

การผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาบใบ (*Porphyra* sp.) เพื่อการอนุบาลลูกหอยตะกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871) ระยะวัยอ่อนและวัยรุ่น

Single Cell Detritus Production from Seaweed (*Porphyra* sp.) for Tropical Oyster (*Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871) Larvae and Juvenile Nursing

ศุภพัชรา ชูเสียงแจ้ว (Supatcha Chooeangiaew)* ดร.สุวัฒน์ ธีญารัต (Dr.Suwat Tanyaros)**

ดร.ปริดา ภูมิ (Dr.Preeda Phumee)*** ดร.วรพร ธารางกูร (Dr.Woraporn Tarangkoon)****

บทคัดย่อ

การผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาบใบ *Porphyra* sp. เพื่อทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวในการอนุบาลลูกหอยตะกรมกรามขาวในระยะวัยอ่อนและวัยรุ่น พบว่า การบดสาหร่ายให้มีอนุภาคขนาด < 200 ไมโครเมตร แช่ในน้ำจืด พร้อมวางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถผลิตซากเซลล์เดียวได้ความหนาแน่นมากที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $33.70 \pm 7.01 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อนำซากเซลล์เดียวที่ผลิตได้มาอนุบาลลูกหอยระยะวัยอ่อน พบว่า ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาบใบไม่สามารถใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวเพื่ออนุบาลลูกหอยในระยะวัยอ่อนได้ ส่วนการทดลองใช้ซากเซลล์เดียวอนุบาลลูกหอยในระยะวัยรุ่นในอัตราทดแทน ที่ระดับ 0, 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า การใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการรอดตายอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวอย่างเดี่ยว โดยพบระดับการใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกหอยระยะวัยรุ่นอยู่ที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์

ABSTRACT

Single cell detritus (SCD) production techniques were developed and the SCD product was used as a partial microalgae substitution for the nursery culture of larvae and juvenile of the tropical oyster (*C. belcheri*) in hatchery. The grind seaweed at particle size <200 μ m was immersed in freshwater and placed on shaker for 2 hrs yielded highest SCD production with an average density of $33.70 \pm 7.01 \times 10^4$ cell/ml. The SCD was partial substitute for nursing the larvae at difference ratio (0, 25, 50, 75 and 100%). The partial SCD substitution was unsuitable for nursing oyster larvae. The SCD was partial substitution for microalgae at replacement rate 0, 25, 50 and 75% for the juvenile. The result showed that average shell width and length, specific growth rate (SGR) and survival rate were significantly different among the treatments ($P < 0.05$). The 50% substitution with SCD is suitable for nursing oyster juvenile.

คำสำคัญ: ซากเซลล์เดียว หอยตะกรมกรามขาว สาหร่ายสาบใบ

Key Words: Single Cell Detritus (SCD), Tropical Oyster (*Crassostrea belcheri*), Seaweed (*Porphyra* sp.)

*นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

**** อาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

บทนำ

หอยนางรมพันธุ์ตะไกรกรมขาวจัดเป็นหอยสองฝาที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีผลผลิตกว่า 8,000 ตันในปี 2554 (กรมประมง, 2554) โดยผลผลิตหอยนางรมพันธุ์ตะไกรกรมขาวที่ได้จะอาศัยลูกพันธุ์จากธรรมชาติเป็นหลัก จากปัญหาความเสื่อมโทรมทางด้านสิ่งแวดล้อมชายฝั่งในปัจจุบัน ส่งผลให้ปริมาณลูกหอยในธรรมชาติมีปริมาณลดลง (กชนทร, 2544) จนส่งผลกระทบต่อประกอบอาชีพการเลี้ยงหอยนางรมในปัจจุบัน ในประเทศที่พัฒนาแล้ว ที่มีการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงหอยนางรมจะอาศัยลูกพันธุ์ที่ผลิตได้จากโรงเพาะฟักทั้งหมด เนื่องจากการผลิตลูกพันธุ์จากโรงเพาะฟักสามารถควบคุมการผลิตได้ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ (Angell, 1986) สำหรับประเทศไทย เทคโนโลยีการผลิตลูกหอยจากโรงเพาะฟักยังมีการพัฒนาค่อนข้างน้อย มีนักวิจัยหลายคนที่ศึกษาการผลิตลูกพันธุ์หอยนางรมพันธุ์ตะไกรกรมขาวจากโรงเพาะฟักในประเทศไทย ได้แก่ สุวัจน์ (2545) และ Tanyaros et al. (2008) การผลิตลูกพันธุ์หอยนางรมจากโรงเพาะฟักจะใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเป็นอาหารหลัก แต่การผลิตสาหร่ายเซลล์เดียวมีข้อจำกัดหลายประการ โดยเฉพาะแสงสว่างที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสม การใช้แสงจากธรรมชาติเพื่อการเจริญเติบโตจะมีข้อจำกัดในบางฤดูกาล ทำให้ผลผลิตของสาหร่ายเซลล์เดียวมีไม่เพียงพอต่อการอนุบาลลูกหอย ประกอบกับการใช้แสงสว่างจากหลอดไฟฟ้าจะเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตให้สูงขึ้น

เทคโนโลยีการผลิตซากเซลล์เดียว (Single Cell Detritus) เพื่อใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวในการอนุบาลลูกหอยสองฝา มีการศึกษาและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ Uchida and Numaguchi (1996) ได้ทดลองใช้ซากเซลล์เดียวที่ผลิตจาก *Ulva pertusa* ทดลองอนุบาลลูกหอย *Ruditapes philippinarum* และ Pérez Camacho et al. (2005) และ Pérez Camacho et al. (2007) ได้ทดลองใช้ซากเซลล์เดียวที่ผลิตจาก

Laminaria saccharina ทดลองอนุบาลกับลูกหอยชนิดเดียวกัน แต่ในประเทศไทยยังไม่มีผู้ทำการศึกษาในเรื่องนี้

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการทดลองผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายทะเลซึ่งสามารถหาซื้อได้ทั่วไปในท้องตลาด คือ สาหร่ายสาใบ (*Porphyra sp.*) เพื่อใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวในการอนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาว ระยะตัวอ่อน (larvae) และระยะหลังลงเกาะ (juvenile)

หากการผลิตซากเซลล์เดียวที่มีขนาดและองค์ประกอบที่เหมาะสมสามารถใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวในการอนุบาลหอยตะไกรกรมขาวได้นอกจากจะเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวแล้วยังเป็นการส่งเสริมเทคโนโลยีการผลิตลูกหอยนางรมพันธุ์ตะไกรกรมขาวในโรงเพาะฟักให้พัฒนาขึ้น ส่งผลต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงหอยตะไกรกรมขาวของประเทศไทยก้าวสู่เชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาเทคนิคการผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาใบ (*Porphyra sp.*)
2. เพื่อศึกษาผลการใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาใบ (*Porphyra sp.*) เป็นอาหารทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวในการอนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวในระยะวัยอ่อน (larva) และวัยรุ่น (juvenile)

วิธีการวิจัย

1. การผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาใบ (*Porphyra sp.*)

นำสาหร่ายสาใบ *Porphyra sp.* หาซื้อได้จากร้านค้าในท้องตลาด ทำการบดละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นและร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาด 200 ไมโครเมตร นำอนุภาคสาหร่ายที่ผ่านกระบวนการข้างต้นที่มีขนาดเล็กกว่าและใหญ่กว่า 200 ไมโครเมตร 0.5 กรัม ใส่ในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร และเติมน้ำจืด 250 มิลลิลิตร โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ ใช้อุณหภูมิ <

200 ไมโครเมตรพร้อมวางบนเครื่องเขย่าและไม่วางบนเครื่องเขย่า และใช้อุณหภูมิ > 200 ไมโครเมตรพร้อมวางบนเครื่องเขย่าและไม่วางบนเครื่องเขย่า แต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ซ้ำ ทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 15, 30 นาที, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง เพื่อหาชุดการทดลองที่สามารถผลิตเซลล์ที่มีความหนาแน่นสูงสุด โดยนำเซลล์ที่ผ่านเทคนิคการผลิตข้างต้น กรองผ่านผ้ากรองขนาด 20 ไมโครเมตร แล้วเติมน้ำทะเลลงไปเพื่อคั่งน้ำจืดออกจากเซลล์ตามหลักการออสโมซิสป้องกันการแตกของเซลล์ในขั้นตอนการอนุบาลลูกหอยในน้ำทะเล นำเซลล์ที่ผลิตได้หาขนาดของเซลล์ และอนุบาลลูกหอยต่อไป

2. การใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนสำหรับเซลล์เดียวอนุบาลลูกหอยระยะวัยอ่อน

2.1 การเตรียมลูกหอย

ลูกหอยตะไกรมกรามขาวที่ใช้ในการทดลองเป็นลูกหอยที่ได้จากการเพาะพันธุ์จากโรงเพาะฟักหน่วยวิจัยการเพาะพันธุ์หอยทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง โดยวิธีการผสมเทียม (Scarification หรือ Stripping method) โดยใช้ตัวอ่อนระยะ D-shape ที่มีอายุ 3 วัน มีค่าเฉลี่ยของความกว้างและความยาวเริ่มต้นเท่ากับ 83.00 ± 5.71 และ 91.50 ± 7.45 ไมโครเมตร ตามลำดับ

2.2 การเตรียมน้ำและอุปกรณ์การทดลอง

ใช้น้ำทะเลจากบ่อพักน้ำที่มีการสูบขึ้นมาพักไว้เพื่อให้มีการตกตะกอนแล้วผ่านการกรองด้วยไส้กรอง 3 ขนาด คือ 10, 5 และ 1 ไมโครเมตร และผ่านการฆ่าเชื้อด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet หรือ UV) เติมน้ำลงในถังพลาสติกขนาด 5 ลิตร โดยบรรจุปริมาณน้ำ 3 ลิตร ใส่ EDTA ความเข้มข้น 10 ppm เพื่อกำจัดโลหะหนักในน้ำทิ้งไว้อย่างน้อย 1 คืน พร้อมกับเติมอากาศ

2.3 การดำเนินการทดลอง

นำลูกหอยระยะ D-Shape ที่มีอายุ 3 วัน ใส่ในถังอุปกรณ์การทดลองที่เตรียมไว้ข้างต้น ใช้อัตราความหนาแน่น 15 ตัวต่อมิลลิเมตร พร้อมให้อากาศเล็กน้อยให้อาหารลูกหอยตามสัดส่วนแต่ละหน่วยการทดลอง โดยปริมาณอาหารที่ใช้ขึ้นอยู่กับจำนวนลูกหอยและความต้องการของลูกหอย ลูกหอยที่มีอายุ 3-5 วัน จะใช้ *Isochrysis galbana* เพียงชนิดเดียว และเมื่อลูกหอยมีอายุตั้งแต่ 6 วันขึ้นไปใช้ *Chaetoceros calcitrans* ผสมกับ *I. galbana* ในสัดส่วน 50:50 ซึ่งเริ่มต้นจะให้อาหารที่มีความหนาแน่นของเซลล์ 10,000 เซลล์ต่อมิลลิเมตร การให้อาหารจะกระทำทุกวันๆละ 2 ครั้ง คือ เช้าและเย็น ใส่ยาปฏิชีวนะ คือ Neomycin และ Streptomycin ที่ความเข้มข้น 5 ppm เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน โดยใช้สายยางดูดน้ำและลูกหอยออกผ่านตะแกรงผ้ากรอง ที่มีขนาดตา 20 ไมครอน รองรับลูกหอย และมีการเปลี่ยนขนาดตาใหญ่ขึ้นตามขนาดของลูกหอย ซึ่งการเปลี่ยนถ่ายน้ำทำการเปลี่ยนถ่ายทั้งหมด ฉีดน้ำทำความสะอาดระบบการทดลอง โดยใช้แอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 10 ppm แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อไม่มีการตกค้างของแอลกอฮอล์ ทำการสุ่มตัวอย่างลูกหอยทุกครั้งที่มีการถ่ายน้ำในแต่ละหน่วยการทดลองเพื่อคำนวณหาอัตราการรอด

3. การใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนสำหรับเซลล์เดียวอนุบาลลูกหอยระยะวัยรุ่น

3.1 การเตรียมระบบการทดลอง

การทดลองอนุบาลลูกหอยตะไกรมกรามขาวระยะวัยรุ่นทำการทดลองในระบบน้ำหมุนเวียนกึ่งปิด (Semi-close recirculation system) โดยระบบประกอบด้วยปั้มน้ำแบบจุ่มอัตราการสูบ 2,600 ลิตรต่อชั่วโมง ถึงไฟเบอร์ขนาดความจุ 105 ลิตร (กว้าง 50 ซม. × ยาว 70 ซม. × ลึก 30 ซม.) สำหรับใส่ถังอนุบาลลูกหอย ถึงพลาสติกขนาดความจุ 30 ลิตรสำหรับใช้เป็นถังเก็บอาหาร และท่อพีวีซีรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 เซนติเมตร ลึก 12 เซนติเมตร จำนวน 12 ชุด ใช้เป็นถังอนุบาล โดยด้านล่างของท่อพีวีซีปิดด้วย

ผ้ากรองขนาดช่องตา 600 ไมโครเมตร ในแต่ละถังอนุบาลใช้ลูกหอยระยะวัยรุ่น จำนวน 754 ตัว หรืออัตราความหนาแน่นเท่ากับ 4 ตัวต่อตารางเซนติเมตร

(Tanyaros et al., 2012)

3.2 การเตรียมลูกหอยระยะวัยรุ่น

ลูกหอยตะไคร้ที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นลูกหอยที่ได้จากการเพาะพันธุ์จากโรงเพาะฟักหน่วยวิจัยการเพาะพันธุ์หอยทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง โดยลูกหอยที่ใช้ในการทดลอง มีค่าเฉลี่ยความยาวเปลือก 1.78 ± 0.06 มิลลิเมตร ความกว้างเปลือก 1.85 ± 0.03 และน้ำหนัก 0.00099 กรัมต่อตัว

3.3 การเตรียมอาหารซากเซลล์เดียวทดแทน

เลือกเทคนิคที่ดีที่สุดจากการทดลองข้างต้นมาผลิตซากเซลล์เดียวเพื่อใช้ทดลองอนุบาลลูกหอยระยะวัยรุ่น โดยใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนในอัตรา 0, 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยนำซากเซลล์เดียวผ่านกระดาดกรอง GF/C เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 47 มิลลิเมตรและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนัก และน้ำหนักที่ได้ไปคำนวณหาว่าน้ำหนักแห้งของซากเซลล์เดียว ส่วนสาหร่ายเซลล์เดียวที่ใช้เป็นรูปแบบผสม โดยใช้ *C. calcitrans* และ *Tetraselmis* sp. เป็นอาหารในสัดส่วน 50:50 ปริมาณอาหารที่ให้จะเทียบเป็นสัดส่วนของน้ำหนักเซลล์ของอาหารต่อน้ำหนักของลูกหอยมีชีวิต (live weight) ซึ่งสามารถคำนวณอาหารที่ต้องให้ในแต่ละวันของลูกหอยตามวิธีการของ Helm and Bourne (2004) ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น โดยทำการปรับอาหารทุกสัปดาห์ตามน้ำหนักของลูกหอยที่เพิ่มขึ้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design ; CRD) แต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ซ้ำ

3.4 การดำเนินการทดลอง

นำลูกหอยระยะวัยรุ่น ที่มีขนาดและจำนวนตามที่เตรียมไว้ข้างต้น ได้ส่งถึงอนุบาลลูกหอยในระบบสูบน้ำจากถังเก็บอาหารขึ้นสู่กระบอกอนุบาล โดยมีการ

ไหลของน้ำและอาหารในลักษณะจากด้านล่างสู่ด้านบน (up-welling) โดยที่น้ำผ่านท่อลงสู่ด้านล่างถึงอนุบาลผ่านผ้ากรอง และผ่านตัวลูกหอย ไหลออกจากท่อน้ำล้นหมุนเวียนกลับลงสู่ถังเก็บอาหาร อัตราการไหลของน้ำที่ไหลเข้าสู่ถึงอนุบาลแต่ละชุดจะควบคุมด้วยวาล์วเปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดทุก 2 วัน โดยถ่ายน้ำออก 100 % การให้อาหารจะให้หลังจากการถ่ายน้ำเสร็จ ทำการสุ่มตัวอย่างลูกหอยในแต่ละหน่วยทดลองจำนวน 10 ตัว เพื่อวัดความยาวและความกว้างของเปลือกหอยทุกๆ สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองซึ่งน้ำหนักรวมพร้อมทำการคำนวณของแต่ละชุดการทดลองโดยใช้ตะแกรงขนาด 0.42 เซนติเมตร คำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR) ตามวิธีการของ (Dégremonet et al., 2007) ทำการนับจำนวนลูกหอยที่มีชีวิตเพื่อคำนวณหาอัตราการรอดตาย

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

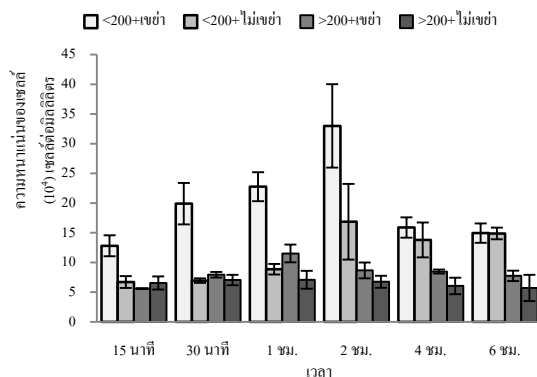
ค่าความหนาแน่นของซากเซลล์เดียวที่ผลิตด้วยเทคนิคต่างๆ ค่าความยาวและความกว้างเปลือก อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตายและค่าเฉลี่ยขนาดของลูกหอยระยะวัยรุ่นที่ได้ทำการทดลอง นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ One-way ANOVA และทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการวิจัย

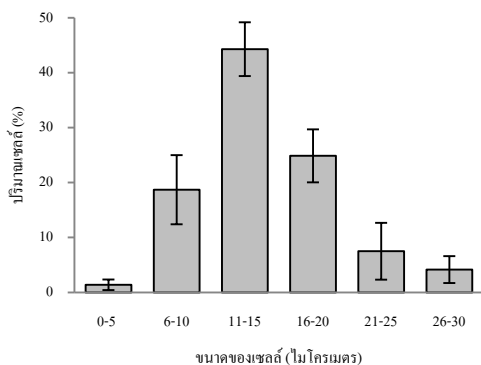
1. การผลิตซากเซลล์เดียว

จากการทดลองผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใบ (*Porphyra* sp.) พบว่า การใช้สาหร่ายขนาด < 200 ไมโครเมตร พร้อมวางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับการผลิตด้วยวิธีอื่น (ภาพที่ 1) โดยสามารถผลิตเซลล์ได้ความหนาแน่นมากที่สุด มีค่าความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ $33.70 \pm 7.01 \times 10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เซลล์ที่

ผลิตได้สามารถแยกได้ 6 ขนาด พบว่าขนาดของเซลล์ 11-15 ไมโครเมตร มีปริมาณสูงสุด คิดเป็น 44.28 ± 4.90 เปอร์เซ็นต์ โดยขนาดของเซลล์ที่ผลิตได้ที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกหอย คือ < 20 ไมโครเมตร คิดเป็น 89.23 ± 2.29 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 การผลิตซากเซลล์เดียวด้วยวิธีการต่างๆ



ภาพที่ 2 ขนาดเซลล์จากการผลิตซากเซลล์เดียว

2. ผลของการใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาใบ (*Porphyra* sp.) อนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวระยะวัยอ่อน

จากการทดลองอัตราการรอดตายเฉลี่ยของลูกหอยระยะวัยอ่อนที่อนุบาลด้วยอาหารทดแทนในอัตราส่วนที่ต่างกัน พบว่าเมื่อทำการอนุบาลจนถึงสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 16 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายของลูกหอยลดต่ำลงอย่างต่อเนื่อง กระทั่งเหลือเพียง 2 การทดลอง คือ ลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ และทดแทนด้วยซากเซลล์เดียว 25 เปอร์เซ็นต์

ที่สามารถพัฒนาถึงระยะ eye larvae โดยมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 2.11 ± 0.11 และ 0.25 ± 0.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดตายของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ

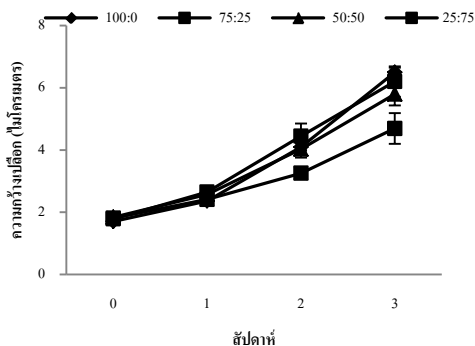
อัตราส่วน สาหร่าย เซลล์เดียว	ระยะเวลา (วัน)			
:	3	7	13	17
ซากเซลล์ เดียว				
100:0	88.89±8.89	28.67±3.11	4.85±0.67	2.11±0.11
75:25	75.56±4.44	5.63±0.78	0.80±0.12	0.25±0.11
50:50	74.07±6.79	4.67±0.73	0.02±0.01	0
25:75	60.00±8.01	2.41±0.34	0	0
0:100	41.48±2.57	0.26±0.03	0	0

3. ผลของการใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายใบ (*Porphyra* sp.) อนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวระยะวัยรุ่น

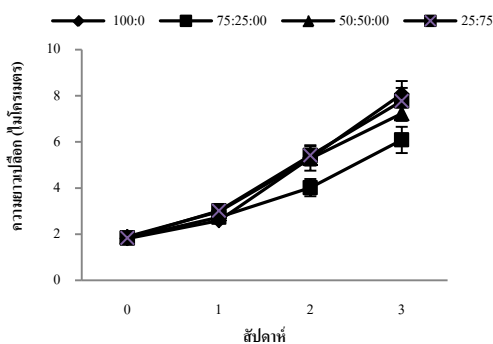
3.1 การเจริญเติบโต

ลูกหอยตะไกรกรมขาวที่อนุบาลด้วยซากเซลล์เดียวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ กัน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ค่าความกว้างและความยาวเฉลี่ยของเปลือกที่ทดแทนด้วยซากเซลล์เดียว 75 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่าลูกหอยที่ทดแทนด้วยซากเซลล์เดียว 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าความกว้างและความยาวเฉลี่ยของเปลือกในช่วงเริ่มต้นการทดลองอยู่ระหว่าง 1.70 ± 0.07 - 1.84 ± 0.07 มิลลิเมตร และ 1.82 ± 0.03 - 1.89 ± 0.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ ภายหลังจากการทดลองเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า มีค่าความกว้างเฉลี่ยของเปลือกเพิ่มขึ้นเป็น 6.49 ± 0.15 , 6.20 ± 0.49 , 5.80 ± 0.36 และ 4.69 ± 0.49 มิลลิเมตร ส่วนค่าความยาวเฉลี่ยของเปลือกเพิ่มขึ้นเป็น 8.08 ± 0.26 , 7.77 ± 0.86 , 7.23 ± 0.27 และ 6.09 ± 0.57

มิลลิเมตร ในการทดแทนด้วยซากเซลล์เดี่ยว 0, 25 , 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3 และ 4)



ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยความกว้างของเปลือกของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้ซากเซลล์เดี่ยวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ



ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยความยาวของเปลือกของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้ซากเซลล์เดี่ยวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ

3.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

จากการทดลองการใช้ซากเซลล์เดี่ยวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตจำเพาะของลูกหอยในระยะวัยรุ่น ภายหลังจากการอนุบาลเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยมีค่าต่ำสุดที่การทดแทนซากเซลล์เดี่ยว 75 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเท่ากับ 0.15 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ขณะที่การทดแทนซากเซลล์เดี่ยว 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

กับการใช้สาหร่ายเซลล์เดี่ยว 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นชุดควบคุม โดยมีค่าเท่ากับ 0.17 ± 0.00 , 0.16 ± 0.01 และ 0.17 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ที่การทดแทนซากเซลล์เดี่ยว 50, 25 และสาหร่ายเซลล์เดี่ยว 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

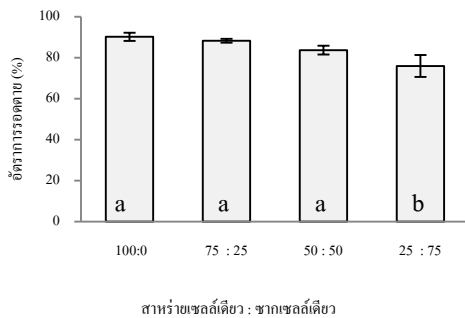
ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้ซากเซลล์เดี่ยวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ

สาหร่ายเซลล์เดี่ยว :	สัปดาห์ 1		สัปดาห์ 2		สัปดาห์ 3	
	SGR1	%*	SGR2	%*	SGR3	%*
1000	0.22±0.01	100.0 ^a	0.14±0.00	100.0 ^a	0.17±0.00	100.0 ^a
75:25	0.24±0.01	107.21 ^a	0.11±0.01	81.36 ^b	0.16±0.01	93.0 ^b
50:50	0.22±0.01	100.74 ^a	0.09±0.01	66.81 ^c	0.17±0.00	98.29 ^b
25:75	0.18±0.01	82.14 ^b	0.08±0.00	58.77 ^c	0.15±0.00	84.21 ^c

*การใช้สาหร่ายเซลล์เดี่ยวเพียงอย่างเดียวเทียบให้มีค่า SGR เท่ากับ 100%

3.3 อัตราการรอดตาย

อัตราการรอดตายเฉลี่ยของลูกหอยที่อนุบาลด้วยซากเซลล์เดี่ยวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า ลูกหอยที่อนุบาลด้วยซากเซลล์เดี่ยวทดแทน 75 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ขณะที่ลูกหอยที่อนุบาลด้วยซากเซลล์เดี่ยวทดแทน 25 , 50 และสาหร่ายเซลล์เดี่ยว 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) โดยพบมีค่าอัตราการรอดตายเท่ากับ 90.19 ± 1.96 , 88.28 ± 0.94 , 83.69 ± 2.12 และ 75.95 ± 5.34 เปอร์เซ็นต์ ที่สาหร่ายเซลล์เดี่ยว 100 เปอร์เซ็นต์ และ ซากเซลล์เดี่ยวทดแทน 25 , 50 และ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดตายของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ

3.4 ขนาดของลูกหอย

จากการทดลองอนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาว ระยะวัยรุ่นด้วยซากเซลล์เดียวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สามารถคัดแยกขนาดได้ 2 ขนาด คือ <0.42 เซนติเมตร และ >0.42 เซนติเมตร พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยพบลูกหอยขนาด >0.42 เซนติเมตร มีปริมาณสูงสุดที่ใช้สาหร่ายเซลล์เดียว 100 % ขณะที่ลูกหอยขนาด <0.42 เซนติเมตร มีปริมาณสูงสุดที่ใช้ซากเซลล์เดียวทดแทน 75 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของลูกหอยทั้ง 2 ขนาด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ที่ใช้ซากเซลล์เดียวทดแทน 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยขนาดของลูกหอยระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยการใช้ซากเซลล์เดียวทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ

สาหร่ายเซลล์เดียว : ซากเซลล์เดียว	สัดส่วนขนาด (%)	
	>0.42cm	<0.42 cm
100:0	95.64±0.10 ^a	4.36±0.10 ^c
75:25	91.14±2.13 ^b	8.86±2.13 ^b
50:50	91.42±1.33 ^b	8.58±1.33 ^b
25:75	83.27±0.7 ^c	16.73±0.78 ^a

อภิปรายผลการทดลอง

1. การผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายทะเล

โดยจากการศึกษาครั้งนี้อาศัยหลักการออสโมซิสของน้ำ ในการผลิตเซลล์ เนื่องจากสาหร่าย *Porphyra* sp. เป็นสาหร่ายน้ำเค็ม ซึ่งการทดลองจะใช้น้ำจืดในการผลิตเซลล์ ทำให้เซลล์สาหร่ายมีการพองตัวและขยายตัวของเซลล์ ทำให้เซลล์ของสาหร่ายหลุดออกจากผนังเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายตาข่ายเป็นเซลล์เดี่ยว ไม่มีผนังเซลล์ของเซลล์โลส เซลล์ที่ผลิตได้มีขนาดต่างๆ ประมาณ 4-20 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่เหมาะสมต่อการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ซากเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กจะมีประสิทธิภาพในการเก็บอาหารของซึ่งเหงือกสูงส่งผลให้ง่ายต่อการกินของลูกหอย (Uchida et al., 1997; Uchida and Murata, 2002; Pérez Camacho et al., 2005; Pérez Camacho et al., 2007 และ Felix and Pradeepa, 2011) จากการศึกษานี้ครั้งนี้ พบว่า เซลล์ที่ผลิตได้มีขนาด < 20 ไมโครเมตร คิดเป็น 89.23 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาที่ 2 ชั่วโมง เป็นเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเซลล์ จากผลการศึกษานี้เซลล์ที่ผลิตได้มีความหนาแน่นน้อยกว่าแต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตเพียง 2 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Uchida and Murata (2002), Pérez Camacho et al., (2005) และ Felix and Pradeepa (2011) พบว่า ปริมาณเซลล์ที่ผลิตได้มีความหนาแน่นสูงแต่ระยะเวลาที่ใช้เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน ซึ่งการผลิตเซลล์ส่วนใหญ่อาศัยการทำงานของเอนไซม์ ยีสต์ และแบคทีเรีย ส่งผลให้การผลิตเซลล์ในแต่ละครั้งจำเป็นต้องใช้เวลาและเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตที่สูงขึ้น

2. การใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใบ *Porphyra* sp. อนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวในระยะวัยอ่อน

การใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใบ *Porphyra* sp. อนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวในระยะวัยอ่อน พบว่า อัตราการรอดเริ่มลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะการใช้อาหารทดแทน 50, 75 และ 100

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ลูกหอยมีอัตราการรอดต่ำ ตั้งแต่ วันที่ 8 ของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง ของ Pérez Camacho et al. (2005) ใช้ซากเซลล์เดียวจาก สาหร่าย *Laminaria saccharina* อนุบาลลูกหอย *Ruditapes decussates* พบว่าลูกหอยสามารถกินซาก เซลล์เดียวจากสาหร่ายที่ผลิตเข้าไปได้ แต่ไม่สามารถ ย่อยซากเซลล์เดียวได้ ส่งผลให้ลูกหอยไม่มีการ เจริญเติบโต น้ำหนักของอวัยวะภายในร่างกายลดลง มี ลักษณะคล้ายกับลูกหอยที่ไม่ได้รับอาหารเข้าสู่ร่างกาย และลูกหอยเริ่มตายภายใน 2-3 วันหลังจากเริ่มอนุบาล ด้วยซากเซลล์เดียว และลูกหอยตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ใน วันที่ 10 ทำการทดลอง ขณะที่ Uchida and Numaguchi (1996) ใช้ซากเซลล์เดียวอนุบาลลูกหอยระยะวัยอ่อน พบว่า ลูกหอย *R. philippinarum* สามารถย่อยซากเซลล์ เดียวจากสาหร่าย *Ulva pertusa* ได้ อย่างไรก็ตาม ซาก เซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใย *Porphyra* sp., *U. pertusa* หรือ *L. saccharina* ยังไม่มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็น อาหารของลูกหอยสองฝาในระยะวัยอ่อน (Pérez Camacho et al., 2005)

3. การใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใย

***Porphyra* sp. อนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวระยะ วัยรุ่น**

การใช้ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายทะเลชนิด ต่างๆ ในการอนุบาลลูกหอยสองฝา มีปัจจัยหลาย ประการที่มีผลต่อการพิจารณาเพื่อความสะดวกในการ กรองกินอาหารเพื่อการเจริญเติบโต เช่น ขนาดของ เซลล์ รูปร่างอัตราการกิน ความสามารถในการย่อยและ องค์กรประกอบทางชีวเคมี (Utting, 1986) ซึ่ง Uchida et al. (1997) ทดลองใช้ซากเซลล์เดียวจากส่วน ที่เรียกว่า Thalli ของสาหร่ายทะเล *L. japonica* เป็น อาหารอาร์ทีเมีย *Artemia salina* ระยะนาอพลีส โดย พบว่าซากเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กกว่า 44 μm สามารถ เพิ่มการเจริญเติบโตของอาร์ทีเมียและมีศักยภาพ เหมาะสมในการใช้เป็นอาหารสำหรับอนุบาลสัตว์น้ำวัย อ่อน

นักวิจัยหลายท่านศึกษาเกี่ยวกับการใช้อาหาร ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวมีชีวิตเพื่อเป็นอีกทางเลือก สำหรับการอนุบาลลูกหอยสองฝา เช่น การใช้อาหารที่มี ส่วนประกอบของยีสต์ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อัตราการ เจริญเติบโตคล้ายคลึงกับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่าย เซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ ในลูกหอย *Mytilus edulis* และ *Mercenaria mercenaria* (Epifanio, 1979 และ Coutteau et al., 1994) การใช้แป้งข้าวโพดในสัดส่วน 50 เปอร์เซ็นต์ พบอัตราการเจริญเติบโตคล้ายคลึงกับลูก หอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ ในลูกหอย *R. decussatus* และ *C. rhizophorae* (Fernández-Reiriz et al., 1998 และ Pérez Camacho et al., 1998) การใช้แป้งจูกข้าวสาลีอนุบาลลูกหอยสอง ฝา Manila clam *R. philippinarum* และ *R. decussates* ในระยะวัยรุ่น ในอัตราส่วน 50 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการ เพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรต แต่ละปริมาณโปรตีนและ ไขมันเพื่อให้องค์กรประกอบทางชีวเคมีของแป้งจูกข้าว สาลีและสาหร่ายเซลล์เดียวมีความคล้ายคลึงกัน พบว่า การใช้แป้งจูกข้าวสาลีเป็นอาหารทดแทนช่วยลด ปริมาณการใช้สาหร่ายขนาดเล็กจากโรงเพาะฟัก ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกหอย (Fernández-Reiriz et al., 1998; Albentosa et al., 1999 และ Albentosa et al., Labarta, 2002) ในการใช้ซาก เซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใยทดแทนสาหร่ายเซลล์ เดียวเพื่ออนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวในระยะ วัยรุ่นในครั้งนี้ พบว่า ซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใย *Porphyra* sp. สามารถใช้เป็นอาหารทดแทนสาหร่าย เซลล์เดียวได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโต ไม่แตกต่างกับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการใช้ซากเซลล์เดียวเป็นอาหาร ทดแทนในลูกหอยสองฝา จากการศึกษาโดย Uchida and Murata (2002) ได้ทดลองใช้ซากเซลล์เดียวจาก สาหร่ายทะเล *Undaria pinnatifida* สามารถใช้ออนุบาล ลูกหอยมุก *Pinctada fucata martensii* ได้ และจาก การศึกษาของ Pérez Camacho et al. (2007) ใช้ซาก เซลล์เดียวจากสาหร่าย *L. saccharina* อนุบาลลูกหอย *R.*

decussatus พบว่า เมื่อใช้ซากเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตคิดเป็น 40 เปอร์เซ็นต์ ของลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว และเมื่อใช้ซากเซลล์เดียวผสมกับสาหร่ายเซลล์เดียวในอัตรา 80-90 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถทดแทนได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ลูกหอยมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับการใช้แพลงก์ตอนพืชมีชีวิต เมื่อเทียบกับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเห็นว่าค่าสูงกว่าผลการทดลองในครั้งนี้การใช้สาหร่ายสาบใบในการผลิตซากเซลล์เดียว พบว่า สามารถลดต้นทุนและเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาต่างๆในการผลิตสาหร่ายเซลล์เดียว เนื่องจากสาหร่ายสาบใบเป็นวัตถุดิบที่หาง่าย ใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้นแม้ความหนาแน่นเซลล์ที่ผลิตได้แต่ละครั้งปริมาณต่ำกว่า แต่เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองอนุบาลลูกหอยตะไกรกรมขาวระยะวัยอ่อน พบว่าซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสาบใบ *Porphyra* sp. ไม่สามารถใช้เป็นอาหารทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวได้ขณะที่สามารถใช้เป็นอาหารทดแทนในลูกหอยระยะวัยรุ่นได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2554. สถิติหน่วยธุรกิจการประมงปี 2554. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศทางการประมง. กรุงเทพฯ.
 คเชนทร เจริญวัฒน์. 2544. การเพาะเลี้ยงหอย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์วิญญู.
 สุวัจน์ ธีรุต. 2545. การอนุบาลลูกหอยนางรมวัยเก๊ตและการเลี้ยงหอยนางรม (*Crassostrea belcheri*, Sowerby) ในเขตน้ำขึ้นน้ำลง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

Albentosa, M., Fernandez-Reiriz, MJ., Perez-Camacho, A and Labarta, U. 1999. Growth performance and biochemical composition of *Ruditapes decussatus* (L.) spat fed on microalgal and wheatgerm flour diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 232(1), 23-37.
 Albentosa, M., Pérez-Camacho, A., Fernández-Reiriz, MJ and Labarta, U. 2002. Wheatgerm flour in diets for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, spat. *Aquaculture*, 212(1-4), 335-345.
 Angell, C. L., 1986. The biology and culture of tropical oysters. ICLARM Studies and Reviews 13. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
 Coutteau, P., Hadley, NH., Manzi, JJ and Sorgeloos, P. 1994. Effect of algal ration and substitution of algae by manipulated yeast diets on the growth of juvenile *Mercenaria mercenaria*. *Aquaculture*, 120(1-2), 135-150.
 Dégremont, L., Ernande, B., Bédier, E and Boudry, P. 2007. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. *Aquaculture*, 262(1), 41-53.
 Epifanio, CE. 1979. Comparison of yeast and algal diets for bivalve molluscs. *Aquaculture*, 16(3), 187-192.
 Felix, S and Pradeepa, P. 2011. Single-Cell Detritus: Fermented, Bioenriched Feed For Marine Larvae. *global aquaculture advocate*, 72-73.
 Fernández-Reiriz, MJ., Labarta, U., Albentosa, M and Pérez-Camacho, A. 1998. Effect of Microalgal Diets and Commercial Wheatgerm Flours on the Lipid Profile of *Ruditapes decussatus* Spat. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 119(1), 369-377.

- Helm, MM and Bourne, N 2004. Hatchery culture of bivalves: Food and agriculture organization of the United Nations.
- Pérez Camacho, A., Albentosa, M., Fernández-Reiriz, MJ and Labarta, U. 1998. Effect of microalgal and inert (cornmeal and cornstarch) diets on growth performance and biochemical composition of *Ruditapes decussatus* seed. *Aquaculture*, 160(1–2), 89-102.
- Pérez Camacho, A., Salinas, JM., Delgado, M and Fuertes, C. 2007. Use of single cell detritus (SCD) produced from *Laminaria saccharina* in the feeding of the clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 266(1–4), 211-218.
- Pérez Camacho, A., Salinas, JM., Fuertes, C and Delgado, M. 2005. Preparation of Single Cell Detritus from *Laminaria saccharina* as a Hatchery Diet for Bivalve Mollusks. 642-649.
- Tanyaros, S., Anan, K and Kitt, LM., 2008. Nursing and grow-out hatchery-reared big oyster (*Crassostrea belcheri* Sowerby 1871) in the intertidal mangrove area. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 42(3): 495-502.
- Tanyaros, S., Pattanatong, T and Tarangkoon, W. 2012. Effect of Water Flow Rate and Stocking Density on Nursing Hatchery-Reared Juvenile Oysters, *Crassostrea belcheri* in a Semi-Closed Recirculation System. *Journal of Applied Aquaculture*, 24(4), 356-365.
- Uchida, M. 1996. Formation of Single Cell Detritus Densely Covered with Bacteria during Experimental Degradation of (*Laminaria japonica*) Thalli. *Fisheries Science*, 62(5), 731-736.
- Uchida, M and Murata, M. 2002. Fermentative preparation of single cell detritus from seaweed, *Undaria pinnatifida*, suitable as a replacement hatchery diet for unicellular algae. *Aquaculture*, 207(3–4), 345-357.
- Uchida, M., Nakata, K and Maeda, M. 1997. Introduction of detrital food webs into an aquaculture system by supplying single cell algal detritus produced from *Laminaria japonica* as a hatchery diet for *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 154(2), 125-137.
- Utting, SD. 1986. A preliminary study on growth of *Crassostrea gigas* larvae and spat in relation to dietary protein. *Aquaculture*, 56(2), 123-138.