื้อไหลออกจากขวดเลี้ยง

3.3.2 การเติบโตของโรติเฟอร์ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

ทำการเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (duran bottle) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรที่มีน้ำทะเลปริมาตร 300 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ระบบเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องจะเชื่อมต่อกับระบบผลิตสาหร่ายแบบต่อเนื่องในหัวข้อ 3.3.1 โดยอาหารเพาะเชื้อและเซลล์สาหร่ายเตตราเซลมิสที่ไหลล้นจากขวดสาหร่ายที่อยู่สูง จะไหลลงสู่ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์และผสมเป็นเนื้อเดียวกันเนื่องจากภายในขวดเลี้ยงโรติเฟอร์มีการพ่นอากาศ โรติเฟอร์ส่วนหนึ่งที่เติบโตแขวนลอยในน้ำจะถูกนำออกจากขวดเลี้ยงทางท่อที่อยู่ด้านข้างของขวด (ภาพที่ 3-3 และ 3-4) ทำการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 45 วัน โดยบันทึกปริมาตรผลผลิตที่ได้ และนับจำนวนสาหร่ายและโรติเฟอร์ทุกวัน



ภาพที่ 3-3 แผนภาพของระบบการเลี้ยงโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) แบบต่อเนื่อง



ภาพที่ 3-4 ระบบเลี้ยงโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) แบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (1) ระบบผลิตสาหร่ายแบบต่อเนื่อง (2) ท่อต่อเพื่อนำเซลล์สาหร่ายที่ผลิตได้เข้าสู่ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์ (3) ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง

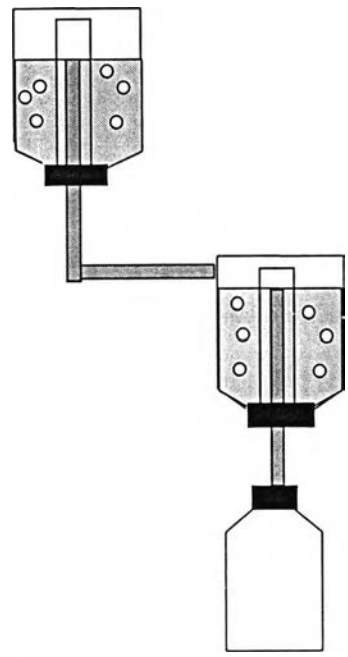
3.4 การศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรของระบบสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

เนื่องจากสาหร่ายและโรติเฟอร์มีอัตราการเติบโตที่ไม่เท่ากัน การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องจำเป็นต้องปรับปริมาตรและอัตราการเจือจางของระบบให้เหมาะสมเพื่อให้ปริมาณสาหร่ายและโรติเฟอร์มีความสมดุลกัน การทดลองนี้เป็นการเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสแบบต่อเนื่องในขวดพลาสติกขนาด 1,250 มิลลิลิตรและ 500 มิลลิลิตร ที่พัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเช่นเดียวกับระบบผลิตโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องในหัวข้อ 3.3 รูปของระบบแสดงในภาพที่ 3-5 และ 3-6 แต่เนื่องจากขวดที่ใช้ทำด้วยพลาสติก ก่อนการทดลองจึงต้องเติมน้ำลงในขวดพลาสติกและพ่นโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนในระบบเป็นเวลา 30-45 นาที ก่อนที่จะเติมสารอาหารตามสูตรกิลลาร์ด F/2 ลงในขวดเลี้ยงสาหร่าย จากนั้นจึงเติมหัวเชื้อสาหร่ายเตตราเซลมิสเพื่อเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นและปล่อยให้สาหร่ายมีการเติบโตในขวดระยะหนึ่งก่อนที่จะเริ่มเดินเครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยางเพื่อเป็นการเริ่มต้นระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง หลังจากนั้นจึงทำการเติมหัวเชื้อโรติเฟอร์ลงในขวดเลี้ยงโรติเฟอร์ที่ต่ออยู่กับขวดเลี้ยงสาหร่าย น้ำทะเลที่มีโรติเฟอร์จะล้นออกจากทางท่อที่อยู่กลางขวดโรติเฟอร์ลงสู่ขวดเก็บผลผลิตด้านล่าง ในระหว่างการทดลองมีการวัดปริมาตรผลผลิตที่ได้ นับจำนวนสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ทุกวัน

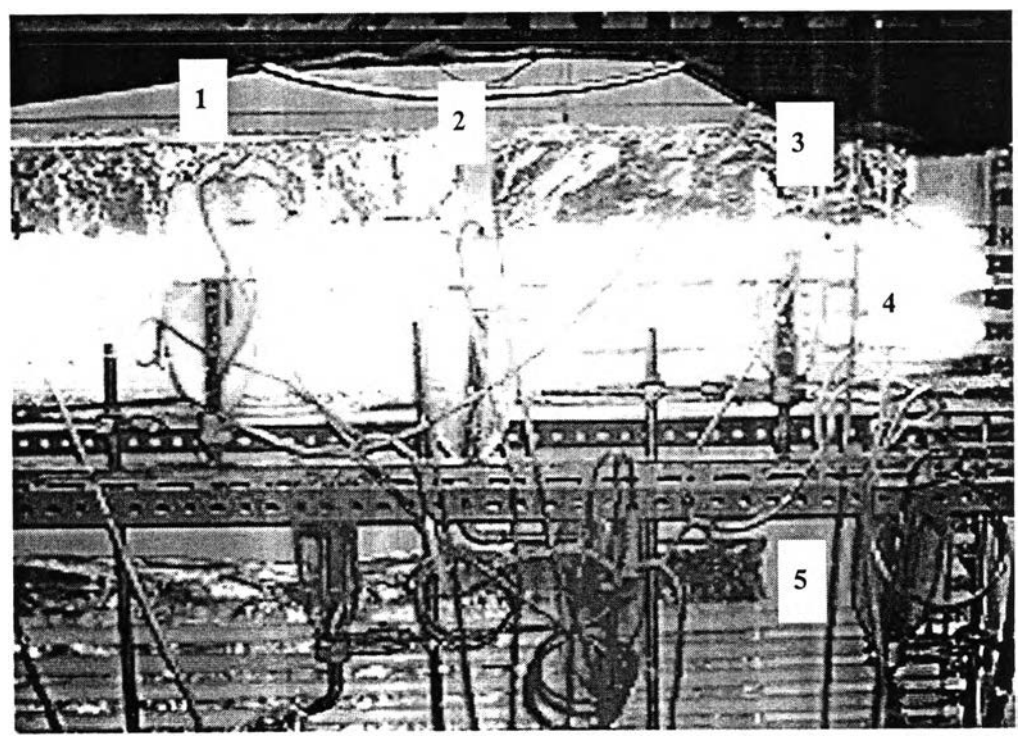
การทดลองนี้ได้ปรับสัดส่วนปริมาตรของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3-1 โดยทุกชุดการทดลองทำในระบบเลี้ยงที่มีขนาดของภาชนะเท่ากัน อัตราการไหลในแต่ละชุดทดลองคงที่เท่ากับ 17, 19 และ 15 มิลลิลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ แต่มีอาหารเพาะเชื้อในขวดเลี้ยงสาหร่ายและน้ำทะเลในขวดเลี้ยงโรติเฟอร์ในปริมาตรที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 3-1 ปริมาตรและอัตราเจือจางของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลองโดยปรับปริมาตรของปริมาตรสาหร่าย (A) ต่อโรติเฟอร์ (R) แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระบบสาหร่ายเตตราเซลมิส		ระบบโรติเฟอร์	
	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	อัตราเจือจาง (ต่อวัน)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)	อัตราเจือจาง (ต่อวัน)
A:R=2:1	700	0.61	300	1.3
A:R=1:1	1020	0.5	930	0.55
A:R=1:2	270	1.6	640	0.67



ภาพที่ 3-5 การเลี้ยงสาหร่าย เตตราเซลมิส และโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) แบบต่อเนื่องในขวดพลาสติก



ภาพที่ 3-6 ระบบการเลี้ยงสาหร่าย เตตราเซลมิส และโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) แบบต่อเนื่องในขวดพลาสติก (1-3) ระบบทดลองชุดที่ 1-3 ตามลำดับ, (4) ขวดเลี้ยงสาหร่าย, (5) ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์

3.4 การศึกษาผลของอัตราการเจือจางต่อการเติบโตของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

ทำการเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสแบบต่อเนื่องในขวดพลาสติก โดยเลือกใช้สัดส่วนของปริมาตรระบบสาหร่ายและโรติเฟอร์ที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.3 ทำการทดลองจำนวนสองรอบ แต่ละรอบประกอบด้วยชุดทดลองจำนวน 2 ซ้ำ ปริมาตรน้ำในแต่ละชุดการทดลองของทั้งสองรอบมีปริมาตรค่อนข้างใกล้เคียงกัน เนื่องจากในการทำภาชนะสำหรับเพาะเลี้ยงใช้ท่อกลางที่ทำจากท่อพีวีซีเป็นตัวควบคุมระดับน้ำมีความยาวของท่อไม่เท่ากัน ทำให้ระดับน้ำแตกต่างกัน ปริมาตรของน้ำแสดงในตารางที่ 3-2 โดยในการทดลองรอบแรกทำการฆ่าเชื้อปนเปื้อนในน้ำโดยการพ่นโอโซนเป็นเวลา 30-45 นาที แต่ผลจากการทดลองพบว่าน้ำที่ผ่านการพ่นโอโซนยังคงเกิดการปนเปื้อนของโปรโตซัวในระบบ ในการทดลองรอบที่สองจึงเปลี่ยนมาทำการฆ่าเชื้อในน้ำด้วยวิธีการนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน

ตารางที่ 3-2 ปริมาตรของอาหารเพาะเชื้อในขวดเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสและปริมาตรน้ำทะเลในขวดเลี้ยงโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลอง

รอบที่	ชุดทดลองที่	ขวดเลี้ยงสาหร่าย		ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์	
		ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	อัตราเจือจาง (ต่อวัน)	ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	อัตราเจือจาง (ต่อวัน)
1	1	440	0.3-1.6	660	0.25-1.1
	2	370	0.8-3.2	720	0.4-1.6
2	1	300	0.9-3.3	700	0.4-1.4
	2	380	0.7-1.7	680	0.4-0.9

ในระหว่างการทดลองทำการวัดปริมาตรผลผลิตที่ได้ นับจำนวนสาหร่ายและโรติเฟอร์ทุกวัน การปรับอัตราการเจือจางของระบบให้คงที่จะทำให้สาหร่ายและโรติเฟอร์มีการเติบโตแบบต่อเนื่อง ซึ่งจะเห็นได้จากความหนาแน่นของสาหร่ายและโรติเฟอร์ในขวดเลี้ยงมีค่าคงที่ ในระหว่างการทดลองได้มีการปรับอัตราการเจือจางเพิ่มขึ้นหรือลดลง หลังจากนั้นจึงติดตามการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นสาหร่ายและโรติเฟอร์ที่เปลี่ยนไปตามค่าอัตราการเจือจาง โดยการแปรผันอัตราการเจือจางในแต่ละระดับ จะต้องปล่อยให้จุลินทรีย์มีการเติบโตแบบต่อเนื่องโดยมีความหนาแน่นคงที่เป็นเวลาอย่างน้อย 3-4 วัน ก่อนที่จะปรับอัตราการเจือจางในระดับถัดไป

3.5 การศึกษาการเติบโตของโรติเฟอร์ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในระยะยาว

การทดลองนี้เป็นการทดสอบระบบผลิตโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องในระยะยาว โดยใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่ดีที่สุดจากการทดลองในหัวข้อ 3.4 ทดลองในระบบเลี้ยงที่ทำจากขวดพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใช้ในการทดลอง 3.4 แต่น้ำทะเลที่ใช้จะผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันและเติมสารอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายตามสูตรกิลลาร์ด F/2 ก่อนที่จะนำไปเติมลงในขวดที่จะใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายและโรติเฟอร์ ทดลองทั้งสิ้น 6 ชุดโดยแต่ละชุดมีอัตราการเจือจางที่ใกล้เคียงกันและคงที่ตลอดการทดลอง ปริมาตรและอัตราการเจือจางตามที่เป็นจริงในระหว่างการทดลองของแต่ละชุดทดลองแสดงในตารางที่ 3-3 ในระหว่างการทดลองตรวจวัดปริมาตรผลผลิตที่ได้ นับจำนวนสาหร่ายเตตราเซลมิส และโรติเฟอร์ทุกวัน

ตารางที่ 3-3 ปริมาตรและอัตราการเจือจางของระบบเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสและระบบเลี้ยงโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลอง

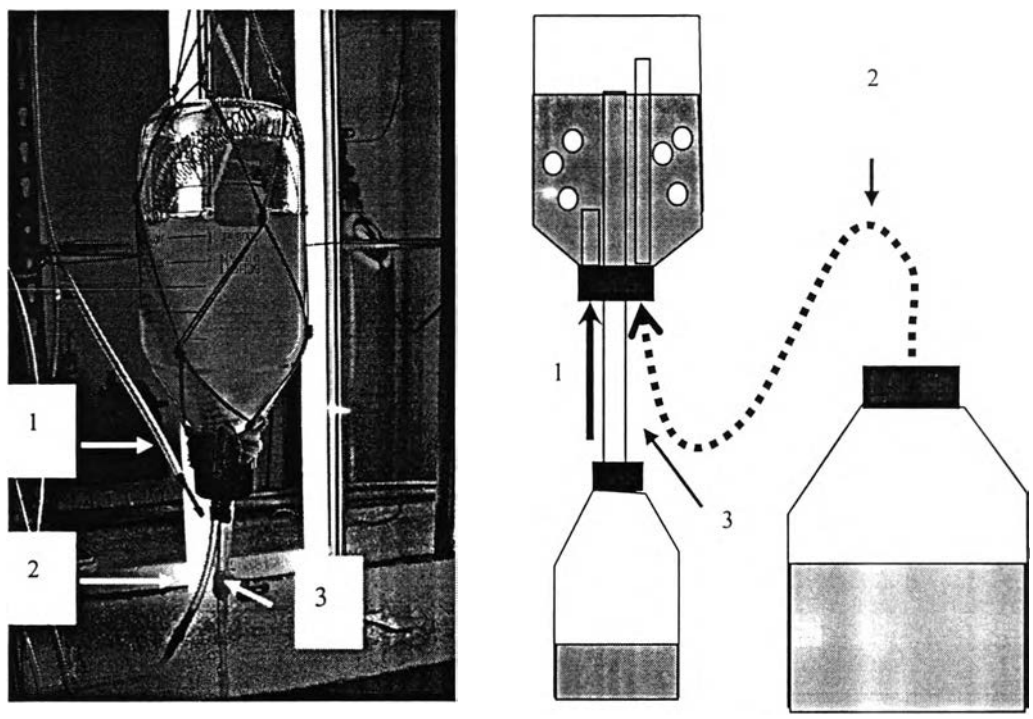
ชุดการทดลอง	ปริมาตรระบบสาหร่าย (มิลลิลิตร)	อัตราการเจือจางของสาหร่าย (ต่อวัน)	ปริมาตรระบบโรติเฟอร์ (มิลลิลิตร)	อัตราการเจือจางของโรติเฟอร์ (ต่อวัน)
1	420	1.04	760	0.57
2	440	0.77	660	0.52
3	370	0.89	720	0.45
4	420	1.08	760	0.59
5	440	0.89	660	0.59
6	370	0.94	720	0.48
เฉลี่ย		0.93 ± 0.17		0.54 ± 0.09

3.7 การอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนโดยใช้ระบบการผลิตอาหารแบบต่อเนื่อง

การทดลองในส่วนนี้เป็นการทดลองในห้องที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ทำให้อุณหภูมิในระหว่างการทดลองแปรผันตามธรรมชาติอยู่ระหว่าง 24-34 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เพื่อให้มีสภาวะแวดล้อมใกล้เคียงกับสภาวะของฟาร์มอนุบาลลูกกุ้งทั่วไป ทำการทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะนอเพลียสจนถึงระยะโพสลาวา 1 ด้วยระบบการอนุบาลที่มีการเติมอาหารมีชีวิตซึ่งก็คือสาหร่ายและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง เปรียบเทียบกับระบบอนุบาลลูกกุ้งที่มีการเติมสาหร่ายและโรติเฟอร์ที่ได้จากการเลี้ยงแบบแบตช์

3.6.1 การเพาะเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* sp. แบบต่อเนื่องเพื่ออนุบาลลูกกุ้ง

เนื่องจากลูกกุ้งวัยอ่อนระยะซูเอียกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร การทดลองอนุบาลลูกกุ้งจึงต้องจัดให้มีการสร้างระบบผลิตสาหร่ายจำพวกไดอะตอมสกุล *Chaetoceros* sp. โดยจัดให้เป็นระบบการเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* sp. แบบต่อเนื่อง ในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร ที่บรรจุอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายสูตรกิลลาร์ด F/2 ปริมาตร 1.6 ลิตร ความเข้มแสงประมาณ 1,000-1,500 ลักซ์ โดยใช้อัตราการเจือจางที่ประมาณ 0.6-0.7 ต่อวัน เพื่อผลิตสาหร่ายสำหรับนำไปใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำในระยะซูเอียถึงไมซิส การจัดให้มีสภาวะการเลี้ยงแบบต่อเนื่องทำโดยใช้เครื่องสูบน้ำแบบรีดสาย (Masterflex L/S) ในการสูบอาหารเพาะเชื้อเข้าสู่ระบบเลี้ยงสาหร่าย อาหารจะผสมเข้ากับไดอะตอมและล้นผ่านท่อกลาง ดังแสดงในภาพที่ 3-7

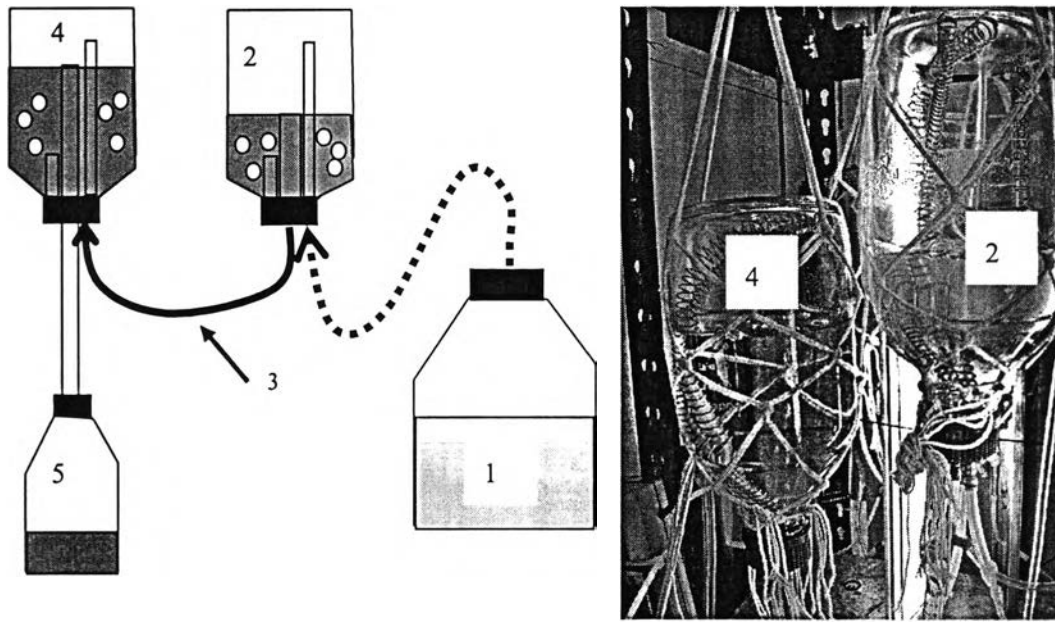


ภาพที่ 3-7 ระบบการเลี้ยง *Chaetoceros* sp. แบบต่อเนื่อง (1) ท่อพ่นอากาศ (2) ท่อนำอาหารเพาะเชื้อใหม่เข้าสู่ขวดเลี้ยง (3) ท่อนำเซลล์และอาหารเพาะเชื้อออกจากขวดเลี้ยง

3.6.2 การเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องเพื่อใช้อนุบาลลูกกุ้ง

ระบบเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องประกอบด้วยขวดเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสและขวดเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง ทำจากขวดแก้วปริมาตร 2 ลิตร จัดวางให้ฝาขวดอยู่ด้านล่าง และมีการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันทั้งระบบ ดังแสดงในภาพที่ 3-8 โดยปริมาตรและอัตราการเจือจางของระบบผลิตสาหร่ายและโรติเฟอร์แสดงในตารางที่ 3.4 และในการศึกษาครั้งนี้ได้ปรับตั้งอัตราการไหลของ

น้ำคงที่ตลอดการทดลอง การทดลองทำในสภาวะการเลี้ยงในห้องที่ไม่ควบคุมอุณหภูมิเช่นเดียวกับการเลี้ยงสาหร่ายในหัวข้อ 3.7.1



ภาพที่ 3-8 ระบบการเลี้ยงสาหร่าย เตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ (*B. plicatilis*) แบบต่อเนื่องในขวดแก้ว (1) ขวดเก็บอาหารเพาะเชื้อสาหร่าย (2) ขวดเลี้ยงสาหร่าย (3) สายยางเชื่อมเพื่อนำสาหร่ายมาเติมในขวดโรติเฟอร์ (4) ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์ (5) ขวดเก็บผลผลิตโรติเฟอร์ หากมีการเลี้ยงกุ้งจะปล่อยโรติเฟอร์ที่ผลิตได้นี้ลงสู่ถังเลี้ยงลูกกุ้งโดยตรง

ตารางที่ 3-5 ปริมาตรและอัตราการเจือจางของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ในแต่ละชุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	ปริมาตรระบบสาหร่าย (มิลลิลิตร)	อัตราการเจือจางของสาหร่าย (ต่อวัน)	ปริมาตรระบบโรติเฟอร์ (มิลลิลิตร)	อัตราการเจือจางของโรติเฟอร์ (ต่อวัน)
1	800	1.11	1600	0.55
2	800	1.03	1600	0.52
3	1100	0.88	1600	0.61
4	1100	0.93	1600	0.64

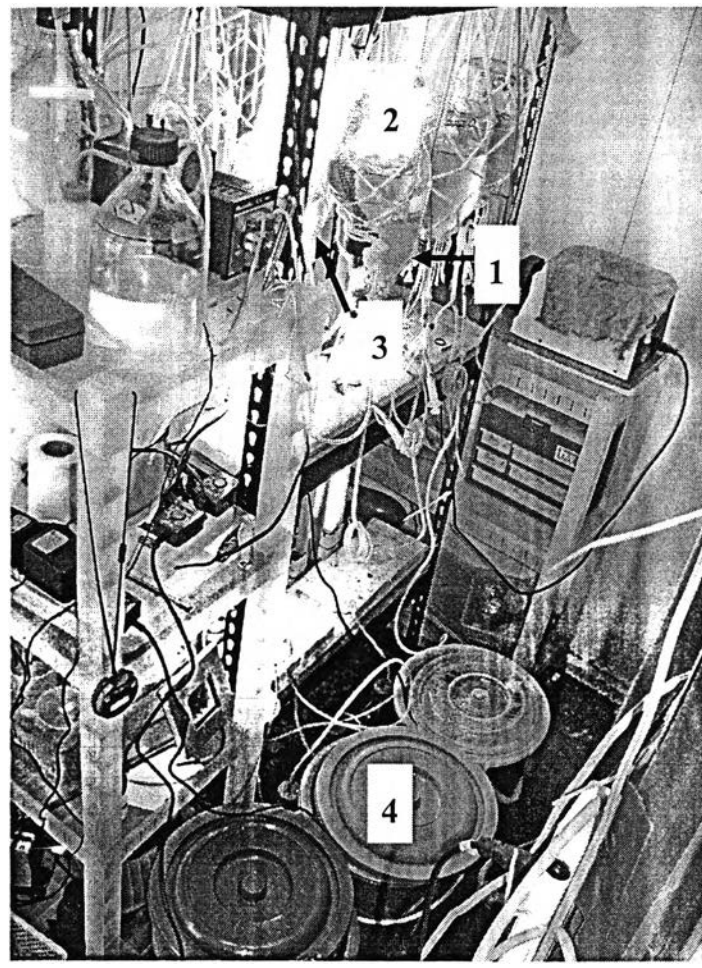
3.6.3 การอนุบาลลูกกุ้ง

ทำการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะนอเพลียสจนถึงระยะโพสลาวาที่ 1 โดยทำการอนุบาลลูกกุ้งในถังพลาสติกที่มีน้ำทะเลปริมาตร 13 ลิตร ความเค็ม 30 พีเอสยู อุณหภูมิน้ำประมาณ 29-32 องศาเซลเซียส ค่าอัลคาไลนิตี้ประมาณ 120–130 ซึ่งควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ด้วยแท่งทำความร้อน (heater) การทดลองอนุบาลลูกกุ้งโดยแบ่งเป็น 2 ชุดได้แก่ ชุดควบคุมซึ่งเป็นการอนุบาลลูกกุ้งโดยให้ *Chaetoceros* sp. ความหนาแน่นประมาณ $1x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และโรติเฟอร์จากระบบการเลี้ยงแบบแบตช์ที่มีความหนาแน่นประมาณ 200-300 ตัวต่อมิลลิลิตร ให้อาหาร 2 เวลาเช้าและเย็นมื้อละ 1 ลิตร และชุดทดลองเป็นการอนุบาลลูกกุ้งโดยใช้ *Chaetoceros* sp. และโรติเฟอร์จากระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยเติม *Chaetoceros* sp. และโรติเฟอร์ที่ผลิตได้ลงสู่ถังอนุบาลลูกกุ้งโดยตรง ทำการทดลองอนุบาลลูกกุ้งจำนวน 2 รอบ ความหนาแน่นของกุ้งระยะนอเพลียสของการทดลองรอบที่ 1 และ 2 แสดงในตารางที่ 3-5

ตารางที่ 3-5 ความหนาแน่นของลูกกุ้งระยะนอเพลียสในการทดลองอนุบาลลูกกุ้งรอบที่ 1 และรอบที่ 2 การทดลองแบ่งเป็นชุดควบคุม (C) ที่มีการเติมสาหร่ายและโรติเฟอร์เป็นมื้อ และชุดทดลอง (T) ซึ่งมีการเติมสาหร่ายและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง

ชุดการทดลอง	ความหนาแน่นของลูกกุ้งระยะนอเพลียส (ตัว/ลิตร)	
	การทดลองรอบที่ 1	การทดลองรอบที่ 2
ชุดควบคุมที่ 1(C_1)	160	150
ชุดควบคุมที่ 2(C_2)	140	170
ชุดทดลองที่ 1(T_1)	130	150
ชุดทดลองที่ 2(T_2)	160	170

การให้อาหารลูกกุ้งจะเริ่มให้อาหารเมื่อลูกกุ้งเข้าสู่ระยะซูเอีย(zoea) โดยให้ไดอะตอม *Chaetoceros* sp. เป็นอาหาร เมื่อลูกกุ้งเข้าสู่ระยะไมซิส (mysis) เริ่มให้โรติเฟอร์จนลูกกุ้งเข้าสู่ระยะโพสลาวาที่ 1 ทำการติดตามอาหารในถังอนุบาลลูกกุ้งและทำการตรวจนับอัตราการรอดของลูกกุ้งเปลี่ยนระยะจากระยะซูเอียเข้าสู่ระยะไมซิส และจากระยะไมซิสเข้าสู่ระยะโพสลาวาที่ 1



ภาพที่ 3-9 ชุดทดลองการอนุบาลลูกกุ้งโดยระบบผลิตสาหร่ายและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง (1) ขวดเลี้ยงสาหร่าย *Chaetoceros* แบบต่อเนื่อง, (2) ขวดเลี้ยงสาหร่าย *Tetraselmis* แบบต่อเนื่อง, (3) ขวดเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง, (4) ถังเลี้ยงลูกกุ้ง

3.6.4 การจัดการด้านคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดปริมาณ แอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรตจากถังอนุบาลลูกกุ้งทุกวัน โดยใช้วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำทะเล (Strickland และ Parson, 1972) ในการเก็บตัวอย่างน้ำทำการเก็บก่อนการเติมอาหารในแต่ละวัน ในระยะนอเพลียสถึงระยะซูเอียจะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยนำน้ำในถังเลี้ยงส่วนหนึ่งออกในปริมาตรเท่ากับปริมาณอาหาร (*Chaetoceros* sp.และโรติเฟอร์) ที่เติมลงไปในแต่ละวัน เมื่อลูกกุ้งเข้าสู่ระยะไมซิสจึงเริ่มทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณร้อยละ 20 ต่อวัน