รายงานการวิจัย
ประจำปีงบประมาณ 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การแยกและเลี้ยง zooxanthellae สำหรับตัวอ่อนปะการังและหอยมือเสือ

Isolation and cultivation of zooxanthellae for coral and giant clam larvae

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นาวาโทอัศวิน คงประเสริฐ และนาวาตรีพุทธิพิพัฒน์ ศรีจันทร์บุญ
กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ

ปีที่แล้วเสร็จ

พุทธศักราช 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี รวมทั้ง หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ และศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา และหน่วยยานพาหนะและซ่อมบำรุง คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

ซูแซนเทลลี (*Symbiodinium microdriaticum*) มีความสำคัญและจำเป็น ต่อการพัฒนาการและการเติบโตของลูกหอยมือเสือวัยอ่อน จึงสนใจทาการศึกษาอัตราการรอด อัตราการเติบโต การพัฒนาการ และการเกิดภาวะอิงอาศัยในหอยมือเสือ เพื่อคัดเลือกซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) โดยให้ลูกหอยมือเสือกรองกินซูแซนเทลลีที่แยกเลี้ยงแบบสายพันธุ์เดี่ยวจากดอกไม้ทะเล ปะการังเขากวาง ปะการังรังผึ้ง ปะการังดอกเห็ด และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ การศึกษาในระยะว่ายน้าพบว่าลูกหอยมือเสือที่กรองกินซูแซนเทลลีจากปะการังเขากวางให้อัตราการรอดมากที่สุด ขณะที่อัตราการเติบโตสูงที่สุดพบในชุดการทดลองที่ลูกหอยได้กรองกินซูแซนเทลลีจากแมนเทิลของหอยมือเสือ การพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger พบว่าลูกหอยที่กรองกินซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้งใช้เวลาเร็วที่สุด การเกิดภาวะอิงอาศัยในทุกชุดการทดลอง นั้นใช้เวลา 12-14 วัน การศึกษาในระยะลงเกาะพบว่า ลูกหอยที่กรองกินซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ มีอัตราการรอดมากที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และลูกหอยพัฒนาเข้าสู่ระยะ juvenile ได้เร็วที่สุด นอกจากนี้พบว่าลูกหอยที่กรองกินซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง และดอกไม้ทะเลมีอัตราการเติบโตในช่วงลงเกาะได้มากที่สุด การศึกษานี้สรุปได้ว่าลูกหอยมือเสือตอบสนองต่อซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างชนิดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาการ และซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ คือ ซูแซนเทลลีจากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือและปะการังรังผึ้ง เนื่องจากส่งผลให้ลูกหอยมือเสือมีอัตราการรอด อัตราการเติบโตสูง เกิดภาวะอิงอาศัยและการพัฒนาการที่รวดเร็ว สำหรับการศึกษาในปะการัง ไม่สามารถทำการศึกษาได้เนื่องจากตัวอ่อนปะการังน้อยและไม่แข็งแรง

คำสำคัญ ซูแซนเทลลี ปะการัง ตัวอ่อนหอยมือเสือ

Abstract

Zooxanthellae (*Symbiodinium microadriaticum*) are 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 has 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. As for the study in coral, we could not conduct the experiments because of the rare and unhealthy larvae.

Keywords : zooxanthellae, coral and giant clam larvae

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ
บทคัดย่อภาษาไทย
สารบัญเรื่อง
สารบัญตาราง
สารบัญรูป

บทนำ	1
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องความสำคัญและที่มาของปัญหา	3
วัตถุประสงค์	7
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	7
วิธีดำเนินการศึกษา	8
ผลการศึกษา	14
อภิปรายผลการศึกษา	20
สรุปผลการศึกษา	24
รายการเอกสารอ้างอิง	26

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 อัตราการรอด และจำนวนของลูกหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน 15
ตารางที่ 2 อัตราการรอด และจำนวนตัวหอย คิดจากจำนวนเฉลี่ยของหอยมือเสือที่เหลือ
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน 16
ตารางที่ 3 อัตราการเติบโตจำเพาะโดยความยาวเปลือก (% ต่อ วัน) 17
ตารางที่ 4 ระยะของการเกิดภาวะอิงอาศัย (วัน) ในแต่ละชุดการทดลอง
(AL I = alimentary I, AL II = alimentary II, M = mantle) 18
ตารางที่ 5 พัฒนาการของลูกหอยมือเสือในระยะต่างๆ (วัน) ในแต่ละชุดการทดลอง
(FE = fertilized egg, TP = trochophore, VG = veliger, DS = D-shape veliger,
UM = umbo veliger, PV = pediveliger, MP = metamorphosis, JV = juvenile) 19
ตารางที่ 6 สรุปผลของซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ
(จำนวน ★ บอกถึงความเหมาะสมของซูแซนเทลลีแต่ละแหล่งที่มา) 25

สารบัญรูป

รูปที่ 1 ปะการัง ดอกไม้ทะเล และ หอยมือเสือ ที่มีซูแซนเทลลีร่วมอาศัย (ตัวอย่างจากเกาะโรงโขนโรงหนัง จังหวัดชลบุรี) 1

รูปที่ 2 ลักษณะของเซลล์ซูแซนเทลลี (A) coccoid form , (B) gymnodinoid form 2

รูปที่ 3 zooxanthellae ที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis* 3

รูปที่ 4 zooxanthellae ที่อยู่ภายในไข่ของปะการัง(Hirose et al.,2000) 4

รูปที่ 5 zooxanthellal tube ที่ปรากฏในตัวของลูกหอยมือเสือมีลักษณะเป็นท่อเส้นยาว (Hirose, Iwai, and Maruyama, 2006) (st = กระเพาะอาหาร, ลูกศรสีดำแสดงแนวของ zooxanthellal tube จากกระเพาะอาหารไปยังเนื้อเยื่อแมนเทิล) 6

รูปที่ 6 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างซูแซนเทลลีจากสิ่งมีชีวิตบริเวณเกาะปลาหมึก หมู่เกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี 8

รูปที่ 7 การเลี้ยงซูแซนเทลลีสำหรับใช้ในการวิจัย 9

รูปที่ 8 ถังสำหรับเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ อายุ 3-14 วัน (A) และ ถังที่ใช้เลี้ยงหอยอายุ 14-70 วัน (B) ซึ่งจะมีแผ่นปูนผสมทรายรองไว้สำหรับลูกหอยมือเสือลงเกาะ 10

รูปที่ 9 ถังอนุบาลลูกหอยในในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร (A) และ ไม้สำหรับกวนให้ไข่กับน้ำเชื้อผสมกัน (B) 10

รูปที่ 10 แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะว่ายน้ำ ตั้งแต่ระยะ veliger พัฒนาสู่ระยะ pediveliger 11

รูปที่ 11 แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะลงเกาะ ตั้งแต่ระยะ pediveliger พัฒนาสู่ระยะ juvenile 12

รูปที่ 12 การพัฒนาการของหอยมือเสือตั้งแต่ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (fertilized egg) จนถึงระยะตัวเต็มวัย (adult) 14

รูปที่ 13 จำนวนของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วันเมื่ออนุบาลลูกหอยมือเสือจนถึงอายุ 74 วัน 15

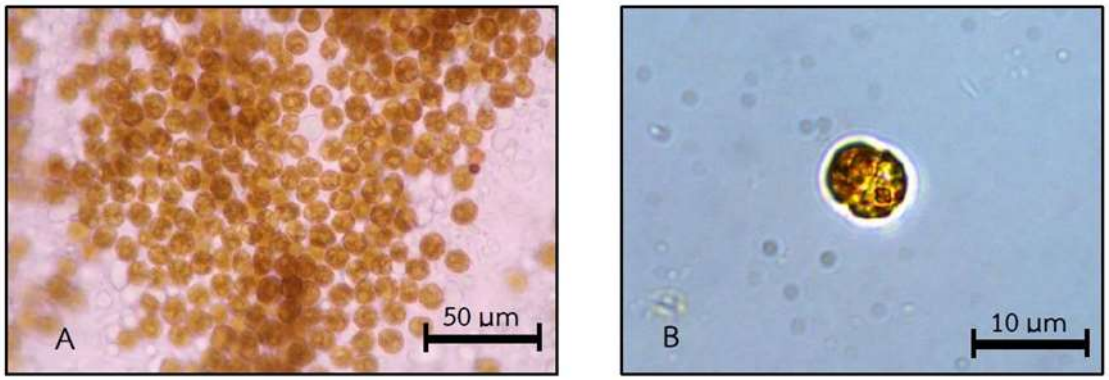
รูปที่ 14 จำนวนตัวของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน 16

รูปที่ 15 ซูแซนเทลลีที่อยู่ภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยระยะ veliger โดย SW คือผนังของกระเพาะอาหาร A คือเซลล์สีเข้มจะเป็นเซลล์ที่ค่อนข้างสมบูรณ์มีส่วนของนิวเคลียส (n) และองค์ประกอบอื่นๆ ชัดเจน ส่วนของ B, C, D และ E คือเซลล์ที่ผ่านการย่อยแล้ว พบว่าภายในเซลล์มีสีซีด และรูปร่างของผนังเซลล์ไม่สมบูรณ์ (Hirose et al., 2006) 20

บทนำ

สัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังในแนวปะการังหลายชนิด(รูปที่ 1) มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กซูแซนเทลลี่(zooxanthellae) (รูปที่ 2) โดยมีรูปแบบความสัมพันธ์ประเภทที่ได้รับประโยชน์ด้วยกันทั้งสองฝ่าย ซูแซนเทลลีที่ร่วมอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อของเจ้าบ้าน(host) จะปลอดภัยเมื่ออยู่ในร่างกายของเจ้าบ้านและจะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์และธาตุอาหารจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเจ้าบ้าน ได้ผลผลิตเป็นออกซิเจนและสารอาหารเพื่อการเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ของซูแซนเทลลี่เอง และส่งผ่านผลผลิตที่ได้ให้แก่เจ้าบ้านเพื่อใช้การเติบโต

รูปที่ 1 ปะการัง ดอกไม้ทะเล และ หอยมือเสือ ที่มีซูแซนเทลลีร่วมอาศัย
(ตัวอย่างจากเกาะโรงโขนโรงหนัง จังหวัดชลบุรี)



รูปที่ 2 ลักษณะของเซลล์ซูแซนเทลลี (A) coccoid form , (B) gymnodinoid form

การหมุนเวียนแลกเปลี่ยนสารอาหารซึ่งกันและกันดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพสูงมาก ทำให้สิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดสามารถอยู่ด้วยกันได้แม้มวลน้ำภายนอกจะมีธาตุอาหารต่ำ ในกรณีของปะการังพบว่ามากกว่าร้อยละ 90 ของสารอาหารและพลังงานที่ปะการังต้องการ จะได้รับจากซูแซนเทลลี่(Trench, 1979) ; Muscatine and Porter, 1977)

ปกติซูแซนเทลลี่ที่อยู่ในมวลน้ำจะถูกสิ่งมีชีวิตอื่นกรองกิน และโดยธรรมชาติซูแซนเทลลี่จะต้องเข้าไปอาศัยกับเจ้าบ้านให้เร็วที่สุดเพื่อความปลอดภัย ดังนั้นน้ำทะเลในแนวปะการังจึงพบซูแซนเทลลี่มีความหนาแน่นต่ำ ในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด เช่น ปะการัง ดอกไม้ทะเล และหอยมือเสือ พบว่าซูแซนเทลลี่จะเข้าร่วมอาศัยในร่างกายของเจ้าบ้านดังกล่าวตั้งแต่ในวัยอ่อนระยะที่เป็นแพลงก์ตอน แต่ในเจ้าบ้านบางชนิดซูแซนเทลลี่จะเข้าไปอยู่ในไข่ก่อนหน้าที่จะเกิดปฏิสนธิ

ซูแซนเทลลี่ จึงมีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาของตัวอ่อนระยะต่างๆในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังด้วย ถ้าปราศจากซูแซนเทลลี่การพัฒนาดังกล่าวอาจจะไม่เกิดขึ้น หรือไม่อาจจะสามารถพัฒนาได้ตามปกติ และท้ายที่สุดสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังอาจจะไม่สามารถลงเกาะมีชีวิตรอดเป็นตัวเต็มวัยได้ตามปกติ ดังนั้นซูแซนเทลลี่จึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังเจ้าบ้านตั้งแต่วัยอ่อนจนโตเต็มวัย

การแยกและเพาะเลี้ยงซูแซนเทลลี่จึงเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่จะช่วยให้การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่มีซูแซนเทลลี่ร่วมอาศัยประสบความสำเร็จ สามารถเพิ่มผลผลิตสัตว์น้ำวัยอ่อน เพื่อใช้ประโยชน์ในงานอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่ได้รับผลกระทบจากปัญหาปะการังฟอกขาว จากมลพิษในทะเล จากการประมง จากการท่องเที่ยว และ จากกิจกรรมอื่นๆของมนุษย์ ได้เป็นอย่างดี

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องความสำคัญและที่มาของปัญหา

Zooxanthellae เป็นแพลงก์ตอนพืช จัดอยู่ในอนุกรมวิธานลำดับต่อไปนี้

Division Dinoflagellata

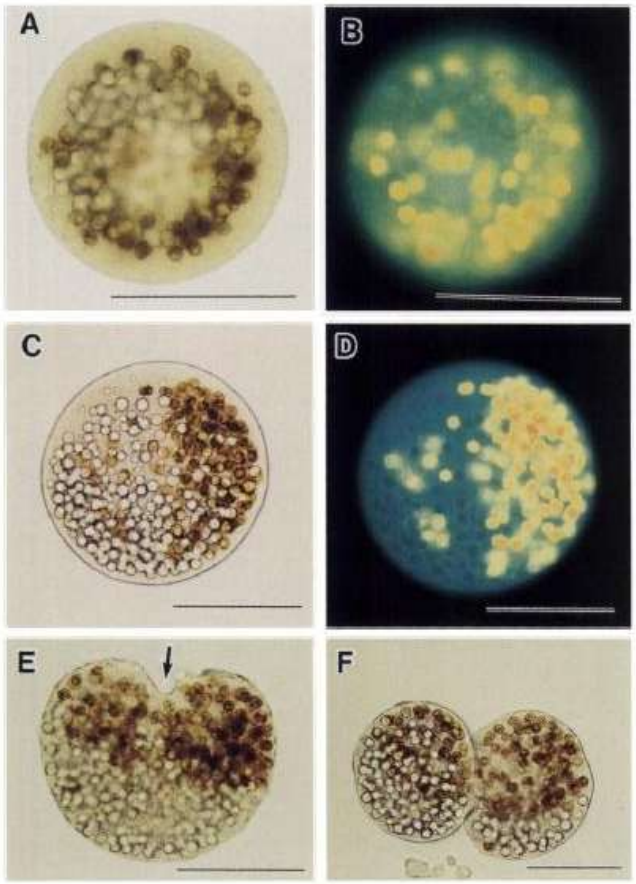
Class Dinophyceae

Order Suessiales

Family Symbiodiniaceae

Genus Symbiodinium

รูปที่ 3 zooxanthellae ที่แยกจากปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora damicornis*



Early development of *Pocillopora verrucosa:* from unfertilized egg to two-cell stage. (A) Oocyte isolated from the gonad. Zooxanthellae are distributed evenly in the cytoplasm. The germinal vesicle is at the center of the oocyte. (B) Oocyte viewed under epifluorescence (BV excitation). The red fluorescence is due to algal chlorophyll. Cytoplasm of the oocyte exhibits blue-green autofluorescence. (C) Spawned egg. Zooxanthellae are mainly located in the right hemisphere and lipid droplets in the left hemisphere. (D) The same egg, observed under epifluorescence (BV excitation). (E) First cleaving stage. Cleavage furrow (arrow) starts at the hemisphere that contains the zooxanthellae. (F) Two-cell stage. Zooxanthellae are divided equally into the two blastomeres. Bars = 100 μm.

รูปที่ 4 zooxanthellae ที่อยู่ภายในไข่ของปะการัง(Hirose et al.,2000)

Symbiodinium sp. หรือ zooxanthellae อยู่ใน Division Dinophyta (Granados et al., 2008) เป็น dinoflagellate ขนาดประมาณ 6-15 ไมโครเมตร(รูปที่ 3) มีสีน้ำตาลทองดำรงชีวิตแบบพึ่งพา(symbiosis) ในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิด (Raechel et al.,2008) เช่น ดอกไม้ทะเล ทากเปลือย หอยมือเสือ ปะการัง เป็นต้น (Venn et al., 2008) โดยจะมีลักษณะกลม ไม่เคลื่อนที่ (coccoid form) เมื่ออาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดต่างๆ และมีลักษณะเช่นเดียวกับ dinoflagellate โดยทั่วไปคือ เป็น gymnodiniod form มีการสร้าง flagella เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่เมื่ออยู่ในมวลน้ำ

Zooxanthellae ที่อาศัยแบบพึ่งพาในเนื้อเยื่อของปะการังมีบทบาทสำคัญในการดึงแคลเซียมคาร์บอเนตในมวลน้ำเพื่อให้ปะการังใช้ในการสร้างโครงร่างแข็ง ดังสมการที่แสดงต่อไปนี้

$$Ca^{2+} + 2HCO^{-} \longrightarrow Ca(HCO_3)_2 \qquad \text{(สมการที่ 1-1)}$$

จากนั้น $Ca(HCO_3)_2$ จะสลายตัวและให้ calcium carbonate และ carbon acid originate ซึ่ง calcium carbonate จากสมการนี้จะเป็นที่เป็นโครงร่างแข็งของปะการัง ดังสมการที่ 1-2

$$Ca(HCO_3)_2 \longrightarrow CaCO_3 + H_2CO_3 \qquad \text{(สมการที่ 1-2)}$$

จากนั้น carbon acid originate จะสลายตัวเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำในที่สุดดังสมการ1-3

$$H_2CO_3 \longrightarrow CO_2 + H_2O \qquad \text{(สมการที่ 1-3)}$$

นอกจากการช่วยนำแคลเซียมเพื่อใช้ในการสร้างโครงร่างแข็งแล้ว zooxanthellae ยังเป็นแหล่งสร้างอาหารที่สำคัญให้กับกลุ่มดอกไม้ทะเลและปะการังสูงถึง95 เปอร์เซ็นต์ของแหล่งอาหารทั้งหมดโดยผ่านกระบวน การสังเคราะห์แสง (Lesser M P, 2003)

Mies, Sumida, Rädecker, and Voolstra (2017) ศึกษาความสัมพันธ์ของซูแซนเทลลีและสัตว์ทะเลไม่มีกระดูสันหลังหลายชนิด สัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่จำเป็นต้องใช้ประโยชน์จากซูแซนเทลลีจะมีขั้นตอนการสร้างภาวะอิงอาศัยระหว่างซูแซนเทลลีกับผู้ให้อาศัยคล้ายๆ กันโดยแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่ (1) การรับซูแซนเทลลีเข้ามาในตัวซึ่งแบ่งได้เป็น 2 แหล่ง คือจากสิ่งแวดล้อม ทั้งในมวลน้ำหรือในดินตะกอนบริเวณที่ผู้ให้อาศัย (host) อาศัยอยู่ ส่วนใหญ่นั้นจะผ่านเข้ามาผ่านการกรองกิน เช่น ในตัวอ่อนของหอยมือเสือ ทากเปลือย เป็นต้น แหล่งถัดมาคือจากตัวของพ่อแม่ เช่น ปะการังบางชนิด (2) ซูแซนเทลลีจะเริ่มแทรกตัวเข้าไปในบริเวณเซลล์ผ่านกระบวนการ phagocytosis ของเซลล์ผู้ให้อาศัย (3) เริ่มมีการแลกเปลี่ยนแลกเปลี่ยนของเสียและสารอาหารระหว่างผู้ให้อาศัยและ ซูแซนเทลลี (4) ซูแซนเทลลีจะเริ่มแบ่งเซลล์มากขึ้นและอยู่อาศัยระยะยาวภายในเนื้อเยื่อของผู้ให้อาศัย

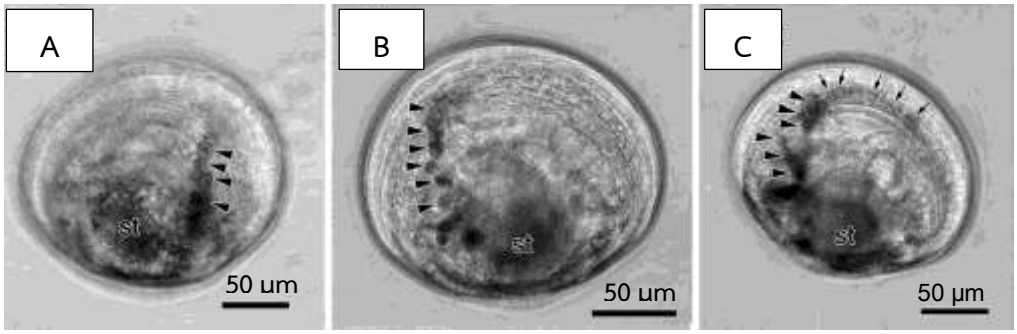
zooxanthellae เข้าสู่ปะการังได้ 2 ลักษณะด้วยกัน คือ

1.ระบบปิด หรือถ่ายทอดจากแม่สู่ลูกโดยตรง (รูปที่ 4) โดยการส่งผ่านจากไปยังไข่และสู่ตัวอ่อนในที่สุด (Hirose et al., 2000)

2.ระบบเปิด เป็นการที่ตัวอ่อนของปะการังได้รับเซลล์ zooxanthellae (รูปที่ 2 B) ที่ว่ายในมวลน้ำ (gymnodinoid cell) (Raechel et al., 2008)

สำหรับในหอยมือเสือซูแซนเทลลีจัดเป็น symbiotic algae ที่พบในเนื้อเยื่อของหอยมือเสือซึ่งจะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัย (mutualistic) กันระหว่างหอยมือเสือ และซูแซนเทลลี ในการทดลองของ Fitt et al. (1986) ที่ให้แพลงก์ตอนพืชที่มีขนาดแตกต่างกันหลายชนิดแก่ลูกหอยมือเสือชนิด *Hippopus hippopus* พบว่ามีแค่ *S. microadriaticum* เท่านั้นที่สามารถเข้าถึงส่วนของ haemal sinuses ของลูกหอย สามารถสร้าง symbiosis และสังเคราะห์แสงภายในเนื้อเยื่อของลูกหอยได้ ส่วน *Isochrysis galbana* และ *Platymonas subcordiformis*, *Amphidinium carteri* พบในทาง

เดินอาหารเช่นกันแต่ไม่พบใน haemal sinuses และไม่สร้าง symbiosis นอกจากนี้ *Amphidinium klebsii* และ *Phaeodactylum tricornutum* มีขนาดใหญ่ มีความยาวประมาณ 30 µm ไม่พบในส่วนกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือ



รูปที่ 5 zooxanthellal tube ที่ปรากฏในตัวของลูกหอยมือเสือมีลักษณะเป็นท่อเส้นยาว (Hirose, Iwai, and Maruyama, 2006) (st = กระเพาะอาหาร, ลูกศรสีดำแสดงแนวของ zooxanthellal tube จากกระเพาะอาหารไปยังเนื้อเยื่อแมนเทิล)

Hirose et al. (2006) ศึกษาการเข้าร่วมอาศัย (symbiosis) ระหว่างลูกหอยมือเสือ และซูแซนเทลลี พบว่าลูกหอยเมื่อเข้าสู่ระยะ veliger จะมีเปลือกหุ้ม สามารถว่ายน้ำและกรองกินแพลงก์ตอนพืช รวมทั้งซูแซนเทลลีที่ล่องลอยอยู่ในมวลน้ำเข้าไปในตัว ในช่วงแรกลูกหอยมือเสือจะย่อยซูแซนเทลลีที่ถูกกรองกินเข้ามาเป็นอาหาร เมื่อลูกหอยมือเสืออายุประมาณ 10 วัน จะเริ่มเข้าสู่ระยะ pediveliger จะพบท่อที่เชื่อมต่อกันระหว่างส่วนของกระเพาะอาหารกับเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลของหอยมือเสือเมื่ออายุมากขึ้น ท่อดังกล่าวจะยิ่งแตกแขนง เรียกว่า zooxanthellal tube (รูปที่ 5) สามารถคัดเลือก และนำซูแซนเทลลีจากส่วนของกระเพาะอาหาร ไปยังเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล และค่อยๆเพิ่มจำนวนและกระจายออกตามขอบของแมนเทิล เป็นการส่งสัญญาณว่าเริ่มมีการสร้าง symbiosis เช่นเดียวกับการศึกษาของ Heslinga, Perron, and Orak (1984) พบว่าเมื่อลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะ pediveliger (อายุประมาณ 7-10 วัน) เริ่มมีการสร้างเท้าขึ้นมา โดยจะว่ายน้ำสลับกับคืบคลานบนพื้น ซูแซนเทลลีจะแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนและค่อยๆเคลื่อนจากกระเพาะอาหารเข้าไปแทรกตัวอาศัยในเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิลของลูกหอย จนเกิดเข้าร่วมอาศัย (symbiosis) ที่สมบูรณ์ หลังจากนั้นลูกหอยจะเปลี่ยนการดำรงชีวิตจากการว่ายน้ำลงอาศัยบนพื้นถาวรโดยมีการสร้างเส้นใย byssus ยึดเกาะที่พื้นและหันด้านแมนเทิลเข้าหาแสง

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

เนื่องจากปะการังมีการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้นแตกต่าง แม้นในโคโลนีเดียวกันเมื่อเกิดปะการังฟอกขาวก็อาจพบบางส่วนไม่ฟอกขาว แสดงให้เห็นว่าอาจมี zooxanthellae หลายสายพันธุ์ทั้งที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงได้และที่ทนไม่ได้อาศัยอยู่ร่วมกันในก้อนปะการังเดียวกัน

ดังนั้นการเลี้ยง และคัดเลือกสายพันธุ์ zooxanthellae ทนร้อนจึงมีความสำคัญและเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงปะการังและสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกชนิดอื่นๆ ที่มี zooxanthellae เป็นผู้อิงอาศัย ซึ่งอาจสามารถนำไปใช้ในการบรรเทาผลกระทบที่เกิดจากการฟอกขาวของปะการังได้

วัตถุประสงค์

เพื่อคัดเลือก zooxanthellae สายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับตัวอ่อนปะการังและหอยมือเสือ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ zooxanthellae สายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับตัวอ่อนปะการังและหอยมือเสือ เพื่อเป็นการแก้ปัญหาหรือบรรเทาปัญหาที่เกิดจากปะการังฟอกขาว

ขอบเขตการวิจัย

ทำการศึกษา zooxanthellae เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ทนร้อนที่ได้จากปะการัง หอยสองฝา และสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด

วิธีดำเนินการวิจัย

พื้นที่เก็บตัวอย่างและศึกษาวิจัย

ทำการแยกซูแซนเทลลีจากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่เป็นผู้ให้อาศัย (host) ในแนวปะการังบริเวณเกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี (รูปที่ 6) นำมาแยกเลี้ยง และเพิ่มจำนวน ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ห้อง 730 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 6 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างซูแซนเทลลีจากสิ่งมีชีวิตบริเวณเกาะปลาหมึก หมู่เกาะแสมสาร ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

การเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือเพื่อนำมาใช้ในการทดลองทำในหอยมือเสือชนิด *Tridacna squamosa* โดยดำเนินการ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สำหรับตัวอ่อนปะการังทำการเก็บไข่และสเปิร์มจากธรรมชาติและทำการผสมเพื่อให้ได้ตัวอ่อน โดยดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันออก แต่ในปี งบประมาณ 2561 ปะการังวางไข่น้อยมากและไข่ไม่สมบูรณ์ จึงไม่มีตัวอ่อนมาทำการศึกษา

การแยกและเลี้ยงซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัย

เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อของสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งทำหน้าที่เป็นผู้ให้อาศัย จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ หอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) ดอกไม้ทะเล (*Aiptasia* sp.) ปะการังรังผึ้ง (*Goniastrea* sp.) ปะการังดอกเห็ด (*Fungia fungites*) และปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.) จากความลึก ประมาณ 3-5 เมตร ในบริเวณแนวปะการัง เกาะแสมสาร

1.การแยกซูแซนเทลลีจากหอยมือเสือ

นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ใน Microcentrifuge Tubes ที่มีน้ำที่ทะเลที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2-3 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วนำส่วนตะกอนไปเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน นำไปตั้งทิ้งไว้ในห้องเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นจนสังเกตเห็นคราบสีน้ำตาลบริเวณก้นหลอด จึงนำมาแยกซูแซนเทลลีด้วยเทคนิค Pasteur pipette single cell isolation ทำการเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอน

2.การแยกซูแซนเทลลีจากปะการังและดอกไม้ทะเล

ซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยในกลุ่มของปะการังและดอกไม้ทะเลได้จาก ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ห้อง 730 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้การทดลองของ กมลพร พัฒนศิริ (2556) เรื่อง “ผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเติบโตของ zooxanthellae ที่แยกจากปะการังและดอกไม้ทะเล“ โดยมีวิธีการแยกดังนี้

3.การเพาะเลี้ยงซูแซนเทลลีสำหรับใช้ในการทดลอง

ทำการเพิ่มจำนวนซูแซนเทลลีในอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนโดยใช้ขวดเลี้ยงปริมาตร 2 ลิตร มีการให้อากาศเพื่อให้สาหร่ายเติบโตได้ดี ไม่ติดก้นขวดเลี้ยง สำหรับซูแซนเทลลีทั้งหมดที่ใช้การการศึกษาครั้งนี้ทำการเพาะเลี้ยงอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร Daigo’ IMK (Nihon Pharmaceutical Co., Ltd) ที่ระดับอุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 54 μ mol $m^{-2}s^{-1}$ ช่วงมืด : ช่วงสว่าง 12 : 12 ชั่วโมง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 4,500-5,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 7 การเลี้ยงซูแซนเทลลีสำหรับใช้ในการวิจัย

การเตรียมน้ำทะเล ถังเลี้ยง และลูกหอยมือเสือสำหรับใช้ในการทดลอง

ทำการเพาะหอยมือเสือให้ได้ตัวอ่อนเพื่อใช้ในการศึกษา ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยดำเนินการดังนี้

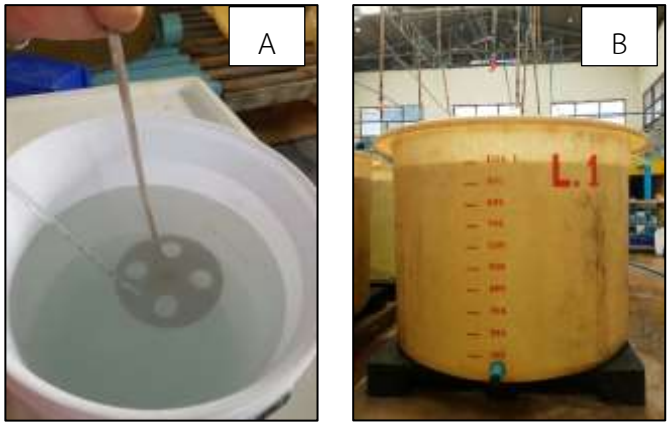
1.การเตรียมน้ำทะเลและถังเลี้ยงสำหรับใช้ในการทดลอง

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

รูปที่ 8 ถังสำหรับเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ อายุ 3-14 วัน (A) และ ถังที่ใช้เลี้ยงหอยอายุ 14-70 วัน (B) ซึ่งจะมีแผ่นปูนผสมทรายรองไว้สำหรับลูกหอยมือเสือลงเกาะ

2.การเตรียมลูกหอยมือเสือสำหรับใช้ในการทดลอง

ทำการกระตุ้นพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือ (*Tridacna squamosa*) ของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ ด้วยวิธีเปลี่ยนถ่ายน้ำและผึ่งแห้ง ล้างเศษขยะออกด้วยน้ำทะเลกรองจากนั้นนำไข่และน้ำเชื้อผสมกันโดยใช้ไม้สำหรับกวนเชื้อ (รูปที่ 9 A) แล้วนำไปอนุบาลในถังปริมาตร 1000 ลิตร (รูปที่ 9 B) ที่ใส่ EDTA ความเข้มข้น 10 ppm. หลังจากไข่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว 3 วัน จะได้ลูกหอยมือเสือในระยะ veliger ไปใช้ในการทดลองต่อไป



รูปที่ 9 ถังอนุบาลลูกหอยในในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร (A) และ ไม้สำหรับกวนให้ไข่กับน้ำเชื้อผสมกัน (B)

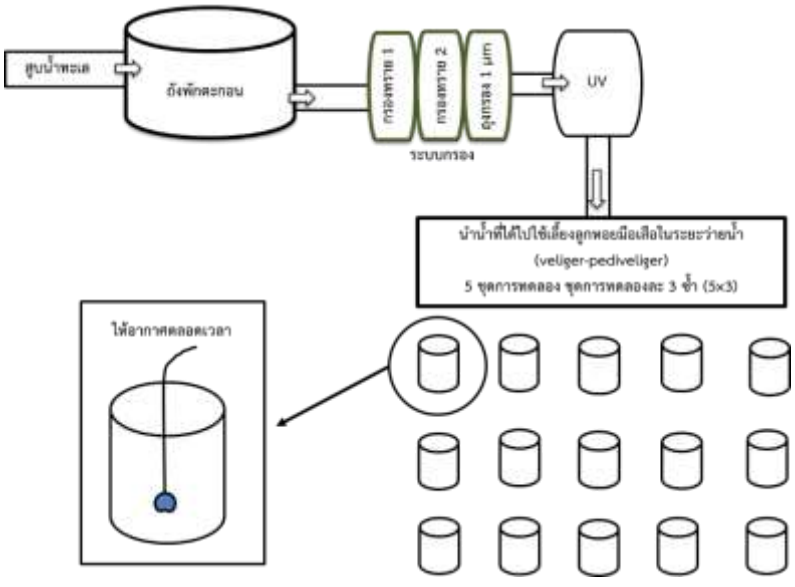
แผนการทดลอง

1.การวางแผนการทดลอง

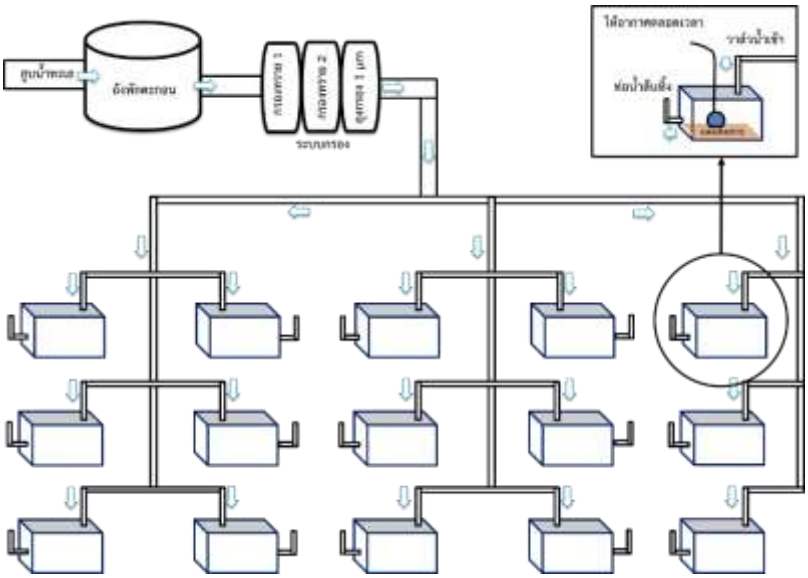
วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง (treatment) โดยแต่ละชุดการทดลองจะมีความหนาแน่นของลูกหอยมือเสือ (*T. squamosa*) ในระยะ veliger 5 ตัว / มิลลิลิตร และให้ซูแซนเทลลีที่แยกได้จากผู้ให้อาศัยแต่ละชนิดเป็นอาหารแก่ลูกหอย ดังมีรายละเอียดดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ (*T. squamosa*)
ชุดการทดลองที่ 2 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล (*Aiptasia* sp.)
ชุดการทดลองที่ 3 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง (*Acropora* sp.)
ชุดการทดลองที่ 4 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกเห็ด (*Fungia fungites*)
ชุดการทดลองที่ 5 ลูกหอยได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง (*Goniastrea* sp.)

แต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ และให้ซูแซนเทลลีทุกวัน วันละ 2 ครั้ง (เช้า/เย็น) โดยมีความหนาแน่นเซลล์ในถังเลี้ยงเท่ากับ 600-700 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำในถังเลี้ยง 100% ทุกๆ 2 วัน ตรวจวัดคุณภาพน้ำ เบื้องต้นจะทำการวัดค่า ความเค็ม อุณหภูมิ pH และแอมโมเนีย ก่อนทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน มีระบบน้ำและการจัดวางถัง ดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะว่ายน้ำ ตั้งแต่ระยะ veliger พัฒนาสู่ระยะ pediveliger



รูปที่ 11 แผนผังระบบน้ำ และถังทดลองในระยะลงเกาะ ตั้งแต่ระยะ pediveliger พัฒนาสู่ระยะ juvenile

หลังจาก 2 สัปดาห์แรกลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงจะพัฒนาเข้าสู่ระยะลงเกาะจึงย้ายมาเลี้ยงในถังพลาสติกที่มีปริมาตรน้ำ 50 ลิตร มีวัสดุล่อลงเกาะที่ทำจากปูนผสมทราย มีระบบน้ำไหล และให้อากาศตลอดเวลา ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ และไม่ให้ซูแซนเทลลีเพิ่มเติม ตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้นในส่วนของความเค็ม อุณหภูมิ pH และวัดค่าแอมโมเนียทุกๆ 1 สัปดาห์ โดยมีระบบน้ำและจัดวางถัง ดังรูปที่ 11

2.การสุ่มเก็บตัวอย่าง

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

ทั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการทดลองเลี้ยงทั้งสิ้น 3 เดือน ทำการสังเกตการพัฒนา การก่อเกิดภาวะอิงอาศัยของซูแซนเทลลี วัดความยาวเปลือกและบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound light microscope) เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการนับจำนวนเพื่อศึกษาอัตรารอดของลูกหอยมือเสือ

การวิเคราะห์ผล

1.การศึกษาอัตราการรอดตายของลูกหอย

ทำการศึกษาอัตราการรอดซึ่งคำนวณโดยใช้สูตร

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

เมื่อ SR = อัตราการรอด (%)

N_f = จำนวนตัวสุดท้าย (ตัว)

N_i = จำนวนตัวเริ่มต้น (ตัว)

2.การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต

ทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตซึ่งวัดจากความยาวเปลือกของลูกหอยมือเสือโดยใช้สูตรของ Tan, Mai, and Liufu (2001)

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

เมื่อ GR_L = อัตราการเจริญเติบโตด้านความยาวเปลือก (% ต่อ วัน)

L_f = ความยาวเปลือกวันสุดท้าย (μm)

L_i = ความยาวเปลือกเริ่มต้น (μm)

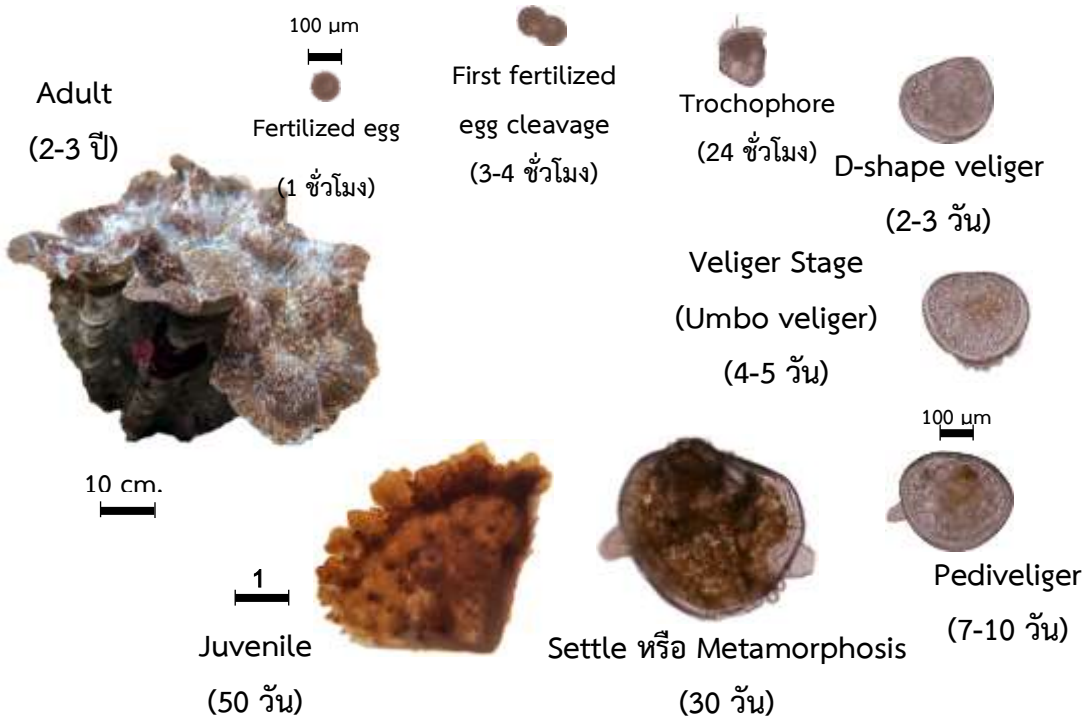
T = เวลาที่เลี้ยง (วัน)

3.การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

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

ผลการศึกษา

หลังจากที่กระตุ้นเซลล์สืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือด้วยวิธีการผึ่งแห้งจนได้น้ำเชื้อและไข่ นำเซลล์สืบพันธุ์ดังกล่าวผสมกัน เมื่อไข่ปฏิสนธิกับน้ำเชื้อและแบ่งเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ภายใน 24-28 ชั่วโมง จะได้ลูกหอยมือเสือในระยะ trochophore มีลักษณะคล้ายลูกข่าง ภายใน 2 วัน ลูกหอยมือเสือเข้าสู่ระยะนี้ว่า veliger จึงเริ่มให้ซูแซนเทลลีในระยะนี้ เมื่อลูกหอยมือเสือได้รับอาหารจากการกรองกินเปลือกเริ่มหนาขึ้นตัวใหญ่ และเห็นอวัยวะต่างๆภายในที่ชัดเจนขึ้น ภายใน 7-10 วัน ลูกหอยมือเสือจะว่ายน้ำสลับกับคืบคลานไปตามพื้น และเริ่มพัฒนาส่วนของเท้าขึ้นมา เรียกว่าระยะ pediveliger โดยเริ่มมีการสะสมซูแซนเทลลีภายในกระเพาะอาหาร และเกิดการอิงอาศัยที่สมบูรณ์ในระยะนี้ทำให้หอยมือเสือได้รับพลังงานจากการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีจึงเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และเริ่มที่จะอาศัยตามพื้นอย่างสมบูรณ์ ภายใน 2 เดือน จะพัฒนาเข้าสู่ metamorphosis สังเกตเห็น siphon และสีของซูแซนเทลลีภายในตัวชัดเจน และเข้าสู่ระยะ juvenile ที่มีรอยหยักและหนามบนเปลือก รวมไปถึงการแผ่ของแมนเทิลเพื่อรับแสงคล้ายกับระยะเต็มวัย ภายใน 2 เดือน



รูปที่ 12 การพัฒนาการของหอยมือเสือตั้งแต่ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (fertilized egg) จนถึงระยะตัวเต็มวัย (adult)

การเข้าอิงอาศัยของซูแซนเทลลีในลูกหอยมือเสือ

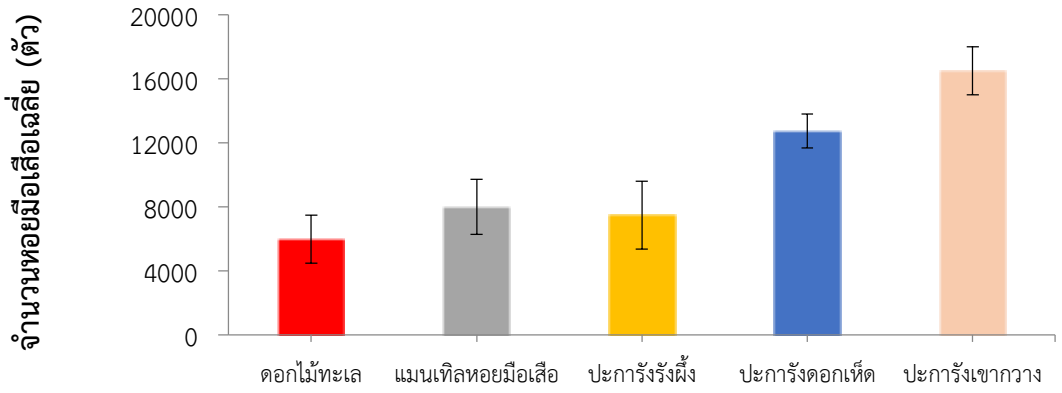
1.อัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ

พบว่าลูกหอยมือเสืออายุ 14 วันในระยะ pediveliger ที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง มีอัตรารอดสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาเป็นลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังดอกเห็ด ,จากเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ, จากปะการังรังผึ้ง และจากดอกไม้ทะเล ดังตารางที่ 1 และ รูปที่ 13

ตารางที่ **1** อัตราการรอด และจำนวนของลูกหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน

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

*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)



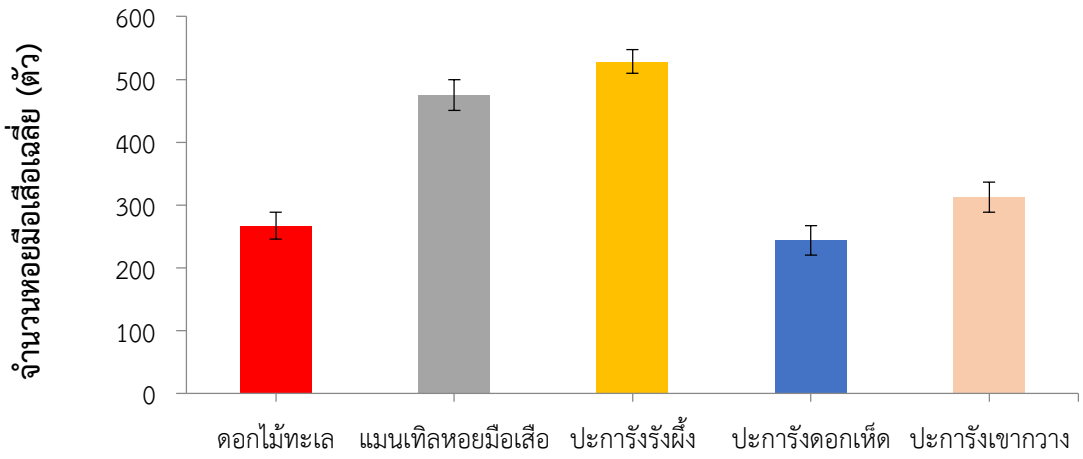
รูปที่ 13 จำนวนของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 14 วัน เมื่ออนุบาลลูกหอยมือเสือจนถึงอายุ 74 วัน

ลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ มีจำนวนตัวและอัตราการรอดมากที่สุดซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาเป็นลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง ,ปะการังรังผึ้ง , ดอกไม้ทะเล และปะการังดอกเห็ด ดังตารางที่ 2 และรูปที่ 14

ตารางที่ 2 อัตราการรอด และจำนวนตัวหอย คิดจากจำนวนเฉลี่ยของหอยมือเสือที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน

ชุดการทดลอง (ผู้ให้อาศัยของซูแซนเทลลี)	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

*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)



รูปที่ 14 จำนวนตัวของลูกหอยมือเสือที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีจากแหล่งต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 74 วัน

2.การเจริญเติบโตด้านความยาวเปลือกของลูกหอยมือเสือ

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

เมื่อลูกหอยมือเสืออายุ 74 วันชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง มีอัตราการเจริญเติบโตด้านความยาวมากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมาคือซูแซนเทลลีที่แยกจากดอกไม้ทะเล, เนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ, ปะการังเขากวางและ ปะการังดอกเห็ด

ตารางที่ 3 อัตราการเติบโตจำเพาะโดยความยาวเปลือก (% ต่อ วัน)

	ชุดการทดลอง (แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี)	ความยาวเปลือก (ไมโครเมตร)		อัตราการเติบโตจำเพาะโดยความยาวเปลือก (% ต่อ วัน)
		เริ่มต้น	สุดท้าย	
ลูกหอยมือเสือระยะลงเกาะอายุ 3-14 วัน	แมนเทิลหอยมือเสือ	173 ± 2.11	197 ± 2.21	1.30 ^{b*} ± 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 ^{a*} ± 0.28
	ปะการังเขากวาง	172 ± 1.21	189 ± 1.66	0.97 ^{a,b*} ± 0.10
ลูกหอยมือเสือระยะว่ายน้ำอายุ 14-74 วัน	ชุดการทดลอง (แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี)	ความยาวเปลือก (ไมโครเมตร)		อัตราการเติบโตจำเพาะโดยความยาวเปลือก (% ต่อ วัน)
		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 ^{c*} ± 0.04
	ปะการังรังผึ้ง	187 ± 1.73	3,711 ± 69.39	4.67 ^{c*} ± 0.04
	ปะการังดอกเห็ด	183 ± 2.92	3,124 ± 68.42	4.43 ^{a*} ± 0.04
	ปะการังเขากวาง	189 ± 1.66	3,403 ± 84.53	4.51 ^{b*} ± 0.05

*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

3.การเกิดภาวะอิงอาศัยภายในหอยมือเสือ

ทุกชุดการทดลองให้ซูแซนเทลลีตั้งแต่ระยะ D-shape veliger อายุ 3 วัน พบว่าหลังจากนั้น 1 วัน ลูกหอยมือเสือในระยะดังกล่าวกรองเอาซูแซนเทลลีเข้าไปในกระเพาะอาหาร จากนั้นจะย่อยซูแซนเทลลีเพื่อเป็นพลังงานใช้ในการเติบโต ซึ่งซูแซนเทลลีที่พบมีลักษณะที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์เกิดจากการถูกย่อยโดยกระเพาะอาหาร

ลูกหอยมือเสือและซูแซนเทลลีสามารถสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ (Completely symbiosis) เมื่ออายุประมาณ 12-16 วัน โดยจะเริ่มพบซูแซนเทลลีหนาแน่นบริเวณทางเดินอาหาร (alimentary canal) และเนื้อเยื่อแมนเทิล (mantle) ไปยังส่วนของเท้า (foot) และอื่นๆ จนเต็มตัวหอย โดยเคลื่อนที่ผ่านท่อที่เรียกว่า zooxanthellal tube ซึ่งในระยะนี้จะแพร่กระจายเป็นร่างแหในเนื้อเยื่อของลูกหอยมือเสือหอยมือเสือวันอ่อนที่ได้รับซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ จะใช้เวลาในการสร้าง zooxanthellal tube ที่แตกต่างกัน พบว่าซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล, ปะการังเขากวาง,ปะการังรังผึ้งและแมนเทิลของมือเสือ สามารถสร้างได้จนสมบูรณ์เมื่ออายุ 12.3±0.58 วัน, 12.3±0.58 วัน 12 ± 1.00 วัน และ13.3±0.58 วัน ตามลำดับ และจากปะการังดอกเห็ดช้าที่สุด เมื่ออายุ 14.3±1.53 วัน ซึ่งแตกต่างกับทุกชุดการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางที่ 4 ระยะของการเกิดภาวะอิงอาศัย (วัน) ในแต่ละชุดการทดลอง (AL I = alimentary I, AL II = alimentary II, M = mantle)

ชุดการทดลอง (ผู้ให้อาศัยของซูแซนเทลลี)	ระยะของการเกิดภาวะอิงอาศัย (วัน)		
	AL I	AL II	M
แมนเทิลหอยมือเสือ	$4^{a*} \pm 0$	$10^{a*} \pm 0.58$	$13^{a*} \pm 0.58$
ดอกไม้ทะเล	$4^{a*} \pm 0$	$10^{a*} \pm 0.58$	$12^{a*} \pm 0.58$
ปะการังรังผึ้ง	$4^{a*} \pm 0$	$11^{a*} \pm 1.00$	$12^{a*} \pm 1.00$
ปะการังดอกเห็ด	$4^{a*} \pm 0$	$10^{a*} \pm 1.73$	$14^{b*} \pm 1.53$
ปะการังเขากวาง	$4^{a*} \pm 0$	$10^{a*} \pm 0.58$	$12^{a*} \pm 0.58$

*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

4.การพัฒนาการในระยะลงเกาะ

ภายใน 3 สัปดาห์หลังจากเข้าสู่ระยะ pediveliger ลูกหอยมือเสือสามารถลงเกาะพื้นได้สำเร็จ ได้รับพลังงานจากการสังเคราะห์ด้วยแสงจากซูแซนเทลลีภายในเนื้อเยื่อร่วมกับการกรองกินอาหารภายในมวลน้ำ เริ่มเห็นส่วนของ exhalant siphon และ inhalant siphon บริเวณเนื้อเยื่อแมนเทิล (mantle) ชัดเจน ลำตัวมีสีทึบ และหนา มีการสร้างเส้นใย byssus ไว้ยึดเกาะพื้น เรียกระยะนี้ว่าระยะ settle หรือ metamorphosis จากนั้นเมื่อลูกหอยมือเสืออายุได้ 2 เดือน เริ่มพัฒนาเปลือกคล้ายตัวเต็มวัยคือ มีเกล็ดชัดเจน และร่องที่เปลือก เนื้อเยื่อแมนเทิลมีสีน้ำตาลเข้มจากซูแซนเทลลีที่อาศัยอยู่ โดยปกติจะหงายด้านแมนเทิลขึ้นรับแสง และยึดส่วน umbo กับพื้นด้วยเส้นใยเหนียวที่เรียกว่า byssus สามารถสร้างใหม่ได้หากขาดหรือหลุด

ตารางที่ 5 พัฒนาการของลูกหอยมือเสือในระยะต่างๆ (วัน) ในแต่ละชุดการทดลอง (FE = fertilized egg, TP = trochophore, VG = veliger, DS = D-shape veliger, UM = umbo veliger, PV = pediveliger, MP = metamorphosis, JV = juvenile)

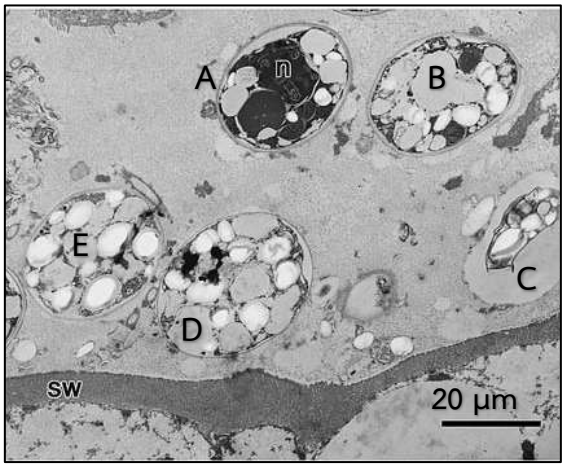
ชุดการทดลอง (ผู้ให้อาศัยของซูแซนเทลลี)	ระยะของการพัฒนาการ (วัน)						
	ระยะว่ายน้ำ					ระยะลงเกาะ	
	FE	TP	VG		PV	MP	JV
			DS	UM			
แมนเทิลหอยมือเสือ	$1^{a*} \pm 0.00$	$2^{a*} \pm 0.00$	$3^{a*} \pm 0.00$	$5^{a,b*} \pm 0.58$	$9^{a,b,c*} \pm 0.58$	$34^{b*} \pm 0.5$	$51^{a*} \pm 1.15$
ดอกไม้ทะเล	$1^{a*}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

*ตัวอักษรยกที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

อภิปรายผลการทดลอง

บทบาทของซูแซนเทลลีต่ออัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ

Fitt et al. (1986) ศึกษาผลของซูแซนเทลลีในด้านสารอาหารต่อการเติบโตและอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือ ได้ใช้แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis galbana* และเสริมด้วยซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดต่างๆ พบว่าพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีวิตทั้งหมดของลูกหอยระยะว่ายน้ำ มาจากการกรองกินแพลงก์ตอน และสารแขวนลอยภายในมวลน้ำ จากการศึกษาครั้งนี้ใช้ซูแซนเทลลีเป็นอาหารแก่ลูกหอยมือเสือเพียงอย่างเดียว แต่ลูกหอยมือเสือสามารถมีชีวิตรอดจนเสร็จสิ้นการทดลอง แม้ไม่ได้ให้แพลงก์ตอนชนิดอื่นๆ เป็นอาหาร และมีอัตราการรอดของลูกหอยในระยะว่ายน้ำที่ใกล้เคียงกัน (40.4% และ 42%) จึงยืนยันได้ว่าซูแซนเทลลีสามารถในการสนับสนุนเรื่องของสารอาหารแก่ลูกหอยมือเสือทำให้อัตราการรอดมากขึ้น นอกจากนี้พบเซลล์ของซูแซนเทลลีที่ถูกย่อยมีรูปร่างไม่สมบูรณ์ มีจำนวนมากกว่าเซลล์ที่สมบูรณ์ภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือในระยะ veliger สอดคล้องกับการศึกษาของของ Hirose et al. (2006) ที่พบเซลล์ซูแซนเทลลีส่วนใหญ่เป็นเซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ ผ่านการย่อยโดยกระเพาะอาหารของลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำ (รูปที่ 21) จากนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะ juvenile พบว่าซูแซนเทลลีจากหอยมือเสือทำให้ลูกหอยมีอัตราการรอดสูงกว่าการทดลองอื่นๆ เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ ซูแซนเทลลีจากหอยมือเสือทำให้ลูกหอยมือเสือมีอัตราการรอดเมื่อสิ้นสุดการทดลองสูงสุด



รูปที่ 15 ซูแซนเทลลีที่อยู่ภายในกระเพาะอาหารของลูกหอยระยะ veliger โดย SW คือผนังของกระเพาะอาหาร A คือเซลล์สีเข้มจะเป็นเซลล์ที่ค่อนข้างสมบูรณ์มีส่วนของนิวเคลียส (n) และองค์ประกอบอื่นๆ ชัดเจน ส่วนของ B, C, D และ E คือเซลล์ที่ผ่านการย่อยแล้ว พบว่าภายในเซลล์มีสีซีด และรูปร่างของผนังเซลล์ไม่สมบูรณ์ (Hirose et al., 2006)

แสดงให้เห็นว่า ซูแซนเทลลีไม่ได้มีบทบาทในด้านการเป็นผู้สังเคราะห์แสงผลิตอาหารให้กับลูกหอยในระยะที่เป็นแพลงก์ตอนว่ายในมวลน้ำ ในทางกลับกันเมื่อลูกหอยมือเสืออยู่ในระยะลงเกาะมีขนาดตัวที่ใหญ่ขึ้น และมีพื้นที่ในการรองรับซูแซนเทลลีที่มากขึ้น ซูแซนเทลลีจะมีอัตราการเติบโต หรือการแบ่ง

เซลล์ที่รวดเร็วเพื่อที่จะรองรับการขยายตัวของเนื้อเยื่อของลูกหอยที่เติบโตขึ้นในทุกวัน ซูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือ และปะการังรังผึ้ง จึงมีบทบาทสำคัญในการให้สารอาหารจากกระบวนการสังเคราะห์แสง แก่ลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะ

Nugranad et al. (1996) เพาะเลี้ยงหอยมือเสือด้วยการให้แพลงก์ตอนพืช 2 ชนิด (*Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans*) เป็นอาหารแก่ลูกหอยก่อนเสริมด้วยซูแซนเทลลีจากมูลของพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือชนิดเดียวกัน พบว่ามีอัตราการรอดจาก D-shape veliger จนกระทั่ง pediveliger สูงถึง 72 % ซึ่งมากกว่าการศึกษานี้ เนื่องมาจากลูกหอยเสือได้รับอาหารหลากหลาย อาจทำให้อัตราการตายลดลงซึ่ง Fitt et al. (1984) พบว่าหากลูกหอยมือเสือในระยะ veliger ที่ได้รับอาหารจำนวนมากหรือได้รับอาหารหลากหลายชนิดจะได้รับสารอาหารจำพวกไขมันมากขึ้น ทำให้มีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น

เมื่อลูกหอยมือเสือเติบโตจนเข้าสู่ระยะ pediveliger จึงเปลี่ยนมาเลี้ยงในถังที่มีวัสดุลงเกาะทำจากปูนผสมทรายทะเลหยาบ เพื่อให้ลูกหอยมือเสือในระยะ pediveliger ที่เริ่มมีเท้า สามารถหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการลงเกาะ และเริ่มมีการสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับซูแซนเทลลี ดังนั้นพลังงานที่ได้ส่วนใหญ่ มาจากผลผลิตของการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีที่เข้าร่วมอาศัยภายในเนื้อเยื่อแมนเทิลของลูกหอยมือเสือ จากการศึกษาพบว่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังรังผึ้ง และเนื้อเยื่อแมนเทิลของหอยมือเสือ ให้อัตราการรอดที่มากที่สุด และแตกต่างจากชุดการทดลองอื่น จากการศึกษาในด้านขนาด และการเจริญเติบโตของซูแซนเทลลี พบว่าแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลหอยมือเสือเป็นกลุ่มที่มีขนาดของเซลล์เล็ก มีการเกาะกลุ่มกันของเซลล์ และเซลล์ไม่ค่อยเคลื่อนที่มักจะเกาะอยู่นิ่งๆ ส่วนของซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง มีขนาดใหญ่ เซลล์กระจายตัวเดี่ยวๆไม่เกาะกลุ่มกัน เซลล์มักจะเคลื่อนว่ายน้ำอยู่ตลอด แต่สิ่งที่คล้ายกันในซูแซนเทลลีจาก 2 ผู้ให้อาศัยนี้คือ ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ มีค่า 0.35 และ 0.31 ตามลำดับ แสดงถึงการเติบโต และแบ่งเซลล์เร็วกว่าชุดการทดลองของปะการังเขากวาง ปะการังดอกเห็ด ที่มีขนาดเล็ก แต่เติบโตได้ช้า ซึ่งอาจจะไม่เพียงพอต่อลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะ ที่จะเติบโตอย่างรวดเร็ว หากในตัวมีซูแซนเทลลีที่เติบโต แบ่งเซลล์ได้อย่างรวดเร็วด้วย ทำให้ได้เปรียบในด้านของการเติบโตและอัตราการรอดในระยะลงเกาะ จากการทดลองของ Fitt and Trench (1981) มีอัตราการรอดของลูกหอยมือเสือในระยะ juvenile ลดลง แต่ยังคงเป็นซูแซนเทลลีจากหอยมือเสือที่ทำให้อัตราการรอดสุดท้ายดีที่สุด

บทบาทของซูแซนเทลลีต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยมือเสือ

นอกจากนี้ซูแซนเทลลียังจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยมือเสือด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำ การใช้ประโยชน์จากการกรองกินนั้นจำเป็นมากเนื่องจากยังไม่มีการสร้างภาวะอิงอาศัยอาศัย (symbiosis) กับซูแซนเทลลี จึงไม่สามารถรับพลังงาน หรือสารอาหารจากการสังเคราะห์แสงมาใช่ พลังงานทั้งหมดจึงได้มาจากการกรองกินอินทรีสารรวมไปถึงแพลงก์ตอนภายในมวลน้ำ จากการศึกษาครั้งนี้ใช้แค่ซูแซนเทลลีเป็นอาหารเท่านั้น แสดงให้เห็นว่าหอยมือเสือไม่ได้ใช้ประโยชน์จากซูแซนเทลลีแค่เป็นตัวช่วยในการสังเคราะห์แสงอย่างเดียว แต่ยังช่วยในเรื่องของสารอาหาร

อาหารผ่านทางการกรองกินของลูกหอยมือเสือมีผลต่อการเติบโต และสร้างเปลือกของลูกหอยอีกด้วย (Klumpp et al., 1992)

จากศึกษาด้านอัตราการเจริญเติบโต พบว่าลูกหอยระยะว่ายน้ำในชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลหอยมือเสือ มีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) กับผลของอัตราการเจริญเติบโตของชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากปะการังเขากวางที่ให้อัตราการรอดมากที่สุดในช่วงว่ายน้ำ แสดงให้เห็นว่านอกจากปัจจัยในเรื่องการกรองกินซูแซนเทลลี คุณภาพของซูแซนเทลลีแต่ละผู้ให้อาศัยที่ลูกหอยมือเสือได้รับก็อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยเช่นกัน การศึกษาของ M Mies et al. (2017) พบว่าในซูแซนเทลลีทุกๆสายพันธุ์ (stain) มีกรดไขมัน 3 ชนิด ได้แก่ SDA, DPA และ DHA ในส่วนของ DHA ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตนั้นจะพบมากในซูแซนเทลลีได้จากปะการังแข็งบางชนิดและในหอยมือเสือ นอกจากนี้การศึกษาของ Ishikura, Adachi, and Maruyama (1999) ยังพบ glycerol ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของการสังเคราะห์แสงภายในหอยมือเสือ (Muscatine, 1967) และยังช่วยลดการกระเจิงของแสงทางชีวภาพทำหน้าที่เป็น clearing agent ทำให้เนื้อเยื่อมีความโปร่งใสมากขึ้นในซูแซนเทลลีที่แยกจากหอยมือเสือ (Schatz, Golenser, & Ben-Arie, 2005)

จากการศึกษาแม้ลูกหอยมือเสือจะได้รับซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวางได้มากกว่าในระยะ veliger เนื่องจากเป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็ก และว่ายน้ำ แต่ซูแซนเทลลีที่แยกจากแมนเทิลหอยมือเสือนั้นแม้จะมีขนาดเล็กเช่นกัน แต่รับเข้าไปยากกว่าเนื่องจากเซลล์มักจะเกาะกันเป็นกลุ่มและไม่ว่ายน้ำ เมื่อลูกหอยพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger ลูกหอยจะเริ่มลงมาคืบคลานบนพื้น ทำให้มีโอกาสได้รับซูแซนเทลลีมากกว่าระยะ veliger ทำให้ได้รับสารอาหารที่จำเป็นได้มากขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของลูกหอยมือเสือในระยะว่ายน้ำในชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือจึงดีกว่าทุกชุดในการทดลองแม้ว่าจะให้อัตราการรอดในระยะลงเกาะมากไม่เท่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจากปะการังเขากวาง

เมื่อลูกหอยมือเสือพัฒนาเข้าสู่ระยะลงเกาะ ลูกหอยมือเสือมักจะสร้างการเข้าร่วมอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับซูแซนเทลลีได้เรียบร้อยแล้วจึงเติบโตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากได้รับพลังงานทั้งจากการกรองกินและการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีในเนื้อเยื่อชั้นแมนเทิล ด้วยการที่หอยมือเสือในระยะนี้มีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ดังนั้นในธรรมชาติ หากหอยมือเสือที่ลงเกาะแล้วเลือกซูแซนเทลลีที่มีอัตราการเติบโต หรือมีอัตราการแบ่งเซลล์ที่รวดเร็ว มาไว้ภายในตัวจะทำให้ได้เปรียบในด้านการเจริญเติบโต จากการศึกษาขนาดและอัตราการเติบโตจำเพาะของซูแซนเทลลีที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล และปะการังรังผึ้งมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะที่สูง อยู่ที่ 0.40 และ 0.31 ตามลำดับ และมีขนาดกลาง-ใหญ่ จึงสรุปได้ว่าซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล และปะการังรังผึ้ง เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือในระยะลงเกาะ

บทบาทของซูแซนเทลลีต่อพัฒนาการและการก่อเกิดภาวะอยู่ร่วมอาศัย

เมื่อเริ่มต้นศึกษาไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจะเริ่มแบ่งเซลล์ และพัฒนาเข้าสู่ระยะ trochophore ภายใน 2 วัน ช่วงนี้ลูกหอยยังไม่สามารถที่จะรับอาหารได้จากมวลน้ำจำเป็นต้องใช้อาหารจากภายในตัว

มาเป็นพลังงาน ซึ่งมีมากน้อยไม่เท่ากัน จึงทำให้มีอัตราการตายมากในระหว่างที่ลูกหอยเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแต่ละระยะ เช่นเดียวกับการศึกษาทั้งของ Fitt et al. (1984) และ Heslinga et al. (1990) พบการตายของลูกหอยมือเสือค่อนข้างมากในระยะ trochophore สาเหตุอาจมาจากความสมบูรณ์ของไข่ที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์ ทั้งนี้เซลล์ไข่ได้รับการผสมของน้ำเชื้อมากเกินไปอาจทำให้ไข่ไม่พัฒนาและกลายเป็นไข่เสียได้เช่นกัน นอกจากนี้ขนาดของไข่แสดงถึงการมีสารอาหารที่เก็บไว้ใช้ในช่วงเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะ Trochophore เข้าสู่ระยะ veliger จากการศึกษาของ Fitt et al. (1986) พบว่าไข่ที่มีขนาดใหญ่จะสามารถกักเก็บสารอาหารไว้สำหรับการพัฒนาการเข้าสู่ระยะว่ายน้ำได้มากกว่าไข่ที่มีขนาดเล็ก ขณะเดียวกันหากตัวอ่อนมีขนาดใหญ่ก็จะพัฒนาการได้เร็ว และอัตราการอดที่ดีว่าตัวอ่อนขนาดเล็ก จากการศึกษานี้สังเกตเห็นว่าในช่วงที่ลูกหอยมือเสือเปลี่ยนจากไข่ (fertilized egg) เข้าสู่ระยะ trochophore พบว่าไข่ขนาดเล็กจะมีทั้งส่วนที่เสีย และส่วนที่พัฒนาก็จะเป็นตัวอ่อนที่ไม่สมบูรณ์และตายลงในช่วงที่พัฒนาเข้าสู่ระยะ veliger หรือในวันที่ 3 วัน

ภายใน 7-11 วัน ลูกหอยมือเสือทุกชุดการทดลองพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger พบว่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีจาก ปะการังรังผึ้ง และแมนเทิลหอยมือเสือเป็นกลุ่มที่พัฒนาการได้เร็วที่สุด ใช้เวลา 7-9 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือของ Jintana, Tipaporn, Tanate, and Songchai (1996) ที่เพาะเลี้ยงหอยมือเสือวัยอ่อนโดยให้ *Isochrysis galbana* ผสม *Chetoceros calcitrans* เป็นอาหาร และเสริมด้วยซูแซนเทลลีจากมูลของพ่อแม่พันธุ์หอยมือเสือ ซึ่งใช้เวลาในการพัฒนาการจากระยะ D-shape veliger เข้าสู้ระยะ pediveliger 6-10 วัน และใกล้เคียงกับการทดลองของ Fitt and Trench (1981) ที่ลูกหอยระยะ veliger พัฒนาการเข้าสู่ pediveliger ภายใน 10 วัน และเริ่มสร้างภาวะอิงอาศัยในช่วงนี้

จากการศึกษานี้พบว่าชุดการทดลองที่ให้ซูแซนเทลลีที่แยกจากปะการังเขากวาง ปะการังรังผึ้ง ดอกไม้ทะเล และแมนเทิลของหอยมือเสือ ใช้เวลาน้อยที่สุดคือ 12-13 วัน ซึ่งเร็วกว่าการศึกษาของ Nugranad et al. (1996) ที่ใช้ซูแซนเทลลีจากมูล (pseudofeces) ของพ่อแม่พันธุ์ พบว่าซูแซนเทลลีสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับลูกหอยมือเสือภายใน 14-16 วัน ขณะที่ Hirose et al. (2006) ศึกษาการสร้างภาวะอิงอาศัยในห้องมือเสือ พบว่าซูแซนเทลลีสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์ภายในวันที่ 10-20 วัน นอกจากนี้ยังเร็วกว่าการศึกษาของ Fitt and Trench (1981) และ Fitt et al. (1986) พบว่าซูแซนเทลลีสร้างภาวะอิงอาศัยที่สมบูรณ์กับลูกหอยมือเสือภายในวันที่ 17 และ 16 วัน ตามลำดับ คาดว่าสภาพพื้นที่ และอุณหภูมิบริเวณที่เพาะเลี้ยงมีผลต่อการพัฒนาการของลูกหอยมือเสือ (M. Neo, Todd, Teo, & Chou, 2013) นอกจากนี้การเติบโต ขนาด และรูปแบบการดำรงชีวิตของซูแซนเทลลี ผลต่อการพัฒนาการ และการเกิดภาวะอิงอาศัย แต่อาจจะมีผลจากสาเหตุอื่น หรือมีบางปัจจัย กลไกลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง การการสร้างพลังงานแก่ผู้ให้อาศัย การแบ่งเซลล์ของซูแซนเทลลี หรือลักษณะทางโมเลกุลของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane surface molecules) หรือสารจำเพาะบางอย่างที่เหมาะกับผู้ให้อาศัยที่มันอยู่ เป็นต้น (Davy, Allemand, & Weis, 2012)

สรุปผลการศึกษา

ซูแซนเทลลีที่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือ

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าในบรรดาซูแซนเทลลีจากแหล่งที่มาที่หลากหลาย ไม่สามารถยืนยันได้ว่าซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยชนิดใดที่เหมาะสมที่สุดตลอดช่วงชีวิตของหอยมือเสือ แต่สามารถบ่งชี้ให้เห็นว่าซูแซนเทลลีที่มีขนาด รูปแบบลักษณะ หรือค่าการเติบโตจำเพาะแบบใดเหมาะสมกับลูกหอยมือเสือในช่วงอายุไหน หรือเหมาะสมตามสิ่งแวดล้อมที่ลูกหอยมือเสืออาศัยอยู่อย่างไร ดังนั้นหอยมือเสือ และปะการัง รวมถึงผู้ให้อาศัย (host) ทุกชนิดที่ใช้ประโยชน์จากซูแซนเทลลี จำเป็นต้องค้นหาสายพันธุ์ของซูแซนเทลลีที่มีความเหมาะสม และคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมตามเหตุการณ์หรือช่วงเวลานั้นๆ เพื่อเพิ่มความหลากหลายของซูแซนเทลลีภายในตัว หากผู้ให้อาศัยมีความหลากหลายของซูแซนเทลลีภายในตัวมาก จะทำให้ผู้ให้อาศัยสามารถดำรงชีวิต และปรับตัวต่อสภาพสิ่งแวดล้อมที่แปรปรวนได้หลากหลายขึ้นด้วย (Rowan, Knowlton, Baker, & Jara, 1997)

ยกตัวอย่างปรากฏการณ์ฟอกขาว เป็นปรากฏการณ์หนึ่งที่ทำให้ผู้ให้อาศัยมีโอกาสแลกเปลี่ยนซูแซนเทลลีกับสิ่งแวดล้อม เช่นเดียวกับปะการัง หอยมือเสือเมื่อมีการเกิดภาวะฟอกขาวขึ้น ปัจจัยหลักเกิดจากอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงอย่าฉับพลัน และเป็นเวลานาน เป็นผลให้ซูแซนเทลลีบางส่วนถูกขับออกจากเนื้อเยื่อของหอยมือเสือ และเมื่อสิ่งแวดล้อมเข้าสู่สภาวะปกติหอยมือเสือจะรับซูแซนเทลลีกลับเข้ามาในขณะเดียวกันซูแซนเทลลีที่ยังเหลืออยู่ภายในเนื้อเยื่อก็จะเติบโตขยายเซลล์และเพิ่มจำนวนกลับมาใหม่ทำให้มีสีสันเช่นเดิม จากการศึกษาและรวบรวมข้อมูล Biquand et al. (2017) พบว่าการฟอกขาวเป็นการเปิดโอกาสเพื่อรับซูแซนเทลลีจากภายนอกเข้าไปภายในตัวทำให้มีความหลากหลายของซูแซนเทลลีเป็นผลดีแก่ตัวหอยมือเสือ ซูแซนเทลลีที่มีขนาดเล็กจะมีโอกาสเข้าถึงผู้ให้อาศัยได้มากกว่าเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ แต่ในระยะยาวเมื่อสภาพแวดล้อมกลับมาเป็นปกติ ผู้ให้อาศัยก็จะรับซูแซนเทลลีที่เหมาะสมเข้ามาซึ่งอาจจะมีขนาดแตกต่างจากเดิม ดังนั้นแม้เซลล์ขนาดเล็กจะเข้าสู่ผู้ให้อาศัยได้รวดเร็ว แต่อาจจะร่วมอิงอาศัยในเนื้อเยื่อได้แค่ในระยะเวลาสั้นๆ ยกเว้นซูแซนเทลลีดังกล่าวจะสามารถปรับตัวตามความต้องการของผู้ให้อาศัยได้ นอกจากนี้การศึกษาของ กมลพร (2556) พบว่าซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเลมีความสามารถทนร้อนถึงช่วงอุณหภูมิ 30-33 องศาเซลเซียส จากการศึกษาครั้งนี้ในด้านของขนาดและการเติบโตแล้ว ซูแซนเทลลีจากดอกไม้ทะเล มีขนาดปานกลาง และยังเติบโตได้รวดเร็วเมื่อเทียบกับผู้ให้อาศัยชนิดอื่น มีผลดีต่อหอยเมือเสือ หรือสิ่งมีชีวิตไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นๆ ที่จำเป็นต้องใช้ประโยชน์จากซูแซนเทลลี ที่ได้รับผลกระทบจากปะการังฟอกขาว มีความต้องการเซลล์ของซูแซนเทลลีที่มีลักษณะการเติบโตที่รวดเร็ว และมีขนาดพอเหมาะ เพื่อทดแทนซูแซนเทลลีที่สูญเสียไปก่อนหน้านี้

กล่าวโดยสรุปซูแซนเทลลีที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเลี้ยงหอยมือเสือ ในการศึกษาครั้งนี้ได้แก่ ซูแซนเทลลีจากแมนเทิลหอยมือเสือ และซูแซนเทลลีจากปะการังรังผึ้ง พิจารณาจากเกณฑ์ความเหมาะสมของซูแซนแซนเทลลีจากแต่ละผู้ให้อาศัยทั้ง 4 ด้านได้แก่ อัตราการรอด อัตราการเติบโต เวลาในการพัฒนาการ และเวลาในการเกิดภาวะอิงอาศัย ตั้งแต่ระยะว่ายน้ำ จนถึงระยะลงเกาะ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สรุปผลของซูแซนเทลลีที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลูกหอยมือเสือ (จำนวน ★ บอกถึงความเหมาะสมของซูแซนเทลลีแต่ละแหล่งที่มา)

ระยะว่ายน้ำ (veliger-pediveliger)	**แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี**				
เกณฑ์ความเหมาะสม	**แมนเทิลหอยมือเสือ**	**ดอกไม้ทะเล**	**ปะการังรังผึ้ง**	**ปะการังดอกเห็ด**	**ปะการังเขากวาง**
อัตราการรอด*	★	★	★	★	★★
อัตราการเติบโต**	★★★	★★	★★	★	★★
พัฒนาการ**	★★★	★	★★★	★★	★★
การเกิดภาวะอิงอาศัย*	★★	★★	★★	★	★★
ระยะลงเกาะ (pediveliger-juvenile)	**แหล่งที่มาของซูแซนเทลลี**				
เกณฑ์ความเหมาะสม	**แมนเทิลหอยมือเสือ**	**ดอกไม้ทะเล**	**ปะการังรังผึ้ง**	**ปะการังดอกเห็ด**	**ปะการังเขากวาง**
อัตราการรอด*	★★	★	★★	★	★
อัตราการเติบโต**	★★	★★★	★★★	★	★★
การพัฒนาการ**	★★★	★★	★★★	★	★
จำนวน ★	16	12	16	8	12

ให้ค่าน้ำหนักของความเหมาะสม (★) ใช้การแบ่งกลุ่มทางสถิติมาเป็นเกณฑ์ดังนี้

- สำหรับเกณฑ์ความเหมาะสมที่สามารถแบ่งกลุ่มข้อมูลได้ 2 กลุ่ม ให้ ★★ ในชุดข้อมูลที่มีค่าดีที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองอื่นๆ ให้ ★ ในชุดการทดลองที่เหลือ
- สำหรับเกณฑ์ความเหมาะสมที่สามารถแบ่งกลุ่มข้อมูลได้ 3 กลุ่ม ให้ ★★★ ในชุดข้อมูลที่มีค่าดีที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองอื่นๆ ให้ ★★ ในชุดข้อมูลที่มีค่าดีรองลงมี แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับข้อมูลชุดแรก ให้ ★ ในชุดข้อมูลที่มีค่าน้อยที่สุดในชุดการทดลอง

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาขั้นต้นเพื่อคัดเลือกซูแซนเทลลีจากผู้ให้อาศัยต่างๆ ที่เหมาะสมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยมือเสือเพื่อให้ได้อัตราการรอด และอัตราการเติบโตสูง มีการพัฒนาการ และการอิงอาศัยที่รวดเร็วขึ้น จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าขนาดเซลล์ และอัตราการเติบโตจำเพาะ รวมถึงลักษณะ และพฤติกรรมของซูแซนเทลลีมีผลทำให้ได้ผลผลิตของลูกหอยมือเสือที่แตกต่างกัน แต่ปัจจัยดังกล่าวอาจไม่ใช่ปัจจัยทั้งหมดที่กำหนดผลผลิตของลูกหอยมือเสือ จึงควรศึกษาข้อมูลลงลึกถึงองค์ความรู้ทางด้านพันธุกรรมเพื่อมาประกอบกับข้อมูลข้างต้นเพื่อให้มีความชัดเจนมากขึ้น

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, J. (1988). Giant clams: description, distribution and life history. Giant clams in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph, 9(274), 21-33.

Lucas, J. S. (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., Sumida, P. Y., Rädecker, N., & Voolstra, C. R. (2017). Marine Invertebrate Larvae Associated with Symbiodinium: A Mutualism from the Start?. Frontiers in Ecology and Evolution, 5, 56.

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, M., 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. L.-M., & Todd, P. A. (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, A., & Yasin, Z. (2001). Factors affecting the dispersal of Tridacna squamosa larvae and gamete material in the Tioman Archipelago, the South China Sea. Phuket Mar Biol Center Special Pub, 25, 349-356.

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., Sittthaweepat, 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.

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.

<u>ประวัติคณะผู้วิจัย</u>

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาย นางสาว นาง ยศ
   นายไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr., Miss, Mrs., Rank
   Mr.Thaithaworn Lirdwitayaprasit

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน
   3-1015-01142-70-8

3. ตำแหน่งปัจจุบัน
   รองศาสตราจารย์ ดร.
   ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
   ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
   คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   ถนน พญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน
   กรุงเทพฯ 10330
   หมายเลขโทรศัพท์ 02 2185394-95
   หมายเลขโทรสาร 02 2550780
   e-mail : lthaitha@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา
   วท.บ. (วิทยาศาสตร์ทางทะเล), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2524
   วท.ม. (วิทยาศาสตร์ทางทะเล), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2530
   Ph.D. (Marine Ecological Chemistry), Ehime University, Japan, 2533

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแพลงก์ตอนพืช

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย

-

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

ลำดับที่	หัวหน้าโครงการ	โครงการวิจัย	แหล่งทุน	ปีที่ได้	ปีที่คาดว่าจะสำเร็จ
1	รศ.ดร.ไทยถาวร	การจัดตั้งเครือข่ายการวิจัยและการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ทางทะเลชายฝั่งในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โครงการ 5 ปี Asian Core Program	คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	2554-59	2559

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

Takata, Y., Sato, S., Ha, D.V., Montojo, U.M., Lirdwitayaprasit, T., Kamolsiripichaiporn,S., Kotaki, Y., Fukuyo, Y. and M. Kodama. 2009. Occurrence of domoic acid in tropical bivalves. Fish Sci 75:473–480

Sananurak, C., Lirdwitayaprasit, T. and Menasveta. P. 2009. Development of a closed-recirculating, continuous culture system for microalga (*Tetraselmis suecica*) and rotifer (*Brachionus plicatilis*) production. Science Asia. 35: 118-124

Sananurak, C., Lirdwitayaprasit, T., Arlo, W.F. and Menasveta, P. 2009. Effects of L-carnitine on the green microalga, *Tetraselmis suecica*, and euryhaline rotifer, *Brachionus plicatilis*, as food sources for larval white seabase, *Lates calcarifer*.J. Sci.Res.Chula.Univ. Vol.34(1):1-11

Gorcharoenwat, P., Lirdwitayaprasit, T. and Tunkijjanukij, S. 2010. A Comparative Study of *Perna viridis* Production between Long-line and Raft Culture Methods at Siracha District, Chonburi Province. Burapha Sci. J. 15 (2) : 37-46

Lirdwitayaprasit, T., Chuabkarnrai, P., Nitithamayong, C. and Furuya , K. 2012. Effect of salinity on vertical migration of green Noctiluca under laboratory conditions. Coastal Marine Science. 35(1):70-72

Srivilai, D., Lirdwitayaprasit, T. and Fukuyo, Y. 2012. Distribution of dinoflagellate cysts in the surface sediment of the coastal areas in Chonburi Province, Thailand. Coastal Marine Science. 35(1):11-19

Mino, Y., Matsumura, S., Lirdwitayaprasit, T., Fujiki, T., Yanagi, T and Saino, T. 2014. Variations in phytoplankton photo-physiology and productivity in a dynamic eutrophic ecosystem: a fast repetition

rate fluorometer-based study. Journal of Plankton Research.Vol 36(2):398-411.

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

ลำดับที่	หัวหน้าโครงการ	โครงการวิจัย	แหล่งทุน	ปีที่ได้	สถานภาพ (%)
1	รศ.ดร.ไทยถาวร	การจัดตั้งเครือข่ายการวิจัยและการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ทางทะเลชายฝั่งในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ Asian Core Program	คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ	2554-59	80

ผู้ร่วมวิจัย 1

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาย นางสาว นาง ยศ
   นาวาโทอัศวิน คงประเสริฐ
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr., Miss, Mrs., Rank
   LCDR.Aswin Kongprasert

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน
   3-2101-00660-50-1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน
   หน่วยบัญชาการนาวิกโยธิน กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
   หน่วยบัญชาการนาวิกโยธิน กองเรือยุทธการ
   ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ
   จังหวัดชลบุรี 20180
   หมายเลขโทรศัพท์ 038 431279
   หมายเลขโทรสาร 038 431279
   e-mail : aswin4097@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา
   วศ.บ. (ไฟฟ้าอิเล็กทรอนิกส์), โรงเรียนนายเรือ, 2546

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   -
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
   a. ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย
      -
   b. หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย
      -
   c. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)
      -
   d. งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด
      -

ผู้ร่วมวิจัย 2

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาย นางสาว นาง ยศ
   นาวาตรีพุทธิพิพัฒน์ ศรีจันทร์บุญ
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr., Miss, Mrs., Rank
   Lcdr.Puttipipat Srijunboon

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน
   3-3106-00313-67-2

3. ตำแหน่งปัจจุบัน
   หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
   หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ
   ตำบลแสมสาร อำเภอสัตหีบ
   จังหวัดชลบุรี 20180
   หมายเลขโทรศัพท์ 038 431279
   หมายเลขโทรสาร 038 431279
   e-mail : putti_s@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

วศ.บ. (เครื่องกลเรือ), โรงเรียนนายเรือ, 2548

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

-

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

e. ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย

-

f. หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

-

g. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

-

h. งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด