

การก่อเกิดภาวะอยู่ร่วมกันของชุมชนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ ปะการัง และดอกไม้ทะเล
ในตัวอ่อนหอยมือเสือ *Tridacna squamosa* (Lamarck, 1819)



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SYMBIOTIC ESTABLISHMENT OF ZOOXANTHELLAE ISOLATED FROM GIANT CLAM,
CORALS AND SEA ANEMONE IN GIANT CLAM LARVAE, *Tridacna squamosa*
(Lamarck, 1819)



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Marine Science

Department of Marine Science

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การก่อเกิดภาวะอยู่ร่วมกันของชุมชนเทลลีที่แยกจากหอย
มือเสือ ปะการัง และดอกไม้ทะเล ในตัวอ่อนหอยมือเสือ
Tridacna squamosa (Lamarck, 1819)

โดย

นายเสฐียรพงษ์ เกียงสุภา

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวงษ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศานิต ปิยพัฒน์นกร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตีธรรมยง)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(นางสาว จินตนา นักระนาด)

เสฐียรพงษ์ เกียงสุภา : การก่อเกิดภาวะอยู่ร่วมกันของซูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ ปะการัง และดอกไม้ทะเล ในตัวอ่อนหอยมือเสือ *Tridacna squamosa* (Lamarck, 1819) (SYMBIOTIC ESTABLISHMENT OF ZOOXANTHELLAE ISOLATED FROM GIANT CLAM, CORALS AND SEA ANEMONE IN GIANT CLAM LARVAE, *Tridacna squamosa* (Lamarck, 1819)) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์, 59 หน้า.

ซูแซนเทลลี (*Symbiodinium microdriaticum*) มีความสำคัญและจำเป็น ต่อการพัฒนาการและการเติบโตของลูกหอยมือเสือวัยอ่อน จึงสนใจทำการศึกษ้อัตราการรอด อัตราการเติบโต การพัฒนาการ และการเกิดภาวะอิงอาศัยในหอยมือเสือ เพื่อคัดเลือกซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) โดยให้ลูกหอยมือเสือกินซูแซนเทลลีที่แยกเลี้ยงแบบสายพันธุ์เดี่ยวจากดอกไม้ทะเล ปะการังเขากวาง ปะการังรังผึ้ง ปะการังดอกเห็ด และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ การศึกษาในระยะวัยน้ำพบว่าลูกหอยมือเสือกินซูแซนเทลลีจากปะการังเขากวางให้อัตราการรอดมากที่สุด ขณะที่อัตราการเติบโตสูงที่สุดพบในชุดการทดลองที่ลูกหอยได้กินซูแซนเทลลีจากแมนเทิลของหอยมือเสือ การพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger พบว่าลูกหอยที่กินซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้งใช้เวลาเร็วที่สุด การเกิดภาวะอิงอาศัยในทุกชุดการทดลอง นั้นใช้เวลา 12-14 วัน การศึกษาในระยะลงเกาะพบว่า ลูกหอยที่กินซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ มีอัตราการรอดมากที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และยังทำให้ลูกหอยพัฒนาเข้าสู่ระยะ juvenile ได้เร็วที่สุด นอกจากนี้พบว่าลูกหอยที่กินซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง และดอกไม้ทะเลมีอัตราการเติบโตในช่วงลงเกาะได้มากที่สุด การศึกษานี้สรุปได้ว่าลูกหอยมือเสือดอบสนองต่อซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาการ และซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ คือ ซูแซนเทลลีจากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือและปะการังรังผึ้ง เนื่องจากส่งผลให้ลูกหอยมือเสือกินอัตราการรอด อัตราการเติบโตสูง เกิดภาวะอิงอาศัยและการพัฒนาการที่รวดเร็ว

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2560

5772196223 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORDS: ZOOXANTHELLAE / SYMBIOSIS ESTABLISHMENT / GIANT CLAM

SATIANPONG KEANGSUPHAR: SYMBIOTIC ESTABLISHMENT OF ZOOXANTHELLAE ISOLATED FROM GIANT CLAM, CORALS AND SEA ANEMONE IN GIANT CLAM LARVAE, *Tridacna squamosa* (Lamarck, 1819). ADVISOR: ASSOC. PROF. THAITHAWORN LIRDWITAYAPRASIT, Ph.D., 59 pp.

Zooxanthellae (*Symbiodinium microadriaticum*) is very important and necessary for the development and growth of giant clam larvae. Therefore the study on survival rate, growth rate, development and symbiosis establishment have been carried out in giant clam (*Tridacna squamosa*) larvae to find out the suitable clone of zooxanthellae for giant clam culture. Five clonal cultures of zooxanthellae isolated from sea anemone, staghorn coral, honeycomb coral, mushroom coral and mantle tissue of giant clam were provided for the feeding experiment in giant clam larvae. The study in swimming stage of the larvae showed that the highest survival rate have been found in the larvae fed on zooxanthellae isolated from staghorn coral whereas the highest growth rate in the larvae fed on zooxanthellae isolated from mantle tissue of giant clam. The rapidest larva development to pediveliger stage have been found in the larvae fed on zooxanthellae isolated from honeycomb coral. The complete symbiosis in all treatments occurred within 12–14 days, approximately. As for the study in settle stage, the larvae fed on zooxanthellae isolated from honeycomb coral and giant clam's mantle have been found the highest survival rate and the rapidest development to juvenile stage at the end of experiments. Furthermore, the highest growth rate in juvenile stage had been observed in zooxanthellae isolated from honeycomb coral and sea anemone. In conclusion, the giant clam larvae would respond differently to zooxanthellae isolated from different hosts and depending on their development stages. The suitable zooxanthellae for giant clam larvae culture was the zooxanthellae isolated from mantle tissue of giant clam and honey comb coral, which resulted in highest survival rate and growth rate, shorten development time and fasten complete symbiosis in larvae.

Department: Marine Science

Student's Signature

Field of Study: Marine Science

Advisor's Signature

Academic Year: 2017

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ในการทำวิทยานิพนธ์

วิทยานิพนธ์เรื่องนี้ได้รับการสนับสนุนจาก โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ และศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ที่ให้การสนับสนุนด้านการออกพื้นที่เก็บตัวอย่าง สถานที่ อุปกรณ์ และพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือที่ใช้ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ ที่ให้คำแนะนำ ให้กำลังใจ และช่วยเหลือในการแก้ปัญหาต่างๆ ทั้งการเรียน และการทำวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้ง ตรวจสอบแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตธิธรรมยง และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศานิต ปิยพัฒนกร กรรมการและประธานในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ นางสาวจินตนา นักระนาด ผู้เชี่ยวชาญด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กองวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง ที่ได้แนะนำเอกสารในการทำวิจัย และเทคนิควิธีการรวมถึงประสบการณ์ต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ

ขอขอบคุณนายธเนศ พุ่มทอง ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ ตำบลคลองวาฬ อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่ให้การอนุเคราะห์ ที่พัก สถานที่และอุปกรณ์วิจัยที่ใช้ในการศึกษานี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ นางสาวสุนิศา เลี่ยมใหม่ นางกัญจณี พรหมจินดา และนางสายพิน ชูจิตร ที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆ ในการเลี้ยงหอยมือเสือ ขอขอบคุณ นางจงรัก จันท์เกตุ และนายจตุรพตม์ เหลื่อมปุ๋ย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือด้านการเลี้ยงและขยายแพลงก์ตอนพืช ขอขอบคุณ นายเสน่ห์ ชนะภัย นางสาวจันทรา คงศรี และนางสาวอภิรดี ปานนิล ด้านวางแผนในการทำระบบการเลี้ยง และขอขอบคุณ น้องๆ ฝึกงานทุกคนที่ช่วยในงานวิจัยนี้

สุดท้ายขอขอบคุณ คุณพ่อคุณแม่ และสมาชิกห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนพืชทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้กำลังใจ กำลังทรัพย์ และห่วงใยเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูป	ญ
สารบัญตาราง.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	2
บทที่ 2 สํารวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 อนุกรมวิธานหอยมือเสือ.....	3
2.2 ถิ่นอาศัยและการกระจายของหอยมือเสือ.....	4
2.3 การสืบพันธุ์ วงจรชีวิต และฤดูการสืบพันธุ์.....	5
2.4 อาหารและการกินอาหาร.....	6
2.5 ความสำคัญและการใช้ประโยชน์จากหอยมือเสือ.....	6
2.6 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อหอยมือเสือ	8
2.7 การเพาะเลี้ยงและการอนุรักษ์หอยมือเสือ	9
2.8 ชูแซนเทลลี.....	10
2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างชูแซนเทลลีกับหอยมือเสือ	11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	13

3.1	พื้นที่เก็บตัวอย่างและศึกษาวิจัย	13
3.2	การแยกและเลี้ยงชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัย.....	14
3.2.1	การแยกชูแซนเทลลีจากหอยมือเสือ	14
3.2.2	การแยกชูแซนเทลลีจากปะการังและดอกไม้ทะเล	14
3.2.3	การเพาะเลี้ยงชูแซนเทลลีสำหรับการทดลอง	15
3.3	การศึกษาลักษณะ ขนาด และการเติบโตจำเพาะของชูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลอง	15
3.3.1	การศึกษาลักษณะและขนาดของชูแซนเทลลี	15
3.3.2	การศึกษาความสัมพันธ์การเติบโตจำเพาะของชูแซนเทลลี.....	16
3.4	การเตรียมน้ำทะเล ถังเลี้ยง และลูกหอยมือเสือสำหรับการทดลอง	16
3.4.1	การเตรียมลูกหอยมือเสือสำหรับการทดลอง.....	16
3.4.2	การเตรียมน้ำทะเลและถังเลี้ยงสำหรับการทดลอง	17
3.5	แผนการทดลอง	18
3.5.1	การวางแผนการทดลอง.....	18
3.5.2	การสุ่มเก็บตัวอย่าง.....	19
3.6	การวิเคราะห์ผล.....	20
3.6.1	การศึกษาอัตราการรอด	20
3.6.2	การศึกษาอัตราการเติบโต	20
3.6.3	การศึกษาการเกิดภาวะอิงอาศัยและศึกษาการพัฒนาการ	21
3.6.4	การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	21
บทที่ 4	ผลการศึกษา.....	22
4.1	รูปร่างลักษณะ ขนาด และการเติบโตจำเพาะของชูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลอง.....	22
4.1.1	รูปร่างลักษณะของชูแซนเทลลี	22
4.1.2	ขนาดของชูแซนเทลลี.....	23

4.1.3 การเติบโตและอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลี	24
การเพาะพันธุ์และผลผลิตของลูกหอยมือเสือ	26
4.2 การเข้าอิงอาศัยของซูแซนเทลลีในลูกหอยมือเสือ	27
4.2.1 อัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ	27
4.2.2 การเติบโตด้านความยาวเปลือกของลูกหอยมือเสือ	29
4.2.3 การเกิดภาวะอิงอาศัยภายในหอยมือเสือ	30
4.2.4 การพัฒนาการของหอยมือเสือ	33
4.2.5 ซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ	37
4.3 คุณภาพน้ำ	39
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง	40
5.1 ลักษณะเซลล์ ขนาด และอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลี	40
5.2 บทบาทของซูแซนเทลลีต่ออัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ	41
5.3 บทบาทของซูแซนเทลลีต่อการเติบโตของลูกหอยมือเสือ	44
5.4 บทบาทของซูแซนเทลลีต่อพัฒนาการและการเกิดภาวะอิงอาศัย	45
5.5 ซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ	50
5.6 คุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ	51
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	53
สรุปผลการศึกษา	53
ข้อเสนอแนะ	53
รายการอ้างอิง	54
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	59

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1	หอยมือเสือ ชนิด <i>Tridacna squamosa</i>	3
รูปที่ 2	การกระจายของหอยมือเสือแต่ละชนิดบริเวณทะเลอินโด-แปซิฟิก.....	4
รูปที่ 3	ลักษณะของเซลล์ชูแซนเทลลี coccoid form และ gymnodinoid form.....	10
รูปที่ 4	zooxanthellal tube ที่ปรากฏในตัวของลูกหอยมือเสือ	12
รูปที่ 5	พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างชูแซนเทลลีจากสิ่งมีชีวิตบริเวณเกาะปลาหมึก หมู่เกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี	13
รูปที่ 6	การเลี้ยงชูแซนเทลลีสำหรับการวิจัย	15
รูปที่ 7	ถังอนุบาลลูกหอยในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร และ ไม้คนสำหรับกวนให้เข้ากับน้ำเชื้อผสมกัน	17
รูปที่ 8	ถังสำหรับทดลองลูกหอยมือเสืออายุ 3-14 วัน และ ถังสำหรับทดลองลูกหอยมือเสืออายุ 15-74 วัน	17
รูปที่ 9	แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะวัยน้ำ ตั้งแต่ระยะ veliger พัฒนาสู่ระยะ pediveliger.....	18
รูปที่ 10	แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะลงเกาะ ตั้งแต่ระยะ pediveliger พัฒนาสู่ระยะ juvenile	19
รูปที่ 11	ชูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลองชูแซนเทลลี แบบ coccoid form และ ชูแซนเทลลีแบบ gymnodinoid form.....	22
รูปที่ 12	การเติบโตของแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	24
รูปที่ 13	การพัฒนาการของหอยมือเสือตั้งแต่ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (fertilized egg) จนถึงระยะตัวเต็มวัย (adult).....	26

รูปที่ 14 จำนวนของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน.....	27
รูปที่ 15 จำนวนของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน	28
รูปที่ 16 ซูแซนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยกับลูกหอยมือเสือในระยะ Alimentary I.....	30
รูปที่ 17 ซูแซนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยกับลูกหอยมือเสือในระยะ Alimentary II.....	31
รูปที่ 18 แซนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยกับลูกหอยมือเสือในระยะ Mantle	32
รูปที่ 19 พัฒนาการของหอยมือเสีอรยะวัยน้ำ.....	34
รูปที่ 20 พัฒนาการของลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะ	35
รูปที่ 21 ซูแซนเทลลีที่อยู่ภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสีอรยะ veliger	42
รูปที่ 22 ซูแซนเทลลีที่สะสมอยู่ภายในกระเพาะอาหาร	46
รูปที่ 23 ซูแซนเทลลีภายใน zooxanthellal tube	48
รูปที่ 24 ซูแซนเทลลีภายในมูลของหอยมือเสือ	48

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ลักษณะและพฤติกรรมของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	23
ตารางที่ 2	ขนาดของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	23
ตารางที่ 3	อัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ	25
ตารางที่ 4	จำนวนและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน	27
ตารางที่ 5	จำนวนและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน	28
ตารางที่ 6	อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก	29
ตารางที่ 7	ระยะเวลาของการเกิดภาวะอิงอาศัย	32
ตารางที่ 8	ระยะการพัฒนารอดของลูกหอยมือเสือในระยะต่างๆ	36
ตารางที่ 9	สรุปผลของซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ	38
ตารางที่ 10	คุณภาพน้ำ	39
ตารางที่ 11	เปรียบเทียบคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยมือเสือ (<i>Tridacna</i> spp.)	52

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

หอยมือเสือเป็นหอยสองฝาที่มีขนาดใหญ่ที่สุด เติบโตค่อนข้างช้า มีอัตราการรอดในธรรมชาติค่อนข้างต่ำ ส่วนใหญ่อาศัยอยู่บริเวณแนวปะการังเขตร้อนแถบอินโดแปซิฟิก ดำรงชีวิตด้วยการกรองกินแพลงก์ตอนหรืออินทรีย์สารขนาดเล็กที่ลอยอยู่ในมวลน้ำ และได้รับพลังงานจากสารอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายเซลล์เดียว “ซูแซนเทลลี (zooxanthellae)” ที่อิงอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อแมนเทิล (mantle tissue) แบบพึ่งพาอาศัยที่ได้รับประโยชน์ทั้ง 2 ฝ่าย

ในปัจจุบันการใช้ประโยชน์ของมนุษย์และการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมทำให้ประชากรหอยมือเสือในธรรมชาติลดน้อยลง เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ การเพาะเลี้ยงจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มจำนวนและอนุรักษ์หอยมือเสือได้ โดยหลังจากไข่ได้รับการปฏิสนธิจนพัฒนาเป็นลูกหอยในระยะ veliger จะได้รับซูแซนเทลลีจากมวลน้ำโดยการกรองกิน จากนั้นจะเกิดการพึ่งพาอาศัยระหว่างซูแซนเทลลี และลูกหอยมือเสือ โดยซูแซนเทลลีจะได้เนื้อเยื่อของหอยมือเสือเป็นที่อยู่อาศัย และได้รับสารอาหารจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของหอยมือเสือ ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไนเตรท ฟอสเฟต และธาตุอาหารอื่นๆ มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่วนลูกหอยมือเสือจะได้รับผลิตภัณฑ์จากการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลี ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กรดอะมิโน ก๊าซออกซิเจน มาใช้ในการพัฒนาการและการเติบโต

การเพาะเลี้ยงหอยมือเสือในประเทศไทยใช้ซูแซนเทลลีที่ได้จากมูลหอยมือเสือ ซึ่งอาจจะประสบปัญหาในการรวบรวมเพื่อนำมาเลี้ยงตัวอ่อนหอยมือเสือจำนวนมากที่เพาะพันธุ์ได้ และยังไม่เคยมีการศึกษาคัดเลือกสายพันธุ์ซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือในประเทศไทยมาก่อน ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการเพาะตัวอ่อนหอยมือเสือ *Tridacna squamosa* ในระยะ veliger มาทดลองกับซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยต่างชนิดกัน ได้แก่ ดอกไม้ทะเล 1 ชนิด ปะการัง 3 ชนิด และจากหอยมือเสือ 1 ชนิด เพื่อคัดเลือกซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะพันธุ์ลูกหอยมือเสือให้แข็งแรง มีอัตราการรอดสูง มีการพัฒนาการและการเกิดภาวะอิงอาศัย ได้รวดเร็วที่สุด ซึ่งจะ เป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรหอยมือเสือ

1.2 วัตถุประสงค์

ศึกษาการเกิดภาวะอิงอาศัยของซูแซนเทลลี และคัดเลือกซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยต่างชนิดที่เหมาะสมต่อการพัฒนาการและอัตราการรอดในหอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) วัยอ่อน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลของซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยที่แยกจากหอยมือเสือ ปะการัง และดอกไม้ทะเล ต่ออัตราการรอด อัตราการเติบโต การเกิดภาวะอิงอาศัย และการพัฒนาการของหอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) ตั้งแต่ระยะ veliger ถึงระยะ juvenile

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้ซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือเพื่อการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากร



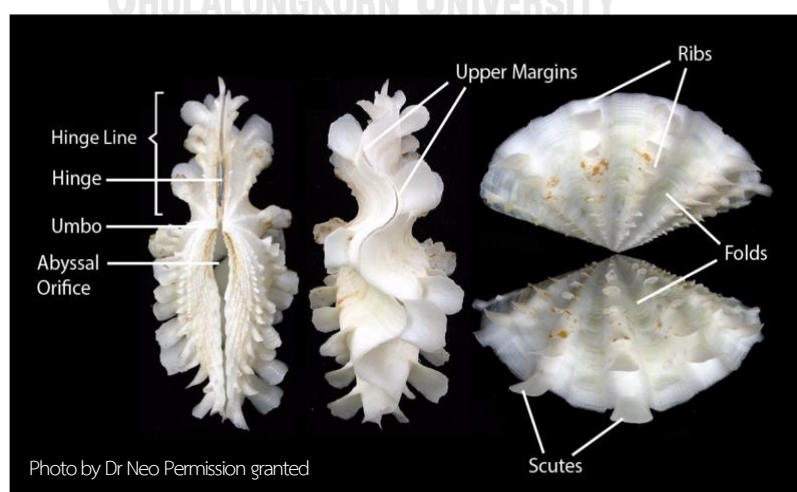
บทที่ 2

สำรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุกรมวิธานหอยมือเสือ

หอยมือเสือ (giant clam) จัดอยู่ในไฟลัม Mollusca ชั้น Bivalvia อันดับ Veneroida วงศ์ Cardiidae วงศ์ย่อย Tridacninae มี 2 สกุลคือ *Tridacna* และ *Hippopus* เป็นหอยสองฝาที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ดำรงชีวิตด้วยการกรองกิน และพบว่ามีสาหร่ายซูแซนเทลลี (zooxanthellae) สามารถเกิดภาวะอิงอาศัยภายใน mantle หอยมือเสือจึงได้รับสารอาหารจากกระบวนการสังเคราะห์แสงจากซูแซนเทลลี ตัวหอยจะยึดเกาะกับพื้นผิวปะการัง หรือหิน ด้วย byssus ส่วนใหญ่พบการกระจายบริเวณอยู่แนวปะการังเขตร้อนแถบอินโดแปซิฟิก

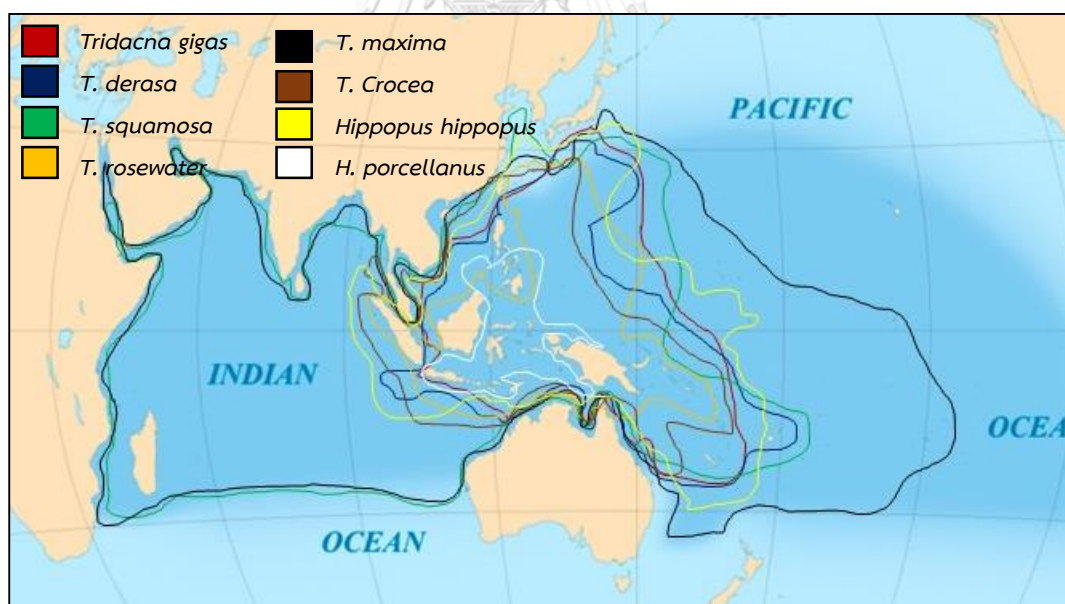
หอยมือเสือที่ใช้ทดลองครั้งนี้มีชื่อสามัญคือ Fluted Giant Clam หรือ Scaly Clam ชื่อวิทยาศาสตร์ *Tridacna squamosa* ตำแหน่งของบานพับเปลือก (umbo) อยู่ตรงกลาง เปลือกเป็นลูกกระนาบ (valve margin undulate) เรียบนับได้ 4-6 ซี่ ลักษณะเปลือกเป็นครึ่งวงกลม เมื่อโตเต็มวัยเปลือกจะมีลักษณะเป็นเกล็ด ขนาดเปลือกใหญ่สุดที่พบ 40-45 เซนติเมตร เปลือกมีสีขาว มีรอยเว้าของเปลือก ช่องของ byssus (byssal orifice) อยู่ส่วนล่างระหว่างฝาบนล่ล่างมีขนาดเล็กถึงปานกลาง เส้นบานพับระหว่างเปลือกซ้ายและขวา (hinge line) ยาวเป็นครึ่งหนึ่งของความยาวเปลือกทั้งหมด (Norton and Jones, 1992) ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 หอยมือเสือ ชนิด *Tridacna squamosa*

2.2 ถิ่นอาศัยและการกระจายของหอยมือเสือ

หอยมือเสืออาศัยอยู่บริเวณอยู่แนวปะการังเขตร้อนแถบอินโดแปซิฟิกเป็นส่วนใหญ่ พบได้ในบริเวณที่มีน้ำใสช่วงความลึกที่แสงสามารถส่องถึง Bin Othman et al. (2010) สำรวจการแพร่กระจาย ความหนาแน่นและ สถานะของหอยมือเสือทั่วโลก บริเวณที่เป็นแนวปะการังน้ำตื้นตลอดจนชายฝั่ง พบหอยมือเสือตั้งแต่แอฟริกาใต้จนถึงทางตอนเหนือของฝรั่งเศส และระหว่างญี่ปุ่นจนถึงออสเตรเลีย แต่พบความหลากหลายมากที่สุดบริเวณ ส่วนกลางของทะเลอินโด-แปซิฟิก (รูปที่ 2) อย่างไรก็ตามในบางพื้นที่พบว่า มีมากกว่า 100 ตัว ต่อ ตารางเมตร ทั้งนี้หอยมือเสือชนิด *T. costata*, *T. rosewateri*, *T. teveroa* และ *H. porcellanus* มีการกระจายเฉพาะในบางพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ พบ *Tridacna maxima* มีการกระจายอยู่มากที่สุดในโลก โดยครอบคลุมทุกพื้นที่ๆ มีการพบหอยมือเสือทุกชนิด รองลงมาคือ *Tridacna squamosa* ทั้งนี้บริเวณทะเลเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ *T. gigas*, *T. derasa*, *T. squamosa*, *T. crocea*, *T. maxima*, *H. hippopus* และ *H. porcellanus* มีแนวโน้มประชากรลดลง บางชนิดในบางพื้นที่สูญพันธุ์ไปแล้ว ในน่านน้ำไทย พบเพียง 3 ชนิด คือ *T. squamosa*, *T. maxima* และ *T. crocea* (Thamrongnavasawat et al., 2001)



รูปที่ 2 การกระจายของหอยมือเสือแต่ละชนิดบริเวณทะเลอินโด-แปซิฟิก
ดัดแปลงจาก Mingoa-Licuanan and Gomez (2007)

2.3 การสืบพันธุ์ วงจรชีวิต และฤดูการสืบพันธุ์

การสืบพันธุ์ของหอยมือเสือ โดยปกติแล้วหอยมือเสือเป็นสัตว์ที่มีสองเพศในตัวแบบที่เรียกว่า protandrous simultaneous hermaphrodite โดยในช่วง 2-3 ปีแรกเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือน้ำเชื้อ (sperm) จะสมบูรณ์ก่อน หลังจากนั้นเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียหรือไข่ (egg) สมบูรณ์ภายหลังทำให้สามารถปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ได้ทั้งสองเพศ ซึ่งหอยอาจจะปล่อยน้ำเชื้อก่อน จากนั้นจะปล่อยไข่ หรือ ปล่อยปล่อยอย่างใดอย่างหนึ่งก่อน (จินตนา นักระนาด, 2543) ซึ่งการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของหอยมือเสือ 1 ตัว เป็นการกระตุ้นให้หอยมือเสือบริเวณใกล้เคียง เกิดการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ตามไปด้วย (Lucas, 1988)

หลังจากที่ไข่ได้รับการปฏิสนธิจากน้ำเชื้อ และเริ่มแบ่งเซลล์จะเข้าสู่ระยะ trochophore ภายใน 12-24 ชั่วโมง มีลักษณะคล้ายลูกข่างสามารถว่ายน้ำอย่างอิสระด้วยการหมุนรอบตัวเองโดยใช้ cilia ขนาดเล็ก จากนั้นภายใน 26-28 ชั่วโมง จะพัฒนาเป็นตัวอ่อนหอยระยะ D-shaped veliger มีเปลือกหุ้มตัวสมบูรณ์ สามารถรอกินอาหารจากมวลน้ำ มีอวัยวะประกอบด้วยขนซี่เล็กเรียกว่า velum ช่วยในการว่ายน้ำ ภายใน 7-10 วัน ลูกหอยจะพัฒนาเป็นระยะ pediveliger ในระยะนี้ลูกหอยจะว่ายน้ำสลับกับคืบคลานบนพื้น เมื่อลูกหอยมือเสือได้รับและเริ่มมีชูแซนเทลลีอยู่ในเนื้อเยื่ออย่างสมบูรณ์ จะลงเกาะภายใน 2 สัปดาห์ และเข้าสู่ระยะ juvenile ภายใน 1.5-2 เดือน (Nugranad et al., 1996)

ฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยมือเสือนั้นจะพบตลอดทั้งปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณแถบเส้นศูนย์สูตร แต่พบว่าในช่วงฤดูร้อนจะมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุดหรือในช่วงที่มีการผันผวนของอุณหภูมิสูง ซึ่งแต่ละชนิดมีความแปรปรวนแตกต่างกันไป บางชนิดนั้นมีช่วงที่สมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ (gamete maturation) นานถึง 4 เดือน (Tan et al., 2001) นอกจากการสมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์แล้วยังมีรายงานวิจัยทางภูมิศาสตร์ มีผลต่อการสืบพันธุ์ของหอยช่วงกลางคืนเมื่อดวงจันทร์เต็มดวง (Heslinga et al., 1990) รวมไปถึงปัจจัยทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นอย่างฉับพลัน (Stephenson, 1934) การเคลื่อนที่ของกระแสน้ำ (Jameson, 1976) การเกิดการสะพรั่งของแพลงก์ตอน ก็มีส่วนทำให้เกิดการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ได้ตั้งนั้น เป็นไปได้ว่าการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของหอยมือเสื่ออาจเกิดจากหลายปัจจัย

2.4 อาหารและการกินอาหาร

ในช่วงที่เป็นไข่ และ trochophore ตัวอ่อนจะใช้อาหารจาก yolk เพื่อพัฒนาการและเติบโต จนเข้าสู่ระยะ D-shape veliger จะกรองกินแพลงก์ตอนภายในมวลน้ำเป็นอาหารเรียกว่า planktotrophic larvae จากนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะ pediveliger จะคืบคลานไปตามพื้นสลับกับว่ายน้ำ และมีชูแซนเทลลีเข้าไปอิงอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลทำให้ในระยะนี้ลูกหอยมือเสือนั้นได้รับพลังงานทั้งจากการกรองกิน และสารอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของชูแซนเทลลี เช่นเดียวกับกับระยะ juvenile และ adult หอยมือเสือจะลงเกาะพื้น ไม่สามารถที่จะเคลื่อนย้ายไปไหนได้ (Soo et al., 2011) ดังนั้นพลังงานในการดำรงชีวิตของหอยมือเสือ นอกจากจะได้รับอาหารจากการกรองกินแล้วหอยมือเสียังได้รับสารอาหารจากการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายชูแซนเทลลี อาทิเช่น กรดอะมิโน น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และกรดไขมัน มาใช้ในการเติบโต และพัฒนาการ รวมถึงคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับใช้ในการสร้างเปลือก ในทางกลับกัน ชูแซนเทลลีจะได้ที่อยู่อาศัย และสารตั้งต้นที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงจากของเสียที่ได้จากหอยมือเสือ อาทิเช่น แอมโมเนีย ไนเตรท คาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นในธรรมชาติมักพบหอยมือเสืออยู่ตามแนวปะการังเขตน้ำตื้นและแสงสามารถส่องถึง ซึ่งในสภาวะปกติหอยมือเสือจะได้รับพลังงานจากการสังเคราะห์แสงของชูแซนเทลลีเป็นหลัก (Klumpp et al., 1992)

2.5 ความสำคัญและการใช้ประโยชน์จากหอยมือเสือ

เนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลของหอยมือเสียนั้นมีสีส้มที่หลากหลาย ช่วยเพิ่มความสวยงามแก่ท้องทะเล ช่องว่างของเปลือกหอยมือเสือเป็นที่อยู่อาศัยสำหรับสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดความหลากหลายของที่อยู่อาศัย (topographic heterogeneity) นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของ แคลเซียมคาร์บอเนตและแหล่งเก็บชูแซนเทลลีที่สำคัญของแนวปะการัง ในส่วนของเนื้อ มูล และเซลล์สืบพันธุ์เป็นอาหารสำหรับผู้ล่าและผู้กินซากในแนวปะการัง (Neo et al., 2015) พฤติกรรมการกรองกิน (filter feeding) ของหอยมือเสียนั้นสามารถกรองอาหารจำพวกแพลงก์ตอนพืช ธาตุอาหาร รวมถึงสารประกอบโลหะหนัก สารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในตะกอนสารอินทรีย์ขนาดเล็กที่ลอยลอยอยู่ในมวลน้ำเข้าไปสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อ ถือเป็นวิธีการฟื้นฟูแหล่งน้ำโดยใช้สิ่งมีชีวิต (bioremediation technology) เป็นประโยชน์ต่อระบบนิเวศ (Gifford et al., 2004) พฤติกรรมการกรองกินดังกล่าวมีอิทธิพลต่อปัจจัยกายภาพ เคมี และ ชีวภาพของแหล่งน้ำ เป็นประโยชน์ต่อระบบนิเวศของแหล่งน้ำทำให้ตะกอนแขวนลอยในมวลน้ำลดลง เพิ่มความโปร่งแสงในชั้นน้ำ มวลน้ำชั้นล่างได้รับแสงสว่างและ

UV มากขึ้น เร่งกระบวนการตกตะกอนของสารอินทรีย์และมีการสะสมในรูปของตะกอนของสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมองค์ประกอบของแพลงก์ตอนบางชนิดที่มีมากเกินไปได้อีกด้วย (Ostroumov, 1998)

ปัจจุบันประชากรของหอยมือเสือลดลงมากจนเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากปัญหาการทำประมงและการบุกรุกพื้นที่แนวปะการัง การถูกนำมาใช้ประโยชน์เช่น นำเนื้อไปเป็นอาหาร นำเปลือกมาทำเครื่องใช้ เป็นเครื่องประดับ ส่วนหอยมือเสือขนาดเล็กนิยมนำมาเลี้ยงประดับในตู้ปลาทะเล (Singh and Azam, 2013) ประกอบกับการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในทะเลจากการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สู่ชั้นบรรยากาศ เป็นผลให้สภาพอากาศเปลี่ยนแปลงไม่เป็นไปตามฤดูกาล ระดับน้ำในทะเลและอุณหภูมิผิวน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น เกิดภาวะน้ำทะเลเป็นกรด มีการเปลี่ยนแปลงทิศทางน้ำและความเค็ม การได้รับแร่ธาตุและสารอาหารจากบนบก ปัจจัยที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในทะเล มีผลกระทบต่อการดำรงชีวิตสัตว์ทะเล (Brierley and Kingsford, 2009) สำหรับการเป็นกรดของน้ำทะเลที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดของหอยมือเสือวัยอ่อน พบว่าอัตราการรอดในหอยมือเสือวัยอ่อนจะน้อยลง เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และอุณหภูมิในน้ำ (Watson et al., 2012) นอกจากนี้เมื่ออุณหภูมิผิวน้ำทะเลเพิ่มขึ้น 3-4 องศาเซลเซียส นานกว่า 2 สัปดาห์ จะเกิดการฟอกขาว ทำให้ซูแซนเทลลีที่อยู่ในหอยมือเสือจะมีขนาดเซลล์เล็กลง จำนวนซูแซนเทลลีในมวลลดลง ในประเทศไทย เกาะมันใน จังหวัดระยอง Junchompoo et al. (2013) พบว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำทะเลจาก 28-31 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการฟอกขาวในแนวปะการังรวมถึงหอยมือเสือด้วย ในพื้นที่พบหอยมือเสือสองชนิดได้แก่ *Tridacna squamosa* และ *Tridacna crocea*

ด้วยปัจจัยต่างๆ ทั้งจากการใช้ประโยชน์จากหอยมือเสือ การบุกรุกแนวปะการัง รวมไปถึงปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆที่เปลี่ยนแปลง ทำให้ทรัพยากรหอยมือเสือในธรรมชาติเกิดการเสื่อมโทรมสภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติและทรัพยากรธรรมชาติ (IUCN) จัดหอยมือเสืออยู่ในระดับความเสี่ยงขั้นอันตรายจากการสูญพันธุ์จากที่อาศัยตามธรรมชาติ (The IUCN Red List of Threatened Species, 2015 : Online) อนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (CITES) บัญชี 2 (CITES, 2013 : Online) และในประเทศไทยหอยมือเสือจัดอยู่ในบัญชีท้ายพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่าประเภท 2 ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 (กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, 2546 : ออนไลน์) วิธีการหนึ่งที่สามารถเพิ่มประชากรหอยมือเสือในธรรมชาติได้คือการเพาะเลี้ยง

2.6 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อหอยมือเสือ

กิจกรรมต่างๆของมนุษย์มีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาสู่ชั้นบรรยากาศของโลกมานานแล้ว ผลจากการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นั้นทำให้สภาพอากาศไม่เป็นไปตามฤดูกาล อุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้นซึ่งเกี่ยวข้องกับทะเลได้แก่การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิผิวน้ำทะเล การเพิ่มขึ้นของระดับน้ำในทะเล เกิดภาวะน้ำทะเลเป็นกรดเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงทิศทางน้ำและความเค็ม การได้รับแร่ธาตุและสารอาหารจากบนบก ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงนี้ มีผลกระทบต่อกระบวนการทางชีววิทยาของสัตว์น้ำ การฟอกขาวในหอยมือเสือเป็นเหตุการณ์หนึ่งที่เกิดจากภาวะโลกร้อน ซึ่งจากการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการฟอกขาวของหอยมือเสือ พบว่าความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เปลี่ยนไป 4–6 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการฟอกขาว โดยเมื่อเทียบจากภาวะปกติสำหรับหอยมือเสือที่อยู่ในหอยมือเสือนั้นจะมีขนาดเซลล์ที่เล็กลง จำนวนสำหรับหอยมือเสือที่พบในมุลมีจำนวนลดลง (Brierley and Kingsford, 2009) นอกจากนี้ Junchompoo et al. (2013) ศึกษาหอยมือเสือสองชนิดคือ *Tridacna squamosa* และ *Tridacna crocea* ณ เกาะมันใน จังหวัดระยอง พบว่าเกิดการฟอกขาวของแนวปะการัง รวมถึงในหอยมือเสือด้วย เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของน้ำทะเลจาก 28 เพิ่มขึ้นเป็น 31 องศาเซลเซียส พบเริ่มเกิดการฟอกขาวในหอยมือเสือครั้งแรกช่วงเดือนเมษายน โดย 60% สีเริ่มจาง 30% มีการฟอกขาวเป็นบางส่วนและอีก 10% ฟอกขาวอย่างสมบูรณ์ ครั้งที่สองในเดือนพฤษภาคม หอยมือเสือ 90% ฟอกขาวอย่างสมบูรณ์ 2% สีเริ่มจาง และอีก 8% ฟอกขาวแค่บางส่วน จากนั้นในเดือนมิถุนายน อุณหภูมิของน้ำทะเลจึงลดลงเหลือ 30 องศาเซลเซียส สุดท้ายพบว่าในช่วงเดือนสิงหาคม มีทั้งหอยที่ตายและหอยที่เริ่มมีสีสลับคืนมาคิดเป็น 40% สรุปได้ว่าหากน้ำทะเลมีอุณหภูมิมากกว่า 30 องศาเซลเซียส นานกว่าสองอาทิตย์จะทำให้เกิดการฟอกขาวในหอยมือเสือ

Watson et al. (2012) พบว่าอัตราการรอดในหอยมือเสือน้อยลง เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมากขึ้น และการลดลงของอุณหภูมิของน้ำทะเลเป็นตัวการหนึ่ง ที่เพิ่มความสามารถการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำทะเล

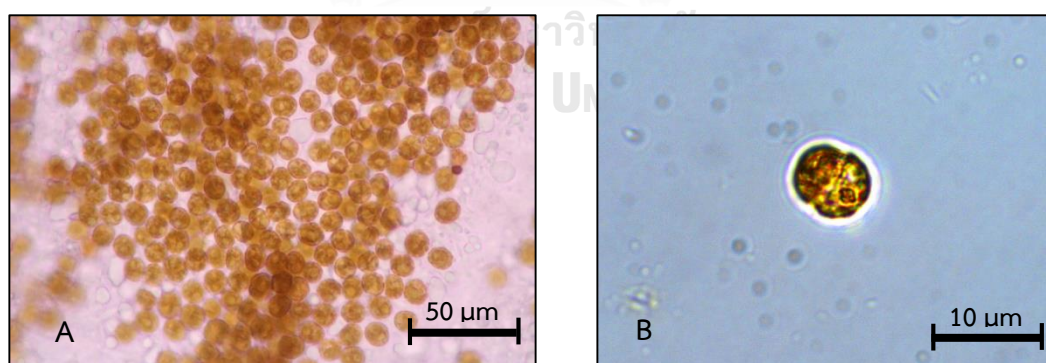
2.7 การเพาะเลี้ยงและการอนุรักษหอยมือเสือ

Fitt and Trench (1981) ทดลองเลี้ยงหอยมือเสือชนิด *Tridacna squamosa* พบว่าลูกหอยมือเสือที่อนุบาลโดยไม่ให้ชูแซนเทลลีตายภายใน 3 สัปดาห์ ส่วนลูกหอยที่ได้ชูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือชนิดเดียวกันนั้นมีอัตราการรอดตายสูงกว่าลูกหอยที่ได้รับชูแซนเทลลีที่แยกจากแหล่งอื่น นอกจากนี้ Fitt et al. (1986) ให้ชูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยหลายชนิดแก่ลูกหอยมือเสือพบว่า *Symbiodinium microadriaticum* ที่แยกจากหอยมือเสือชนิด *Hippopus hippopus* ทำให้ลูกหอยชนิดเดียวกันนั้นใช้เวลาการพัฒนากการ เข้าสู่ระยะ metamorphosis ที่เร็วขึ้นและมีการเติบโตดีเมื่อเทียบกับ *S. microadriaticum* จากแหล่งอื่น และยังพบชูแซนเทลลีที่ถูกย่อยภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสืออีกด้วย เป็นหลักฐานว่ามีการย่อยชูแซนเทลลีเพื่อเป็นอาหารด้วยเช่นกัน จากการทดลองครั้งนี้สามารถเลี้ยงลูกหอยมือเสือกับชูแซนเทลลีในน้ำทะเลกรองในที่ๆ มีแสงสว่างได้ถึง 10 เดือนแม้ว่าจะไม่ให้อาหาร Singh and Azam (2013) ทดลองเลี้ยงหอยมือเสือชนิด *Tridacna squamosa* โดยทดลองเปรียบเทียบการกระตุ้นการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน พบว่าวิธีการที่ดีที่สุดในการกระตุ้นการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์คือวิธีการใช้อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ปั่นละเอียดละลายน้ำ (macerated gonads) ซึ่งให้การตายของลูกหอยน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับการกระตุ้นด้วยการให้ความร้อน และการฉีดสาร serotonin

ในประเทศไทย ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ จินตนา นักระนาด (2543) ทดลองเลี้ยงหอยมือเสือชนิด *Tridacna squamosa* โดยใช้โรงเพาะเลี้ยงแบบเปิด มีตาข่ายกรองแสง ใช้น้ำทะเลผ่านบ่อพักเพื่อลดตะกอน จากนั้นผ่านเครื่องกรองทราย 1 ครั้ง จะได้น้ำทะเลความเค็ม 30-33 psu อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส แล้วเก็บในบ่อพักเพื่อนำไปใช้งานต่อไป สำหรับน้ำทะเลที่ใช้ในการอนุบาลลูกหอยมือเสือจะผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองทราย เครื่องกรองละเอียดขนาดตุ้กรอง 1 ไมโครเมตร ฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ให้อาหารเป็นแพลงก์ตอนพืชชนิด *Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans* เมื่อหอยอายุ 4 วัน จึงเสริมด้วยชูแซนเทลลีที่แยกจากมูลของหอยมือเสือ เพื่อให้หอยมือเสือเกิดการภาวะอิงอาศัยกับชูแซนเทลลี

2.8 ซูแซนเทลลี

จากการสำรวจเอกสาร การเพาะเลี้ยงหอยมือเสือจำเป็นต้องใช้ซูแซนเทลลีในกระบวนการเพาะเลี้ยง Norton and Jones (1992) พบว่าซูแซนเทลลี (zooxanthellae) หรือชื่อวิทยาศาสตร์ *Symbiodinium microadriaticum* คือสาหร่ายเซลล์เดียวหรือแพลงก์ตอนพืช มีสีน้ำตาลอมเหลือง ในไฟลัม Dinoflagellates ชั้น Dinophyceae ลำดับ Suessiales วงศ์ Symbiodiniaceae สกุล *Symbiodinium* ค้นพบโดย Freudenthal ปี ค.ศ. 1962 สามารถอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตอื่นได้ มีขนาดประมาณ 6-13 ไมโครเมตร ขึ้นอยู่กับชนิดของผู้ที่ให้อาศัย Wakefield et al. (2000) พบว่าซูแซนเทลลี มี 2 ลักษณะ (ดังรูปที่ 3) ได้แก่ coccoid form มีลักษณะเหมือนทรงกลมไม่เคลื่อนที่ และ gymnodinoid form มีลักษณะคล้ายดัมเบล มี flagella ช่วยในการเคลื่อนที่ เมื่อเกิดภาวะอิงอาศัยในเจ้าบ้าน (host) จะเปลี่ยนเป็น coccoid form เป็นหลัก มีการเพิ่มปริมาณโดยการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส สามารถแบ่งเป็นสายพันธุ์ย่อยๆ 8 clades (A – H) ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและที่อยู่อาศัย (Coffroth and Santos, 2005) นอกจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันแล้ว Schoenberg and Trench (1980) พบว่าซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยที่แตกต่างกันมีรูปแบบของโปรตีนบางชนิดที่ละลายน้ำได้ ซึ่งมีขนาดและโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกันไปทำให้สรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และ พฤติกรรม มีความแตกต่างกันอีกด้วยทั้งนี้สาหร่ายซูแซนเทลลีเป็น symbiotic dinoflagellates สามารถพบได้ใน ฟองน้ำทะเล ปะการังอ่อน ปะการังแข็ง กัลปังหา ดอกไม้ทะเล แมงกะพรุน หอยมือเสือ ทากเปลือย เป็นต้น (Hinde, 1987)



รูปที่ 3 ลักษณะของเซลล์ซูแซนเทลลี (A) coccoid form และ (B) gymnodinoid form

Mies et al. (2017) ทำการศึกษาเกี่ยวกับกรดไขมันในซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่กับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังได้แก่ ปะการังแข็ง ทากเปลือยและ หอยมือเสือ รายงานว่าสามารถแยกได้ถึง clade I (A - I) ซึ่งมีความแตกต่างตามผู้ให้อาศัย พบว่าทุก clade นั้นให้กรดไขมันชนิด SDA และ DPA แต่มีปริมาณน้อยและไม่แตกต่างกัน แต่จะพบ DHA ใน clade A1 และ C1 ที่ได้จากหอยมือเสือและปะการังแข็งมากที่สุด

2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างซูแซนเทลลีกับหอยมือเสือ

Mies et al. (2017) ศึกษาความสัมพันธ์ของซูแซนเทลลีและสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิด สัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่จำเป็นต้องใช้ประโยชน์จากซูแซนเทลลีจะมีขั้นตอนการสร้างภาวะอิงอาศัยระหว่างซูแซนเทลลีกับผู้ให้อาศัยคล้ายๆ กันโดยแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน คือ

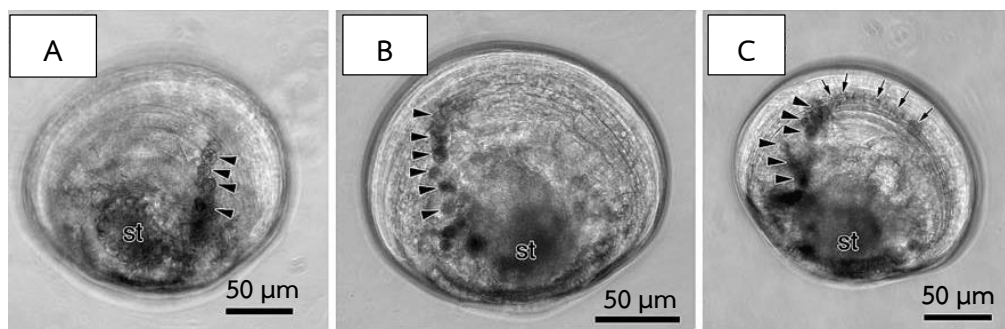
(1) การรับซูแซนเทลลีเข้ามาในตัวซึ่งแบ่งได้เป็น 2 แหล่ง คือจากสิ่งแวดล้อม ทั้งในมวลน้ำหรือในดินตะกอนบริเวณที่ผู้ให้อาศัย (host) อาศัยอยู่ ส่วนใหญ่นั้นจะผ่านเข้ามาผ่านการกรองกินแหล่งถัดมาคือจากตัวของพ่อแม่ เช่น ปะการังแข็งบางชนิด

(2) ซูแซนเทลลีจะเริ่มแทรกตัวเข้าไปในบริเวณเซลล์ผ่านกระบวนการ phagocytosis ของเซลล์ผู้ให้อาศัย

(3) เริ่มมีการแลกเปลี่ยนแลกเปลี่ยนของเสียและสารอาหารระหว่างผู้ให้อาศัยและซูแซนเทลลี

(4) ซูแซนเทลลีจะเริ่มแบ่งเซลล์มากขึ้นและอยู่อาศัยระยะยาวภายในเนื้อเยื่อของผู้ให้อาศัย

สำหรับในหอยมือเสือซูแซนเทลลีจัดเป็น symbiotic algae ในเนื้อเยื่อของหอยมือเสือซึ่งจะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัย (mutualistic) ระหว่างหอยมือเสือ และซูแซนเทลลี การทดลองของ Fitt et al. (1986) ให้แพลงก์ตอนพืชที่มีขนาดแตกต่างกันหลายชนิดแก่ลูกหอยมือเสือชนิด *Hippopus hippopus* พบว่ามีแค่ *S. microadriaticum* เท่านั้นที่สามารถเข้าถึงส่วนของแองเกลียด (haemal sinuses) สามารถสร้าง symbiosis และสังเคราะห์แสงภายในเนื้อเยื่อของลูกหอยได้ ส่วน *Isochrysis galbana* และ *Platymonas subcordiformis*, *Amphidinium carteri* พบในทางเดินอาหารเช่นกันแต่ไม่พบในแองเกลียด และไม่สร้าง symbiosis นอกจากนี้ *Amphidinium klebsii* และ *Phaeodactylum tricornutum* มีขนาดใหญ่ มีความยาวประมาณ 30 μm ไม่พบในส่วนกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือ



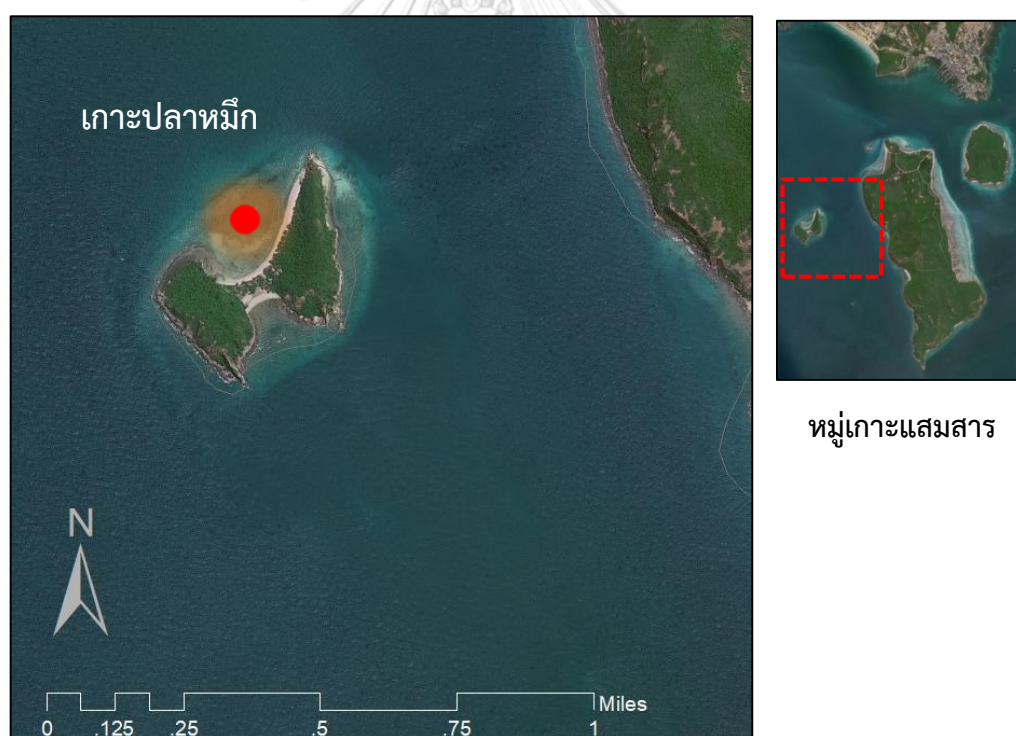
รูปที่ 4 zooxanthellal tube ที่ปรากฏในตัวของลูกหอยมือเสือมีลักษณะเป็นท่อเส้นยาว (Hirose et al., 2006) (st = ภาวะอาหาร, ลูกครีสีดำแสดงแนวของ zooxanthellal tube จากภาวะอาหารไปยังเนื้อเยื่อแมนเทิล)

Hirose et al. (2006) ศึกษาการเกิดภาวะอิงอาศัย (symbiosis) ระหว่างลูกหอยมือเสือและซูแซนเทลลี พบว่าลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะ veliger จะมีเปลือกหุ้ม สามารถว่ายน้ำและกรองกินแพลงก์ตอนพืช รวมทั้งซูแซนเทลลีที่ล่องลอยอยู่ในมวลน้ำเข้าไปในตัว ในช่วงแรกลูกหอยมือเสือจะย่อยซูแซนเทลลีที่ถูกกรองกินเข้ามาเป็นอาหาร เมื่อลูกหอยมือเสืออายุประมาณ 10 วัน จะเริ่มเข้าสู่ระยะ pediveliger จะพบท่อที่เชื่อมต่อกันระหว่างส่วนของภาวะอาหารกับเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลของหอยมือเสือเมื่ออายุมากขึ้นท่อดังกล่าวจะยิ่งแตกแขนง เรียกว่า zooxanthellal tube (รูปที่ 4) สามารถคัดเลือก และนำซูแซนเทลลีจากส่วนของภาวะอาหาร ไปยังเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล และค่อยๆเพิ่มจำนวนและกระจายออกตามขอบของแมนเทิล เป็นการส่งสัญญาณว่าเริ่มมีการเกิด symbiosis เช่นเดียวกับการศึกษาของ Heslinga et al. (1984) พบว่าเมื่อลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะ pediveliger (อายุประมาณ 7-10 วัน) เริ่มมีการสร้างเท้าขึ้นมา โดยจะว่ายน้ำสลัดกับคืบคลานบนพื้นซูแซนเทลลีจะแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนและค่อยๆ เคลื่อนจากภาวะอาหารเข้าไปแทรกตัวอาศัยในเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลของลูกหอย จนเกิดภาวะอิงอาศัย (symbiosis) ที่สมบูรณ์ หลังจากนั้นลูกหอยจะเปลี่ยนการดำรงชีวิตจากการว่ายน้ำลงอาศัยบนพื้นถาวรโดยมีการสร้างเส้นใย byssus ยึดเกาะที่พื้น และหันด้านแมนเทิลเข้าหาแสง

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 พื้นที่เก็บตัวอย่างและศึกษาวิจัย

เก็บรวบรวมสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังทำหน้าที่เป็นผู้ให้อาศัย (host) ชูแซนเทลลีสำหรับการทดลองจากแนวปะการังบริเวณเกาะเสม็ดสาร ตำบลเสม็ดสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี (รูปที่ 5) และนำมาแยกเลี้ยง และเพิ่มจำนวนชูแซนเทลลี ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ห้อง 730 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือชนิด *Tridacna squamosa* และศึกษาการเกิดภาวะอิงอาศัยของชูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยต่างๆ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์



รูปที่ 5 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างชูแซนเทลลีจากสิ่งมีชีวิตบริเวณเกาะปลาหมึก หมู่เกาะเสม็ดสาร ตำบลเสม็ดสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

3.2 การแยกและเลี้ยงชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัย

เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อของสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังเพื่อนำไปแยกชูแซนเทลลี จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ หอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) ดอกไม้ทะเล (*Aiptasia* sp.) ปะการังรังผึ้ง (*Goniastrea* sp.) ปะการังดอกเห็ด (*Fungia fungites*) และปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.) จากความลึกประมาณ 3-5 เมตร ในบริเวณแนวปะการัง เกาะเสมสาร

3.2.1 การแยกชูแซนเทลลีจากหอยมือเสือ

นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ใน Microcentrifuge Tubes ที่มีน้ำที่ทะเลที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 2-3 นาที เทส่วนใสทิ้ง นำส่วนตะกอนไปเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นจนสังเกตเห็นคราบสีน้ำตาลบริเวณก้นหลอด จึงนำมาแยกชูแซนเทลลีด้วยเทคนิค Pasteur pipette single cell isolation ทำการเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน

3.2.2 การแยกชูแซนเทลลีจากปะการังและดอกไม้ทะเล

ชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยในกลุ่มของปะการังและดอกไม้ทะเลจาก ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพีช ห้อง 730 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้การทดลองของ กมลพร พัฒนศิริ (2556) เรื่อง “ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของ zooxanthellae ที่แยกจากปะการังและดอกไม้ทะเล” โดยมีวิธีการแยกดังนี้

ตัดชิ้นส่วนของผู้ให้อาศัย โดยในกลุ่มของปะการังใช้ชิ้นส่วนที่ยังมีชีวิตและส่วนดอกไม้ทะเลใช้เนื้อเยื่อส่วนของหนวด โดยทั้ง 2 ชนิด ใช้ชิ้นส่วนขนาดประมาณ 1 – 2 เซนติเมตร จากนั้นจึงนำมาแยกชูแซนเทลลีออกจากชิ้นส่วนผู้ให้อาศัยโดยฉีดด้วยน้ำทะเลกรอง ใส่เนื้อเยื่อบน petri dish แล้วนำน้ำที่ค้างใน petri dish ไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดน้ำทะเลเหนือตะกอนทิ้ง แล้วจึงนำตะกอนใสในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน นำไปไว้ในห้องเลี้ยงแพลงก์ตอน เมื่อมีจำนวนเซลล์มากขึ้น นำมาแยกชูแซนเทลลี ด้วยเทคนิค Pasteur pipette single cell isolation ทำการเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน

3.2.3 การเพาะเลี้ยงซูแซนเทลลีสำหรับการทดลอง

ทำการเพิ่มจำนวนซูแซนเทลลีในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนโดยใช้ขวดเลี้ยงปริมาตร 2 ลิตร ให้อากาศเพื่อให้สาหร่ายเติบโตได้ดี ไม่ติดกันขวดเลี้ยง สำหรับซูแซนเทลลีทั้งหมดที่ใช้การการศึกษา ครั้งนี้ ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Daigo' IMK (Nihon Pharmaceutical Co., Ltd) ที่ระดับอุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง $54 \mu \text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ช่วงมืด : ช่วงสว่าง 12 : 12 ชั่วโมง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 4,500-5,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 6 การเลี้ยงซูแซนเทลลีสำหรับการวิจัย

3.3 การศึกษาลักษณะ ขนาด และการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 การศึกษาลักษณะและขนาดของซูแซนเทลลี

ทำการศึกษาลักษณะของซูแซนเทลลีด้วยการสังเกตลักษณะ gymnodinoid และ coccoid รวมถึงพฤติกรรมเกาะกลุ่ม ว่ายน้ำของเซลล์ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยแหล่งต่างๆ และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์จากนั้นบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนประกอบ (compound light microscope)

3.3.2 การศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลี

ทำการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีจากสูตรของ (Guillard, 1973) ดังนี้

$$N_t = [N_0 e^{K_e t}]$$

เมื่อ N_t = ความหนาแน่นของเซลล์ในวันที่ t (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_0 = ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

K_e = ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะ

t = เวลา (วัน)

ที่ $t = 0, N_t = N_0$

$$\log N_t = \log N_0 + K_e t \cdot \log(e)$$

$$\log N_t = \log N_0 + (0.4343) K_e t$$

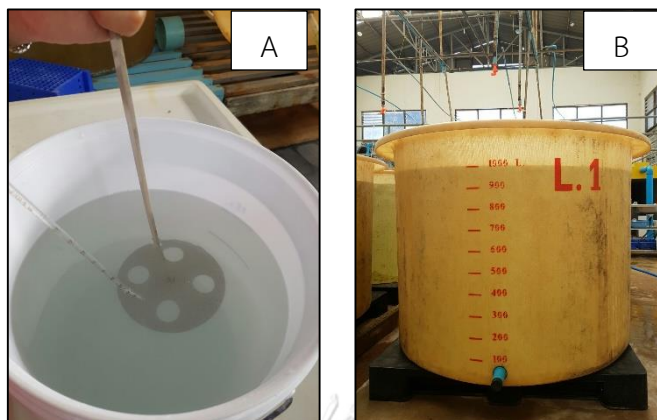
ดังนั้น $K_e = \frac{\log N_t - \log N_0}{(0.4343) t}$

3.4 การเตรียมน้ำทะเล ถังเลี้ยง และลูกหอยมือเสือสำหรับการทดลอง

ทำการเพาะหอยมือเสือให้ได้ตัวอ่อนเพื่อใช้ในการศึกษา ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง ประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยดำเนินการดังนี้

3.4.1 การเตรียมลูกหอยมือเสือสำหรับการทดลอง

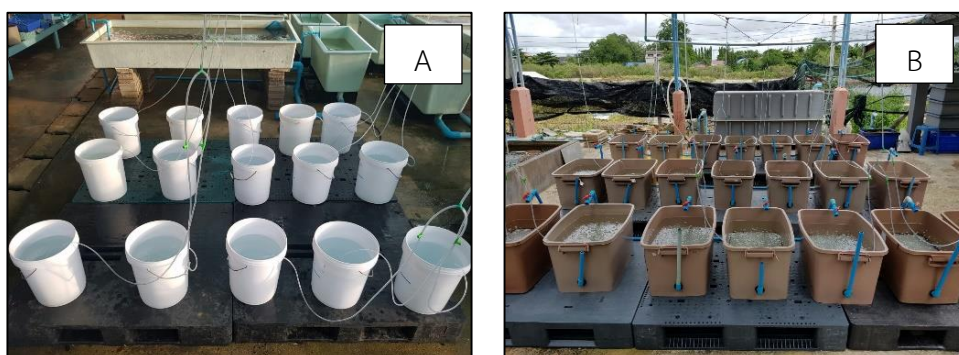
นำน้ำเชื้อและไข่จากพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ จากการกระตุ้นด้วยวิธีเปลี่ยนถ่ายน้ำและผึ่งแห้ง ล้างเศษขยะออกด้วยน้ำทะเลกรอง จากนั้นนำไข่และน้ำเชื้อผสมกันโดยใช้ไม้คน (รูปที่ 7A) เติม EDTA ความเข้มข้น 10 ppm เพื่อกำจัดโลหะหนักเนื่องจากน้ำทะเลที่ใช้เป็นน้ำทะเลบริเวณใกล้ฝั่งอาจมีการปนเปื้อนของโลหะหนักซึ่งเป็นอันตรายกับลูกหอยมือเสือ ภายใน 3 วัน จะได้ลูกหอยมือเสือในระยะ veliger ไปใช้ในการทดลองต่อไป



รูปที่ 7 ถังอนุบาลลูกหอยในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร (A)
และ ไม้คนสำหรับกวนให้เข้ากับน้ำเชื้อผสมกัน (B)

3.4.2 การเตรียมน้ำทะเลและถังเลี้ยงสำหรับการทดลอง

สูบน้ำทะเลจากบ่อพักตะกอน ผ่านเครื่องกรองทรายและกรองละเอียดกรองขนาด 1 ไมโครเมตร ฆ่าเชื้อด้วยแสง UV นำน้ำทะเลดังกล่าวปริมาณ 15 ลิตรใส่ในถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร (รูปที่ 8A สำหรับการทดลองระยะวัยน้ำ) ควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงให้อยู่ในช่วงความเค็ม 33-35 psu อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส pH 8.3-8.4 ให้อากาศตลอดเวลา ภายใน 14 วัน หอยจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger จึงย้ายลูกหอยมือเสือมาทำการทดลองในถังพลาสติกที่มีปริมาตรน้ำ 50 ลิตร มีวัสดุกล่องเกาะที่ทำจากปูนผสมทราย ใช้ระบบน้ำไหลตลอดเวลา (รูปที่ 8B สำหรับการทดลองระยะลงเกาะ)



รูปที่ 8 ถังสำหรับทดลองลูกหอยมือเสืออายุ 3-14 วัน (A) และ ถังสำหรับทดลองลูกหอยมือเสืออายุ 15-74 วัน (B) ซึ่งมีแผ่นปูนผสมทรายรองไว้สำหรับลูกหอยมือเสีลงเกาะ

3.5 แผนการทดลอง

3.5.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง (treatment) โดยแต่ละชุดการทดลองมีความหนาแน่นของลูกหอยมือเสือ (*T. squamosa*) ในระยะ veliger 5 ตัว / มิลลิลิตร และให้อาหารเป็นซูแซนเทลลีที่แยกได้จากผู้ให้อาศัยแต่ละชนิด ดังมีรายละเอียดดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ (*T. squamosa*)

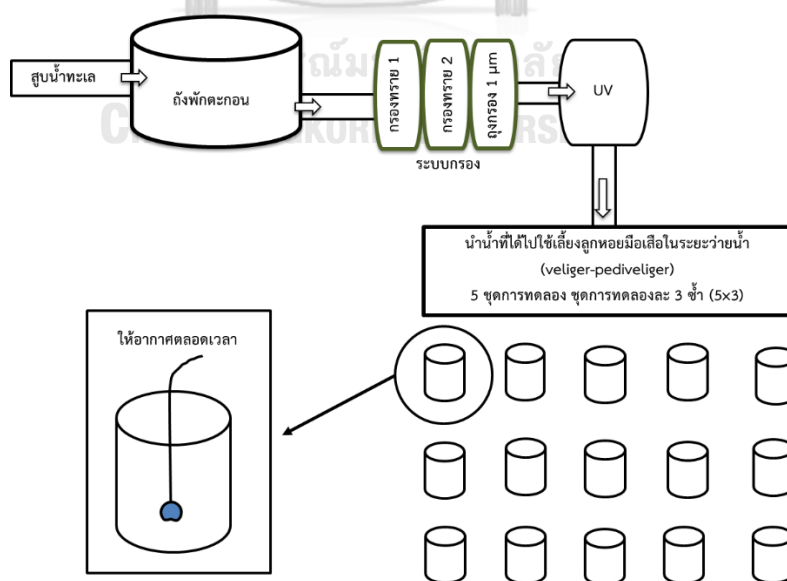
ชุดการทดลองที่ 2 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล (*Aiptasia* sp.)

ชุดการทดลองที่ 3 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง (*Goniastrea* sp.)

ชุดการทดลองที่ 4 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกเห็ด (*Fungia fungites*)

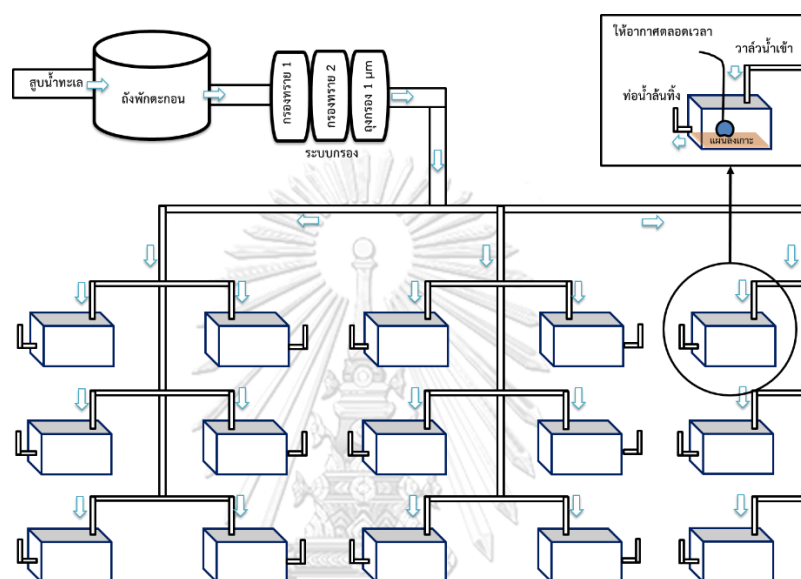
ชุดการทดลองที่ 5 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.)

แต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ และให้ซูแซนเทลลีทุกวัน วันละ 2 ครั้ง (เช้า/เย็น) โดยมีความหนาแน่นเซลล์ในถังเลี้ยงเท่ากับ 600-700 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทุกๆ 2 วัน ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำในถังเลี้ยง 100% ตรวจสอบคุณภาพน้ำเบื้องต้นจะทำการวัดค่า ความเค็ม อุณหภูมิ pH แอมโมเนีย และค่าอัลคาไลน์ตีก่อนทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ โดยมีระบบน้ำและการจัดวางถังชุดการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะวัยน้ำ ตั้งแต่ระยะ veliger พัฒนาสู่ระยะ pediveliger

หลังจาก 2 สัปดาห์แรกลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงจะพัฒนาเข้าสู่ระยะลงเกาะจึงย้ายมาเลี้ยงในถังพลาสติกที่มีปริมาตรน้ำ 50 ลิตร มีวัสดุลงเกาะที่ทำจากปูนผสมทราย มีระบบน้ำไหล และให้อากาศตลอดเวลา ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ และไม่ให้อาหารเพิ่มเติม ตรวจสอบคุณภาพน้ำเบื้องต้นในส่วนของ ความเค็ม อุณหภูมิ pH แอมโมเนีย และค่าอัลคาไลน์ตี ทุกๆ 1 สัปดาห์ โดยมีระบบน้ำและการจัดวางถัง ดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะลงเกาะ ตั้งแต่ระยะ pediveliger พัฒนาสู่ระยะ juvenile

3.5.2 การสุ่มเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างลูกหอยมือเสือครั้งละ 30 ตัว ทุกวันใน 2 สัปดาห์แรก เพื่อให้ครอบคลุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของลูกหอยมือเสือในระยะ veliger ถึงระยะ pediveliger เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง จึงเปลี่ยนไปทำการสุ่มทุก 7 วัน เนื่องจากลูกหอยมือเสือเริ่มลงเกาะและเข้าระยะ juvenile ซึ่งจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมากนักแต่จะเป็นการเปลี่ยนแปลงด้านความยาวเปลือก

ทั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการทดลองเลี้ยงทั้งสิ้น 3 เดือน ทำการสังเกตการพัฒนา การเกิดภาวะอิงอาศัยของซูแซนเทลลี วัดความยาวเปลือก และบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound light microscope) เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการนับจำนวนเพื่อศึกษาอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ

3.6 การวิเคราะห์ผล

3.6.1 การศึกษาอัตราการรอด

ทำการศึกษาอัตราการรอดซึ่งคำนวณโดยใช้สูตร

$$SR = \left[\frac{N_f}{N_i} \right] \times 100$$

เมื่อ SR = อัตราการรอด (%)

N_f = จำนวนตัวสุดท้าย (ตัว)

N_i = จำนวนตัวเริ่มต้น (ตัว)

3.6.2 การศึกษาอัตราการเติบโต

ทำการศึกษาอัตราการเติบโตซึ่งวัดจากความยาวเปลือกของลูกหอยมือเสือโดยใช้สูตรของ

Tan et al. (2001)

$$\text{ดังนั้น } GR_L = \left[\frac{\ln(L_f) - \ln(L_i)}{T} \right] \times 100$$

เมื่อ GR_L = อัตราการเติบโตด้านความยาวเปลือก (% ต่อ วัน)

L_f = ความยาวเปลือกวันสุดท้าย (μm)

L_i = ความยาวเปลือกเริ่มต้น (μm)

T = เวลาที่เลี้ยง (วัน)

3.6.3 การศึกษาการเกิดภาวะอิงอาศัยและศึกษาการพัฒนาการ

ทำการเปรียบเทียบเกิดภาวะอิงอาศัยของซูแซนเทลลีและการศึกษาพัฒนาการของลูกหอยที่ได้ โดยดัดแปลงจากหลักการของ Hirose et al. (2006) โดยการสังเกตว่าพบและไม่พบซูแซนเทลลีภายในส่วนของทางเดินอาหาร (alimentary canal) และเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล (mantle tissue) ของลูกหอยมือเสือระยะต่างๆ ได้แก่ veliger และ pediveliger โดยแบ่งระยะการเกิดภาวะอิงอาศัยเป็น 3 ระยะได้แก่

ระยะ Alimentary I หมายถึง ระยะที่พบซูแซนเทลลีเฉพาะบริเวณทางเดินอาหารหรือกระเพาะอาหารของลูกหอยเท่านั้น

ระยะ Alimentary II หมายถึง ระยะที่พบการสะสมของซูแซนเทลลีจากกระเพาะอาหารขยายมาถึงบริเวณข้างๆของกระเพาะอาหาร

ระยะ Mantle หมายถึงระยะที่พบซูแซนเทลลีบริเวณเนื้อเยื่อแมนเทิล

3.6.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

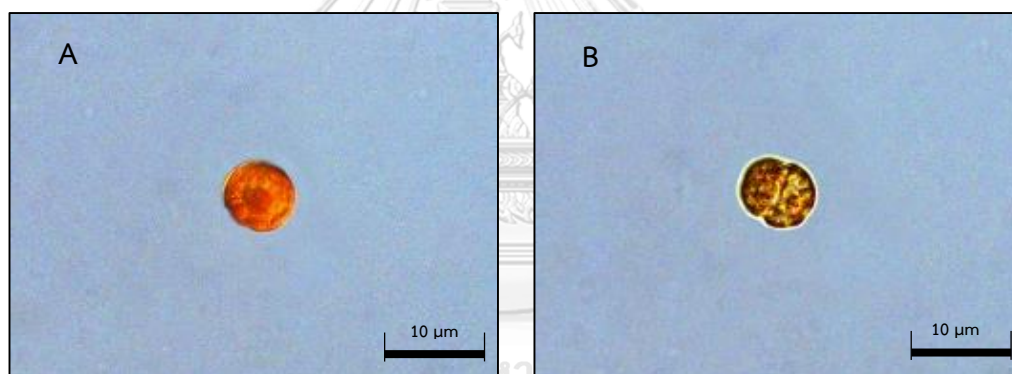
เปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการรอดตาย การเติบโตด้านความยาวเปลือกเวลาในการพัฒนาการ และเวลาในการเกิดภาวะอิงอาศัยของลูกหอยมือเสือระหว่างชุดการทดลองด้วย one-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลดังกล่าวของแต่ละชุดการทดลอง ด้วยวิธี duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS

บทที่ 4 ผลการศึกษา

4.1 รูปร่างลักษณะ ขนาด และการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลอง

4.1.1 รูปร่างลักษณะของซูแซนเทลลี

การสังเกตลักษณะเซลล์ของซูแซนเทลลีที่เลี้ยงไว้สำหรับการทดลอง พบว่ามีลักษณะที่คล้ายกับทรงกลม มีสีน้ำตาลน้ำตาลอมเหลือง มีทั้งเซลล์ที่เกาะตัวกันเป็นกลุ่ม ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเซลล์ที่อยู่นิ่งไม่ว่ายน้ำ เรียกว่า *coccoid form* (รูปที่ 11A) มักจะเกาะตัวอยู่ตามผนังภาชนะที่ใช้เลี้ยง และเซลล์ที่แยกกันอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ไม่เกาะกลุ่มกัน ว่ายน้ำอยู่ตลอดเวลา เรียกว่า *gymnodinoid form* (รูปที่ 11B) ซึ่งจะแตกต่างกันเล็กน้อยตามชนิดของผู้ให้อาศัย



รูปที่ 11 ซูแซนเทลลีที่ใช้ในการทดลองแบบ *coccoid form* (A) และ *gymnodinoid form* (B)

โดยในกลุ่มของซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล พบว่าเซลล์ว่ายน้ำอย่างอิสระอยู่ตลอดเวลา (*motile stage*) ไม่เกาะกลุ่มกันลักษณะส่วนใหญ่เป็น *gymnodinoid* กลุ่มของปะการัง พบว่าซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง ปะการังเขากวาง มีลักษณะคล้ายกันคือ เซลล์อยู่อย่างอิสระ ไม่เกาะกลุ่ม ลักษณะส่วนใหญ่เป็น *gymnodinoid* มีการเคลื่อนว่ายน้ำแบบวนอยู่กับที่ (*motile stage*) ส่วนในปะการังดอกเห็ด พบว่าเซลล์อยู่อย่างอิสระแต่มีการเกาะกลุ่มกันบ้าง สุดท้ายคือในส่วนของซูแซนเทลลีจากแมนเทิลของหอยมือเสือมีลักษณะกลมแบบ *coccoid* ไม่ว่ายน้ำมักจะอยู่นิ่งๆ เกาะกลุ่มกันแน่นตามผนังภาชนะ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะและพฤติกรรมของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ โดยสังเกตจากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ อายุเซลล์ 10-12 วัน

แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	ลักษณะ		พฤติกรรม	
	gymnodinoid	coccoid	เกาะกลุ่ม	เซลล์เดี่ยวอิสระ
แมนเทิลหอยมือเสือ		x	x	
ดอกไม้ทะเล	x			x
ปะการังรังผึ้ง	x			x
ปะการังดอกเห็ด	x		x	
ปะการังเขากวาง	x			x

4.1.2 ขนาดของซูแซนเทลลี

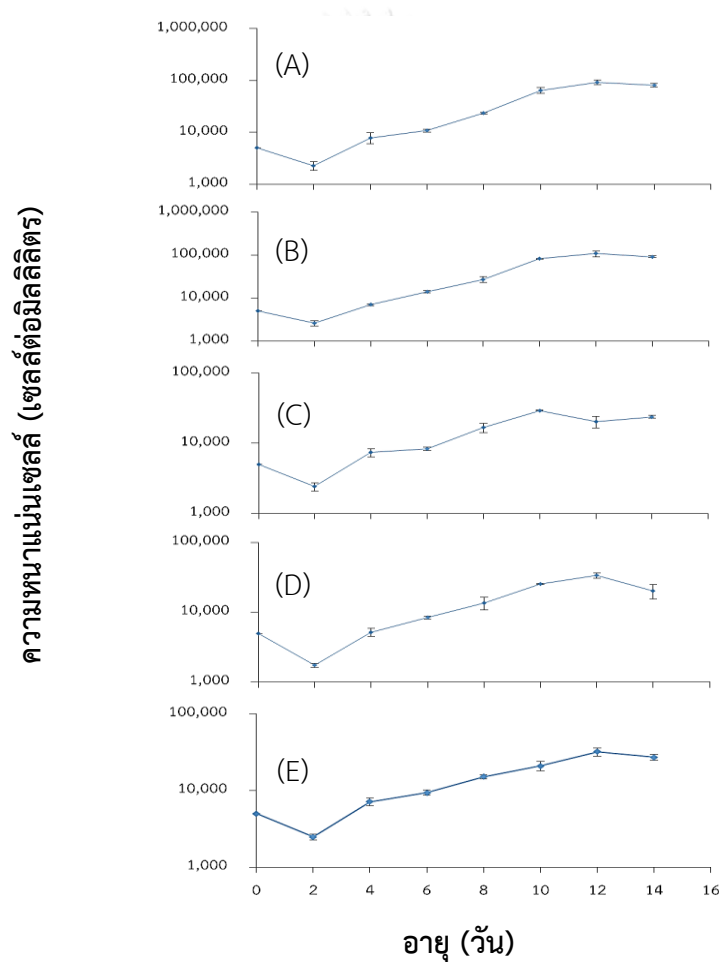
จากการวัดขนาดซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลของหอยมือเสือ ดอกไม้ทะเล ปะการังรังผึ้ง ปะการังดอกเห็ด และปะการังเขากวาง ในวันที่ 10 ของการเลี้ยง วัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ เท่ากับ 9.08 ± 0.12 , 10.46 ± 0.21 , 11.12 ± 0.34 , 9.77 ± 0.10 และ 9.23 ± 0.10 ไมโครเมตร ตามลำดับ พบว่าขนาดของซูแซนเทลลีที่มีขนาดใหญ่ที่สุด คือกลุ่มของปะการังรังผึ้ง และดอกไม้ทะเล รองลงมาเป็น ปะการังดอกเห็ด ปะการังเขากวาง และซูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือที่มีขนาดเล็กที่สุด

ตารางที่ 2 ขนาดของซูแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ โดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์

แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	ขนาดซูแซนเทลลี (μm)
แมนเทิลหอยมือเสือ	$9.08^a \pm 0.12$
ดอกไม้ทะเล	$10.46^c \pm 0.21$
ปะการังรังผึ้ง	$11.12^d \pm 0.34$
ปะการังดอกเห็ด	$9.77^b \pm 0.10$
ปะการังเขากวาง	$9.23^a \pm 0.10$

4.1.3 การเติบโตและอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลี

การศึกษาการเติบโตของซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลของหอยมือเสือ ดอกไม้ทะเล ปะการังรังผึ้ง ปะการังดอกเห็ด และปะการังเขากวาง พบว่าในวันที่ 2 ของการเติบโตในขวดเลี้ยง ซูแซนเทลลีจะมีจำนวนลดลงจากเดิม เรียกระยะนี้ว่า lag phase จากนั้นในวันที่ 4 จะแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 10 เรียกระยะนี้ว่า logarithmic phase และจะเริ่มน้อยลงจนถึงวันที่ 12 เรียกระยะนี้ว่า stationary phase สุดท้ายเซลล์จะเริ่มลดจำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 14 เรียกระยะนี้ว่า death phase โดยมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละผู้ให้อาศัย (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 การเติบโตของแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆที่ใช้ในการทดลอง โดยที่ (A) คือการเติบโตของแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือ, (B) คือการเติบโตของแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล, (C) คือค่าการเติบโตของแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง, (D) คือค่าการเติบโตของแซนเทลลีจากปะการังดอกเห็ด และ (E) คือค่าการเติบโตของแซนเทลลีจากปะการังเขากวาง

จากกราฟการเติบโตของแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ เมื่อทำการคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะของซุแซนเทลลีแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลอง พบมีค่า 0.35, 0.40, 0.31, 0.26, และ 0.19 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 อัตราการเติบโตจำเพาะของซุแซนเทลลีที่แยกจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ

แหล่งที่มาของซุแซนเทลลี (host)	อัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate)
แมนเทิลหอยมือเสือ	0.35
ดอกไม้ทะเล	0.40
ปะการังรังผึ้ง	0.31
ปะการังดอกเห็ด	0.26
ปะการังเขากวาง	0.19

การเพาะพันธุ์และผลผลิตของลูกหอยมือเสือ

หลังจากที่กระตุ้นเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือด้วยวิธีการฝังเหง้าจนได้น้ำเชื้อและไข่ นำเซลล์สืบพันธุ์ดังกล่าวผสมกัน เมื่อไข่ปฏิสนธิกับน้ำเชื้อและแบ่งเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ภายใน 24-28 ชั่วโมง จะได้ลูกหอยมือเสือในระยะ trochophore มีลักษณะคล้ายลูกช่าง ภายใน 2 วัน ลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะนี้ว่า veliger จึงเริ่มให้ชูแขนเทลลีในระยะนี้ เมื่อลูกหอยมือเสือได้รับอาหารจากการกรองกินเปลือกเริ่มหนาขึ้นตัวใหญ่ และเห็นอวัยวะต่างๆภายในที่ชัดเจนขึ้น ภายใน 7-10 วัน ลูกหอยมือเสือจะว่ายน้ำสลับกับคืบคลานไปตามพื้น และเริ่มพัฒนาส่วนของเท้าขึ้นมา เรียกว่าระยะ pediveliger โดยเริ่มมีการสะสมชูแขนเทลลีภายในกระเพาะอาหาร และเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ ในระยะนี้ทำให้หอยมือเสือได้รับพลังงานจากการสังเคราะห์แสงของชูแขนเทลลีจึงเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และเริ่มที่จะอาศัยตามพื้นอย่างสมบูรณ์ ภายใน 2 เดือน จะพัฒนาเข้าสู่ metamorphosis สังเกตเห็น siphon และสีของชูแขนเทลลีภายในตัวชัดเจน และเข้าสู่ระยะ juvenile ที่มีรอยหยักและหนามบนเปลือก รวมไปถึงการแผ่ของแมนเทิลเพื่อรับแสงคล้ายกับระยะเต็มวัย ภายใน 2 เดือน



รูปที่ 13 การพัฒนาการของหอยมือเสือตั้งแต่ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (fertilized egg) จนถึงระยะตัวเต็มวัย (adult)

4.2 การเข้าอิงอาศัยของซูแซนเทลลีในลูกหอยมือเสือ

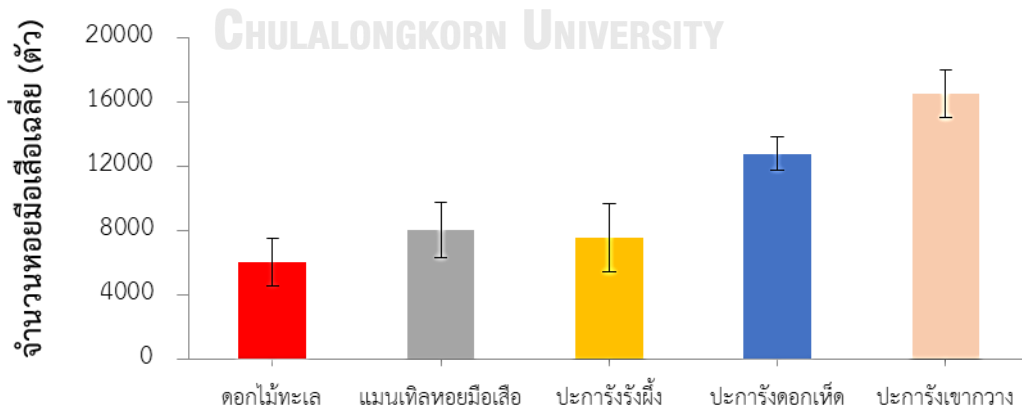
4.2.1 อัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ

จากผลการทดลอง พบว่าลูกหอยมือเสืออายุ 14 วันในระยะ pediveliger ที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง มีอัตราการรอดสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาเป็นลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกเห็ด, จากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ, จากปะการังรังผึ้ง และจากดอกไม้ทะเล ดังตารางที่ 4 และรูปที่ 14

ตารางที่ 4 จำนวนและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน

แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	ลูกหอยมือเสือ	
	จำนวนเฉลี่ย (ตัว)	อัตราการรอดเฉลี่ย (%)
แมนเทิลหอยมือเสือ	8,000 ± 1732	20 ^{b*} ± 4.36
ดอกไม้ทะเล	6,000 ± 1500	15 ^{b*} ± 3.75
ปะการังรังผึ้ง	7,500 ± 2121	19 ^{b*} ± 5.77
ปะการังดอกเห็ด	12,750 ± 1061	32 ^{b*} ± 2.67
ปะการังเขากวาง	16,500 ± 1500	42 ^{a*} ± 3.78

*ตัวอักษรยกรกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



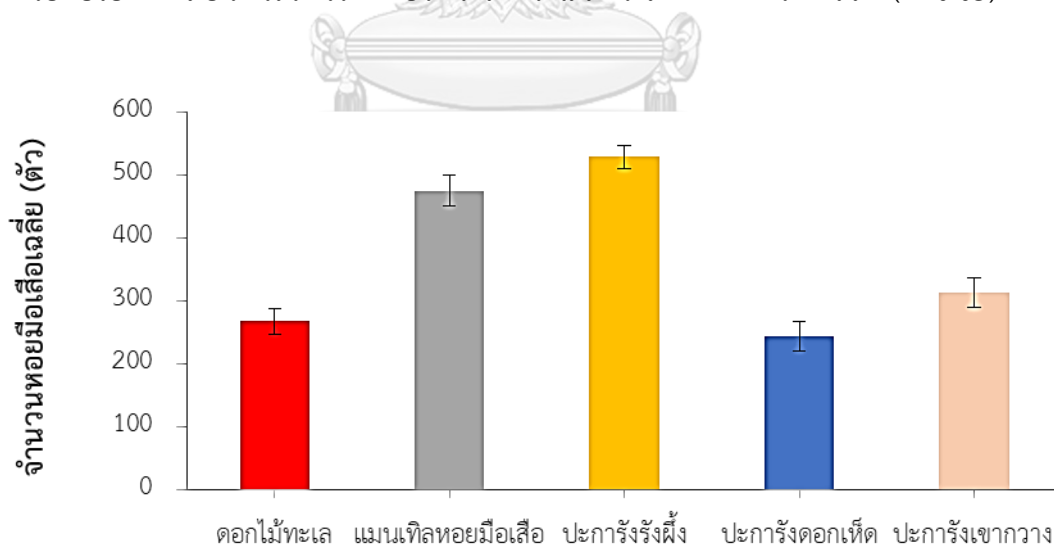
รูปที่ 14 จำนวนของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน

เมื่ออนุบาลลูกหอยมือเสือจนถึงอายุ 74 วัน พบว่าลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ มีจำนวนตัวและอัตราการรอดมากที่สุดซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาเป็นลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง, ปะการังรังผึ้ง, ดอกไม้ทะเล และปะการังดอกเห็ด ดังตารางที่ 5 และรูปที่ 15

ตารางที่ 5 จำนวนและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน

แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	จำนวนเฉลี่ย (ตัว)	อัตราการรอดเฉลี่ย (%)
แมนเทิลหอยมือเสือ	475 ± 24.27	1.20 ^{b*} ± 0.06
ดอกไม้ทะเล	267 ± 21.80	0.67 ^{a*} ± 0.05
ปะการังรังผึ้ง	529 ± 18.93	1.30 ^{b*} ± 0.05
ปะการังดอกเห็ด	244 ± 23.44	0.58 ^{a*} ± 0.06
ปะการังเขากวาง	267 ± 21.80	0.67 ^{a*} ± 0.05

*ตัวอักษรยกรกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



รูปที่ 15 จำนวนของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน

4.2.2 การเติบโตด้านความยาวเปลือกของลูกหอยมือเสือ

ลูกหอยมือเสืออายุ 14 วัน หลังจากไข่ได้รับการปฏิสนธิลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ มีอัตราการเติบโตด้านความยาวมากที่สุดซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาคือซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล, ปะการังเขากวาง, ปะการังรังผึ้ง และปะการังดอกเห็ด

เมื่อลูกหอยมือเสืออายุ 74 วันชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้งและดอกไม้ทะเล มีอัตราการเติบโตด้านความยาวมากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ, ปะการังเขากวางและ ปะการังดอกเห็ด

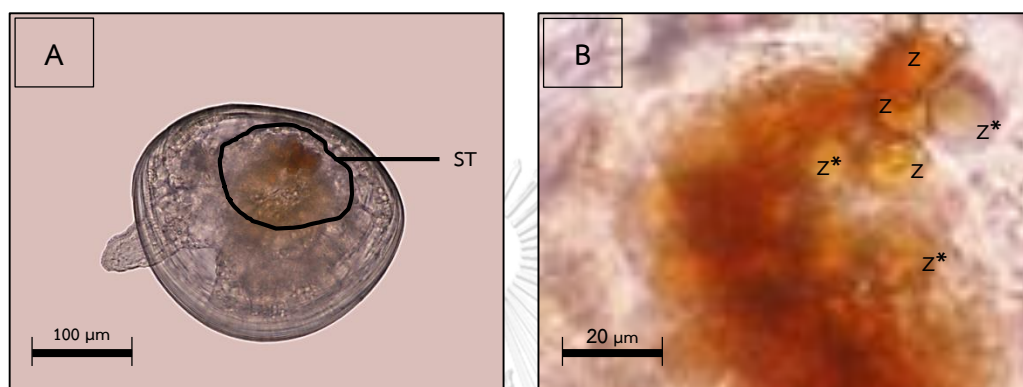
ตารางที่ 6 อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก (% ต่อ วัน) ของลูกหอยมือเสือ

ระยะวัยอายุ 3-14 วัน	แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	ความยาวเปลือก (ไมโครเมตร)		อัตราการเติบโต โดยความยาวเปลือก (% ต่อ วัน)
		เริ่มต้น	สุดท้าย	
ระยะวัยอายุ 3-14 วัน	แมนเทิลหอยมือเสือ	173 ± 2.11	197 ± 2.21	1.30 ^{a*} ± 0.19
	ดอกไม้ทะเล	173 ± 3.35	192 ± 2.70	1.00 ^{a,b*} ± 0.31
	ปะการังรังผึ้ง	171 ± 4.27	187 ± 1.73	0.89 ^{a,b*} ± 0.16
	ปะการังดอกเห็ด	172 ± 2.18	183 ± 2.92	0.61 ^{b*} ± 0.28
	ปะการังเขากวาง	172 ± 1.21	189 ± 1.66	0.97 ^{a,b*} ± 0.10
	ระยะลงเกาะอายุ 14-74 วัน	แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	ความยาวเปลือก (ไมโครเมตร)	
เริ่มต้น		สุดท้าย		
แมนเทิลหอยมือเสือ		197 ± 2.21	3,586 ± 80.00	4.53 ^{b*} ± 0.02
ดอกไม้ทะเล		192 ± 2.70	3,719 ± 46.57	4.63 ^{a*} ± 0.04
ปะการังรังผึ้ง		187 ± 1.73	3,711 ± 69.39	4.67 ^{a*} ± 0.04
ปะการังดอกเห็ด		183 ± 2.92	3,124 ± 68.42	4.43 ^{c*} ± 0.04
ปะการังเขากวาง	189 ± 1.66	3,403 ± 84.53	4.51 ^{b*} ± 0.05	

*ตัวอักษรยกรกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

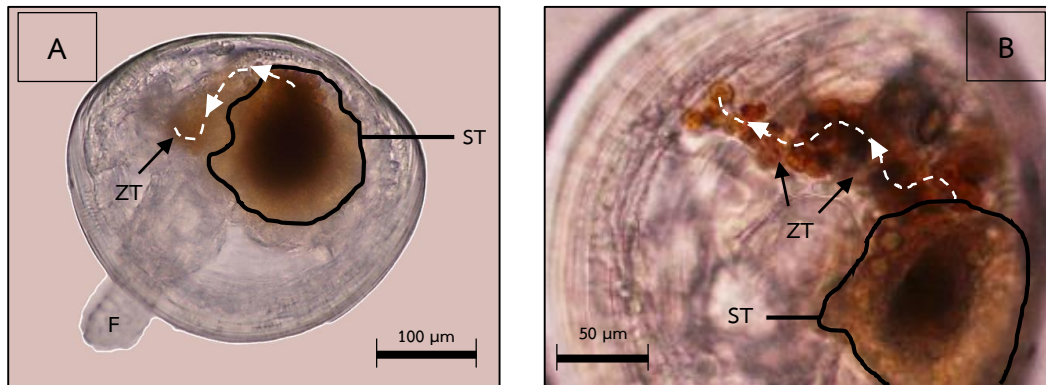
4.2.3 การเกิดภาวะอิงอาศัยภายในหอยมือเสือ

ทุกชุดการทดลองให้ซูแซนเทลลีตั้งแต่ระยะ D-shaped veliger อายุ 3 วัน พบว่าหลังภายใน 1 วันหลังให้ซูแซนเทลลี ลูกหอยมือเสือในระยะดังกล่าวกรองเอาซูแซนเทลลีเข้าไปในกระเพาะอาหาร และย่อยซูแซนเทลลีเพื่อเป็นพลังงานใช้ในการเติบโต ซึ่งซูแซนเทลลีที่พบมีทั้งลักษณะที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์เกิดจากการถูกย่อยโดยกระเพาะอาหาร (รูปที่ 16) เรียกระยะนี้ว่า Alimentary I



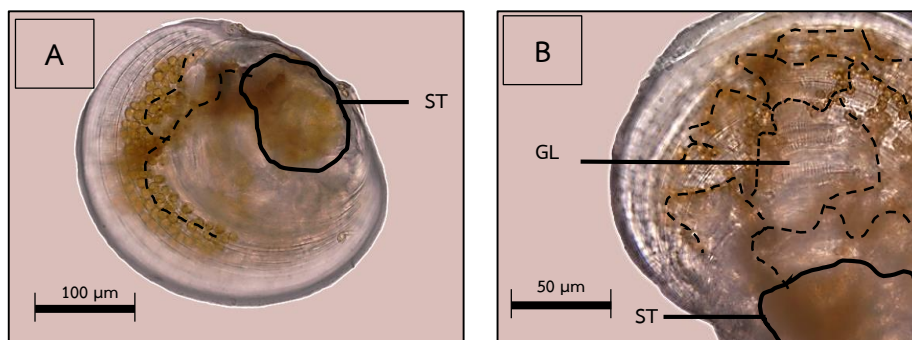
รูปที่ 16 ซูแซนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยกับลูกหอยมือเสือในระยะ Alimentary I ซึ่งพบซูแซนเทลลีเฉพาะในกระเพาะอาหารเท่านั้น โดยที่ (A) คือ ตำแหน่งของกระเพาะอาหารที่มีซูแซนเทลลีอยู่ภายใน และ (B) คือ ซูแซนเทลลีที่อยู่ภายในกระเพาะอาหาร (ST = กระเพาะอาหาร, Z = ซูแซนเทลลี, Z* =ซูแซนเทลลีที่ถูกย่อย)

ลูกหอยมือเสืออายุ 9-11 วัน ซูแซนเทลลีเริ่มเคลื่อนที่ออกมาเป็นแนวบริเวณกระเพาะอาหาร เรียกเส้นดังกล่าวว่า zooxanthellal tube (---) ซึ่งเส้นดังกล่าวเป็นการเรียงตัวกันของกลุ่มซูแซนเทลลีที่เคลื่อนที่ออกมาจากกระเพาะอาหารเพื่อไปยังเนื้อเยื่อแมนเทิล โดยลูกหอยมือเสือที่ได้รับซูแซนเทลลีจากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ และปะการังเขากวาง ใช้เวลา 9 วัน จากนั้นชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล, ปะการังรังผึ้ง และปะการังดอกเห็ด ใช้เวลา 10 วัน เรียกระยะในการเกิดภาวะอิงอาศัยนี้ว่า Alimentary II (รูปที่ 17)



รูปที่ 17 ซูแซนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยกับลูกหอยมือเสือในระยะ Alimentary II (F = เท้า, ST = ภาวะอาหาร, ZT = zooxanthellal tube) โดยที่ (A) คือ ตำแหน่งของ zooxanthellal tube บริเวณข้างๆของภาวะอาหาร และ (B) คือ zooxanthellal tube ซูแซนเทลลีที่มีซูแซนเทลลีอยู่ภายใน

ลูกหอยมือเสือและซูแซนเทลลีสามารถสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ (Completely symbiosis) อายุประมาณ 12-14 วัน (รูป 18A และB) ซูแซนเทลลีเริ่มพบหนาแน่นบริเวณทางเดินอาหาร (alimentary canal) และเนื้อเยื่อแมนเทิล (mantle) ไปยังส่วนของเท้า (foot) และอื่นๆ จนเต็มตัวหอย โดยเคลื่อนที่ผ่านท่อที่เรียกว่า zooxanthellal tube (---) ซึ่งในระยะนี้จะแพร่กระจายเป็นร่างแหในเนื้อเยื่อของลูกหอยมือเสือหอยมือเสืวันอ่อนที่ได้รับซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ จะใช้เวลาในการสร้าง zooxanthellal tube ที่แตกต่างกัน พบว่าซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล, ปะการังเขากวาง, ปะการังรังผึ้ง และแมนเทิลของมือเสือ สามารถสร้างได้จนสมบูรณ์เมื่ออายุ 12 ± 0.58 , 12 ± 0.58 , 12 ± 1.00 , และ 13 ± 0.58 วัน ตามลำดับ และจากปะการังดอกเห็ดที่ต่ำที่สุด เมื่ออายุ 14 ± 1.53 วัน ซึ่งแตกต่างกับทุกชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)



รูปที่ 18 แชนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยกับลูกหอยมือเสือในระยะ Mantle (ST = กระจาอาหาร และ GL = เหงือก) โดยที่ (A) คือ zooxanthellal tube ที่ทอดยาวจากกระจาอาหารไปยังแมนเทิล และ (B) คือ zooxanthellal tube ที่เติบโตและครอบคลุมจนเป็นร่างแหภายในเนื้อเยื่อของลูกหอยมือเสือ

ตารางที่ 7 ระยะเวลาของการเกิดภาวะอิงอาศัย (วัน) ในแต่ละชุดการทดลอง (AL I = Alimentary I, AL II = Alimentary II, M = Mantle)

แหล่งที่มาของชูแชนเทลลี (host)	ระยะของการเกิดภาวะอิงอาศัย (วัน)		
	AL I	AL II	M
แมนเทิลหอยมือเสือ	4 ^{a*} ± 0	9 ^{a*} ± 0.58	13 ^{a*} ± 0.58
ดอกไม้ทะเล	4 ^{a*} ± 0	10 ^{a*} ± 0.58	12 ^{a*} ± 0.58
ปะการังรังผึ้ง	4 ^{a*} ± 0	10 ^{a*} ± 1.00	12 ^{a*} ± 1.00
ปะการังดอกเห็ด	4 ^{a*} ± 0	10 ^{a*} ± 1.73	14 ^{b*} ± 1.53
ปะการังเขากวาง	4 ^{a*} ± 0	9 ^{a*} ± 0.58	12 ^{a*} ± 0.58

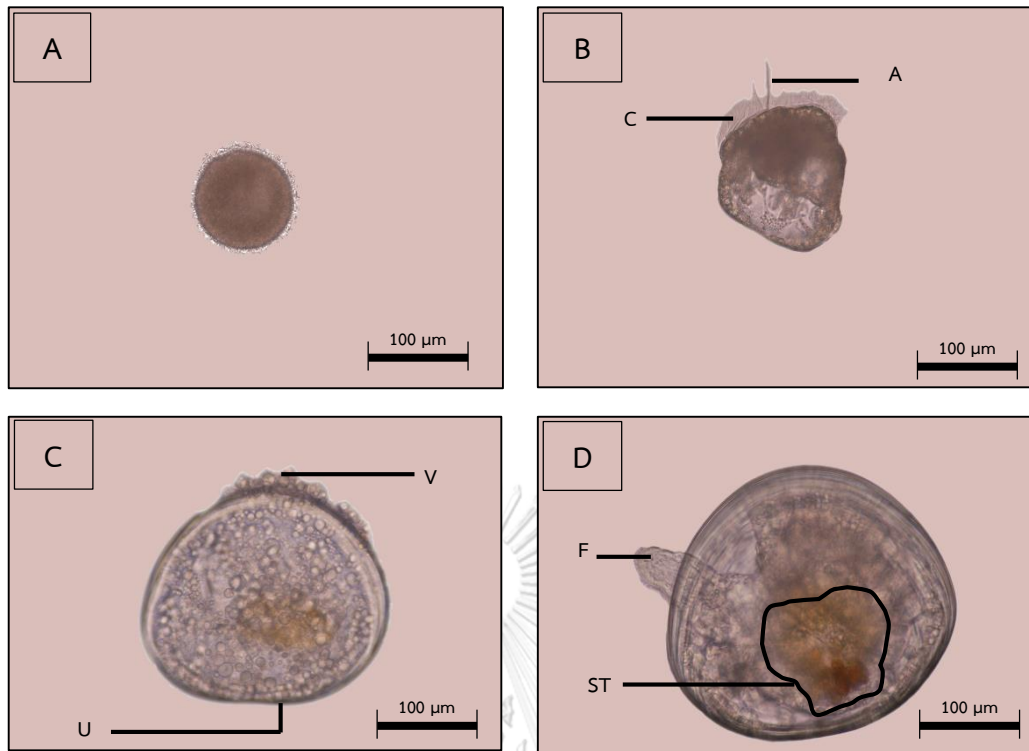
*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

4.2.4 การพัฒนาการของหอยมือเสือ

การพัฒนาการในระยะว่ายน้ำ

ลูกหอยมือเสือเริ่มพัฒนาจากไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (รูปที่ 19A) และเข้าสู่ระยะ trochophore ภายใน 24-28 ชั่วโมง ในระยะนี้มีลักษณะคล้ายลูกช่าง เริ่มพัฒนาส่วนขนเล็ก ๆ รอบตัวเรียกว่า cilia ใช้ในการว่ายน้ำ (รูปที่ 19B) จากนั้นเริ่มพัฒนาเข้าสู่ระยะ veliger ภายใน 2-3 วัน ช่วงแรกจะเรียกว่า D-shaped veliger เป็นช่วงที่ลูกหอยมือเสือนี้ออกห่อหุ้มทั้งหมด ด้านหนึ่งโค้งอีกด้านหนึ่งตรงมีลักษณะคล้ายตัว D มีแผงขนขนาดใหญ่ใช้สำหรับว่ายน้ำเรียกว่า velum ดำรงชีวิตด้วยการกรองกินแพลงก์ตอนพืชในมวลน้ำเป็นอาหาร (รูปที่ 19C) จากนั้นในวันที่ 4-6 ลูกหอยมือเสือนี้ออกห่อหุ้มขนาดใหญ่ขึ้น ด้านฝาพับจะโค้งนูนแสดงส่วนที่เรียกว่า umbo ชัดเจน จึงเรียก ระยะนี้ว่า umbo-veliger จากนั้นภายใน 7-12 วัน ลูกหอยมือเสือนี้ออกห่อหุ้มจึงเปลี่ยนการดำรงชีวิตจากการว่ายน้ำอย่างเดียวเป็นการว่ายน้ำสลัดกับคืบคลานตามพื้นโดยเริ่มพัฒนาส่วนของเท้า (foot) เรียก ระยะนี้ว่า pediveliger (รูปที่ 19D)

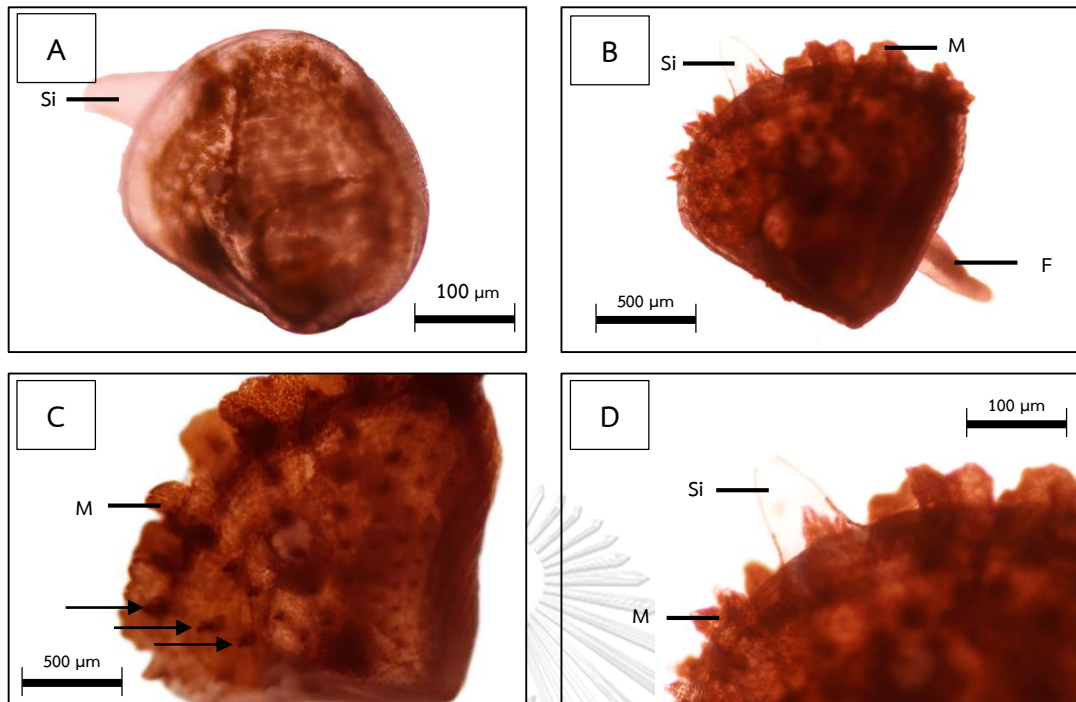
จากผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ให้ชูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้งทำให้ลูกหอยมือเสือนี้ออกห่อหุ้มพัฒนาการจากระยะ D-shaped veliger เข้าสู่ระยะ pediveliger เร็วที่สุด ใช้เวลา 7 ± 0.58 วัน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาเป็นชุดการที่ให้ชูแซนเทลลีจากปะการังเขากวาง ภายใน 8 ± 0.58 วัน จากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ ภายใน 9 ± 0.58 วัน จากปะการังดอกเห็ด ใช้เวลา 10 ± 2.31 วัน และจากดอกไม้ทะเล ภายใน 11 ± 2.00 วัน



รูปที่ 19 พัฒนาการของหอยมือเสือระยะว่ายน้ำ จากไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว (A), ลูกหอยมือเสือในระยะ trochophore อายุ 24-28 ชั่วโมง (B), ลูกหอยมือเสือในระยะ veliger อายุ 3-5 วัน (C) และลูกหอยมือเสือในระยะ pediveliger มีเท้า (foot) ชัดเจน อายุ 7-12 วัน (D) (F = foot, A = apical cilia, C = ciliated bands, V = velum, U = umbo, ST = stomach)

การพัฒนากายในระยะเวลาเกาะ

หลังจากเข้าสู่ระยะ pediveliger ลูกหอยมือเสือสามารถลงเกาะพื้นและได้รับพลังงาน จากสารอาหารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง ของซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อร่วมกับการกรองกินอาหารในมวลน้ำ ภายใน 3 สัปดาห์ จะสามารถสังเกตเห็น พบบส่วนของ exhalant siphon และ inhalant siphon ได้อย่างชัดเจนที่บริเวณเนื้อเยื่อแมนเทิล ลำตัวมีสีทึบและหนา มีการสร้างเส้นใย byssus ไข้วยึดเกาะพื้น เรียกว่าระยะ settle หรือ metamorphosis ภายใน 1-2 เดือน เริ่มพัฒนาเปลือกคล้ายตัวเต็มวัย มีเกล็ดและร่องที่เปลือกชัดเจน เนื้อเยื่อแมนเทิลมีสีน้ำตาลเข้มจากซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ภายใน โดยปกติจะหงายด้านแมนเทิลขึ้นรับแสง และยึดส่วน umbo กับพื้นด้วยเส้นใยเหนียวที่เรียกว่า byssus ซึ่งสามารถสร้างใหม่ได้หากขาดหรือหลุด เรียกว่าระยะ juvenile



รูปที่ 20 พัฒนาการของลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะ โดย (A) คือลูกหอยมือเสือในระยะ settle หรือ metamorphosis อายุ 20-30 วัน (B) คือลูกหอยมือเสือในระยะ juvenile อายุ 60 วัน (C) คือเกล็ดบริเวณเปลือก (→) ของลูกหอยมือเสือในระยะ juvenile อายุ 60 วัน (D) คือส่วนของ siphon ของลูกหอยมือเสือในระยะ juvenile และเนื้อเยื่อแมนเทิลที่ยึดออกมาเพื่อรับ (Si = siphon, F = foot และ M = mantle tissue)

ผลการทดลอง พบว่าลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยชูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง เข้าสู่ระยะ settle หรือ metamorphosis เร็วที่สุด 30 ± 1.50 วัน แตกต่างกับทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) รองลงมาคือชูแซนเทลลีที่แยกจากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ 34 ± 1.60 วัน ปะการังเขากวาง 35 ± 1.50 วัน ดอกไม้ทะเล 38 ± 1.50 วัน และปะการังดอกเห็ด 43 ± 2.50 วัน

นอกจากนี้ชูแซนเทลลีที่ทำให้ลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะ juvenile ได้เร็วที่สุดคือชูแซนเทลลีที่แยกเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ 51 ± 1.15 วัน และจากปะการังรังผึ้ง 53 ± 2.52 วัน ซึ่งแตกต่างกับทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) รองลงมาคือชูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล 58 ± 1.53 วัน ปะการังเขากวาง 65 ± 1.53 วัน และปะการังดอกเห็ด 67 ± 2.31 วัน

ตารางที่ 8 ระยะเวลาพัฒนาการของลูกหอยมือเสือในระยะเวลาต่างๆ (วัน) (FE = fertilized egg, TP = trochophore, VG = veliger, DS = D-shaped veliger, UM = umbo veliger, PV = pediveliger, MP = metamorphosis, JV = juvenile)

แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี (host)	ระยะเวลาของการพัฒนาการ (วัน)									
	ระยะวัยน้ำ					ระยะลงเกาะ				
	FE	TP	VG		PV	MP	JV			
		DS	UM							
แมนเทิลหอยมือเสือ	1 ^{a*} ± 0.00	2 ^{a*} ± 0.00	3 ^{a*} ± 0.00	5 ^{a,b*} ± 0.58	9 ^{a,b,c*} ± 0.58	34 ^{b*} ± 0.5	51 ^{a*} ± 1.15			
ดอกไม้ทะเล	1 ^{a*} ± 0.00	2 ^{a*} ± 0.00	3 ^{a*} ± 0.00	4 ^{a*} ± 0.58	11 ^{c*} ± 2.00	38 ^{c*} ± 1.5	58 ^{b*} ± 1.53			
ปะการังรังผึ้ง	1 ^{a*} ± 0.0	2 ^{a*} ± 0.00	3 ^{a*} ± 0.00	4 ^{a*} ± 0.58	7 ^{a*} ± 0.58	30 ^{a*} ± 1.5	53 ^{a*} ± 2.52			
ปะการังดอกเห็ด	1 ^{a*} ± 0.00	2 ^{a*} ± 0.00	3 ^{a*} ± 0.00	6 ^{b*} ± 0.58	10 ^{b,c*} ± 2.31	43 ^{d*} ± 2.5	67 ^{c*} ± 2.31			
ปะการังเขากวาง	1 ^{a*} ± 0.00	2 ^{a*} ± 0.0	3 ^{a*} ± 0.00	6 ^{b*} ± 0.58	8 ^{a,b*} ± 0.58	35 ^{c,b*} ± 1.5	65 ^{c*} ± 1.53			

*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

4.2.5 ชูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ

ผลการศึกษาค่าการใช้ชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ ตั้งแต่ระยะ veliger จนกระทั่งเกิดการอิงอาศัยที่สมบูรณ์ (completely symbiosis) และติดตามจน ลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะ juvenile หรือมีอายุ 74 วัน พบว่าชูแซนเทลลีที่มาจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ มีการตอบสนองที่แตกต่างกัน จึงใช้ผลวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของอัตราการรอด อัตราการ เติบโต เวลาของการเกิดภาวะอิงอาศัย และการพัฒนาการของลูกหอยมือเสือ เป็นเกณฑ์ในการ คัดเลือกชูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ ซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 ระยะ คือ ระยะว่ายน้ำตั้งแต่ระยะ veliger-pediveliger หรืออายุ 3-14 วัน และระยะลงเกาะตั้งแต่ระยะ pediveliger-juvenile หรืออายุ 15-74 วัน

ข้อมูลที่สามารถแบ่งกลุ่มทางสถิติได้ 2 กลุ่ม (*) ได้แก่ ผลการวิเคราะห์อัตราการรอดในระยะ ว่ายน้ำและลงเกาะ (ตารางที่ 4 และ 5) อัตราการเติบโตในระยะว่ายน้ำ (ตารางที่ 6) และเวลาในการ เกิดภาวะอิงอาศัย (ตารางที่ 7) จัดกลุ่มได้ a และ b กำหนดการให้ ★ ดังนี้

กลุ่ม a ให้ ★★

กลุ่ม ab ให้ ★

กลุ่ม b ให้ ★

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลที่สามารถแบ่งกลุ่มทางสถิติได้ 3 กลุ่ม (***) ได้แก่ ผลการวิเคราะห์อัตราการเติบโตใน ระยะลงเกาะ (ตารางที่ 7) เวลาในการพัฒนาการทั้งในระยะว่ายน้ำและระยะลงเกาะ (ตารางที่ 8) จัดกลุ่มได้ a b และ c กำหนดการให้ ★ ดังนี้

กลุ่ม a ให้ ★★★

กลุ่ม ab ให้ ★★

กลุ่ม b ให้ ★★

กลุ่ม abc ให้ ★★

กลุ่ม bc ให้ ★★

กลุ่ม c ให้ ★

ผลการให้คะแนนตามเกณฑ์ดังกล่าวสรุปได้ว่า ชูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงหอยมือเสือ ในการศึกษาครั้งนี้คือ ชูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือ และชูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง พิจารณาจากเกณฑ์ความเหมาะสมของชูแซนเทลลีจากแต่ละผู้ให้อาศัยทั้ง 4 ด้าน ได้แก่ อัตราการรอด อัตราการเติบโต เวลาในการพัฒนาการ และเวลาในการเกิดภาวะอิงอาศัย ตั้งแต่ระยะวัยน้ำ จนถึงระยะลงเกาะ ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 สรุปผลของชูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ จำนวน ★ บอกลถึงความเหมาะสมของชูแซนเทลลีแต่ละแหล่งที่มา (อักษรที่ใช้ในการแบ่งกลุ่มทางสถิติสามารถย้อนกลับไปศึกษาได้จากตารางที่ 4 และ 5 สำหรับอัตราการรอด ตารางที่ 6 สำหรับอัตราการเติบโต ตารางที่ 7 สำหรับเวลาในการเกิดภาวะอิงอาศัย และ ตารางที่ 8 สำหรับเวลาในการพัฒนาการ)

ระยะวัยน้ำ (veliger-pediveliger)	แหล่งที่มาของชูแซนเทลลี				
ข้อมูล	แมนเทิล หอยมือเสือ	ดอกไม้ทะเล	ปะการัง รังผึ้ง	ปะการัง ดอกเห็ด	ปะการัง เขากวาง
อัตราการรอด*	★	★	★	★	★★
อัตราการเติบโต*	★★	★	★	★	★
พัฒนาการ**	★★	★	★★★★	★★	★★
การเกิดภาวะอิงอาศัย*	★★	★★	★★	★	★★
ระยะลงเกาะ (pediveliger-juvenile)	แหล่งที่มาของชูแซนเทลลี				
ข้อมูล	แมนเทิล หอยมือเสือ	ดอกไม้ทะเล	ปะการัง รังผึ้ง	ปะการัง ดอกเห็ด	ปะการัง เขากวาง
อัตราการรอด*	★★	★	★★	★	★
อัตราการเติบโต**	★★	★★★	★★★★	★	★★
การพัฒนาการ**	★★★	★★	★★★★	★	★
จำนวน ★	14	11	15	8	11

4.3 คุณภาพน้ำ

การตรวจวัดคุณภาพน้ำแบ่งออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกลูกหอยมือเสืออยู่ในระยะวัยน้ำ (veliger–pediveliger) ซึ่งเลี้ยงในระบบปิด มีการเปลี่ยนน้ำทุกๆ 2 วัน ใช้เวลาในการเลี้ยงประมาณ 2 สัปดาห์ และช่วงถัดมาคือช่วงที่ลูกหอยมือเสืออยู่ในระยะลงเกาะ (pediveliger–juvenile) เลี้ยงในระบบเปิด ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำแต่จะใช้น้ำทะเลกรอง ไหลผ่านตลอดเวลา ใช้เวลาในการเลี้ยงนับจากวันที่เริ่มทดลองประมาณ 3 เดือน

คุณภาพน้ำในช่วงระยะวัยน้ำของลูกหอยมือเสือพบว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติเหมาะสมสำหรับการเลี้ยงลูกหอยมือเสือ เนื่องจากมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน ทำให้คุณภาพน้ำไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงมากนัก ตลอด 2 สัปดาห์ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วง 33-35 psu ค่า pH อยู่ในช่วง 8.35-8.50 ค่าอัลคาไลน์ตี 120-140 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมีค่าไม่เกิน 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร

คุณภาพน้ำในช่วงระยะลงเกาะของลูกหอยมือเสือ ใช้ระบบน้ำไหลในการเลี้ยง ซึ่งคุณภาพน้ำมีค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 29-30 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วง 33-35 psu ค่า pH อยู่ในช่วง 8.40-8.50 ค่าอัลคาไลน์ตี 130-140 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียไม่เกิน 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 10 คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำ	ช่วง	หน่วย
อุณหภูมิ	28-30	องศาเซลเซียส (°C)
ความเค็ม	33-35	psu
pH	8.35-8.50	-
อัลคาไลน์ตี	120-140	มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)
แอมโมเนีย	0.01-0.05	มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

5.1 ลักษณะเซลล์ ขนาด และอัตราการเติบโตจำเพาะของชูแซนเทลลี

จากการศึกษาของ Domotor and D'elia (1986) เกี่ยวกับการเติบโต ขนาด และลักษณะของชูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ มีการปรับตัวตามผู้ให้อาศัยที่เคยอาศัยอยู่เดิม มีผลทำให้พฤติกรรม ขนาด และการเติบโตจำเพาะของเซลล์มีความแตกต่างกัน ส่งผลต่อการการเติบโตของผู้ให้อาศัยใหม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างๆ ที่นำมาทดลองมีการตอบสนองต่อลูกหอยมือเสือที่แตกต่างกัน ทั้งในด้านอัตราการรอด อัตราการเติบโต เวลาในการเกิดภาวะอิงอาศัย และการพัฒนาการของลูกหอยมือเสือที่ทดลอง

ลักษณะแบบ gymnodinoid และ coccooid สามารถพบได้ในการเพาะเลี้ยงชูแซนเทลลีทุกผู้ให้อาศัย เมื่ออายุของเซลล์มากขึ้น เซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสัดส่วนเซลล์ที่ว่ายน้ำน้อยลงจากการศึกษาของ Trench et al. (1981) เกี่ยวกับชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ พบว่าชูแซนเทลลีมีทั้งลักษณะที่เป็น gymnodinoid (motile stage) และลักษณะแบบ coccooid (non-motile stage) ปะปนกัน แต่จะมีสัดส่วนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับช่วงเวลา โดยในช่วงเช้าหรือมีแสง จะมีสัดส่วนของ gymnodinoid มากที่สุด และเป็นลักษณะ coccooid ในช่วงเวลาบ่ายหรือช่วงที่มีแสงน้อย เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ สังเกตเห็นว่าชูแซนเทลลีที่ใช้ในการศึกษาจะมีสัดส่วนของ gymnodinoid มากที่สุดในช่วงเช้าของทุกชุดการทดลอง การแยกชูแซนเทลลีมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีผลต่อสัดส่วนของ gymnodinoid และ coccooid จากการทดลอง Fitt and Trench (1981) นำชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างๆ มาแยกเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (cultured) และแยกแบบสดใหม่ (freshly isolated) ให้แก่หอยมือเสือ พบว่าชูแซนเทลลีที่แยกและถูกเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ (cultured) จะมีสัดส่วนของ coccooid มากกว่าชูแซนเทลลีที่ถูกแยกแบบสดใหม่ (freshly isolated) ซึ่งแตกต่างกับการศึกษานี้ที่พบว่าชูแซนเทลลีที่เพาะเลี้ยงส่วนใหญ่ยังเป็นลักษณะแบบ gymnodinoid ยกเว้นชูแซนเทลลีจากแมนเทิลของหอยมือเสือที่ยังคงมีลักษณะแบบ coccooid เป็นส่วนใหญ่ตั้งแต่ต้น นอกจากนี้เซลล์ที่มีลักษณะแบบ gymnodinoid หรือเป็นเซลล์ที่ว่ายน้ำอยู่ตลอดมีโอกาสถูกลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำกินได้มากกว่าลักษณะแบบ coccooid (Domotor and D'elia, 1986)

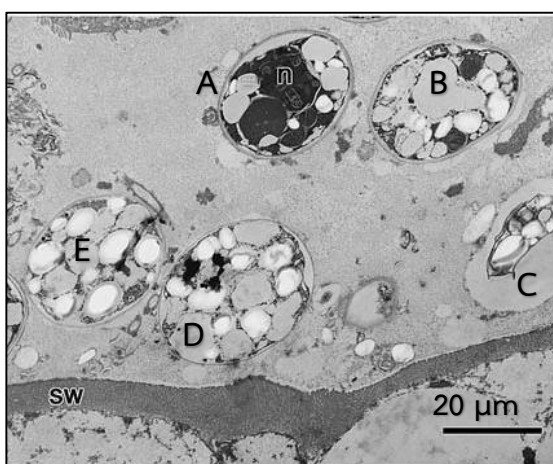
Biquand et al. (2017) พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ของซูแซนเทลลีมีผลต่อการกรองกินของลูกหอยมือเสือ นอกจากนี้ขนาดยังมีผลต่อความหลากหลายของซูแซนเทลลีภายในผู้ให้อาศัย หากผู้ให้อาศัยมีความหลากหลายของซูแซนเทลลีมากก็ทำให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น Fitt et al. (1984) พบว่าลูกหอยมือเสือในระยะ veliger ได้รับอาหารจำนวนมาก หรือได้รับอาหารหลากหลายชนิด ลูกหอยมือเสือได้รับสารอาหารจำพวกไขมันมากขึ้น ทำให้มีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ พบว่าซูแซนเทลลีขนาดเล็กสามารถทำให้ลูกหอยมือเสือนี้อัตราการรอดในระยะวัยน้ำดีที่สุด และยังทำให้อัตราการเติบโตสูงขึ้นอีกด้วย

Wilkerson et al. (1988) ศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเติบโตของซูแซนเทลลี โดยใช้ค่า Mitotic index บริเวณแนวปะการังแถบคาริเบียน พบว่าซูแซนเทลลีจากกลุ่มของปะการังแบบกิ่งมีอัตราการเติบโตของเซลล์มากกว่าซูแซนเทลลีจากกลุ่มของปะการังแบบก้อน แต่จากการศึกษาครั้งนี้ ซูแซนเทลลีจากปะการังแบบกิ่งมีการเติบโตที่ช้ากว่าแบบก้อนซึ่งอาจเป็นการปรับตัวของซูแซนเทลลีตามสภาพแวดล้อมและที่อยู่อาศัยเดิม (Coffroth and Santos, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ให้อาศัยจะเลือกซูแซนเทลลีให้เหมาะสมกับการเติบโตของตัวเอง หากผู้ให้อาศัยเลือกซูแซนเทลลีที่มีอัตราการเติบโต หรือการแบ่งเซลล์ที่เร็วกว่าอัตราการเติบโตของตัวเอง จำเป็นต้องกำจัดซูแซนเทลลีส่วนเกินดังกล่าวด้วยวิธีการย่อย หรือขับออกจากเนื้อเยื่อ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้พบว่า ลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะที่มีอัตราการเติบโตที่รวดเร็ว มีขนาดตัวที่ใหญ่ขึ้น และมีพื้นที่ในการรองรับซูแซนเทลลีที่มากขึ้น เหมาะสมกับซูแซนเทลลีที่มีอัตราการเติบโต หรือการแบ่งเซลล์ที่รวดเร็ว เพื่อที่จะรองรับการขยายตัวของเนื้อเยื่อลูกหอยมือเสือที่เติบโตขึ้นในทุกวัน ในทางกลับกันซูแซนเทลลีที่มีอัตราการเติบโตที่ช้าจะเหมาะลูกหอยมือเสือในระยะวัยน้ำดีที่มีการเติบโตช้า ขนาดตัวที่เล็ก และมีพื้นที่ในการรองรับซูแซนเทลลีน้อยกว่า

5.2 บทบาทของซูแซนเทลลีต่ออัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ

Fitt et al. (1986) ศึกษาผลของซูแซนเทลลีในด้านสารอาหารต่อการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ โดยใช้แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis galbana* และเสริมด้วยซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ พบว่าพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีวิตทั้งหมดของลูกหอยมือเสือในระยะวัยน้ำดี มาจากการกรองกินแพลงก์ตอนและสารแขวนลอยในมวลน้ำ จากการศึกษาครั้งนี้ใช้ซูแซนเทลลีเป็นอาหารแก่ลูกหอยมือเสือเพียงอย่างเดียว แต่ลูกหอยมือเสือสามารถมีชีวิตรอดจนเสร็จสิ้นการทดลอง แม้ไม่ได้ให้แพลงก์ตอนชนิดอื่นๆ เป็นอาหาร และมีอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือในระยะวัยน้ำดีที่ใกล้เคียงกัน (40.4% และ 42%) จึงยืนยันได้ว่าซูแซนเทลลีมีความสามารถในการสนับสนุนเรื่องของ

สารอาหารแก่ลูกหอยมือเสือ ทำให้มีอัตราการรอดมากขึ้น นอกจากนี้พบเซลล์ของซูแซนเทลลีที่ถูกย่อยมีรูปร่างไม่สมบูรณ์ มีจำนวนมากว่าเซลล์ที่สมบูรณ์ภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือระยะ veliger สอดคล้องกับการศึกษาของของ Hirose et al. (2006) ที่พบเซลล์ซูแซนเทลลีส่วนใหญ่เป็นเซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ ผ่านการย่อยโดยกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือในระยะ veliger (รูปที่ 21) จากนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะ juvenile พบว่าซูแซนเทลลีจากแมนเทิลของหอยมือเสือทำให้ลูกหอยมือเสือมีอัตราการรอดสูงกว่าการทดลองอื่นๆ เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าซูแซนเทลลีจากแมนเทิลของหอยมือเสือทำให้ลูกหอยมือเสือมีอัตราการรอดเมื่อสิ้นสุดการทดลองสูงสุด



รูปที่ 21 ซูแซนเทลลีที่อยู่ภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือระยะ veliger โดย SW คือผนังของกระเพาะอาหาร A คือเซลล์สีเข้มจะเป็นเซลล์ที่ค่อนข้างสมบูรณ์มีส่วนของนิวเคลียส (n) และองค์ประกอบอื่นๆ ชัดเจน ส่วนของ B, C, D และ E คือเซลล์ที่ผ่านการย่อยแล้ว (Hirose et al., 2006)

แสดงให้เห็นว่าลูกหอยมือเสือในระยะวัยน้ำ ซูแซนเทลลีไม่ได้มีบทบาทในด้านการเป็นตัวช่วยสังเคราะห์แสง (photosymbionts) แต่มีบทบาทเด่นชัดในการเป็นอาหาร ให้กับลูกหอยมือเสือ

นอกจากนี้ Nugranad et al. (1996) เพาะเลี้ยงหอยมือเสือด้วยแพลงก์ตอนอาหาร 2 ชนิด (*Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans*) ก่อนเสริมด้วยซูแซนเทลลีจากมูลของพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือชนิดเดียวกัน พบว่ามีอัตราการรอดจาก D-shape veliger จนกระทั่ง pediveliger สูงถึง 72 % ซึ่งมากกว่าการศึกษานี้ เนื่องมาจากลูกหอยมือเสือได้รับอาหารที่ไม่หลากหลาย อาจทำให้อัตราการรอดลดลงซึ่ง Fitt et al. (1984) พบว่าหากลูกหอยมือเสือในระยะ veliger ที่ได้รับอาหาร

จำนวนมาก หรือได้รับอาหารหลากหลายชนิด ลูกหอยมือเสือจึงได้รับสารอาหารจำพวกไขมันมากขึ้น ทำให้มีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น หรืออาจจะสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงที่ต่างกัน

เมื่อลูกหอยมือเสือเติบโตจนเข้าสู่ระยะ pediveliger จึงเปลี่ยนมาเลี้ยงในถังที่มีวัสดุลงเกาะ ทำจากปูนผสมทรายทะเลหยาบ เพื่อให้ลูกหอยมือเสือที่เริ่มมีเท้า สามารถหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการลงเกาะ และเริ่มสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับซูแซนเทลลี ดังนั้นพลังงานที่ได้ส่วนใหญ่ มาจากผลผลิตของการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีที่เกิดภาวะอิงอาศัยภายในเนื้อเยื่อแมนเทิลของลูกหอยมือเสือ จากการศึกษาพบว่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้งและเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ ให้อัตราการรอดที่มากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จากการศึกษาในด้านขนาดและการเติบโตของซูแซนเทลลีพบว่า ซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลหอยมือเสือเป็นกลุ่มที่มีขนาดของเซลล์เล็ก มีการเกาะกลุ่มกันของเซลล์ และเซลล์ไม่ค่อยเคลื่อนที่มักจะเกาะอยู่นิ่งๆ ส่วนของซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง มีขนาดใหญ่ เซลล์กระจายตัวไม่เกาะกลุ่มกัน มักจะเคลื่อนที่ว่ายน้ำอยู่ตลอด แต่สิ่งที่คล้ายกันในซูแซนเทลลีจาก 2 ผู้ให้อาศัยนี้คือ ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ มีค่า 0.35 และ 0.31 ตามลำดับ แสดงถึงการเติบโตและแบ่งเซลล์เร็วกว่าซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง และปะการังดอกเห็ด ที่มีขนาดเล็ก แต่เติบโตได้ช้า อาจจะไม่เพียงพอต่อลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะ ที่เติบโตอย่างรวดเร็ว หากในตัวมีซูแซนเทลลีที่เติบโต แบ่งเซลล์ได้อย่างรวดเร็วด้วย ทำให้ได้เปรียบในด้านของการเติบโตและอัตราการรอดในระยะลงเกาะ จากการศึกษาทดลองของ Fitt and Trench (1981) มีอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือในระยะ juvenile ลดลง แต่ยังคงเป็นซูแซนเทลลีจากหอยมือเสือที่ทำให้อัตราการรอดสุดท้ายดีที่สุด

5.3 บทบาทของซูแซนเทลลีต่อการเติบโตของลูกหอยมือเสือ

นอกจากนี้ซูแซนเทลลียังจำเป็นต่อการเติบโตของลูกหอยมือเสือ โดยเฉพาะอย่างยิ่งลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำ การใช้ประโยชน์จากการรอกกินนั้นจำเป็นมากเนื่องจากยังไม่มีการสร้างภาวะอิงอาศัยอาศัย (symbiosis) กับซูแซนเทลลี จึงไม่สามารถรับพลังงาน หรือสารอาหารจากการสังเคราะห์แสงมาใช้ พลังงานทั้งหมดจึงได้มาจากการรอกกินอินทรีย์สารรวมไปถึงแพลงก์ตอนภายในมวลน้ำ จากการศึกษาครั้งนี้ใช้แค่ซูแซนเทลลีเป็นอาหารเท่านั้น แสดงให้เห็นว่าหอยมือเสือไม่ได้ใช้ประโยชน์จากซูแซนเทลลีแค่เป็นตัวช่วยในการสังเคราะห์แสงอย่างเดียว แต่ยังช่วยในเรื่องของสารอาหารอาหารผ่านทางกรอกกินของลูกหอยมือเสือมีผลต่อการเติบโตและสร้างเปลือกอีกด้วย (Klumpp et al., 1992)

จากศึกษาด้านอัตราการเติบโต พบว่าลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำในชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลของหอยมือเสือ มีอัตราการเติบโตมากที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) กับผลของอัตราการเติบโต ในชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากปะการังเขากวางที่ให้อัตราการรอดมากที่สุดในระยะว่ายน้ำ แสดงให้เห็นว่านอกจากปัจจัยในเรื่องการรอกกินซูแซนเทลลี คุณภาพของซูแซนเทลลีแต่ละผู้ให้อาศัยที่ลูกหอยมือเสือได้รับ อาจมีผลต่อการเติบโตของลูกหอยมือเสือเช่นกัน การศึกษาของ Mies et al. (2017) พบว่าในซูแซนเทลลีทุกสายพันธุ์ (stain) มีกรดไขมัน 3 ชนิด ได้แก่ SDA, DPA และ DHA ในส่วนของ DHA ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อการเติบโตของสิ่งมีชีวิต พบมากในซูแซนเทลลีได้จากปะการังแข็งบางชนิดและในหอยมือเสือ นอกจากนี้การศึกษาของ Ishikura et al. (1999) ยังพบ glycerol ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของการสังเคราะห์แสงภายในหอยมือเสือ (Muscatine, 1967) และยังช่วยลดการกระเจิงของแสงทางชีวภาพทำหน้าที่เป็น clearing agent ทำให้เนื้อเยื่อมีความโปร่งใสมากขึ้นในซูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ (Schatz et al., 2005)

จากการศึกษาแม้ลูกหอยมือเสือจะได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวางได้มากกว่าในระยะ veliger เนื่องจากเป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็ก และว่ายน้ำ แต่ซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลหอยมือเสือนั้นแม้จะมีขนาดเล็กเช่นกัน แต่รับเข้าไปยากกว่า เนื่องจากเซลล์มักจะเกาะกันเป็นกลุ่มและไม่ว่ายน้ำ เมื่อลูกหอยมือเสือพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger จะเริ่มลงเกาะ มีโอกาสได้รับซูแซนเทลลีมากกว่าระยะ veliger ทำให้ได้รับสารอาหารที่จำเป็นได้มากขึ้น อัตราการเติบโตของลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำในชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือจึงดีกว่าทุกชุดในการทดลองแม้ว่าจะให้อัตราการรอดในระยะลงเกาะมากไม่เท่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากปะการังเขากวาง

เมื่อลูกหอยมือเสือพัฒนาเข้าสู่ระยะลงเกาะ ลูกหอยมือเสือส่วนใหญ่เกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับซูแซนเทลลีเรียบร้อยแล้ว จึงเติบโตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากได้รับพลังงานทั้งจากการกรองกินและการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีในเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล ด้วยการที่หอยมือเสือในระยะนี้มีอัตราการเติบโตอย่างรวดเร็ว ดังนั้นในธรรมชาติ หากหอยมือเสือที่ลงเกาะแล้วเลือกซูแซนเทลลีที่มีอัตราการเติบโต หรือมีอัตราการแบ่งเซลล์ที่รวดเร็ว มาไว้ภายในตัวจะทำให้ได้เปรียบในด้านการเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับศึกษาด้านขนาดและอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล และปะการังรังผึ้งมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่สูง และว่ายน้ำตลอดเวลา ลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีทั้ง 2 ชนิดนี้จึงเติบโตได้ดีในระยะลงเกาะ

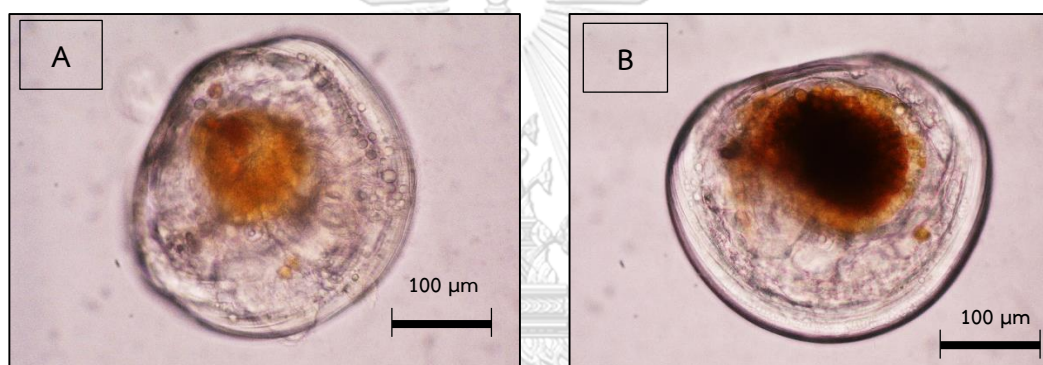
5.4 บทบาทของซูแซนเทลลีต่อการพัฒนาและการเกิดภาวะอิงอาศัย

เมื่อเริ่มต้นศึกษาไขที่ได้รับการปฏิสนธิจะเริ่มแบ่งเซลล์ และพัฒนาเข้าสู่ระยะ trochophore ภายใน 2 วัน ช่วงนี้ลูกหอยมือเสื่อยังไม่สามารถที่จะรับอาหารได้จากมวลน้ำ จำเป็นต้องใช้อาหารจากภายในตัวมาเป็นพลังงาน ซึ่งมีมากน้อยไม่เท่ากัน ทำให้มีอัตราการตายมากในระหว่างที่ลูกหอยมือเสือเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแต่ละระยะ เช่นเดียวกับการศึกษาทั้งของ Fitt et al. (1984) และ Heslinga et al. (1990) พบการตายของลูกหอยมือเสือก่อนข้างมากในระยะ trochophore สาเหตุอาจมาจากความสมบูรณ์ของไขที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์ ทั้งนี้เซลล์ไข่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อมากเกินไปอาจทำให้ไข่ไม่พัฒนาและกลายเป็นไข่เสียได้ นอกจากนี้ขนาดของไข่แสดงถึงการมีสารอาหารที่เก็บไว้ใช้ในช่วงเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะ Trochophore เข้าสู่ระยะ veliger จากการศึกษาของ Fitt et al. (1986) พบว่าไขที่มีขนาดใหญ่จะสามารถกักเก็บสารอาหารไว้สำหรับการพัฒนาการเข้าสู่ระยะว่ายน้ำได้มากกว่าไขที่มีขนาดเล็ก ขณะเดียวกันหากตัวอ่อนมีขนาดใหญ่จะพัฒนาการได้เร็ว และอัตราการรอดที่ต่ำกว่าตัวอ่อนขนาดเล็ก จากการศึกษาที่สังเกตเห็นว่าในช่วงที่ลูกหอยมือเสือเปลี่ยนจากไข่ (fertilized egg) เข้าสู่ระยะ trochophore พบว่าไขขนาดเล็กจะมีทั้งส่วนที่เสีย และส่วนที่พัฒนาก็จะเป็นตัวอ่อนที่ไม่สมบูรณ์และตายลงในช่วงที่พัฒนาเข้าสู่ระยะ veliger หรือในวันที่ 3 ของการทดลอง

ภายใน 7-11 วัน ลูกหอยมือเสือทุกชุดการทดลองพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger พบว่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้งและแมนเทิลหอยมือเสือเป็นกลุ่มที่พัฒนาการได้เร็วที่สุด ใช้เวลา 7-9 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือของ Jintana et al. (1996) ที่เพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือโดยให้ *Isochrysis galbana* ผสม *Chetoceros calcitrans* เป็นอาหารและเสริมด้วยซูแซนเทลลีจากมูลของพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือ ซึ่งใช้เวลาในการพัฒนาการจากระยะ D-shape

veliger เข้าสู่ระยะ pediveliger ภายใน 6-10 วัน และใกล้เคียงกับการทดลองของ Fitt and Trench (1981) ที่ลูกหอยมือเสือระยะ veliger พัฒนาการเข้าสู่ pediveliger ภายใน 10 วัน และเริ่มเกิดภาวะอิงอาศัยในช่วงนี้

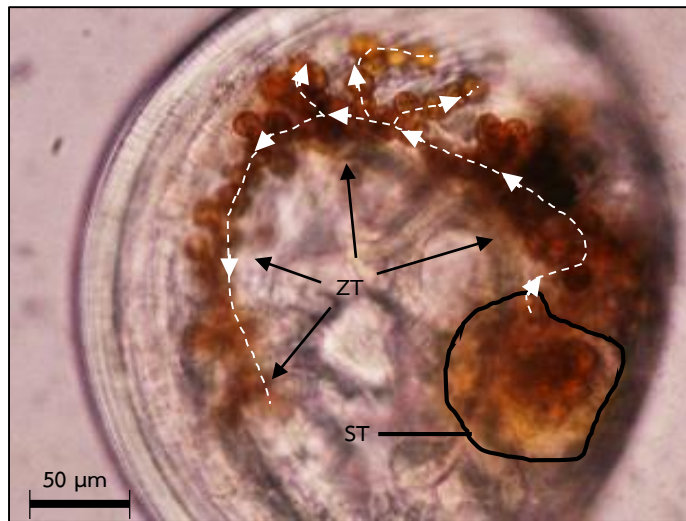
ในด้านของการเกิดภาวะอิงอาศัย เริ่มขึ้นภายใน 6-10 วัน พบว่าภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือเต็มไปด้วยซูแซนเทลลี สังเกตเห็นเป็นก้อนสีน้ำตาลที่ขอบบริเวณกลางตัว ดังรูปที่ 22A และ B จากนั้นจะขยายพื้นที่สีดำมากขึ้นจนเห็นชัดเจน พบว่าลูกหอยมือเสือมีการสร้างทางลำเลียงซูแซนเทลลี ลักษณะคล้ายท่อมีซูแซนเทลลีที่ค่อนข้างสมบูรณ์อยู่ภายใน เป็นเส้นสีทึบทอดยาวจากกระเพาะอาหารมายังบริเวณขอบของเนื้อเยื่อแมนเทิล เพื่อให้ซูแซนเทลลีได้รับแสงและเริ่มกระบวนการสังเคราะห์แสงภายในตัวลูกหอยมือเสือ



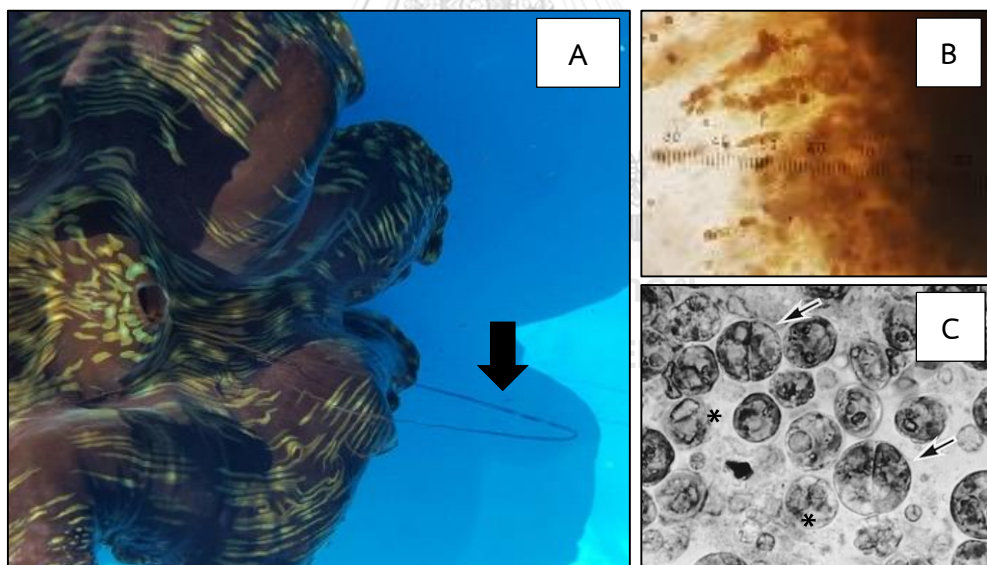
รูปที่ 22 ซูแซนเทลลีที่สะสมอยู่ภายในกระเพาะอาหาร

จากการศึกษาของ Hirose et al. (2006) เรียกเส้นทึบดังกล่าวว่า “zooxanthellal tube” (รูปที่ 23) เป็นท่อหรือเส้นทางที่ลูกหอยมือเสือสร้างขึ้น เมื่อได้รับการกระตุ้นหรือมีการส่งสัญญาณจากซูแซนเทลลีด้วยกระบวนการบางอย่าง โดยจะเชื่อมส่วนของกระเพาะอาหารไปยังส่วนของเนื้อเยื่อแมนเทิลจนเต็ม และเชื่อมไปยังส่วนต่างๆ ภายในตัวเมื่อลูกหอยมือเสือเติบโตขึ้น นอกจากนี้ zooxanthellae tube สามารถการคัดเลือксуแซนเทลลีด้วยกระบวนการบางอย่าง (Maruyama and Heslinga, 1997) โดยเลือกเซลล์ของซูแซนเทลลีที่เสื่อมสภาพหรือไม่สมบูรณ์ในเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลออกไปในรูปแบบของมูล (pseudofeces) ทาง exhalant siphon (รูปที่ 24A) และนำซูแซนเทลลีที่สมบูรณ์จากกระเพาะอาหารไปยังเนื้อเยื่อส่วนที่ขาดแคลนซูแซนเทลลี ขณะเดียวกันสามารถส่งผ่านผลิตภัณฑ์จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีไปยังส่วนต่างๆ ในหอยมือเสือได้เช่นกัน

จากการศึกษานี้พบว่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวางปะการังรังผึ้ง ดอกไม้ทะเล และแมนเทิลของหอยมือเสือ ใช้เวลาน้อยที่สุด 12-13 วัน ในการเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ ซึ่งเร็วกว่าการศึกษาของ Nugranad et al. (1996) ที่ใช้ซูแซนเทลลีจากมูล (pseudofeces) ของพ่อแม่พันธุ์พบว่า ซูแซนเทลลีเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับลูกหอยมือเสือภายใน 14-16 วัน ขณะที่ Hirose et al. (2006) ศึกษาการเกิดภาวะอิงอาศัยในหอยมือเสือ พบว่าซูแซนเทลลีเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ภายในวันที่ 10-20 วัน นอกจากนี้ยังเร็วกว่าการศึกษาของ Fitt and Trench (1981) และ Fitt et al. (1986) พบว่าซูแซนเทลลีเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับลูกหอยมือเสือภายในวันที่ 17 และ 16 วัน ตามลำดับ จากการศึกษาต่างๆ ใช้เวลาแตกต่างกัน เนื่องจากสภาพพื้นที่และอุณหภูมิบริเวณที่เพาะเลี้ยงมีผลต่อการพัฒนาการของลูกหอยมือเสือ (Neo et al., 2013) นอกจากนี้การเติบโต ขนาด และรูปแบบการดำรงชีวิตของซูแซนเทลลี ผลต่อการพัฒนาการและการเกิดภาวะอิงอาศัย แต่อาจจะมีผลจากสาเหตุอื่น หรือมีบางปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่นการสร้างพลังงานแก่ผู้ให้อาศัย การแบ่งเซลล์ของซูแซนเทลลี หรือลักษณะทางโมเลกุลของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane surface molecules) หรือสารจำเพาะบางอย่างที่เหมาะสมกับผู้ให้อาศัยที่อยู่ เป็นต้น (Davy et al., 2012)



รูปที่ 23 ซูแซนเทลลีภายใน zooxanthellal tube ที่ทอดยาวจากส่วนของกระเพาะอาหาร ไปยัง ส่วนของแมนเทิล (เส้นประสีขาว = ทิศทางของท่อที่ลำเลียงซูแซนเทลลี, ST = กระเพาะอาหาร, ZT = zooxanthellal tube)



รูปที่ 24 ซูแซนเทลลีภายในมูลของหอยมือเสือ, A คือลักษณะของมูลหอยมือเสือ (pseudofeces) ถูกปล่อยออกมาทาง exhalant siphon ที่มีซูแซนเทลลีเสื่อมสภาพหรือไม่สมบูรณ์อยู่ภายใน, B คือซูแซนเทลลีจากมูลของหอยมือเสือ ถ่ายด้วยกล้องกำลังขยายสูง และ C คือภาพของซูแซนเทลลีภายในมูล จาก Maruyama and Heslinga (1997) พบว่ามีทั้งเซลล์ที่กำลังแบ่งเซลล์ (→) และเซลล์ที่ถูกย่อย (*) สภาพไม่สมบูรณ์รวมถึงเศษขยะต่างๆ

ในการเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ สามารถสังเกตได้จากบริเวณขอบของแมนเทิลมี
 ชูแซนเทลลีที่แบ่งเซลล์ และเติบโตอยู่บริเวณเนื้อเยื่อแมนเทิลของลูกหอยมือเสือชัดเจนจนเป็นสี
 น้ำตาลเข้ม เกิดจากท่อลำเลียงชูแซนเทลลี (zooxanthellal tube) ที่กล่าวไปข้างต้นเติบโตและ
 กระจายตัวเป็นลักษณะคล้ายร่างแหครอบคลุมจนทั่วเนื้อเยื่อแมนเทิลและนำชูแซนเทลลีจากกระเพาะ
 อาหารไปยังบริเวณแมนเทิลเพื่อรับแสง ทำให้ลูกหอยมือเสือในระยะนี้สามารถใช้ประโยชน์จาก
 ชูแซนเทลลีในแง่ของการเป็นแหล่งพลังงานจากการสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ
 ลูกหอยมือเสือในระยะนี้จึงเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และเข้าสู่ระยะ metamorphosis หรือ settle
 ซึ่งรูปร่างลักษณะของลูกหอยมือเสือจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย เห็นส่วนของ siphon ชัดเจนขึ้น และอยู่กับ
 พื้นไม่มีการว่ายน้ำ แต่อาจเคลื่อนที่บ้างเล็กน้อยเพื่อเข้าหาแสงโดนใช้เท้าและการขยับเปลือกในการ
 เคลื่อนที่

Lucas (1994) พบว่าลูกหอยมือเสือมีการสร้างเส้นใย byssus ไว้สำหรับยึดเกาะพื้น สำคัญ
 มากในการทรงตัวเพื่อรับแสงของลูกหอยมือเสือ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าลูกหอยมือเสียมักจะมีการ
 เคลื่อนที่ในตอนกลางคืนมากกว่าตอนกลางวันโดยจะสละ byssus เก่าทิ้งและสร้างใหม่ มักจะเคลื่อน
 ที่มาเกาะกลุ่มกัน ในการศึกษาครั้งนี้ต้องพยายามจับแยกเพื่อให้ลูกหอยมือเสือแต่ละตัวได้รับแสง
 เท่ากันและไม่เบียดกันเพราะจะทำให้ลูกหอยมือเสือตัวที่ถูกตัวอื่นทับไม่ได้รับแสงเพียงพอ Huang et
 al. (2007) พบว่าพฤติกรรมดังกล่าวเกิดจากสื่อทางเคมีของลูกหอยมือเสียด้วยกัน โดยจะเข้าหาและ
 รวมตัวกันเพื่อหลีกเลี่ยงและป้องกันตัวจากการถูกล่า และหาพื้นที่ที่มีการไหลของกระแสน้ำ พฤติกรรม
 ดังกล่าวมีผลดีในแง่ของการขยายพันธุ์ เมื่อเวลาผ่านไปเปลือกของลูกหอยมือเสือจะแข็งแรง และมี
 การเปลี่ยนแปลงจนคล้ายกับหอยมือเสือตัวเต็มวัยเรียกระยะนี้ว่า juvenile ภายใน 2-2.5 ปี ลูกหอย
 มือเสือจะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (adult) พลังงานส่วนใหญ่ที่ใช้ในการดำรงชีวิตสามารถแบ่งได้ 4 ส่วน
 หลักๆ ดังนี้

- (1) พลังงานจากการสังเคราะห์แสงของชูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ในแมนเทิล
- (2) พลังงานจากการย่อยของชูแซนเทลลีที่หมดอายุ หรือไม่สมบูรณ์จากแมนเทิล
- (3) พลังงานจากการกรองกินแพลงก์ตอนภายในมวลน้ำ
- (4) พลังงานจากการได้รับอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร หรือสารแขวนลอยต่างๆ
 จากมวลน้ำ

5.5 ชูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าในบรรดาชูแซนเทลลีจากแหล่งที่มาที่หลากหลาย ไม่สามารถยืนยันได้ว่าชูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดใดที่เหมาะสมที่สุดตลอดช่วงชีวิตของหอยมือเสือ แต่สามารถบ่งชี้ให้เห็นว่าชูแซนเทลลีที่มีขนาด รูปแบบลักษณะ หรือค่าการเติบโตจำเพาะแบบใดเหมาะสมกับลูกหอยมือเสือในช่วงอายุไหน หรือเหมาะสมตามสิ่งแวดล้อมที่ลูกหอยมือเสือนำมาอาศัยอยู่อย่างไร ดังนั้นหอยมือเสือ และปะการัง รวมถึงผู้ให้อาศัย (host) ทุกชนิดที่ใช้ประโยชน์จากชูแซนเทลลี จำเป็นต้องค้นหาและคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมตามเหตุการณ์หรือช่วงเวลานั้นๆ เพื่อเพิ่มความหลากหลายของชูแซนเทลลีภายในตัว หากผู้ให้อาศัยมีความหลากหลายของชูแซนเทลลีภายในตัวมาก จะทำให้ผู้ให้อาศัยสามารถดำรงชีวิตและปรับตัวต่อสภาพสิ่งแวดล้อมที่แปรปรวนได้หลากหลายขึ้น (Rowan et al., 1997)

ยกตัวอย่างปรากฏการณ์ฟอกขาวเป็นปรากฏการณ์หนึ่งที่ทำให้ผู้ให้อาศัยมีโอกาสแลกเปลี่ยนชูแซนเทลลีกับสิ่งแวดล้อม เช่นเดียวกับปะการัง หอยมือเสือเมื่อมีการเกิดภาวะฟอกขาว ปัจจัยหลักเกิดจากอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลัน และเป็นเวลานาน เป็นผลให้ชูแซนเทลลีบางส่วนถูกขับออกจากเนื้อเยื่อของหอยมือเสือ และเมื่อสิ่งแวดล้อมเข้าสู่สภาวะปกติหอยมือเสือจะรับชูแซนเทลลีกลับเข้ามา ในขณะที่เดียวกันชูแซนเทลลีที่ยังเหลืออยู่ภายในเนื้อเยื่อจะเติบโตและเพิ่มจำนวนกลับมาใหม่ ทำให้มีสีส้มเช่นเดิม จากการศึกษาและรวบรวมข้อมูล Biquand et al. (2017) พบว่าการฟอกขาวเป็นการเปิดโอกาสเพื่อรับชูแซนเทลลีจากภายนอกเข้าไปภายในตัวทำให้มีความหลากหลายของชูแซนเทลลี เป็นผลดีแก่ตัวหอยมือเสือ ชูแซนเทลลีที่มีขนาดเล็กจะมีโอกาสเข้าถึงผู้ให้อาศัยได้มากกว่าชูแซนเทลลีที่มีขนาดใหญ่ แต่ในระยะยาวเมื่อสภาพแวดล้อมกลับมาเป็นปกติ ผู้ให้อาศัยก็จะรับชูแซนเทลลีที่เหมาะสมเข้ามา ซึ่งอาจจะมีความแตกต่างจากเดิม ดังนั้นแม้ชูแซนเทลลีขนาดเล็กจะเข้าสู่ผู้ให้อาศัยได้รวดเร็ว แต่อาจเกิดภาวะอิงอาศัยได้แค่ระยะเวลานั้นๆ ยกเว้นชูแซนเทลลีดังกล่าวสามารถปรับตัวตามความต้องการของผู้ให้อาศัยได้ นอกจากนี้การศึกษาของ กมลพร (2556) พบว่าชูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเลสามารถทนร้อนในช่วงอุณหภูมิ 30-33 องศาเซลเซียส จากการศึกษาครั้งนี้ ชูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล มีขนาดปานกลาง และยังเติบโตได้รวดเร็วเมื่อเทียบกับผู้ให้อาศัยชนิดอื่น มีผลดีต่อหอยมือเสือ หรือสิ่งมีชีวิตไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น ที่จำเป็นต้องใช้ประโยชน์จากชูแซนเทลลีที่ได้รับผลกระทบจากปะการังฟอกขาว มีความต้องการเซลล์ของชูแซนเทลลีที่มีลักษณะการเติบโตที่รวดเร็วและมีขนาดพอเหมาะเพื่อทดแทนชูแซนเทลลีที่สูญเสียไปก่อนหน้านี้

5.6 คุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ

ในการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ นอกจากอาหารที่ให้ในช่วงระยะวัยน้ำและแสงสว่างแล้ว คุณภาพน้ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญเช่นกัน มีผลต่ออัตราการรอด อัตราการเติบโต และการพัฒนาการ จากการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ พบว่าคุณภาพน้ำที่เหมาะสมควรมีลักษณะใกล้เคียงกับคุณภาพน้ำบริเวณแนวปะการังเขตร้อน ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของหอยมือเสือ คือต้องมีอุณหภูมิและแคลเซียมที่ละลายอยู่ในน้ำค่อนข้างสูง มีปริมาณของสารอาหารน้อย (Miguel Mies et al., 2017) เมื่อเปรียบเทียบกับคุณภาพน้ำในการศึกษาครั้งนี้กับงานวิจัยอื่นๆ พบว่าอุณหภูมิ ความเค็ม pH รวมไปถึง แอมโมเนียที่ละลายน้ำมีค่าที่ใกล้เคียงกัน Neo et al. (2013) พบว่าอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อการพัฒนาการของลูกหอยมือเสือในระยะวัยน้ำพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสืออยู่ในช่วง 29.5 องศาเซลเซียสซึ่งทำให้การพัฒนาของไข่เข้าสู่ระยะ trochophore รวดเร็วกว่าและยังมีอัตราการรอดมากกว่าช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่า ในส่วนของความเค็มที่เหมาะสมพบว่าในช่วง 27-30 psu ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องของเวลาในการพัฒนาการและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ นอกจากนี้ค่าแอมโมเนียที่ละลายในน้ำตามมาตรฐานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งไม่ควรเกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้จากการทดลองของ Ip et al. (2006) พบว่าหอยมือเสือสามารถใช้ประโยชน์จากแอมโมเนียภายในมวลน้ำได้ เมื่อมีแอมโมเนียมากขึ้นหอยมือเสือจะส่งผ่านแอมโมเนียไปยังเนื้อเยื่อแมนเทิลเพื่อเปลี่ยนเป็นโปรตีนที่เรียกว่า กลูตามีน (glutamine) มีประโยชน์ช่วยเพิ่มขนาดเซลล์กล้ามเนื้อ และมีส่วนสร้างฮอร์โมนเจริญเติบโต (growth hormone) นอกจากนี้ซูแซนเทลลียังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเติบโตของเซลล์ได้อีกด้วย

ค่า pH มีผลต่อความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลควรในช่วง 7.0-8.5 มีผลต่ออัตราการรอดและการสร้างเปลือกของลูกหอยมือเสือ จากการศึกษาพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 8.35-8.50 ซึ่งถือว่าอยู่ในช่วงปกติ สามารถใช้เลี้ยงหอยมือเสือได้ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของ pH ในน้ำทะเลขึ้นอยู่กับค่าอัลคาไลน์ตี หรือค่าความเป็นด่างของน้ำที่ในน้ำทะเลมีค่าค่อนข้างสูง ดังนั้น pH ในน้ำทะเลจึงไม่เปลี่ยนแปลงมากนักในสภาวะปกติ โดยค่าอัลคาไลน์ตีของการทดลองนี้อยู่ที่ 120-140 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าต่ำกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบจากการทดลองอื่นที่ใช้ น้ำทะเลบริเวณใกล้ฝั่ง การใช้น้ำทะเลบริเวณใกล้ฝั่งที่มีค่าอัลคาไลน์ตีต่ำกว่า โดยที่ค่าอัลคาไลน์ตีมีผลต่อการสะสมแคลเซียมภายในเปลือกหอย หากมีค่าน้อยทำให้การสะสมแคลเซียมในเปลือกหอยทำได้ช้าและมีเปลือกเปราะบางส่งผลต่ออัตราการรอดของลูกหอยมือเสือที่เพาะเลี้ยงได้

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยมือเสือ (*Tridacna* spp.) ระหว่างงานทดลองนี้ และแหล่งที่มาอื่นๆ

ที่มาของข้อมูล		งานวิจัยนี้	Miguel Mies et al. (2017)	Ellis (1997)	Jintana et al. (1996)
คุณภาพน้ำ	อุณหภูมิ (°C)	28-30	26.5-27.5	25-29	27-29
	ความเค็ม (psu)	33-35	34-35	32-35	33-34
	pH	8.35-8.50	8.30-8.40	8.10-8.50	8.30-8.40
	อัลคาไลนิตี (mg/L)	120-140	160-180	-	-
	แอมโมเนีย (mg/L)	0.01-0.05	< 0.05	<0.05	0.01-0.05



บทที่ 6

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ใช้ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล, ปะการังเขากวาง, ปะการังรังผึ้ง, ปะการังเห็ด และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือในการใช้เพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือตั้งแต่ระยะ veliger จนกระทั่งเกิดภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ และติดตามจนลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะ juvenile พบว่าซูแซนเทลลีที่มาจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ มีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ตามช่วงอายุ หรือตามการพัฒนาการของลูกหอยมือเสือ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงหอยมือเสือในการศึกษานี้ได้แก่ซูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือ และซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาขั้นต้นเพื่อคัดเลือกซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างๆ ที่เหมาะสมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือเพื่อให้ได้อัตรการรอด และอัตราการเติบโตสูง มีการพัฒนาการ และการเกิดภาวะอิงอาศัยที่รวดเร็วขึ้น จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าขนาดเซลล์ และอัตราการเติบโตจำเพาะ รวมถึงลักษณะ และพฤติกรรมของซูแซนเทลลีมีผลทำให้ได้ผลผลิตของลูกหอยมือเสือที่แตกต่างกัน แต่ปัจจัยดังกล่าวอาจไม่ใช่ปัจจัยทั้งหมดที่กำหนดผลผลิตของลูกหอยมือเสือ จึงควรศึกษาข้อมูลลงลึกถึงองค์ความรู้ทางด้านพันธุกรรมเพื่อมาประกอบกับข้อมูลข้างต้น เพื่อให้มีความชัดเจนมากขึ้น

รายการอ้างอิง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รายการอ้างอิง

- กมลพร พัฒนศิริ. 2556. ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของ zooxanthellae ที่แยกจากปะการังและดอกไม้ทะเล. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช. 2546. บัญชีสัตว์สงวนและคุ้มครอง ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535. [ออนไลน์]. <http://www.dnp.go.th/Provide/prohibitwildlife.htm> [10 มกราคม 2556]
- จินตนา นักระนาด. 2543. หอยมือเสือ : จากโรงเพาะฟักคือสู่ท้องทะเล. กรุงเทพมหานคร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- Bin Othman, A. S., Goh, G. H., & Todd, P. A. (2010). The distribution and status of giant clams (family Tridacnidae)-a short review. *Raffles Bull Zool*, 58(1), 103-111.
- Biquand, E., Okubo, N., Aihara, Y., Rolland, V., Hayward, D. C., Hatta, M., . . . Takahashi, S. (2017). Acceptable symbiont cell size differs among cnidarian species and may limit symbiont diversity. *The ISME journal*, 11(7), 1702.
- Brierley, A. S., & Kingsford, M. J. (2009). Impacts of climate change on marine organisms and ecosystems. *Current biology*, 19(14), R602-R614.
- Coffroth, M. A., & Santos, S. R. (2005). Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus Symbiodinium. *Protist*, 156(1), 19-34.
- Davy, S. K., Allemand, D., & Weis, V. M. (2012). Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(2), 229-261.
- Domotor, S. L., & D'elia, C. F. (1986). Cell-size distributions of zooxanthellae in culture and symbiosis. *The Biological Bulletin*, 170(3), 519-525.
- Ellis, S. (1997). Spawning and early larval rearing of giant clams (Bivalvia: Tridacnidae): Center for Tropical and Subtropical Aquaculture.
- Fitt, W. K., Fisher, C. R., & Trench, R. K. (1984). Larval biology of tridacnid clams. *Aquaculture*, 39(1-4), 181-195.
- Fitt, W. K., Fisher, C. R., & Trench, R. K. (1986). Contribution of the symbiotic dinoflagellate Symbiodinium microadriaticum to the nutrition, growth and survival of larval and juvenile tridacnid clams. *Aquaculture*, 55(1), 5-22.

- Fitt, W. K., & Trench, R. K. (1981). Spawning, development, and acquisition of zooxanthellae by *Tridacna squamosa* (Mollusca, Bivalvia). The Biological Bulletin, 161(2), 213-235.
- Gifford, S., Dunstan, R., O'Connor, W., Roberts, T., & Toia, R. (2004). Pearl aquaculture—profitable environmental remediation. Science of the total environment, 319(1), 27-37.
- Guillard, R. (1973). Methods for microflagellates and nannoplakton. Handbook of phycological methods-culture methods and growth measurements. Cambridge Univ. Press, NY.
- Heslinga, G. A., Perron, F. E., & Orak, O. (1984). Mass culture of giant clams (F. Tridacnidae) in Palau. Aquaculture, 39(1-4), 197-215.
- Heslinga, G. A., Watson, T. C., & Isamu, T. (1990). Giant clam farming: Pacific Fisheries Development Foundation.
- Hinde, R. (1987). Symbioses between aquatic invertebrates and algae. International Journal for Parasitology, 17(2), 383-390.
- Hirose, E., Iwai, K., & Maruyama, T. (2006). Establishment of the photosymbiosis in the early ontogeny of three giant clams. Marine Biology, 148(3), 551-558.
- Huang, D., Todd, P. A., & Guest, J. R. (2007). Movement and aggregation in the fluted giant clam (*Tridacna squamosa* L.). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 342(2), 269-281.
- Ip, Y. K., Loong, A. M., Hiong, K. C., Wong, W. P., Chew, S. F., Reddy, K., . . . Ballantyne, J. S. (2006). Light induces an increase in the pH of and a decrease in the ammonia concentration in the extrapallial fluid of the giant clam *Tridacna squamosa*. Physiological and Biochemical Zoology, 79(3), 656-664.
- Ishikura, M., Adachi, K., & Maruyama, T. (1999). Zooxanthellae release glucose in the tissue of a giant clam, *Tridacna crocea*. Marine Biology, 133(4), 665-673.
- Jameson, S. C. (1976). Early life history of the giant clams *Tridacna crocea* Lamarck, *Tridacna maxima* (Roding), and *Hippopus hippopus* (Linnaeus).

- Junchompoo, C., Sinrapasan, N., Penpian, C., & Patsorn, P. (2013). Changing seawater temperature effects on giant clams bleaching, Mannai Island, Rayong province, Thailand.
- Klumpp, D., Bayne, B., & Hawkins, A. (1992). Nutrition of the giant clam *Tridacna gigas* (L.) I. Contribution of filter feeding and photosynthates to respiration and growth. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 155(1), 105-122.
- Lucas. (1988). Giant clams: description, distribution and life history. Giant clams in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph, 9(274), 21-33.
- Lucas. (1994). The biology, exploitation, and mariculture of giant clams (Tridacnidae). Reviews in Fisheries science, 2(3), 181-223.
- Maruyama, T., & Heslinga, G. (1997). Fecal discharge of zooxanthellae in the giant clam *Tridacna derasa*, with reference to their in situ growth rate. Marine Biology, 127(3), 473-477.
- Mies, M., Chaves-Filho, A., Miyamoto, S., Güth, A., Tenório, A., Castro, C. Sumida, P. (2017). Production of three symbiosis-related fatty acids by Symbiodinium types in clades A–F associated with marine invertebrate larvae. Coral reefs, 36(4), 1319-1328.
- Mies, M., Van Sluys, M., Metcalfe, C., & Sumida, P. (2017). Molecular evidence of symbiotic activity between Symbiodinium and *Tridacna maxima* larvae. Symbiosis, 72(1), 13-22.
- Mingoa-Licuanan, S. S., & Gomez, E. D. (2007). Giant clam hatchery, ocean nursery and stock enhancement: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Muscatine, L. (1967). Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and *Tridacna* and its control by the host. Science, 156(3774), 516-519.

- Neo, Todd, P., Teo, S., & Chou, L. (2013). The effects of diet, temperature and salinity on survival of larvae of the fluted giant clam, *Tridacna squamosa*. J Conch, 4, 369-376.
- Neo, M. L., Eckman, W., Vicentuan, K., Teo, S., & Todd, P. (2015). The ecological significance of giant clams in coral reef ecosystems. Biological Conservation, 181, 111-123.
- Norton, J. H., & Jones, G. W. (1992). The giant clam: an anatomical and histological atlas. The giant clam: an anatomical and histological atlas.
- Nugranad, J., Traithong, T., Poomtong, P., & Sahavacharin, S. (1996). Hatchery seed production of the fluted giant clam (*Tridacna squamosa* Lamarck, 1819) and ocean nursery of the juveniles for restocking in Koh Tao, Thailand. Paper presented at the Proc. 7th Workshop Tropical Marine Mollusk Program (TMMP) on Central and West Java, Indonesia.
- Ostroumov, S. (1998). Biological filtering and ecological machinery for self-purification and bioremediation in aquatic ecosystems: towards a holistic view. Paper presented at the Rivista di Biologia/Biology Forum.
- Rowan, R., Knowlton, N., Baker, A., & Jara, J. (1997). Landscape ecology of algal symbionts creates variation in episodes of coral bleaching. Nature, 388(6639), 265.
- Schatz, O., Golenser, E., & Ben-Arie, N. (2005). Clearing and photography of whole mount X-gal stained mouse embryos. Biotechniques, 39(5), 650.
- Schoenberg, D., & Trench, R. (1980). Genetic variation in *Symbiodinium* (= *Gymnodinium*) *microadriaticum* Freudenthal, and specificity in its symbiosis with marine invertebrates. I. Isoenzyme and soluble protein patterns of axenic cultures of *Symbiodinium microadriaticum*. Proc. R. Soc. Lond. B, 207(1169), 405-427.
- Singh, N. K., & Azam, K. (2013). Comparative study of available spawning methods of the giant clam *Tridacna squamosa* [Bivalvia: Tridacnidae] in Makogai, Fiji. World Journal of Fish and Marine Sciences, 5(3), 353-357.
- Soo, P., Soo, E., & Todd, P. (2011). An insight into the giant clam trade in Singapore. Innov Mag, 10, 28-31.

- Stephenson, A. (1934). The Breeding of Reef Animals. Part II: Invertebrates Other Than Corals: Bristish Museum.
- Tan, B., Mai, K., & Liufu, Z. (2001). Response of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai*, to dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio. Aquaculture, 198(1-2), 141-158.
- Thamrongnavasawat, T., Saisaeng, A., Sittthaweeapat, N., Limviriyakul, P., Woorachanant, S., & Patimanukasem, O. (2001). Survey report in Mu Ko Surin Marine National Park Area presented to UNESCO project. URL: [www. talaythai. Com/English/unesco/index. php3](http://www.talaythai.com/English/unesco/index.php3).
- Trench, R., Wethey, D., & Porter, J. (1981). Observations on the symbiosis with zooxanthellae among the Tridacnidae (Mollusca, Bivalvia). The Biological Bulletin, 161(1), 180-198.
- Wakefield, T. S., Farmer, M. A., & Kempf, S. C. (2000). Revised description of the fine structure of in situ" zooxanthellae" genus *Symbiodinium*. The Biological Bulletin, 199(1), 76-84.
- Watson, S.-A., Southgate, P. C., Miller, G. M., Moorhead, J. A., & Knauer, J. (2012). Ocean acidification and warming reduce juvenile survival of the fluted giant clam, *Tridacna squamosa*. Molluscan Research, 32, 177-180.
- Wilkerson, F., Kobayashi, D., & Muscatine, L. (1988). Mitotic index and size of symbiotic algae in Caribbean reef corals. Coral reefs, 7(1), 29-36.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายเสฐียรพงษ์ เกียงสุภา เกิดเมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม 2534 จังหวัดชุมพร สำเร็จ การศึกษาระดับมัธยมปลายที่โรงเรียนศรีอยุธยา อำเภอมือง จังหวัดชุมพร สำเร็จการศึกษาระดับ ปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการทรัพยากรทางทะเลและ ชายฝั่ง สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์และทรัพยากร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และเข้าศึกษาต่อใน ระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

เสฐียรพงษ์ เกียงสุภา, ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และอิงอร ทองคำดี ในหัวข้อ “การ ใช้ประโยชน์จากเจ้าบ้านต่างชนิดต่อการพัฒนาการของหอยมือเสือวัยอ่อน (*Tridacna squamosa*) การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 8 “ทรัพยากรไทย : ศักยภาพมากล้นมีให้เห็น” ณ ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดสระบุรี ระหว่างวันที่ 29 พฤศจิกายน – 1 ธันวาคม พ.ศ. 2560 (ภาคบรรยาย)

เสฐียรพงษ์ เกียงสุภา, ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และอิงอร ทองคำดี หัวข้อ “การ ใช้ซูแซนเทลลีในการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ *Tridacna squamosa* วัยอ่อน” งานประชุมวิชาการ อนุกรมวิธานและซิสเทมาติกส์ในประเทศไทย ครั้งที่ 7 ภายใต้หัวข้อเรื่อง “วิถีพอเพียงเพื่อการ อนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพอย่างยั่งยืน” ณ โรงแรมเจ้าพระยาปาร์ค กรุงเทพมหานคร ระหว่างวันที่ 26-28 มิถุนายน 2560 (ภาคนิทรรศน์)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY