การใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาเป็นอาหารลูกหอยนางรมพันธุ์ตะโกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871) ระยะวัยรุ่น

Utilization of Microalgal Concentrates from Intensive Shrimp Pond as Feed for the Juvenile Tropical Oyster (*Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871)

ทศพร กล่อมเกลี้ยง [1*] สุวัจน์ ธัญรส [2] ปรีดา ภูมี [1] และ วรพร ธารางกูร [2]
Torsaporn Klomgkleang [1*] Suwat Tanyaros [2] Preeda Phumee [1] and Woraporn TarangKoon [2]

บทคัดย่อ

สาหร่ายเซลล์เดียวจากบ่อเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาที่เตรียมโดยวิธีตกตะกอนให้มีความเข้มข้นแล้วนำมาใช้เป็นอาหารทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวเพื่อการอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri*) ในโรงเพาะฟัก จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหาชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายเซลล์เดียวที่ได้จากการตกตะกอน พบกลุ่ม Nanophytoplankton มีปริมาณคิดเป็น 97.9-99.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวจากการเพาะเลี้ยงเพื่อการอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาวในอัตรา 0 (ชุดควบคุม), 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของความกว้างและความยาวเปลือกของลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทดแทนในอัตรา 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับ ชุดควบคุม (P>0.05) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของลูกหอยที่ใช้สาหร่ายเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงในอัตราทดแทน 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (P>0.05) อัตราการรอดตายของลูกหอยภายหลังสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และภายหลังสิ้นสุดการทดลองสามารถคัด

[1] สาขาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

[1] Department of Fisheries Technology, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

[2] สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

[2] Department of Marine Science, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

[*] ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): torsapon123@gmail.com

แยกลูกหอยได้ 2 ขนาด คือ >0.4 และ <0.4 เซนติเมตร โดยระดับการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทดแทน 50 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่ขนาด >0.4 เซนติเมตร ขณะที่การใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทดแทนในอัตรา 100 เปอร์เซ็นต์ ลูกหอยที่มีขนาด <0.4 เซนติเมตร คิดเป็น 98.79±1.63 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P< 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราทดแทนที่น้อยกว่าและกลุ่มควบคุม จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งสามารถใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวจากการเพาะเลี้ยงได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น, บ่อเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา, การตกตะกอน, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

ABSTRACT

Microalgal concentrates from intensive shrimp pond prepared by flocculation method was substituted for microalgae in feed for nursing the juveniles tropical oyster (*Crassostrea belcheri*) in a hatchery. The groups of phytoplankton in microalgal concentrates was dominated by nanophytoplankton account for 97.9-99.9 %. The cultured microalgale were replaced with microalgal concentrates at different ratios (0 (control), 25, 50, 75 and 100%) in feed for nursing juvenile oysters . After four weeks of experiment. non-significant differences (P>0.05) were found among the mean absolute growth of shell width and length for juvenile oysters fed on microalgal concentrates at replacement rate of 50% in comparison with control. Mean specific growth rate (SGR) of juvenile oysters fed on microalgal concentrates at replacement rate of 25 and 50% were not-significant different in comparison with control (P>0.05). No differed on survival rate among the treatments were found in the end of experiment (P>0.05). The end of experiment 2 size were separated as >0.4 cm and <0.4 cm. Replacing 50% of microalgal concentrates was non-significantly differences on size fraction of juvenile oyster >0.4 cm in comparison with control (P>0.05). The size fraction of juvenile oyster <0.4 cm accounting for 98.79±1.63% at replacement rate 100% and there was significant differences (P< 0.05) in comparison with lower substitution rates and control. The result showed that, 50 % of microalgal concentrates from intensive shimp pond can be use substituted microalgae for nursery culture of the juvenile tropical oyster.

Key word: microalgal concentrates, intensive shrimp pond, flocculation, specific growth rate

บทนำ

ลูกหอยนางรมพันธุ์ตะโกรมกรามขาวที่ได้จากธรรมชาติมีปริมาณลดน้อยลง เนื่องจากการเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อม (คเชนทร, 2544) ซึ่งต่างจากในประเทศที่พัฒนาแล้ว กิจการการเลี้ยงหอยนางรมจะอาศัยลูกพันธุ์จาก โรงเพาะฟักทั้งหมด เนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณและคุณภาพของลูกหอยได้ (Angell, 1986) ในประเทศไทยยังไม่มีการผลิตลูกหอยนางรมจากโรงเพาะฟักเชิงพาณิชย์และเทคโนโลยีการผลิตลูกหอยจากโรงเพาะฟักยังมีการพัฒนาค่อนข้างน้อย การผลิตลูกหอยนางรมจากโรงเพาะฟักจะใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเป็นอาหารหลัก อย่างไรก็ตามการผลิตสาหร่ายเซลล์เดียวมีข้อจำกัดบางประการสาเหตุมาจากแสงสว่างจากธรรมชาติไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตในบางฤดูกาล เมื่อใช้แสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า พบว่ามีต้นทุนสูง ไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน เนื่องจากลูกหอยนางรมในระยะหลังลงเกาะมีความต้องการอาหารเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีการเจริญเติบโตทวีคูณ

มีนักวิจัยหลายท่านทดลองหาแหล่งอาหารชนิดอื่นเพื่อทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวสำหรับอนุบาลลูกหอยสองฝาในโรงเพาะฟัก เช่น แป้งจมูกข้าวสาลี (Fernandez-Reiriz *et al*., 1998; Albentosa *et al*., 1999; Albentosa *et al*., 2002) แป้งข้าวโพด (Perez Camacho *et al*., 1998; Fernandez-Reiriz *et al*., 1999) ซากเซลล์เดีย (Perez Camacho *et al*., 2007; สุพัชชา และคณะ, 2557) ยีสต์ (Coutteau *et al*., 1993; Coutteau *et al*., 1994; Southgate *et al*., 1998) และสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น (McCausland *et al*., 1999; Brown and Robert, 2002; Ponis *et al*., 2003) เป็นต้น สาหร่ายเซลล์เดียวจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนาเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาวในระยะวัยรุ่น เนื่องจากในบ่อเลี้ยงกุ้งมีปริมาณสาหร่ายเซลล์เดียวจำนวนมาก ซึ่งสาหร่ายเซลล์เดียวที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้งสามารถเลี้ยงหอยนางรมได้ (Jones *et al*., 2001; Wang, 2003; Martinez-Cordova and Martinez-Porch, 2006)

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการทดลองนำสาหร่ายเซลล์เดียวจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนาด้วยวิธีการตกตะกอนเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น มาใช้ทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวในการอนุบาลหอยตะโกรมกรามขาวระยะวัยรุ่น หากสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นดังกล่าวสามารถนำมาเลี้ยงลูกหอยได้ จะทำให้การอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาวดำเนินต่อไปได้ และยังเป็นการลดต้นทุนการผลิต โดยใช้สาหร่ายเซลล์เดียวจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลมาอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาว เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการเพาะพันธุ์หอยนางรมในโรงเพาะฟักต่อไป

วิธีการทดลอง

การเตรียมอาหาร

การเตรียมสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

สุ่มน้ำตัวอย่างจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาววานาไมมีความเค็มของน้ำ 23 ppt มาผ่านการตกตะกอนเป็นสาหร่ายเข้มข้นตามวิธีการของ Brown and Robert (2002) เพื่อตรวจหาชนิดและความหนาแน่นสาหร่ายเซลล์เดียว โดยสุ่มน้ำในบ่อที่มีลักษณะสีน้ำตาลประมาณ 20 ลิตร ปรับ พีเอช เป็น 10.2–10.4 โดยใช้ 1 โมลาร์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เติมสารละลาย Polyacrylamide solution (300 มิลลิลิตร ต่อ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ของ Magna Floc LT – 25, Allied Colloids, N.S.W., Australia) ทิ้งไว้ประมาณ 15 – 20 นาที มีการ

ตกตะกอนของสาหร่ายเซลล์เดียวประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ถึง 95 เปอร์เซ็นต์ที่ก้นถัง หลังจากสาหร่ายตกตะกอนหมด ถ่ายน้ำออกเหลือเพียงตะกอนสาหร่ายเซลล์เดียวที่ต้องการ ปรับพีเอชให้ลดลงเหลือ 8.5-8.9 โดยใช้สารละลาย 1 โมลาร์ของกรดไฮโดรคลอริก ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที มีการเกิดตะกอนของสาหร่ายเซลล์เดียว ถ่ายน้ำออก และนำตัวอย่างสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นผ่านช่องตาข่ายขนาด 0.4-1 มิลลิเมตร เพื่อเอาเศษขยะที่ติดมากับตัวอย่างออก ปรับพีเอชสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นให้มีค่า 7–7.5 โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์รุ่น Olympus IX 70 แยกชนิดโดยใช้หนังสือคู่มือประกอบการจำแนกชนิด สาหร่ายเซลล์เดียวตามหนังสือของลัดดา (2544); Round *et al.* (1990); Tomas *et al.* (1996)

สูบน้ำตัวอย่างจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการตรวจเช็คชนิดและปริมาณความหนาแน่น ใส่ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร ตกตะกอนสาหร่ายเซลล์เดียวตามวิธีการของ Brown and Robert (2002) นำตะกอนสาหร่ายเซลล์เดียวจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ได้ใส่ขวดพลาสติกขนาด 5 ลิตร เพื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เตรียมสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

นำสาหร่ายเซลล์เดียว *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis suecica* จากห้องปฏิบัติการปริมาตร 20 ลิตร มาเลี้ยงต่อโดยใช้น้ำทะเลจากบ่อพักน้ำที่มีการสูบขึ้นมาพักไว้ในโรงเพาะฟักเพื่อให้มีการตกตะกอน กรองด้วยไส้กรอง 3 ขนาด คือ 10, 5 และ 1 ไมโครเมตร ใส่ในถังขนาด 500 ลิตรโดยใช้สูตรปุ๋ยของลัดดา (2543) เลี้ยงถึงระยะ Log phase หรือ Exponential phase แล้วทำการตกตะกอนเพื่อให้เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น นำสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นที่ได้ใส่ขวดพลาสติกขนาด 1.2 ลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการทดลองอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาวระยะวัยรุ่นต่อไป

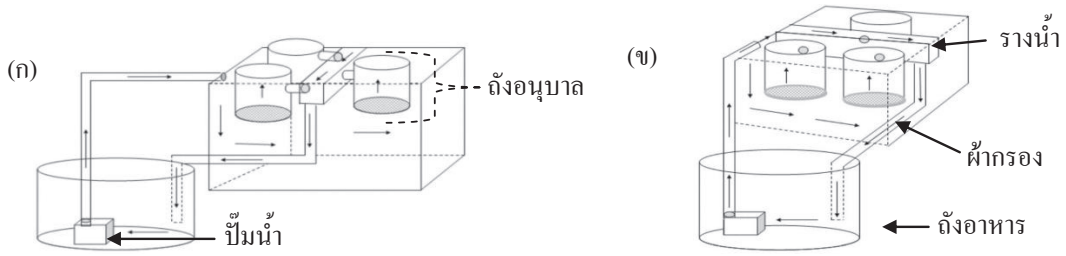
การใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียว เพื่อการอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาวระยะวัยรุ่น

การเตรียมลูกหอย

ลูกหอยตะโกรมกรามขาวที่ใช้ในการทดลองเป็นลูกหอยที่ได้จากโรงเพาะฟักหน่วยวิจัยการเพาะพันธุ์หอยทะเล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง โดยวิธีการผสมเทียม (Sacrification) โดยใช้ลูกหอยระยะหลังลงเกาะ มีน้ำหนัก 0.00278 กรัมต่อตัว ค่าเฉลี่ยของความกว้างและความยาวเปลือกเท่ากับ 0.243±0.015 และ 0.223±0.009 เซนติเมตร ตามลำดับ

การเตรียมน้ำ อุปกรณ์ และระบบการทดลอง

ทำการทดลองในระบบน้ำหมุนเวียนกึ่งปิด โดยประกอบด้วยปั๊มน้ำแบบจุ่มอัตราการสูบ 2,000 ลิตรต่อชั่วโมง ในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 105 ลิตร (กว้าง 50 เซนติเมตร×ยาว 70 เซนติเมตร×ลึก 30 เซนติเมตร) ใช้เป็นถังอนุบาล ถังขนาด 60 ลิตร ใช้สำหรับเป็นถังเก็บอาหาร และท่อพีวีซีรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 เซนติเมตรลึก 12 เซนติเมตร จำนวน 15 ชุด ใช้เป็นถังอนุบาล โดยด้านล่างของท่อพีวีซีปิดด้วยผ้ากรองขนาดช่องตา 60 ไมโครเมตร ดังที่แสดงในภาพที่ 1 ในแต่ละถังอนุบาล ใช้ลูกหอยระยะวัยรุ่น จำนวน 754 ตัว หรืออัตรา ความ



ภาพที่ 1 แสดงระบบการทดลอง (ก) ภาพด้านข้าง (ข) ภาพด้านหน้า

หนาแน่นเท่ากับ 4 ตัวต่อตารางเซนติเมตร (Tanyaros *et al*., 2012)

การให้อาหาร

คำนวณการให้อาหารผสมระหว่าง *C. calcitrans* และ *T. suecia* ในอัตราส่วน 50:50 เป็นชุดควบคุม โดยคำนวณตามน้ำหนักของลูกหอยที่มีชีวิตตามวิธีการของ Helm and Bourne (2004) โดยใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นอาหารทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากการเพาะเลี้ยง ที่ระดับการทดแทน 0, 25, 50, 75, 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาหร่ายเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ให้เป็นอาหาร จะเทียบกับค่าดูดกลืนแสง (%T) ที่ 750 นาโนเมตร ของอาหารที่ผสมสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากการเพาะเลี้ยง ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น ปรับอาหารทุกสัปดาห์ตามน้ำหนักของลูกหอย วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) แต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ซ้ำ

นำตัวอย่างสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนาและสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากการเพาะเลี้ยงของ *C. calcitrans* และ *T. suecica* ที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (highly unsaturated fatty acids; HUFAs) โดยใช้เครื่อง Gas chromatography ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น 6890 N ผลปรากฏดัง ตารางที่ 1

การดำเนินการทดลอง

นำลูกหอยระยะวัยรุ่น ที่มีขนาดและจำนวนตามที่เตรียมไว้ข้างต้น ใส่ลงถังอนุบาลในระบบสูบน้ำจากถังเก็บอาหารขึ้นสู่กระบะอนุบาล โดยมีการไหลของน้ำและอาหารในลักษณะจากด้านล่างสู่ด้านบน (up-welling) โดยที่น้ำผ่านทางด้านล่างผ้ากรอง และตัวลูกหอย ไหลออกทางท่อน้ำล้นหมุนเวียนกลับลงสู่ถังอาหาร อัตราการไหลของน้ำที่เข้าสู่ถังอนุบาลจะถูกควบคุมด้วยวาล์ว มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในระบบเลี้ยง 100 เปอร์เซ็นต์ ทุก 2 วัน ให้อาหารหลังการถ่ายน้ำ ทำการสุ่มตัวอย่างลูกหอยในแต่ละหน่วยทดลองจำนวน 20 ตัว เพื่อวัดความยาวและความกว้างของเปลือก พร้อมกับชั่งน้ำหนักลูกหอยทุกๆ สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักรวมพร้อมทำการคัดขนาดของแต่ละชุดการทดลองโดยใช้ตะแกรงขนาดช่องตา 0.4 และ 0.7 เซนติเมตร คำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตสมบูรณ์ (absolute growth rate) ตามวิธีการของ Yang *et al.* (2005) หาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR) ตามวิธีการของ Dégremont *et al*. (2007) และนับจำนวนลูกหอยที่มีชีวิตเพื่อคำนวณหาอัตราการรอดตาย

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) ของสาหร่ายชนิดต่างๆ และ สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นที่ใช้อนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาว

องค์ประกอบทางเคมี	*C. calcitrans*	*T. suecica*	สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้ง
Monounsaturated			
16:1	499.06	88.50	52.91
18:1	49.33	282.87	354.01
20:1	-	29.12	0.00
22:1	-	-	0.00
Sum	**548.39**	**400.49**	**406.92**
Polyunsaturated			
18:2	-	231.56	27.18
18:3	-	499.30	0.00
20:2	120.96	-	6.27
20:3 (n-6fatty acid)	-	-	0.00
20:4 (ARA)	19.67	-	3.31
20:5 (EPA)	90.69	78.53	0.00
22:2	11.68	-	17.14
22:6 (DHA)	24.23	-	4.98
Sum	**267.23**	**809.39**	58.88

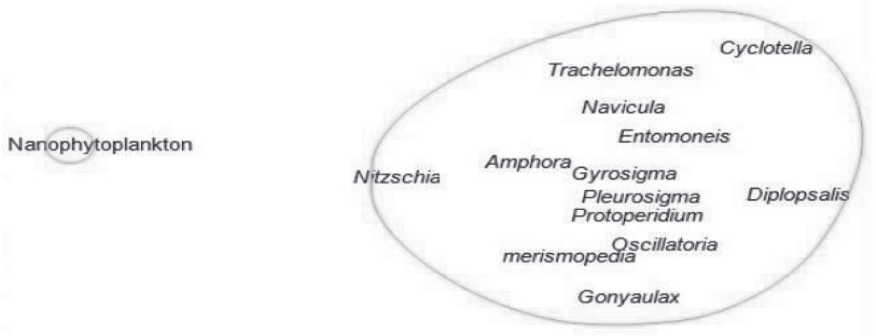
การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่าปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายเซลล์เดียวมาวิเคราะห์หาความคล้ายคลึงโดยแสดงผลในรูป Multidimension Scaling (MDS) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Primer Version 6.1.15 ค่าอัตราการเจริญเติบโตสมบูรณ์ของความกว้าง ความยาวของเปลือก ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย ค่าเฉลี่ยของขนาดของลูกหอยในช่วงสิ้นสุดการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ One-way ANOVA หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการทดลอง

ชนิด และความหนาแน่นของสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนา

จากการสุ่มตรวจตัวอย่างสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเล เพื่อเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น จากการตกตะกอนในบ่อเลี้ยงกุ้ง 3 ครั้งพบว่าระดับความคล้ายคลึงที่ 20 สามารถแบ่งสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้งได้ 2 กลุ่ม คือ Nanophytoplankton มีปริมาณความหนาแน่นมากที่สุด และกลุ่มสาหร่ายเซลล์เดียวทั้ง 11 สกุลที่ปริมาณความหนาแน่นน้อยกว่า ซึ่งมีลักษณะรวมกันเป็นกลุ่ม ดังภาพที่ 2 และตารางที่ 2



ภาพที่ 2 ความคล้ายคลึงของสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการตกตะกอนเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น

ตารางที่ 2 ปริมาณความหนาแน่นของสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้ง (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ตลอดระยะเวลาการตกตะกอนสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้ง 3 ครั้ง

กลุ่ม	ปริมาณความหนาแน่น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	สาหร่ายเซลล์เดียวเฉลี่ยรวม
Bacilariophyceae	1.51×10^{3}	6.37×10^{5}	5.95×10^{3}	2.14×10^{5}
	$\pm2.30\times10^{2}$	$\pm3.52\times10^{4}$	$\pm1.87\times10^{3}$	$\pm3.65\times10^{5}$
	(0.0178%)	(2.0653%)	(0.0225%)	(0.7018%)
Euglenophyceae	1.08×10^{2}	7.51×10^{2}	0.0	2.86×10^{2}
	$\pm1.0\times10^{1}$	$\pm1.14\times10^{2}$	(0.0%)	$\pm4.06\times10^{2}$
	(0.0013 %)	(0.0024%)		(0.0012%)
Dinophyceae	2.92×10^{2}	1.92×10^{3}	1.26×10^{3}	1.16×10^{3}
	$\pm2.15\times10^{2}$	$\pm1.33\times10^{3}$	$\pm6.19\times10^{2}$	$\pm8.20\times10^{2}$
	(0.0034%)	(0.0062%)	(0.0048%)	(0.0042%)
Cyanophyceae	0.0	2.63×10^{2}	2.77×10^{2}	1.80×10^{2}
	(0.0%)	$\pm1.25\times10^{2}$	$\pm8.05\times10$	$\pm1.39\times10^{2}$
		(0.0009%)	(0.0010%)	(0.0031%)
Nanophytoplankton	8.50×10^{6}	3.02×10^{7}	2.63×10^{7}	2.17×10^{7}
	$\pm1.53\times10^{6}$	$\pm6.93\times10^{5}$	$\pm2.01\times10^{6}$	$\pm1.15\times10^{7}$
	(99.97%)	(97.92%)	(99.96%)	(99.28%)

อัตราการเจริญเติบโตสมบูรณ์

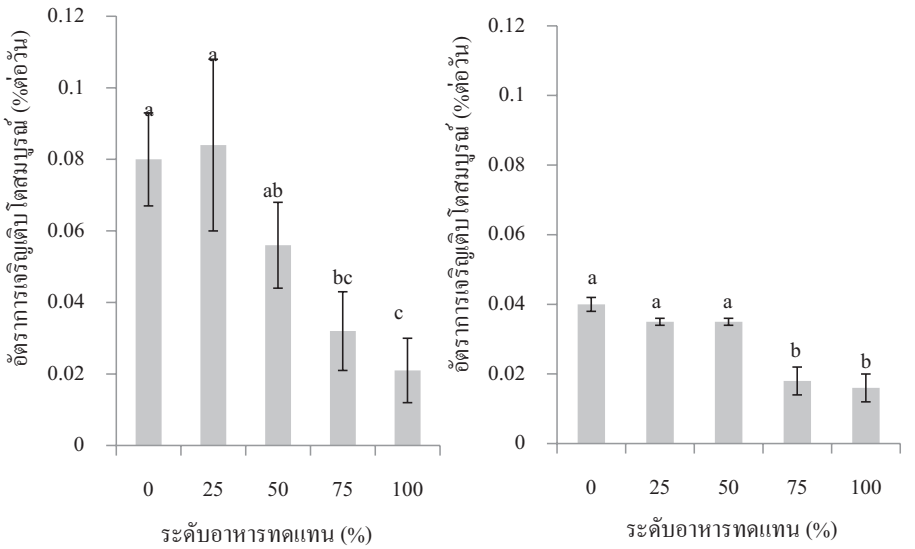
ค่าความกว้างเปลือกเฉลี่ยที่ระดับการทดแทนด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ขณะที่ลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นที่ระดับ 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่า0.080±0.013, 0.084±0.024, 0.056±0.012, 0.032±0.011, 0.021±0.009 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ ที่ระดับการทดแทน 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ความยาวเปลือกเฉลี่ยของว่าลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นที่ระดับ 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P> 0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ ลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นที่ระดับทดแทน 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 3) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.040±0.002, 0.035±0.001, 0.035±0.001, 0.018± 0.004, 0.016±0.004 เปอร์เซ็นต์ต่อวันตามลำดับที่ระดับการทดแทน 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของลูกหอยระยะวัยรุ่น พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P> 0.05) ในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 สามารถทดแทนได้ถึงระดับ 75 เปอร์เซ็นต์สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อกุ้ง เมื่อเปรียบเทียบกับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวและในสัปดาห์ที่ 4 สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ระดับทดแทน 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายเซลล์เดียวที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ดังตารางที่ 3

อัตราการรอดตาย

อัตราการรอดตายเฉลี่ยของลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยง



ภาพที่ 3 อัตราการเจริญเติบโตสมบูรณ์

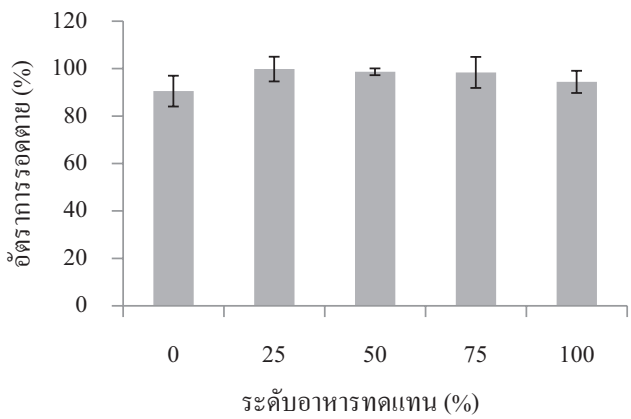
กุ้งทดแทนในระดับอัตราส่วนต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับอาหารสาหร่ายเซลล์เดียว 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 90.53±6.49, 99.82±5.21, 98.67±1.43, 98.40±6.54 และ 94.42±4.68 ตามลำดับ ที่ระดับการทดแทน 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 3 ค่าอัตราการเจริญเติบโต (SGR) ของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ

ระดับทดแทน %	SGR W1 (%ต่อวัน)	%	SGR W2 (%ต่อวัน)	%	SGR W3 (%ต่อวัน)	%	SGR W4 (%ต่อวัน)	%
0	0.0343 ±0.0112^{ab}	100	0.1571 ±0.0219^{ab}	100	0.0506 ±0.0183^{a}	100	1.0759 ±0.0419^{ab}	100
25	0.0365 ±0.0052^{ab}	106.41	0.1666 ±0.0126^{a}	106.04	0.0598 ±0.0085^{a}	118.18	1.1257 ±0.0445^{a}	104.62
50	0.0451 ±0.0021^{a}	131.48	0.1608 ±0.0034^{ab}	102.35	0.0463 ±0.0029^{ab}	91.50	1.0591 ±0.0066^{b}	98.43
75	0.0336 ±0.0142^{ab}	97.95	0.1545 ±0.0164^{ab}	98.34	0.0421 ±0.0063^{ab}	83.20	0.8753 ±0.0389^{c}	81.36
100	0.0248 ±0.0034^{b}	72.30	0.1407 ±0.0036^{b}	89.56	0.0305 ±0.0037^{b}	60.27	0.7656 ±0.0088^{d}	71.15

* การใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเพียงอย่างเดียวเทียบให้มีค่า SGR เท่ากับ 100%

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แสดงในแนวตั้งที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)



ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดตายของลูกหอยที่อนุบาลด้วยการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทดแทนในอัตราส่วนต่างๆ ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์

ขนาดของลูกหอย

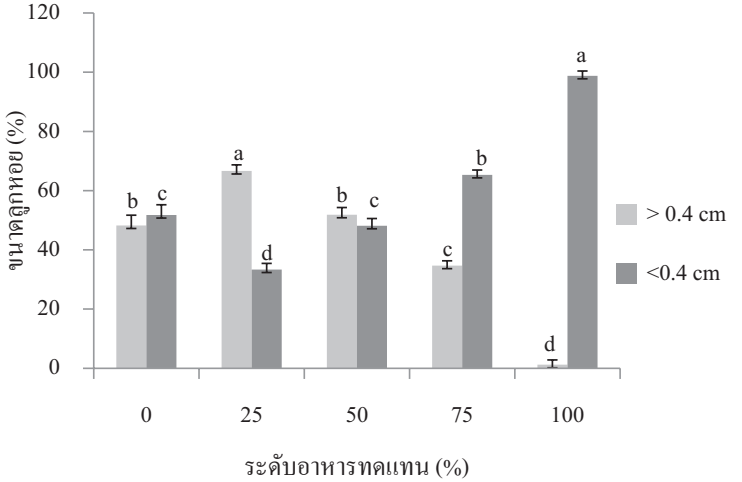
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าสามารถคัดแยกขนาดของลูกหอยได้ 2 ขนาด คือ >0.4 เซนติเมตร และ <0.4 เซนติเมตร ลูกหอยที่มีขนาด >0.4 เซนติเมตร พบว่ามีปริมาณลูกหอยสูงสุดที่ระดับทดแทนอาหาร 25 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ลูกหอยที่มีขนาด <0.4 เซนติเมตร มีปริมาณลูกหอยสูงสุดที่ระดับทดแทน 100 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณของลูกหอยทั้ง 2 ขนาดที่ระดับทดแทน 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P> 0.05) กับลูกหอยที่อนุบาลด้วยสาหร่ายเซลล์เดียว 100 (ภาพที่ 5)

วิจารณ์ผลการทดลอง

สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่นำมาใช้ทดแทนอาหารสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงเป็นสาหร่าย ที่ได้จากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลที่มีลักษณะน้ำเป็นสีน้ำตาล โดยส่วนใหญ่เป็น Nanophytoplankton ถึง 99.97 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำที่สูบมาใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นแหล่งน้ำชายฝั่ง ใกล้ป่าชายเลน ซึ่งในมวลน้ำประกอบด้วย Nanophytoplankton เป็นจำนวนมาก (ณิฏฐารัตน์ และคณะ, 2550) อาจจะผสมลงในบ่อเลี้ยงกุ้งขณะเปลี่ยนถ่ายน้ำ ทำให้มีสาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่มดังกล่าวในบ่อเลี้ยงกุ้งเกิดขึ้น (Hiu *et al*., 1998) นอกจากนี้ในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนามีสัดส่วนต่างของ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส รวมทั้งแร่ธาตุ อินทรียวัตถุ และสารแขวนลอยสูง ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อปริมาณความหลากหลายกลุ่มชนิดของสาหร่ายเซลล์เดียว (Alonso-Rodríguez and Páez-Osuna, 2003) จึงมีโอกาสที่สาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่ม Nanophytoplankton เกิดขึ้นจำนวนมาก (Lemonnier *et al*., 2010; Thomas *et al*., 2010)

ขณะที่การศึกษาของ Yusoff *et al*. (2002); Casé *et al.* (2008); Boyd (2009) พบว่าสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นกลุ่มไดอะตอม 70-86.3 เปอร์เซ็นต์ ของสาหร่ายเซลล์เดียวทั้งหมดในบ่อเลี้ยงกุ้ง ทั้งนี้เนื่องจากความหลากหลายและปริมาณของสาหร่ายเซลล์เดียวแต่ละกลุ่มที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้ง จะจำเพาะขึ้นอยู่กับการ



ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยขนาดของลูกหอยระยะวัยรุ่นที่อนุบาลด้วยการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์

เปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ ปริมาณสารอาหารในบ่อเลี้ยง ที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวแต่ละชนิดอีกด้วย (พรเทพ, 2538; Boyd, 2009) ซึ่งบางช่วงระยะเวลาสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงกุ้งจะมีความหนาแน่นที่สูงและปริมาณมาก จึงเหมาะสมต่อการใช้เป็นอาหารอนุบาลลูกหอยระยะวัยรุ่น เนื่องจากปริมาณความต้องการของลูกหอยมีปริมาณสูงต่อมื้อเมื่อขนาดใหญ่ขึ้น แต่สาหร่ายจากบ่อเลี้ยงกุ้งอาจมีความแตกต่างของชนิดน้อย และมีโภชนาการไม่ตรงต่อความต้องการของลูกหอย

การใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาวระยะวัยรุ่น

จากการศึกษาการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลเพื่อเป็นอาหารทดแทนในการอนุบาล ลูกหอยตะโกรมกรามขาว พบว่าระดับทดแทนที่ 25 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกระดับการทดแทน ขณะที่ระดับทดแทน 100 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด ผลมาจากระดับทดแทนที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ มีโภชนาการครบถ้วนกว่าทุกระดับการทดแทนจึงส่งผลให้หอยมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Southgate *et al*. (1998) และ Brown *et al*. (1998) ทดลองเลี้ยงหอยนางรมโดยใช้อาหารผสม พบว่ามีการเจริญเติบโตดีกว่าอาหารที่สาหร่ายชนิดเดียว เนื่องจากคุณค่าทางอาหารสูงกว่าและกรดไขมันไม่อิ่มตัว ในสาหร่ายเซลล์เดียวแต่ละชนิดมีปริมาณที่แตกต่างกัน เมื่อดูจากปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดที่ผสมอยู่ในสาหร่าย (Rivero-Rodríguez *et al*., 2007) จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกันในหอยนางรม เมื่อทดลองเลี้ยงระหว่างสาหร่ายชนิดเดียวและแบบผสมหลายชนิด (Jonsson *et al*., 1999) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ กรดไขมันไม่อิ่มตัว (EPA, DHA, ARA: Arachidonic acid) ในสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้ง (ตารางที่ 1) มีน้อยกว่าสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นของ *C. calcitrans* และ *T. suecica* จึงส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของลูกหอย ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีบทบาทสำคัญมากในหอย จากการศึกษาของ Nevejan *et al.* (2003) และ Rivero-Rodríguez *et al.* (2007) พบว่าเมื่อเสริมกรดไขมันในอาหารที่มีสาหร่ายชนิดเดียว การเจริญเติบโตของหอยสูงกว่าสาหร่ายที่ไม่ได้เสริมกรดไขมัน ซึ่งปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด EPA และ DHA ช่วยให้อัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น เมื่อได้รับอย่างเพียงพอ (Enright *et al.,* 1986; Caers *et al.,* 1998) แต่สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งนั้นมีส่วนผสมของเคลย์ (clay) ช่วยให้ประสิทธิภาพการกรองกินของหอยดีขึ้นจะไปช่วยเพิ่มระยะเวลาย่อยอาหาร จากการทดลองในหอย sea scallop เมื่อผสมแร่ดินชนิด เบนโทไนท์ในอาหาร (Cranford and Gordon, 1992) และทดลองในหอยนางรมโดยใช้ดินสอพองผสมในอาหาร (Urban Jr and Kirchman, 1992)

อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งยังสามารถทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวจากการเพาะเลี้ยงได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของสาหร่ายเซลล์เดียวทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับการใช้อาหารทดแทนอนุบาลลูกหอยสองฝา เช่น แป้งข้าวโพด (Fernández-Reiriz *et al*., 1999; Perez-Camacho *et al*., 1998) แป้งจมูกข้าวสาลี (Fernández-Reiriz *et al*., 1998) ยีสต์ (Coutteau *et al*., 1994) และสอดคล้องกับสุพัชชา และคณะ (2557) ใช้ซากเซลล์เดียวจาก

สาหร่ายสายใบ (*Porphyra* sp.) เป็นอาหารทดแทนในหอยชนิดเดียวกัน ซึ่งสาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นอาหารเสริม อาหารสำรองในช่วงที่อาหารในห้องปฏิบัติการมีปัญหา หรือสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงไม่เพียงพอต่อความต้องการของลูกหอยช่วยลดปัญหา และดำเนินการอนุบาลลูกหอยนางรมต่อไปได้ แต่ก่อนทำการตกตะกอนควรเลือกสาหร่ายเซลล์เดียวในกลุ่มของไดอะตอมเป็นกลุ่มเด่นเพื่อโภชนาการที่ครบถ้วนของลูกหอยและตรวจดูความหนาแน่นของสาหร่ายเซลล์เดียวที่ต้องการในบ่อเลี้ยงเพื่อความคุ้มค่าต่อการลงทุน

สรุปผล

สาหร่ายเซลล์เดียวเข้มข้นจากบ่อเลี้ยงกุ้งสามารถทดแทนได้ 50 เปอร์เซ็นของสาหร่ายเซลล์เดียวจากการเพาะเลี้ยงทั้งหมดที่ใช้เป็นอาหารอนุบาลลูกหอยนางรมพันธุ์ตะโกรมกรามขาว ส่วนใหญ่ประกอบของ สาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่ม Nanophytoplankton เป็นกลุ่มเด่น

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณหน่วยวิจัยเพาะพันธุ์หอยตะโกรมกรามขาว คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง และขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่ให้คำปรึกษา ให้กำลังกาย กำลังใจตลอดมา

เอกสารอ้างอิง

คเชนทร เฉลิมวัฒน์. 2544. **การเพาะเลี้ยงหอย.** สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์, อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์, อิชฌิกา ศิวายพราหมณ์ และ พรเทพ พรรณรักษ์. 2550. **พลิกป่าฟื้นสู่ศูนย์ฯ สิรินาถราชินี.** บริษัท ปตท. จำกัดมหาชน, กรุงเทพมหานคร.

พรเทพ วิรัชวงศ์. 2538. การจัดการแพลงก์ตอนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. **แพลงก์ตอนพืช.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว, สุวัจน์ ธัญรส, ปรีดา ภูมี และ วรพร ธารางกูร. 2557. การผลิตซากเซลล์เดียวจากสาหร่ายสายใบ (*Porphyra* sp.) เพื่อการอนุบาลลูกหอยตะโกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri* Sowerby, 1871) ระยะวัยอ่อนและวัยรุ่น, น. 818-827. *ใน* **การประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 15.** มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

Albentosa, M., Fernández-Reiriz, M.J., Pérez-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, M.J. and Labarta, U. 2002. Wheatgerm flour in diets for Manila clam *Ruditapes philippinarum* spat. **Aquaculture** 212(1-4): 335-345.

Alonso-Rodríguez, R. and Páez-Osuna, F. 2003.

Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. **Aquaculture** 219(1-4): 317-336.

Angell, C.L. 1986. **The Biology and Culture of Tropical Oysters. Clarm Studies and Reviews 13.** International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

Boyd, E. 2009. Phytoplankton in Aquaculture Ponds. Department of Fisheries and Allied Aquacultures. Auburn University. **Taken From Global Aquaculture Advocate** 12: 65-66.

Brown, M. and Robert, R. 2002. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). **Aquaculture** 207(3-4): 289-309.

Brown, M.R., McCausland, M. and Kowalski, A. K. 1998. The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat. **Aquaculture** 165(3-4): 281-293.

Caers, M., Coutteau, P., Lombeida, P. and Sorgeloos, P. 1998. The effect of lipid supplementation on growth and fatty acid composition of *Tapes philippinarum* spat. **Aquaculture** 162(3-4): 287-299.

Casé, M., Leca, E.E., Leitão, S.N., Sant´Anna, E.E., Schwamborn, R. and Junior, A.T.M. 2008. Plankton community as an indicator of water quality in tropical shrimp culture ponds. **Marine Pollution Bulletin** 56(7): 1343-1352.

Coutteau, P., Hadley Nancy, H., Manzi John, J. 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.

Coutteau, P., Dravers, M., Dravers, P., Léger, P. and Sorgeloos, P. 1993. Manipulated yeast diets and dried algae as a partial substitute for live algae in the juvenile rearing of the Manila clam *Tapes philippinarum* and the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, 523-531. *In* Barnabe, G.' and Kestemont, P., eds. **Production, Environment and Quality: Proceedings of the International Conference Bordeaux Aquaculture 92, Special Publication.** Bordeaux, France.

Cranford, P.J. and Gordon Jr, D.C. 1992. The influence of dilute clay suspensions on sea scallop (*Placopecten magellanicus*) feeding activity. **Netherlands Journal of Sea Research** 30: 107-120.

Dégremont, L., Ernande, B.B., Bédier, E.C. 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.

Enright, C.T., Newkirk, Craigie, J.S. and Castell, J.D. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. **Journal of Experimental Marine Biology and**

Ecology 96(1): 1-13.

Fernández-Reiriz, M.J., 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. **Camparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 119(1): 369-377.

Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U., Albentosa, M. and Pérez-Camacho, A. 1999. Lipid profile and growth of the clam spat *Ruditapes decussatus* (L) fed with microalgal diets and cornstarch. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology** 124(3): 309-318.

Helm, M.M. and Bourne, N. 2004. Hatchery Culture of Bivalves: A Practical Manual. **Food and Agriculture Organization of the United Nation**, Rome.

Hui, L., Yiping, W., Shangde, G. and Zhinan, Z. 1998. Studies on chlorophyll a and some other facts in the shrimp pond before the outbreak of the shrimp disease. **Journal of Ocean University of Qingdao** 28(3): 377-382.

Jones, A.B., Dennison, W.C. and Preston, N.P. 2001. Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study. **Aquaculture** 193(1-2): 155-178.

Jonsson, P.R., Berntsson, K.M., André, C. and Wängberg S.-Å. 1999. Larval growth and settlement of the European oyster (*Ostrea edulis*) as a function of food quality measured as fatty acid composition. **Marine Biology** 134(3): 559-570.

Lemonnier, H., Courties, C., Mugnier, C., Torréton, J. and Alain, H. 2010. Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimp ponds affected or unaffected by vibriosis. **Marine Pollution Bulletin** 60(3): 402-411.

Martinez-Cordova, L.R. and Martinez-Porchas, M. 2006. Polyculture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, giant oyster, *Crassostrea gigas* and black clam, *Chione fluctifraga* in ponds in Sonora, Mexico. **Aquaculture** 258(1-4): 321-326.

McCausland, M.A., Brown, M.R., Barrett S.M., Diemar, J.A. and Heasman, M.P. 1999. Evaluation of live microalgae and microalgal pastes as supplementary food for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). **Aquaculture** 174(3-4): 323-342.

Nevejan, N., Saez, I., Gajardo, G. and Sorgeloos, P. 2003. Supplementation of EPA and DHA emulsions to a *Dunaliella tertiolecta* diet: effect on growth and lipid composition of scallop larvae, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). **Aquaculture** 217(1-4): 613-632.

Pérez Camacho, A., Albentosa, M., Fernández-Reiriz, M.J. 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, J.M., 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.

Ponis, E., Robert, R. and Parisi, G. 2003. Nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). **Aquaculture** 221(1-4): 491-505.

Rivero-Rodríguez, S., Beaumont, A.R. and Lora-Vilchis, M.C. 2007. The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles. **Aquaculture** 263(1-4): 199-210.

Round, F.E., Crawford, R.M. and Mann, D.G. 1990. **The Diatoms.** Cambridge University Press, Cambridge.

Southgate, P.C., Beer, A.C., Duncan, P.F. and Tamburri, R. 1998. Assessment of the nutritional value of three species of tropical microalgae, dried *Tetraselmis* and a yeast-based diet for larvae of the blacklip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (L.). **Aquaculture** 162(3-4): 247-257.

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.

Thomas, Y., Courties, C., Helwe, Y.E., Herbland, A. and Lemonnier, H. 2010. Spatial and temporal extension of eutrophication associated with shrimp farm wastewater discharges in the New Caledonia lagoon. **Marine Pollution Bulletin** 61(7-12): 387-398.

Tomas, C.R., Hasle, G.R., Steidinger, K.A., Syvertren, E.E. and Tangen, K. 1996. **Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates.** Harcourt Brce Company, Californiа.

Urban Jr, E.R. and Kirchman, D.L. 1992. Effect of kaolinite clay on the feeding activity of the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 160(1): 47-50.

Wang, J.K. 2003. Conceptual design of a microalgae-based circulating oyster and shrimp system. **Aquacultural Engineering** 28(1/2): 37-46.

Yang, H., Zhou, Y., Mao, Y., Li, X., Liu, Y. and Zhang, F. 2005. Growth characters and photosynthetic capacity of *Gracilaria lemaneiformis* as a biofilter in a shellfish farming area in Sanggou Bay, China. **Journal of Applied Phycology** 17(3): 199-206.

Yusoff, F.M., Zubaidah, M.S., Matias, H.B. and Kwan, T.S. 2002. Phytoplankton succession in intensive marine shrimp culture ponds treated with a commercial bacterial product. **Aquaculture Research** 33: 269 -278.