บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

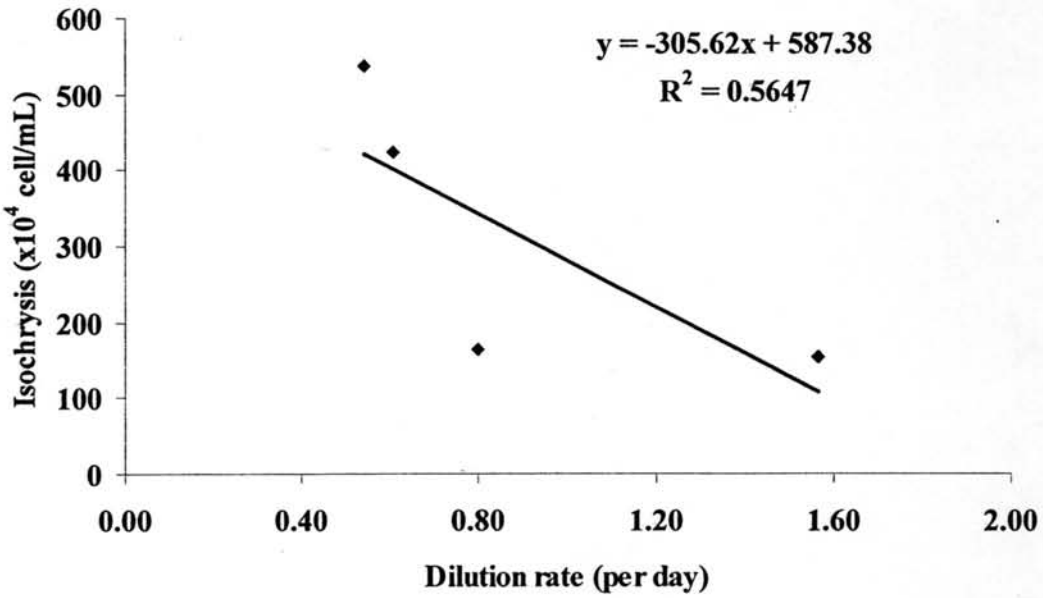
วิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis galbana* แบบกะในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร ปริมาตรการเพาะเลี้ยง 1 ลิตร พบว่าสาหร่ายมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 1449 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 13 ของการทดลอง และมีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.97 ต่อวัน สาหร่ายชนิดนี้มีความเหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื่องจากสามารถเลี้ยงได้ง่าย และเซลล์จะสามารถเติบโตในระยะคงที่ (Stationary phase) ได้นานโดยไม่ตายและตกตะกอนลง ดังจะเห็นได้ว่าหลังจากที่ *I. galbana* เติบโตเข้าสู่ระยะคงที่นั้น ยังคงพบสาหร่ายอยู่ในขวดเลี้ยงได้นานกว่า 39 วัน (ภาพที่ 4-1) ในขณะที่สาหร่ายเซลล์เดียวชนิดอื่นที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเช่น *Chaetoceros* นั้น แม้ว่าจะสามารถนำมาเลี้ยงแบบต่อเนื่องได้ (มะลิวัลย์และสรวิศ, 2549) แต่หากปล่อยให้เซลล์เข้าสู่ระยะคงที่จะเกิดการตกตะกอนและตายลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการเลือกใช้สาหร่าย *I. galbana* สำหรับระบบผลิตแบบต่อเนื่องเพื่อใช้เป็นอาหารของโคพีพอด จึงมีความเหมาะสมกว่าการใช้สาหร่าย *Chaetoceros*

เมื่อทำการเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ขนาด 1.4 ลิตร ในการทดลองหัวข้อ 4.1.2 พบว่าเมื่อเริ่มต้นเลี้ยงสาหร่ายที่อัตราการเจือจาง 0.54 ต่อวัน ให้ความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ 535 ± 234 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางเป็น 0.86 ต่อวัน ซึ่งใกล้เคียงกับอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้จากการเลี้ยงแบบกะพบว่า ให้ความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 630 ± 182 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 1.56 ต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ลดลงเหลือ 152 ± 99 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนผลการทดลองในหัวข้อ 4.1.3 แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพปริมาตร 5 ลิตร มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในหัวข้อ 4.1.2 คือ เมื่ออัตราการเจือจางเพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย *I. galbana* ลดลง โดยที่อัตราการเจือจาง 0.61 ต่อวัน ให้ความหนาแน่นเซลล์เท่ากับ 423 ± 93.69 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 0.80 ต่อวัน ความหนาแน่นเซลล์ลดลงเหลือ 163 ± 97 x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย *I. galbana* มีแนวโน้มลดลงเมื่ออัตราการเจือจางเพิ่มขึ้น (Palmer *et al.*, 1975) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเพาะเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* แบบต่อเนื่องได้ในค่าอัตราการเจือจางสูงกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดของการเลี้ยงแบบกะได้ ทั้งนี้เป็นเพราะการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในที่นี้ไม่มีความจำกัดเรื่อง

ความเข้มข้นของสารอาหารภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ทำให้รูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและความหนาแน่นเซลล์ไม่เป็นไปตามทฤษฎี โดยเมื่อเขียนกราฟจากผลการทดลองที่เกิดขึ้นจริง (ภาพที่ 5-1) พบว่าความหนาแน่นเซลล์ของสาหร่าย *I. galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องจะแปรผกผันกับการเพิ่มอัตราการเจือจาง ลักษณะความสัมพันธ์แบบนี้เรียกว่าเป็นการเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่ไม่ใช่คีโมแสตท (Non-chemostat Continuous Culture) (Wang *et al.*, 1979)



ภาพที่ 5-1 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางและความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *Isochrysis galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ในถังปฏิกรณ์ขนาด 1.4 ลิตร และขนาด 5 ลิตร

การศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของโคพีพอด โดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ระยะการเติบโต การสืบพันธุ์ และปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญในการเพาะเลี้ยง สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการออกแบบระบบการเลี้ยง พบว่าการจำแนกชนิดเบื้องต้น โคพีพอดที่ใช้ในการศึกษานี้จัดอยู่ในสกุล *Oithona* sp. ระยะพัฒนาของโคพีพอดแบ่งออกเป็น 3 ระยะหลักๆ คือ ระยะนอเพลียส (nauplius larva) ระยะโคพีโพดิด (copepodid larva) และระยะโตเต็มวัย (adult) ซึ่งแต่ละระยะจะแบ่งออกเป็นระยะย่อยๆ อีก ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าโคพีพอดตัวเมียระยะโตเต็มวัยนั้นให้ไข่เฉลี่ยครั้งละ 30 ± 2.7 ฟองต่อตัว ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของธิดาและสุนิตย์ (2527) ได้รายงานไว้ว่าโคพีพอดชนิด *Tigriopus japonicus* ตัวเมียจะให้ไข่ประมาณ 10-48 ฟองต่อครั้ง โดยที่ตัวเมียแต่ละตัวสามารถผลิตไข่ได้ 6-9 ครั้ง ช่วงการให้ไข่แต่ละครั้งห่างกัน 2-4 วัน ส่วนขนาดของโคพีพอดนั้นพบว่าระยะนอเพลียสมีความยาวเฉลี่ย 140 ไมโครเมตร กว้าง 100 ไมโครเมตร เมื่อโตเต็มวัย

มีความยาวเฉลี่ย 1.3 มิลลิเมตร ความกว้าง 400-600 ไมโครเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Schipp *et al.* (1999) ที่รายงานไว้ว่าโคพีพอดชนิด *Acartia* spp. ระยะนอเพลียสมีความยาว 106-250 ไมโครเมตร กว้าง 65-120 ไมโครเมตร และเมื่อโตเต็มวัยจะมีความยาว 820-965 ไมโครเมตร และกว้าง 300-355 ไมโครเมตร

พบว่าการใช้หัวเชื้อโคพีพอดที่เริ่มต้นจากหัวเชื้อที่มีโคพีพอดทุกระยะปนกัน ให้ความหนาแน่นโคพีพอดสูงกว่าที่เริ่มต้นจากโคพีพอดเพศเมียที่มีถุงไข่ ซึ่งวิธีนี้เมื่อเปรียบเทียบขั้นตอนการทำงานแล้วสะดวกและประหยัดเวลากว่า เนื่องจากไม่ต้องแยกเฉพาะเพศเมียที่มีไข่ และที่สำคัญจะช่วยลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนของเชื้อและโปรโตซัวจากภายนอกเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยง ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดจึงสามารถใช้หัวเชื้อเริ่มต้นโคพีพอดที่มีโคพีพอดทุกระยะปนกันได้ เมื่อศึกษาการเติบโตพบว่าโคพีพอดมีการเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ โดยจะพบโคพีพอดหลายระยะเติบโตปะปนกันคือ ระยะตัวเต็มวัย (ที่มีถุงไข่) ระยะตัวเต็มวัย ระยะโคพีโพดิด ระยะนอเพลียส และยังพบเฉพาะถุงไข่ที่หลุดออกจากตัวโคพีพอด โดยสามารถคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะได้เท่ากับ 0.17 ต่อวัน เมื่อเลี้ยงต่อไปพบว่าโคพีพอดสามารถเติบโตเพิ่มจำนวนต่อไปได้ และยังคงมีโคพีพอดอยู่ในขวดเลี้ยงเป็นเวลานานถึง 71 วัน ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการทดลองมีการดึงน้ำบางส่วนออกจากขวดเลี้ยงและเติมสาหร่ายเข้าไปทดแทนในปริมาณที่เท่ากับน้ำที่นำออกมา จึงทำให้โคพีพอดที่อยู่ภายในระบบมีอาหารเพียงพอและสามารถเติบโตได้ อีกทั้งยังเป็นการเปลี่ยนถ่ายน้ำบางส่วนออกจากขวดซึ่งจะช่วยลดปริมาณและลดความเป็นพิษของแอมโมเนียที่สะสมอยู่ในน้ำเนื่องจากการขับถ่ายของโคพีพอดลงได้อีกด้วย โดยความหนาแน่นสูงสุดของโคพีพอดที่ได้จากการทดลอง 4.2.2.1 และ 4.2.2.2 อยู่ระหว่าง 4,526 - 6,766 ตัวต่อลิตร (ความหนาแน่นระยะนอเพลียส 2,058 - 2,616 ตัวต่อลิตร) ซึ่งมีค่าความหนาแน่นมากกว่าการศึกษาของ Schipp *et al.* (1999) ที่ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงโคพีพอด *Acartia* spp. ในระบบการเลี้ยงแบบกะ ที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Rhodomonas* sp., *Tetraselmis* sp. และ *Isochrysis* sp. ในถังปริมาตร 100 ลิตร พบว่าให้ความหนาแน่นโคพีพอดระยะนอเพลียส 2,000 ตัวต่อลิตร และจากรายงานของ Ohno and Okamura (1988) ที่ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงโคพีพอดสกุล *Acartia tsuensis* พบว่าให้ความหนาแน่นโคพีพอดระยะนอเพลียสเท่ากับ 1,136 ตัวต่อลิตร

นอกจากนี้ การคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะโดยใช้สมการที่ใช้อธิบายการเพิ่มจำนวนแบบ exponential $\left(\text{Specific growth rate}\,(\mu)=\frac{Ln_{x2}-Ln_{x1}}{T_2-T_1}\right)$ นั้นอาจไม่ใช่สมการที่ดีในการอธิบายการเติบโตของโคพีพอด เนื่องจากโคพีพอดมีการเพิ่มจำนวนโดยการปล่อยไข่จำนวนมาก การเพิ่มจำนวนตามรอบของการปล่อยไข่จึงต่างจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เช่นแบคทีเรียหรือสาหร่ายเซลล์เดียว ที่มีการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าจากการแบ่งเซลล์ แต่ในปัจจุบันยังไม่มีสมการไคเนติกส์ที่จะมาใช้อธิบายการเพิ่มจำนวนของโคพีพอดได้อย่างถูกต้อง และยังต้องใช้

ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่จะไปเทียบกับการเติบโตของสาหร่ายที่ใช้เป็นอาหาร ในที่นี้จึงจำเป็นต้องอนุโลมใช้สมการอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate (μ)) เพื่ออธิบายการเติบโตของโคพีพอด

ในการเพาะเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ที่มีปริมาตร 5 ลิตร โดยใช้อัตราการเจือจางเริ่มต้นที่ 0.24 ต่อวัน ซึ่งใกล้เคียงกับอัตราการเติบโตจำเพาะที่ได้จากการเลี้ยงแบบกะ พบว่าโคพีพอดมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 10,873 ± 4,388 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่าย *I. galbana* ในระบบโคพีพอด เท่ากับ 373 ± 68 $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่องนี้สามารถผลิตสาหร่ายได้เพียงพอต่อความต้องการของโคพีพอด หลังจากนั้นเมื่อทำการปรับอัตราการเจือจางขึ้นเป็น 0.33 ต่อวัน พบว่าสาหร่ายที่อยู่ในขวดเลี้ยงโคพีพอดมีความหนาแน่นใกล้เคียงกับอัตราการเจือจางเดิม คือ 332 ± 47 $\times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่โคพีพอดมีความหนาแน่นเฉลี่ย 5,164 ± 1,890 ตัวต่อลิตร ซึ่งลดลงไปจากเดิมประมาณครึ่งหนึ่งและโคพีพอดมีความหนาแน่นสูงสุดประมาณ 30,740 ตัวต่อลิตรในวันที่ 44 ของการศึกษา การทดลองนี้สามารถเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 79 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งการเติบโตของสาหร่ายและโคพีพอดในระบบเลี้ยงที่ใช้ในการทดลองเป็นไปตามรูปแบบของระบบต่อเนื่อง ซึ่งสาหร่ายและโคพีพอดมีการเติบโตในระยะทวีคูณตลอดเวลา และความเข้มข้นของสารอาหาร (ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ฯลฯ ในกรณีของสาหร่าย และปริมาณสาหร่ายในกรณีของโคพีพอด) เป็นปัจจัยที่จำกัดอัตราการเติบโต ซึ่งในสภาวะดังกล่าวความหนาแน่นเซลล์จะแปรผกผันกับอัตราการเจือจาง (Bailey and Oillis, 1986) เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความหนาแน่นของโคพีพอดจะแปรผกผันกับอัตราการเจือจางเช่นกัน โดยเมื่อปรับอัตราการเจือจางสูงขึ้นความหนาแน่นของโคพีพอดที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์จะลดลง

การศึกษาผลของสัดส่วนระหว่างปริมาตรที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Isochrysis* และปริมตารที่ใช้เลี้ยงโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง เริ่มจากการศึกษาสัดส่วนของปริมาตรในระบบสาหร่าย (I) และปริมาตรในระบบโคพีพอด (C) ที่ต่างกัน เพื่อหาสัดส่วนของปริมาตร I:C ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง พบว่าจากการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนปริมาตรของสาหร่าย *Isochrysis* (I) และโคพีพอด (C) มีผลทำให้อัตราการเจือจางที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าที่แตกต่างกัน โดยโคพีพอดในชุดทดลองที่มีอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 จะมีอัตราการเจือจาง 0.61 ต่อวัน สำหรับความหนาแน่นของสาหร่าย *Isochrysis* ที่อยู่ในระบบเลี้ยงโคพีพอด(C) พบว่าจะแปรผกผันกับความหนาแน่นของโคพีพอด เนื่องจากโคพีพอดกินสาหร่ายเป็นอาหาร โดยการเลี้ยงโคพีพอดด้วยอัตราการเจือจางสูง 1.15 ต่อวันในชุดทดลองที่มีอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:1 จะทำให้โคพีพอดมีความหนาแน่นต่ำ ในขณะที่การเลี้ยงโคพีพอดด้วยอัตราการเจือจางต่ำ 0.31 ต่อวันในชุดทดลองที่มีอัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 ทำให้โคพีพอดมีความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ยสูงที่สุด 10,952 ตัว/ลิตร ในขณะเดียวกันก็จะทำให้ความหนาแน่นของสาหร่ายที่อยู่ในถังปฏิกรณ์เลี้ยง

โคพีพอดมีค่าต่ำที่สุดด้วย (ตารางที่ 5-1) จากผลการทดลองนี้จึงได้เลือกใช้อัตราส่วน I:C เท่ากับ 1:2 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 5-1 ผลผลิตของสาหร่าย *Isochrysis* และโคพีพอดในแต่ละชุดทดลองที่มีอัตราส่วนระหว่างปริมาตรของสาหร่าย (I) และปริมาตรของโคพีพอด (C) ต่างกัน

ระบบเลี้ยง	ผลผลิตใน ชุดทดลองที่1 (I:C = 1:2)	ผลผลิตใน ชุดทดลองที่2 (I:C = 1:1)	ผลผลิตใน ชุดทดลองที่1 (I:C = 2:1)
สาหร่าย *Isochrysis* ($x10^4$เซลล์/มิลลิลิตร/วัน)	333	315	225
โคพีพอด (ตัว/ลิตร/วัน)	4,934	2,224	4,320

นำผลทดลองที่ได้จากหัวข้อ 4.4 มาใช้ในการศึกษาการเติบโตของโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ขนาด 10 ลิตร เนื่องจากการทดลองนี้มีการขยายปริมาตรของถังปฏิกรณ์ให้มีขนาดใหญ่ขึ้นจึงต้องปรับปรุงวิธีการในการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่จะเข้าสู่ระบบถังปฏิกรณ์ โดยปริมาณของอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายที่ต้องเตรียมในแต่ละครั้งมีปริมาณมากเกินกว่าที่จะทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน จึงได้มีการสร้างระบบป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเพาะเชื้อโดยใช้ความร้อน ซึ่งทำโดยการสูบอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายในถังเก็บนำมาผ่านการกรองด้วยไส้กรองสำเร็จรูปแบบแคปซูลที่มีรูขนาด 0.3 ไมโครเมตร และอาหารเพาะเชื้อจะไหลผ่านถังน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิประมาณ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วินาที วิธีนี้สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่จะเข้าสู่ระบบผลิตสาหร่ายและระบบผลิตโคพีพอดได้อย่างมีประสิทธิภาพ และทำให้ไม่มีความจำเป็นต้องทำการฆ่าเชื้อในถังอาหารเพาะเชื้อซึ่งจะมีความยุ่งยาก แต่ในการทดลองนี้อัตราการเจือจางค่อนข้างแปรผันมากเนื่องจากการใช้ปั๊มน้ำแบบรีดสายยางเพื่อสูบเอาอาหารเข้าสู่ถังเพาะเลี้ยงสาหร่ายมีการปรับเปลี่ยนตำแหน่งของสายยางซิลิโคนเป็นประจำทุก 4-5 วัน เพื่อป้องกันไม่ให้สายยางเกิดการเสียสภาพ ดังนั้นจึงส่งผลให้อัตราการเจือจางเกิดความไม่คงที่ไปด้วย โดยมีช่วงอัตราการเจือจางเป็น 3 ระดับ ได้แก่ ที่อัตราการเจือจาง 0.25, 0.29 และ 0.39 ต่อวัน ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.29 ต่อวัน ในวันที่ 16 ถึง 23 ของการศึกษา ได้ความหนาแน่นของโคพีพอดมากที่สุดเมื่อเทียบกับอัตราการเจือจางอื่นๆ โดยให้ความหนาแน่นระยะนอเพลียสเฉลี่ย เท่ากับ 9,027 ± 3,988 ตัวต่อลิตร และโคพีพอดรวมทุกระยะเฉลี่ยเท่ากับ 11,898 ± 4568 ตัวต่อลิตร และมีจำนวนสาหร่าย *I. galbana* ในระบบโคพีพอดความหนาแน่นเท่ากับ $124 \pm 21 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เมื่อได้ระบบป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเพาะเชื้อโดยใช้ความร้อนที่มีประสิทธิภาพและมีความเหมาะสมต่อการทดลองในครั้งนี้แล้ว จึงได้มีการศึกษาการเพิ่มระบบหมุนเวียนน้ำเข้ามาใช้ในระบบ เพื่อหมุนเวียนน้ำจากผลผลิตโคพีพอดที่ได้กลับมาใช้เตรียมเป็นอาหารเพาะเชื้อสำหรับสาหร่าย *Isochrysis*ใหม่ โดยจะแยกเอาผลผลิตโคพีพอดที่ได้ในแต่ละวันออกก่อนที่จะนำมากรองผ่านชุดกรองขนาด 0.3 ไมโครเมตร โดยการกรองเป็นการกรองแบบ partial filtration เพื่อเอาสาหร่ายและตะกอนขนาดเล็กออก น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะมีลักษณะใสขึ้น และจะนำมาปรับความเค็มให้ได้ 30 พีเอสยู ด้วยน้ำปะปาและฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนก่อนนำกลับมาใช้ใหม่ วิธีนี้สามารถนำน้ำกลับมาใช้เตรียมอาหารเพาะเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไปได้อย่างมีประสิทธิ และยังเป็นการประหยัดน้ำได้อีกด้วย

เมื่อเปรียบเทียบระบบเลี้ยงโคพีพอดแบบต่อเนื่องในงานวิจัยนี้ กับระบบผลิตโคพีพอดที่ได้มีรายงานไว้ (ตารางที่ 2-1) ซึ่งมีรูปแบบการเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นแบบกะและกึ่งต่อเนื่อง อาหารที่นิยมใช้เป็นสาหร่าย *Isochrysis galbana* จากการศึกษาของ Rippingale (2000) ซึ่งเพาะเลี้ยงโคพีพอดสกุล *Gladioferens imparipes* โดยใช้ *Isochrysis galbana* เป็นอาหาร โดยเริ่มต้นจากการเลี้ยงโคพีพอดระยะตัวเต็มวัยในถังปริมาตร 500 ลิตร จากนั้นวันที่ 14 – 21 ของการทดลองโคพีพอดเริ่มมีการปฏิสนธิ โดยตัวเมียจะฝักไข่ออกมาเป็นระยะนอเพลียส จากนั้นจึงมีการแยกตัวอ่อนระยะนอเพลียสออกจากถัง โดยมีการทำกล่องสำหรับดักจับนอเพลียสเพื่อนำนอเพลียสเข้าสู่ถังขนาด 200 ลิตร จากนั้นทำการเลี้ยงต่ออีก 40 วัน พบว่าได้ผลผลิตเท่ากับ 1,080 ตัวต่อลิตรต่อวัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลผลผลิตที่ได้กับการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งเป็นการเลี้ยงแบบต่อเนื่องมีผลผลิตที่ได้สูงกว่า โดยได้ผลผลิตของนอเพลียส 1,856 และ 1,333 ตัวต่อลิตรต่อวัน ในระบบเลี้ยงขนาด 5 และ 10 ลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษานี้ยังคงเป็นการเลี้ยงโคพีพอดในระดับห้องปฏิบัติการในถังเลี้ยงขนาดเล็ก การขยายขนาดระบบขึ้น ก็อาจมีผลเปลี่ยนแปลงผลผลิตได้

ตารางที่ 5-2 ผลผลิตโคพีพอดที่ได้จากงานวิจัยนี้เมื่อเปรียบเทียบกับระบบเลี้ยงโคพีพอดแบบกะและแบบต่อเนื่องในงานวิจัยอื่นๆ

ขนาดของถังเลี้ยง (ลิตร)	รูปแบบของระบบโดยสังเขป	ผลผลิตระยะนอเพลียส (ตัว/ลิตร/วัน)	เอกสารอ้างอิง
200	ระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ ใช้สาหร่าย *Rhodomonas baltica* และ *Isochrysis galbana*	213	Stottrup *et al.* (1986)

200	ระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ ใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana*	1,080	Rippingale (2000)
60	ระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ ใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana*	1,117	Payne and Rippingale (2001)
500	ระบบการเพาะเลี้ยงแบบกะ ใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana*	878	Payne and Rippingale (2001)
1,000	ระบบการเพาะเลี้ยง แบบกึ่งต่อเนื่อง ใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana*	520	Payne and Rippingale (2001)
5	ระบบการเพาะเลี้ยง แบบต่อเนื่อง ใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana*	1,856	งานวิจัยนี้
10	ระบบการเพาะเลี้ยง แบบต่อเนื่อง ใช้สาหร่าย *Isochrysis galbana* เป็นอาหาร มีการหมุนเวียนน้ำกลับมาใช้เป็นอาหารเพาะเชื้อสาหร่าย	1,333	งานวิจัยนี้

สรุปผลการทดลอง

1. การเติบโตของสาหร่าย *Isochrysis galbana* ในระบบการเลี้ยงแบบกะ มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.97 ต่อวัน ใกล้เคียงกับอัตราการเจือจางที่ให้ผลผลิตของสาหร่าย *I. galbana* สูงสุดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

2. ในระบบการเลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่อง ความหนาแน่นของสาหร่าย *I. galbana* จะลดลงเมื่ออัตราการเจือจางของระบบมีค่าสูงขึ้น โดยในการทดลองนี้ได้แปรผันอัตราการเจือจางของสาหร่ายอยู่ระหว่าง 0.54-1.56 ต่อวัน และมีความหนาแน่นเซลล์สาหร่ายในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องระหว่าง $(535 \pm 234 - 152 \pm 99) \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3. โคพีพอดที่ใช้ในการวิจัยนี้ จัดอยู่ในสกุล *Oithona* sp. ตัวเต็มวัยมีความยาวเฉลี่ย 1.3 มิลลิเมตร ความกว้าง 400-600 ไมโครเมตร ปริมาณไข่ 30.20 ± 2.78 ฟองต่อตัว ผลผลิต

นอเพลียส 193 ± 13 ตัว จากโคพีพอดตัวเมียที่มีไข่ เริ่มต้น 10 ตัว ในรอบการเลี้ยง 14 วัน เมื่อนำมาทำการเลี้ยงแบบกะโดยใช้สาหร่าย *I galbana* เป็นอาหาร พบว่ามีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.17 ต่อวัน

4. การเลี้ยงโคพีพอดในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยใช้สาหร่าย *I. galbana* ที่ผลิตจากระบบผลิตสาหร่ายแบบต่อเนื่องเป็นอาหาร พบว่าอัตราการเจือจางที่สามารถเลี้ยงโคพีพอดให้ได้อัตราผลผลิตสูงอยู่ในช่วง 0.16 ถึง 0.39 ต่อวัน ซึ่งจะให้ความหนาแน่นของโคพีพอดในถังปฏิกรณ์อยู่ระหว่าง 12,037 ± 5,523 - 7,453 ± 2,243 ตัว/ลิตร โดยการแปรผันอัตราส่วนระหว่างปริมาตรถังปฏิกรณ์เลี้ยงสาหร่ายแบบต่อเนื่อง (I) และปริมาตรถังปฏิกรณ์เลี้ยงโคพีพอด (C) พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ I:C เท่ากับ 1:2 ซึ่งจะทำให้อัตราการเจือจางของถังปฏิกรณ์เลี้ยงสาหร่ายเท่ากับ 0.61 ต่อวัน และอัตราการเจือจางของถังปฏิกรณ์เลี้ยงโคพีพอดเท่ากับ 0.31 ต่อวัน อย่างไรก็ตามอัตราการเติบโตของโคพีพอดที่เลี้ยงแบบต่อเนื่องในงานวิจัยนี้ยังคงมีความแปรปรวนมาก เนื่องจากการควบคุมอัตราการไหลของอาหารเพาะเชื้อในระบบยังไม่ดีเท่าที่ควร

5. การสร้างระบบป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเพาะเชื้อโดยการกรองด้วยไส้กรองขนาด 0.3 ไมโครเมตร และผ่านความร้อน 80-90 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถช่วยป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ไม่พึงประสงค์ได้เป็นอย่างดี ซึ่งวิธีนี้ช่วยให้ไม่จำเป็นต้องทำการต้มหรือนึ่งฆ่าเชื้อให้กับอาหารเพาะเชื้อที่บรรจุในถังเก็บปริมาณมาก และทำให้การขยายขนาดถังปฏิกรณ์ให้ใหญ่ขึ้นสามารถทำได้ง่าย นอกจากนี้ยังช่วยลดต้นทุนการเดินระบบลงได้มาก

6. การนำน้ำที่ออกจากถังปฏิกรณ์เลี้ยงโคพีพอด นำกลับมาบำบัดเพื่อหมุนเวียนกลับมาใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเชื้อสาหร่ายใหม่ โดยวิธีการกรองแบบ partial filtration ฆ่าเชื้อในน้ำด้วยคลอรีนก่อนนำกลับมาผสมกับอาหารเพาะเชื้อสาหร่าย วิธีนี้สามารถนำน้ำกลับมาใช้เตรียมอาหารเพาะเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ช่วยลดการใช้น้ำลงได้ในปริมาณมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *I. galbana* และโคพีพอดแบบต่อเนื่องในครั้งนี้ ยังคงมีการพบปัญหาเกี่ยวกับอัตราการเจือจางของระบบไม่ค่อยคงที่ เนื่องจากการใช้เครื่องสูบน้ำแบบรีดสาย (peristaltic pump) ต้องมีการเปลี่ยนตำแหน่งบริเวณสายที่ถูกรีดเรื่อยๆ เพื่อป้องกันไม่ให้สายขาด ทำให้ส่งผลต่ออัตราการเติมอาหารเพาะเชื้อลงในถังปฏิกรณ์เลี้ยงสาหร่าย และส่งผลให้อัตราการเจือจางของระบบทั้งหมดไม่คงที่ นอกจากนั้นเครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยางยังมีราคาแพงมาก ซึ่งเหตุที่ยังคงต้องใช้เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายยางในงานวิจัยนี้เนื่องจากระบบที่ทดลองยังมีขนาดเล็ก เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายจะมีข้อได้เปรียบในการสูบน้ำที่อัตราการไหลต่ำมากได้ หากจะขยายระบบให้ใหญ่ขึ้นควรมีการพัฒนาปรับเปลี่ยนเครื่องสูบน้ำแบบอื่น เช่น ระบบเครื่องสูบเคมีที่ใช้ไดอะแฟรม (diaphragm dosing pump) ซึ่งจะมีราคาถูกกว่าและให้อัตราการไหลที่คงที่กว่า

2. ควรทำการศึกษาในระบบที่ใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะในขนาดที่สามารถให้ผลผลิตได้เพียงพอสำหรับนำไปเป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำในฟาร์มเพาะเลี้ยงทั่วไป ซึ่งจะมีปริมาตรของถังเลี้ยงโคพีพอดระหว่าง 500-1,000 ลิตร

3. ควรทดลองใช้สาหร่ายชนิดอื่นๆ ร่วมกับการใช้สาหร่าย *I. galbana* เพื่อจะได้เป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหารที่มีประโยชน์ต่อโคพีพอด ซึ่งการใช้สาหร่ายหลายชนิดร่วมกันนั้นอาจส่งผลให้ได้ผลผลิตของโคพีพอดเพิ่มขึ้นได้

4. ควรพัฒนาระบบผลิตโคพีพอดเฉพาะระยะที่ต้องการ เช่น ระบบเลี้ยงสำหรับผลิตโคพีพอดระยะนอเพลียส หรือผลิตระยะตัวเต็มวัย เพราะทั้ง 2 ระยะนี้เป็นระยะที่นิยมนำมาเป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำ ดังนั้นรูปแบบการเลี้ยงควรมีการดัดแปลงถังปฏิกรณ์ที่ใช้เลี้ยงโคพีพอดให้มีระบบแยกเก็บผลผลิตระยะนอเพลียส เช่นในงานวิจัยของ Rippingale (2000) ซึ่งมีอุปกรณ์สำหรับดักโคพีพอดระยะนอเพลียสภายในถังเลี้ยง เพื่อส่งไปยังถังเก็บเกี่ยวผลผลิต เรียกอุปกรณ์นี้ว่า mesh cage ซึ่งมีรูขนาด 140 ไมโครเมตร สำหรับให้เฉพาะนอเพลียสผ่านเท่านั้น โดยใช้แสงไฟเป็นตัวล่อ ซึ่งวิธีนี้ช่วยป้องกันไม่ให้นอเพลียสถูกระยะอื่นๆ กิน และยังช่วยรักษาโคพีพอดระยะอื่นๆ ภายในถังเลี้ยงไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์ต่อไป

5. ควรทำการศึกษาถึงอัตราการกินและอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียของโคพีพอด เพื่อเป็นข้อมูลในการจัดการระบบเพาะเลี้ยงโคพีพอดให้เหมาะสม

6. ควรศึกษาวิธีการเก็บและรักษาไข่โคพีพอด เพื่อนำมาใช้เป็นตัวตั้งต้นสำหรับเพาะขยายพันธุ์โคพีพอด โดยอาจใช้แนวทางการเก็บรักษาไข่ของอาร์ทีเมียมาเป็นต้นแบบ