คู่มือการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวเพื่อเป็นอาหารเลี้ยงหอยแครง

โครงการพัฒนาบ่อดินให้เป็นบ่อเลี้ยงหอยแครงในระบบปิดที่ตำบลคลองโคน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม

โดย

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัย
โครงการการจัดการความรู้เพื่อการใช้ประโยชน์เชิงชุมชน สังคม ตามแนวพระราชดำริ
ภายใต้โครงการส่งเสริมและสนับสนุนการจัดการความรู้การวิจัยเพื่อการใช้ประโยชน์
ประจำปี 2563
จาก สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

คำนำ

ตำบลคลองโคน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม มีพื้นที่ชายฝั่งทะเลเป็นแหล่งเลี้ยงหอยแครงขนาดใหญ่มีพื้นที่หลายพันไร่ที่มีการเลี้ยงสืบทอดกันมาอย่างยาวนาน เนื่องจากสภาพดินตะกอนมีความเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของหอยแครง แต่เนื่องจากปัญหาของสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงและเกิดมลพิษที่ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำมีผลกระทบต่อของหอยแครง นับเป็นปัจจัยภายนอกที่สำคัญเกษตรกรไม่สามารถควบคุมหรือป้องกันได้ และมีเกษตรกรหลายรายพยายามนำหอยแครงที่เลี้ยงในทะเลมาลงเลี้ยงในบ่อดิน โดยเลี้ยงรวมกับกุ้งมาได้ระยะหนึ่งแล้ว โดยเลี้ยงรวมกับกุ้งเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาน้ำเสีย อย่างไรก็ตามมีเกษตรกรบางรายที่ประสบความสำเร็จเลี้ยงหอยแครงในบ่อดินจนขายได้แต่ใช้เวลานานหรือหอยไม่โตหอยไม่อ้วน และบางรายก็ล้มเหลวไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย เนื่องจากเกษตรกรขาดความรู้ความเข้าใจด้านการเลี้ยงหอยแครงในพื้นที่จำกัดคือในบ่อดิน จากปัญหาดังกล่าวทีมนักวิจัยจึงได้ร่วมกับเกษตรกรกลุ่มเพาะเลี้ยงหอยแครงเพื่อนำหอยแครงมาลงเลี้ยงในบ่อดินเป็นระบบปิดแบบพัฒนาด้วยการผลิตแพลงก์ตอนพืช (สาหร่าย) ให้มีปริมาณที่มากกว่าที่มีอยู่ในธรรมชาติ เพื่อเพียงพอต่อการเป็นแหล่งอาหารกับหอยแครงในบ่อดิน มีระบบการเติมออกซิเจนในน้ำด้วยกังหันลมที่ใช้พลังงานแสงอาทิตย์ เป็นพลังงานที่สะอาด ไม่ก่อให้เกิดมลภาวะเป็นพิษในสิ่งแวดล้อม ซึ่งกลุ่มเกษตรกรสามารถนำไปพัฒนาการเลี้ยงในบ่อดินที่ต้องการเปลี่ยนพื้นที่การเลี้ยงในแหล่งทะเลตามธรรมชาติมาเลี้ยงในบ่อดินแถบบริเวณชายฝั่งทะเล

มากยิ่งขึ้น จึงเป็นที่มาของการทำคู่มือฉบับนี้ขึ้นมาให้เกษตรกรได้เรียนรู้และใช้ประโยชน์ได้จริง

สารบัญ

	หน้า
ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก	5
ภาพประกอบขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว	7
ขั้นตอนการเตรียมน้ำทะเลสำหรับการขยายสาหร่ายเซลล์เดียวในถังความจุ 500 ลิตร และ 1,000 ลิตร	10
ขั้นตอนการเพาะขยายสาหร่ายคลอเรลลา/เตรทตร้าเซลมิส/ไอโซไครซิส ในถังปริมาตร 5 ลิตร	11
ขั้นตอนการเพาะขยายสาหร่ายเซลล์เดียวในถังกลางแจ้งความจุ 500 ลิตร และ 1,000 ลิตร	11
ขั้นตอนการตรวจเช็คความหลากชนิดของแพลงก์ตอนพืช (สาหร่ายเซลล์เดียว) ที่เป็นอาหารหอยแครงในบ่อดิน	12
ภาพประกอบการจำแนกชนิดแพลงก์ตอนพืช	13
การจำแนกชนิดแพลงก์ตอนสัตว์ (Zooplankton)	15
การเพาะชำลูกหอยแครงในบ่อผ้าใบ	16
การเพาะชำลูกหอยแครงในคอกเลี้ยงในทะเล	17
ขั้นตอนการเตรียมบ่อดินและการเลี้ยงหอยแครงในบ่อดิน	17
อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหอยแครงในบ่อดิน	19
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	23
สูตรปุ๋ยซาโตะ	23
ขั้นตอนการเตรียมอาหารเหลว (liquid agar)	23
การเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว	23
ชนิดของสาหร่ายเซลล์เดียวกับการเลือกใช้สูตรปุ๋ย	24
การเตรียมสูตรปุ๋ยกิลลาร์ด (Gillard F medium/ F/2)	25
วิธีการเตรียมวิตามิน	26

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กและขยายเพิ่มปริมาณมากของคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เตรทตร้าเซลมิส (*Tetraselmis* sp.) ไอโซไครซิส กอลบานา(*Isochrysis galbana*) และคีโตเซอรอส (*Chaetoceros* sp.) โดยเริ่มจากการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ คือ

1. การทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (isolation) จะใช้เทคนิคเพื่อให้ได้สาหร่ายเป็นชนิดเดียว โดยใช้วิธีการล้างเซลล์หรือคัดเลือกเซลล์ด้วยไมโครปิเปตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดูดเซลล์ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวคอนวีย์ในน้ำเค็ม ที่ความเค็ม 15-33 ส่วนในพันส่วน ที่อุณหภูมิ 24-25 องศาเซลเซียส และให้แสงฟลูออเรสเซนส์ โดยเปิดและปิดให้แสง 12:12 ชั่วโมง (หรือเปิดและปิดให้แสง 8:16 ชั่วโมง) ที่ความเข้มแสง 6,000–9,000 ลักซ์ ตั้งทิ้งไว้ 3–4 วัน จากนั้นเขย่าและเช็คผล หรือสามารถเริ่มต้นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว จากขั้นตอนที่ 2 สลับกับขั้นตอนที่ 1 ได้เช่นกัน

2. การเพาะเชื้อในอาหารวุ้น (nutrient agar) เป็นการเตรียมอาหารแข็งโดยการเติมปุ๋ยกิลลาร์ด สูตรที่ 1, 2 และ 3 ตามอัตราส่วน (ดูรายละเอียดในหน้า 24)/น้ำเค็ม/ผงวุ้น ละลายด้วยความร้อน เมื่อผงวุ้นละลายเข้ากันดีจึงนำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อเสร็จสิ้นตามกระบวนการนึ่งให้นำออกจากหม้อนึ่งความดันตั้งทิ้งไว้ให้อุ่นพอจับได้ จากนั้นนำมาเทลงบนจานเพาะเชื้อภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ตั้งทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัว และเก็บไว้เพาะเชื้อสาหร่ายเซลล์เดียวต่อไป โดยการ

นำเซลล์ของสาหร่ายมา 1 หยด หยดใส่ลงบนจานเพาะเชื้อและใช้เข็มเขี่ยเชื้อผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการลนไฟและปล่อยทิ้งให้เย็นลากเส้นตัดเป็นรอยต่อเนื่องบนอาหารแข็ง โดยตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิ 24-25 องศาเซลเซียส พร้อมให้แสงฟลูออเรสเซนส์ เปิดให้แสง 12 ชั่วโมง ปิดให้แสง 12 ชั่วโมง หรือเปิดและปิดให้แสง 8:16 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์ จะเห็นเป็นโคโลนีชัดเจนจึงสามารถเลือกโคโลนีมาขยายต่อในหลอดฝาเกลียวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยการใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะจากจานเพาะเชื้อมาจำนวน 1 โคโลนีต่อ 1 หลอด แล้วนำไปตั้งใต้แสงไฟ ควบคุมอุณหภูมิภายใต้สภาวะเดียวกับจานเพาะเชื้อที่รอสาหร่ายเกิดและมีโคโลนีเพิ่มจำนวนมากขึ้น (ดังขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายฯ ข้อที่ 1-2 หน้า 5 และภาคผนวกหน้า 22)

3. การเตรียมอาหารเหลว (broth medium) ต้องเตรียมที่ปริมาตรแตกต่างกันเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ในการเพิ่มปริมาณ โดยเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250, 500, 1000 และ 5,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ (เพื่อใช้ในขั้นตอนที่ 3 หน้า 8 และภาคผนวกหน้า22) โดยเตรียมน้ำเค็มผสมปุ๋ยกิลลาร์ด สูตรที่ 1, 2 และ 3 ตามอัตราส่วน (ดูรายละเอียดในหน้า 24) และขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายที่ใช้ เขย่าให้เข้ากันปิดจุกด้วยสำสีและนำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่ออาหารเหลวในภาชนะที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเย็นลง เติมหัวเชื้อสาหร่ายลงไป 1 ส่วน น้ำเค็ม 4 ส่วน และวิตามิน 1 หยด ให้อากาศ และแสงสว่างตามปกติ

4. การเพาะขยายในถังไฟเบอร์ทรงกลมปริมาณมาก (mass culture) ขนาด 200, 500 ลิตร จนถึง 1,000 ลิตร (1 ตัน) ขึ้นไป หรือนำไปใส่ลงในบ่อ โดยการเตรียมน้ำทะเลตามความเค็มที่ต้องการ คือ 15-32 ส่วนในพันส่วน และให้อากาศด้วยหัวทราย เติมปุ๋ยโดย

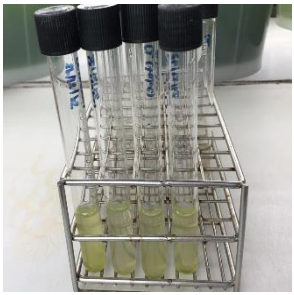
ละลายโปแตสเซียมไนเตรท โซเดียมฟอสเฟต และซิลิเกต (KNO_3, $Na_2 HPO_4.12 H_2O$ และ Na_2SiO_3) ตามอัตราส่วน (ดูรายละเอียดในหน้า 22) แล้วจึงเริ่มเติมหัวเชื้อสาหร่ายลงไป ถังควรมีฝาปิด ต่อจากนั้น 3-5 วัน จะได้เซลล์ $2X10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ขั้นตอนที่ 6 และ 7) สามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำได้

ภาพประกอบขั้นตอนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว

1. เตรียมอาหารแข็งในขวดรูปชมพู่/หลอด ขนาด 250, 500 หรือ 1,000 มิลลิลิตร (ปริมาตรตามความต้องการใช้)

2. คัดแยกเซลล์บริสุทธิ์ในจานเพาะเชื้อ

3. เลือกเซลล์บริสุทธิ์ใส่หลอดทดลองประมาณ 5-10 มิลลิลิตร



4. เลี้ยงเพิ่มจำนวนในขวดรูปชมพู่ขนาด 250, 500, 1,000 มิลลิลิตร

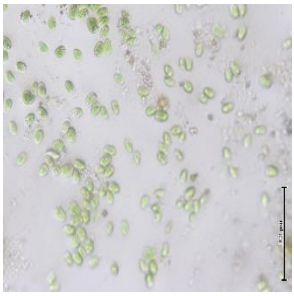
5. เลี้ยงเพิ่มจำนวนในขวดขนาด 3-5 ลิตร

6. เพิ่มปริมาตร ในถังขนาด 5 ลิตร หรือ 10 ลิตร

7. เพิ่มปริมาตรในถังขนาด 100/ 500/ 1,000 ลิตร

8. นำไปเลี้ยงหอยแครงในบ่อ

9. ชนิดของสาหร่ายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ *Tetraselmis* sp.



ขั้นตอนการเตรียมน้ำทะเลสำหรับการขยายสาหร่ายเซลล์เดียวในถังความจุ 500 ลิตร และ 1,000 ลิตร

1. นำน้ำทะเลที่ผ่านระบบกรอง (ถังกรองใบที่ 1 ประกอบด้วยทรายละเอียด ทรายหยาบ ถังกรองใบที่ 2 ประกอบด้วยหิน (กรวด) และเปลือกหอยแครง (วัสดุเหลือทิ้ง) ถังกรองใบที่ 3 ประกอบด้วยคาร์บอนแอ็กติเวต และระบบฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV ใส่ถังพร้อมใส่หัวทรายให้อากาศ (ควรมีฝาปิดกันฝุ่นและแมลงตกลงถังเพาะ) ละลายผงคลอรีน (ไฮโปรคลอไรด์ (ClO^-)) ในอัตราส่วน 16 กรัม/น้ำ 1,000 ลิตร (1 ตัน) ตั้งทิ้งไว้กลางแจ้ง

ระบบกรองน้ำ 3 ขั้นตอน

ระบบกรองน้ำด้วยรังสี UV

2. หลังจากตั้งถังน้ำทิ้งไว้กลางแจ้ง 2-3 วัน วัดปริมาณคลอรีนในน้ำด้วยชุดน้ำยาวัดปริมาณคลอรีนสำเร็จรูป (โดยเทียบสีกับชุดตรวจ) ซึ่งน้ำจะต้องปราศจากคลอรีนตกค้างก่อนใช้งาน (น้ำทะเลใส)

3. กรณีผ่านไป 2-3 วัน แล้วยังพบว่ามีปริมาณคลอรีนตกค้างอยู่ในน้ำ หลังตรวจเช็คด้วยชุดตรวจคลอรีนนั้น (น้ำมีสีเหลืองอ่อน) ให้เติมโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) ในอัตราส่วน 40-50 กรัม/น้ำ 1,000 ลิตร โดยละลายในน้ำให้เข้ากันแล้วเทลงในถังเลี้ยงสาหร่าย และตรวจวัดคลอรีนในน้ำให้พร้อมใช้อีกครั้ง ตามข้อ 2

ขั้นตอนการเพาะขยายสาหร่ายเซลล์เดียวคลอเรลลา/เตรทตร้าเซลมิส/ไอโซไครซิส ในถังปริมาตร 5 ลิตร

1. เตรียมน้ำทะเลกรองสะอาดลงในถัง ปริมาตร 4-4.5 ลิตร
2. เติมปุ๋ยสูตรกิลลาร์ดปริมาตร 5:5 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกฉีดยา
3. ใส่หัวเชื้อสาหร่ายปริมาตร 0.5-1 ลิตร
4. ใส่หัวทรายเล็กเพื่อให้อากาศ
5. ให้แสงสว่าง/มืด จำนวน 12/12 ชั่วโมง เป็นเวลา 3-5 วัน
6. จากนั้นนำไปเป็นอาหาร หรือขยายใส่ถัง 500 ลิตร

ขั้นตอนการเพาะขยายสาหร่ายเซลล์เดียวในถังกลางแจ้งความจุ 500 ลิตร และ 1,000 ลิตร

1. เพาะขยายในถังไฟเบอร์ทรงกลม (mass culture) ขนาด 500-1,000 ลิตร (1ตัน)

2. เตรียมน้ำทะเลตามความเค็มที่ต้องการ (15-32 ส่วนในพันส่วน) ให้อากาศด้วยหัวทรายและใส่ปุ๋ยซาโตะ (โดยละลายกับน้ำในถังก่อนเท) ได้แก่ โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3) น้ำหนัก 100 กรัม โซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4) น้ำหนัก 10 กรัม เฟอริคคลอไรด์ ($FeCL_3$) น้ำหนัก 2.5 กรัม นอกจากนี้ ถ้าเพาะขยายสาหร่ายเซลล์เดียวสี

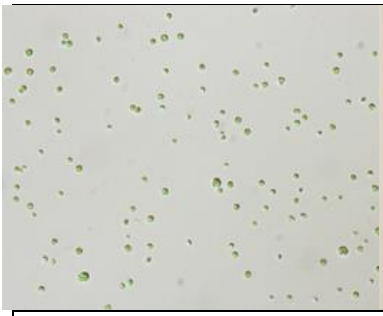
น้ำตาล (หรือที่เรียกว่าไดอะตอม) จะต้องใส่ปุ๋ยโซเดียมเมตาซิลิเกต น้ำหนัก 5.0 กรัมต่อปริมาตรน้ำที่ใช้เพาะขยายสาหร่าย 1 ตัน ถ้ากรณีที่เพาะขยายในถังที่มีปริมาตรน้อยกว่า 1 ตัน ให้ลดการใส่ปุ๋ยลงตามอัตราส่วน

3. ใส่หัวเชื้อสาหร่ายลงไปตามอัตราส่วนเท่ากับ 15-20 ลิตร/น้ำทะเล 500 ลิตร (ถังควรมีฝาปิด) จากนั้น 3-5 วัน จะได้เซลล์ประมาณ $2X10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร สามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำได้

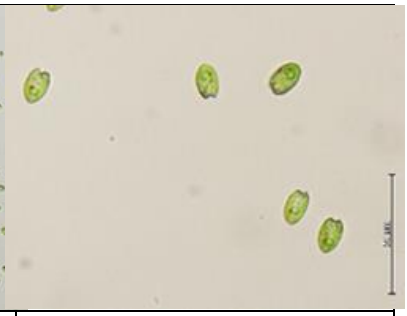
ขั้นตอนการตรวจเช็คความหลากชนิดของแพลงก์ตอนพืช (สาหร่ายเซลล์เดียว) ที่เป็นอาหารหอยแครงในบ่อดิน

1. ตรวจวัดคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง	
2. เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนจากพื้นที่ในบ่อ	
3. ตรวจเช็คสิ่งมีชีวิตในบ่อเลี้ยงหอยแครง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	

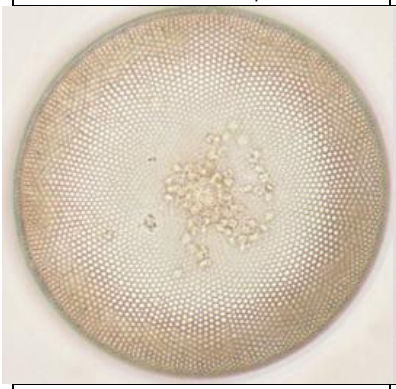
ภาพประกอบการจำแนกชนิดแพลงก์ตอนพืช (สาหร่ายเซลล์เดียว) (Phytoplankton)



คลอเรลลา (*Chorella* sp.)

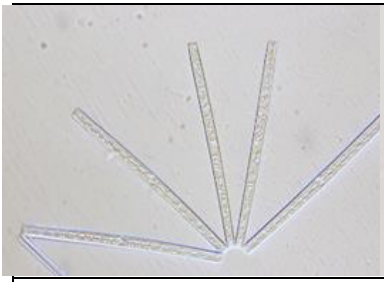


เตรทตร้าเซลมิส (*Tetraselmis* sp.)

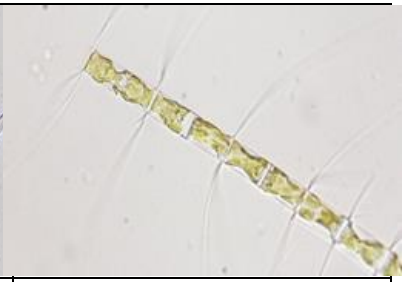


คอสซิโนดิสคัส (*Cosinodiscus* sp.)

เพียวโรซิกม่า (*Pleurosigma* sp.)

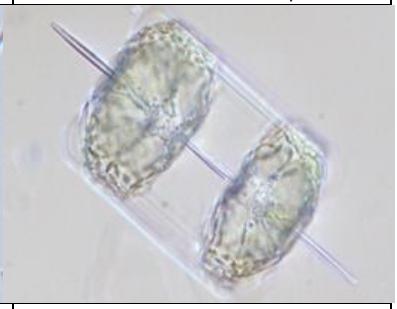


ทาลัสซิโอนีม่า
(*Thalassionema* sp.)



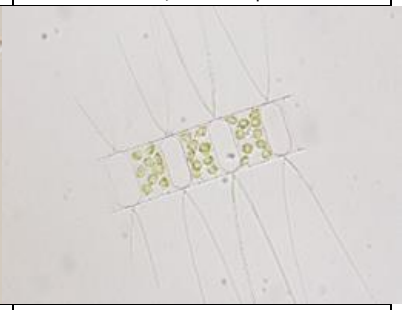
แบคทีเรียแอสทรัม
(*Bacteriastrum* sp.)

นิสเชีย
(*Nitzschia* sp.)

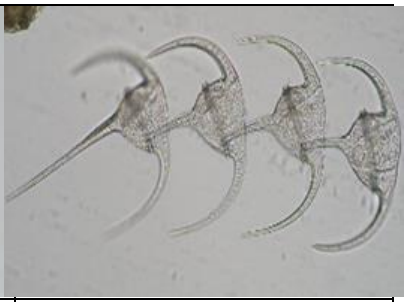


ดิกไทลัม
(*Dictylum* sp.)

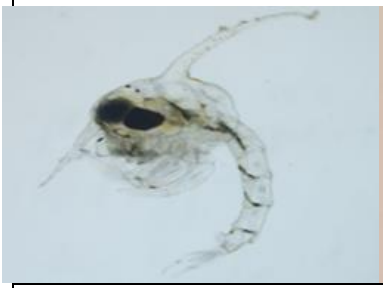
ไรโซโซลีเนีย
(*Rhizosolenia* sp.)



คีโตเซอรอส
(*Chaetoceros* sp.)

	
น็อคติลูกา (*Noctiluca scintillans*)	เซอราเทียม (*Ceratium* sp.)

การจำแนกชนิดแพลงก์ตอนสัตว์ (Zooplankton)

ไส้เดือนทะเลวัยอ่อน	โรติเฟอร์
	
ลูกปูวัยอ่อน (Zoea crab)	ไรแดง (*Moina* sp.)

การเพาะชำลูกหอยแครงในบ่อผ้าใบ

เติมน้ำทะเลใส่ลงในบ่อผ้าใบ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เมตร ความสูงบ่อผ่าใบ 1.20 เมตร) ความสูงของระดับน้ำ 50 เซนติเมตร ที่ความเค็ม 15-20 ส่วนในพันส่วน พร้อมระบบหมุนเวียนน้ำตลอดเวลา นำลูกหอยที่เตรียมไว้ขนาด 4 มิลลิเมตร จำนวนมากกว่า 20,000 ตัวต่อกิโลกรัม น้ำหนักประมาณ 30 กิโลกรัม (ราคากิโลกรัมละ 1,000 บาท) มาเพาะชำในบ่อผ้าใบโดยหว่านให้กระจายสม่ำเสมอทั่วบ่อผ้าใบ พร้อมให้อาหารเป็นแพลงก์ตอนพืช (สาหร่ายเซลล์เดียว) เช่น คลอเรลลา เตรทต้าเซลมิส หรือไอโซไครซิส วันละ ๑ ครั้ง เมื่อลูกหอยมีขนาดโตขึ้นจึงนำลูกหอยในบ่อผ้าใบไปปล่อยลงในบ่อดินต่อไป แหล่งของลูกหอยที่ซื้อมาปล่อยส่วนใหญ่มาจากภาคใต้ของไทย เช่น สุราษฎร์ธานี หรือหอยจากพื้นที่ใกล้เคียง เช่น เพชรบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร ส่วนหอยต่างถิ่นที่มาจากประเทศเพื่อนบ้านของไทย เช่น มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ บอร์เนียว และพม่า (Pathansali and Soong, 1958)

การเพาะชำหอยแครงวัยอ่อนในบ่อผ้าใบ	การเพาะเลี้ยงในบ่อดิน

การเพาะชำลูกหอยแครงในคอกเลี้ยงในทะเล

ช่วงเวลาในการปล่อยลูกหอยแครงของเกษตรกรที่มีแปลงในทะเลจะมี 2 ช่วงเวลา คือ ถ้าเป็นลูกหอยจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี มักจะเริ่มได้พันธุ์หอยแครง ช่วงที่ 1 ตั้งแต่เดือนมีนาคม-เมษายน หรือช่วงที่ 2 ในเดือนกรกฎาคมและเดือนธันวาคมของทุกปี ขณะที่ลูกหอยแครงที่แหลมนก จังหวัดปัตตานี ฤดูกาลผสมพันธุ์จะเกิดตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-สิงหาคม แต่จะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตที่จะนำลูกพันธุ์ไปใช้ได้ประมาณเดือนกุมภาพันธ์-มิถุนายนในแต่ละปี (Suwanjarat et al. 2009) ส่วนลูกหอยจากประเทศมาเลเซีย จะเริ่มได้ลูกพันธุ์ชุดที่ 1 ในเดือนพฤศจิกายน และลูกพันธุ์ชุดที่ 2 ในเดือนพฤษภาคมของปีถัดมา เช่น มีเกษตรกรผู้เลี้ยงหอยแครงบางรายลงลูกพันธุ์หอยแครงของจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในเดือนกรกฎาคม ปี 2562 จำนวน 27,000 ตัว/กิโลกรัม เมื่อระยะเวลาผ่านไป 21 วัน พบว่าลูกหอยเจริญเติบโตดี ตัวโตขึ้น ได้ขนาดลูกหอยที่ 4,800 ตัว/กิโลกรัม เมื่อเลี้ยงต่อมาอีก 3 เดือน (กันยายน ปี 2562) ลูกหอยเจริญเติบโตมีขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 1,600 ตัว/กิโลกรัม จากนั้นจับขายเป็นลูกพันธุ์ให้กับบ่อดินในราคา 250 บาท/กิโลกรัม หรือเลี้ยงต่อไปในทะเลจนถึงเดือนมีนาคม 2563 จับขายเมื่อมีขนาด 50 ตัวต่อกิโลกรัม ราคา 170 บาทต่อกิโลกรัม

ขั้นตอนการเตรียมบ่อดินและการเลี้ยงหอยแครงในบ่อดิน

การเตรียมบ่อดินเริ่มต้นจากการปล่อยน้ำออกจากบ่อจนหมด ทำการดันหน้าดินเก่าออกผึ่งแดด (ตากบ่อ) เป็นเวลา 1-2 วัน หรือนานกว่านั้นขึ้นอยู่กับความพร้อมของผู้เลี้ยง จากนั้นเติมน้ำทะเล

จากธรรมชาติทิ้งไว้ประมาณ 10 วัน วัดคุณภาพน้ำทะเลโดยให้มีค่าอัลคาไลน์ 136 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าความเค็มที่ 23 ส่วนในพันส่วน แล้วคราดดินให้หน้าดินนิ่มมีความโปร่งเป็นตะกอนเกิดใหม่ จึงปล่อยลูกหอยที่เพาะชำไว้จากบ่อผ้าใบโดยการหว่านให้ทั่วแปลง (หรืออาจจะกั้นคอกในบ่อดินก่อน) ทุก ๆ ช่วงเวลาในปฏิทินจันทรคติไทย 13-1 ค่ำ หรือวันน้ำขึ้นสูงสุด (ขึ้น 15 ค่ำ) จะทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 7 วัน หมุนเวียนไปเช่นนี้ตลอดการเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือนจะได้ลูกหอยแครงขนาดประมาณ 300 ตัว/กิโลกรัม ราคา 90-100 บาท/กิโลกรัม ซึ่งเป็นขนาดลูกหอยที่นำไปขายให้กับผู้เลี้ยงหอยแครงรายอื่นๆเพื่อนำไปปล่อยเลี้ยงในแปลงใหม่หรือในทะเลต่อไป ในระหว่างการเลี้ยงหอยขนาดเล็กนี้กรณีไม่มีลมจะต้องเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำด้วยวิธีต่างๆ สำหรับโครงการนี้เพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำโดยการเปิดกังหันโซล่าเซลล์ที่ติดตั้งในบ่อเลี้ยงและเพื่อช่วยการไหลเวียนของน้ำในบ่อ ในช่วงที่คุณภาพน้ำในธรรมชาติไม่ดี ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเข้าออกในบ่อทำให้ปริมาณแพลงก์ตอนพืชในบ่อลดลงหรือในช่วงฤดูฝนน้ำทะเลมีความเค็มต่ำ ปริมาณแพลงก์ตอนพืชในน้ำทะเลธรรมชาติมีน้อย ดังนั้นจึงควรเพิ่มปริมาณแพลงก์ตอนพืชจากการเพาะขยายเพื่อเป็นอาหารหอยแครงในบ่อดิน ในกรณีที่พบว่าขอบเปลือกลูกหอยแครงสีดำแสดงถึงว่าดินในบ่อไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจะทำการย้ายลูกหอยไปสู่แปลงใหม่ทันที หรือทำการคราดดินในบ่อเพื่อให้ดินมีออกซิเจนและระบายแก๊สในดินออกไป ในขณะเลี้ยงทำการสุ่มหอยแครงขึ้นมาชั่งน้ำหนักตลอดการเพาะเลี้ยงทุกเดือน มีตารางตรวจเช็คน้ำ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ พี-เอช อัลคาไลน์ เป็นต้น ซึ่งอุปกรณ์ตรวจเช็คคุณภาพน้ำเกษตรกรสามารถจัดหาซื้อตามร้านขายอุปกรณ์การเกษตรได้ในราคาไม่แพงนัก

ในขณะที่หอยแครงมีขนาดเล็ก ไม่ควรเลี้ยงร่วมกับสัตว์น้ำชนิดอื่นๆที่กินเนื้อเป็นอาหาร แต่เมื่อหอยแครงมีขนาดประมาณ 300 ตัว/กิโลกรัมหรือที่เรียกว่าหอยนาง สามารถเลี้ยงรวมกับกุ้งตะกาด กุ้งแชบ๊วย และกั้งในบ่อเดียวกันได้

อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหอยแครงในบ่อดิน

การเลี้ยงหอยแครงในบ่อดิน ตำบลคลองโคน จังหวัดสมุทรสงคราม มักเริ่มต้นเลี้ยงเมื่อลูกหอยแครงมีขนาดประมาณ 10,000-30,000 ตัว/กิโลกรัม ความหนาแน่นที่ปล่อยประมาณ 100,000-400,000 ตัว/ไร่ เมื่อลูกหอยแครงขนาดเล็กจะกั้นพื้นที่ในบ่อไว้และปล่อยลูกหอยแครงลงในบริเวณที่กั้นไว้ เมื่อลูกหอยมีขนาดโตขึ้นจะย้ายลูกหอยแครงไปเลี้ยงในบ่ออื่นๆเพื่อลดความหนาแน่นของลูกหอยต่อพื้นที่เลี้ยง

การจัดการบ่อดินขณะเลี้ยงหอยแครง

พื้นดินที่เหมาะสมต่อการดำรงชีพของสัตว์หน้าดิน ไม่ควรมีการสะสมสารอินทรีย์ที่มีปริมาณสูงมากเกินไป เพราะจะกลายเป็นแหล่งสะสมของแก๊สแอโมเนีย แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (แก๊สไข่เน่า) จะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ดังนั้นควรหมั่นทำการกวนดินตะกอนพื้นบ่อด้วยการคราดดินบ่อยๆ ทั้งนี้การคราดดินจะเป็นการเพิ่มออกซิเจนในตะกอนดินแล้วยังเป็นการเข้าไปแทนที่ (ไล่แก๊สเสีย) แก๊สพิษที่อยู่ในดินออกไป รวมทั้งยังช่วยให้จุลินทรีย์ในตะกอนดิน ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ในดินพื้นบ่อเปลี่ยนเป็นสารอาหารให้กับสัตว์น้ำต่อไป นอกจากนี้เรายังสามารถเพิ่มจุลินทีย์เพื่อช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ด้วยการใช้จุลินทรีย์ของกรมประมง (ปม. 1) มา

หมักกับกากน้ำตาล ประมาณ 1 สัปดาห์ นำไปสาดลงบ่อเลี้ยงให้ทั่วๆ บ่อ เป็นประจำ เดือนละครั้ง

ภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1) สำหรับใช้บำบัดน้ำปรับปรุงสภาพดินของกรมประมง

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ ศรีพนมยม และ ศศิกานต์ กาญจนสมบูรณ์. 2555. สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงไดอะตอมทาลัสซิโอซิรา (*Thalassiosira* sp.) ในห้องปฏิบัติการ. ว.วิทย.มช. 40 (1) 177-187

ณัฐพงศ์ ต้นสาลี และ จามรี รักษ์บางแหลม**.** 2555. ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. และ *Chlorella* sp. สถาบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา http://www.nicaonline.com/index.php?option=com_content&view=article&id=839:-chaetoceros-&catid=34:2012-01-05-07-25-45&Itemid=113.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2538. แพลงก์ตอนพืช. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 681 หน้า

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี. การเพาะขยายแพลงก์ตอนสีเขียวในห้องปฏิบัติการ https://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/lab-room/lab-green-page.htm.

สุนีย์ สุวภีพันธ์. 2514. การเลี้ยงไดอะตอมทะเล วารสารการประมง 24 (2) หน้า 299-307

สุนีย์ สุวภีพันธุ์. 2527. แพลงก์ตอนในอ่าวไทย. วิจัยประมงทะเล, กองประมงทะเล กรมประมง. 78 หน้า

Pathansali D. and Soong M.K. 1958. Some aspects of cockle (*Anadara granosa L*.) culture in Malaya. Proc. Indo-Pacific Fish. Coun., 8 (II): 26-31.

Suwanjarat J., Pituksalee C. and Thongchai S. 2009. Reproductive cycle of *Anadara granosa* at Pattani Bay and its relationship with metal concentrations in the sediments. Songklanakarin J. Sci. Technol., 31 (5), 471-479.

ภาคผนวก

สูตรปุ๋ยซาโตะ (สำหรับขยายสาหร่ายเซลล์เดียวขนาด 1 ตัน)

โปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3)	100 กรัม
ไดโซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	10 กรัม
เฟอริคคลอไรด์ ($FeCL_3$)	2.5 กรัม
โซเดียมเมตาซิลิเกต (ใช้กับไดอะตอม)	5.0 กรัม
น้ำทะเล	1,000 ลิตร (1 ตัน)

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเหลว (liquid agar)

1. เตรียมน้ำทะเลกรองที่มีความเค็มระหว่าง 25-28 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 1 ลิตร และเติมปุ๋ยสูตรที่ 1 และ 2 อย่างละ 1 มล. แต่ถ้าใช้เลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่มไดอะตอม ให้เติมสูตรที่ 3 ปริมาตร 1 มล. และเติมวิตามินที่เตรียมไว้ จำนวน 1 หยด
2. เขย่าให้เข้ากัน แบ่งใส่ภาชนะเช่น หลอดทดลอง หรือภาชนะที่เป็นขวดแก้วความจุ ประมาณ 100 มล. หรือตามความต้องการใช้
3. นำเข้าหม้อนึ่งความดัน 120 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

การเตรียมอาหารแข็งเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว

1. เตรียมจานเพาะสาหร่าย (petri dishes) ขนาด 90X15 มิลลิเมตร ใส่กระบอกนำเข้าตู้อบความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
2. เตรียมน้ำเค็มกรองสะอาด ที่ความเค็มระหว่าง 25-28 ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 7.5-8.2 ปริมาตร 1 ลิตร หรือปริมาตรตามความต้องการของผู้ใช้ และเติมปุ๋ยสูตรกิลลาร์ด สูตรที่ 1,

2 และ 3 ตามอัตราส่วน (น้ำทะเล 1 ลิตร ใช้ปริมาตรสูตรละ 1 มิลลิลิตร) เติมผงวุ้น 1.5% (น้ำทะเล 100 มล. ใช้ผงวุ้น 1.5 กรัม) และเติมโปรติโอส ทริปโตน (Proteose peptone) ปริมาณ 1 กรัม คนให้เข้ากัน ตั้งไฟให้เดือด หมั่นคนให้วุ้นผงแตกตัวไม่เกาะกันเป็นก้อน รอจนกระทั่งวุ้นละลายเป็นสีเหลืองใส จึงเทใส่ขวดปิดฝาเกลียว

3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อได้เวลานำออกจากหม้อนึ่งความดัน ตั้งไว้ในตู้เขี่ยเชื้อรอจนอุณหภูมิลดต่ำลงพอจับขวดได้ เติมวิตามินบี 1 (Thiamine) วิตามินบี 12 (Cyanocobalamine) ที่เตรียมไว้เป็นสต๊อค จำนวน 1 หยด เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน (ระวังอย่าให้เกิดฟอง)

4. เทใส่จานเพาะเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว และคว่ำจานเพาะเชื้อกลับด้าน เพื่อให้ไอน้ำละเหย ประมาณ 1 วัน จากนั้นจึงนำจานเพาะเชื้อไป

<u>ชนิดของสาหร่ายเซลล์เดียวกับการเลือกใช้สูตรปุ๋ย</u>

1. สาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียวและน้ำตาลขนาดเล็ก เช่น *Chlorella, Tetrasellmis, Isochrysis* ใช้ปุ๋ยสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 อย่างละ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร

2. สาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่มไดอะตอม เช่น *Chaetoceros, Nitzschia, Amphora, Skeletonema* ให้ใส่ปุ๋ยสูตร 1, 2 และสูตร 3 อย่างละ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร

การเตรียมสูตรปุ๋ยกิลลาร์ด (Gillard F medium หรือ F/2)
สำหรับเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวในร่ม

ปุ๋ยสูตรที่ 1

ชื่อเคมี	**น้ำกลั่น** (1 ลิตร)
โปแตสเซียมไนเตรท ($NaNO_3$)	75
โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NaH_2PO_4.H2O$)	5

ปุ๋ยสูตรที่ 2

ชื่อเคมี	**น้ำกลั่น** (1 ลิตร)
เฟอร์ริก คลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$)	3.15
อีดีทีเอ ($Na_2C_{10}H_{14}O_8N_2.H2O$ (Na_2EDTA)	4.36
โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$) ใช้ปริมาตร 10.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นสต๊อค	1 มล.
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H2O$)) ใช้ปริมาตร 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นสต๊อค	1 มล.
แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2.4H2O$) ใช้ปริมาตร 180 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นสต๊อค	1 มล.
โซเดียม โมลิบเดต ($Na_2MoO_4.2H2O$) ใช้ปริมาตร 6.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นสต๊อค	1 มล.
ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$) ใช้ปริมาตร 22 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นสต๊อค	1 มล.

ปุ๋ยสูตรที่ 3

ชื่อเคมี	**น้ำกลั่น** (1 ลิตร)
โซเดียมซิลิเกต อย่างละ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร	30

วิธีการเตรียมวิตามิน

1. เตรียมน้ำกลั่นผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 1 ลิตร ละลายวิตามิน 2 ชนิดผสมลงในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ ได้แก่

Thiamin HCl	20	กรัม
ไบโอติน	0.1	มิลลิกรัม
วิตามินบี 12 (Cyanocobalamine)	0.1	มิลลิกรัม

2. แบ่งใส่ขวดสีชาเก็บในตู้เย็นช่องแช่แข็ง (-10 องศาเซลเซียส) เมื่อต้องการใช้ทะยอยนำออกมาตั้งจนละลายจึงนำไปใช้ได้ ใช้ครั้งละ 1 หยดต่อน้ำทะเล 1 ลิตร และเก็บรักษาในตู้เย็นที่ 4-6 องศาเซลเซียส

คณะทำงาน

ดร.ไพฑูรย์	มกกงไผ่ [1]
ดร. ขวัญเรือน	ศรีนุ้ย [1]
ดร. สุพรรณี	ลีโทชวลิต [1]
ดร. จารุนันท์	ประทุมยศ [1]
นางสาวทิฆัมพร	กรรเจียก [1]
นายวันชัย	วงสุดาวรรณ [1]
นายณัฐกฤช	อัสนี [2]

[1] สถาบันวิทนยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

[2] มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรีสมุทรปราการ