สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

วิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาอัตราการเติบโตจำเพาะจากการเพาะเลี้ยงแบบแบตช์มีความจำเป็นสำหรับการนำมาใช้กับระบบการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง เนื่องจากอัตราการเติบโตจำเพาะจะเป็นตัวกำหนดอัตราการเจือจางที่จะใช้เมื่อทำการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยผลการทดลองพบว่าการเติบโตของสาหร่าย *Tetraselmis suecica* ในการเลี้ยงแบบแบตช์มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.97 ต่อวัน ซึ่งเมื่อนำมาทำการเลี้ยงแบบต่อเนื่องจึงได้ปรับตั้งอัตราการเจือจางระหว่าง 0.38 และ 0.93 ต่อวันในการทดลองหัวข้อ 4.1.2 พบว่าสามารถทำการเลี้ยงได้ผลดี เนื่องจากอัตราการเจือจางที่เลือกใช้ยังคงต่ำกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด และเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางทำให้ความหนาแน่นเซลล์ที่เติบโตแบบต่อเนื่องมีค่าลดลง แสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายเตตราเซลมิส มีแนวโน้มจะลดลงเมื่ออัตราการเจือจางเพิ่มขึ้น (Palmer และคณะ, 1975) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสแบบต่อเนื่องได้ในค่าอัตราการเจือจางสูงกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของการเลี้ยงแบบแบตช์ได้ ทั้งนี้เป็นเพราะการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในที่นี้ไม่มีข้อจำกัดเรื่องสารอาหาร ทำให้รูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและความหนาแน่นเซลล์ไม่เป็นไปตามทฤษฎี โดยความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นจริงพบว่าความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่ายเตตราเซลมิสในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องจะลดลงเป็นสัดส่วนกับการเพิ่มอัตราการเจือจาง ลักษณะความสัมพันธ์แบบนี้เรียกว่าเป็นการเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่ไม่ใช่คีโมแสตท (Non-chemostat Continuous Culture) (Wang และคณะ, 1979) ซึ่งรูปแบบดังกล่าวนี้เป็นสิ่งที่น่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ผลการทดลองในหัวข้อ 4.1 แสดงให้เห็นว่าการเติบโตของโรติเฟอร์จะถูกจำกัดด้วยปริมาณอาหารซึ่งก็คือปริมาณสาหร่ายในน้ำ อัตราการเติบโตจำเพาะของการเลี้ยงโรติเฟอร์แบบแบตช์ในการศึกษานี้เท่ากับ 0.54 ต่อวัน ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Hotos (2003) ที่ศึกษาการเติบโตของโรติเฟอร์ *B. plicatilis* ในการเลี้ยงแบบแบตช์โดยใช้สาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. และพบว่าโรติเฟอร์มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.61 ต่อวัน ในขณะที่การเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วยสาหร่ายสีเขียว *Asteromonas* sp. ที่มีขนาด 16-22 ไมโครเมตร โรติเฟอร์มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่า 0.79 ต่อวัน และเมื่อทำการเติมสาหร่ายเพิ่มลงในขวดเลี้ยงโรติเฟอร์ทุกวัน จะทำให้โรติเฟอร์สามารถเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นได้อีก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวันที่ 11 ถึง 12 ของการศึกษา โรติเฟอร์มีการเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดถึง 2.85 ต่อวัน เนื่องจากปัจจัยที่สำคัญ

คือปริมาณอาหารมีอย่างเกินพอ เพราะมีการเติมอาหารคือสาหร่ายเตตราเซลมิสเข้าสู่ระบบเลี้ยงตลอดเวลา

ในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องโดยใช้อัตราการเจือจางเริ่มต้นที่ 0.90 ต่อวัน ซึ่งใกล้เคียงกับอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้จากการเลี้ยงแบบแบตช์ พบว่าโรติเฟอร์มีความหนาแน่นประมาณ 50 ตัวต่อมิลลิลิตร และมีสาหร่ายเตตราเซลมิสในระบบโรติเฟอร์ประมาณ 55×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องนี้สามารถผลิตสาหร่ายได้เพียงพอต่อความต้องการของโรติเฟอร์ และเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 2.17 ต่อวัน โรติเฟอร์มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นเป็น 256.5±310.2 ตัวต่อมิลลิลิตร ความหนาแน่นของสาหร่ายเตตราเซลมิสในระบบลดลงเนื่องจากโรติเฟอร์ที่เพิ่มจำนวนขึ้น อย่างไรก็ตาม พบว่าปริมาณผลผลิตของโรติเฟอร์ที่ได้จากระบบเพาะเลี้ยงมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง เนื่องจากระบบที่ใช้มีขนาดเล็กการควบคุมการไหลของปั๊มน้ำรีดสายจึงทำได้ยากทำให้เกิดการแปรผันของค่าอัตราการเจือจางค่อนข้างสูง แต่อย่างไรก็ตามระบบสามารถเลี้ยงโรติเฟอร์ได้นานถึง 47 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งการเติบโตของสาหร่ายและโรติเฟอร์ในระบบเลี้ยงที่ใช้ในการทดลองเป็นไปตามรูปแบบของระบบต่อเนื่อง ซึ่งเซลล์มีการเติบโตในระยะทวีคูณตลอดเวลา และความเข้มข้นของสารอาหาร (ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ฯลฯ ในกรณีของสาหร่าย และปริมาณสาหร่ายในกรณีของโรติเฟอร์) เป็นปัจจัยที่จำกัดอัตราการเติบโต ซึ่งในสภาวะดังกล่าวความหนาแน่นเซลล์จะแปรผกผันกับอัตราการเจือจาง (Bailey และ Oillis, 1986)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง เริ่มจากการศึกษาสัดส่วนของปริมาตรในระบบสาหร่ายเตตราเซลมิส (A) และโรติเฟอร์ (R) ที่ต่างกัน เพื่อหาสัดส่วนของปริมาตร A:R ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง พบว่าความหนาแน่นของสาหร่ายเตตราเซลมิสที่เลี้ยงด้วยสัดส่วน A:R เท่ากับ 2:1 และ 1:1 มีค่าใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากอัตราการเจือจางของขวดเลี้ยงสาหร่ายที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันคือ 0.61 และ 0.5 ต่อวัน ตามลำดับ โดยมีความหนาแน่นของสาหร่ายเตตราเซลมิสสูงกว่าระบบเพาะเลี้ยงที่ใช้อัตราส่วน A:R เท่ากับ 1:2 ซึ่งในขวดดังกล่าวมีอัตราการเจือจางสูงกว่าคือ 1.6 ต่อวัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการแปรผกผันระหว่างอัตราการเจือจางกับความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย (Bailey และ Oillis, 1986)

จากการที่ระบบเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสที่มีสัดส่วน A:R เท่ากับ 2:1 และ 1:1 สามารถผลิตสาหร่ายเตตราเซลมิสได้มากกว่า ซึ่งส่งผลให้ความหนาแน่นสาหร่ายเตตราเซลมิสในระบบโรติเฟอร์ของทั้ง 2 ชุด มีค่าสูงตามไปด้วย ในขณะที่โรติเฟอร์ที่เลี้ยงในชุดทดลองที่มีอัตราส่วน A:R เท่ากับ 1:2 ซึ่งมีความหนาแน่นของสาหร่ายเตตราเซลมิสน้อย กลับให้ปริมาณโรติเฟอร์ที่สูงกว่าสัดส่วน 2:1 และ 1:1 แสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของสาหร่ายเตตราเซลมิสในขวดเลี้ยงโรติเฟอร์มีผลต่อการเติบโตของโรติเฟอร์ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ทั้งนี้หากปริมาณสาหร่ายน้อย

เกินไปจะทำให้อาหารเป็นปัจจัยที่จำกัดการเติบโตของโรติเฟอร์ แต่ในทางกลับกันหากปริมาณอาหารมีมากเกินไปก็อาจยับยั้งการเติบโตของโรติเฟอร์ได้เช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ James และ Abu-Rezq (1988) ที่ได้ศึกษาผลของความหนาแน่นของสาหร่ายสีเขียว *Chlorella capsulata* ต่อการเติบโตของโรติเฟอร์ *B. plicatilis* พบว่าหากความหนาแน่นของสาหร่ายเพิ่มขึ้น โรติเฟอร์ก็มีการเติบโตเพิ่มขึ้นเช่นกัน และประเด็นสำคัญพบว่าการเติบโตของโรติเฟอร์มีแนวโน้มลดลงเมื่อความหนาแน่นของสาหร่าย *C. capsulate* สูงกว่า $10x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร นอกจากความเหมาะสมของปริมาณอาหารที่ได้แล้ว พบว่าการใช้สัดส่วน 1:2 ให้ผลผลิตสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์สูงกว่าการเลี้ยงโดยใช้สัดส่วนอื่น ซึ่งแสดงในตารางที่ 5-1 จึงได้นำอัตราส่วนดังกล่าวไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

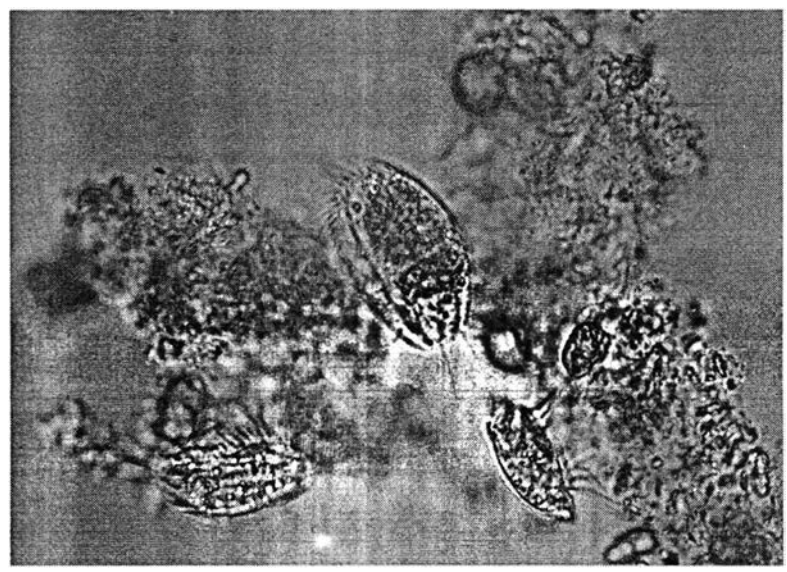
ตารางที่ 5-1 ผลผลิตของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์ในแต่ละชุดทดลองที่มีอัตราส่วนของสาหร่าย (A) และโรติเฟอร์ (R) ต่างกัน

ระบบเลี้ยง	ผลผลิตในชุดทดลองที่1 (A:R = 2:1)	ผลผลิตในชุดทดลองที่2 (A:R = 1:1)	ผลผลิตในชุดทดลองที่1 (A:R = 1:2)
สาหร่ายเตตราเซลมิส ($x10^4$เซลล์/ลิตร/วัน)	99,003	100,780	206,544
โรติเฟอร์(ตัว/ลิตร/วัน)	66,729	7,450	99,093

ในระหว่างการทดลองพบว่าการปนเปื้อนของโปรโตซัวในระบบเลี้ยงจะมีผลกระทบอย่างมากต่อการผลิตสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง และในการศึกษานี้มีหลายการทดลองที่พบการปนเปื้อนของโปรโตซัวจนกระทั่งต้องยุติและเริ่มการทดลองใหม่ ทั้งนี้การฆ่าเชื้อด้วยการพ่นโอโซนเข้าในขวด สายยาง และในน้ำทั้งระบบไม่เพียงพอต่อการควบคุมการปนเปื้อนทั้งหมด ในการทดลองตั้งแต่หัวข้อ 4.3 เป็นต้นไป จึงต้องใช้การพ่นโอโซนในขวดพลาสติกและสายยาง ร่วมกับการฆ่าเชื้อในน้ำทะเลทั้งหมดด้วยวิธีนึ่งความดัน ซึ่งก็สามารถป้องกันการปนเปื้อนอย่างได้ผล ส่วนการทดลองที่เลี้ยงโรติเฟอร์เพื่อเป็นอาหารลูกกุ้ง ได้เปลี่ยนมาใช้ขวดแก้วทั้งในขวดเลี้ยงและขวดเก็บน้ำทะเลซึ่งสามารถทำการนึ่งฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด จึงไม่พบการปนเปื้อนตลอดระยะเวลาการทดลอง ซึ่งปัญหาการปนเปื้อนนี้เป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงเป็นอย่างมากในการออกแบบระบบเลี้ยงโรติเฟอร์ขนาดใหญ่ที่ไม่สามารถทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีนึ่งความดันได้

การศึกษาของ Cheng และคณะ (2004) พบว่าโปรโตซัวในกลุ่ม *Euplotes* สามารถเติบโตได้ในการเลี้ยงโรติเฟอร์ที่ใช้ *Tetraselmis tetrathele* เป็นอาหาร ในขณะที่การใช้ *Nannochloropsis*

oculata เป็นอาหารจะไม่พบการปนเปื้อนของโปรโตซัวในกลุ่มดังกล่าว และการปนเปื้อนของโปรโตซัวในการทดลองนี้มีผลกระทบโดยตรงต่อการเติบโตของสาหร่ายเตตราเซลมิสเนื่องจากโปรโตซัวสามารถกินสาหร่ายเตตราเซลมิสเป็นอาหารได้ โดยสามารถเห็นเซลล์ของสาหร่ายเป็นสีเขียวอยู่ภายในตัวของโปรโตซัวได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในภาพที่ 5-1



ภาพที่ 5-1 โปรโตซัวที่ปนเปื้อนในระบบเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิส และโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องในงานวิจัยนี้

ผลจากการทดลองนี้พบว่าอัตราการเจือจางที่เหมาะสมในการเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องอยู่ในช่วง 0.4 ถึง 1.7 ต่อวัน โดยความหนาแน่นและผลผลิตของโรติเฟอร์ที่อัตราการเจือจางระดับต่างๆ แสดงในตารางที่ 5-3 อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนของโปรโตซัวในบางครั้งก็ไม่ได้มีผลกระทบต่อความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายเตตราเซลมิสและอัตราผลผลิตสาหร่ายเตตราเซลมิสมากนักโดยข้อมูลในตารางที่ 5-2 และ 5-3 แสดงให้เห็นว่าแม้ว่าจะมีการปนเปื้อนของโปรโตซัว แต่ระบบผลิตสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องก็ยังคงทำงานได้

ตารางที่ 5-2 ความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายและอัตราผลผลิตของสาหร่ายที่อัตราการเจือจางระดับต่างๆ

อัตราเจือจาง (/วัน)	ความหนาแน่น ($x10^4$ เซลล์/มล.)	อัตราผลผลิต (x104 เซลล์/ลิตร/วัน)	การปนเปื้อนโปรโตซัว
0.37	107.76	38,871	พบ
0.79	49.1	38,789	
0.81	73.38	59,437	พบ
0.94	116.24	109,265	
1.04	62.29	64,781	พบ
1.66	38.68	64,208	พบ
1.73	58.52	101,239	
1.74	19.43	33,808	
2.04	45.56	92,942	พบ
3.27	6.65	21,745	พบ
3.33	32.27	107,459	

ตารางที่ 5-3 ความหนาแน่นและอัตราผลผลิตของโรติเฟอร์ที่อัตราการเจือจางระดับต่างๆ

อัตราเจือจาง (/วัน)	ความหนาแน่น (ตัว/มล.)	อัตราผลผลิต (ตัว/ลิตร/วัน)	การปนเปื้อนโปรโตซัว
0.25	19.72	7,930	พบ
0.41	439.37	180,141	
0.42	3.11	1,306	พบ
0.44	56.05	24,662	
0.7	458.89	321,223	พบ
0.74	311.85	230,769	
0.97	44.26	42,932	
1.05	129	135,450	พบ
1.11	449.26	498,678	พบ
1.43	81.76	116,916	
1.68	110.99	186,463	พบ

การนำผลที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 4.3 มาทำซ้ำโดยการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องในชุดถังปฏิกรณ์จำนวน 6 ซ้ำ และเลือกใช้อัตราการเจือจางของสาหร่ายและโรติเฟอร์เท่ากับ 0.93 และ 0.54 ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราการเจือจางที่ใกล้เคียงกับอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้จากการเลี้ยงแบบแบตช์และเป็นอัตราการเจือจางที่ให้ความหนาแน่นและผลผลิตสูงจากการศึกษาข้างต้น พบว่าสามารถทำการเลี้ยงได้ผลดี ได้ผลผลิตที่ค่อนข้างคงที่และไม่พบการปนเปื้อนของโปรโตซัว ซึ่งอัตราการเจือจางที่เลือกใช้นี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jame และ Abu-Rezq (1989) ซึ่งพบว่าโรติเฟอร์ขนาดใหญ่ (L-type) ให้ผลผลิตสูงสุดในการเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.5 ต่อวัน

ผลการทดลองส่วนใหญ่จะพบว่าความหนาแน่นของโรติเฟอร์ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องมีค่าไม่คงที่ ทั้งนี้ปัจจัยที่น่าจะมีบทบาทมากก็คือปริมาณสาหร่ายที่ไม่คงที่ ทำให้เกิดการขาดอาหารได้ในบางช่วงส่งผลให้ความหนาแน่นของโรติเฟอร์เกิดการแปรปรวนได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเลี้ยงที่อัตราการเจือจางต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องด้วยระบบเทอบิโดแสตท (turbidostat system) ที่สามารถควบคุมสาหร่ายในระบบโรติเฟอร์ให้คงที่ได้โดยเครื่องควบคุมอัตโนมัติ ทำให้โรติเฟอร์มีอาหารเพียงพอตลอดเวลา (Walz และคณะ, 1997) อย่างไรก็ตามแม้ว่าการเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องด้วยระบบเทอบิโดแสตทนั้นจึงมีประสิทธิภาพสูงกว่า แต่ระบบการเลี้ยงแบบคีโมแสตท (chemostat system) ที่ใช้ในการทดลองนี้มีการจัดการง่ายกว่าและการลงทุนน้อยกว่า ถึงแม้ว่าความคงที่ของผลผลิตโรติเฟอร์อาจไม่ดีเท่ากับระบบเทอบิโตแสตทก็ตาม จากการศึกษาการเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วยอัตราการเจือจางที่คงที่ในการศึกษานี้ สามารถเลี้ยงโรติเฟอร์ได้นาน 25 วัน และยังคงมีโรติเฟอร์เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานต่อได้เป็นอย่างดี

จากการตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียในระหว่างการเลี้ยงโรติเฟอร์ พบว่าการเลี้ยงโรติเฟอร์ที่มีความหนาแน่นประมาณ 800 ตัวต่อมิลลิลิตร (จากการทดลองในหัวข้อ 4.2) ทำให้ปริมาณแอมโมเนียมีค่าสูงประมาณ 5 mg NH_4-N/L ซึ่งเป็นแอมโมเนียที่จัดว่าเป็นอันตราย โดย Schluter และ Groeneweg (1985) ได้รายงานไว้ว่าปริมาณแอมโมเนียที่ยับยั้งการเติบโตของโรติเฟอร์ *Brachionus ruben* อยู่ระหว่าง 3-5 mg NH_4-N/L โดยจะทำให้อัตราการสืบพันธุ์ลดลง แต่เมื่อปริมาณแอมโมเนียสูงเกิน 5 mg NH_4-N/L โรติเฟอร์จะตายภายใน 2 วัน .ในขณะที่ *B. plicatilis* สามารถทนค่าแอมโมเนียได้สูงถึง 17 mg NH_4-N/L (Yu และ Hirashima, 1986 อ้างโดย Park และคณะ, 2001)

นอกจากการเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องนอกจากสามารถให้ผลผลิตที่สูงกว่าการเลี้ยงแบบแบตช์แล้ว การเพาะเลี้ยงด้วยระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องยังลดพื้นที่และเวลาในการทำงาน ด้วยข้อดีของระบบการผลิตสาหร่ายและโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องที่กล่าวในข้างต้นมีประโยชน์อย่างยิ่งในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ โดยสามารถสร้างระบบการให้อาหารอัตโนมัติ

(Palmer และคณะ, 1975) ในการวิจัยนี้จึงได้นำระบบผลิตโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องมาทดลองใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ ทั้งนี้เนื่องจากในอดีตการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งนิยมใช้โรติเฟอร์เป็นอาหารมีชีวิต แต่ในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ได้เปลี่ยนมาใช้อาร์ทีเมียระยะนอเพลียสเพราะหาซื้อได้ง่ายและไม่จำเป็นต้องมีระบบการดูแลรักษาหัวเชื้อ แต่จากปัญหาการปนเปื้อนของไวรัสและแบคทีเรียในอาร์ทีเมียทำให้การเพาะเลี้ยงลูกกุ้งไม่สามารถควบคุมให้ปลอดโรคได้ ระบบการผลิตโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องจึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้เกษตรกรสามารถผลิตโรติเฟอร์ขึ้นใช้ได้เองและลดภาระในการดูแลรักษาหัวเชื้อ

ในการศึกษาครั้งนี้ในชุดทดลองทำการอนุบาลลูกกุ้งในระยะซูเอียด้วยไดอะตอม *Chaetoceos* sp. ที่ผลิตจากระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ด้วยอัตราการเจือจาง 0.5-0.6 ต่อวัน ซึ่งเป็นอัตราการเจือจางที่เหมาะสมต่อการเติบโตของไดอะตอม (Wen และ Chen, 2001) ทั้งนี้การใช้ *Chaetoceos calcitrans* เป็นอาหารอนุบาลลูกกุ้งในระยะซูเอียจะทำให้ปริมาณแอมโมเนียต่ำและอัตรารอดสูงกว่าการให้สาหร่ายชนิดอื่น (ทวี จินดามัยกุล, 2533) ผลการทดลองอนุบาลลูกกุ้งพบว่าอัตรารอดตายของลูกกุ้งระยะซูเอียถึงไมซีสในชุดควบคุมและชุดทดลองไม่แตกต่างกัน รวมทั้งจากการตรวจวัดปริมาณอาหารในถังอนุบาลลูกกุ้งพบว่ามีปริมาณไดอะตอมเพียงพอในทั้ง 2 ชุดทดลอง ส่วนการอนุบาลลูกกุ้งในระยะไมซีสถึงโพสลาวาที่ 1 โดยใช้โรติเฟอร์เป็นอาหาร ในการอนุบาลลูกกุ้งรอบที่ 1 การใช้อัตราส่วนของสาหร่ายเตตราเซลมิสและโรติเฟอร์เท่ากับ 1:2 ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 3.4 มาทำการเลี้ยงในโรงเรือนที่อุณหภูมิสูงประมาณ 24-34 องศาเซลเซียส พบว่าสาหร่ายเตตราเซลมิสที่ผลิตได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรติเฟอร์ สาเหตุหนึ่งก็อาจเนื่องจากอุณหภูมิในห้องทดลองมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของสาหร่ายชนิดนี้ที่อยู่ในช่วง 19-21 องศาเซลเซียส และสูงสุดไม่เกิน 27 องศาเซลเซียส (Abu-Rezq และคณะ, 1999) ในการทดลองอนุบาลลูกกุ้งรอบที่สองจึงทำการเพิ่มปริมาตรของสาหร่ายเตตราเซลมิสขึ้นเป็น 1,100 มิลลิลิตร พบว่าทำให้ความหนาแน่นของโรติเฟอร์เพิ่มขึ้น เมื่อนำระบบการเลี้ยงโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องมาอนุบาลลูกกุ้ง ซึ่งเป็นการให้อาหารแบบต่อเนื่องโดยอัตโนมัติเปรียบเทียบกับการให้อาหารจากการเลี้ยงแบบแบตช์ที่ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือเวลาเช้ากับเย็นพบว่าในชุดควบคุมที่ให้อาหารจากการเลี้ยงแบบแบตช์จะพบการขาดโรติเฟอร์ในช่วงเช้าก่อนการให้อาหาร ในขณะที่ชุดทดลองที่มีการเติมโรติเฟอร์จากระบบผลิตแบบต่อเนื่องจะไม่พบการขาดโรติเฟอร์ในถังเลี้ยงลูกกุ้งเลยตลอดการทดลอง และอัตรารอดของลูกกุ้งในระยะโพสลาวาที่ 1 ในชุดทดลองและชุดควบคุมไม่แตกต่างกัน ซึ่งนับว่าเป็นการประสบความสำเร็จที่น่าพอใจ ทั้งนี้การใช้ระบบการให้อาหารแบบอัตโนมัติอนุบาลลูกกุ้งนั้น สามารถลดความต้องการแรงงานในการดูแลระบบอนุบาลลูกกุ้งลงได้มาก (ตารางที่ 5-4) รวมทั้งสามารถให้อาหารกับลูกกุ้งได้ตลอดเวลาไม่ว่าจะเป็นกลางวันหรือกลางคืน ซึ่งการพัฒนาระบบอาหารลูกปลาแบบอัตโนมัติของ Papandroulakis และคณะ (2002) และ Rabe และ

(2000) ก็ได้ผลไม่แตกต่างจากการให้อาหารเป็นเวลา แต่จะช่วยประหยัดค่าแรงงานได้มาก และช่วยลดความผิดพลาดของผู้เลี้ยงได้มากเช่นกัน

ตารางที่ 5-4 เปรียบเทียบการอนุบาลลูกกุ้งโดยใช้ระบบการอนุบาลลูกกุ้งโดยการให้อาหารจากระบบการเลี้ยงแบบแบตช์กับการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

	อาหารจากการเลี้ยงแบบแบตช์	อาหารจากการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง
1. การเตรียมหัวเชื้อ	ทุกๆ 3 วัน	ครั้งเดียวตอนเริ่มต้น
2. การให้อาหาร	ทุกๆ 4 ถึง 6ชั่วโมง	ให้อาหารอย่างต่อเนื่อง
3. การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย	ทุก 3 วัน	ครั้งเดียวตอนเริ่มต้น
4. การเตรียมภาชนะ	ทุก 3 วัน	ครั้งเดียวตอนเริ่มต้น

ในการศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำได้ทำการควบคุมอุณหภูมิอยู่ในช่วง 29-32 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เพราะอุณหภูมิมีผลต่อการเติบโตของลูกกุ้ง ซึ่งทวี จินดามัยกุล (2533) พบว่าการควบคุมอุณหภูมิทำให้ลูกกุ้งใช้เวลาในการพัฒนาจากระยะซูเอียถึงไมซีสเพียง 3-4 วัน ในขณะที่การไม่ควบคุมอุณหภูมิลูกกุ้งจะใช้เวลาในการพัฒนาจากระยะซูเอียสู่ระยะไมซีส 4-5 วัน

การอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำในการศึกษานี้พบการสะสมของแอมโมเนีย ไนไตรต์และไนเตรตเพิ่มขึ้น ตามระยะพัฒนาการของลูกกุ้ง เนื่องจากการขับถ่ายของของเสียที่เพิ่มมากขึ้นและสะสมอยู่ในถังเลี้ยง โดยกลไกความเป็นพิษของแอมโมเนีย Hampson (1976) อ้างโดยสุพิศ ทองรอด และคณะ (2542) แอมโมเนียที่อยู่ในน้ำจะขัดขวางการนำแอมโมเนียออกจากร่างกาย จึงเป็นเหตุให้ความเข้มข้นของแอมโมเนียในร่างกายเพิ่มสูงกว่าปกติ จึงมีผลขัดขวางกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารประกอบไนโตรเจนและเกิดคดความผิดปกติอื่นๆ ในร่างกาย ส่วนความเป็นพิษของไนไตรต์พบว่าเมื่อสัตว์น้ำนำไนไตรต์เข้าสู่ร่างกาย จะรวมตัวกับสารประกอบของฮีโมโกลบินในร่างกายทำให้ฮีโมโกลบินไม่สามารถจับออกซิเจนได้ ทำให้เลือดของปลามีสีน้ำตาลจึงเรียกว่า Brown blood disease ซึ่งน่าจะเกิดในฮีโมไซยานินของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเซียนได้เช่นเดียวกัน (Lawson, 1995) โดยปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต มีค่าใกล้เคียงกันในชุดทดลองและในชุดควบคุม แต่ปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรต์และไนเตรตในการอนุบาลครั้งที่ 2 สูงกว่าครั้งที่ 1 เนื่องจากการในการอนุบาลลูกกุ้งครั้งที่ 2 มีอัตราการรอดสูงกว่า จากรายงานของ Chen และ Chin (1988) อ้างโดย สุพิศ ทองรอด และคณะ (2542) ปริมาณแอมโมเนียที่ปลอดภัยต่อลูกกุ้งกุลาดำคือ 1.15 mg NH_4-N/L ดังนั้นอัตราการรอดตายของลูกกุ้งในการศึกษานี้ที่มีค่าค่อนข้างต่ำ เชื่อว่าได้รับผลกระทบส่วนหนึ่ง

มาจากคุณภาพน้ำ ซึ่งหากจะต้องทำการอนุบาลลูกกุ้งในระบบปิดควรต้องมีการพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพน้ำควบคู่ไปด้วย

สรุปผลการทดลอง

1. การเติบโตของสาหร่าย *Tetaselmis suecica* ในระบบการเลี้ยงแบบแบตช์มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.97 ต่อวัน ซึ่งใกล้เคียงกับอัตราการเจือจางที่ให้ผลผลิตของสาหร่ายเตตราเซลมิสสูงสุดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

2. สาหร่ายเตตราเซลมิสมีความหนาแน่นเซลล์ลดลงเมื่ออัตราการเจือจางสูงขึ้น และเกิดการชะล้างเซลล์ออกจากระบบที่อัตราการเจือจางประมาณ 3.0 ต่อวัน

3. การเติบโตของโรติเฟอร์ที่เลี้ยงแบบต่อเนื่องในงานวิจัยนี้ยังคงมีความแปรปรวนมาก ทำให้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของโรติเฟอร์กับอัตราการเจือจาง และอัตราการเจือจางที่สามารถเลี้ยงโรติเฟอร์ให้ได้อัตราผลผลิตสูงอยู่ในช่วง 0.4 ถึง 1.7 ต่อวัน ทั้งนี้การที่ผลผลิตของโรติเฟอร์ไม่คงที่ส่วนใหญ่จะเกิดจากสาหร่ายไม่เพียงพอ

4. การอนุบาลลูกกุ้งโดยมีการเติมอาหารมีชีวิตได้แก่ไดอะตอม *Chaetoceros* sp. และโรติเฟอร์แบบต่อเนื่อง ให้ผลอัตราการเติบโตและอัตรารอดของลูกกุ้งไม่แตกต่างจากการเติมไดอะตอมและโรติเฟอร์ที่ได้จากการเลี้ยงแบบแบตช์ และการเติมอาหารแบบต่อเนื่องช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการขาดแคลนอาหารในถังเลี้ยงลูกกุ้ง

5. ระบบการอนุบาลลูกกุ้งที่มีการให้อาหารแบบอัตโนมัติสามารถลดความต้องการแรงงานในการดูแลระบบอนุบาลในแต่ละวันลงได้มาก โดยเพิ่มความสะดวกต่อผู้เลี้ยงที่ไม่ต้องคอยดูแลรักษาหัวเชื้อ และช่วยให้มีสาหร่ายและโรติเฟอร์ที่เพียงพอตลอดเวลาที่ต้องการ

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตตราเซลมิส และโรติเฟอร์แบบต่อเนื่องในครั้งนี้ยังคงมีการพบปัญหาในการเลี้ยงค่อนข้างมาก เช่นการขาดสาหร่ายซึ่งเป็นอาหารของโรติเฟอร์ หรือการที่มีสาหร่ายสะสมมากเกิน ทำให้เกิดการยับยั้งการเติบโตของโรติเฟอร์นั้น จึงควรมีการศึกษาปัจจัยด้านอื่นๆ เพิ่มขึ้น และศึกษาหาวิธีการฆ่าเชื้อโปรโตซัวที่ปนเปื้อนเข้ามาในระบบและส่งผลต่อระบบสาหร่าย รวมทั้งการพัฒนาเทคนิคต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตของโรติเฟอร์และลดต้นทุนของระบบ เพื่อนำไปใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งและสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ