จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัยพัฒนาอาจารย์ใหม่/นักวิจัยใหม่ ปีที่ 1
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ 2558

รายงานผลการวิจัย

การศึกษาต้นแบบการเลี้ยงโคพีพอดเพื่อใช้เป็นอาหารมีชีวิตของสัตว์น้ำ

Study on copepod cultivation as life food source for aquaculture

โดย

พรเทพ พรรณรักษ์
สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ

มกราคม 2560

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนทุนโครงการวิจัยจากทุนพัฒนาอาจารย์ใหม่/นักวิจัยใหม่ กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ 2558 และขอขอบคุณท่าน รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ อาจารย์อาวุโสของโครงการ ที่คอยให้คำปรึกษาและคอยแนะนำวิธีการในการเลี้ยง ตลอดจนช่วยหาทางแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการเลี้ยงโคพีพอดให้แก่ข้าพเจ้าด้วย

ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการนิเวศวิทยาทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข จ.ชลบุรี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์หัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัยต่างๆ ขอขอบคุณผู้บริหารและเจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ ต้นสังกัดของผู้วิจัยที่ช่วยสนับสนุนอำนวยความสะดวกต่างๆ ในการวิจัยครั้งนี้

เอชหมู่
เอชทะเบียน 018129
วัน, เดือน, ปี 8 ก.พ. 62

โครงการวิจัย: การศึกษาต้นแบบการเลี้ยงโคพีพอดเพื่อใช้เป็นอาหารมีชีวิตของสัตว์น้ำ
ชื่อผู้วิจัย: ดร. พรเทพ พรรณรักษ์
ปี พ.ศ. : มีนาคม 2560

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการต่ออัตรารอดของคาลานอยด์โคพีพอดพบในบริเวณชายฝั่งด้านหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตฯ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี เพื่อเป็นต้นแบบในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงคาลานอยด์โคพีพอด ในเบื้องต้นพบคาลานอยด์โคพีพอด 5 สกุล คือ *Acartia* spp., *Acrocalanus* spp., *Calanopia* spp., *Pseudodiaptomus* spp. และ *Subeucalanus* spp. โดยในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาพบโคพีพอดสกุล *Acrocalanus* เป็นสกุลเด่นที่นำมาคัดแยกมาเพื่อทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติเพื่อหาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของโคพีพอด

การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการต่ออัตรารอดของคาลานอยด์โคพีพอดในระยะเวลา 4 วัน พบว่า โคพีพอดจะมีอัตราการรอดเฉลี่ยสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C (50.00±5.77%) และ 30 °C (23.33±8.82%) แต่เลี้ยงโคพีพอดที่อุณหภูมิ 35 °C ทั้งหมดจะตายภายใน 6 ชั่วโมง ($p < 0.05$) คาลานอยด์โคพีพอดที่นำมาทดลองเลี้ยงมีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มค่อนข้างมาก โดยพบว่าโคพีพอดจะมีอัตรารอดสูงที่สุด (56.67±8.82%) เมื่อเลี้ยงในความเค็มของน้ำทะเลในธรรมชาติ (32-33 psu) แต่เมื่อเปลี่ยนแปลงความเค็มเป็น 20 และ 30 psu โคพีพอดจะมีอัตรารอดเฉลี่ยเท่ากับ 6.76±3.33% และ 3.33±3.33% ตามลำดับ ($p < 0.05$) ส่วนที่ความเค็ม 10 psu โคพีพอดทั้งหมดจะตายภายใน 48 ชั่วโมง ในขณะที่ความเค็ม 0 และ 40 psu พบว่า โคพีพอดทั้งหมดจะตายภายใน 1 ชั่วโมง ($p < 0.05$) อัตรารอดของโคพีพอดไม่มีความแตกต่างกันเมื่อทดลองให้สาหร่ายชนิดต่างๆ กันเป็นอาหาร โดยพบว่า *Isochrysis galbana* และ *Tetraselmis gracilis* ทำให้โคพีพอดมีอัตรารอดเท่ากันคือ 73.33±3.33% ในขณะที่เมื่อให้ *Chaetoceros calcitrans* โคพีพอดจะมีอัตรารอด 50.0±3.33% และเมื่อให้สาหร่ายรวมทั้ง 3 ชนิดรวมกันจะมีอัตรารอดเป็น 60.00±5.77% ส่วนโคพีพอดชุดควบคุมที่ไม่ให้อาหารจะมีอัตรารอดเท่ากับ 46.67±3.33%

คำสำคัญ: คาลานอยด์โคพีพอด, อุณหภูมิ, ความเค็ม, สาหร่ายขนาดเล็ก, การเลี้ยง

Project title: Study on copepod cultivation as life food source for aquaculture
Name: Dr. Porntep Punnarak
Year: March, 2017

Abstract

The effect of selected environmental parameters on the survival rate of calanoid copepods was conducted in a laboratory scale at Sichang Marine Research and Training Station, Chonburi Province, Thailand. The copepod genus *Acrocalanus* was sorted form 5 genera of calanoid copepods found in coastal area of Sichang Island including genus *Acartia*, *Calanopia*, *Pseudodiaptomus* and *Subeucalanus*. This copepod genus was subsequently used for later experiments.

After 4 days, the higher survival rate was occurred in calanoid copepods reared at 25 °C (50.00±5.77%) and 30 °C (23.33±8.82%) while the copepod cannot reared at 35 °C which all of them was dead within 6 hours ($p < 0.05$). *Acrocalanus* spp. is susceptible for salinity changing which the highest survival rate of 56.67±8.82% was observed in natural seawater (salinity 32-33 psu) whiles lower survival rate of 6.76±3.33% and 3.33±3.33% were detected in copepods cultured in 20 and 30 psu seawater ($p < 0.05$). In contrast, all of them were dead within 48 hours when exposed to brackish water (salinity 10 psu) and all of them were dead within 1 hour when exposed to freshwater (0 psu) or hyper-saline seawater (40 psu) ($p < 0.05$). No significant difference among different diets. Copepods fed by *Isochrysis galbana* or *Tetraselmis gracilis* showed an equally survival rate of 73.33±3.33% higher than that of copepods fed with *Chaetoceros calcitrans* which showed the survival rate of 50.0±3.33%. In addition, copepods fed with mixed of 3 algae showed survival rate of 60.00±5.77% and the non feed group showed the survival rate of 46.67±3.33%.

Keywords: calanoid copepod, temperature, salinity, microalgae, cultivation

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	iii
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	iv
สารบัญ	v
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและเหตุผล	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตการดำเนินงาน	2
บทที่ 2 การสำรวจเอกสาร	3
2.1 โคพีพอด (Copepod)	3
2.2 คุณค่าทางอาหารของโคพีพอด	5
2.3 การเพาะเลี้ยงโคพีพอด	7
2.4 การใช้ประโยชน์จากโคพีพอดในการเป็นอาหารมีชีวิตในสัตว์น้ำ	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการศึกษา	12
3.1 การเก็บตัวอย่างและการคัดแยกโคพีพอด	12
3.2 การเลี้ยงโคพีพอดจนครบวงจรชีวิตและการเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ	13
3.3 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่ออัตรารอดของโคพีพอด	14
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	15
บทที่ 4 ผลการศึกษา	16
4.1 โคพีพอดที่นำมาใช้ทำการทดลอง	16
4.2 การศึกษาต้นแบบวิธีการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ	19
4.2.1 การเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อเพิ่มปริมาณ	19
4.2.2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงโคพีพอด	21
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	24
5.1 โคพีพอดที่นำมาใช้ในการทดลอง	24
5.2 การศึกษารูปแบบการเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ	24
เอกสารอ้างอิง	26

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและเหตุผล

โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนถาวรอยู่ในไฟลัม Arthopod อยู่ในกลุ่มเดียวกับแมลง กุ้ง กั้งและปู เป็นสัตว์ที่มีเปลือกแข็งหุ้ม มีระยางค์และลำตัวเป็นปล้องๆ โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีปริมาณมากที่สุดในโลก และโคพีพอดมีความหลากหลาย สามารถพบกระจายอยู่ในแหล่งน้ำทุกแห่งทั้งในน้ำจืด น้ำเค็มและแหล่งน้ำกร่อยชายฝั่ง โคพีพอดเป็นองค์ประกอบหลักของสายใยอาหารโดยเฉพาะในทะเล มีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยจะทำหน้าที่เป็นผู้บริโภคขั้นต้นของสายใยอาหารเนื่องจากโคพีพอด ส่วนใหญ่มักจะกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร แต่ก็มีบางกลุ่มที่กินสารอินทรีย์หรือตะกอนเป็นอาหาร ในขณะที่ตัวของโคพีพอดเองนั้นจะเป็นแหล่งอาหารชั้นดีของสัตว์น้ำที่มีขนาดใหญ่กว่าตั้งแต่กลุ่มกุ้ง หอย ปู ปลาไปจนถึงปลาวาฬ ทำให้โคพีพอดทำหน้าที่เป็นผู้ถ่ายทอดพลังงานจากผู้ผลิตไปยังกลุ่มผู้บริโภคลำดับที่สูงขึ้นไปในระบบนิเวศอีกด้วย โคพีพอดแบ่งออกเป็นหลายกลุ่มแต่ที่พบเป็นกลุ่มหลักๆ ในทะเลได้แก่ กลุ่มคาลานอยด์โคพีพอด (Calanoid copepod) กลุ่มไซโคลพอยด์โคพีพอด (Cyclopoid copepod) และกลุ่มฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod) ซึ่งสำหรับในอ่าวไทยนั้นจะพบกลุ่มไซโคลพอยด์และกลุ่มคาลานอยด์โคพีพอดเป็นกลุ่มเด่น

โคพีพอดจัดเป็นอาหารที่มีชีวิตที่มีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น อาร์ทีเมีย หรือ โรติเฟอร์ เป็นต้น มีรายงานว่าเมื่อให้อาหาร (สาหร่ายขนาดเล็ก) อย่างเหมาะสม จะทำให้มีโคพีพอดมีปริมาณของ Highly Unsaturated Fatty Acids (HUFA's), Docosahexaenoic Acid (DHA), Eicosapentaenoic Acid (EPA) และ Arachidonic Acid (ARA) ที่สูง เป็นแหล่งผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), แอสตราแซนทิน (astraxanthin) และยังมีวิตามินซีและวิตามินอีสูง นอกจากนี้โคพีพอดยังมีขนาดที่เล็กซึ่งเหมาะสมกับขนาดปากของลูกปลาหรือสัตว์น้ำวัยอ่อน และยังพบว่าพฤติกรรมการว่ายน้ำของโคพีพอดจะเป็นตัวกระตุ้นการกินอาหารของลูกปลาด้วย

สำหรับในต่างประเทศมีการเลี้ยงโคพีพอดเพื่อใช้สำหรับเป็นอาหารที่มีชีวิตของสัตว์น้ำกันอย่างแพร่หลายเช่น คาลานอยด์โคพีพอด *Acartia* sp., *Parvocalanus crassirostris*, *Pseudodiaptomus pelagicus*, *Acartia tonsa*, *Parvocalanus* sp., ไซโคลพอยด์โคพีพอด *Oithona rigida* และฮาร์แพคทิคอยโคพีพอด *Tisbe holothuriae*, *Tisbe* sp. และ *Nitokra lacustris* เป็นต้น สำหรับในประเทศไทยนั้นยังไม่ค่อยให้ความสนใจกับการเลี้ยงโคพีพอดมากนัก แต่ก็มีการศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร และคณะ ที่ศึกษาและได้ทำการเลี้ยงฮาร์แพคทิคอยโคพีพอดเพื่อใช้เป็นอาหารมีชีวิตสำหรับลูกสัตว์น้ำ เช่น ลูกกุ้ง และลูกปลาการ์ตูน เป็นต้น สำหรับการศึกษาเพื่อเพาะเลี้ยงโคพีพอดในกลุ่มอื่นๆ นั้นยังมีอยู่จำกัด ซึ่งการศึกษาครั้งนี้จะช่วยเพิ่มทางเลือกในการผลิตอาหารที่มีชีวิตสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป และอาจเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ด้วย เนื่องจากโคพีพอดจะถือเป็นตัวแทนของสิ่งมีชีวิตในสายใยอาหาร (trophic level) กลุ่มผู้บริโภคขั้นต้นอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่ออัตรารอดและการเติบโตของโคพีพอดในระดับห้องปฏิบัติการ
- เพื่อศึกษารูปแบบการเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการและแนวโน้มในการพัฒนาเพื่อการเลี้ยงในระดับมหมวล

1.3 ขอบเขตการดำเนินงาน

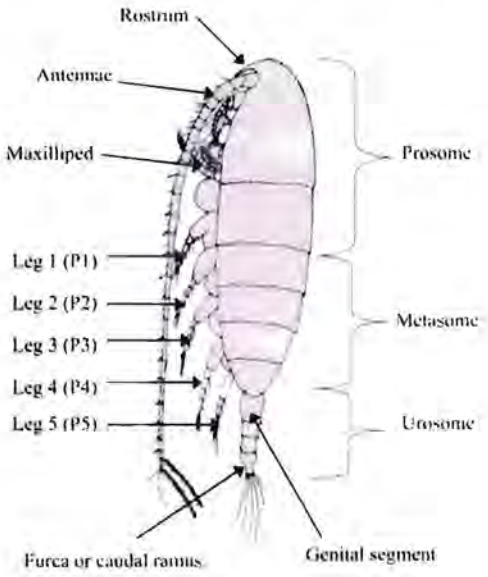
ศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการเติบโตและอัตรารอดของโคพีพอด เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม อาหาร ปริมาณแสง ฯลฯ ในระดับห้องปฏิบัติการ และพัฒนารูปแบบการเลี้ยงในห้องปฏิบัตการและศึกษาความเป็นไปได้ในการขยายปริมาณเพื่อการเลี้ยงในระดับมหมวล

บทที่ 2
การสำรวจเอกสาร

2.1 โคพีพอด (Copepod)

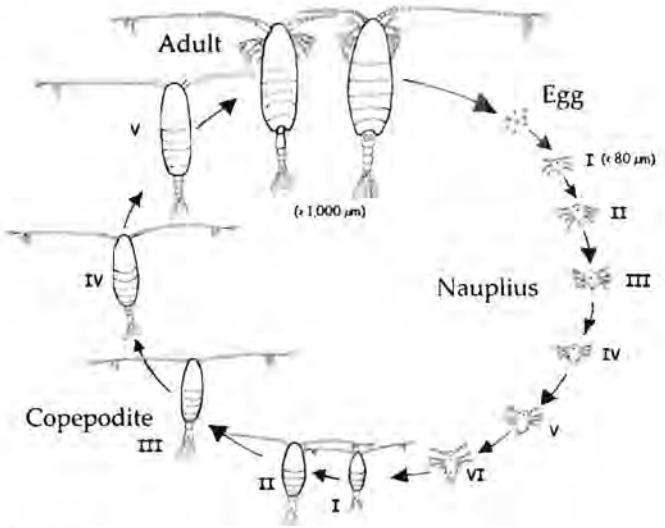
โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนถาวรในไฟลัม Arthopod เป็นสัตว์ที่มีเปลือกแข็งหุ้ม มีระยางค์และลำตัวเป็นข้อปล้อง โคพีพอดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีความหลากหลายและมีปริมาณมากที่สุดในโลก มีรายงานว่าพบโคพีพอดประมาณ 12,000 ชนิด โดยจะกระจายอยู่ในแหล่งน้ำทั่วไปทั้งน้ำจืด ทะเลและน้ำกร่อยชายฝั่งและปากแม่น้ำ โคพีพอดเป็นองค์ประกอบสำคัญของสายใยอาหารในทะเล มีบทบาทเป็นผู้บริโภคขั้นต้นที่สำคัญของสายใยอาหารในระบบนิเวศ โดยโคพีพอดส่วนใหญ่มักจะกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร แต่มีบางกลุ่มที่กินสารอินทรีย์หรือตะกอนเป็นอาหาร ในขณะที่ตัวของโคพีพอดเหล่านั้นจะเป็นอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำที่มีขนาดใหญ่กว่า เช่น กุ้ง หอย ปู และปลา โคพีพอดจึงทำหน้าที่เป็นเหมือนผู้ถ่ายทอดพลังงานจากผู้ผลิตขั้นต้น คือ สาหร่ายหรือแพลงก์ตอนพืชไปยังผู้บริโภคลำดับที่สูงขึ้นไปในระบบนิเวศ (Davis, 1955; Rippingale and Payne, 2001)

โคพีพอดส่วนใหญ่มีรูปร่างทรงกระบอก รูปไข่หรือรูปกระบอง ลำตัวและรยางค์จะแบ่งเป็นข้อปล้อง ส่วนใหญ่มีขนาดเล็กความยาวลำตัวตั้งแต่ 0.5 ถึง 5.0 มิลลิเมตร ลำตัวแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนหาง ส่วนหัวและอกจะเชื่อมติดกันไม่เห็นรอยต่อ แต่ส่วนหางมีปล้องที่ต่อกับส่วนอกซึ่งงอได้ มีรยางค์เป็นคู่ปล้องละ 1 คู่ มีทั้งที่เป็นแบบ biramous และ uniramous มีจำนวน 11 คู่ คือส่วนหัวมี 6ปล้อง เชื่อมติดเป็นแผ่นเดียวกันมีรยางค์ 5 คู่ ส่วนอกมี 6 ปล้อง มีรยางค์ 6 คู่ ส่วนหางมี 5 ปล้องไม่มีรยางค์ แต่ตรงปล้องสุดท้ายมีแผ่นยื่นออกไปคล้ายเป็นรยางค์หาง 2 แผ่น โดยลักษณะสำคัญของโคพีพอดแสดงดังรูปที่ 2.1

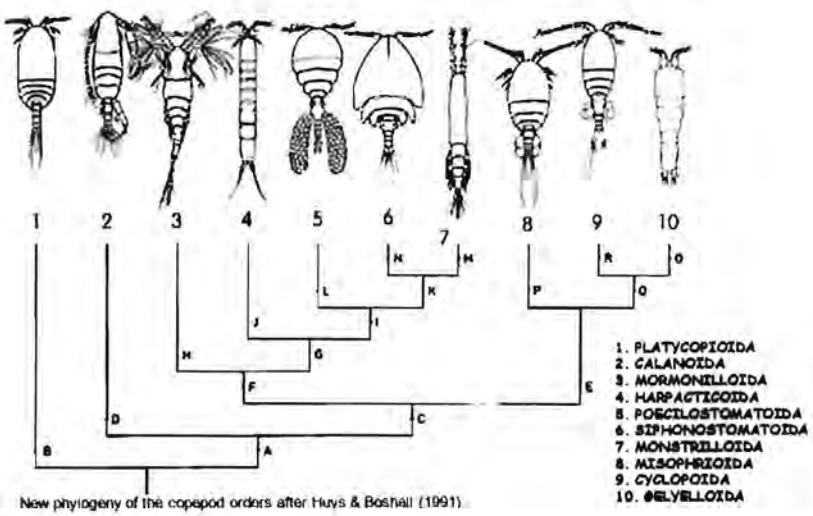


รูปที่ 2.1 รูปร่างลักษณะของโคพีพอด
(ที่มา: http://www.sahfos.ac.uk/education/Edu_plankton_bio_indicators_of_change.htm)

โคพีพอดที่โตเต็มวัยอาจจะมีลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย โคพีพอดเป็นสัตว์ที่มีการปฏิสนธิอยู่ภายในตัวเมีย โดยหลังจากเพศผู้และเพศเมียผสมพันธุ์กันแล้วไข่จะมีการพัฒนาอยู่ในถุงไข่ (egg sac) ซึ่งอยู่บริเวณปล้องหาง (Urosome) จนถึงระยะที่เรียกว่า "นอเพลียส" (nauplius larvae) ซึ่งจะหลุดออกจากถุงไข่ของตัวเมีย โดยจะล่องลอยไปตามกระแสน้ำและมีเติบโตด้วยวิธีการลอกคราบ 6 ระยะ (nauplius stage, N1-N6) และจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) เป็นตัวอ่อนระยะโคพีโพดิดอีก 5 ระยะ (copepodid stage, C1-C5) จนพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (รูปที่ 2.2) โคพีพอดสามารถแบ่งออกเป็นหลายกลุ่ม ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตว่ายน้ำเป็นอิสระ (free living) บางชนิดอาศัยอยู่ตามพื้นท้องทะเล (benthos) และมีบางชนิดดำรงชีวิตเป็นปรสิต (parasite) ด้วย โดยโคพีพอดที่มักจะพบในระบบนิเวศทางทะเลจะประกอบด้วย 3 กลุ่มหลักๆ ได้แก่ กลุ่มคาลานอยด์โคพีพอด (Calanoid copepod) กลุ่มไซโคลพอยด์โคพีพอด (Cyclopoid copepod) และกลุ่มฮาร์แพคติคอยโคพีพอด (Harpacticoid copepod) (Mauchline, 1998; ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543; Rippingale and Payne, 2001)



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของโคพีพอด
(ที่มา: http://www.st.nmfs.noaa.gov/copepod/about/index.html)



รูปที่ 2.3 ความหลากหลายของโคพีพอด
(ที่มา: Huys and Boxshall, 1991)

2.2 คุณค่าทางอาหารของโคพีพอด

โคพีพอดถือเป็นอาหารมีชีวิต (live feed) ที่มีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่นๆ เช่น อาร์ทีเมีย (Artemia) หรือไรน้ำ (โรติเฟอร์: Rotifer) มีรายงานว่าเมื่อให้สาหร่ายขนาดเล็ก (phytoplankton) เป็นอาหารในปริมาณที่เหมาะสม โคพีพอดจะมีปริมาณของ HUFA's, DHA, EPA และ ARA สูง และยังเป็นแหล่งผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), แอสตราแซนทิน (astraxanthin) และมีวิตามินซีและวิตามินอีสูงอีกด้วย อีกทั้งโคพีพอดนั้นมีขนาดเล็กซึ่งทำให้เหมาะสมกับขนาดปากของลูกปลาหรือสัตว์น้ำวัยอ่อน และยังพบว่าพฤติกรรมการว่ายน้ำของโคพีพอดจะเป็นตัวกระตุ้นการกินอาหารของลูกปลาด้วย (McKinnon *et al.*, 2003; Schipp, 2006; Camus, 2012)

จากการศึกษาของ Bell *et al.* (2003) รายงานว่า โคพีพอดมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (High Unsaturated Fatty Acid: HUFA) รวมทั้ง DHA และ EPA สูงกว่าโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย (ตารางที่ 2.1) ส่วนการศึกษาองค์ประกอบและปริมาณของกรดอะมิโนในแพลงก์ตอนสัตว์หลายชนิดได้แก่ อาร์ทีเมีย (*Artemia salina*), ไรน้ำจืดกลุ่มคลาโดเซอรา (*Moina* sp.) และโคพีพอดกลุ่มคาลานอยด์ชนิด *Acartia clausi* และกลุ่มฮาร์แพคติคอยด์ชนิด *Trigriopus japonicus* พบว่า โคพีพอดนั้นมีปริมาณรวมของกรดอะมิโน (g/100 g crude protein) รวมทั้งกรดอะมิโนหลายชนิดเช่น Methionine, Cystine, Treonine, Valine, Histidine, Alanine และ Glycine สูงกว่าอาร์ทีเมียและคลาโดเซอรา (ตารางที่ 2.2) (Watanabe *et al.*, 1983) นอกจากนี้ Camus (2012) ยังได้สรุปเกี่ยวกับความเหมาะสมของโคพีพอดในการเป็นอาหารมีชีวิตในด้านต่างๆ เช่น ขนาดของโคพีพอดที่ค่อนข้างหลากหลายตั้งแต่ระยะตัวอ่อน (นอเพลียสขนาดเล็กกว่า 80 ไมโครเมตร) ถึงตัวเต็มวัย (บางชนิดขนาดใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร) ซึ่งเหมาะกับขนาดของลูกสัตว์น้ำหลายๆ ชนิดหลายๆ ช่วงอายุ รวมทั้งคุณค่าทางอาหารหลายอย่างเช่น HUFA, DHA, EPA, Phospholipids, แร่ธาตุและวิตามินต่างๆ สูงกว่าแพลงก์ตอนสัตว์กลุ่มอาร์ทีเมียและโรติเฟอร์ด้วย อีกทั้งพฤติกรรมการว่ายน้ำของโคพีพอดจะเป็นตัวกระตุ้นการกินอาหารสัตว์น้ำอื่นๆ ด้วย (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (% HUFA ต่อกรดไขมันทั้งหมด) ในไข่ปลาคอด (Cod) และปลาซีกเดียว (Halibut), โรติเฟอร์, อาร์ทีเมีย และโคพีพอด 3 ชนิด (*)
(ที่มา: Bell *et al.*, 2003)

Sample/HUFA	20:4n-6	20:5n-3	22:6n-3	DHA/EPA	EPA/ARA
Cod eggs[a]	1.7	14.8	29.3	2.0	8.7
Halibut eggs[b]	1.6	13.8	27.9	2.0	8.6
Rotifer (unenriched)[c]	trace	0.2	0.1	0.5	–
Rotifer (TOO)[d]	1.1	4.6	12.7	2.8	4.2
Rotifer (MO)[d]	0.8	13.1	6.5	0.5	16.7
Artemia (unenriched)[d]	1.2	5.3	0.0	0.0	4.1
Artemia (TOO)[d]	1.8	7.6	10.0	1.3	4.2
Artemia (MO)[d]	1.2	11.6	3.0	0.3	9.5
Eurytemora velox[e]	1.8	10.8	21.8	2.0	6.0
Tisbe furcata[f]	1.7	11.2	24.7	2.2	6.6
Acartia tonsa[g]	0.8	6.8	30.3	4.5	9.2

[a] Wild cod eggs (Klungsøyr et al., 1989).
[b] Bruce (1999), PhD thesis.
[c] Rodriguez et al. (1997).
[d] TOO = tuna orbital oil; MO = Marinol, a blend of sardine, anchovy and pilchard oils (Estevez et al., 1999).
[e] Mixture of nauplii and copepodites (Shields et al., 1999).
[f] Shields et al. (1993), unpublished data.
[g] Nauplii (Støttrup et al., 1999).

ตารางที่ 2.2 ปริมาณของกรดอะมิโน (g/100 g crude protein) ในแพลงก์ตอนสัตว์บางกลุ่ม (ที่มา: Watanabe *et al.*, 1983)

Amino acid	*Artemia*[1] *salina*	*Acartia clausi*	*Trigriopus japonicus*	*Moina* sp.
Isoleucine	2.6	3.5	2.5	2.5
Leucine	6.1	5.5	5.0	6.0
Methionine	0.9	1.5	1.1	1.0
Cystine	0.4	0.8	0.7	0.6
Phenylalanine	3.2	3.7	3.5	3.6
Tyrosine	3.7	3.6	4.0	3.3
Threonine	1.7	4.2	3.8	3.8
Tryptophan	1.0	1.1	1.1	1.2
Valine	3.2	4.5	3.3	3.2
Lysine	6.1	5.4	5.7	5.8
Arginine	5.0	4.3	5.2	5.1
Histidine	1.3	1.9	1.6	1.6
Alanine	4.1	5.4	4.9	4.9
Aspartic acid	7.5	9.0	9.0	8.3
Glutamic acid	8.8	9.5	10.8	9.8
Glycine	3.4	4.6	4.5	3.7
Proline	4.7	4.6	4.8	4.2
Serine	4.6	3.3	4.3	4.0
Total	68.3	76.4	75.8	72.6

ตารางที่ 2.3 ขนาด รูปแบบการเคลื่อนที่และองค์ประกอบของคุณค่าทางอาหารหลักที่พบในโคพีพอด เปรียบเทียบกับอาร์ทีเมียและโรติเฟอร์
(ที่มา: Camus, 2012)

Prey categories	Size range	Motion Pattern	Main nutritional characteristics					Sources
			Digestive enzymes	Micronutrients and vitamins	HUFA	DHA/EPA ratio	Phospholipids	
Artemia	400-500µm (instar I)	continuous (weak feeding responses)	Low	deficient, enrichment needed	very low enrichment needed	generally <1, even when previously enriched	mostly triacyglycerols enrichment needed	Browne and MacDonald, 1982; Luizi et al., 1999; Van Stappen, 2002; Bell et al., 2003; Liu and Xu, 2009;
Rotifer	~100-150µm (s type)	continuous (weak feeding responses)	Low	deficient, enrichment needed	low, enrichment needed	generally <1, even when previously enriched	mostly triacyglycerols enrichment needed	Navarro et al., 1993 Schipp et al., 1999; Duggan et al., 2002; Yoshida et al., 2003; Hoff and Snell, 2008;
Copepod	<80µm (early nauplii)	"stop and go" (strong feeding responses)	higher level compared to Artemia and rotifer	Copepods generally contain more vitamins, pigments and trace minerals than rotifers and Artemia	naturally high level	substantially >1 significantly higher levels of DHA and EPA when compared to enriched rotifers or Artemia	more phospholipids (>50%) than triacylglycerols in proportion when compared to Artemia and rotifers	Buskey et al., 1993; Luizi et al., 1999; Bell et al., 2003; van der Meeren et al., 2008; Conceicão et al., 2010; Koedijk et al., 2010;

2.3 การเพาะเลี้ยงโคพีพอด

การเพาะเลี้ยงโคพีพอดมีการพัฒนามานานมากแล้ว โดยมีรายงานว่าตั้งแต่ช่วงประมาณปี ค.ศ. 1960 การเลี้ยงโคพีพอดมีการพัฒนาอย่างมากและสามารถเลี้ยงโคพีพอดได้สำเร็จถึงประมาณ 60 กว่าชนิด (Mauchline *et al.*, 1998) ตัวอย่างเช่น การศึกษาการเลี้ยงโคพีพอดชนิด *Rhincalanus nasutus* ในระดับห้องปฏิบัติการ (Mullin and Brooks, 1967) และได้มีการศึกษาเพื่อพัฒนาการเลี้ยงโคพีพอดทั้งแบบความหนาแน่นต่ำ (extensive culture) และพัฒนาเป็นการเลี้ยงแบบเข้มข้น (intensive culture) ได้ เช่น *Acartia tonsa* (Støttrup *et al.*, 1986), *Acartia* spp. (Schipp *et al.*, 1999), *Gladioferens imparipes* (Payne and Rippingale, 2001), *Acartia sinjiensis* และ *Bestiolina similis* (Camus, 2012) และ *Calanus helgolandicus* (Carotenuto *et al.*, 2012), เป็นต้น ซึ่งจากฐานข้อมูลของ Roskilde University (http://copepod.ruc.dk/main.htm) ที่เก็บรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงโคพีพอดชนิดต่างๆ ของโลกแสดงดังตารางที่ 2.4 โดยในต่างประเทศนั้นมีบริษัทที่ผลิตและขายโคพีพอดผ่านทางอินเตอร์เน็ตค่อนข้างหลากหลาย ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.4 การเพาะเลี้ยงโคพีพอดชนิดต่างๆ และสภาวะที่ใช้เลี้ยง
(ที่มา: Drillet *et al.*, 2011)

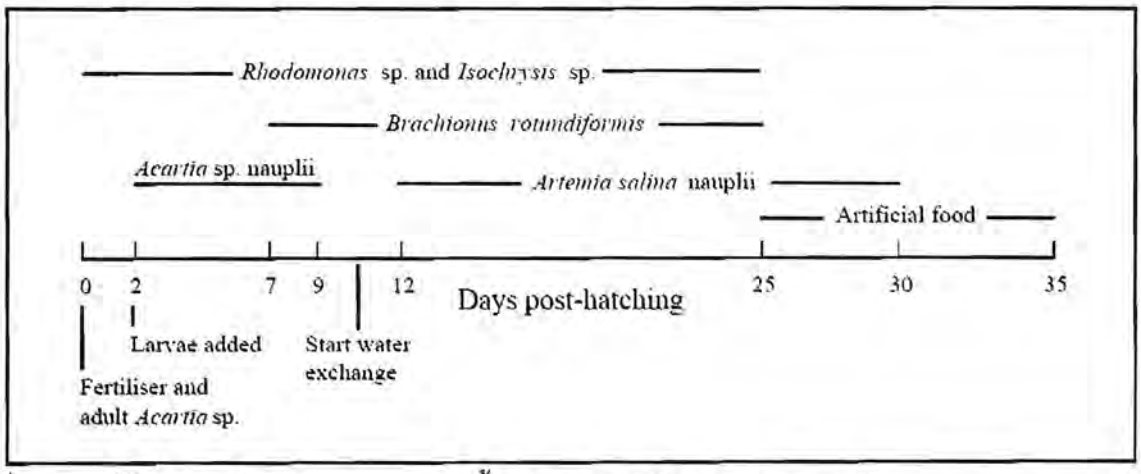
สกุล/ชนิด	บริเวณที่ศึกษา/แหล่งกำเนิด	สภาวะที่เลี้ยง อุณหภูมิ / ความเค็ม / ช่วงเวลา สว่าง:มืด / อาหารที่ใช้เลี้ยง
Acartia grani	Barcelona Harbor (Spain)	19 °C / 38 ppt / 12L:12D / *Rhodomonas salina*
Acartia sinjinensis	Townsville Chanel (Australia)	27-30 °C / 30-35 ppt / 18L:6D / *Tetraselmis chuii* and T-iso
Acartia southwelli	Pingtung (Taiwan)	25-30 °C / 15-20 ppt / 12L:12D / *Isochrysis galbana*
Acartia tonsa	Øresund (Denmark)	17 °C / 30 ppt / dim light / *Rhodomonas salina*
Amphiascoides atopus	USA	25 °C / - / 12L:12D / cultured phytoplankton
Apocyclops royi	Pingtung (Taiwan)	25-30 °C / 15-20 ppt / 12L:12D / *Isochrysis galbana*
Centropages typical	Gulf of Napoli (Italy W Mediterranean Sea)	19-21 °C / 38 ppt / 12L:12D / *Prorocentrum minimum, Isochrysis galbana, Tetraselmis suecica*
Eurytemora affinis	River Seine Estuary (France)	10-15 °C / 15 ppt / 12L:12D / *Rhodomonas marina*
Eurytemora affinis	Gironde Estuary (France)	10-15 °C / 15 ppt / 12L:12D / *Rhodomonas marina*
Eurytemora affinis	Loire Estuary (France)	10-15 °C / 15 ppt / 12L:12D / *Rhodomonas marina*
Eurytemora affinis	Baie de l'Isle Verte/St Laurent Estuary (Canada)	10-15 °C / 15 ppt / 12L:12D / *Rhodomonas marina*
Euterpina acutifrons	Mediterranean	19 °C / 38 ppt / 12L:12D / *Rhodomonas salina*
Gladioferens imparipes	Swan River (Perth, Australia)	23-27 °C / 18 ppt / continuous dark / T-iso and *Chaetoceros muelleri*
Mesocyclops longisetus	Florida (USA)	http://edis.ifas.ufl.edu/IN490
Microcyclops albidus	Florida (USA)	http://edis.ifas.ufl.edu/IN490
Oithona davisae	Barcelona Harbor (Spain NW Mediterranean)	20 °C / 30 ppt / natural light / *Oxhyrris*
Pseudodiaptomus annandalei	Pingtung (Taiwan)	25-30 °C / 15-20 ppt / 12L:12D / *Isochrysis galbana*
Temora longicornis	North Sea	15 °C / 30 ppt / continuous dark / *Thalassiosira weissflogii, Rhodomonas salina, Heterocapsa, Prorocentrum minimum*
Temora longcornis	Plymouth (Devon, UK)	Temp according to current sea temperature / 30-36 ptt / 12L:12D / mixture of *Isochrysis galbana, Rhodomonas* and *Oxyrrhis*
Temora stylifera	Gulf of Napoli (Italy W Mediterranean Sea)	19-21 °C / 38 ppt / 12L:12D / *Prorocentrum minimum, Isochrysis galbana, Rhodomonas baltica*
Tisbe battagliai	Brixham (Devon, UK)	?

ตารางที่ 2.5 โคพีพอดชนิดต่างๆ ที่มีการโฆษณาขายทางอินเตอร์เน็ต
(ที่มา: Drillet *et al.*, 2011)

บริษัท	ผลิตภัณฑ์/ชนิดโคพีพอด	ราคา	ภาษา (ที่มีให้เลือกในเว็บไซต์)
AlgaGen	*Pseudodiaptomus pelagicus* (1,000 ตัว)	50 US$	English
	Acartia tonsa (1,000 ตัว)	50 US$	
	Parvocalanus sp. (1,000 ตัว)	100 US$	
	Tisbe sp. (1,000 ตัว)	35 US$	
Guernesey Sea Farms	*Acartia tonsa* and *Tisbe* sp. female	160-255 £	English
	(300 ถึง 1,500 ตัว)	225-355 €	
SeaHorseMania	Mix of Calanoid and Cyclopoid copepods	29.80 €	English
	(1,000 ml)		German
	Acartia tonsa adult (1,000 ตัว)	65 €	French
	Nitokra lacustris (200 ml)	18 €	Spanish
	Acartia tonsa eggs	11 €/18 €/27.5 €/150 €	Italian
	(10,000/50,000/100,000/1,000,000 ตัว)		
	Tisbe sp. 200 ml/live ReefPods	15 €/18 €	
	Tisbe sp. 200 ml		
Seahorse Sanctuary	*Gladioferens imparites* nauplii	AUS $110	English
	(5,000-10,000 ตัว)		

2.4 การใช้ประโยชน์จากโคพีพอดในการเป็นอาหารมีชีวิตในสัตว์น้ำ

จากการที่โคพีพอดเป็นสัตว์ที่มีคุณค่าทางอาหาร มีขนาดเล็กเหมาะกับขนาดปากของลูกสัตว์น้ำซึ่งมีขนาดค่อนข้างเล็ก ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับการเลี้ยงโคพีพอดส่วนใหญ่จึงมักจะเลี้ยงโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือเพื่อศึกษาแนวโน้มในการใช้โคพีพอดเป็นอาหารมีชีวิตเพื่อทดแทนอาหารมีชีวิตที่นิยมใช้อยู่เดิมเช่น อาร์ทีเมีย และโรติเฟอร์ เป็นต้น โดยในหลายประเทศทั้งในทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย มีการทดลองนำโคพีพอดทั้งกลุ่มคาลานอยด์โคพีพอด ไซโคลพอยด์โคพีพอด และฮาร์แพคติคอยด์โคพีพอด มาเป็นอาหารให้ลูกปลาหลายชนิดเช่น ปลาเฮอร์ริ่ง, ปลาเก๋า, ปลากระพง และปลาซีกเดียว เป็นต้น รวมทั้งลูกกุ้ง เช่น กุ้งกุลา เป็นต้น ดังสรุปในตารางที่ 2.6



รูปที่ 2.4 การใช้โคพีพอดในกระบวนการเพาะเลี้ยงปลากระพง (Golden snapper)
(ที่มา: Schipp, 2006)

ตารางที่ 2.6 การใช้ประโยชน์จากโคพีพอดชนิดต่างๆ เพื่อเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนสัตว์น้ำชนิดต่างๆ

ประเทศ	ชนิดของลูกสัตว์น้ำ	ชนิดของโคพีพอด	ที่มา
ทวีปยุโรป			
Denmark/ Norway	*Clupea harengus* (herring)	*Acartia tonsa* (calanoid copepod)	Pedersen & Hjelmeland (1988)
Scotland, U.K.	Flatfishes	*Eurytemora velox*, *Acartia tonsa*, *Calanus finmarchicus* (calanoid copepods) *Tisbe furcata* (harpacticoid copepod)	Bell *et al.* (2003)
Ancona, Italy	*Amphiprion claekii* (yellowtail clownfish)	*Centropages typicus* (calanoid copepod) *Tisbe* spp. (harpacticoid copepods)	Olivotto *et al.* (2008)
ทวีปอเมริกา			
Hawaii, USA	*Coryhaena hippurus* (mahimahi)	*Euterpina* sp. (harpacticoid copepod)	Kraul (1993)
Florida, USA	*Trachinotus carolinus* (Florida pompano)	*Pseudodiaptomus pelagicus* (calanoid copepods)	Cassiano *et al.* (2011)
ทวีปออสเตรเลีย			
Perth, Australia	*Stigmatopora argus* (pipefish) *Hippocampus subelongatus* (seahorse) *Glaucosoma hebraicum* (dhufish)	*Gladioferens imparipes* (calanoid copepod)	Payne *et al.* (1998); Payne & Rippingale (2000); Payne et al. (2001)
Darwin, Australia	*Lutjanus johnii* (golden snapper)* *Centropyge loriculo* (flame angelfish)* *Cephalopholis argus* (peacock hind)* *Lates calcarifer* (barramundi)** *Seriola rivoliana* (almaco jack)** *Caranx ignobilis* (jiant trevally)**	*Acartia* sp., *Parvocalanus crassirostris* (calanoid copepods) *Need copepods at first feeding **Use copepods as supplement	Schipp (2006)
ทวีปเอเชีย			
Japan	*Pagrus major* (red seabream)	*Acartia* sp. (calanoid copepod)	Ohno (1992)
Japan	*Lutjanus argentimaculatus* (red snapper)	*Acartia sinjiensis* (calanoid copepod)	Doi et al. (1997a)
Japan	*Epinephelus coioides* (grouper)	*Acartia tsuensis*, *Pseudodiaptomus* spp. (calanoid copepods) *Oithona* sp. (cyclopoid copepod)	Toledo et al. (1999)
Taiwan	*Epinephelus coioides*, *E. malabaricus*, *E. fuscoguttatus* and *Cromileptes altivelis* (groupers)	*Apocyclops royi*, *Pseudodiaptomus annandalei* (calanoid copepods)	Liao et al. (2001)
China	*Hippocampus trimacolatus* (seahorse)	*Pseudodiaptomus annandalei* (calanoid copepods)	Sheng et al. (2006)
China	*Paralichthys olivaceus* (Japanese flounder)	*Schmackeria (Pseudodiaptomus) poplesia* (calanoid copepod)	Liu & Xu (2009)
China	*Epinephelus coioides* (grouper)	*Pseudodiaptomus annandalei* (calanoid copepods)	Sun et al. (2013)

ตารางที่ 2.6 (ต่อ)

ประเทศ	ชนิดของลูกสัตว์น้ำ	ชนิดของโคพีพอด	ที่มา
Philippines	*Epinephelus coioides* (grouper)	*Acartia tsuensis, Pseudodiaptomus annandalei* (calanoid copepods)	Doi et al. (1997b)
Malaysia	*Penaeus monodon* (black tiger shrimp)	*Acartia clausi* (calanoid copepod)	Farhadian et al. (2007)
India	*Lates calcarifer* (barramundi/sea bass)	*Acartia clausi* (calanoid copepod)	Rajkumar & Kumaraguru vasagam (2006)

สำหรับในประเทศไทยนั้นยังมีการศึกษาและการเพาะเลี้ยงโคพีพอดอยู่ในวงที่จำกัด เช่น การศึกษาของ สุภาวดี จุลละศร และคณะ ซึ่งทำการศึกษาและเลี้ยงฮาร์แพคติคอยโคพีพอดชนิด *Trigriopus* sp., *T. thailandensis, T. japonicus, Paramphiascella choi* และ *Nitokra karanovici* เพื่อเป็นอาหารสำหรับลูกกุ้งและลูกปลาการ์ตูน (สุภาวดี จุลละศร, 2553; สุภาวดี จุลละศร และคณะ, 2556; สุภาวดี จุลละศร และคณะ, 2558) หรือการทดลองใช้โคพีพอด *Apocyclops* sp. ที่เพิ่มคุณค่าทางอาหารด้วยสาหร่าย *Isochrysis galbana* เลี้ยงลูกปลาการ์ตูนดำแดง (*Amphiprion ephippium*) (อมรรัตน์ กนกรุ่ง และคณะ, 2556) นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการเลี้ยงโคพีพอดกลุ่มคาลานอยด์ชนิด *Pseudodiaptomus annandalei* ในบ่อดินได้สำเร็จโดยกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (พิชญา ชัยนาค, 2559) (ตารางที่ 2.7)

ตารางที่ 2.7 การใช้ประโยชน์จากโคพีพอดชนิดต่างๆ เพื่อเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนสัตว์น้ำชนิดต่างๆ

ชนิดของลูกสัตว์น้ำ	ชนิดของโคพีพอด	ที่มา
Litopenaeus vannamei, Penaeus merguiensis, Penaeus monodon (shrimps)	*Trigriopus* sp., *T. thailandensis, T. japonicus, Paramphiascella choi, Nitokra karanovici* (harpacticoid copepods)	สุภาวดี จุลละศร (2553)
Amphiprion ephippium (anemonefish)	*Apocyclops* sp. (calanoid copepod)	อมรรัตน์ กนกรุ่ง และคณะ (2556)
Penaeus monodon (black tiger shrimp)	*Tirgriopus sirindhoenae, T. thailandensis, T. japonicus* (harpacticoid copepods)	สุภาวดี จุลละศร และคณะ (2556)
Amphiprion clarkii (Clark's anemonefish)	*Trigriopus sirindhoenae, T. thailandensis, T. japonicus, Paramphiascella choi, Nitokra karanovici* (harpacticoid copepods)	สุภาวดี จุลละศร และคณะ (2558)
Ornamental fish larvae/shrimp larvae	*Pseudodiaptomus annandalei*	พิชญา ชัยนาค (2559)

นอกจากนี้ ยังพบว่า เมื่อทดลองใช้โคพีพอดเป็นอาหารเลี้ยงลูกสัตว์น้ำจะทำให้ลูกสัตว์น้ำมีอัตรารอดและการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการให้สัตว์น้ำชนิดอื่นเช่น อาร์ทีเมียหรือโรติเฟอร์ เป็นอาหารอีกด้วย (ตารางที่ 2.8)

ตารางที่ 2.8 อัตรารอดและการเติบโตของลูกสัตว์น้ำเมื่อแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดต่างๆ เป็นอาหาร

ชนิดของลูกสัตว์น้ำ	ชนิดของแพลงก์ตอนที่ใช้เป็นอาหาร	อัตรารอด (%)	การเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, mg)	ที่มา
Lates calcarifer (barramundi/sea bass)	***Acartia clausi***	**58.13**	**67.62**	Rajkumar & Kumaraguru vasagam (2006)
	Brachionus plicatilis	39.93	47.39	
	Artemia sp.	41.62	32.20	
Amphiprion claekii (yellowtail clownfish)	***Centropages typicus***	**90**	**5.8**	Olivotto et al. (2008)
	Mixed Rotifer/*Artemia* sp.	43	4.5 (at day 11)	
Paralichthys olivaceus (Japanese flounder)	***Schmackeria poplesia***	**91.10**	**5.30**	Liu & Xu (2009)
	S. Poplesia mixed *Artemia* sp. (4:1)	86.70	4.70	
	Artemia sp.	82.20	4.10	
Penaeus monodon (black tiger shrimp)	**Mixed copepods (*Macrosetella gracilis*, *Pseudodiaptomus* sp., *Oithona rigida*)**	**100.00**	**206.00**	Ananthi et al. (2011)
	Artemia sp.	100.00	162.66	
Trachinotus carolinus (Florida pompano)	***Pseudodiaptomus pelagicus***	**57.3**	**0.13***	Cassiano et al. (2011)
	Mixed (*P. pelagicus* & rotifer)	37.8	0.22*	
	SRD (standard reference diet)	45.5	0.21* *Standard length (mm per day)	
Lates calcarifer (barramundi/sea bass)	***Oithona rigida***	**72.64**	**92.18**	Santhanam & Perumal (2012)
	Brachionus plicatilis	36.00	58.73	
	Artemia sp.	28.66	52.69	

หมายเหตุ อักษรตัวเข้มหมายถึง ชนิดของโคพีพอดที่ใช้เป็นอาหาร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการเก็บตัวอย่างโคพีพอดจากบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี และนำมาทดลองเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่สถานีวิจัยฯ โดยมีวิธีทำการศึกษาดังนี้

3.1 การเก็บตัวอย่างและการคัดแยกโคพีพอด

ทำการเก็บตัวอย่างโคพีพอดในบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี (รูปที่ 3.1) โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดตาประมาณ 250 ไมครอน ลากแพลงก์ตอนสัตว์ในแนวดิ่งจากระดับเหนือพื้นท้องทะเลประมาณ 1-2 เมตร ขึ้นมาถึงผิวน้ำโดยจะทำการลากหลายๆ ครั้งเพื่อให้ได้ตัวอย่างมีปริมาณมากพอที่จะนำไปเพาะเลี้ยงต่อให้ห้องปฏิบัติการได้ (รูปที่ 3.2) โดยถ้าในช่วงใดที่คลื่นลมในทะเลค่อนข้างแรงก็จะใช้วิธีการสูบน้ำทะเลขึ้นมาแล้วกรองผ่านถุงลากแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเดียวกันประมาณ 5-10 นาที เพื่อไม่ให้แพลงก์ตอนสัตว์มีปริมาณหนาแน่นเกินไปซึ่งอาจจะทำให้ช้ำและตายได้ง่าย (รูปที่ 3.3) จากนั้นจึงนำตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ที่ได้จากวิธีข้างต้นใส่ขวดพลาสติกหรือบีกเกอร์แล้วนำไปคัดแยกและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการต่อไป

เมื่อกลับมาถึงห้องปฏิบัติการ จะทำการคัดแยกโคพีพอดที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo microscope) และจำแนกชนิดโดยอ้างอิงตามตามคู่มือของ สุนีย์ สุวภีพันธ์ (2527) และ Boxshall (2004) เพื่อการศึกษาลักษณะภายนอก โดยจะทำการคงสภาพโคพีพอดด้วยน้ำยาฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 4-6% เมื่อต้องการศึกษาจึงนำมาล้างน้ำยาฟอร์มาลินออกด้วยน้ำสะอาดผ่านถุงกรองขนาดตา 100 ไมโครเมตร โดยอาจมีการย้อมสีเพื่อช่วยให้คัดแยกชนิดและศึกษารายละเอียดของโคพีพอดได้ง่ายขึ้น

รูปที่ 3.1 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างและสภาพของพื้นที่บริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง ที่ทำการเก็บตัวอย่างโคพีพอดขึ้นมาเพื่อทำการศึกษา

รูปที่ 3.2 การเก็บตัวอย่างโคพีพอดโดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนสัตว์ตามแนวดิ่งในบริเวณชายฝั่ง

รูปที่ 3.3 การเก็บตัวอย่างโคพีพอดโดยการสูบน้ำขึ้นมากรองผ่านถุงลากแพลงก์ตอนสัตว์

3.2 การเลี้ยงโคพีพอดจนครบวงจรชีวิตและการเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ

โคพีพอดที่จะทำการเพาะเลี้ยงในการศึกษาครั้งนี้จะเลือกโคพีพอดที่เก็บมาตามวิธีการในข้อ 3.1 จากบริเวณชายฝั่งเกาะสีชัง ทำการคัดแยกคาลานอยด์โคพีพอดชนิดเด่นในช่วงเวลานั้นๆ เพื่อนำมาทำการศึกษา โดยจะใช้หลอดแก้ว (pasture pipette) ดูดแยกโคพีพอดใส่ในจานเพาะเชื้อ (Petri disc) ขนาดเล็ก จานละ 1 ตัว โดยจะเลือกเฉพาะตัวเมียที่มีถุงไข่ และทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยจะต้องกระทำอย่างระมัดระวังเพื่อไม่ให้แม่พันธุ์โคพีพอดบอบช้ำ และทำการเพาะเลี้ยงต่อไปโดยใช้น้ำทะเลที่ผ่านการกรอง ในขั้นแรกให้สาหร่ายสามชนิดที่มีขนาดต่างกันคือ *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางอาหารและสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย โดยให้วันเว้นวันในปริมาณที่เพียงพอ ตรวจดูการฟักของตัวอ่อนโคพีพอดทุกวันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบตัวอ่อนระยะนอเพลียสเกิดขึ้นในจานเลี้ยงเชื้อจานใดจะทำการแยกแม่พันธุ์ออกเพื่อป้องกันการกินกันเอง (cannibalism) ของแม่โคพีพอด จากนั้นทำการเลี้ยงตัวอ่อนโคพีพอดต่อไปจนกระทั่งพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยและพยายามเลี้ยงจนต่อไปจนครบวงจรชีวิต โดยทำการเลี้ยงตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Camus (2012) กล่าวคือ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28-30 °C มีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-ความสว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง และให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย

3.3 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่ออัตรารอดของโคพีพอด

ใช้หลอดแก้วดูดคัดแยกโคพีพอด โดยพยายามคัดแยกชนิดเดียวกันไว้ในบีกเกอร์เดียวกัน โดยทำการพักโคพีพอดที่แยกได้ไว้ในบีกเกอร์ประมาณ 1 คืน แล้วจึงนำมาทำการทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและอัตรารอดของโคพีพอด เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม และชนิดของอาหาร (สาหร่ายขนาดเล็ก) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

<u>อิทธิพลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของโคพีพอด</u>

ทำการทดลองเลี้ยงโคพีพอดที่ระดับอุณหภูมิแตกต่างกัน โดยทำการแยกโคพีพอดใส่ในถ้วยพลาสติกที่มีน้ำทะเลจากธรรมชาติที่ผ่านการกรองแล้ว (ความเค็มประมาณ 32-33 psu) จำนวนถ้วยละ 10 ตัว จากนั้นนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 25°C, 30°C และ 35°C ทำการเลี้ยงตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Camus (2012) โดยให้อาหารเป็นสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 3 ชนิดรวมกัน (สัดส่วนโดยปริมาตรเท่ากับ 1:1:1) ทุกๆ 2 วัน ในปริมาณมากเกินพอเล็กน้อย และมีช่วงระยะเวลาวงจรความมืด-สว่าง เป็น 12:12 ชั่วโมง (รูปที่ 3.4) จากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวโคพีพอดที่รอดชีวิต เพื่อหาอัตรารอดของโคพีพอดในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 (ครบ 4 วัน)

รูปที่ 3.4 การทดลองผลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของโคพีพอด

<u>อิทธิพลของความเค็มต่ออัตรารอดของโคพีพอด</u>

ทำการทดลองเลี้ยงโคพีพอดที่ระดับความเค็มแตกต่างกัน โดยทำการแยกโคพีพอดใส่ในถ้วยพลาสติก จำนวนถ้วยละ 10 ตัว ซึ่งในบีกเกอร์นั้นจะมีน้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว โดยมีความเค็มที่ทำการทดลองแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 10, 20, 30 และ 40 psu และมีชุดควบคุม (น้ำทะเลจากธรรมชาติความเค็มประมาณ 32-33 psu) และทำการเลี้ยงตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Camus (2012) ที่อุณหภูมิห้อง (โดยใช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงประมาณ 28-32 °C) โดยให้อาหารและควบคุมวงจรความมืด-สว่างเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น (รูปที่ 3.5) จากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวโคพีพอดที่รอดชีวิต เพื่อหาอัตรารอดของโคพีพอดในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 (ครบ 4 วัน)

รูปที่ 3.5 การทดลองผลของความเค็มต่ออัตรารอดของโคพีพอด

<u>อิทธิพลของชนิดอาหาร (สาหร่ายขนาดเล็ก) ต่ออัตรารอดของโคพีพอด</u>

ทำการทดลองเลี้ยงโคพีพอดโดยให้อาหารแตกต่างกัน คือ 1) ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว 2) ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว 3) ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว 4) ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน และ 5) ชุดควบคุมที่ไม่ให้อาหารเลย (non feed) โดยทำการแยกโคพีพอดใส่ในถ้วยพลาสติกจำนวนถ้วยละ 10 ตัว ที่บรรจุน้ำทะเลจากธรรมชาติที่ผ่านการกรองแล้ว (ความเค็มประมาณ 32-33 psu) ทำการเลี้ยงตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Camus (2012) ที่อุณหภูมิห้อง ให้อาหารและควบคุมวงจรความมืด-สว่างเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น (รูปที่ 3.6) จากนั้นนำไปส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจนับจำนวนตัวโคพีพอดที่รอดชีวิต เพื่อหาอัตรารอดของโคพีพอดในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 (ครบ 4 วัน)

รูปที่ 3.6 การทดลองผลของชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กต่ออัตรารอดของโคพีพอด

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

หลังจากเสร็จสิ้นแต่ละการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธี Turkey's comparison test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 22 (ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

บทที่ 4
ผลการศึกษา

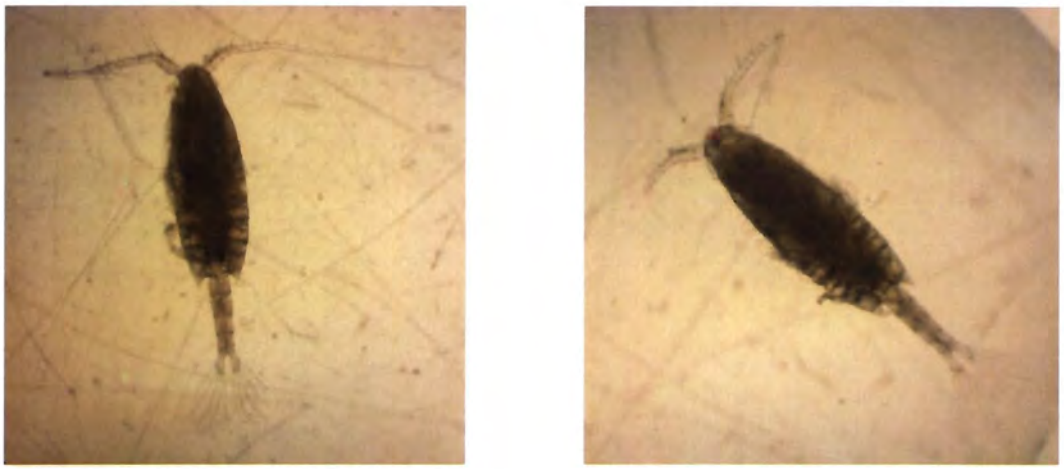
4.1 โคพีพอดที่นำมาใช้ทำการทดลอง

จากการศึกษาและเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์จากบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง โดยเน้นโคพีพอดในกลุ่มคาลานอยด์โคพีพอด ในเบื้องต้นนั้นสามารถจำแนกได้ 5 สกุล ได้แก่

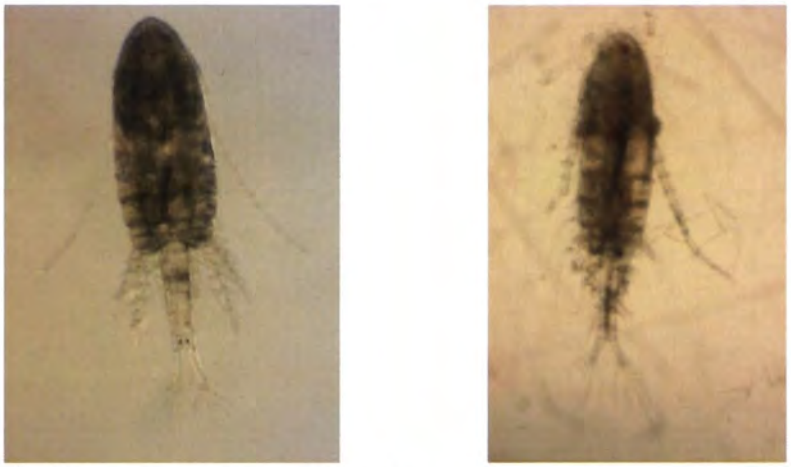
1. สกุล *Acartia* spp. (รูปที่ 4.1)
2. สกุล *Acrocalanus* spp. (รูปที่ 4.2)
3. สกุล *Calanopia* spp. (รูปที่ 4.3)
4. สกุล *Pseudodiaptomus* spp. (รูปที่ 4.4)
5. สกุล *Subeucalanus* spp. (รูปที่ 4.5)

รูปที่ 4.1 คาลานอยด์โคพีพอดสกุล *Acartia* spp.

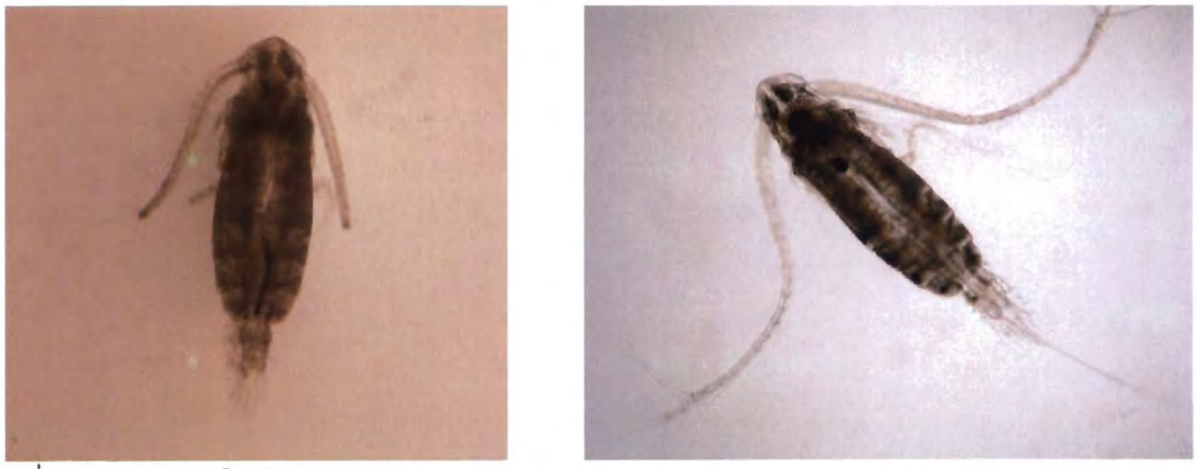
รูปที่ 4.2 คาลานอยด์โคพีพอดสกุล *Acrocalanus* spp.



รูปที่ 4.3 คาลานอยด์โคพีพอดสกุล *Calanopia* sp.

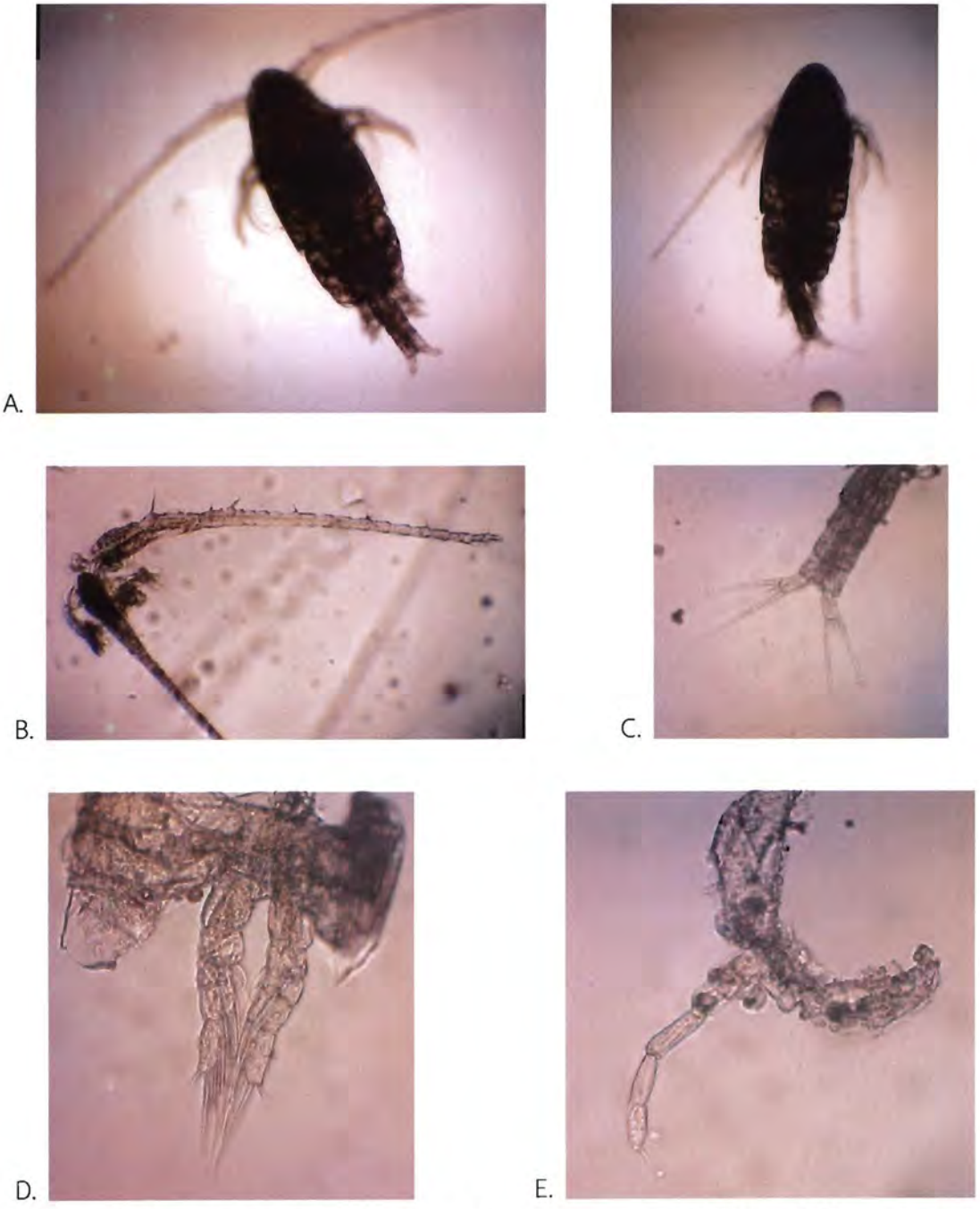


รูปที่ 4.4 คาลานอยด์โคพีพอดสกุล *Pseudodiaptomus* spp.



รูปที่ 4.5 คาลานอยด์โคพีพอดสกุล *Subeucalanus* spp.

ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษานั้นพบโคพีพอดสกุล *Acrocalanus* spp. เป็นโคพีพอดสกุลเด่น จึงได้ทำการคัดแยกและเลือกมาทำการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของโคพีพอดในระดับห้องปฏิบัติการ โดยลักษณะสำคัญของโคพีพอดสกุล *Acrocalanus* spp. ได้แก่ ส่วนหัวโค้งมนและเชื่อมติดกับปล้องอกปล้องแรก และปล้องที่ 4 และ 5 เชื่อมติดกัน Urosome มี 5 ปล้อง หนวดคู่ที่ 1 เมื่อพับไปด้านหลังจะมีความยาวเลยส่วน caudal ramus ไป ประมาณ 3 ปล้อง ในเพศผู้ ขาคู่ที่ 5 ไม่สมมาตรโดยที่ขาขวาลดรูปไป ส่วนขาซ้ายเป็นแบบ uniramous มี 5 ปล้อง (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 ลักษณะสำคัญของคาลานอยด์โคพีพอดสกุล *Acrocalanus* sp., A) ลักษณะลำตัว, B) หนวดคู่แรก (1st Antenna), C) ปล้องหาง (Urosome), D) ขาคู่ที่ 4, E) ขาคู่ที่ 5

4.2 การศึกษาต้นแบบวิธีการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาวิธีการเลี้ยงโคพีพอดในระดับห้องปฏิบัติการนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมที่ทำให้โคพีพอดมีอัตรารอดสูงสุดและสามารถนำไปพัฒนาการเลี้ยงโคพีพอดให้มีปริมาณมากขึ้น โดยมีผลการศึกษาดังนี้

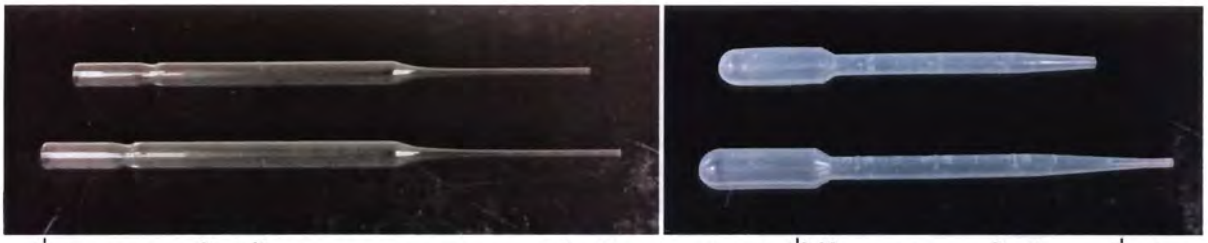
4.2.1 การเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อเพิ่มปริมาณ

ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อเพิ่มจำนวนในห้องปฏิบัติการ โดยในขั้นต้นนั้นผู้วิจัยมีความตั้งใจจะคัดแยกโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ออกมาใส่ภาชนะ แล้วทำการทดลองเลี้ยงโคพีพอดตั้งแต่ระยะตัวอ่อนที่ฟักออกจากถุงไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย แล้วจึงนำมาทำการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดชนิดนั้นๆ แต่อย่างไรก็ดี ในช่วงที่ทำการศึกษาครั้งนี้พบโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ติดอยู่ด้วยน้อยมาก ในช่วงแรกจึงได้ทำการคัดแยกโคพีพอดทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ไม่มีถุงไข่ (เนื่องจากไม่พบเพศเมียที่มีถุงไข่) โดยใช้หลอดแก้ว (Pasture pipette) ดูดแล้วแยกโคพีพอดชนิดเดียวกันใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเล็กจานละหลายๆ ตัว จำนวน 2-3 จาน (รูปที่ 4.7) โดยให้สาหร่ายทั้งสามชนิดคือ *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* เป็นอาหารในปริมาณที่เพียงพอ (ทำการเลี้ยงและสังเกตการรอดตายหรือการตายเป็นระยะๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ไม่สามารถเลี้ยงโคพีพอดได้ เนื่องจากในวันรุ่งขึ้นโคพีพอดทั้งหมดก็ตาย ซึ่งผู้วิจัยสันนิษฐานว่าอาจเกิดจากหลายสาเหตุเช่น 1) การใช้หลอดแก้วดูดแยกโคพีพอดอาจจะทำให้มีบางส่วนของรยางค์ของโคพีพอดได้รับบาดเจ็บจากการถูกหลอดแก้วบาด 2) อาจเกิดจากความเครียดที่โคพีพอดที่คัดแยกได้ต้องมาอยู่รวมกันอย่างหนาแน่น 3) อาจเกิดจากการที่จานเพาะเชื้อขนาดเล็กมีพื้นที่ค่อนข้างน้อยอาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในจานเพาะเชื้อได้รวดเร็ว รวมทั้งอาจมีการระเหยของน้ำทะเลในจานเพาะเชื้อทำให้ความเค็มของน้ำในจานเพาะเชื้อสูงขึ้น เป็นต้น

ดังนั้น ในการทดลองครั้งต่อมา ผู้วิจัยจึงได้ทดลองคัดแยกโคพีพอดโดยเปลี่ยนมาใช้หลอดหยด (Dropper) พลาสติก แล้วตัดส่วนปลายให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อเป็นการลดการบาดเจ็บของโคพีพอดจากการถูกหลอดแก้วบาดรยางค์ (รูปที่ 4.8) และได้แยกโคพีพอดใส่ในบีกเกอร์ขนาดเล็กปริมาตร 50 มิลลิลิตร (รูปที่ 4.9) ซึ่งการเพิ่มปริมาตรน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงจะเป็นการช่วยลดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำและทำให้โคพีพอดไม่เครียดมาก ซึ่งทำให้สามารถเลี้ยงโคพีพอดได้นานขึ้นโดยพบว่า โคพีพอดสามารถทำให้โคพีพอดมีชีวิตรอดอยู่ได้ 4-5 วัน แล้วโคพีพอดจึงเริ่มตายและโคพีพอดทั้งหมดก็จะตายภายใน 7 วัน แต่เนื่องจากในช่วงที่ทำการศึกษานั้นไม่พบโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ จึงไม่สามารถศึกษาพัฒนาการของตัวอ่อนของโคพีพอดได้ ซึ่งจำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมรวมทั้งการศึกษาเพิ่มเติมจากรายงานในต่างประเทศหรือเอกสารอ้างอิงอื่นๆ เพื่อปรับปรุงสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงให้เหมาะสมต่อไป

ทั้งนี้ ปริมาณโคพีพอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจากที่กล่าวข้างต้นนั้นไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้ทำการทดลองเกี่ยวกับปัจจัยที่เหมาะสมในการเลี้ยงโคพีพอดได้ จึงได้ดำเนินการทดลองโดยการคัดเลือกโคพีพอดสกุลเด่นจากธรรมชาติในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา เพื่อนำมาทดลองปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการดังจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

รูปที่ 4.7 คาลานอยด์โคพีพอดที่คัดแยกใส่ในจานเพาะเชื้อขนาดเล็กเพื่อนำมาทำการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.8 หลอดแก้ว (ซ้าย) และหลอดหยดพลาสติกตัดปลาย (ขวา) ที่ใช้ในการดูดแยกโคพีพอดเพื่อนำมาทำการศึกษา

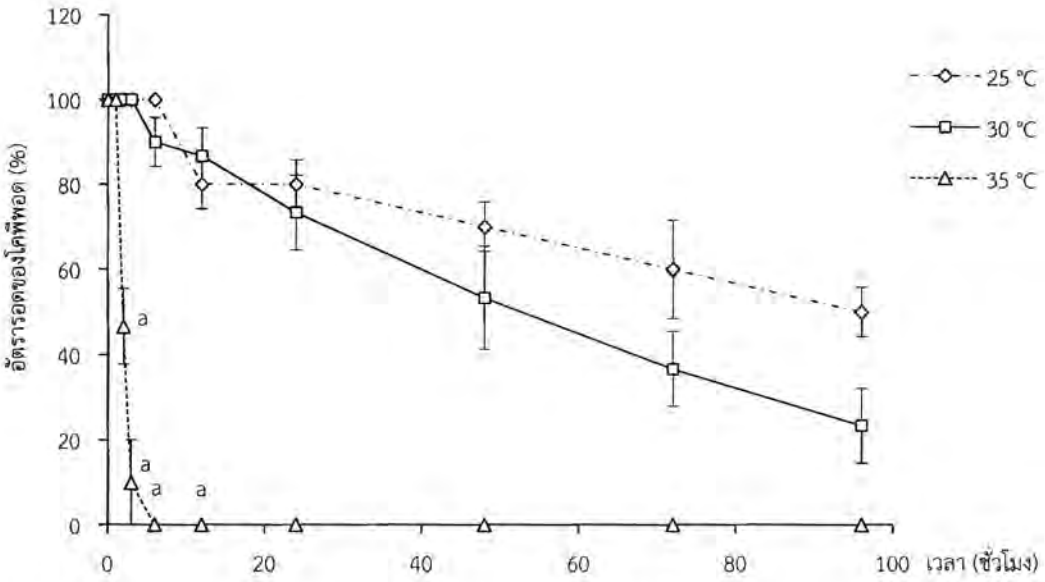
รูปที่ 4.9 คาลานอยด์โคพีพอดที่คัดแยกใส่ในบีกเกอร์ขนาดเล็กเพื่อนำมาทำการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 4.10 คาลานอยด์โคพีพอดที่เลี้ยงอยู่ในภาชนะ

4.2.2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงโคพีพอด

4.2.2.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของโคพีพอด

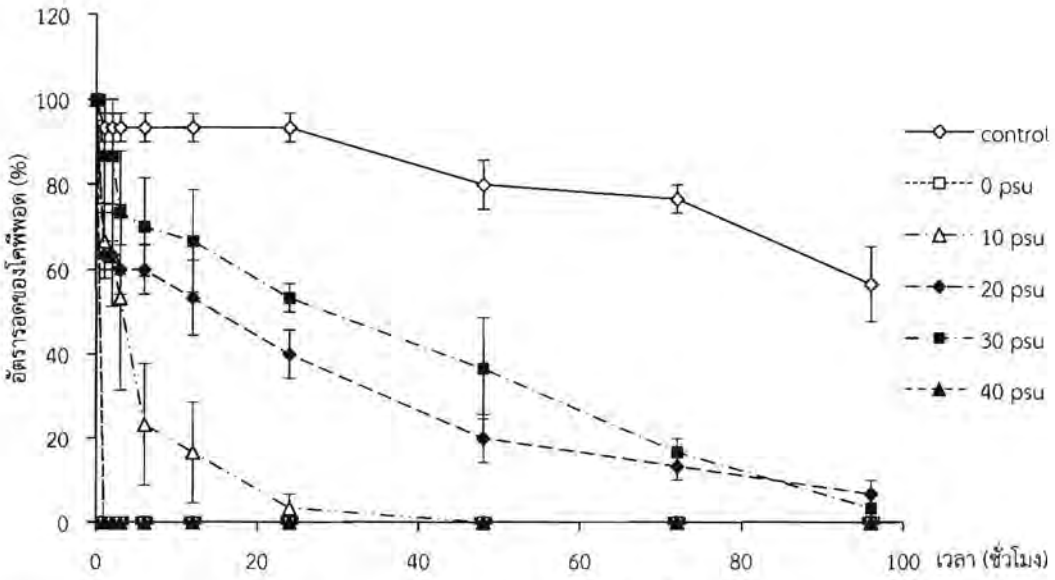
ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่ออัตรารอดของโคพีพอด โดยการทดลองเลี้ยงโคพีพอดที่อุณหภูมิระดับ 3 คือ 25°C, 30°C และ 35°C โดยควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เช่น ความเค็ม ช่วงเวลามืด:สว่าง และการให้อาหาร ให้เหมือนกันทุกชุดการทดลอง พบว่า โคพีพอดที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 °C มีอัตรารอดต่ำกว่าอุณหภูมิ 25°C และ 30°C อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยโคพีพอดจะเริ่มตายตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 (อัตรารอดเฉลี่ย 46.67±8.82%) และโคพีพอดจะตายทั้งหมดในชั่วโมงที่ 6 ในขณะที่โคพีพอดที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C จะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงสุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) เท่ากับ 50.00±5.77% ส่วนโคพีพอดที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C จะมีอัตรารอดเฉลี่ยเท่ากับ 23.33±8.82% (รูปที่ 4.11)



รูปที่ 4.11 อัตรารอด (ค่าเฉลี่ย±S.E.) ของคาลานอยด์โคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

4.2.2.2 ผลของความเค็มต่ออัตรารอดของโคพีพอด

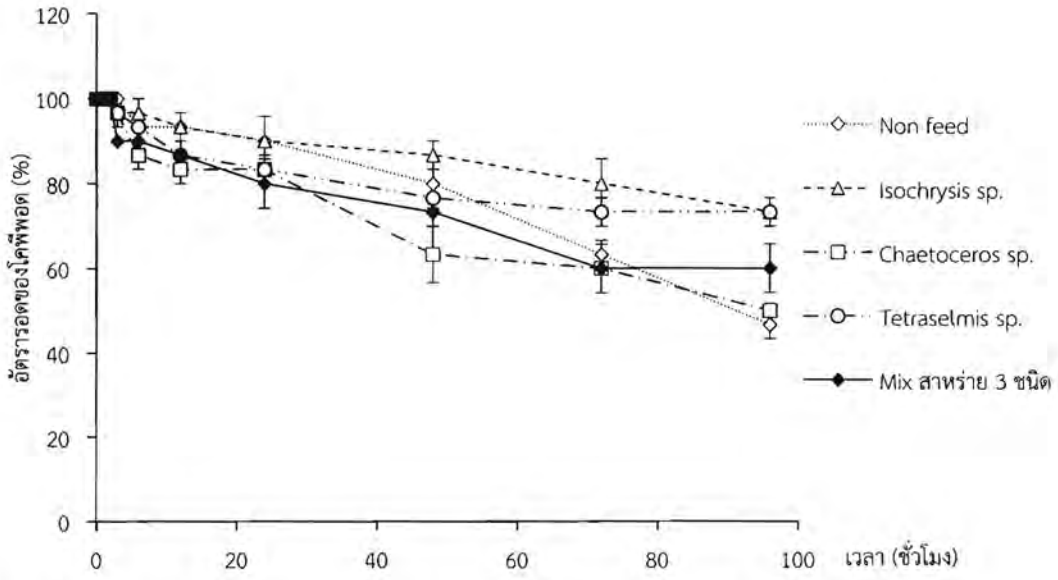
ผลการศึกษาอิทธิพลของความเค็มต่ออัตรารอดของโคพีพอด โดยการผันแปรความเค็มของน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงให้แตกต่างกันคือ 0, 10, 20, 30 และ 40 psu และใช้น้ำทะเลจากธรรมชาติ (ความเค็ม 32-33 psu) เป็นชุดควบคุม พบว่า อัตรารอดของโคพีพอดที่เลี้ยงในความเค็มต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าคาลานอยด์โคพีพอดที่นำมาทดลองมีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มค่อนข้างมาก โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 96 ชั่วโมง พบว่า โคพีพอดจะมีอัตรารอดสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยความเค็มของน้ำทะเลธรรมชาติที่โคพีพอดนั้นอาศัยอยู่ (32-33 psu) เท่ากับ 56.67±8.82% ในขณะที่โคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 20 และ 30 psu จะมีอัตรารอดเฉลี่ยสูงกว่าความเค็มอื่นๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองคือ 6.76±3.33% และ 3.33±3.33% ตามลำดับ และพบว่าไม่สามารถเลี้ยงโคพีพอดที่ความเค็ม 0, 10 และ 40 psu ได้ เนื่องจากไม่มีโคพีพอดรอดชีวิตเลยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 10 psu จะเริ่มตายในชั่วโมงที่ 1 และโคพีพอดทั้งหมดตายในชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่ความเค็ม 0 และ 40 psu นั้นพบว่าโคพีพอดทั้งหมดจะตายภายใน 1 ชั่วโมง (รูปที่ 4.12)



รูปที่ 4.12 อัตรารอด (ค่าเฉลี่ย±S.E.) ของคาลานอยด์โคพีพอดเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มแตกต่างกัน

4.2.2.3 ผลของชนิดของอาหารต่ออัตรารอดของโคพีพอด

ผลการศึกษาชนิดของอาหารต่ออัตรารอดของโคพีพอด โดยการทดลองให้อาหารที่แตกต่างกัน 5 แบบคือ 1) ชุดควบคุมที่ไม่ให้อาหารเลย, 2) ให้ *Isochrysis galbana* อย่างเดียว, 3) ให้ *Chaetoceros calcitrans* อย่างเดียว, 4) ให้ *Tetraselmis gracilis* อย่างเดียว, 5) ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกัน พบว่าอัตรารอดของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 4 (96 ชั่วโมง) โคพีพอดที่ให้สาหร่าย *Isochrysis galbana* และให้สาหร่าย *Tetraselmis gracilis* นั้นมีอัตรารอดเฉลี่ยเท่ากันคือ 73.33±3.33% ส่วนโคพีพอดที่ให้สาหร่ายรวมทั้ง 3 ชนิดรวมกัน และให้สาหร่าย *Chaetoceros calcitrans* เป็นอาหารจะมีอัตรารอดเฉลี่ยเป็น 60.00±5.77% และ 50.0±3.33% ตามลำดับ ส่วนโคพีพอดชุดควบคุมที่ไม่ให้อาหารเลยมีอัตรารอดเท่ากับ 46.67±3.33% (รูปที่ 4.13)



รูปที่ 4.13 อัตรารอด (ค่าเฉลี่ย±S.E.) ของโคพีพอดเมื่อเลี้ยงโดยให้อาหารต่างชนิดกัน

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

5.1 โคพีพอดที่นำมาใช้ในการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยถุงลากแพลงก์ตอนในบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี สามารถจำแนกโคพีพอดคาลานอยด์ได้ 5 สกุล คือ *Acartia* spp., *Acrocalanus* sp. *Calanopia* sp., *Pseudodiaptomus* spp. และ *Subeucalanus* sp. ซึ่งเป็นคาลานอยด์โคพีพอดที่มีรายงานว่าสามารถพบได้ทั่วไปในบริเวณชายฝั่งและอ่าวไทยตอนใน (Suwanrumpha, 1980) นอกจากนี้ยังพบโคพีพอดในระยะโคพีโพดิด (copepodid) ซึ่งไม่สามารถจำแนกชนิดได้ โดยในช่วงเวลาที่ทำการศึกษานั้นพบว่า โคพีพอดในสกุล *Acrocalanus* เป็นโคพีพอดสกุลเด่นในพื้นที่ศึกษา ซึ่งโคพีพอดสกุล *Acrocalanus* นี้จัดอยู่ในครอบครัว Paracalidae เป็นโคพีพอดที่มีรายงานว่าสามารถพบกระจายทั่วไปในบริเวณชายฝั่งและทะเลในเขตร้อน (Kimmerer, 1984; McKinnon, 1996; McKinnon and Duggan, 2001; Araujo, 2006) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้พยายามทำการคัดเลือกและแยกโคพีพอดในสกุล *Acrocalanus* มาทำการทดลองเพื่อหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่ทำให้คาลานอยด์โคพีพอดมีอัตรารอดสูงที่สุด ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะนำมาพัฒนาการเลี้ยงคาลานอยด์โคพีพอดต่อไป

5.2 การศึกษารูปแบบการเลี้ยงโคพีพอดในห้องปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนสัตว์ในบริเวณชายฝั่งหน้าสถานีวิจัยฯ เกาะสีชัง โดยได้นำมาคัดเลือกและแยกคาลานอยด์โคพีพอดหลายสกุลและหลายระยะ ทั้งตัวเต็มวัยและระยะโคพีโพดิด ซึ่งในเบื้องต้นผู้วิจัยมีความตั้งใจจะเลี้ยงโคพีพอดแบบชนิดเดี่ยว (monoculture) โดยจะเลือกคัดแยกโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่แล้วเลี้ยงตัวอ่อนของโคพีพอดจนครบวงจรชีวิตและเพิ่มจำนวนจนมากพอที่จะทำการทดลองได้ แต่อย่างไรก็ดีในช่วงที่ทำการศึกษานั้นพบโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่น้อยมาก และทำการเลี้ยงโคพีพอดได้ไม่นานโคพีพอดก็ตาย ผู้วิจัยจึงปรับแผนการทดลองโดยใช้วิธีคัดเลือกคาลานอยด์โคพีพอดจากธรรมชาติมาทำการทดลองเพื่อหาความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมที่จะทำให้โคพีพอดมีอัตรารอดสูงและมีการเจริญเติบโตที่ดี โดยพยายามเลือกโคพีพอดที่เป็นกลุ่มเด่นในพื้นที่คือ สกุล *Acrocalanus* มาทำการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมทั้ง 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ ความเค็มและอาหารที่ใช้เลี้ยงโคพีพอด

อุณหภูมิของน้ำทะเลเป็นปัจจัยสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญต่อพัฒนาการและอัตรารอดของโคพีพอด (Mauchline, 1998; Hirst and Bunker, 2003) ซึ่งจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมที่ทำให้อัตรารอดของโคพีพอดสูงคือ ที่อุณหภูมิ 25°C และ 30°C ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับอิทธิพลของอุณหภูมิต่อจำนวนประชากรของโคพีพอดชนิด *Acartia sinjiensis* ที่พบในบริเวณชายฝั่ง Townsville, Queensland, ประเทศออสเตรเลีย ที่รายงานว่า จำนวนประชากรของโคพีพอดจะมีค่าสูงเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิระหว่าง 25°C ถึง 30°C (Milione and Zeng, 2008) เช่นเดียวกับผลจากการศึกษาในโคพีพอดชนิด *Schmackeria dubia* ที่พบในนากุ้งในเมือง Zhanjiang มลฑลกวางตุ้ง ทางตอนใต้ของประเทศจีน ที่พบว่า อัตราการกรองกินอาหาร (Filtering rate และ Grazing rate) ของโคพีพอดนั้นจะสูงที่สุดเมื่อทดลองเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C และ 30°C เช่นกัน (Li *et al.*, 2008a) นอกจากนี้ ผลการศึกษาของ McKinnon (1996) ยังพบว่า ความยาวลำตัว (Prosome lenght) ของโคพีพอดชนิด *Acrocalanus gibber* เพศเมียจะแปรผกผันกับอุณหภูมิ ในขณะที่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการลอกคราบ (Molting rate) ของโคพีพอดสูงขึ้นและมีผลทำให้ช่วงอายุ (Generation time) ของโคพีพอดสั้นลงอีกด้วย

คาลานอยด์โคพีพอดหลายชนิดที่อาศัยอยู่ในบริเวณชายฝั่งหรือเอสทูรี่จะมีความสามารถในการทนความเค็มได้ในช่วงกว้าง (Lance, 1963) จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงความเค็มต่ออัตรารอด การสืบพันธุ์และผลผลิตของคาลานอยด์โคพีพอดชนิด *Pseudodiaptomus annandalei* พบว่าโคพีพอดชนิดนี้สามารถอาศัยอยู่ได้ในความเค็มระหว่าง 5-20 psu โดยความเค็มที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดอยู่ในช่วง 5-15 psu และช่วงความเค็มที่ทำให้มีผลผลิตมากที่สุดคือ 10-20 psu และยังพบว่าเมื่อเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างเฉียบพลันจากความเค็มที่พบโคพีพอดในธรรมชาติ (20 psu) โคพีพอดเพศเมียจะสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ดีกว่าโคพีพอดเพศผู้ โดยโคพีพอดเพศเมียทนได้ในช่วง 4.5-40.5 psu ส่วนเพศผู้สามารถทนได้ในช่วง 12.9-38.7 psu (Chen *et al.*, 2006) ส่วนการศึกษาในโคพีพอดชนิด *Acartia sinjiensis* พบว่า ความเค็มที่ทำให้โคพีพอดมีผลผลิตประชากรสูงที่สุดในเวลา 8 วัน อยู่ในช่วง 25-35 psu (Milione and Zeng, 2008) อย่างไรก็ดี ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า โคพีพอดมีอัตรารอดสูงสุดในชุดควบคุมซึ่งเป็นความเค็มของน้ำทะเลธรรมชาติ (32-33 psu) ส่วนความเค็มอื่นๆ ที่ทดลองนั้นโคพีพอดมีอัตรารอดค่อนข้างต่ำมาก โดยอัตรารอดของโคพีพอดที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 20 และ 30 psu มีค่าเฉลี่ยเพียง 6.76% และ 3.33% ตามลำดับ เท่านั้น และที่ความเค็ม 0, 10 และ 40 psu นั้นโคพีพอดจะตายทั้งหมด ซึ่งต่างจากผลการศึกษาของ Ohs *et al.* (2010) ที่รายงานว่า อัตรารอดของโคพีพอดชนิด *Pseudodiaptomus pelagicus* มีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่ความเค็มที่ใช้เลี้ยงโคพีพอดปกติคือ 35 psu แต่ไม่แตกต่างจากอัตรารอดของโคพีพอดที่เลี้ยงในความเค็ม 15 psu และ 42 psu อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่า ความเค็มมีผลต่อการเติบโต (maturation) การสร้างไข่ในเพศเมีย (ovigerous) ขนาดของไข่และช่วงเวลาในการสร้างไข่ (brood size and interval) และการผลิตตัวอ่อน (nauplius production) ด้วยเช่นกัน

ในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อพัฒนาเป็นอาหารที่มีชีวิตของสัตว์น้ำนั้น อาหารถือเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเติบโต พัฒนาการของตัวอ่อนและผลผลิตของโคพีพอด โดยสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดถูกนำมาทดลองใช้เป็นอาหารสำหรับโคพีพอดเช่น แพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอม สาหร่ายสีเขียว แฮปโตไฟต์ หรือกลุ่มคริปโตไฟต์ เป็นต้น (Klein Breteler *et* al., 1990; Kleppel, 1993; Milione and Zeng, 2007; Li *et al.*, 2008b; Camus, 2012) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยทดลองให้สาหร่ายชนิด *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis gracilis* พบว่า อัตรารอดของโคพีพอดเมื่อให้สาหร่ายแต่ละชนิดไม่แตกต่างกัน โดยมีอัตรารอดสูงกว่า 50% ทุกชนิดอาหาร อย่างไรก็ดี พบว่าโคพีพอดที่ให้สาหร่าย *I. galbana* และ *T. gracilis* มีอัตรารอดสูงกว่าเมื่อให้สาหร่าย *C. calcitrans* หรือสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดรวมกันเล็กน้อย สอดคล้องกับการศึกษาของ Klein Breteler (1990) รายงานว่าสาหร่ายขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* และ *Rhodomonas* sp. เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเลี้ยงโคพีพอดชนิด *Temora longicornis* และ *Pseusocalanus elongates* ในระยะนอเพลียส ส่วนเฮเทอโรโทรฟิคแฟลกเจลเลตชนิด *Oxyrrhis marina* เหมาะสำหรับโคพีพอดในระยะโคพีโพดิด ในขณะที่ผลการศึกษาของ Milione and Zhen (2007) รายงานว่าโคพีพอดชนิด *Acartia sinjiensis* ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมระหว่าง *Tetraselmis chuii* และ *Isochrysis* sp. (Tahitian strain) จะมีการเพิ่มของประชากรสูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่ายชนิดเดียวหรือสาหร่ายชนิดอื่นๆ เช่น *Nanochloropsis* sp. และ *Rhodomonas maculata* ส่วนอัตราการฟักไข่ของโคพีพอดจะสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยสาหร่าย *T. chuii* ชนิดเดียวและอาหารผสมระหว่าง *T. chuii* และ *Isochrysis* sp. ทั้งนี้ดูเหมือนว่าอัตราการเติบโตและผลผลิตของโคพีพอดจะมีค่าสูงเมื่อให้อาหารแบบผสมคละชนิดสาหร่าย อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาของ Camus (2012) พบว่า อัตรารอดของตัวอ่อนระยะนอเพลียสและระยะโคพีโพดิดของ *Bestiolina similis* เมื่อให้สาหร่ายชนิด *Pavlova salina* และ *Isochrysis* sp. (Tahitian strain) แบบชนิดเดี่ยวเป็นอาหารมีค่าไม่ต่างจากการให้อาหารแบบผสม

1 28214304

เอกสารอ้างอิง

พิชญา ชัยนาค. 2559. ข้อมูลพื้นฐานของโคพีพอด. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการเพาะเลี้ยงโคพีพอดในบ่อดินเพื่อสนับสนุนธุรกิจการเลี้ยงกุ้งทะเล. ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต จังหวัดภูเก็ต วันที่ 11-12 กุมภาพันธ์ 2559.

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

สุนีย์ สุวภีพันธ์. 2527. แพลงก์ตอนในอ่าวไทย: คู่มือการศึกษาแพลงก์ตอนสัตว์. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 9. สถานวิจัยประมงทะเล กองประมงทะเล กรมประมง.

สุภาวดี จุลละศร. 2553. การศึกษาความหลากหลายของฮาร์แพคติคอยโคพีพอดที่อาศัยอยู่กับสาหร่ายทะเลและเพาะเลี้ยงเป็นอาหารมีชีวิตของลูกกุ้ง. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2553.

สุภาวดี จุลละศร, วงศ์ปิยะ อนันต์สถิตย์พร, ปรัชย์เฉก คลังสิน, ภาวนา กังเตีย และรัชดาวรรณ จุลลวาทีเลิศ. 2556. เปรียบเทียบอัตรารอดและการเจริญเติบโตของลูกกุ้งกุลาดำ ที่เลี้ยงด้วย *Tigriopus* (Copepoda, Haracticoida, Harpacticidae) 3 ชนิด เป็นอาหารมีชีวิต. ประมวลผลงานวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล 2555 "การบูรณาการการศึกษาวิทยาศาสตร์ทางทะเลภายใต้สภาวะการเปลี่ยนแปลงของโลก". 17-19 ตุลาคม 2555 โรงแรมตวันนา กรุงเทพมหานคร. หน้า 104-116.

สุภาวดี จุลละศร, ปรัชย์เฉก คลังสิน, ภาวนา กังเตีย, รัชดาวรรณ จุลลวาทีเลิศ, วงศ์ปิยะ อนันต์สถิตพร และพรตรียา กมุดรัตน์. 2558. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนลายปล้องจากการอนุบาลด้วยฮาร์แพคติคอยโคพีพอด. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. ปีที่ 38 ฉบับที่ 3. หน้า 283-294.

อมรรัตน์ กนกรุ่ง, จารุนันท์ ประทุมยศ และณิษา สิรนนท์ธนา. 2556. ผลของไนโตรเจนที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis galbana* ต่อองค์ประกอบทางเคมีของโคพีพอดและ การเติบโตของลูกปลาการ์ตูนดำแดง *Amphiprion ephipium*. ประมวลผลงานวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล 2555 "การบูรณาการการศึกษาวิทยาศาสตร์ทางทะเลภายใต้สภาวะการเปลี่ยนแปลงของโลก". 17-19 ตุลาคม 2555 โรงแรมตวันนา กรุงเทพมหานคร. หน้า 210-219.

Ananthi P, Santhanam P, Nandakumar R, Ananth S, Jothiraj K, Kumar SD, et al. 2011. Production and utilization of marine copepods as live feed for larval rearing of tiger shrimp *Penaeus monodon* with special emphasis on astaxanthin enhancement. Indian Journal of Natural Sciences. 1(8): 494-503.

Araujo, H.M.P. 2006. Distribution of Paracalanidae species (Copepoda, Crustacean) in the continental shelf off Sergipe and Alagoas States, Northeast Brazil. Brazilian Journal of Oceanography. 54(4): 173-181.

Bell, J.G., McEvoy, L.A., Estevez, A., Shields, R.J. and Sargent, J.R. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. Aquaculture. 227: 211-220.

Boxshall, G.A. 2004. An Introduction to Copepod Diversity. The Ray Society. London. 966 p.

Camus, T. 2012. The improvement of copepods intensive culture protocols as live feeds for aquaculture hatcheries. PhD. Thesis, James Cook University.

Carotenuto, Y., Esposito, F., Pisano, F., Lauritano, C., Perna, M., Miralto, A. and Ianora, A. 2012. Multi-generation cultivation of the copepod *Calanus helgolandicus* in a re-circulating system. Journal Experimental Marine Biology and Ecology. 418-419: 46-58.

Cassiano, E.J., Ohs, C.L., Weirich, C.R., Breen, N.E. and Rhyne, A.L. 2011. Performance of Larval Florida Pompano Fed Nauplii of the Calanoid Copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*, North American Journal of Aquaculture. 73(2): 114-123.

Chen, Q., Sheng, J., Lin, Q., Gao, Y. and Lv, J. 2006. Effects of salinity on reproduction and survival of the copepod *Pseudodiaptomus annandalei*. Aquaculture. 258: 575-582.

Davis, C.C. 1955. The Marine and Fresh Water Plankton. Michigan State University Press.

Doi, M., Ohno, A., Taki, Y., Singhagraiwan, T. and Kohno, H. 1997a. Nauplii of the Calanoid Copepod, *Acartia sinjiensis* as an Initial Food Organism for Larval Red Snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. Suisanzoshoku. pp. 31-40.

Doi, M., Toledo, J., Golez, M., de los Santos, M. and Ohno, A. 1997b. Preliminary investigation of feeding performance of larvae of early red-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, reared with mixed zooplankton. Hydrobiologia. 358: 259-63.

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. 315: 155-166.

Farhadian, O., Yusoff, F.M. and Arshad, A. 2007. Ingestion rate of postlarvae *Penaeus monodon* fed *Apocyclops dengizicus* and *Artemia*. Aquaculture. 269: 265-70.

Hirst, A.G. and Bunker, A.J. 2003. Growth of marine planktonic copepods: Global rates and patterns in relation to chlorophyll *a*, temperature, and body weight. Limnol. Oceanogr., 48(5): 1988-2010.

Huys, R. and Boxshall, G.A. 1991. Copepod evolution. The Ray Society, London, England. 468 p.

Kimmerer, W.J. 1984. Spatial and temporal variability in egg production rates of the calanoid copepod *Acrocalanus inermis*. Marine Biology. 78: 165-169.

Klein Breteler, W.C.M., Schogt, N. and Gonzalez, S.R. 1990. On the role of food quality in grazing and development of life stages, and genetic change of body size during cultivation of pelagic copepods. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.135: 177-189.

Kleppel, K.S. 1993. On the diets of calanoid copepods. Marine Ecology Progress Series. 99: 183-195.

Kraul, S. 1993. Larviculture of the Mahimahi Coryphaena hippurus in Hawaii, USA. Journal of the World Aquaculture Society. 24(3): 410-421.

Lance, J. 1963. The Salinity Tolerance of Some Estuarine Planktonic Copepods. Limnology and Oceanography. 8: 440-449.

Li, C., Luo, X., Huang, X. and Gu, B. 2008a. Effects of Temperature, Salinity, pH, and Light on Filtering and Grazing Rates of a Calanoid Copepod (*Schmackeria dubia*). The Scientific World JOURNAL. 8: 1219-1227.

Li, J., Sun, S., Li, CZhang, Z. and Pu, X. 2008b. Effects of different diets on the reproduction and naupliar development of the copepod Acartia bifilosa. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 355(2): 95-102.

Liao, I.C., Su, H.M. and Chang, E.Y. 2001. Techniques in fi nfi sh larviculture in Taiwan. Aquaculture. 200: 1-31.

Liu, G. and Xu, D. 2009. Effects of calanoid copepod *Schmackeria poplesia* as a live food on the growth, survival and fatty acid composition of larvae and juveniles of Japanese fl ounder, *Paralichthys olivaceus*. Journal of Ocean University of China. 8(4): 359-65.

Mauchline, J. 1998. Advances in Marine Biology: The Biology of Calanoid Copepods. Volume 33. London: Academic Press.

Mauchline, J., Blaxter, J.H.S., Southward, A.J., Tyler, P.A., 1998. The Biology of Calanoid Copepods - Introduction. Elsevier Academic Press. 710 pp.

McKinnon, A.D. 1996. Growth and development in the subtropical copepod *Acrocalanus gibber*. Limnol. Oceanogr., 41(7): 1438-1447.

McKinnon, A.D. and Duggan, S. 2001. Summer egg production rates of paracalanid copepods in subtropical waters adjacent to Australia's NorthWest Cape. Hydrobiologia. 453/454: 121-132.

McKinnon, A.D., Duggan, S., Nichols, P.D., Rimmer, M.A., Semmens, G. and Robino, B. 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. Aquaculture. 223: 89-106.

Milione, M. and Zeng, C. 2007. The effects of algal diets on population growth and egg hatching success of the tropical calanoid copepod, *Acartia sinjiensis*. Aquaculture. 273(4): 656-664.

Milione, M. and Zeng, C. 2008. The effects of temperature and salinity on population growth and egg hatching success of the tropical calanoid copepod, *Acartia sinjiensis*. Aquaculture. 275: 116-123.

Mullin, M.M. and Brooks, E.R. 1967. Laboratory culture, growth rate, and feeding behavior of a planktonic marine copepod. Limnology and Oceanography. 12(4): 657-666.

Ohno, A. 1992. Fundamental study on the extensive seed production of the red seabream, Pagrus major. Special Research Report No. 2, Japan Sea Farming Association, 110 pp. (in Japanese with English abstract)

Ohs, C.L., Rhyne, A.L., Grabe, S.W., DiMaggio, M.A. and Stenn, E. 2010. Effects of salinity on reproduction and survival of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*. Aquaculture. 307: 219-224.

Olivotto, I., Buttino, I., Borroni, M., Piccinetti, C.C., Malzone, M.G. and Carnevali, O. 2008. The use of the Mediterranean calanoid copepod Centropages typicus in Yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. Aquaculture. 284: 211-216.

Payne, M.F., Rippingale, R.J. and Longmore, R.B. 1998. Growth and survival of juvenile pipefish (*Stigmatopora argus*) fed live copepods with high and low HUFA content. Aquaculture. 167: 237-245.

Payne, M.F. and Rippingale, R.J. 2001. Rearing West Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched *Artemia*. Aquaculture. 188: 353-361.

Payne, M.F. and Rippingale, R.J. 2001. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. Aquaculture. 201: 329-342.

Payne, M.F., Rippingale, R.J. and Cleary, J.J. 2001. Cultured copepods as food for West Australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae. Aquaculture. 194: 137-150.

Pedersen, B.H. and Hjelmeland, K. 1988. Fate of trypsin and assimilation efficiency in larval herring (*Clupea harengus*) following digestion of copepods. Marine Biology. 97: 467-476.

Rajkumar, M., Kumaraguru vasagam, K.P. 2006. Suitability of the copepod, *Acartia clausi* as a live feed for seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): compared to traditional live-food organisms with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture. 261(2): 649-58.

Rippingale, R.J. and Payne, M.F. 2001. Intensive cultivation of a calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. A Guide to Procedures. Department of Environmental Biology, Curtin University of Technology. Perth WA, Australia. 60 p.

Santhanam P. and Perumal, P. 2012. Evaluation of the marine copepod *Oithona rigida* Giesbrecht as live feed for larviculture of Asian seabass *Lates calcarifer* Bloch with special reference to nutritional value. Indian Journal of Fisheries. 59(2): 127-34.

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., Lòpez, M.G.N., Cavazos, D.A.V., Cruz, A.C.P. and Ortega, A.G. Advance en Nutrición Acuicola VIII. VIII Symposium Internacional de Nutrición Acuicola. 15-17 November, Universidad Autónoma de Nuevo Leòn, Monterray, Nuevo Leòn, México. pp. 84-94.

Schipp, G.R, Bosmans, J.M.P. and Marshall, A.J. 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* app. Aquaculture. 174: 81-88.

Sheng, J., Lin, Q., Chen, Q., Gao, Y., Shen, L. and Lu, J. 2006. Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach. Aquaculture. 256: 596-607.

Støttrup, J.G., Richardson, K., Kirkegaard, E., Pihl, N.J., 1986. The cultivation of Acartia tonsa Dana for use as a live food source for marine fish larvae. Aquaculture. 52: 87-96.

Sun, Y.Z., Yang, H.L., Huang, K.P., Ye, J.D. and Zhang, C.X. 2013. Application of autochthonous *Bacillus* bioencapsulated in copepod to grouper *Epinephelus coioides* larvae. Aquaculture. 392-395: 44-50.

Suwanrumpha, W. 1980b. Zooplankton in the inner Gulf of Thailand II. Species group and seasonal variation in the copepod 1975-1976. Mar. Fish. Lab. Tech. Paper. No. 22/7.

Toledo, J.D., Golez, M.S., Doi, M. and Ohno, A. 1999. Use of Copepod Nauplii During Early Feeding Stage of Grouper *Epinephelus coioides*. Fisheries Science. 65(3): 390-397.

Watanabe, T., Kitajima, C. and Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture. 34: 115-143.