อัตราส่วนที่เหมาะสมของดีเอชเอต่ออีพีเอที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และไรน้ำเค็ม *Artemia* spp. สำหรับการเลี้ยงตัวอ่อนปูม้า *Portunus pelagicus*

นางสาวปริยภัทร ภัทรธำรง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5172357423

OPTIMAL RATIO OF DHA TO EPA ENRICHED IN ROTIFER *Brachionus rotundiformis* AND BRINE SHRIMP *Artemia* spp. FOR FEEDING BLUE SWIMMING CRAB *Portunus pelagicus* LARVAE

Miss Priyapat Pattaratamrong

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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 2010

Copyright of Chulalongkorn University

530557

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อัตราส่วนที่เหมาะสมของดีเอชเอต่ออีพีเอที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และไรน้ำเค็ม *Artemia* spp. สำหรับการเลี้ยงตัวอ่อนปูม้า *Portunus pelagicus*
โดย	นางสาวปริยภัทร ภัทรธำรง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. วารินทร์ ธนาสมหวัง

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิติธรรมยง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร. วารินทร์ ธนาสมหวัง)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศานิต ปิยพัฒนากร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. พนิดา อุนะกุล)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริยภัทร ภัทรธำรง : อัตราส่วนที่เหมาะสมของดีเอชเอต่ออีพีเอที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และ *Artemia* spp. สำหรับการเลี้ยงตัวอ่อนปูม้า *Portunus pelagicus.* (OPTIMAL RATIO OF DHA TO EPA ENRICHED IN ROTIFER *Brachionus rotundiformis* AND BRINE SHRIMP *Artemia* spp. FOR FEEDING BLUE SWIMMING CRAB *Portunus pelagicus* LARVAE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ดร. วารินทร์ ธนาสมหวัง, 63 หน้า.

ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และ *Artemia* spp. เพื่อเป็นอาหารปูม้า *Portunus pelagicus* ระยะวัยอ่อน โดยมีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอ 9 ชุดการทดลอง คือ 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2, และ 3:3 เลี้ยงและอนุบาลตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 จนถึงระยะ first crab โดยเสริมผ่านโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียที่เป็นอาหารลูกปูม้าระยะต่างๆ ทำการเสริมกรดไขมันตามสัดส่วนดังกล่าวเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงและให้ตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 2 และระยะซูเอีย 3 ถึงระยะ first crab ตามลำดับ ชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 2:2 มีอัตรารอดของลูกปู 24.44 ±5.56 % เท่ากับลูกปูในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:2 มีอัตรารอด 24.44 ±8.89 % ส่วนชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 ให้ระยะเวลาระหว่างการลอกคราบของตัวอ่อนปูในระยะซูเอีย 2, 3 และ 4 น้อยที่สุด ทั้งนี้พบว่าตัวอ่อนปูม้ามีการสะสม HUFA มากที่สุดในระยะ first crab โดยที่ในตัวอ่อนระยะซูเอีย 3 และระยะเมกาโลปา มีการสะสมค่อนข้างใกล้เคียงกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล ลายมือชื่อนิสิต ปริยภัทร ภัทรธำรง

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ปีการศึกษา 2553 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5172357423 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORDS : DHA EPA *P. pelagicus* larvae *B. rotundiformis Artemia* spp.

PRIYAPAT PATTARATAMRONG: OPTIMAL RATIO OF DHA TO EPA ENRICHED IN ROTIFER *Brachionus rotundiformis* AND BRINE SHRIMP *Artemia* spp. FOR FEEDING BLUE SWIMMING CRAB *Portunus pelagicus* LARVAE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : VARIN TANASOMWANG, Ph.D., 63 pp.

The study on an optimal ratio of high polyunsaturated fatty acids, DHA to EPA enriched in rotifer *Brachionus rotundiformis* and brine shrimp *Artemia* spp. for feeding blue swimming crab *Portunus pelagicus* larvae was carried out. Nine different ratios of DHA:EPA; 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2, and 3:3 were enriched to rotifer and brine shrimp for 12 hours and then harvested to feed different larval stages of *P. pelagicus*; from hatched eggs, zoea 1-2 and zoea 3- first crab. The results showed that DHA:EPA 2:2 and DHA:EPA 3:2 gave the best survival rate for zoea 1- first crab, 24.44 ±5.56 % and 24.44 ±8.89 % respectively. DHA:EPA 3:3 gave the shortest intermolt period in stages of zoea 2, 3, and 4. The experimental results also showed the most accumulation of highly unsaturated fatty acid (HUFA) in first crab, while in zoea 3 and megalopa had no difference.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department : MARINE SCIENCE Student's Signature : ปริยภัทร ภัทรธำรง

Field of Study : MARINE SCIENCE Advisor's Signature :

Academic Year : 2010 Co-Advisor's Signature :

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือทุกด้าน รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.วารินทร์ ธนาสมหวัง ที่ให้คำปรึกษาและให้ความอนุเคราะห์สถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับการทำงานวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจทานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศานิต ปิยพัฒนากร และดร.พนิดา อุนะกุล สำหรับคำแนะนำต่างๆ ในการทำวิจัย รวมถึงร่วมเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และตรวจแก้ไขข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นกับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่คอยประสิทธ์ประสาทวิชาความรู้และแนะแนวทางที่ถูกต้องให้แก่ข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร กรมประมง ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือต่างๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณเสรี ดอนเหนือ คุณอรนุช พฤษศรี คุณชัยยุทธ พุทธิจุน และเจ้าหน้าที่โรงเพาะฟักของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาครทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ คอยถามไถ่และให้กำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ พี่ๆ น้องๆ และเพื่อนนิสิตภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ทั้งที่จบการศึกษาไปแล้วและที่ยังศึกษาอยู่ ที่คอยให้กำลังใจ และขอบคุณปูม้าทุกๆ ตัวที่ต้องเสียสละชีวิตเพื่อการศึกษาในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าทุกคนที่คอยให้ทั้งความรัก ความห่วงใย และเป็นแรงผลักดันให้ข้าพเจ้าทำงานต่างๆ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1 บทนำ..... 1

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

- ชีววิทยาของปูม้า..... 3
- การพัฒนาการของปูม้าวัยอ่อน..... 5
- ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาและการรอดตายของตัวอ่อนปูม้าในการเพาะเลี้ยง..... 6
- การเพาะเลี้ยงปูม้า..... 10
- องค์ประกอบทางเคมีของปูม้าระยะวัยอ่อน..... 12
- ชีววิทยาของโรทิเฟอร์..... 13
- การเพาะเลี้ยงโรทิเฟอร์..... 17
- ปัจจัยที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงโรทิเฟอร์..... 17
- องค์ประกอบทางเคมีของโรทิเฟอร์..... 17
- ชีววิทยาของอาร์ทีเมีย..... 18
- ความเหมาะสมของอาร์ทีเมียเพื่ออนุบาลปูม้าระยะวัยอ่อน..... 20
- กรดไขมัน..... 21
- บทบาทของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อสัตว์น้ำ..... 22
- การเสริมกรดไขมันเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อน..... 23

3 วิธีดำเนินการวิจัย

- สถานที่ทำการทดลอง..... 24
- การวางแผนการทดลอง..... 24
- การเลี้ยงและเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงแก่โรทิเฟอร์ เพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3..... 25
- การเพิ่มกรดไขมันในอาร์ทีเมียเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 4 ถึงระยะ first crab..... 26

หน้า

- สัตว์ทดลอง…..... 27
- การทดลองอนุบาลตัวอ่อนปูม้า เพื่อศึกษาอัตรารอด…….. 28
- การทดลองอนุบาลตัวอ่อนปูม้า เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน…….. 28
- การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของตัวอย่าง……. 29
- การเก็บข้อมูล ประเมินผล และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ…….. 29

4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล
- การอนุบาลตัวอ่อนปูม้าเพื่อศึกษาอัตรารอดและการเจริญเติบโต…….. 30
- การวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในตัวอย่างโรทิเฟอร์ อาร์ทีเมีย และตัวอ่อนปูม้า..... 35

5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ
- อภิปรายผลการทดลอง..... 50
- สรุปผลการวิจัย…….. 54
- ข้อเสนอแนะ…….. 54

รายการอ้างอิง……..……..…..... 55
ภาคผนวก…… 60
ภาคผนวก ก……..... 61
ภาคผนวก ข……..….. 62
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 63

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในโรทิเฟอร์ที่ไม่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันและผ่านการเพิ่มกรดไขมัน.....	18
2	สมการเชิงเส้นแสดงการรอดตายของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab ของแต่ละชุดการทดลอง.....	30
3	เปอร์เซ็นต์การรอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab ในแต่ละชุดการทดลอง.....	32
4	เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างโรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในแต่ละชุดการทดลอง.....	40
5	เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างอาร์ทีเมียแรกฟักที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในแต่ละชุดการทดลอง.....	42
6	เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 3 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	44
7	เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะเมกาโลปาในแต่ละชุดการทดลอง.....	46
8	เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab ในแต่ละชุดการทดลอง.....	48

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะของปูม้าเพศผู้และปูม้าเพศเมีย……	3
2	ปูม้าไข่นอกกระดองสีต่างๆ……	4
3	วงจรชีวิตของปูม้าตั้งแต่ฟักออกจากไข่ ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 ระยะเมกาโลปา ระยะ first crab และปูม้าโตเต็มวัย……..	6
4	ปูม้าไข่นอกกระดองสีเทาดำที่นำมาใส่ในตะกร้าพลาสติก 2 อันประกบกัน จากนั้นลอยตะกร้าไว้ในบ่ออนุบาล เพื่อให้ไข่ฟักออกเป็นตัว…….……	10
5	ปูม้าไข่นอกกระดองสีส้ม นำมาเพาะฟักในถังขนาด 150 ลิตร ที่มีสแลนกางปกคลุม เพื่อพรางแสง…….....	10
6	ขั้นตอนการแยกไข่ออกจากตับปิ้ง โดยใช้มือถูตับปิ้งเบาๆ ในน้ำ กรองสิ่งสกปรกจากไข่ ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำทะเลประมาณ 3-4 ครั้ง และฟักไข่ที่ผ่านขั้นตอนข้างต้นในถังฟักทรงสูง……..……..	11
7	ลักษณะของโรทิเฟอร์ Class Monogononta สกุล *Brachionus* เพศผู้ และเพศเมีย……..……	14
8	ระบบสืบพันธุ์ของโรทิเฟอร์ใน Class Monogononta……..	15
9	วงจรชีวิตของโรทิเฟอร์ใน Class Monogononta…….	16
10	อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยและอาร์ทีเมียแรกฟัก……..……	19
11	วงจรชีวิตของอาร์ทีเมีย……..	20
12	การเพิ่มจำนวนคาร์บอนและการเพิ่มพันธะคู่ของกรดไขมันที่มีสารตั้งต้นจาก C16:0 และจากอาหาร (C18:2n-6; C18:3n-3).....	22
13	บ่อซีเมนต์ขนาด 12 ตัน สำหรับเลี้ยงคลอเรลลาและโรทิเฟอร์……...	25
14	การเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวแก่โรทิเฟอร์ ทั้ง 9 ชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง……..	26
15	การลำเลียงปูม้าไข่นอกกระดองโดยใส่กล่องโฟมที่มีน้ำทะเลและให้อากาศตลอดเวลา ตับปิ้งไข่ที่ตัดจากปูม้า การแยกไข่ออกจากตับปิ้งโดยใช้มือเขี่ยเบาๆ ในน้ำ กรองสิ่งสกปรกออกจากไข่ ล้างไข่ให้สะอาดด้วยน้ำทะเล 3-4 ครั้ง ฟักไข่ในถังฟัก 100 ลิตร โดยแยกสีของไข่…….....	27
16	ภาชนะพลาสติกใช้อนุบาลปูม้าขนาด 15 มิลลิลิตร ชุดการทดลองละ 30 ภาชนะ เพื่อทดลองอัตราส่วนกรดไขมันทั้ง 9 ชุดการทดลอง…….....	28

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
17	ภาชนะอนุบาลตัวอ่อนปูม้าขนาด 60 ลิตร เพื่อนำตัวอ่อนไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน ทั้ง 9 ชุดการทดลอง ……	29
18	กราฟจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกปูใช้พัฒนาการในระยะซูเอีย 1, ระยะซูเอีย 2, ระยะซูเอีย 3, ระยะซูเอีย 4 และระยะเมกาโลปาก่อนพัฒนาเข้าสู่ระยะ first crab……..	33
19	กราฟจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกปูแต่ละชุดการทดลองอยู่ในระยะระยะซูเอีย 1, ระยะซูเอีย 2, ระยะซูเอีย 3, ระยะซูเอีย 4 และระยะเมกาโลปาก่อนลอกคราบเข้าสู่ระยะ first crab…….……....	34
20	กราฟอัตรารอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab …….….....	62

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปูม้า *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นอกจากบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังเป็นวัตถุดิบของโรงงานผลิตอาหารกระป๋องเพื่อส่งออก ในรูปของผลิตภัณฑ์เนื้อปูแช่เย็นและเนื้อปูกระป๋อง โดยผลิตผลปูม้าส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ ช่วงเวลาที่ผ่านมามีการทำประมงปูม้าจนเกินศักยภาพ ส่งผลให้ปริมาณปูม้าในทะเลไทยถดถอยลงทุกปี จาก 41,250 เมตริกตัน ในปี 2542 เหลือเพียง 24,221 เมตริกตัน ในปี 2550 (กรมประมง, 2550) และมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง จากความนิยมในการบริโภคและความต้องการเนื้อปูเพื่อส่งออกที่เพิ่มขึ้นดังกล่าว ทำให้มีการจับโดยไม่เลือกขนาดเป็นเหตุให้ปูม้าส่วนใหญ่ตายก่อนถึงวัยเจริญพันธุ์หมดโอกาสขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนประชากร

การเพาะเลี้ยงปูม้าเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้มีผลผลิตปูม้าอย่างยั่งยืน แต่การทำฟาร์มเพาะเลี้ยงปูม้าในปัจจุบันมักประสบปัญหาผลผลิตที่ได้ไม่สม่ำเสมอและมีอัตรารอดของตัวอ่อนต่ำ เนื่องจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการพัฒนาและการรอดตายของตัวอ่อนนั้นมีหลากหลาย ทั้งปัจจัยทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม แสงสว่าง ความเป็นกรดด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ เป็นต้น และปัจจัยทางชีวภาพ เช่น ความหนาแน่นของตัวอ่อนที่เลี้ยง ความหนาแน่นของอาหารที่ให้ ล้วนส่งผลต่อความรุนแรงของพฤติกรรมการกินกันเอง รวมถึงการให้อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมกับการอนุบาลปูม้าวัยอ่อน น่าจะเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตรารอดของตัวอ่อนมากที่สุด ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับความต้องการด้านสารอาหารประเภทกรดไขมันของตัวอ่อนมีน้อย ดังนั้นการเพิ่มกรดไขมันในอาหารที่ใช้อนุบาลปูม้าวัยอ่อนจึงมีความน่าสนใจ

วงจรชีวิตของปูม้ามีพัฒนาการ 3 ระยะ คือ ระยะซูเอีย (zoea) ระยะเมกาโลปา (megalopa) และระยะปูวัยรุ่น (young crab) โดยที่ระยะซูเอีย แบ่งเป็น 4 ระยะย่อย คือ ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 ตัวอ่อนปูจะดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนล่องลอยอยู่ในมวลน้ำ ช่วงระยะซูเอีย 1 ถึง ระยะซูเอีย 2 นี้ฟาร์มเพาะเลี้ยงทั่วไปจะให้โรทิเฟอร์เป็นอาหาร เมื่อตัวอ่อนปูมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะซูเอีย 3 จะให้โรทิเฟอร์ผสมกับอาร์ทีเมียแรกฟัก จนกระทั่งตัวอ่อนปูเข้าสู่ระยะซูเอีย 4 ระยะเมกาโลปา และระยะ first crab จะให้อาหารเป็นอาร์ทีเมียแรกฟักเพียงอย่างเดียว จากนั้นตัวอ่อนปูจะดำรงชีวิตในระยะ first crab เป็นเวลา 7-10 วัน จึงลอกคราบเข้าสู่ระยะปูวัยรุ่น เนื่องจากโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงให้เป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้านั้น มักมีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า-3 ชนิด eicosapentaenoic acid (EPA:20:5n-3) และ

docosahexaenoic acid (DHA: 22:6n-3) ต่ำ (Estevez et al., 1999) อีกทั้งตัวอ่อนปูม้าขาดความสามารถในการเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันโอเมก้า-3 ที่มีสารตั้งต้นเป็นกรดลิโนเลนิก (18:3 n-3) ให้เป็น EPA (20:5 n-3) หรือ DHA (22:6 n-3) (Levine and Sulkin, 1984) ซึ่งกรดไขมัน EPA มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของตัวอ่อน ส่วนกรดไขมัน DHA จะช่วยเร่งให้ระยะเวลาระหว่างการลอกคราบสั้นลง และช่วยให้กระดองของตัวอ่อนปูมีความกว้างเพิ่มมากขึ้น (Takeuchi et al., 1999) ดังนั้นการเพิ่มกรดไขมันโอเมก้า 3 เหล่านี้ ให้กับโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียด้วยสารผสมของน้ำมันจากปลาทะเลให้เป็นอาหารแก่ตัวอ่อนจะทำให้ โรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียส่งผ่านสารอาหารไปยังตัวอ่อนได้ และน่าจะส่งผลให้ตัวอ่อนปูม้ามีสารอาหารเหมาะสมเพียงพอ มีอัตรารอดและอัตราการเจริญที่สูงขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของกรดไขมัน DHA ต่อ EPA ที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และไรน้ำเค็ม *Artemia* spp. สำหรับเลี้ยงปูม้า *Portunus pelagicus* ระยะวัยอ่อน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลของกรดไขมัน DHA ต่อ EPA ที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และไรน้ำเค็ม *Artemia* spp. ที่อัตราส่วนต่างกัน 9 อัตราส่วน (1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2 และ 3:3) ต่อการเติบโต อัตรารอดตายของตัวอ่อนปูม้า ตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 จนมีพัฒนาการถึงระยะ first crab

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบอัตราส่วนที่เหมาะสมของกรดไขมัน DHA ต่อ EPA ที่เสริมในโรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และไรน้ำเค็ม *Artemia* spp. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านสารอาหารสำหรับใช้เลี้ยงปูม้า *Portunus pelagicus* ระยะวัยอ่อนต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

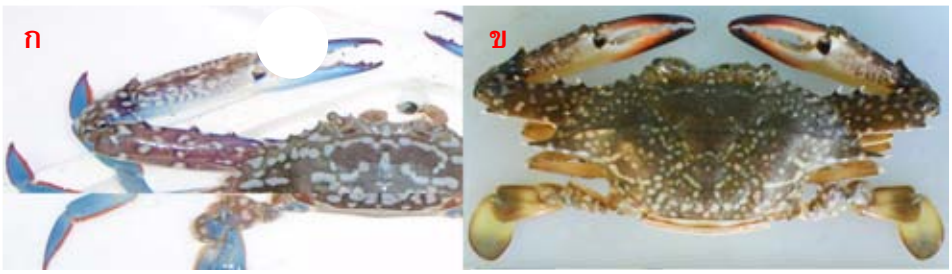
2.1 ชีววิทยาของปูม้า

อนุกรมวิธาน

ปูม้า (*Portunus pelagicus*) จำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้ Phylum Arthropoda, Class Crustacea, Order Decapoda, Family Portunidae, Genus *Portunus*, Species *Portunus pelagicus*

ลักษณะทั่วไป

ลักษณะสัณฐานทั่วไปแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนหัว (head) ส่วนอก (thorax) และส่วนท้อง (abdomen) ส่วนหัวและอกจะเชื่อมติดกันเรียกว่า cephalothorax มีกระดอง (carapace) หุ้มตอนบน ด้านข้างทั้งสองของกระดองจะเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อยเป็นหนามแหลมข้างละ 9 อัน ปูม้ามีขาทั้งหมด 5 คู่ คู่แรกจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นก้ามขนาดใหญ่เพื่อใช้ป้องกันตัวและจับเหยื่อ ปลายสุดของขาคู่ที่ 2-4 มีลักษณะแหลมใช้เป็นขาเดิน (walking legs) ส่วนปลายขาคู่ที่ 5 มีลักษณะแบนคล้ายใบพายใช้เป็นขาว่ายน้ำ (swimming legs) ส่วนท้อง (abdomen) มีวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลงไปเป็นแผ่นบางเรียกว่า "จับปิ้ง" พับอยู่ใต้กระดอง ในเพศเมียจับปิ้งมีลักษณะขยายกว้างปิดคลุมเกือบเต็มหน้าอก รยางค์คู่ที่ 2-5 จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นรยางค์ยาว ซึ่งตามขอบของรยางค์เหล่านี้จะมีขนเล็กๆ คล้ายขนนก เพื่อให้ไข่เกาะติดในฤดูกาลวางไข่ จับปิ้งของเพศผู้เป็นรูปสามเหลี่ยมเล็ก แคบและยาว รยางค์อกคู่แรกจะเรียวแหลม เพศผู้มีลำตัวสีฟ้าอ่อนมีจุดสีขาวตกกระทั่วไปบนกระดองและก้ามคลุมไปจนถึงขาว่ายน้ำ พื้นท้องเป็นสีขาว ปลายขามีสีฟ้า ปูม้าเพศเมียมีกระดองสีน้ำตาลอ่อน มีตุ่มขรุขระบนกระดองเด่นชัดกว่าเพศผู้ สีตุ่มออกเขียวคล้ำ ไม่มีจุดสีขาวบนกระดอง ปลายขามีสีม่วงแดง ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ลักษณะของปูม้าเพศผู้ (ก) และปูม้าเพศเมีย (ข)

การผสมพันธุ์

ปูม้าสามารถผสมพันธุ์ได้เมื่อมีอายุประมาณ 3 เดือน ขนาดความยาวกระดองประมาณ 4.5 เซนติเมตร ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ปูเพศผู้ตัวหนึ่งสามารถผสมพันธุ์กับปูเพศเมียได้หลายตัว โดยก่อนการผสมพันธุ์ประมาณ 7-10 วัน ปูเพศผู้จะลอกคราบ เมื่อกระดองมีความแข็งแรงเต็มที่จะเริ่มหาปูเพศเมียที่โตเต็มวัย กำลังจะมีการลอกคราบและพร้อมผสมพันธุ์ จากนั้นปูเพศผู้จะเกาะหลังปูเพศเมียที่พบประมาณ 3-4 วัน จนกระทั่งปูเพศเมียลอกคราบ ลำตัวอ่อนนุ่ม ปูเพศผู้จะแทรกลำตัวเข้าไประหว่างจับปิ้งของปูเพศเมีย ขณะเดียวกันจะใช้ก้ามหนีบโคนก้ามของปูเพศเมียเพื่อรั้งให้นิ่ง จากนั้นสอดอวัยวะเพศผู้ที่มีลักษณะเรียวยาวเป็นคู่เข้าไปบริเวณรูเปิดใต้จับปิ้งปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปเก็บที่บริเวณถุงเก็บน้ำเชื้อของปูเพศเมีย ในขณะผสมพันธุ์ปูเพศผู้จะใช้รยางค์คู่สั้นยึดหน้าท้องปูทั้งสองตัวให้ติดกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมพันธุ์ โดยขั้นตอนเหล่านี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 12-15 ชั่วโมง หลังจากผสมพันธุ์ปูเพศเมียจะกลับตัวอยู่ในท่าปกติ ปูเพศผู้ยังคงเกาะหลังปูเพศเมียต่อไปประมาณ 1-2 วันจนกระทั่งปูเพศเมียกระดองแข็งจึงแยกตัวออก หลังจากผสมพันธุ์ประมาณ 20-30 วัน ไข่จะถูกส่งมาตามท่อนำไข่เพื่อผสมกับน้ำเชื้อแล้วส่งไปเก็บไว้ที่หน้าท้อง รยางค์อกจะเปลี่ยนแปลงไปเพื่อรับการเกาะของไข่ ไข่ที่ได้รับการผสมจะมีขนาดโตขึ้นจนล้นจับปิ้ง เรียกระยะนี้ว่าปูไข่นอกกระดอง ภายในระยะเวลา 10-15 วัน ไข่จะมีการเปลี่ยนสีจากเหลืองอมส้มเป็นสีเหลืองปนเทา สีเทา และสีเทาอมดำ ตามลำดับ หลังจากนั้นแม่ปูจะใช้ขาเดินเขี่ยไข่สีดำซึ่งแก่เต็มที่ให้หลุดจากจับปิ้งล่องลอยไปในทะเล ไข่จะใช้ระยะเวลาฟักเป็นตัวประมาณ 1-2 วัน

รูปที่ 2 ปูม้าไข่นอกกระดองสีต่างๆ

การพัฒนาการของปูม้าวัยอ่อน

ปูม้าวัยอ่อนมีพัฒนาการ 3 ระยะ คือ ระยะซูเอีย (zoea) ระยะเมกาโลปา (megalopa) และระยะปูวัยรุ่น (young crab) ระยะซูเอียแบ่งออกเป็น 4 ระยะย่อย คือระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 โดยการพัฒนาจากระยะหนึ่งไปสู่อีกระยะหนึ่งในระยะซูเอียนี้ ใช้ระยะเวลา 1-2 วัน รวมระยะเวลาที่ลูกปูฟักออกจากไข่จนกระทั่งเข้าสู่ระยะเมกาโลปาใช้ระยะเวลาประมาณ 7-10 วัน จากนั้นลูกปูจะดำรงชีวิตในระยะเมกาโลปาเป็นเวลา 3-5 วัน จึงลอกคราบเข้าสู่ระยะ first crab รวมเวลาที่ใช้ในการพัฒนาหลังจากที่ฟักออกจากไข่จนเข้าระยะ first crab นั้นประมาณ 15-20 วัน ขึ้นกับอุณหภูมิ ความเค็ม และคุณภาพของอาหาร หลังจากนั้นประมาณ 7-10 วัน ระยะ first crab จะลอกคราบเข้าสู่ระยะปูวัยรุ่น ดังรูปที่ 3

รายละเอียดการพัฒนาการในระยะต่างๆ ของปูม้า มีดังนี้

1. ระยะซูเอีย (zoea)

ซูเอียระยะที่ 1 เป็นตัวอ่อนระยะแรกของลูกปูม้าหลังฟักออกจากไข่ จนกระทั่งมีอายุประมาณ 3-4 วัน ส่วนของลำตัวรวมกับส่วนอกเรียกว่า cephalothorax ซึ่งจะมี dorsal spine และ lateral spine ตาเป็นแบบตารวม (compound eye) ติดอยู่ในเบ้าตา ลำตัวแบ่งเป็น 6 ปล้อง แพนหางมีลักษณะเว้าลึกสองแฉก

ซูเอียระยะที่ 2 ส่วนของ cephalothorax มีขนาดใหญ่ขึ้น ตาเริ่มมีก้านตา ขนบริเวณปล้องและปลายรยางค์ต่างๆ มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากระยะซูเอีย 1

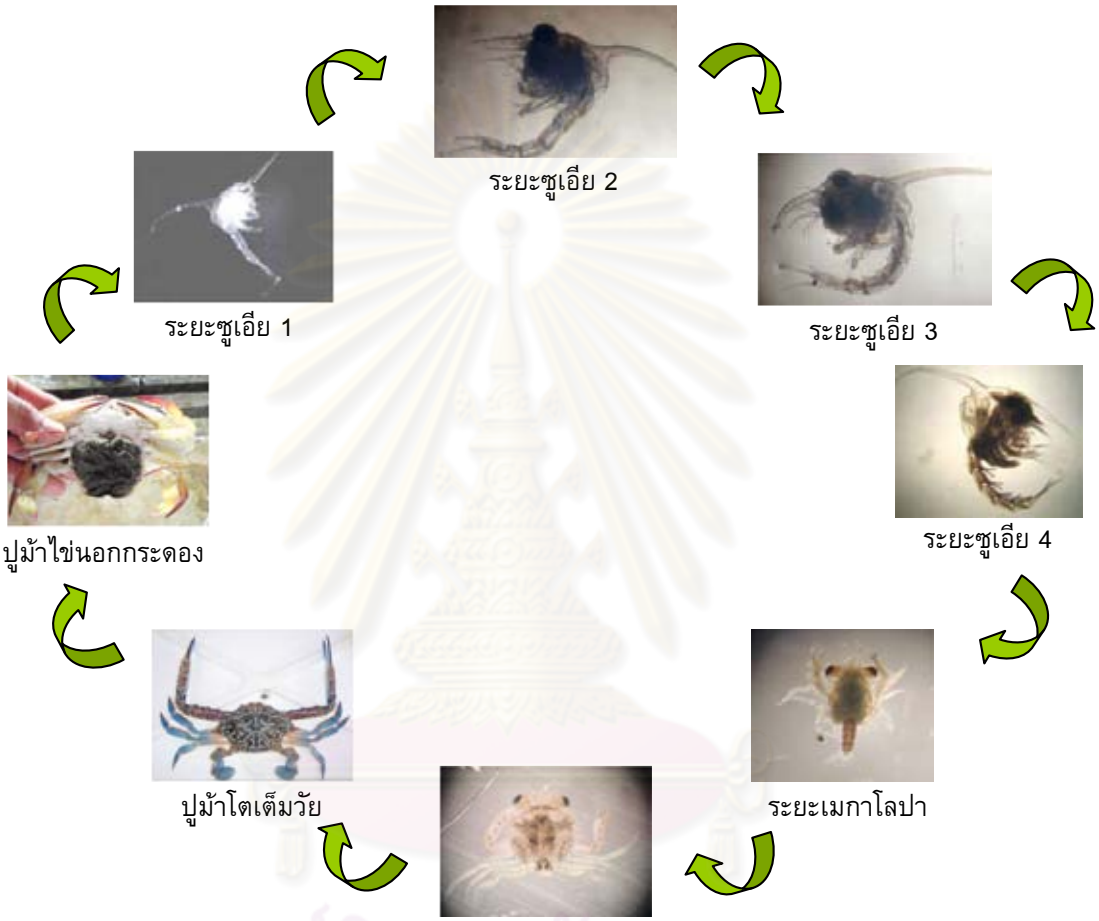
ซูเอียระยะที่ 3 ลูกปูมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงไป เกิด pleopod ขึ้นตามบริเวณปล้องต่างๆ ของลำตัว ตอนกลางของหางส่วนที่เป็นแฉกจะมีขนเล็ก 2 เส้น

ซูเอียระยะที่ 4 เหงือกมีการพัฒนาขึ้น ส่วนของ pleopod bud เริ่มแบ่งเป็นข้อปล้อง (segment) อย่างชัดเจน และขยายใหญ่ขึ้นมาก ปล้องที่ 6 ของลำตัวจะแยกออกจากส่วนของหาง ขาเดินคู่ที่ 1 เปลี่ยนเป็นก้าม ตอนกลางของส่วนหางมีขนเพิ่มขึ้น

2. ระยะเมกาโลปา (megalopa) หลังจากที่ลูกปูมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะซูเอียที่ 4 แล้วจะทำการลอกคราบเพื่อการเจริญเข้าสู่ระยะเมกาโลปา ส่วนของ cephalothorax จะไม่มีทั้ง dorsal และ lateral spine ส่วน carapace แผ่ขยายเป็นรูปสี่เหลี่ยมบริเวณด้านหน้ามีกรี (rostrum) ขาเดินคู่แรกเปลี่ยนเป็นก้ามหนีบ ปล้องสุดท้ายของขาเดินคู่ที่ 5 เปลี่ยนแปลงเป็นใบพายสำหรับว่ายน้ำ มีขาว่ายน้ำ (pleopod) บนปล้องที่ 2-6 ของส่วนลำตัว หางแบบ uniramous ตอนปลายมีลักษณะโค้งกลม

3. ระยะปูวัยรุ่น (young crab) มีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยทุกประการ กระดองค่อนข้างกลม เมื่อเข้าสู่ระยะปูวัยรุ่นแล้ว ลูกปูจะเปลี่ยนนิสัยจากสัตว์ที่หากินตามผิวน้ำเป็นสัตว์ที่หากินตามหน้าดิน

ในช่วงการลอกคราบของตัวอ่อนระยะซูเอียที่ 4 เป็นระยะเมกาโลปาและจากระยะเมกาโลปาเป็นระยะปูวัยรุ่น มักพบปรากฏการณ์ที่เรียกว่า molting death syndrome เป็นการที่ตัวอ่อนไม่สามารถสลัดคราบเก่าออกได้หมดก่อนที่คราบใหม่จะแข็งตัวส่งผลให้เกิดการตายของตัวอ่อนเป็นจำนวนมาก (Williams et al., 1999)



รูปที่ 3 วงจรชีวิตของปูม้าตั้งแต่ฟักออกจากไข่ ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 ระยะเมกาโลปา ระยะ first crab และปูม้าโตเต็มวัย

ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาและการรอดตายของตัวอ่อนปูม้าในการเพาะเลี้ยง

1. *อุณหภูมิ* อุณหภูมิน้ำต่ำมักทำให้ตัวอ่อนปูมีระยะเวลาพัฒนาการนานขึ้น จากการทดลองของ Bryars และ Havenhand (2006) พบว่า ที่อุณหภูมิ 22.5 และ 25 องศาเซลเซียส ตัวอ่อนปูม้าจะมีอัตรารอดสูงกว่าที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส และมีช่วงการพัฒนาของตัวอ่อนสั้นกว่า แม้อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ตัวอ่อนปูเจริญเติบโตเร็ว เพราะมีตัวเร่งการใช้พลังงาน แต่มีผลทำให้เกิดการแก่งแย่งอาหาร ตัวที่โตเร็วกว่าจะกินตัวอื่นๆ ทำให้อัตราการรอดตายต่ำมาก

2. *ความเค็ม* เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกปูม้าในแต่ละระยะอย่างสูง ความเค็มของน้ำทะเลที่เหมาะสมในการฟักไข่ปูม้าอยู่ในช่วง 27-35 ส่วนในพันส่วน ในการทดลองของ วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) พบว่าความเค็มน้ำที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 คือ 25 ส่วนในพันส่วน ซึ่งลูกปูที่อนุบาลมีอัตรารอดตายเฉลี่ยสูงกว่าที่อนุบาลในความเค็ม 35 ส่วนในพันส่วน อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) นอกจากนั้นยังมีขนาดใหญ่กว่าอย่างชัดเจน ส่วนการทดลองอนุบาลลูกปูในระยะซูเอีย 4 ถึงระยะ young crab พบว่า ลูกปูที่อนุบาลในน้ำความเค็ม 23 และ 25 ส่วนในพันส่วน มีอัตรารอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 25.33 ±5.61 และ 21.44 ±1.22% ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่อนุบาลในน้ำความเค็ม 27 ส่วนในพันส่วน (13.36 ±1.45%) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

3. *แสงสว่าง* ตัวอ่อนปูจำเป็นต้องใช้แสงสว่างในการหาอาหาร เนื่องจากปูม้าเป็นพวกสัตว์กินเนื้อ ในตอนกลางคืนปูวัยอ่อนจึงมีการกินอาหารน้อยมาก เพราะมองไม่เห็นเหยื่อ ดังนั้นควรมีการเปิดไฟให้แสงสว่างกระจายในบ่อเลี้ยงอย่างทั่วถึง เพื่อลดการรวมกลุ่ม ป้องกันการกินกันเองและช่วยลดความเครียดให้แก่ตัวอ่อนปู เห็นได้จากการทดลองของ Andrés และคณะ (2010) ที่ทดลองอนุบาลลูกปูม้า *Portunus pelagicus* จากระยะซูเอีย 1 ถึงระยะเมกาโลปาภายใต้ช่วงเวลาที่มีแสงแตกต่างกัน (0L: 24D, 6L: 18D, 12L: 12D, 18L: 6D, และ 24L: 0D) พบว่า อัตรารอดของลูกปูในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยลูกปูที่อนุบาลในที่มืดตลอดเวลา (0L: 24D) มีอัตรารอดต่ำที่สุด (19.2±7.2%) และลูกปูที่อนุบาลช่วงที่มีแสง 18 ชั่วโมงและไม่มีแสง 6 ชั่วโมง มีอัตรารอดสูงสุด (51.2±23.6%) อีกทั้งลูกปูที่อนุบาลในที่มืดตลอดเวลามีเวลารวมระหว่างการลอกคราบในระยะซูเอียนานที่สุด (10.8±1.8 วัน) ในขณะที่ลูกปูที่อนุบาลช่วงที่มีแสง 18 ชั่วโมงและไม่มีแสง 6 ชั่วโมง มีระยะเวลาการพัฒนาสั้นที่สุด (8.5±0.3 วัน) นอกจากนี้ยังพบว่าลูกปูที่อนุบาลในที่มืดตลอดเวลามีความกว้างกระดองน้อยที่สุด (1.44±0.09 มิลลิเมตร) และมีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด (0.536±0.188 มิลลิกรัม)

4. *ความเป็นด่าง (alkalinity)* จากการทดลองอนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 พบว่าลูกปูที่เลี้ยงด้วยน้ำที่มีความเป็นด่าง 150 มิลลิกรัม/ลิตร มีอัตรารอดตายสูงกว่าและมีขนาดความกว้างส่วนหัวเฉลี่ยมากกว่าลูกปูที่เลี้ยงด้วยน้ำที่มีความเป็นด่าง 100 และ 200 มิลลิกรัม/ลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ในการทดลองเลี้ยงลูกปูม้าระยะซูเอีย 4 ถึงระยะ young crab พบว่าลูกปูที่เลี้ยงด้วยน้ำที่มีความเป็นด่าง 200 มิลลิกรัม/ลิตร มีอัตรารอดตายเฉลี่ยสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับลูกปูที่เลี้ยงด้วยน้ำที่มีความเป็นด่าง 100 และ 150 มิลลิกรัม/ลิตร (วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ, 2548)

5. *ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ* ค่าออกซิเจนละลายน้ำปกติอยู่ที่ 4-8 มิลลิกรัมต่อลิตร การที่มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำต่ำมากจะทำให้ตัวอ่อนปูอ่อนแอ หากยังคงลดต่ำลงอาจทำให้ตัวอ่อนปูตายในที่สุด นอกจากนั้นการให้อาหารในปริมาณที่มากเกินไปจะเกิดการใช้ออกซิเจนที่อยู่ในน้ำเพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้ออกซิเจนขาดแคลนเร็วขึ้น และลูกปูตายได้ง่าย

6. *ความเป็นกรด-ด่าง (pH)* หากอนุบาลตัวอ่อนปูม้าที่ pH ต่างจากน้ำทะเลปกติ อาจส่งผลต่ออัตรารอดตายและการเจริญเติบโตของลูกปูม้า ดังการศึกษาการอนุบาลลูกปูที่โดยใช้น้ำทะเลที่มี pH 8.5 มีอัตรารอดตายเฉลี่ย (71.66 ±2.09%) สูงกว่าการใช้น้ำทะเลที่มี pH 8.0 (59.92 ±3.09%) และ pH 9.0 (49.04 ±4.36%) นอกจากนี้ลูกปูที่อนุบาลโดยใช้น้ำทะเล pH 8.5 ยังมีขนาดเฉลี่ยใหญ่กว่าลูกปูที่อนุบาลโดยใช้น้ำทะเล pH 8.0 และ 9.0 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ, 2548)

7. *ที่กำบังหรือที่หลบซ่อน* หลังจากลูกปูเข้าสู่ระยะซูเอีย 4 จะมีการพัฒนาก้ามดีขึ้น ทำให้ลูกปูมีพฤติกรรมชอบกินพวกเดียวกันเอง (cannibalism) ซึ่งมีผลทำให้มีอัตราการตายสูงมาก จึงควรหาวัสดุสำหรับเป็นที่ซ่อนตัว จากการศึกษาของ วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) พบว่า ลูกปูที่อนุบาลโดยให้ที่หลบซ่อนเป็นเชือกฟางคล้ายสาหร่ายเทียมมีอัตรารอดตายเฉลี่ย (31.52 ±0.95%) สูงกว่าที่ให้ที่หลบซ่อนเป็นแสลนสาหร่ายเทียม (23.60 ±0.58%) และถาดทราย (14.24 ±2.14%) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ขนาดของลูกปูในแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

8. *ความหนาแน่นของตัวอ่อนปู* เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตรารอดของตัวอ่อนปูเช่นกัน จากผลการศึกษาของวารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) พบว่า ลูกปูระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 ที่อนุบาลในความหนาแน่น 50,000 ตัว/ลูกบาศก์เมตร มีอัตรารอดตาย 64.82 ±4.84 % และมีความกว้างส่วนหัวโดยเฉลี่ยมากกว่าลูกปูที่อนุบาลด้วยความหนาแน่น 100,000 ตัว/ลูกบาศก์เมตร และ 150,000 ตัว/ลูกบาศก์เมตร อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนการอนุบาลลูกปูระยะซูเอีย 4 ถึงระยะ young crab ในการศึกษาเดียวกันที่ความหนาแน่น 10,000, 20,000 และ 30,000 ตัว/ลูกบาศก์เมตร มีอัตรารอดตายเฉลี่ย 55.50 ±7.13, 24.73 ±1.35 และ 24.28 ±1.20 % ตามลำดับ และลูกปูที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 10,000 ตัว/ลูกบาศก์เมตร มีความกว้างส่วนหัวโดยเฉลี่ยมากกว่าลูกปูที่อนุบาลที่ความหนาแน่น 20,000 และ 30,000 ตัว/ลูกบาศก์เมตร อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

9. *การให้อาหาร* เนื่องจากลูกปูใช้ประสาทสัมผัสทางสายตาในการหาอาหาร ความมืดจึงเป็นอุปสรรคต่อการกินอาหารของตัวอ่อน ดังนั้นการเลี้ยงตัวอ่อนปูต้องมีการเปิดไฟให้แสงสว่างเล็กน้อย และต้องเริ่มให้อาหารวันแรกในเวลากลางคืนในปริมาณที่ไม่มากเกินไป ส่วนการให้อาหารแก่ลูกปูทันทีภายหลังจากฟักออกจากไข่มีความสำคัญมากเช่นเดียวกัน เห็นได้จากการศึกษาของ Burnett และ Sulkin (2007) พบว่าตัวอ่อนระยะซูเอียของปู brachyura ต้องกินอาหารหลังฟักออกจากไข่ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตอบสนองต่อความต้องการสารอาหารของร่างกาย มิฉะนั้นลูกปูจะมีอัตรารอดตายต่ำหรือมีช่วงระยะเวลาระหว่างการลอกคราบที่ยาวนานขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Le Vay และคณะ (2001) ที่พบว่าตัวอ่อนปู *Carcinus* sp. ในระยะซูเอีย 1 กินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร แต่เมื่อมีการพัฒนาต่อไปพบว่าตัวอ่อนค่อนข้างเป็นพวกที่กินสัตว์มากกว่ากินพืช เนื่องจากในซูเอียระยะแรกๆ มีความสามารถในการว่ายน้ำค่อนข้างต่ำ จะได้รับอาหารก็ต่อเมื่อกระแสน้ำพัดพาอาหารเข้ามาใกล้ตัว เมื่อพบสิ่งที่สามารถกินได้จึงกินเพื่อสงวนพลังงานไว้สำหรับการเติบโต จัดว่าตัวอ่อนปูม้าเป็นประเภท opportunistic species แต่ในระยะหลังเมื่อตัวอ่อนปูมีพัฒนาการของรยางค์สามารถว่ายน้ำได้ดีขึ้น จึงสามารถหาอาหารได้เอง โดยไม่ต้องอาศัยกระแสน้ำให้พัดพาอาหารมาให้

10. *ความหนาแน่นของอาหารในมวลน้ำ* ความต้องการอาหารของตัวอ่อนปูขึ้นกับความหนาแน่นของตัวอ่อนปูในบ่อ จากการศึกษาของ บรรจง เทียนส่งรัศมี (2547) ที่อนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3 ในน้ำที่มีอาร์ทีเมีย 20 ตัวต่อมิลลิลิตร พบว่าลูกปูกินอาหารได้เป็นสามเท่าของน้ำที่มีอาร์ทีเมีย 2 ตัวต่อมิลลิลิตร และกินอาหารได้มากเป็นสองเท่าของตัวอ่อนปูที่เลี้ยงในน้ำที่มีอาร์ทีเมีย 10 และ 5 ตัวต่อมิลลิลิตร ที่ระยะซูเอีย 4 อัตราการกินอาหารของตัวอ่อนปูในน้ำที่มีอาร์ทีเมีย 20 ตัวต่อมิลลิลิตรจะต่ำกว่าตัวอ่อนปูในระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3 เล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ความหนาแน่นของอาหารในมวลน้ำมีผลต่ออัตราการกินและอัตรารอดของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอียถึงระยะ young crab ตัวอ่อนปูที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีอาร์ทีเมีย 2 ตัวต่อมิลลิลิตร มีอัตรารอดต่ำมาก และมีการยืดระยะของการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นระยะซูเอีย 5 อาจเพื่อการสะสมอาหารให้มีพลังงานสำรองเพียงพอก่อนลอกคราบเข้าสู่ระยะเมกาโลปาต่อไป สอดคล้องกับการศึกษาของ Welch และ Epifanio (1995) ที่ศึกษาผลของความหนาแน่นของเหยื่อต่อการเจริญและการพัฒนาของตัวอ่อนปู Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* พบว่าอัตรารอดของตัวอ่อนปูในห้องทดลองที่ความหนาแน่นของอาร์ทีเมีย 10,000 ตัวต่อลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอัตรารอดของตัวอ่อนปูที่ความหนาแน่นของอาร์ทีเมีย 500 ตัวต่อลิตร พบว่าอัตรารอดของตัวอ่อนจนถึงระยะเมกาโลปาลดลงตามความหนาแน่นของเหยื่อที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อีกทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาจนถึงระยะเมกาโลปาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

การเพาะเลี้ยงปูม้า

การลำเลียงและการฟักไข่ปูม้า

ปัจจุบันมีการเพาะพันธุ์ปูม้าด้วยวิธีการนำปูม้าไข่นอกกระดองที่รวบรวมจากชาวประมงมาเพาะฟัก โดยลำเลียงแม่ปูใส่ในกล่องโฟมซึ่งมีน้ำทะเลสะอาดและให้ออกซิเจนตลอดเวลา จากนั้นทำการคัดแยกสีไข่ของปูที่รวบรวมมา ซึ่งไข่อาจมีสีเหลือง เหลืองอมส้ม เทาหรือเทาดำ โดยนำปูม้าที่มีไข่สีเทาหรือเทาดำใส่ในตะกร้าพลาสติก 2 อันประกบกันเป็นกล่องกล่องละ 1 ตัว ลอยไว้ในบ่ออนุบาล ดังรูปที่ 4 ซึ่งเตรียมน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน ใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน ไข่จะฟักออกเป็นตัวอ่อนระยะซูเอีย ส่วนปูม้าที่มีไข่สีเหลืองหรือเหลืองอมส้ม นำมาฟักในถัง ขนาด 150 ลิตร โดยใช้น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ดังรูปที่ 5 ถ้าเริ่มจากไข่สีเหลืองจะใช้เวลาประมาณ 7-9 วัน ก่อนฟักเป็นตัวอ่อนระยะซูเอีย โดยที่แม่พันธุ์ปูม้าหนึ่งตัวจะให้ตัวอ่อนประมาณ 80,000 - 2,000,000 ตัว ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของไข่และขนาดของแม่พันธุ์ปู (กฤตพล ยังวนิชเศรษฐ, 2551)

รูปที่ 4 ปูม้าไข่นอกกระดองสีเทาดำ (ก) ที่นำมาใส่ในตะกร้าพลาสติก 2 อันประกบกัน (ข) จากนั้นลอยตะกร้าไว้ในบ่ออนุบาล เพื่อให้ไข่ฟักออกเป็นตัว (กฤตพล ยังวนิชเศรษฐ, 2551)

รูปที่ 5 ปูม้าไข่นอกกระดองสีส้ม (ก) นำมาเพาะฟักในถังขนาด 150 ลิตร (ข) ที่มีสแลนกางปกคลุม เพื่อพรางแสง (กฤตพล ยังวนิชเศรษฐ, 2551)

การฟักไข่ปูม้าสามารถทำได้อีกวิธีหนึ่ง คือ การนำตับปิ้งที่มีไข่นอกกระดองของปูม้าที่เหลือทิ้งจากการนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตปูกระป๋องมาเพาะฟัก โดย วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับการลำเลียงตับปิ้งไข่ปูเพื่อให้ไข่ปูที่เกาะติดอยู่กับตับปิ้งได้รับความกระทบกระเทือนน้อยที่สุด ส่งผลให้ลูกปูสมบูรณ์แข็งแรง และมีอัตราการฟักสูง จากผลการทดลองพบว่า ควรลำเลียงตับปิ้งไข่ปูปริมาณ 4 กิโลกรัมต่อน้ำทะเล 20 ลิตร ในกล่องโฟมที่มีขนาด 35x50x27 เซนติเมตร อุณหภูมิขณะลำเลียงไม่เกิน 28 องศาเซลเซียส และควรแช่ตับปิ้งไข่ปูในสารละลายโพวิโดนไอโอดีนที่ความเข้มข้น 200 ส่วนในล้านส่วน เป็นเวลา 10 นาที ก่อนการลำเลียง

เมื่อนำตับปิ้งไข่ปูมาถึงสถานที่เพาะฟัก ทำการคัดแยกสีไข่ปู จากนั้นแยกไข่ปูจากตับปิ้งโดยใช้มือถูเบาๆ ในน้ำ จากนั้นกรองสิ่งสกปรกและไข่ที่จับเป็นก้อนออก และล้างด้วยน้ำทะเลสะอาดประมาณ 3-4 ครั้ง นำไข่ปูที่ผ่านขั้นตอนดังกล่าวไปฟักในถังขนาด 100 ลิตร (รูปที่ 6) โดยใช้น้ำความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน และให้อากาศค่อนข้างแรง เพื่อป้องกันไม่ให้ไข่จมลงที่ก้นถัง เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1-2 วัน จึงแยกลูกปูที่ฟักออกจากไข่ โดยหยุดให้อากาศ ลูกปูที่แข็งแรงจะอยู่บริเวณผิวน้ำ ใช้สายยางดูดน้ำพร้อมตัวอ่อนลงสู่กะละมังที่มีน้ำเล็กน้อย จากนั้นจึงย้ายสู่บ่ออนุบาลที่เตรียมไว้

รูปที่ 6 ขั้นตอนการแยกไข่ออกจากตับปิ้ง โดยใช้มือถูตับปิ้งเบาๆ ในน้ำ (ก) กรองสิ่งสกปรกจากไข่ (ข) ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำทะเลประมาณ 3-4 ครั้ง (ค) และฟักไข่ที่ผ่านขั้นตอนข้างต้นในถังฟักทรงสูง (ง)

การอนุบาลตัวอ่อนปูม้าแต่ละระยะ

อนุบาลปูม้าวัยอ่อนระยะซูเอีย ที่ความหนาแน่น 70,000 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน แล้วจึงปรับลดให้อยู่ที่ 27 และ 25 ส่วนในพันส่วน ในวันที่ 4 และ 6 ของการอนุบาล ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำครั้งแรก เมื่อลูกปูอายุได้ 4 วัน จากนั้นจะเปลี่ยนถ่ายน้ำ 1 วัน เว้น 2 วัน ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ สลับกับการดูดตะกอน ให้คลอเรลลาและโรทิเฟอร์ 1 วัน ก่อนให้ร่วมกับอาร์ทีเมียแรกฟักเป็นอาหาร ใช้เวลาประมาณ 10 – 12 วัน ลูกปูจะพัฒนาโดยการลอกคราบเข้าสู่ระยะเมกาโลปา (กฤตพล ยังวนิชเศรษฐ, 2551)

อนุบาลปูม้าวัยอ่อนระยะเมกาโลปา ถึงระยะ young crab ที่ความหนาแน่น 10,000 – 20,000 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร ในน้ำทะเลความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน แล้วจึงปรับลดเป็น 23 ส่วนในพันส่วน ให้อาหารทั้งมีชีวิต เช่น หนอนแดง อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยและอาหารไม่มีชีวิตเช่น อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยแช่แข็ง ปลาสดบด เนื้อหอยสับ เติมสีน้ำเทียมเพื่อการพรางตัวแทนการใช้แพลงก์ตอนพืช เนื่องจากลูกปูระยะนี้ไม่กินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร การใช้สีเทียมจะเป็นการป้องกันน้ำเน่าเสียจากการย่อยสลายแพลงก์ตอนพืชได้ นอกจากนั้นต้องใส่วัสดุสำหรับให้ลูกปูเกาะและหลบซ่อนตัว ซึ่งอาจเป็นเชือกฟางสาหร่ายเทียม สแลน อวน หรือกิ่งไม้ ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 5 – 7 วัน ก่อนลอกคราบเข้าสู่ระยะ young crab (กฤตพล ยังวนิชเศรษฐ, 2551)

ลูกปูม้าวัยอ่อนระยะ young crab อนุบาลด้วยปลาสดบดเสริมด้วยอาร์ทีเมียตัวเต็มวัยจนลูกปูได้ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร นำไปเลี้ยงต่อในบ่อดิน ด้วยอัตราความหนาแน่น 3-5 ตัวต่อตารางเมตร โดยให้ปลาสดตัดชิ้นเล็กเป็นอาหาร (ปริมาณ 7–10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปู) ใช้ระยะเวลาเลี้ยงประมาณ 3-4 เดือน ได้ปูม้าขนาดตลาด (น้ำหนักตัวประมาณ 80-120 กรัมต่อตัว) (กฤตพล ยังวนิชเศรษฐ, 2551)

องค์ประกอบทางเคมีของปูม้าระยะวัยอ่อน

องค์ประกอบทางเคมีของลูกปูแรกฟักถึงระยะปูวัยรุ่น มีระดับโปรตีนอยู่ในช่วงระหว่าง 40.24 - 44.39 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ส่วนระดับไขมันในระยะปูแรกฟัก ระยะเมกาโลปาและระยะปูวัยรุ่นมีค่าเท่ากับ 6.8, 15.17 และ 5.21 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในปริมาณมากได้แก่ 16:0, 18:1*n*-9, 20:4*n*-6, 20:5*n*-3 (EPA) และ 22:6*n*-3 (DHA) พบว่ามีการสะสมของกรดไขมันชนิด 20:4*n*-6 และ 20:5*n*-3 (EPA) ในปูแรกฟักในปริมาณสูงและมีปริมาณลดลงในระยะเมกาโลปา ทั้งนี้ผลรวมของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ในปูแรกฟัก ระยะเมกาโลปา และระยะปูวัยรุ่นมีค่าเท่ากับ 25.13, 12.12 และ 19.93 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ (สุพิศ ทองรอด และคณะ, 2548)

2.2 ชีววิทยาของโรทิเฟอร์

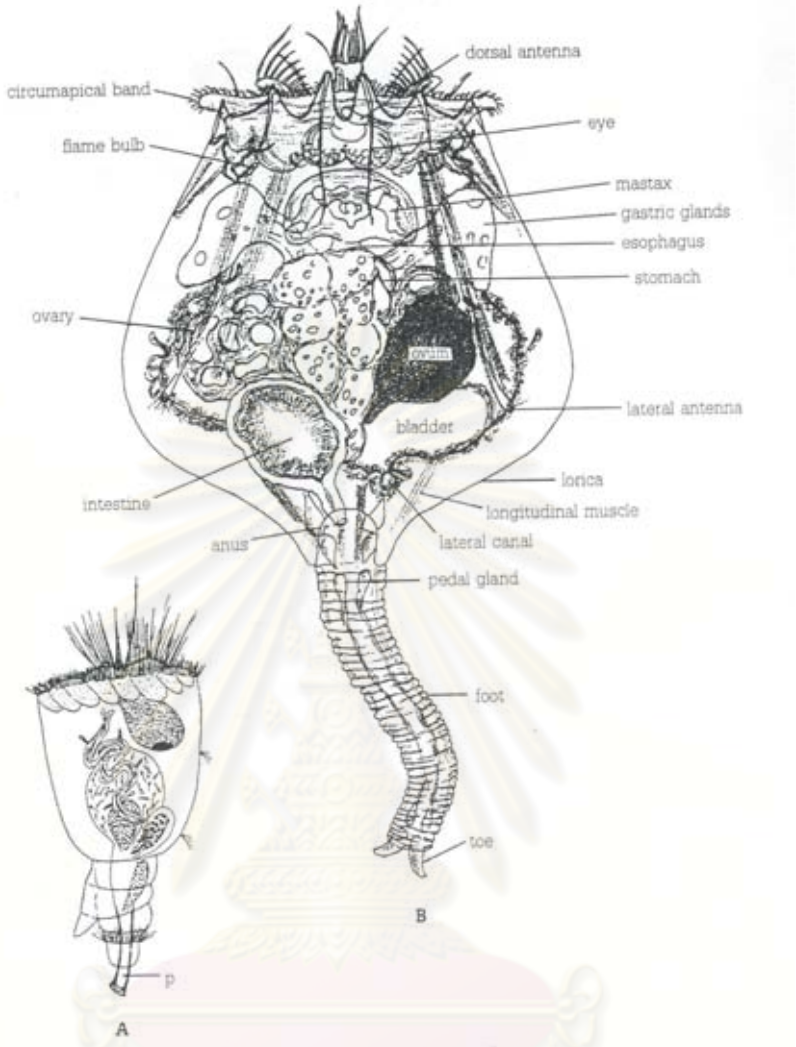
อนุกรมวิธาน

จำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้คือ Phylum Rotifera, Class Monogononta, Order Ploima, Family Brachionidae, Genus *Brachionus*, Species *B. rotundiformis*

รูปร่างลักษณะทั่วไป

โรทิเฟอร์มีลักษณะรูปร่างเป็นแบบทรงกระบอก ผนังลำตัวบางใส โปร่งแสง จึงสามารถมองทะลุผ่านเห็นอวัยวะภายในได้ ลำตัวโรทิเฟอร์ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ หัว (head) ลำตัว (trunk) และเท้า (foot) ส่วนหัว (head) มีวงขนที่เรียกว่า โคโรนา (corona) ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของโรทิเฟอร์ สามารถเคลื่อนไหวได้คล้ายวงล้อหมุนจึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า wheel organ ช่วยในการว่ายน้ำและช่วยในการกินอาหาร รูปร่างของโคโรนามีลักษณะแตกต่างกันตามกลุ่มของโรทิเฟอร์ ส่วนลำตัว (trunk) ของโรทิเฟอร์ มีลอริกาซึ่งเป็นสารประกอบไคตินห่อหุ้มอยู่ ความหนาของลอริกาจะแตกต่างตามกลุ่มของโรทิเฟอร์ ส่วนเท้า (foot) มีลักษณะเรียวยาว แบ่งเป็นข้อปล้องหรือต่อเป็นวงค่อนข้างแข็งสามารถยืดหดได้ ปลายล่างของเท้ามีนิ้วเท้า (toes) 2 นิ้ว ซึ่งที่ส่วนปลายมีท่อติดต่อกับต่อมสร้างสารเหนียว (pedal gland) สำหรับยึดเกาะกับพื้น แต่โรทิเฟอร์หลายสกุลไม่มีเท้า (foot) ส่วนใหญ่โรทิเฟอร์มีหนวดที่ใช้รับความรู้สึก (sensory antenna) ซึ่งอยู่ด้านหลังเรียกว่า dorsal antenna จำนวน 1 เส้น และอยู่ข้างลำตัวอีก 1 คู่ เรียกว่า lateral antennae (รูปที่ 7) (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 ลักษณะของโรทิเฟอร์ Class Monogononta สกุล *Brachionus* (A) เพศผู้ (B) เพศเมีย (Barnes, 1968)

ท่อทางเดินอาหารของโรทิเฟอร์ประกอบด้วยปาก ฟาริงซ์ แมสแท็กซ์ หลอดอาหาร กระเพาะ ลำไส้ โคเอก้า และทวารหนัก โดยมีรายละเอียดดังนี้

ปากอยู่ด้านท้องของลำตัวทางด้านหน้าภายในบริเวณซีเลีย ซึ่งเปิดเข้าสู่ฟาริงซ์โดยตรง ฟาริงซ์ของโรทิเฟอร์มีชื่อเรียกจำเพาะว่า แมสแท็กซ์ (mastax) เป็นถุงกล้ามเนื้อหนา บุภายในด้วยอิพิเดอร์มิสซึ่งมีแขนงยื่นเข้าไปภายในคล้ายขากรรไกรสำหรับการจับและบดอาหารเรียกว่า โทรไฟ (trophi) โดยที่โทรไฟเป็นสารประกอบมิวโคโพลีแซคคาไรด์ 7 ชิ้นเรียงเชื่อมต่อกัน ได้แก่ ฟัลครัม (fulcrum) 1 ชิ้น รามัส (ramus) 1 คู่ อันคัส (uncus) 1 คู่ และมานูเบรียม (manubrium) 1 คู่ มีกล้ามเนื้อลายควบคุมการทำงานของโทรไฟ ลักษณะของแมสแท็กซ์แตกต่างกันตามพฤติกรรมการกินอาหาร โรทิเฟอร์ส่วนใหญ่จะมีต่อมน้ำลาย (salivary gland) ในการสร้างน้ำย่อยอยู่ที่ผนังของแมสแท็กซ์ และมีท่อเปิดออกที่ตอนต้นของแมสแท็กซ์

ต่อจากฟาริงซ์เป็นหลอดอาหารและต่อด้วยกระเพาะ บริเวณรอยต่อของหลอดอาหารและกระเพาะมีต่อมสร้างน้ำย่อย (gastric gland) 1 คู่ เปิดเข้าสองข้างของกระเพาะที่มีลักษณะเป็นถุงขนาดใหญ่หรือเป็นท่อ ทำหน้าที่ย่อยและดูดซับอาหาร ต่อจากกระเพาะเป็นลำไส้ มีรูเปิดของอวัยวะขับถ่ายและท่อนำไข่ในตอนท้าย จึงทำหน้าที่เป็นโคเอคา (coaca) ส่วนทวารหนักเปิดออกด้านหลังใกล้ตอนท้ายของลำตัว

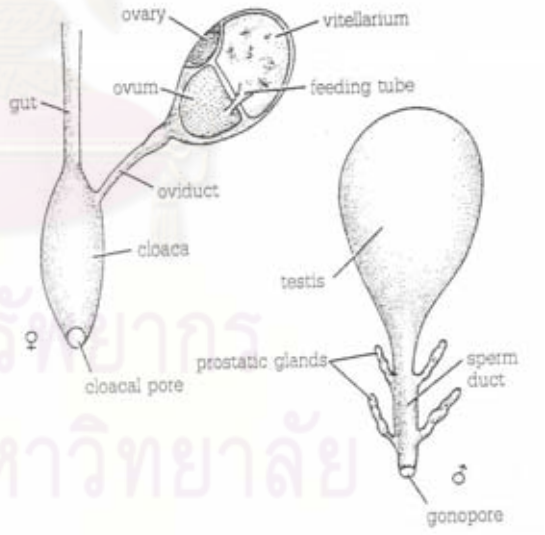
โรทิเฟอร์กินอาหารได้หลายวิธี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโคโรนาและส่วนของโทรไฟซึ่งอยู่ในแมสแท็กซ์ โรทิเฟอร์กลุ่มที่เป็นแพลงก์ตอน มักกินสารอินทรีย์และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก โดยวงขนโคโรนาทำหน้าที่พัดอาหารเข้าสู่ปาก โรทิเฟอร์ในสกุล *Brachionus* มี cirri ขนาดใหญ่อยู่ที่บริเวณซีเลียรอบปากใช้คัดเลือกอาหารได้ ซีเลียรอบปากสามารถโบกกลับทิศเพื่อกำจัดสิ่งที่ไม่ต้องการและแมสแท็กซ์สามารถไม่รับชิ้นอาหารที่ไม่ต้องการได้ (บพิธ และนันทพร จารุพันธุ์, 2545)

การสืบพันธุ์

ระบบสืบพันธุ์ของโรทิเฟอร์มี 2 แบบ ดังนี้

1. *การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction)*

โรทิเฟอร์เพศเมียมีจำนวนมากกว่าและขนาดใหญ่กว่าเพศผู้มาก ส่วนใหญ่ไม่มีเพศผู้หรืออาจมีเพียงบางฤดูโดยในโรทิเฟอร์เพศเมียจะมี gervitellarium เป็นคู่หรือ 1 ข้าง ซึ่งเป็นถุงประกอบด้วยเซลล์ที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ 2-3 นิวเคลียส สำหรับสร้างไข่แดงให้แก่ไข่ที่ใกล้สุกเต็มที่ก่อนเคลื่อนตัวออกสู่ท่อนำไข่ ส่วนเพศผู้มีช่วงชีวิตสั้นและมีระบบย่อยอาหารเล็กมากอวัยวะเพศผู้ประกอบด้วย testis ท่อนำสเปิร์ม (รูปที่ 8) และช่องเปิดสำหรับสเปิร์ม (gonopore) ที่ผนังท่อจะม้วนงอกลายเป็นอวัยวะผสมพันธุ์ และมีต่อม prostatic gland ซึ่งบางครั้งอยู่ที่ผนังของท่อสเปิร์ม การผสมระหว่างไข่และสเปิร์มเป็นการผสมแบบภายใน ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วจะสร้างเยื่อหุ้ม จากนั้นอาจถูกปล่อยลงสู่พื้นหรือติดกับตัวแม่กระทั่งฟักเป็นตัว



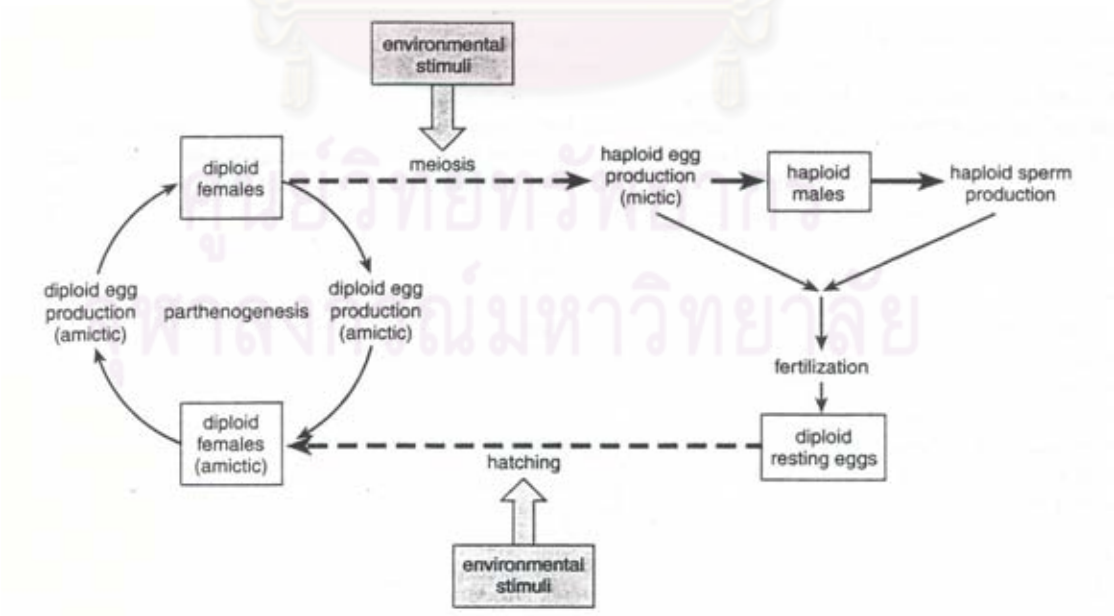
รูปที่ 8 ระบบสืบพันธุ์ของโรทิเฟอร์ใน Class Monogononta (Brusca and Brusca, 1990)

2. การสืบพันธุ์แบบพาร์เธโนเจเนซิส (parthenogenesis reproduction) เรียกเพศเมียที่มีการสืบพันธุ์แบบนี้ว่า amictic female โดยไข่ที่อยู่ในรังไข่จะมีการแบ่งตัวโดยไม่ลดจำนวนโครโมโซม ตัวแม่และไข่ที่ถูกสร้างขึ้นจะมีโครโมโซมแบบ diploid (2n)

วงจรชีวิตของโรทิเฟอร์

โรทิเฟอร์เพศเมียมี 2 แบบ คือ amictic female และ mictic female เพศเมียอะมิคติคสืบพันธุ์แบบพาร์เธโนเจเนซิส สร้างไข่อะมิคติค (amictic egg) มีโครโมโซม 2n ผนังไข่บาง ไข่เจริญและพัฒนาเป็นเพศเมียอะมิคติค ส่วนเพศเมียมิคติคจะเกิดในช่วงเวลาที่สิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป เช่น อาหารลดลง อุณหภูมิน้ำเปลี่ยนแปลงกะทันหัน เพศเมียชนิดนี้จะสร้างไข่ มิคติค (mictic egg) ซึ่งมี haploid chromosome (n) หากไข่ได้รับการผสมกับสเปิร์มจะได้ resting egg ซึ่งเป็นไข่ที่มีเปลือกหนาสามารถทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้อย่างดี เมื่อไข่ฟักเป็นตัวจะเป็น amictic female หากไข่ไม่ได้รับการผสมกับสเปิร์มจะเจริญเป็นเพศผู้ (รูปที่ 9)

เพศเมียมิคติค 1 ตัว อาจผลิตไข่ที่ผสมกับสเปิร์มเรียกว่า fertilized egg และไข่ที่เจริญเป็นเพศผู้เรียก male egg ได้ แต่เพศผู้หรือเพศเมียจะไม่เกิดจากพ่อแม่เดียวกัน ดังนั้นในธรรมชาติเพศเมียมิคติคจะแบกทั้ง fertilized egg และ male egg ที่ปลายล่างสุดของลำตัว เมื่อเปรียบเทียบการสืบพันธุ์แบบพาร์เธโนเจเนซิสกับการสืบพันธุ์แบบมีเพศของโรทิเฟอร์ในรอบปี พบว่าหากสิ่งแวดล้อมเหมาะสม โรทิเฟอร์จะสืบพันธุ์แบบมีเพศเพียง 1-2 ครั้ง เท่านั้น ในขณะที่การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศจะเกิดถึง 20-40 ครั้ง ในรอบปี



รูปที่ 9 วงจรชีวิตของโรทิเฟอร์ใน Class Monogononta (Pechenik, 2005)

การเพาะเลี้ยงโรทิเฟอร์

ในการเพาะเลี้ยงโรทิเฟอร์จำเป็นต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ เนื่องจากโรทิเฟอร์แต่ละชนิดมีขนาดและต้องการสภาพแวดล้อมในการดำรงชีวิตที่แตกต่างกัน โรทิเฟอร์น้ำเค็มแบ่งเป็น 2 ชนิดตามขนาด ได้แก่ *B. plicatilis* เป็นโรทิเฟอร์ที่มีขนาดใหญ่หรือที่เรียกว่า L-type ขนาดประมาณ 200-300 ไมครอน และ *B. rotundiformis* เป็นโรทิเฟอร์ขนาดเล็ก หรือ S-type ขนาดประมาณ 100-200 ไมครอน (Treece and Davis, 2001)

อาหารที่นิยมใช้ในการเลี้ยงโรทิเฟอร์ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris, Tetraselmis tetrathele* และ *Nanochloropsis oculata* และยีสต์ (Maruyama et al., 1997) แต่ยีสต์มีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ เมื่อนำมาใช้เลี้ยงโรทิเฟอร์ทำให้คุณค่าทางอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ

ปัจจัยที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงโรทิเฟอร์ (Fulks and Main, 1991)

1. *ความเค็ม* มีผลต่อการสืบพันธุ์ของโรทิเฟอร์ โดยโรทิเฟอร์สามารถเติบโตได้ในช่วงความเค็มที่กว้างมากตั้งแต่ 1-60 ส่วนในพันส่วน แต่ช่วงที่สามารถเติบโตได้ดีที่สุดอยู่ในช่วง 10-20 ส่วนในพันส่วน

2. *อุณหภูมิ* ช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อทั้งการเลี้ยงสาหร่ายที่เป็นอาหารของโรทิเฟอร์และโรทิเฟอร์อยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส

3. *ความเป็นกรดด่าง (pH)* เป็นปัจจัยที่มีผลโดยตรงต่อจำนวนประชากรของโรทิเฟอร์ โดยทั่วไปสามารถทนได้ในช่วงกว้าง แต่ช่วง pH ที่เหมาะสมอยู่ประมาณ 5-9 แล้วแต่ชนิดของโรทิเฟอร์

4. *ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ* ขึ้นกับอุณหภูมิของน้ำ ความหนาแน่นของโรทิเฟอร์และชนิดของอาหาร การให้อาหารจำพวกยีสต์ต้องการปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูงกว่าการให้สาหร่ายเป็นอาหาร เนื่องจากสาหร่ายสามารถสังเคราะห์ด้วยแสงและสร้างออกซิเจนได้เมื่อมีแสง นอกจากนั้นพบว่าความต้องการออกซิเจนของโรทิเฟอร์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิน้ำสูงขึ้น

5. *แสง* เป็นปัจจัยที่ช่วยให้สาหร่ายที่เป็นอาหารของโรทิเฟอร์สามารถเจริญเติบโตได้ดี

องค์ประกอบทางเคมีของโรทิเฟอร์

ในตัวโรทิเฟอร์ มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วงระหว่าง 28-63 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ไขมัน 9-28 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง และคาร์โบไฮเดรต 10.5-27.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Lubzens et al., 2001)

โรทิเฟอร์ที่มีการเลี้ยงนั้นจะมีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง eicosapentaenoic acid (EPA: 20:5n-3) และ docosahexaenoic acid (DHA: 22:6n-3) ในตัวต่ำ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของกรดไขมันทั้งหมด) ในโรทิเฟอร์ที่ไม่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันและผ่านการเพิ่มกรดไขมัน (Estevez et al., 1999)

ตัวอย่าง	20:5 *n*-3 (EPA)	22:6 *n*-3 (DHA)	DHA/EPA
โรทิเฟอร์ที่ไม่ได้เพิ่มกรดไขมัน	0.2	0.1	0.5
โรทิเฟอร์ที่เพิ่มกรดไขมันด้วยน้ำมันปลาทูน่า(1)	4.6	12.7	2.8
โรทิเฟอร์ที่เพิ่มกรดไขมันด้วยน้ำมันปลาซาร์ดีนผสมน้ำมันปลาแองโชวี(2)	13.1	6.5	0.5

หมายเหตุ (1) น้ำมันปลาทูนามีปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA เท่ากับ 6.5 และ 22.9 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของกรดไขมันทั้งหมด (Shimada et al., 1997)

(2) น้ำมันปลาซาร์ดีนมีปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA เท่ากับ 20.66 ± 2.86 และ 12.87 ± 3.03 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของกรดไขมันทั้งหมด (Meza et al., 1999) และน้ำมันปลาแองโชวีมีปริมาณรวมของกรดไขมัน EPA และ DHA เท่ากับ 29.17 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด (Connor et al., 1993)

2.3 ชีววิทยาของอาร์ทีเมีย

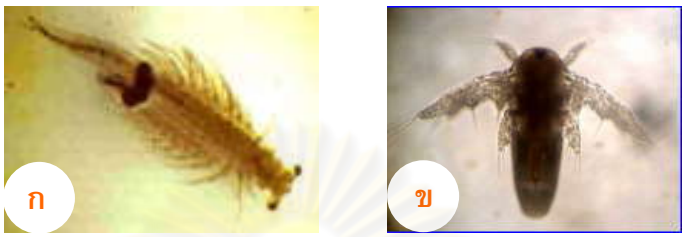
อนุกรมวิธาน

อาร์ทีเมียหรือไรน้ำเค็ม มีชื่อสามัญว่า brine shrimp จำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้ Phylum Arthropoda, Class Crustacea, Subclass Branchiopoda, Order Anostraca, Family Artimiadae, Genus *Artemia*

ลักษณะรูปร่าง

อาร์ทีเมียเป็นสัตว์ที่ไม่มีเปลือกแข็งหุ้มตัว ลำตัวแบนเรียวยาวคล้ายใบไม้ (รูปที่ 10 ก) ว่ายน้ำในลักษณะหงายท้อง ลำตัวแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) ส่วนอก (thorax) และส่วนท้อง (abdomen) โดยที่ส่วนหัวแบ่งเป็น 6 ปล้อง เป็นที่ตั้งของตาเดี่ยว (ocellus) ตารวม (compound eye) ริมฝีปาก (labrum) หนวดรับความรู้สึก หนวดสำหรับว่ายน้ำและกรองรวบรวมอาหาร และฟัน 2 คู่ ส่วนอกแบ่งออกเป็น 11 ปล้อง แต่ละปล้องประกอบด้วยรยางค์ที่ทำหน้าที่ในการกรองอาหาร การเคลื่อนที่ และแลกเปลี่ยนก๊าซ ส่วนท้องแบ่งออกเป็น 8 ปล้อง ปล้องแรกเป็นที่ตั้งของอวัยวะเพศ ปล้องที่ 2-7 ไม่มีรยางค์และปล้องที่ 8 มีแพนหาง (cercopods) 1 คู่ (Sorgeloos, 1977)

อาร์ทีเมียเจริญเติบโตด้วยการลอกคราบ ตัวอ่อนของอาร์ทีเมียเริ่มฟักออกจากซีสต์ มีขนาดยาวประมาณ 0.45 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 0.17 มิลลิเมตร น้ำหนักประมาณ 10 มิลลิกรัม (รูปที่ 10 ข)



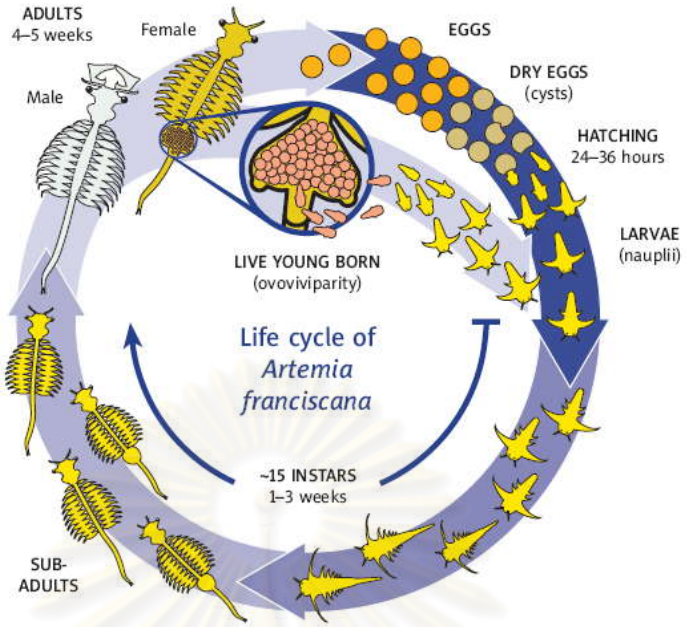
รูปที่ 10 อาร์ทีเมียตัวเต็มวัย (ก) และอาร์ทีเมียแรกฟัก (ข)

การสืบพันธุ์

อาร์ทีเมียสามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) และไม่อาศัยเพศแบบ parthenogenesis ดังนี้

1. *การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ* จะเกิดในกรณีที่มีเพศผู้น้อยมากหรือไม่มีเลย ไข่ที่ไม่ได้รับการผสมจากเพศผู้จะเจริญเติบโตในถุงไข่และถูกปล่อยออกมา

2. *การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ* (รูปที่ 11) เมื่ออาร์ทีเมียพร้อมที่จะสืบพันธุ์ หนวดคู่ที่ 2 ของเพศผู้ จะเปลี่ยนเป็นอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีลักษณะโค้งงอ เพื่อใช้ในการจับเพศเมีย ทางด้านในของหนวดจะมีตุ่ม (papillae) ใช้เป็นอวัยวะรับความรู้สึก ปุ่มด้านหน้าของอาร์ทีเมียเพศผู้ใช้สัมผัสกับลำตัวของเพศเมียขณะจับคู่ผสมพันธุ์ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ หนามโค้งจำนวนมากที่เกิดจากการเว้าของผิวด้านนอกและขน (setae) ทำหน้าที่รับสัมผัส และตอนท้ายของลำตัวมีอวัยวะเพศ (penis) 1 คู่ ส่วนรังไข่ของเพศเมียอยู่บริเวณสองข้างของลำไส้ตอนท้าย ซึ่งมีท่อนำไข่เปิดไปสู่ถุงไข่ (brood chamber) ที่มีลักษณะยาวรีคล้ายลูกแพร์ ผนังด้านในของถุงไข่มีเซลล์สำหรับสร้างเปลือกซีสต์ เมื่อไข่ได้รับการปฏิสนธิจะพัฒนาจนถึงระยะแกสตรูลา (gastrula stage) เมื่อมีการสร้างเปลือกหนาเข้ามาหุ้มจะกลายเป็นซีสต์ทำให้หยุดการเจริญเติบโตระยะหนึ่ง (diapause) หากไข่พัฒนาจนถึงระยะแกสตรูลาแล้วไม่มีการสร้างเปลือกหนาขึ้นมาหุ้ม ไข่จะเจริญกระทั่งฟักออกเป็นตัว (nauplii) หลังจากผสมพันธุ์ 50-80 ชั่วโมง ซีสต์หรือตัวอ่อนจะถูกปล่อยออกทางช่องเปิดของถุงไข่ (Sorgeloos, 1977)



รูปที่ 11 วงจรชีวิตของอาร์ทีเมีย (Tomkins and Dann, 2009)

อาหารและการกินอาหาร

อาร์ทีเมียเป็นสัตว์น้ำที่กินอาหารโดยการกรอง (filtration) อาร์ทีเมียจะกินอาหารแบบไม่เลือกชนิด (non-selective feeder) อาร์ทีเมียวัยอ่อนจะใช้หนวด (antennae) ใช้ในการจับอาหารส่งผ่านเข้าสู่แมนดิเบิล (mandible) ตรงเข้าไปในทางเดินอาหาร สำหรับตัวเต็มวัยจะใช้รยางค์ส่วนอก (thoracic) ช่วยในการว่ายน้ำและปัดอาหารส่งเข้าตามร่อง (groove) ตรงกลางลำตัว มีริมฝีปากล่างขนาดใหญ่สามารถสร้างน้ำเมือกเหนียวมาผสมกับอาหารก่อนส่งเข้าสู่ทางเดินอาหาร อาหารมักจะมีขนาด 40-60 ไมครอน

ความเหมาะสมของอาร์ทีเมียเพื่ออนุบาลปูม้าระยะวัยอ่อน

อาร์ทีเมียแรกฟักนิยมใช้เป็นอาหารในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เนื่องจากมีความอ่อนนุ่ม ไม่มีเปลือกแข็งหุ้มลำตัว ขนาดตัวพอเหมาะ มีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสม ประกอบด้วยโปรตีน 52.2 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 18.9 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 14.8 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 9.7 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งซีสต์หรือตัวอ่อนของอาร์ทีเมียที่ถูกหุ้มด้วยเปลือกสีน้ำตาล สามารถเก็บรักษาให้คงสภาพมีชีวิตอยู่ได้เป็นเวลาหลายปี สะดวกต่อการจัดการ เพียงนำมาเพาะฟักในระยะเวลาอันสั้นจะได้ตัวอ่อนที่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ตามต้องการ แต่ภายหลังจากถุงอาหาร (yolk sac) ถูกใช้หมดแล้ว หากอาร์ทีเมียไม่ได้กินอาหารจะมีน้ำหนักและปริมาณไขมันลดลงประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปใช้อนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนมักพบการตายมากหลังจากอนุบาลไปได้ 1-2 สัปดาห์ ดังนั้นจึงต้องมีการเสริมสารอาหารรวมถึงกรดไขมันที่จำเป็น เช่น กรดไขมันโอเมก้า 3 ก่อนนำไปเป็นอาหารแก่สัตว์น้ำอื่นต่อไป (นภดล ภูวพาณิช, 2549)

2.4 กรดไขมัน

กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักเป็นคาร์บอนอะตอมคู่ ส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ละลายในไขมัน (saponifiable lipid) โดยอีกส่วนอยู่ในรูปของกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) กรดไขมันจัดเป็นสารประเภทคาร์บอกซิลิค (carboxylic) ที่มีหมู่ –COOH 1 หมู่ต่อกับไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) สายยาวเส้นตรง มีสูตรโครงสร้าง $CH_3(CH_2)_nCOOH$ กรดไขมันในพืชและสัตว์ทั่วไปมีจำนวนคาร์บอนระหว่าง 14-18 อะตอม แต่อาจพบถึง 22 อะตอม ในปลา (Lovell, 1989)

กรดไขมันแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) กรดไขมันอิ่มตัวเป็นกรดไขมันที่มีพันธะเดี่ยว ส่วนใหญ่พบในไขมันหรือน้ำมันจากสัตว์ เช่น น้ำมันหมู เป็นต้น ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัว เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ มักพบในน้ำมันจากพืช เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง (ยกเว้น น้ำมันมะพร้าว) น้ำมันจากสัตว์น้ำ เช่น น้ำมันตับปลา น้ำมันปลา (ปลาคอด ปลาทูน่า) เป็นต้น

การเขียนสัญลักษณ์แทนกรดไขมันไม่อิ่มตัว ตัวเลขตัวแรกหมายถึงจำนวนคาร์บอนอะตอมทั้งหมดที่มีในกรดไขมัน ตัวเลขที่สองหมายถึงจำนวนพันธะคู่ทั้งหมดที่มีในกรดไขมัน และตัว *n* แสดงถึงตำแหน่งที่พันธะคู่ตัวแรกปรากฏในกรดไขมันนับจากปลายสุดกลุ่มเมธิล

กรดไขมันไม่อิ่มตัว

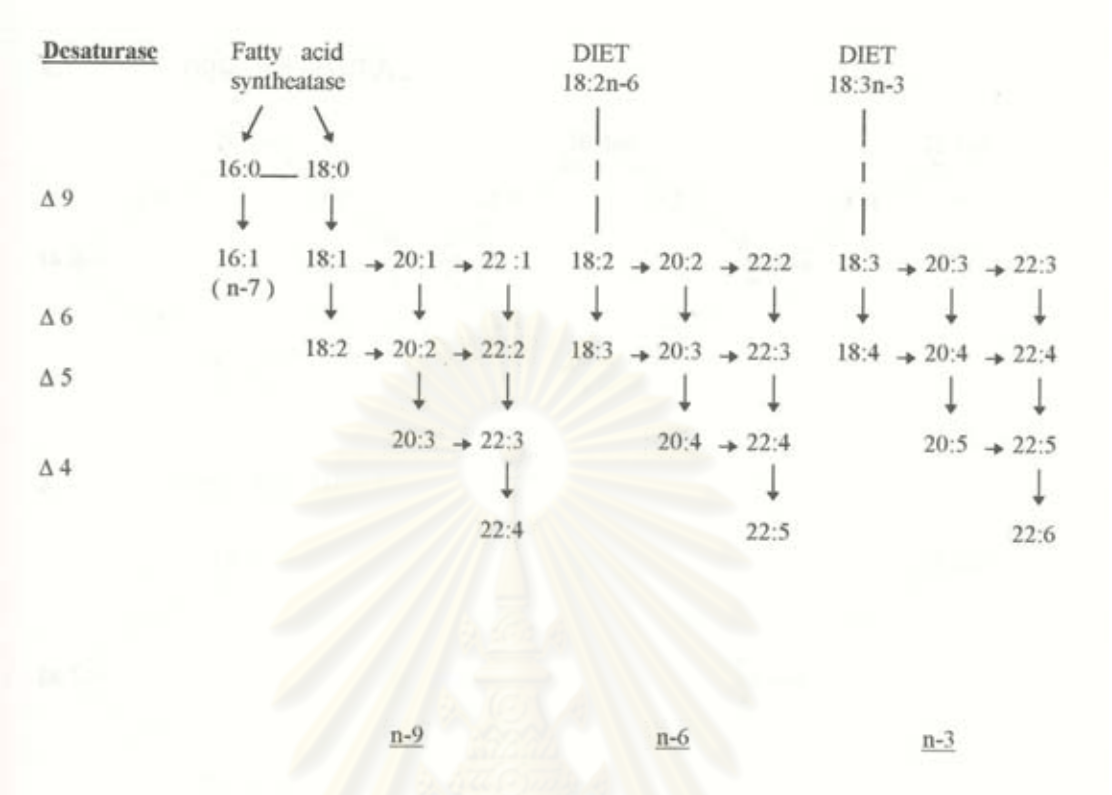
กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่พบในองค์ประกอบของเนื้อเยื่อสัตว์น้ำมี 3 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มสามารถสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่นได้จากสารตั้งต้น โดยการเติมคาร์บอน (elongation) และการเติมพันธะคู่ (desaturation) (รูปที่ 12) กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงเหล่านั้นได้แก่

1. กลุ่มกรดโอเลอิก (oleic acid) หรือกลุ่มโอเมก้า 9 (*n*-9 หรือ ω-9) มีสารตั้งต้นเป็น 18:1*n*-9 สามารถนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น เช่น 18:2*n*-9, 20:1*n*-9, 20:2*n*-9 เป็นต้น

2. กลุ่มกรดไลโนเลอิก (linoleic acid) หรือกลุ่มโอเมก้า 6 (*n*-6 หรือ ω-6) มีสารตั้งต้นเป็น 18:2 *n*-6 ซึ่งนำมาสังเคราะห์เป็นกรดไขมันชนิดอื่น เช่น 18:3*n*-6, 20:3*n*-6, 20:4*n*-6

3. กลุ่มกรดไลโนเลนิก (linolenic acid) หรือกลุ่มโอเมก้า 3 (*n*-3 หรือ ω-3) สามารถนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น เช่น 18:3*n*-3, 20:3*n*-3, 20:4*n*-3, 20:5*n*-3, 22:6*n*-3 เป็นต้น

กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acid) หมายถึง กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 18, 20, 22 อะตอม และมีพันธะคู่จำนวน 2-6 คู่ เรียงตัวในลักษณะไอโซเมอร์แบบซิส (cis-configuration) โดยทั่วไปใช้เรียกกรดไขมันกลุ่ม *n*-3 ดังนั้น *n*-3 HUFA จึงประกอบด้วย 18:3*n*-3, 18:3*n*-6, 20:3*n*-3, 20:3*n*-6, 20:4*n*-3, 20:4*n*-6, 20:5*n*-3 (Eicosapentaenoic acid; EPA) และ 22:6*n*-3 (Docosahexaenoic acid; DHA)



รูปที่ 12 การเพิ่มจำนวนคาร์บอน (ลูกศรแนวนอน) และการเพิ่มพันธะคู่ (ลูกศรแนวตั้ง) ของกรดไขมันที่มีสารตั้งต้นจาก C16:0 และจากอาหาร (C18:2*n*-6; C18:3*n*-3) (Sargent et al., 1989)

บทบาทของกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อสัตว์น้ำ

จากการศึกษาของ Leger และ Sorgeloos (1992) พบว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 จำเป็นต่อการสร้างฟอสโฟลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ เพื่อทำหน้าที่ให้ความยืดหยุ่นและควบคุมการซึมผ่านของสารอาหารประเภทไขมัน ฟอสโฟลิปิดจากกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงมีความยืดหยุ่น และควบคุมการซึมผ่านดีกว่าฟอสโฟลิปิดจากกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวต่ำ (Stickney and Andrews, 1971) นอกจากนั้นกรดไขมันโอเมก้า-3 จำเป็นต่อการรักษาสมดุลของน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนโพรสตาแกลนดินที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ เช่น การควบคุมสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกาย การหดขยายกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมันโอเมก้า-3 ยังส่งผลกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้ดียิ่งขึ้น

ความสามารถในการเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันโอเมก้า-3 ซึ่งมีสารประกอบ ตั้งต้นเป็นกรดลิโนเลนิก 18:3*n*-3 ให้เป็น EPA (20:5*n*-3) หรือ DHA (22:6*n*-3) (รูปที่ 12) ในสัตว์น้ำเค็มพวกครัสเตเชียน รวมทั้งปลาหลายชนิดค่อนข้างต่ำ (Kanasawa et al., 1979; Mourente, 1996) โดยกรดไขมัน EPA มีผลต่อการรอดชีวิตของ

ตัวอ่อน ในขณะที่ DHA ช่วยเร่งระยะเวลาระหว่างการลอกคราบให้สั้นลงและช่วยให้กระดองของตัวอ่อนปูว่ายน้ำ (swimming crab) มีความกว้างมากขึ้น (Takeuchi et al., 1999)

การเสริมกรดไขมันเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อน

การเพิ่มกรดไขมันในตัวโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียด้วยสารผสมของน้ำมันจากปลาทะเล สามารถกระทำได้ 2 รูปแบบ คือ การเพิ่มปริมาณกรดไขมันระยะสั้น (<8 ชั่วโมง) และการเพิ่มปริมาณกรดไขมันระยะยาว (> 24 ชั่วโมง) การเพิ่มปริมาณกรดไขมันในระยะสั้นทำได้โดยการเลี้ยงโรทิเฟอร์ประมาณ 200-500 ตัวต่อมิลลิลิตร ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง 100-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา <8 ชั่วโมง โรทิเฟอร์จะกลายเป็น lipid-encapsulated rotifer ที่มีปริมาณไขมัน >300 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และกรดไขมันโอเมก้า-3 (n-3 HUFA) >100 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Coutteau and Sorgeloos, 1997) ซึ่งวิธีการเพิ่มกรดไขมันในระยะสั้นนี้สามารถทำได้รวดเร็วและจัดการง่าย แต่มักได้โรทิเฟอร์ที่มีคุณภาพต่ำ มีปริมาณไขมันมากเกินไป และไม่สะอาด (Dhert et al., 1990; Støttrup and Attramadal, 1992) ส่วนการเพิ่มปริมาณสารอาหารในระยะยาวเป็นการจัดการให้สารอาหารที่จำเป็นขณะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง องค์ประกอบของสารอาหารในตัวโรทิเฟอร์ที่ได้นั้นจึงใกล้เคียงกับองค์ประกอบสารอาหารที่ต้องการเพื่อเลี้ยงตัวอ่อน โรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มสารอาหารแบบนี้จะมีความเสถียรของสารอาหารภายในตัวมากกว่าแบบระยะสั้น (Dhert et al., 2001)

จาก รวีวรรณ สุวณิชย์ (2542) ศึกษาผลของปริมาณและอัตราส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัว EPA และ DHA ต่อการเติบโตและอัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำในระยะโพสลาวา 20 พบว่าสูตรอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว 1.5 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราส่วน EPA:DHA เท่ากับ 1:2 เป็นสูตรที่เหมาะสมสำหรับกุ้งในด้านการเติบโตและเพิ่มความทนทานต่อแรงดันออสโมติก แต่ไม่มีผลต่ออัตราการรอดของกุ้ง ส่วนการทดลองเพาะเลี้ยงลูกปูทะเล *Scylla serrata* ของ Ruscoe และคณะ (2004) พบว่าการให้โรทิเฟอร์เพียงอย่างเดียวในระยะซูเอีย 1 จะให้อัตรารอดดีกว่าการให้ร่วมกับอาร์ทีเมีย และตัวอ่อนปูมีอัตรารอดถึง 58.67 ± 7.35 % เมื่อให้โรทิเฟอร์เพียงอย่างเดียวในระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 2 จากนั้นให้โรทิเฟอร์ร่วมกับอาร์ทีเมียในระยะซูเอีย 3 ถึงระยะเมกาโลปา ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Baylon (2009) ที่พบว่าการให้อาหารผสมระหว่างโรทิเฟอร์และตัวอ่อนอาร์ทีเมียแก่ลูกปู *Scylla tranquebarica* ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3 และให้ตัวอ่อนอาร์ทีเมียตั้งแต่ระยะซูเอีย 4 จะทำให้ลูกปูมีอัตรารอดสูงสุด พัฒนาการเร็วที่สุด และสามารถพัฒนาจนถึงระยะเมกาโลปาได้ดีที่สุด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองเลี้ยงโรทิเฟอร์ เพาะฟักอาร์ทีเมีย และอนุบาลลูกปูม้า ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร กรมประมง ตำบลโคกขาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร ทำการสกัดกรดไขมันจากตัวอย่างที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลและห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และทำการวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมัน ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

3.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาทูน่าแบบ fully refined ที่ได้จากบริษัททีซี ยูเนียน อโกรเทค และน้ำมันอีพีเอยี่ห้อ Pure EPA โดยการสกัดตามวิธีของ Lapage and Roy (1984) และนำสารละลายที่ได้จากการสกัดไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography – FID คำนวณปริมาณกรดไขมันดีเอชเอและกรดไขมันอีพีเอที่ใช้ทำอัตราส่วนในแต่ละชุดการทดลองโดยอ้างอิงจากผลการวิเคราะห์ข้างต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด 3x3 factorials โดยใช้ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ 3 ระดับ คือ 16, 32, 48 มิลลิกรัม และปริมาณกรดไขมันอีพีเอ 3 ระดับ คือ 16, 32, 48 มิลลิกรัม ได้ชุดทดลองตามอัตราส่วนของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอและกรดไขมันอีพีเอเป็น 9 ชุดการทดลอง ทำซ้ำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ เป็นเวลาทั้งหมด 12 สัปดาห์ ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองมีรายละเอียดดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 1:1 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 16 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 16 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 1:2 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 16 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 32 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 1:3 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 16 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 48 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 2:1 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 32 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 16 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 2:2 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 32 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 32 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 6 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 2:3 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 32 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 48 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 7 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 3:1 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 48 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 16 มิลลิกรัม

ชุดการทดลองที่ 8 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 3:2 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 48 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 32 มิลลิกรัม

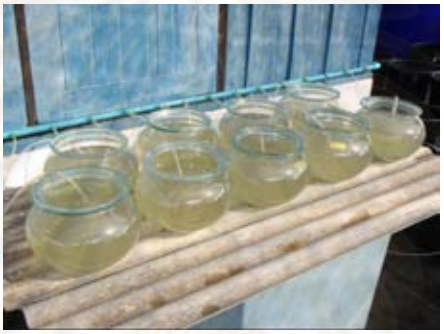
ชุดการทดลองที่ 9 อัตราส่วนของดีเอชเอต่ออีพีเอ เท่ากับ 3:3 โดยมีปริมาณดีเอชเอ 48 มิลลิกรัมและปริมาณอีพีเอ 48 มิลลิกรัม

3.3 การเลี้ยงและเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงแก่โรทิเฟอร์ เพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3

การเลี้ยงโรทิเฟอร์ ทำได้โดยเตรียมบ่อซีเมนต์ขนาด 12 ตัน (รูปที่ 13) ที่ผ่านการทำความสะอาด และฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน สูบน้ำเขียวที่เตรียมไว้ใส่ในบ่อ นำหัวเชื้อโรทิเฟอร์ใส่ในบ่อซีเมนต์ โรทิเฟอร์เป็นแพลงค์ตอนสัตว์ซึ่งกินน้ำเขียวหรือแพลงค์ตอนพืชเป็นอาหาร ทำการเติมน้ำเขียวเมื่อสีน้ำเขียวจางลงหรือทุกครั้งหลังเก็บเกี่ยวโรทิเฟอร์

รูปที่ 13 บ่อซีเมนต์ขนาด 12 ตัน สำหรับเลี้ยงคลอเรลลา (ก) และโรทิเฟอร์ (ข)

เก็บเกี่ยวโรทิเฟอร์จากบ่อซีเมนต์ด้วยถุงกรองขนาดตา 69 ไมครอน จากนั้นเตรียมโรทิเฟอร์ในโหลแก้วขนาด 6 ลิตร ความหนาแน่น 300 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 3500 มิลลิลิตร ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน พร้อมทั้งใส่ยีสต์น้ำหนัก 0.1 กรัม/น้ำทะเล 1 ลิตร จากนั้นนำน้ำทะเลความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และน้ำมันปลาที่ผสมในอัตราส่วนของแต่ละชุดการทดลองลงในโถปั่น ใช้ระยะเวลาปั่นชุดการทดลองละ 10 นาที ที่ความเร็วของมอเตอร์ 12,000 รอบต่อนาที เทสารละลายระหว่างน้ำมันปลากับน้ำทะเลลงในโหลแก้วบรรจุโรทิเฟอร์ที่เตรียมไว้ (รูปที่ 14) เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง จึงเก็บโรทิเฟอร์ด้วยตะแกรงกรองขนาดตา 69 ไมครอน นำโรทิเฟอร์ที่ได้ใส่ถุงซิปล้อคเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และแบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่ง freeze dry เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน



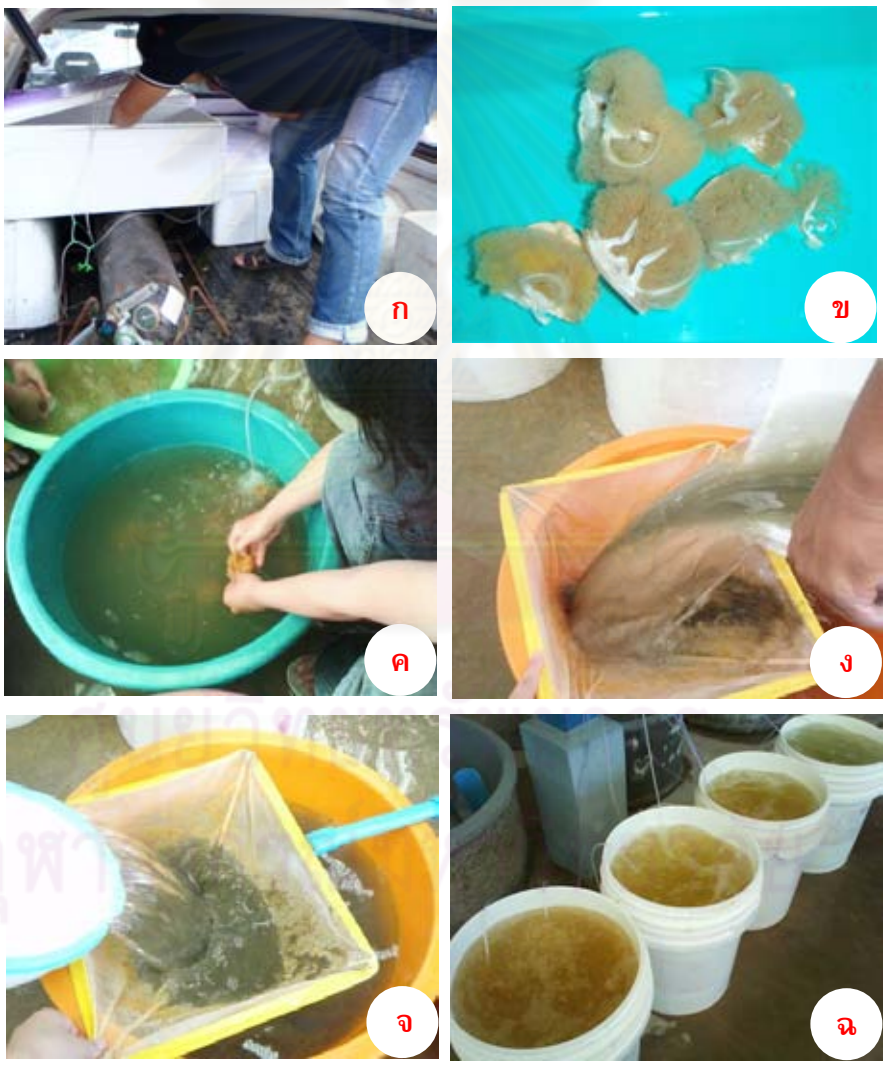
รูปที่ 14 การเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวแก่โรทิเฟอร์ทั้ง 9 ชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง

3.4 การเพิ่มกรดไขมันในอาร์ทีเมียแรกฟักเพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 4 ถึงระยะ first crab

ฟักอาร์ทีเมียจากซีสต์อาร์ทีเมียกระป๋อง โดยใช้น้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 30 ลิตร ให้อากาศค่อนข้างแรงตลอด 24 ชั่วโมง และเก็บเกี่ยวอาร์ทีเมียแรกฟักด้วยตะแกรงขนาดตา 100 ไมครอน จากนั้นเตรียมอาร์ทีเมียในน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ความหนาแน่น 200 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 3500 มิลลิลิตร ในโหลแก้วขนาด 6 ลิตร จากนั้นนำน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และน้ำมันปลาที่ผสมในอัตราส่วนของแต่ละชุดการทดลองตาม 3.2 ลงในโถปั่น ใช้ระยะเวลาปั่นชุดการทดลองละ 10 นาที ที่ความเร็วของมอเตอร์ 12,000 รอบต่อนาที เทสารละลายผสมระหว่างน้ำมันปลากับน้ำทะเลลงในโหลแก้วที่เตรียมไว้ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง เก็บอาร์ทีเมียด้วยตะแกรงขนาดตา 100 ไมครอน นำอาร์ทีเมียที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในถุงซิปล้อคและแบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่ง freeze dry เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

3.5 สัตว์ทดลอง

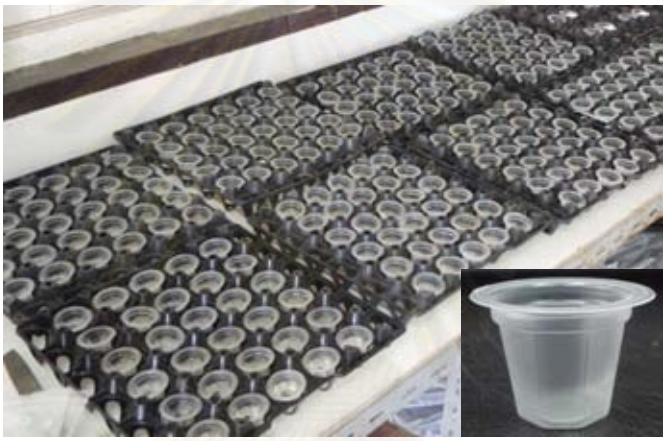
นำปูม้าไข่นอกกระดองที่ได้จากชาวประมงที่หาดวอนนภา ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ลำเลียงในกล่องโฟมที่มีน้ำทะเลสะอาด โดยให้อากาศตลอดเวลา เมื่อถึงโรงเพาะฟัก ทำการตัดตับปิ้งปูม้าที่มีไข่นอกกระดองใส่ในกะละมังพลาสติกที่มีน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน คัดแยกสีของไข่บนตับปิ้ง และแยกไข่ออกจากตับปิ้งโดยใช้มือเขี่ยตับปิ้งเบาๆ ในน้ำ จากนั้นกรองสิ่งสกปรกออกและล้างไข่ด้วยน้ำทะเลประมาณ 3-4 ครั้ง นำไข่ที่ผ่านการทำความสะอาดไปฟักในถังพลาสติกขนาด 100 ลิตร พร้อมให้อากาศค่อนข้างแรง เพื่อไม่ให้ไข่เกาะกันเป็นก้อน ใช้ระยะเวลาประมาณ 2-3 วัน ตัวอ่อนจะฟักออกจากไข่ (รูปที่ 15)



รูปที่ 15 การลำเลียงปูม้าไข่นอกกระดองโดยใส่กล่องโฟมที่มีน้ำทะเลและให้อากาศตลอดเวลา (ก) ตับปิ้งไข่ที่ตัดจากปูม้า (ข) การแยกไข่ออกจากตับปิ้งโดยใช้มือเขี่ยเบาๆ ในน้ำ (ค) กรองสิ่งสกปรกออกจากไข่ (ง) ล้างไข่ให้สะอาดด้วยน้ำทะเล 3-4 ครั้ง (จ) ฟักไข่ในถังฟักขนาด 100 ลิตร โดยแยกสีของไข่ (ฉ)

3.6 การทดลองอนุบาลตัวอ่อนปูม้า เพื่อศึกษาอัตรารอด

เมื่อตัวอ่อนฟักออกจากไข่ ทำการแยกจากถังฟักโดยหยุดให้อากาศ ตัวอ่อนที่แข็งแรงจะอยู่บริเวณผิวน้ำ ใช้สายยางดูดน้ำพร้อมตัวอ่อนลงสู่กะละมังที่มีน้ำเล็กน้อย จากนั้นจึงนำไปอนุบาลต่อในภาชนะพลาสติกขนาด 15 มิลลิลิตร (รูปที่ 16) ภาชนะละ 1 ตัว ชุดการทดลองละ 30 ภาชนะ ความเค็มน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน ในระยะซูเอีย 1-2 ให้โรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นอาหาร ส่วนในระยะซูเอีย 3 ถึงระยะ first crab ให้อาร์ทีเมียแรกฟักที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นอาหาร ทำการเปลี่ยนน้ำทุกวันด้วยการใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดตัวอ่อนปูลงสู่ภาชนะพลาสติกที่มีน้ำใหม่และให้อาหารโดยใช้พาสเจอร์ปิเปต วันละ 1 ครั้ง



รูปที่ 16 ภาชนะพลาสติกใช้อนุบาลปูม้าขนาด 15 มิลลิลิตร ชุดการทดลองละ 30 ภาชนะ เพื่อทดลองอัตราส่วนกรดไขมันทั้ง 9 ชุดการทดลอง

3.7 การทดลองอนุบาลตัวอ่อนปูม้า เพื่อวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณกรดไขมัน

เมื่อตัวอ่อนฟักออกจากไข่ ทำการแยกตัวอ่อนจากถังฟักโดยหยุดให้อากาศ ตัวอ่อนที่แข็งแรงจะอยู่บริเวณผิวน้ำ ใช้สายยางดูดน้ำพร้อมตัวอ่อนลงสู่กะละมังที่มีน้ำเล็กน้อย จากนั้นจึงนำไปอนุบาลในภาชนะพลาสติกสีดำขนาด 60 ลิตร (รูปที่ 17) ปริมาตรน้ำ 50 ลิตร ความเค็มน้ำ 30 ส่วนในพันส่วนทั้ง 9 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ จำนวน 27 ถัง ที่ความหนาแน่น 100 ตัวต่อลิตร เปลี่ยนน้ำวันเว้นวันปริมาตร 50 เปอร์เซ็นต์ และให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้า (08.00 น.) และค่ำ (20.00 น.) เป็นโรทิเฟอร์ (ระยะซูเอีย 1-2) และอาร์ทีเมียแรกฟัก (ระยะซูเอีย 3- ระยะ first crab) ที่ผ่านการเสริมกรดไขมันเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างลูกปูทีละ 9 ถัง เพื่อทำการวิเคราะห์กรดไขมันเมื่อลูกปูเข้าสู่ระยะซูเอีย 3 ระยะเมกาโลปา และระยะ first crab

รูปที่ 17 ภาชนะอนุบาลตัวอ่อนปูม้าขนาด 60 ลิตร เพื่อนำตัวอ่อนไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน ทั้ง 9 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

3.8 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของตัวอย่าง

นำตัวอย่างโรทิเฟอร์ อาร์ทีเมียแรกฟัก และตัวอ่อนปูที่ได้จากการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง มาทำการสกัดกรดไขมันด้วยวิธีของ Lapage and Roy (1984) (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำสารตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography - ID ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

3.9 การเก็บข้อมูล ประเมินผล และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จดบันทึกจำนวนตัวอ่อนปูที่รอดชีวิต การลอกคราบของตัวอ่อนปู เพื่อศึกษาอัตรารอด อัตราการเติบโต และช่วงระยะเวลาการเปลี่ยนระยะ

$$\text{อัตรารอดของตัวอ่อน (\%)} = \frac{(\text{จำนวนเมื่อเริ่มการทดลอง} - \text{จำนวนสุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง})}{\text{จำนวนตัวอ่อนเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ ด้วยวิธี one-way ANOVA และเปรียบเทียบ multiple comparison ด้วยวิธีของ Duncan กำหนดระดับนัยสำคัญที่ 0.05 โดยใช้ข้อมูลชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography จำนวนตัวอ่อนปูม้าที่รอดชีวิต เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองทั้ง 9 ชุดการทดลอง และหาอัตราส่วนของดีเอชเอและอีพีเอที่เหมาะสมที่สุดในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้า

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 การอนุบาลตัวอ่อนปูม้าเพื่อศึกษาอัตรารอดและการเจริญเติบโต

จากค่าความชันในสมการถดถอยเชิงเส้นแสดงเปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อนปูม้าในแต่ละชุดการทดลอง (ตารางที่ 2) พบว่าชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 2:2 มีปริมาณกรดไขมัน DHA 32 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 48 มิลลิกรัม มีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยที่สุด เท่ากับ 3.55 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน

ตารางที่ 2 สมการเชิงเส้นแสดงการรอดตายของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab ของแต่ละชุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	y = a + bx	R^2
1	y = 100 - 5.3666x	0.8944
2	y = 100 - 5.1340x	0.9681
3	y = 100 - 5.4785x	0.8498
4	y = 100 - 4.3477x	0.9813
5	y = 100 - 3.5497x	0.9920
6	y = 100 - 3.9868x	0.9258
7	y = 100 - 5.0356x	0.8981
8	y = 100 - 4.1537x	0.9541
9	y = 100 - 4.3376x	0.9434

จากผลการทดลองอนุบาลลูกปูตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab พบว่า ลูกปูที่ให้อาหารเป็นโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักในชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 2:2 ซึ่งมีปริมาณกรดไขมัน DHA 32 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 32 มิลลิกรัม มีเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกปู (24.44 ±5.56 %) เท่ากับลูกปูในชุดการทดลองที่ 8 ซึ่งมีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 3:2 มีปริมาณกรดไขมัน DHA 48 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 32 มิลลิกรัม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอด 24.44 ±8.89 % (ตารางที่ 3) จากการทดสอบทางสถิติ พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดของลูกปูตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab ใน

แต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และเมื่อทำการทดสอบระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดในแต่ละช่วงระยะการพัฒนาการของลูกปูกับชุดการทดลอง พบว่า ระยะซูเอีย 3 ระยะซูเอีย 4 และระยะเมกาโลปาเท่านั้นที่เปอร์เซ็นต์การรอดในแต่ละระยะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ระหว่างชุดการทดลอง (ตารางที่ 3)

จากข้อมูลการติดตามการเติบโตของตัวอ่อนปูด้วยการจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงระยะ พบว่าจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะซูเอีย 1 เท่ากับ 2.86 ±0.01 วัน ในชุดการทดลองที่ 7 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA: EPA เท่ากับ 3:1 (รูปที่ 18 ก) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างชุดการทดลองกับจำนวนวันเฉลี่ยที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะซูเอีย 1 ส่วนในระยะซูเอีย 2 (รูปที่ 18 ข) พบว่า ชุดการทดลองที่ 9 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:3 มีจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะนี้ (3.30 ±0.14 วัน) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างชุดการทดลองกับจำนวนวันเฉลี่ยที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะซูเอีย 2 ส่วนในระยะซูเอีย 3 (รูปที่ 18 ค) มีจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะนี้เท่ากับ 4.18 ±0.03 วัน ในชุดการทดลองที่ 9 ที่มีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:3 ส่วนระยะซูเอีย 4 (รูปที่ 18 ง) พบว่าชุดการทดลองที่ 9 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:3 มีจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะนี้ (3.48 ±0.04 วัน) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างชุดการทดลองกับจำนวนวันเฉลี่ยที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะซูเอีย 4 ส่วนช่วงเวลาที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะเมกาโลปาน้อยที่สุด (2.67 ±0.89 วัน) อยู่ในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 1:1 (รูปที่ 18 จ) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างชุดการทดลองกับจำนวนวันเฉลี่ยที่ตัวอ่อนปูอยู่ในระยะเมกาโลปา

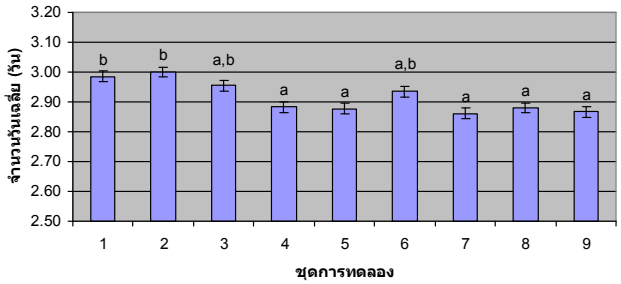
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การรอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab ในแต่ละชุดการทดลอง (mean, ±SE) โดยที่ Z_1 = ซูเอีย 1, Z_2 = ซูเอีย 2, Z_3 = ซูเอีย 3 (วันที่ 10), Z_4 = ซูเอีย 4 (วันที่ 13), M = เมกาโลปา (วันที่ 16), C = first crab และเปอร์เซ็นต์การรอดรวมทุกระยะ (วันที่ 20) ตัวเลขวันที่ในวงเล็บ คือ วันที่ใช้เป็นตัวแทนในแต่ละระยะการพัฒนาการเพื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติ

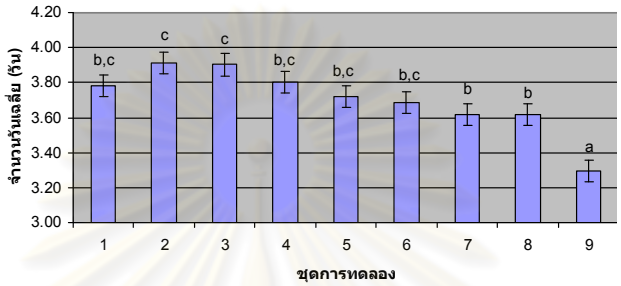
ระยะของตัวอ่อน	วันที่ทดลอง	ชุดการทดลอง																	
		1		2		3		4		5		6		7		8		9	
Z_1	0	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00	100.00	±0.00
Z_1	1	88.89	±1.11	90.00	±0.00	84.44	±7.29	93.33	±6.67	95.56	±4.44	88.89	±11.11	93.33	±6.67	91.11	±8.89	92.22	±7.78
Z_1, Z_2	2	75.56	±4.44	81.11	±4.01	78.89	±9.49	86.67	±3.85	92.22	±2.94	82.22	±7.78	80.00	±3.85	82.22	±8.68	86.67	±5.09
Z_1, Z_2	3	70.00	±3.33	77.78	±7.29	67.78	±12.52	84.44	±2.22	86.67	±5.09	76.67	±5.77	73.33	±6.67	78.89	±6.76	75.56	±4.84
Z_2	4	67.78	±2.94	74.44	±9.09	66.67	±11.55	83.33	±1.92	83.33	±1.92	76.67	±5.77	70.00	±6.67	78.89	±6.76	74.44	±4.01
Z_2, Z_3	5	62.22	±4.44	68.89	±7.78	64.44	±13.52	83.33	±1.92	83.33	±1.92	74.44	±4.01	66.67	±5.77	78.89	±6.76	74.44	±4.01
Z_2, Z_3	6	62.22	±4.44	67.78	±8.89	61.11	±10.94	83.33	±1.92	81.11	±2.94	73.33	±3.33	61.11	±4.44	77.78	±6.76	70.00	±5.09
Z_3	7	62.22	±4.44	64.44	±7.78	53.33	±8.82	78.89	±2.22	76.67	±5.77	68.89	±1.11	54.44	±4.44	67.78	±4.44	65.56	±4.01
Z_3	8	54.44	±1.11	53.33	±3.33	40.00	±11.55	64.44	±1.11	72.22	±2.94	58.89	±1.11	44.44	±5.88	64.44	±1.11	56.67	±3.33
Z_3, Z_4	9	40.00	±3.33	44.44	±7.29	36.67	±10.72	58.89	±6.19	65.56	±6.76	57.78	±1.11	41.11	±4.01	54.44	±2.22	52.22	±4.01
Z_3, Z_4	10	32.22^{a}	±2.94	$42.22^{a,b}$	±6.19	32.22^{a}	±9.49	$52.22^{b,c}$	±2.94	61.11^{c}	±4.01	$54.44^{b,c}$	±2.22	$38.89^{a,b}$	±6.19	$50.00^{b,c}$	±3.33	$48.89^{b,c}$	±4.01
Z_4	11	30.00	±3.33	38.89	±7.78	28.89	±8.01	50.00	±1.92	61.11	±4.01	52.22	±1.11	38.89	±6.19	50.00	±3.33	46.67	±5.09
Z_4, M	12	26.67	±1.92	37.78	±7.29	26.67	±6.67	47.78	±1.11	60.00	±3.85	52.22	±1.11	38.89	±6.19	47.78	±2.94	46.67	±5.09
Z_4, M	13	24.44^{a}	±2.22	$36.67^{a,b}$	±8.39	25.56^{a}	±6.19	$41.11^{b,c}$	±2.94	55.56^{c}	±4.44	$51.11^{b,c}$	±1.11	$38.89^{a,b}$	±6.19	$44.44^{b,c}$	±2.94	$45.56^{b,c}$	±4.01
M	14	24.44	±2.22	30.00	±6.94	21.11	±10.60	37.78	±2.22	51.11	±4.44	50.00	±0.00	36.67	±8.39	44.44	±2.94	41.11	±4.84
M	15	21.11	±1.11	25.56	±4.44	15.56	±9.69	34.44	±4.01	47.78	±1.11	45.56	±2.94	30.00	±5.77	42.22	±4.01	38.89	±5.56
M,C	16	16.67^{a}	±5.09	$20.00^{a,b}$	±3.33	13.33^{a}	±10.18	$33.33^{b,c,d}$	±3.33	44.44^{d}	±1.11	38.89^{d}	±2.22	$21.11^{a,b,c}$	±1.11	$35.56^{c,d}$	±1.11	36.67^{d}	±6.94
C	17	15.56	±6.19	11.11	±5.56	12.22	±9.09	26.67	±3.33	40.00	±0.00	36.67	±3.33	15.56	±1.11	28.89	±4.44	30.00	±1.92
C	18	11.11	±6.19	5.56	±5.56	12.22	±9.09	21.11	±2.94	36.67	±3.33	32.22	±1.11	11.11	±2.94	25.56	±7.78	23.33	±3.33
C	19	7.78	±7.78	5.56	±5.56	10.00	±10.00	15.56	±2.94	33.33	±3.33	25.56	±1.11	11.11	±2.94	24.44	±8.89	21.11	±5.56
C	20	6.67^{a}	±6.67	$7.78^{a,b}$	±7.78	10.00^{a}	±10.00	$13.33^{a,b}$	±3.33	24.44^{b}	±5.56	$18.89^{a,b}$	±2.94	$11.11^{a,b}$	±2.94	$24.44^{a,b}$	±8.89	$17.78^{a,b}$	±4.84

หมายเหตุ ตัวยกที่ซ้ำกันจะแสดงค่าตัวกลางเลขคณิตที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

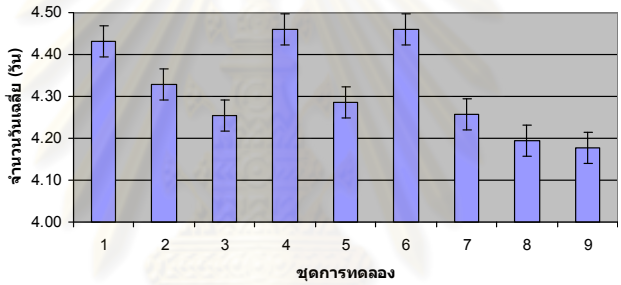
ก



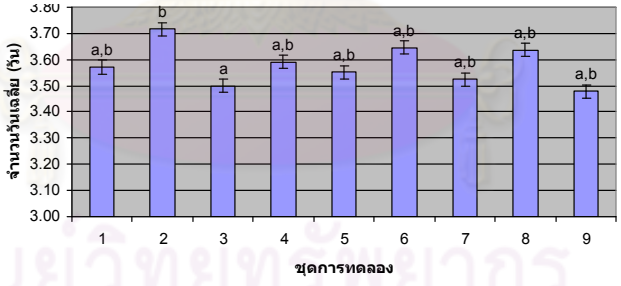
ข



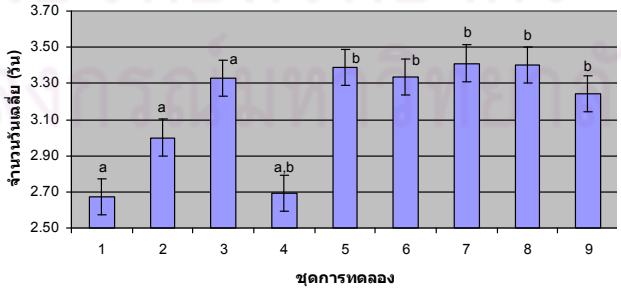
ค



ง

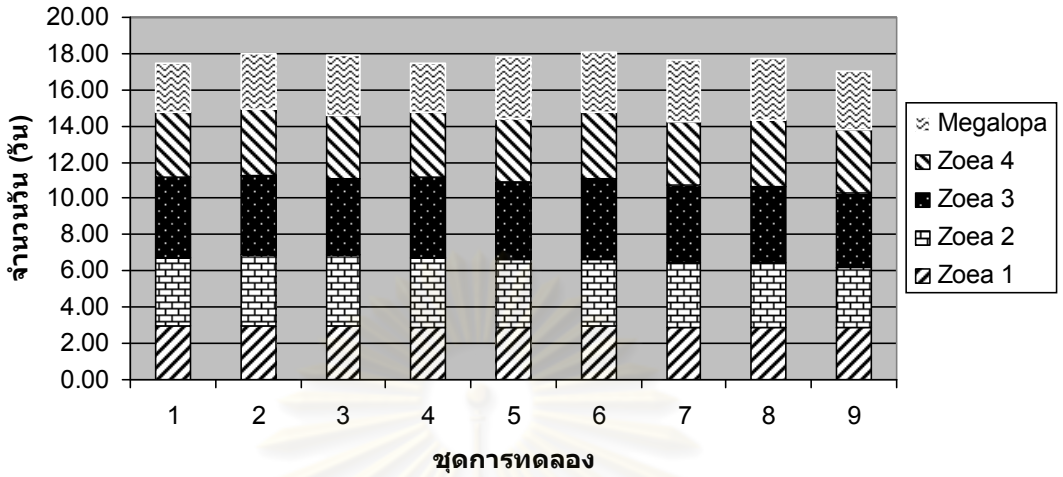


จ



รูปที่ 18 กราฟจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกปูใช้พัฒนาการในระยะซูเอีย 1 (ก), ระยะซูเอีย 2 (ข), ระยะซูเอีย 3 (ค), ระยะซูเอีย 4 (ง) และระยะเมกาโลปาก่อนพัฒนาเข้าสู่ระยะ first crab (จ) อักษรแสดงเหนือกราฟแท่งที่ซ้ำกันจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

กราฟจำนวนวันเฉลี่ยในแต่ละระยะของลูกปูม้า



รูปที่ 19 กราฟจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกปูแต่ละชุดการทดลองอยู่ในระยะระยะซูเอีย 1, ระยะซูเอีย 2, ระยะซูเอีย 3, ระยะซูเอีย 4 และระยะเมกาโลปาก่อนลอกคราบเข้าสู่ระยะ first crab

จากรูปที่ 19 พบว่าระยะเวลาเฉลี่ยโดยรวมจากระยะซูเอีย 1 - ระยะเมกาโลปาก่อนพัฒนาเข้าสู่ระยะ first crab นั้นชุดการทดลองที่ 9 มีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 17.06 ±0.35 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างชุดการทดลองกับระยะเวลาเฉลี่ยโดยรวม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 การวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในตัวอย่างโรทิเฟอร์ อาร์ทีเมีย และตัวอ่อนปูม้า

4.2.1 ปริมาณกรดไขมันบางชนิดในตัวอย่างโรทิเฟอร์ที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 4)

ปริมาณกรดไขมัน EPA และปริมาณกรดไขมัน DHA ของตัวอย่างโรทิเฟอร์ อยู่ในช่วง 0.83±0.12 - 2.70±0.13 และ 0.77±0.20 - 1.64±0.23 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ โดยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในปริมาณกรดไขมันทั้งสองระหว่างชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA สูงสุด ส่วนชุดการทดลองที่ 7 มีปริมาณกรดไขมัน EPA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 6 มีปริมาณกรดไขมัน DHA ต่ำสุด

ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA และ ∑n-6 PUFA ของตัวอย่างโรทิเฟอร์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง โดยที่ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA และ ∑n-6 PUFA มีค่าน้อยที่สุดในชุดการทดลองที่ 8 (2.63±0.49 และ 1.43±0.35 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ) ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA มีค่ามากที่สุดในชุดการทดลองที่ 1 (6.14b±0.36 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม) ส่วนปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA มีค่ามากที่สุดในชุดการทดลองที่ 2 (6.09±0.1 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม)

สัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ของตัวอย่างโรทิเฟอร์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($P<0.05$) โดยที่สัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 มีค่าอยู่ในช่วง 0.72±0.10 - 3.62±1.68 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ซึ่งค่าสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 สูงสุดในชุดการทดลองที่ 8 และต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 3

ปริมาณการสะสม HUFA ในตัวอย่างโรทิเฟอร์ต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 4 และ 8 เท่ากับ 2.43±0.21 และ 2.43±0.33 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณการสะสม HUFA สูงสุด (5.13±0.29 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม) โดยที่ปริมาณการสะสม HUFA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($P<0.05$)

4.2.2 ปริมาณกรดไขมันบางชนิดในตัวอย่างอาร์ทีเมียที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 5)

ปริมาณกรดไขมัน EPA ในตัวอย่างอาร์ทีเมียอยู่ในช่วง 1.21±0.11 - 6.09±0.75 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($P<0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 2:2 มีปริมาณกรดไขมัน EPA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 9 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:3 มีปริมาณกรดไขมัน EPA สูงสุด

ปริมาณกรดไขมัน DHA ในตัวอย่างอาร์ทีเมียอยู่ในช่วง 0.09 ±0.05 - 3.06 ±0.68 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 1:3 มีปริมาณกรดไขมัน DHA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 9 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:3 มีปริมาณกรดไขมัน DHA สูงสุด โดยที่ปริมาณกรดไขมัน DHA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างชุดการทดลอง ($P<0.05$)

ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA และ ∑n-6 PUFA ของตัวอย่างอาร์ทีเมีย ต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 1 เท่ากับ 26.12±2.68 และ 6.68±0.78 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ และปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA สูงสุดในชุดการทดลองที่ 8 เท่ากับ 35.45 ±0.83 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ส่วนปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA สูงสุดเท่ากับ 8.54 ±0.13 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($P<0.05$)

สัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ในตัวอย่างอาร์ทีเมียอยู่ในช่วง 3.54±0.19-4.54±0.18 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 1:3 มีสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 8 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:2 มีสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 สูงสุด

ปริมาณการสะสม HUFA ในตัวอย่างอาร์ทีเมียอยู่ในช่วง 4.44±0.76 - 11.55±1.49 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณการสะสม HUFA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 9 มีปริมาณการสะสม HUFA สูงสุด โดยที่ปริมาณการสะสม HUFA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$)

4.2.3 ปริมาณกรดไขมันบางชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 3 (ตารางที่ 6)

ปริมาณกรดไขมัน EPA ในตัวอ่อนปูระยะซูเอีย 3 อยู่ในช่วง 8.53±4.01 - 13.07±1.66 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 2:3 มีปริมาณกรดไขมัน EPA ต่ำสุด (8.53±4.01 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม) และชุดการทดลองที่ 4 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 2:1 มีปริมาณกรดไขมัน EPA สูงสุด (13.07±1.66 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม)

ปริมาณกรดไขมัน DHA ในตัวอ่อนปูระยะซูเอีย 3 อยู่ในช่วง 0.14±0.14 - 3.08±2.00 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำมากเมื่อเทียบกับปริมาณกรดไขมัน EPA โดยชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 2:1 มีปริมาณกรดไขมัน DHA ต่ำสุด (0.14±0.14 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม) และชุดการทดลองที่ 1 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 1:1 มีปริมาณกรดไขมัน DHA สูงสุด (3.08±2.00 เปอร์เซ็นต์ กรดไขมันรวม)

ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA และ ∑n-6 PUFA ของตัวอ่อนระยะซูเอีย 3 ต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 6 เท่ากับ 15.42±4.05 และ 9.15±1.54 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ และปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA สูงสุดในชุดการทดลองที่ 5 เท่ากับ 29.34±3.71 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ส่วนปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA สูงสุดเท่ากับ 15.63±2.75 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม

สัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ในตัวอ่อนระยะซูเอีย 3 อยู่ในช่วง 1.42±0.31 - 2.61 ±0.34 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 2:1 มีสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 5 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 2:2 มีสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 สูงสุด

ปริมาณการสะสม HUFA ในตัวอ่อนปูระยะซูเอีย 3 อยู่ในช่วง 12.26±4.34 - 20.7±0.80 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 6 มีปริมาณการสะสม HUFA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 5 มีปริมาณการสะสม HUFA สูงสุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.4 ปริมาณกรดไขมันบางชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะเมกาโลปา (ตารางที่ 7)

ปริมาณกรดไขมัน EPA และปริมาณกรดไขมัน DHA ของตัวอ่อนปูม้าระยะเมกาโลปาอยู่ในช่วง 8.17±6.78 - 13.26±6.04 และ 0.95±0.47 - 4.72±3.10 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกรดไขมัน DHA มีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับปริมาณกรดไขมัน EPA โดยชุดการทดลองที่ 8 มีปริมาณกรดไขมัน EPA และปริมาณกรดไขมัน DHA สูงสุด ส่วนชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณกรดไขมัน EPA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 7 มีปริมาณกรดไขมัน DHA ต่ำสุด

ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA ของตัวอ่อนระยะเมกาโลปา มีค่าน้อยที่สุดในชุดการทดลองที่ 4 (13.49±9.01 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม) และมีค่ามากที่สุดในชุดการทดลองที่ 8 23.86±2.97 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม

ปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA ของตัวอ่อนระยะเมกาโลปา ต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 9 เท่ากับ 8.45±1.82 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม และชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA สูงสุดเท่ากับ 30.08±9.62 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม

สัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ของตัวอ่อนปูระยะเมกาโลปาอยู่ในช่วง 1.03±0.71 - 2.88±0.57 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 9 อัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 3:3 มีสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 สูงสุดและชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีอัตราส่วน DHA:EPA เท่ากับ 1:2 มีสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ต่ำสุด

ปริมาณการสะสม HUFA ในตัวอ่อนปูม้าระยะเมกาโลปาอยู่ในช่วง 12.31±9.32 - 28.08±0.59 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณการสะสม HUFA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณการสะสม HUFA สูงสุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.5 ปริมาณกรดไขมันบางชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab (ตารางที่ 8)

ปริมาณกรดไขมัน EPA และปริมาณกรดไขมัน DHA ของตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab อยู่ในช่วง 13.81±4.91 - 18.23±4.33 และ 4.40±2.92 - 8.26±3.52 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA สูงสุด ส่วนชุดการทดลองที่ 7 มีปริมาณกรดไขมัน EPA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณกรดไขมัน DHA ต่ำสุด

ปริมาณการสะสม ∑n-3 PUFA ของตัวอ่อนระยะ first crab มีค่าน้อยที่สุดในชุดการทดลองที่ 1 (26.65±4.39 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม) และมีค่ามากที่สุดในชุดการทดลองที่ 3 (34.46±6.79 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม)

ปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA ของตัวอ่อนระยะ first crab ต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 9 เท่ากับ 11.53 ±0.42 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ส่วนชุดการทดลองที่ 8 มีปริมาณการสะสม ∑n-6 PUFA สูงสุดเท่ากับ 15.05±3.13 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม

สัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 ของตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab มีค่าอยู่ในช่วง 2.17±0.62 - 3.87±1.61 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ซึ่งค่าสัดส่วน ∑n-3 / ∑n-6 สูงสุดในชุดการทดลองที่ 3 และต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 8

ปริมาณการสะสม HUFA ในตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab อยู่ในช่วง 25.72±3.84 - 32.14±6.02 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม โดยชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณการสะสม HUFA ต่ำสุด และชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณการสะสม HUFA สูงสุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างโรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 14:0	3.19	±1.02	5.03	±0.45	5.35	±0.27	6.42	±0.39	6.41	±0.20	5.31	±0.25	6.98	±0.29	8.17	±0.45	6.39	±0.41
C 14:1	0.39	±0.25	0.18	±0.18	0.00	±0	0.51	±0.23	0.23	±0.15	0.00	±0	0.34	±0.21	0.24	±0.15	0.44	±0.20
C 15:0	0.46	±0.29	0.46	±0.30	0.86	±0.38	1.89	±0.11	0.68	±0.43	0.83	±0.37	1.97	±0.08	1.56	±0.50	1.77	±0.13
C 15:1	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0
C 16:0	29.25	±1.26	28.47	±2.46	32.99	±2.22	37.60	±2.53	38.51	±2.27	33.02	±1.66	40.74	±1.78	45.22	±1.70	39.04	±2.44
C 16:1	18.22	±1.16	18.04	±0.40	15.64	±0.30	14.23	±0.18	13.53	±0.53	18.43	±0.57	12.03	±0.43	11.07	±0.48	13.42	±0.19
C 17:1	1.26	±0.26	1.40	±0.03	0.75	±0.24	1.15	±0.02	0.78	±0.25	1.14	±0.23	0.63	±0.26	0.53	±0.24	0.56	±0.25
C 18:0	14.13	±0.66	13.94	±0.93	14.89	±0.86	14.15	±0.85	14.08	±1.04	13.20	±2.77	14.29	±0.65	15.77	±0.49	15.41	±0.56
C 18:1 n-9	16.17	±4.11	15.79	±4.36	16.07	±4.87	14.47	±4.17	14.11	±4.21	16.44	±4.77	15.05	±4.19	9.88	±3.5	14.38	±4.32
C 18:2 n-6	4.47	±0.12	4.58	±0.12	2.94	±0.64	1.35	±0.12	1.58	±0.32	2.85	±0.08	1.00	±0.18	0.51	±0.17	1.41	±0.09
C 18:3 n-6	0.73	±0.15	1.12	±0.04	0.63	±0.20	0.76	±0.06	0.71	±0.03	0.83	±0.04	0.73	±0.03	0.74	±0.18	0.66	±0.13
C 18:3 n-3	1.71	±0.09	1.45	±0.28	0.51	±0.24	0.50	±0.11	0.59	±0.14	1.06	±0.11	0.51	±0.12	0.24	±0.17	0.36	±0.11
C 20:0	0.32	±0.14	0.49	±0.06	1.10	±0.53	0.77	±0.06	0.74	±0.04	0.52	±0.11	0.78	±0.05	0.73	±0.15	0.71	±0.16
C 20:1 n-9	2.89	±0.12	3.36	±0.37	3.34	±0.68	2.40	±0.04	3.23	±0.15	2.28	±0.39	1.88	±0.42	1.97	±0.35	1.99	±0.54
C 20:2	0.12	±0.05	0.16	±0.07	0.10	±0.05	0.06	±0.04	0.05	±0.03	0.00	±0	0.04	±0.04	0.14	±0.05	0.05	±0.03
C 20:3 n-3	0.09	±0.04	0.00	±0	0.06	±0.04	0.04	±0.04	0.06	±0.04	0.00	±0	0.19	±0.12	0.00	±0	0.05	±0.02
C 20:4 n-6	0.69	±0.14	0.36	±0.12	0.62	±0.33	0.09	±0.05	0.08	±0.05	0.39	±0.08	0.11	±0.07	0.04	±0.04	0.21	±0.04
C 20:3 n-6	0.00	±0	0.04	±0.04	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.14	±0.05	0.00	±0
C 20:5 n-3	2.70[b]	±0.13	2.47[b]	±0.24	1.30[a]	±0.29	1.19[a]	±0.10	1.38[a]	±0.27	1.40[a]	±0.15	0.83[a]	±0.12	0.92[a]	±0.36	1.25[a]	±0.23
C 22:0	0.23	±0.11	0.22	±0.10	0.22	±0.10	0.57	±0.07	0.58	±0.22	0.32	±0.07	0.32	±0.10	0.51	±0.02	0.57	±0.04

ตารางที่ 4 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างโรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 24:0	0.22	±0.14	0.32	±0.15	0.12	±0.12	0.29	±0.13	0.34	±0.15	0.57	±0.07	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0
C 22:6 n-3	1.64	±0.23	0.95	±0.22	1.10	±0.29	1.11	±0.19	1.10	±0.29	0.77	±0.20	1.35	±0.04	1.46	±0.23	1.07	±0.04
C 24:1 n-9	0.42	±0.19	0.59	±0.27	0.47	±0.30	0.20	±0.20	0.36	±0.23	0.49	±0.22	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0
∑n-3 PUFA	6.14^{b}	±0.36	4.87^{b}	±0.74	2.97^{a}	±0.52	2.85^{a}	±0.32	3.13^{a}	±0.61	3.22^{a}	±0.39	2.88^{a}	±0.19	2.63^{a}	±0.49	2.74^{a}	±0.29
∑n-6 PUFA	5.89^{d}	±0.32	6.09^{d}	±0.1	4.19^{c}	±0.55	2.20^{a,b}	±0.11	2.37^{b}	±0.27	4.07^{c}	±0.18	1.83^{a,b}	±0.26	1.43^{a}	±0.35	2.28^{a,b}	±0.14
∑n-3/∑n-6	1.07^{a}	±0.12	0.80^{a}	±0.12	0.72^{a}	±0.10	1.32^{a}	±0.16	1.33^{a}	±0.18	0.81^{a}	±0.12	1.66^{a}	±0.20	3.62^{b}	±1.68	1.20^{a}	±0.10
HUFA	5.13^{c}	±0.29	3.78^{b}	±0.40	3.07^{a,b}	±0.30	2.43^{a}	±0.21	2.62^{a}	±0.45	2.55^{a}	±0.28	2.47^{a}	±0.27	2.43^{a}	±0.33	2.58^{a}	±0.26

หมายเหตุ

- อักษรแสดงเหนือตัวเลขที่ซ้ำกันจะแสดงค่าตัวกลางเลขคณิตที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)
- C 20:5 n-3 คือ eicosapentaenoic acid (EPA)
- C 22:6 n-3 คือ docosahexaenoic acid (DHA)
- ∑n-3 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ได้แก่ C18:3 n-3, C20:3 n-3, C20:5 n-3, C22:6 n-3
- ∑n-6 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6 ได้แก่ C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6
- ∑n-3/∑n-6คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ต่อผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6
- HUFA คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ C20:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:6 n-3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างอาร์ทีเมียแรกฟักที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 14:0	0.71	±0.23	0.55	±0.44	0.59	±0.26	0.93	±0.30	0.58	±0.23	0.93	±0.30	1.66	±0.22	1.72	±0.23	1.85	±0.24
C 14:1	1.06	±0.34	1.22	±0.37	0.93	±0.35	1.27	±0.33	1.23	±0.31	0.99	±0.31	1.71	±0.32	1.09	±0.28	3.69	±2.47
C 15:0	0.00	±0	0.58	±0.58	0.40	±0.30	0.00	±0	0.28	±0.14	0.00	±0	0.09	±0.09	0.16	±0.08	0.15	±0.10
C 15:1	0.31	±0.16	0.10	±0.10	0.22	±0.14	0.28	±0.14	19.51	±0.96	0.25	±0.13	0.00	±0	0.25	±0.12	0.13	±0.09
C 16:0	21.78	±1.69	17.51	±0.97	19.22	±1.07	23.68	±1.45	5.50	±0.12	20.87	±0.74	20.31	±0.91	20.89	±0.73	20.35	±1.90
C 16:1	5.75	±0.22	5.71	±0.31	5.87	±0.23	6.15	±0.30	0.71	±0.02	5.67	±0.18	5.58	±0.17	5.48	±0.15	5.33	±0.59
C 17:1	0.61	±0.12	0.53	±0.12	0.50	±0.11	0.81	±0.02	11.93	±0.42	0.51	±0.09	0.66	±0.04	0.84	±0.07	1.96	±1.17
C 18:0	12.88	±0.67	9.20	±1.37	13.17	±0.67	13.34	±0.68	14.87	±0.10	11.64	±0.38	10.49	±0.35	9.45	±1.2	5.87	±1.88
C 18:1 n-9	20.27	±2.77	24.29	±4.16	21.35	±3.07	15.93	±0.73	6.00	±0.06	14.34	±0.41	13.16	±0.53	13.13	±0.40	13.68	±0.94
C 18:2 n-6	5.03	±0.48	5.50	±0.46	5.34	±0.40	5.27	±0.13	0.55	±0.07	5.85	±0.08	5.49	±0.09	5.60	±0.09	5.81	±0.15
C 18:3 n-6	0.34	±0.11	0.41	±0.10	0.36	±0.10	0.46	±0.09	28.60	±0.49	0.57	±0.08	0.53	±0.11	0.64	±0.03	0.77	±0.05
C 18:3 n-3	22.98	±2.22	24.92	±3.56	23.10	±2.77	22.76	±1.49	0.48	±0.04	27.69	±0.68	27.08	±0.84	27.29	±0.42	25.15	±1.08
C 20:0	0.39	±0.08	0.31	±0.15	0.48	±0.07	0.56	±0.05	1.91	±0.22	0.30	±0.08	0.31	±0.06	0.43	±0.01	0.46	±0.02
C 20:1 n-9	2.21	±0.37	1.87	±0.33	2.30	±0.39	1.43	±0.16	0.10	±0.04	1.82	±0.20	1.33	±0.22	1.55	±0.16	1.73	±0.19
C 20:2	0.19	±0.10	0.40	±0.35	0.11	±0.05	0.09	±0.04	0.27	±0.24	0.08	±0.04	0.06	±0.04	0.68	±0.30	0.25	±0.03
C 20:3 n-6	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	1.60	±0.18	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0	0.00	±0
C 20:4 n-6	1.31	±0.24	1.27	±0.31	1.46	±0.22	1.51	±0.18	0.88	±0.52	1.56	±0.22	2.07	±0.14	1.62	±0.23	1.97	±0.08
C 20:3 n-3	0.26	±0.08	1.05	±0.79	0.20	±0.08	0.26	±0.07	3.17	±0.41	0.45	±0.24	0.42	±0.05	1.61	±0.76	0.42	±0.02
C 20:5 n-3	2.70[a]	±0.43	3.26[a]	±0.86	2.80[a]	±0.50	3.18[a]	±0.47	1.21[a]	±0.11	3.50[a,b]	±0.60	5.05[b,c]	±0.46	4.08[a,b]	±0.61	6.09[c]	±0.75
C 22:0	0.92	±0.18	1.12	±0.04	1.37	±0.05	1.27	±0.06	0.10	±0.06	1.71	±0.58	0.96	±0.06	0.93	±0.06	1.05	±0.09

ตารางที่ 5 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอย่างอาร์ทีเมียแรกฟักที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 22:6 n-3	0.18[a]	±0.06	0.18[a]	±0.12	0.09[a]	±0.05	0.67[a]	±0.19	0.31[a]	±0.10	1.01[a]	±0.22	2.80[b]	±0.77	2.47[b]	±0.36	3.06[b]	±0.68
C 24:1 n-9	0.08	±0.04	0.01	±0.01	0.08	±0.04	0.13	±0.05	0.20	±0.05	0.11	±0.03	0.00	±0	0.08	±0.03	0.08	±0.05
∑n-3 PUFA	26.12[a]	±2.68	29.41[a,b]	±4.61	26.18[a]	±3.31	26.87[a]	±2.19	32.95[a,b]	±0.98	32.65[a,b]	±1.11	35.36[b]	±1.58	35.45[b]	±0.83	34.73[b]	±0.50
∑n-6 PUFA	6.68	±0.78	7.19	±0.75	7.16	±0.65	7.25	±0.36	8.42	±0.19	7.98	±0.24	8.10	±0.31	7.86	±0.24	8.54	±0.13
∑n-3/∑n-6	4.28	±0.63	3.91	±0.31	3.54	±0.19	3.66	±0.12	3.91	±0.07	4.11	±0.15	4.37	±0.12	4.54	±0.18	4.07	±0.04
HUFA	4.44[a]	±0.76	5.76[a]	±1.31	4.55[a]	±0.82	5.62[a]	±0.89	5.96[a]	±0.56	6.52[a]	±0.85	10.35[b]	±1.19	9.78[b]	±0.61	11.55[b]	±1.49

หมายเหตุ

- อักษรแสดงเหนือตัวเลขที่ซ้ำกันจะแสดงค่าตัวกลางเลขคณิตที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)
- C 20:5 n-3 คือ eicosapentaenoic acid (EPA)
- C 22:6 n-3 คือ docosahexaenoic acid (DHA)
- ∑n-3 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ได้แก่ C18:3 n-3, C20:3 n-3, C20:5 n-3, C22:6 n-3
- ∑n-6 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6 ได้แก่ C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6
- ∑n-3/∑n-6คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ต่อผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6
- HUFA คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ C20:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:6 n-3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 3 ซึ่งให้โรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันในระยะซูเอีย 1- ระยะซูเอีย 2 ในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 14:0	0.47	±0.47	0.52	±0.52	0.65	±0.65	0.45	±0.45	0.50	±0.50	0.46	±0.46	0.60	±0.60	0.00	±0.00	0.90	±0.90
C 14:1	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.32	±0.32	0.22	±0.22	0.00	±0.00	0.23	±0.23	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 15:0	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.19	±0.19	0.00	±0.00	0.20	±0.20	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 15:1	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.18	±0.18	0.00	±0.00	0.11	±0.11	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 16:0	26.31	±5.38	31.45	±8.14	23.01	±1.83	28.05	±6.64	17.55	±1.16	42.43	±15.06	28.27	±4.73	26.55	±3.97	23.81	±2.03
C 16:1	5.84	±4.13	9.54	±4.39	1.70	±0.45	10.37	±5.17	7.59	±5.93	6.87	±6.87	5.72	±3.38	5.24	±3.09	6.14	±3.57
C 17:1	0.93	±0.93	1.17	±1.17	1.17	±1.17	0.88	±0.88	1.09	±1.09	0.84	±0.84	1.16	±1.16	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 18:0	13.12	±3.83	14.58	±3.80	11.08	±1.45	9.61	±3.47	11.67	±2.56	7.43	±2.17	3.35	±3.35	9.52	±0.48	3.36	±3.36
C 18:1 n-9	11.51	±2.60	10.55	±3.92	24.93	±4.25	13.60	±2.66	17.09	±1.48	13.66	±4.90	25.50	±6.73	27.61	±5.73	25.67	±7.41
C 18:2 n-6	5.92	±0.44	5.48	±0.78	5.73	±1.69	8.47	±1.02	5.70	±0.55	4.30	±1.33	5.27	±1.17	5.32	±1.21	4.95	±0.84
C 18:3 n-6	2.20	±0.76	2.66	±0.86	2.69	±0.88	6.03	±2.80	1.48	±0.36	2.53	±0.95	2.57	±0.81	1.48	±0.23	2.85	±0.97
C 18:3 n-3	8.66	±1.97	6.85	±1.05	8.86	±1.12	6.92	±2.00	12.71	±3.88	5.48	±1.40	8.11	±0.97	5.79	±0.61	9.53	±2.08
C 20:0	1.37	±0.86	0.81	±0.36	1.20	±0.67	0.00	±0.00	0.89	±0.44	0.83	±0.53	0.85	±0.23	0.60	±0.06	1.16	±0.35
C 20:1 n-9	1.07	±0.57	1.21	±0.37	0.30	±0.15	0.18	±0.18	0.88	±0.45	0.17	±0.17	1.54	±0.91	0.40	±0.20	0.63	±0.27
C 20:2	0.50	±0.27	0.00	±0.00	0.12	±0.12	0.00	±0.00	0.52	±0.28	0.00	±0.00	0.18	±0.18	0.43	±0.11	0.18	±0.18
C 20:3 n-6	0.07	±0.07	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.08	±0.08	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 20:4 n-6	3.24	±1.08	2.97	±0.30	3.53	±0.52	1.14	±1.14	4.10	±0.28	2.32	±0.61	2.78	±0.74	2.76	±0.91	3.81	±0.61
C 20:3 n-3	2.31	±1.39	0.95	±0.62	1.13	±0.58	0.09	±0.09	1.94	±0.97	1.13	±0.58	0.44	±0.44	0.92	±0.46	1.53	±0.45
C 20:5 n-3	10.95	±2.99	8.65	±3.55	11.87	±4.20	13.07	±1.66	12.73	±1.77	8.53	±4.01	9.57	±3.04	8.79	±3.82	10.16	±3.16
C 22:0	1.45	±0.72	0.85	±0.19	0.82	±0.45	0.22	±0.22	1.26	±0.63	1.87	±0.50	2.68	±1.03	1.02	±0.08	1.34	±0.27

ตารางที่ 6 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 3 ซึ่งให้โรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันในระยะซูเอีย 1- ระยะซูเอีย 2 ในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 22:1	1.00	±1.00	0.30	±0.30	0.46	±0.46	0.20	±0.20	0.34	±0.34	0.29	±0.29	0.54	±0.54	1.20	±1.20	1.11	±1.11
C 22:6 n-3	3.08	±2.00	1.48	±0.98	0.46	±0.46	0.14	±0.14	1.96	±0.33	0.28	±0.28	0.77	±0.77	2.38	±0.47	2.86	±0.74
∑n-3 PUFA	25.00	±0.99	17.93	±2.31	22.32	±3.66	20.22	±1.30	29.34	±3.71	15.42	±4.05	18.90	±2.63	17.88	±3.21	24.07	±1.15
∑n-6 PUFA	11.43	±0.61	11.10	±0.49	11.94	±1.68	15.63	±2.75	11.28	±0.08	9.15	±1.54	10.71	±1.29	9.56	±2.00	11.62	±0.38
∑n-3/∑n-6	$2.16^{b,c}$	±0.20	$1.61^{a,b}$	±0.20	$1.89^{a,b}$	±0.09	1.42^{a}	±0.31	2.61^{c}	±0.34	$1.64^{a,b}$	±0.25	$1.79^{a,b}$	±0.06	$1.91^{a,b}$	±0.09	$2.10^{a,b,c}$	±0.09
HUFA	19.58	±1.44	14.04	±3.23	16.99	±4.65	14.44	±2.96	20.73	±0.80	12.26	±4.34	13.57	±4.31	14.85	±4.65	18.36	±3.27

หมายเหตุ

- อักษรแสดงเหนือตัวเลขที่ซ้ำกันจะแสดงค่าตัวกลางเลขคณิตที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)
- C 20:5 n-3 คือ eicosapentaenoic acid (EPA)
- C 22:6 n-3 คือ docosahexaenoic acid (DHA)
- ∑n-3 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ได้แก่ C18:3 n-3, C20:3 n-3, C20:5 n-3, C22:6 n-3
- ∑n-6 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6 ได้แก่ C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6
- ∑n-3/∑n-6คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ต่อผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6
- HUFA คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ C20:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:6 n-3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะเมกาโลปา ซึ่งให้อาร์ทีเมียที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันเป็นอาหารในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 14:0	0.64	±0.15	0.34	±0.19	1.88	±1.28	0.39	±0.20	0.59	±0.33	1.01	±0.52	0.55	±0.27	0.95	±0.47	1.30	±0.67
C 14:1	0.25	±0.12	0.16	±0.08	0.06	±0.06	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.48	±0.25
C 15:0	0.30	±0.15	0.04	±0.03	0.27	±0.15	0.70	±0.35	0.81	±0.41	0.70	±0.35	0.86	±0.44	0.87	±0.44	0.00	±0.00
C 15:1	0.24	±0.12	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.01	±0.01	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 16:0	14.37	±1.13	15.00	±1.57	19.75	±1.78	18.89	±2.44	13.76	±0.68	9.08	±3.39	12.17	±2.19	11.33	±2.63	26.79	±2.36
c 16:1	3.43	±3.06	3.06	±2.48	2.90	±2.09	2.87	±1.93	3.13	±2.53	2.53	±2.12	2.57	±1.60	3.78	±1.47	4.00	±2.46
C 17:1	0.39	±0.39	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.35	±0.35	0.35	±0.35	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 18:0	9.07	±1.79	9.12	±2.04	10.82	±1.57	11.36	±0.56	12.15	±0.49	10.94	±1.76	10.39	±2.27	11.98	±0.91	11.39	±1.83
C 18:1 n-9	15.48	±0.80	23.12	±3.12	32.37	±7.58	30.76	±5.76	28.16	±5.55	35.97	±9.03	34.99	±9.32	24.23	±3.58	19.74	±1.10
C 18:2 n-6	13.92	±4.21	13.28	±4.13	7.10	±1.26	7.63	±1.21	7.41	±1.21	9.13	±1.97	9.87	±2.15	9.68	±1.99	5.38	±1.01
C 18:3 n-6	2.96	±1.37	3.82	±1.52	4.74	±2.02	4.92	±2.30	4.79	±2.12	3.50	±1.33	5.19	±1.87	6.31	±2.42	0.00	±0.00
C 18:3 n-3	5.41	±1.11	3.76	±0.49	3.39	±0.23	2.57	±0.27	5.30	±1.18	5.33	±1.03	5.32	±1.47	5.88	±1.65	5.85	±2.93
C 20:0	1.15	±0.04	0.52	±0.26	0.32	±0.18	0.34	±0.17	0.54	±0.27	0.44	±0.22	0.79	±0.39	0.98	±0.49	0.00	±0.00
C 20:1 n-9	0.53	±0.09	0.44	±0.22	0.33	±0.17	0.31	±0.17	0.92	±0.08	0.84	±0.47	0.53	±0.26	0.50	±0.25	0.56	±0.29
C 20:2	0.53	±0.11	0.29	±0.21	0.30	±0.30	0.27	±0.27	0.25	±0.25	0.22	±0.22	0.29	±0.29	0.29	±0.29	0.19	±0.19
C 20:3 n-6	0.50	±0.26	1.35	±0.57	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 20:4 n-6	12.69	±4.09	7.84	±1.48	1.82	±1.64	2.21	±1.52	2.59	±1.27	2.39	±1.54	2.06	±1.34	2.23	±1.35	3.07	±0.81
C 20:3 n-3	0.95	±0.22	0.44	±0.03	0.18	±0.18	0.20	±0.20	0.16	±0.16	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	1.26	±0.65
C 20:5 n-3	11.02	±4.71	9.61	±6.02	8.17	±6.78	9.47	±8.13	10.72	±7.49	9.91	±8.13	10.67	±7.24	13.26	±6.04	12.34	±4.73
C 22:0	0.94	±0.04	1.46	±0.06	0.44	±0.22	1.10	±0.31	1.05	±0.12	0.33	±0.16	0.47	±0.24	0.58	±0.29	0.00	±0.00
C 22:1 n-9	1.83	±0.15	3.32	±0.11	2.29	±0.48	3.64	±1.18	5.62	±2.41	4.25	±0.78	2.00	±1.46	2.09	±1.16	4.87	±1.47

ตารางที่ 7 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะเมกาโลปา ซึ่งให้อาร์ทีเมียที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันเป็นอาหารในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 24:0	0.95	±0.95	0.74	±0.38	0.73	±0.37	0.78	±0.39	0.41	±0.21	0.26	±0.13	0.34	±0.17	0.32	±0.17	0.00	±0.00
C 22:6 n-3	2.47	±1.57	2.29	±0.37	2.14	±0.75	1.24	±0.41	1.29	±0.32	3.18	±0.88	0.95	±0.47	4.72	±3.10	2.78	±1.61
∑n-3 PUFA	20.80	±2.81	16.11	±5.47	13.88	±7.77	13.49	±9.01	17.46	±6.89	18.42	±6.24	16.94	±5.59	23.86	±2.97	22.23	±0.36
∑n-6 PUFA	30.08	±9.62	26.29	±7.65	13.66	±1.47	14.76	±2.01	14.80	±2.04	15.02	±1.83	17.11	±2.76	18.22	±3.06	8.45	±1.82
∑n-3/∑n-6	1.11	±0.66	1.03	±0.71	1.14	±0.70	1.14	±0.87	1.38	±0.74	1.37	±0.64	1.16	±0.59	1.46	±0.42	2.88	±0.57
HUFA	28.08	±0.59	20.18	±4.54	12.31	±9.32	13.13	±10.26	14.76	±9.21	15.48	±8.80	13.67	±8.10	20.21	±5.46	19.45	±3.50

หมายเหตุ

- C 20:5 n-3 คือ eicosapentaenoic acid (EPA)
- C 22:6 n-3 คือ docosahexaenoic acid (DHA)
- ∑n-3 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ได้แก่ C18:3 n-3, C20:3 n-3, C20:5 n-3, C22:6 n-3
- ∑n-6 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6 ได้แก่ C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6
- ∑n-3/∑n-6คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ต่อผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6
- HUFA คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ C20:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:6 n-3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab ซึ่งให้อาร์ทีเมียที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันเป็นอาหารในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 14:0	0.00	±0.00	0.33	±0.33	0.00	±0.00	0.41	±0.41	0.00	±0.00	0.36	±0.36	0.40	±0.40	0.35	±0.35	0.00	±0.00
C 14:1	0.00	±0.00	0.19	±0.19	0.00	±0.00	0.36	±0.36	0.00	±0.00	0.24	±0.24	0.27	±0.27	0.24	±0.24	0.00	±0.00
C 15:0	0.00	±0.00	0.16	±0.16	0.00	±0.00	0.20	±0.20	0.00	±0.00	0.17	±0.17	0.14	±0.14	0.11	±0.11	0.00	±0.00
C 15:1	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.20	±0.20	0.00	±0.00	0.18	±0.18	0.00	±0.00
C 16:0	20.29	±3.88	19.78	±4.96	18.72	±3.96	18.86	±2.65	19.61	±3.46	19.15	±3.62	20.13	±5.02	18.43	±3.08	18.19	±4.12
c 16:1	1.80	±0.99	2.41	±0.94	2.24	±1.56	3.38	±1.49	3.22	±1.34	2.82	±1.75	3.16	±2.20	2.63	±1.16	2.46	±1.91
C 17:1	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.15	±0.15	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.09	±0.09	0.14	±0.14	0.00	±0.00
C 18:0	13.69	±0.70	13.31	±0.20	12.91	±0.35	13.19	±0.94	14.10	±2.09	14.51	±0.90	11.88	±1.61	13.36	±0.38	11.84	±1.20
C 18:1 n-9	16.58	±1.28	13.88	±3.30	14.71	±2.69	15.12	±2.17	16.31	±2.27	16.17	±3.10	15.13	±1.75	14.32	±1.84	20.03	±1.62
C 18:2 n-6	5.12	±1.57	6.18	±2.16	6.41	±1.88	5.98	±1.69	5.56	±1.25	6.73	±0.99	6.20	±2.38	6.81	±2.47	4.84	±0.75
C 18:3 n-6	2.49	±0.28	1.41	±0.77	2.00	±2.00	1.64	±0.88	1.99	±1.00	1.38	±0.79	1.93	±1.06	2.63	±1.18	2.18	±0.87
C 18:3 n-3	5.34	±2.74	6.44	±2.05	6.50	±2.24	6.88	±2.24	6.74	±2.02	6.99	±1.94	4.93	±1.38	6.31	±2.12	4.54	±1.19
C 20:0	0.91	±0.47	0.77	±0.38	1.14	±0.61	0.89	±0.45	0.97	±0.49	1.00	±0.50	0.75	±0.44	0.80	±0.40	0.38	±0.38
C 20:1 n-9	0.40	±0.20	0.45	±0.23	0.40	±0.40	0.69	±0.35	0.83	±0.45	0.79	±0.43	0.54	±0.27	0.70	±0.38	0.29	±0.29
C 20:2	0.43	±0.31	0.84	±0.18	0.29	±0.29	0.39	±0.26	0.09	±0.09	0.73	±0.17	2.02	±1.10	0.55	±0.18	0.00	±0.00
C 20:3 n-6	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00
C 20:4 n-6	4.41	±0.60	5.97	±0.82	4.17	±0.75	4.54	±0.71	4.41	±0.31	4.57	±0.42	3.95	±0.90	5.60	±0.57	4.52	±0.81
C 20:3 n-3	1.20	±0.61	1.01	±0.53	1.47	±0.75	1.58	±0.55	1.34	±0.71	1.22	±0.62	1.77	±0.62	0.91	±0.45	1.31	±0.70
C 20:5 n-3	15.71	±3.88	17.33	±6.08	18.23	±4.33	17.11	±3.56	17.19	±3.27	16.41	±3.45	13.81	±4.91	16.33	±3.96	17.29	±3.69
C 22:0	0.82	±0.41	1.11	±0.56	0.69	±0.69	1.29	±0.65	1.11	±0.56	1.19	±0.74	3.41	±2.47	1.11	±0.58	1.48	±0.78

ตารางที่ 8 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์กรดไขมันแต่ละชนิดในตัวอ่อนปูม้าระยะ first crab ซึ่งให้อาร์ทีเมียที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันเป็นอาหารในแต่ละชุดการทดลอง จากการสุ่มตัวอย่าง 3 ซ้ำ (เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม, Mean ±SE)

ชนิดของกรดไขมัน	ชุดการทดลอง																	
	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
C 22:6 n-3	4.40	±2.92	5.84	±4.63	8.26	±3.52	5.85	±1.82	4.90	±2.63	4.72	±1.80	7.72	±3.27	5.21	±1.50	7.85	±5.34
C 24:1	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.00	±0.00	0.57	±0.57	0.00	±0.00	0.00	±0.00
∑n-3 PUFA	26.65	±4.39	30.62	±4.63	34.46	±6.79	31.42	±2.97	30.43	±4.37	29.34	±2.47	28.22	±6.74	28.76	±3.24	31.00	±5.84
∑n-6 PUFA	12.02	±1.22	13.55	±3.56	12.58	±4.09	12.16	±2.67	11.90	±0.48	12.68	±1.62	12.08	±2.33	15.05	±3.13	11.53	±0.42
∑n-3/∑n-6	2.43	±0.60	2.85	±0.66	3.87	±1.61	3.00	±0.71	2.75	±0.49	2.51	±0.40	2.72	±0.89	2.17	±0.62	2.71	±0.66
HUFA	25.72	±3.84	30.14	±4.86	32.14	±6.02	29.09	±3.55	27.87	±4.89	26.92	±3.30	27.25	±7.73	28.05	±4.33	30.98	±7.28

หมายเหตุ

- C 20:5 n-3 คือ eicosapentaenoic acid (EPA)
- C 22:6 n-3 คือ docosahexaenoic acid (DHA)
- ∑n-3 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ได้แก่ C18:3 n-3, C20:3 n-3, C20:5 n-3, C22:6 n-3
- ∑n-6 PUFA คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6 ได้แก่ C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6
- ∑n-3/∑n-6คือ ผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ต่อผลรวมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 6
- HUFA คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ C20:3 n-3, C20:4 n-6, C20:5 n-3, C22:6 n-3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการอนุบาลลูกปูเพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตาย พบว่า เปอร์เซ็นต์รอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูมีแนวโน้มลดลงในทุกชุดการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทำการทดสอบทางสถิติ พบว่า เปอร์เซ็นต์รอดเฉลี่ยของลูกปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างทุกชุดการทดลอง แต่เมื่อพิจารณาแต่ละระยะการพัฒนาของตัวอ่อนกลับพบว่า เปอร์เซ็นต์รอดเฉลี่ยในระยะซูเอีย 1 และระยะซูเอีย 2 ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง อาจเนื่องมาจากในช่วงชีวิตระยะแรกของตัวอ่อนใช้พลังงานในดำรงชีวิตจากสารอาหารที่มีการสะสมไว้ในไข่ก่อนฟักออกเป็นตัวมากกว่าใช้พลังงานจากสารอาหารที่ได้รับเข้าไปจากการกินอาหารภายหลัง เห็นได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันไข่ในปูและปูวัยอ่อนระยะต่างๆ ของ สุพิศ ทองรอด และคณะ (2548) ที่แสดงให้เห็นว่าปริมาณกรดไขมัน EPA (20:5n-3) ในตัวอ่อนปูม้าแรกฟักนั้นมีค่าเท่ากับ 14.19 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ซึ่งสูงกว่าปริมาณในไข่ปูสีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้ม สีน้ำตาล และสีดำ (8.21±2.28, 7.66±0.98, 6.41±1.52, 9.38±0.76 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ) ส่วนปริมาณกรดไขมัน DHA (22:6n-3) มีค่าใกล้เคียงกันในไข่ปูสีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้ม สีน้ำตาล สีดำ และตัวอ่อนแรกฟัก (11.81±0.86, 8.55±1.27, 9.67±1.08, 10.82±0.67 และ 10.07 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันรวม ตามลำดับ) เมื่อลูกปูมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะที่สูงขึ้น จะใช้สารอาหารที่สะสมหมดไปจึงพบว่า อัตรารอดเฉลี่ยในระยะซูเอีย 3 ระยะซูเอีย 4 และระยะเมกาโลปา จึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง เนื่องจากอิทธิพลของอาหารที่ได้รับ

อัตรารอดเฉลี่ยดีที่สุดอยู่ในชุดการทดลองที่ 5 และชุดการทดลองที่ 8 (24.44±5.56 และ 24.44±8.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) โดยชุดการทดลองที่ 5 มีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 2:2 ซึ่งมีปริมาณกรดไขมัน DHA 32 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 32 มิลลิกรัม ส่วนชุดการทดลองที่ 8 มีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 3:2 มีปริมาณกรดไขมัน DHA 48 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 32 มิลลิกรัม เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การตายโดยค่าความชันในสมการถดถอย พบว่า ชุดการทดลองที่ 5 มีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยที่สุด 3.55 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 6 มีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยรองลงมาเท่ากับ 3.99

เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ระดับของกรดไขมันที่ทำให้เกิดการตายน้อยที่สุดค่อนข้างใกล้เคียงกับ Takeuchi และคณะ (1999) ที่ทดลองระดับของกรดไขมัน DHA เท่ากับ 38 มิลลิกรัม ทำให้ตัวอ่อนปู *Portunus trituberculatus* มีการเจริญเติบโตด้านความกว้างของกระดองมากที่สุด เมื่อลอกคราบจากระยะซูเอีย 3 เข้าสู่ระยะ first crab และเมื่อพิจารณาอัตรารอดเฉลี่ยของลูกปูม้าในการทดลองของ วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) ที่อนุบาลตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 4 ด้วยการให้คีโตเซอรอสและโรทิเฟอร์ 3 วัน ก่อนให้อาร์ทีเมียแรกฟักและคีโตเซอรอส พบว่ามีอัตรารอดตายเฉลี่ย 37.78±2.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่ามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอัตรารอดตายสูงสุดของการทดลองนี้ อาจเนื่องมาจากในการทดลองนี้ให้อาหารเพียง 1 ครั้งต่อวัน และเลี้ยงแบบแยกเดี่ยวเพื่อลดปัจจัยการกินกันเอง ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของวารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) ที่ให้อาหาร 5 ครั้งต่อวัน และเลี้ยงแบบมหมวลในบ่อขนาด 2 ตัน

จากข้อมูลระยะเวลาระหว่างการลอกคราบของตัวอ่อนปูแต่ละระยะ พบว่า ชุดการทดลองที่ 9 ซึ่งมีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 3:3 มีปริมาณกรดไขมัน DHA 48 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 48 มิลลิกรัม ทำให้ตัวอ่อนมีการพัฒนาในระยะซูเอีย 2, 3 และ 4 น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่า ตัวอ่อนปูมีความต้องการกรดไขมัน DHA และ EPA เพื่อการพัฒนาในระยะซูเอียเป็นอย่างมาก สอดคล้องกับที่ Levine และ Sulkin (1984) กล่าวว่า ความสามารถในการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายสั้น (18:3n-3) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (20:5n-3) ของตัวอ่อนปูค่อนข้างจำกัด การพัฒนาตัวอ่อนในระยะซูเอียจึงต้องการกรดไขมัน DHA และ EPA เป็นอย่างมาก ดังนั้นการเพิ่มกรดไขมัน DHA และ EPA ในอาหารสำหรับเลี้ยงตัวอ่อนจึงทำให้ลูกปูมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

ในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้าเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง ตัวอ่อนมีอัตรารอดดี จำเป็นต้องมีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายประการ ทั้งทางกายภาพและชีวภาพ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ความหนาแน่นของตัวอ่อน ที่หลบซ่อนจากศัตรู รวมถึงชนิดอาหารและการให้อาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการเติบโต การลอกคราบ และการพัฒนาการของตัวอ่อน ในงานวิจัยชิ้นนี้ทำการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง DHA และ EPA ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันให้แก่โรทิเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* และอาร์ทีเมียแรกฟัก (*Artemia* nauplii) ซึ่งแพลงก์ตอนสัตว์ทั้งสองชนิดนี้มีความสำคัญต่อการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนหลากหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอ่อนสัตว์ทะเลจำพวกปลา (Rainuzzo et al.,1994; Hamre et al.,2008) และปู (Sulkin, 1978; Levine and Sulkin, 1984; Takeuchi et al., 1999) โดยที่โรทิเฟอร์เป็นอาหารแรกเริ่มของสัตว์น้ำ เนื่องจากมีขนาดเล็กประมาณ 200 ไมครอน และมีคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสม แต่การให้โรทิเฟอร์เป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูเพียงอย่างเดียวตลอด

ระยะเวลาที่เลี้ยงไม่สามารถที่จะทำให้ปู *Callinectes sapidus* (Sulkin, 1978) และปู *Scylla tranquebarica* (Baylon, 2009) เกิดการลอกคราบเข้าสู่ระยะเมกาโลปาได้ จึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของอาหารที่ให้แก่ตัวอ่อนให้เหมาะสมยิ่งขึ้น เช่น อาร์ทีเมียแรกฟัก เป็นต้น แต่กระนั้นจากการทดลองของ Ruscoe และคณะ (2004) พบว่า การที่ให้อาร์ทีเมียแรกฟักเพียงอย่างเดียวทำให้ลูกปูใช้ระยะเวลาในการลอกคราบเข้าสู่ระยะเมกาโลปานานกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อีกทั้งมีอัตราการตายมากกว่า ดังนั้นจึงต้องมีการให้โรทิเฟอร์สลับกับการให้อาร์ทีเมียเป็นอาหารแก่ลูกปู ดังในการทดลองเพาะเลี้ยงลูกปูทะเล *Scylla serrata* ของ Ruscoe และคณะ (2004) พบว่าการให้โรทิเฟอร์เป็นอาหารเพียงอย่างเดียวในระยะซูเอีย 1 จะให้อัตรารอดดีกว่าการให้ร่วมกับอาร์ทีเมีย และตัวอ่อนปูมีอัตรารอดถึง 58.67 ± 7.35 % เมื่อให้โรทิเฟอร์เพียงอย่างเดียวในระยะซูเอีย 1 - ระยะซูเอีย 2 จากนั้นให้โรทิเฟอร์ร่วมกับอาร์ทีเมียในระยะซูเอีย 3 ถึงระยะเมกาโลปา ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Baylon (2009) ที่พบว่าการให้อาหารผสมระหว่างโรทิเฟอร์และตัวอ่อนอาร์ทีเมียแก่ลูกปู *Scylla tranquebarica* ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3 และให้ตัวอ่อนอาร์ทีเมียตั้งแต่ระยะซูเอีย 4 จะทำให้ลูกปูมีอัตรารอดสูงสุด พัฒนาการเร็วที่สุด และสามารถพัฒนาจนถึงระยะเมกาโลปาได้ดีที่สุด

งานวิจัยหลายชิ้นแสดงถึงปริมาณสารอาหารของโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียในธรรมชาตินั้นไม่เพียงพอต่อความต้องการกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของตัวอ่อนปู (Suprayudi et al., 2002; Takeuchi et al., 1999; Hamasaki et al., 2002) ดังนั้นจึงต้องมีการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงเหล่านี้ในตัวโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียด้วยสารผสมของน้ำมันจากปลาทะเล สามารถกระทำได้ 2 รูปแบบ คือ การเพิ่มปริมาณกรดไขมันในระยะสั้น (<8 ชั่วโมง) และการเพิ่มปริมาณกรดไขมันในระยะยาว (> 24 ชั่วโมง) การเพิ่มปริมาณกรดไขมันในระยะสั้นทำได้โดยการเลี้ยงโรทิเฟอร์ประมาณ 200-500 ตัวต่อมิลลิลิตร ในอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง 100-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลาน้อยกว่า 8 ชั่วโมง โรทิเฟอร์จะกลายเป็น lipid-encapsulated rotifer ที่มีปริมาณไขมัน > 300 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และกรดไขมันโอเมก้า-3 (n-3 HUFA) > 100 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Coutteau and Sorgeloos, 1997) ซึ่งวิธีการเพิ่มกรดไขมันในระยะสั้นนี้มักได้โรทิเฟอร์ที่มีคุณภาพต่ำ มีปริมาณไขมันมากเกินไปและไม่สะอาด (Dhert et al., 1990; Støttrup and Attramadal, 1992) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกการเพิ่มปริมาณสารอาหารในระยะยาวเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งเป็นการจัดการให้สารอาหารที่จำเป็นขณะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง จึงมั่นใจได้ว่าองค์ประกอบของสารอาหารในตัวโรทิเฟอร์นั้นใกล้เคียงกับองค์ประกอบสารอาหารที่ต้องการเพื่อเลี้ยงตัวอ่อน โรทิเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มสารอาหารแบบนี้จะมีความเสถียรของสารอาหารภายในตัวมากกว่าและมีการสูญเสียของสารอาหารภายในตัวช้ากว่า (Dhert et al., 2001)

ในองค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในตัวอ่อนระยะซูเอีย 3 ระยะเมกาโลปา และระยะ first crab มีกรดไขมันที่พบในปริมาณมาก ได้แก่ 16:0, 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-6, 18:3n-3 20:4n-6, 20:5n-3 และ 22:6n-3 ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปูม้าระยะแรกฟักถึงระยะปูวัยอ่อนใน สุพิศ ทองรอด และคณะ (2548) ที่พบชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมัน 16:0, 18:1n-9, 20:4n-6, 20:5n-3 และ 22:6n-3 ในปริมาณมาก ส่วนชนิดองค์ประกอบกรดไขมันที่พบในปริมาณมากในตัวอย่างโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักมีชนิดที่แตกต่างจากที่พบในตัวอ่อนปูม้าคือ 16:1 และ 20:1n-9 ซึ่ง สุพิศ ทองรอด และคณะ (2548) ไม่พบกรดไขมัน 16:1 นี้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในโรทิเฟอร์ แต่ใน Sui และคณะ (2007) พบกรดไขมัน 16:1 ในปริมาณ 16.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของโรทิเฟอร์ที่ไม่ผ่านการเพิ่มกรดไขมัน

ส่วนปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA ที่พบในตัวอ่อนระยะซูเอีย 3 ระยะเมกาโลปาและระยะ first crab ไม่สอดคล้องกับปริมาณกรดไขมันที่พบในตัวอย่างโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียดังรายงานการทดลองเพิ่มกรดไขมันหลายชิ้น (Dhert et al.,1993; Sorgeloos et al., 2001; Wounters et al., 1997) ที่พบความเป็นไปได้แตกต่างกันในการที่จะเพิ่มอัตราส่วนของกรดไขมัน DHA ต่อ EPA ในตัวโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟัก เนื่องจากในตัวอาร์ทีเมียมีปริมาณกรดไขมัน DHA สูง (2.14 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) แต่มีปริมาณกรดไขมัน EPA ต่ำมาก (0.13 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ทำให้อัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA ในตัวของอาร์ทีเมียต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโรทิเฟอร์ ซึ่งมีปริมาณกรดไขมัน DHA เท่ากับ 0.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณกรดไขมัน EPA เท่ากับ 0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง อาจเป็นเพราะโรทิเฟอร์และอาร์ทีเมียมีวงจรชีวิตที่แตกต่างกัน โรทิเฟอร์ที่นำมาทำการทดลองเพิ่มกรดไขมันนี้ส่วนใหญ่อยู่ในระยะโตเต็มวัย ซึ่งมีเมตาบอลิซึมไม่สูงเท่าอาร์ทีเมียซึ่งอยู่ในระยะตัวอ่อน ดังนั้นองค์ประกอบของกรดไขมันในโรทิเฟอร์จึงเสถียรกว่าและไม่เปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อทำการเพิ่มกรดไขมัน ในทางตรงกันข้ามตัวอ่อนของอาร์ทีเมียจะมีการสังเคราะห์กรดไขมัน DHA น้อยมากและใช้ HUFA อย่างรวดเร็วมาก เพราะฉะนั้นจึงทำให้ยากต่อการจัดการในการที่จะเพิ่มกรดไขมัน

สรุปผลการวิจัย

ชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 2:2 ซึ่งมีปริมาณกรดไขมัน DHA 32 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 32 มิลลิกรัม ให้อัตรารอดเฉลี่ยดีที่สุดและให้อัตราการตายต่อวันน้อยที่สุดเท่ากับ 24.44±5.56 เปอร์เซ็นต์ และ 3.55 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ แต่ชุดการทดลองที่ให้ระยะเวลาระหว่างการลอกคราบของตัวอ่อนปูหรือระยะเวลาที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะซูเอีย 2, 3 และ 4 น้อยที่สุด คือชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมัน DHA ต่อ EPA เท่ากับ 3:3 มีปริมาณกรดไขมัน DHA 48 มิลลิกรัม และกรดไขมัน EPA 48 มิลลิกรัม แสดงว่ากรดไขมัน DHA และ EPA มีความสำคัญต่อตัวอ่อนปูม้าเท่าๆ กัน นอกจากนั้นตัวอ่อนปูม้าจะมีการสะสม HUFA มากที่สุดในระยะ first crab โดยที่ในระยะซูเอีย 3 และระยะเมกาโลปา มีการสะสมค่อนข้างใกล้เคียงกัน

ข้อเสนอแนะ

- ควรหล่อถาดที่ใส่ภาชนะพลาสติกเลี้ยงลูกปูด้วยน้ำ เพื่อป้องกันการแกว่งของอุณหภูมิระหว่างวันขณะทำการเลี้ยง
- การเปลี่ยนอาหารจากชนิดหนึ่งเป็นอีกชนิดหนึ่งควรให้คาบเกี่ยวกันประมาณ 1-2 วัน เพื่อฝึกให้ลูกปูกินอาหารใหม่
- ควรขยายระยะเวลาในการทดลองจนถึงระยะ young crab หรือประมาณ 45 วัน ที่มีจำหน่ายลูกปูให้แก่เกษตรกร เพื่อให้ลูกปูมีขนาดใหญ่ขึ้นและสามารถวัดความกว้างของกระดองได้ง่ายยิ่งขึ้น
- อาจทดลองอนุบาลลูกปูม้าที่ให้อาหารที่มีอัตราส่วนกรดไขมันที่แตกต่างกันนี้ในระดับการเลี้ยงแบบมหมวล
- ควรมีการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง เพื่อเป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูทดแทนอาหารสด เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่คงที่และสามารถจัดการได้สะดวกกว่าการใช้อาหารมีชีวิต
- ควรพัฒนารูปแบบถังที่ใช้อนุบาล ให้มีความเหมาะสมกับพฤติกรรมการกินอาหารของลูกปูแต่ละระยะ อาจทำให้ลูกปูมีอัตรารอดที่ดีขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมประมง. **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2550**. กรุงเทพ: กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2550.

ฤตพล ยังวนิชเศรษฐ. **สรุปผลการปฏิบัติงาน งานเพาะพันธุ์ปู ประจำปีงบประมาณ 2551 (1 ต.ค. 50-30 ก.ย. 51)**. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสุราษฎร์ธานี : สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง, 2551.

นภดล ภูวพาณิช. **การเพาะเลี้ยงและการใช้ประโยชน์จากอาร์ทีเมีย**. ฝ่ายเผยแพร่ ส่วนเผยแพร่การประมง สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง : กรมประมง, 2549.

บพิธ จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์. **สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง I (Invertebrates I) โพรโทซัว ถึง ทาร์ดิกราดา (Protozoa through Tardigrada)**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2545.

บรรจง เทียนส่งรัศมี. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงปูม้า**. กรุงเทพ: เปเปอร์ คอมพ์ เซอร์วิส, 2547.

รวีวรรณ สุวณิชย์. **ปริมาณและอัตราส่วนของกรดไอโคสะเพนทาโนอิคต่อกรดโดโคสะเฮกซะโนอิคที่เหมาะสมต่อการเติบโตและการรอดของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) หลังวัยอ่อน.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.

ลัดดา วงศ์รัตน์. **แพลงก์ตอนสัตว์.** กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2543.

วารินทร์ ธนาสมหวัง, ภมรพรรณ ฉัตรภูมิ, สง่า สิงห์หงษ์, ศิริภรณ์ โคตะมี และพรทิพย์ ทองบ่อ , “การอนุบาลลูกปูม้า,” ใน **รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการผลิตพันธุ์และการเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) เชิงพาณิชย์** (กรุงเทพ: กรมประมง, 2548), หน้า 111-193.

สุพิศ ทองรอด, วารินทร์ ธนาสมหวัง, มนทกานติ ท้ามติ้น, จีรรัตน์ เกื้อแก้ว และสิริพร ลือชัยชัยกุล, “การผลิตอาหารสำเร็จสำหรับการเลี้ยงปูม้า,” ใน **รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ การผลิตพันธุ์และการเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) เชิงพาณิชย์** (กรุงเทพ: กรมประมง, 2548), หน้า 278-283.

ภาษาอังกฤษ

Andrés, M., Rotllant G., Zeng, C. 2010. Survival, development and growth of larvae of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*, cultured under different photoperiod conditions. **Aquaculture** 300: 218–222.

Barnes, R.D. 1968. **Invertebrate zoology.** 2nd ed. W.B. Saunders Company, Philadephia. 743 pp.

Baylon, J.C. 2009. Appropriate food type, feeding schedule and Artemia density for the zoea larvae of the mud crab, *Scylla tranquebarica* (Crustacea: Decapoda: Portunidae), **Aquaculture** 288: 190-195.

Brusca, R.C. and Brusca, G.J. 1990. **Invertebrates.** Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachusetts. 922 pp.

Bryars S. R. and Havenhand, J. N. 2006. Effects of constant and varying temperatures on the development of blue swimmer crab (*Portunus pelagicus*) larvae: Laboratory observations and field predictions for temperate coastal waters. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 329: 218– 229.

Burnett, N. and Sulkin, S. 2007. Characteristics of feeding on dinoflagellates by newly hatched larval crabs. **Marine Biology** 151: 851–861.

Connor, W.E., DeFrancesco, C.A. and Connor, S.L. 1993. N-3 Fatty Acids from Fish Oil : Effects on Plasma Lipoproteins and Hypertriglyceridemic Patients. **Annals New York Academy of Sciences** 14: 68316-34.

Coutteau, P. and Sorgeloos, P. 1997. Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. **Freshwater Biology** 38: 501–512.

Dhert, P., Lavens, P., Duray, M. and Sorgeloos, P., 1990. Improved larval survival at metamorphosis of Asian seabass *Lates calcarifer* using-3 HUFA-enriched live food. **Aquaculture** 128: 315–333.

Dhert, P., Rombaut, G., Suantika G. and Sorgeloos, P. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. **Aquaculture** 200: 129-146.

Dhert, P., Sorgeloos, P., Devresse, P., 1993. Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Brachionus plicatilis* and *Artemia* sp. In: Reinertsen, H., Dahle, L.A., Jorgensen, L., Tvinnereim, K. (Eds.), **Fish Farming Technology**. Balkema, Rotterdam, pp. 109–115.

Estévez, A., McEvoy, L.A., Bell, J.G. and Sargent , J.R. 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in Arachidonic and Eicosapentaenoic acids. **Aquaculture** 180: 321- 343.

Fulks, W. and Main, K.L. 1991. **Rotifer and microalgae culture system: Proceeding of a U.S.-Asia Workshop.** Washington. 364 pp.

Hamasaki, K., Suprayudi, M.A. and Takeuchi, T. 2002. Effect of dietary n_3HUFA on larval morphogenesis and metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab, *Scylla serrata* (Brachyura: Portunidae). **Suisan Zoshoku** 50; 333-340.

Hamre K., Mollan T.A., Sæle, Ø. and Erstad, B. 2008. Rotifers enriched with iodine and selenium increase survival in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. **Aquaculture** 284: 190-195.

Kanasawa, A., Teshima, S. and Ono, K. 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. **Comparative Biochemistry and Physiology** 63b: 295-298.

Lapage, G and Roy, C.C. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. **Journal of Lipid Reseach** 25: 1391-1396.

Le Vay, L., Jones, D.A., Puello-Cruz, A.C., Sangha, R.S. and Ngamphongsai, C. 2001. Digestion in relation to feeding strategies exhibited by crustacean larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology** Part A 128: 623-630.

Leger, P. and Sargeloos, P. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries pp. 225-244., In A.W. Fast and Lester, L.J. (eds). **Marine Shrimp Culture Principles and Practice.** New York. Elsevier Science Publishers.

Levine, D.M. and Sulkin, S. 1984. Nutritional significance of long-chain polyunsaturated fatty acids to the zoeal development of the brachyuran crab, *Eurypanopeus depressus* (Smith). **Journal of experimental in marine biology and ecology** 81: 211-223.

Lovell, T. 1989. **Nutrition and Feeding of fish.** New York. Van Nostrand Reinhold. 260 pp.

Lubzens, E., Zmora, O. and Barr, Y. 2001. Biotechnology and aquaculture of rotifers. **Hydrobiologia** 446/447: 337-353.

Maruyama, I., Nakao, T., Shigeno, I.,Ando, Y. and Hirayama, K. 1997. Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass culture of marine rotifer *Brachionus*. **Hydrobiologia** 358: 133-138.

Meza, N.G., Ciaparab, I.H., Calderon de la Barca, A.M., Moreno, L.V., Rodrígueza, J.N. and Guerreroc, O.A. 1999. Seasonal Variation in the Fatty Acid Composition and Quality of Sardine Oil from *Sardinops sagax caeruleus* of the Gulf of California. **Lipids** 34: 639–642.

Mourente, G. 1996. In vitro metabolism of C-14-polyunsaturated fatty acids in midgut gland and ovary cells from *Penaeus kerathurus* Forskal at the beginning of sexual maturation. **Comparative Biochemistry and Physiology** 115: 255-266.

Pechenik, J.A. 2005. **Biology of Invertebrates.** Fifth edition. Wm. C. Brown Publishers. USA. 177-189 pp.

Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Jørgensen, L. and Olsen, Y. 1994. Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes **Comparative Biochemistry and Physiology** 107: 699-710.

Ruscoe, M., Williams G.R. and Shelley C.C. 2004. Limiting the use of rotifers to the first zoeal stage in mud crab (*Scylla serrata* Forska°l) larval rearing. **Aquaculture** 231: 517–527.

Sargent, J.R., Tocher, D.R. and Bell, J.G. 1989. **The lipids**. Fish Nutrition 2nd ed. 181-257 p.

Shimada, Y., Maruyama, K., Sugihara, A., Moriyama, S. and Tominaga, Y. 1997. Purification of Docosahexaenoic Acid from Tuna Oil by a Two-Step Enzymatic Method: Hydrolysis and Selective Esterification. **JAOCS** 74: 1441-1446.

Sorgeloos, P. 1977. Occurrence of *Artemia* in nature and its morphological development from nauplius to adult. in E. Jaspers, ed. **Fundamental and Applied Research on the Brine Shrimp *Artemia salina* (L.) in Belgium**. Special Publication No. 2., European Mariculture Society. 1-7p.

Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. **Aquaculture** 200: 147–159.

Stickney, R.R. and Andrews, J.W. 1971. Combined effects of dietary lipids and environmental temperature on growth, metabolism and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal of Nutrition** 101: 1703-1710.

Støttrup, J.G. and Attramadal, Y., 1992. The influence of different rotifer and *Artemia* enrichment diets on growth, survival and pigmentation in turbot *Scophthalmus maximus* larvae. **Journal World Aquaculture Society** 23: 307–316.

Sui, L., Wille, M., Cheng Y., and Sorgeloos P. 2007. The effect of dietary n-3 HUFA levels and DHA/EPA ratios on growth, survival and osmotic stress tolerance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* larvae. **Aquaculture** 273: 139–150.

Sulkin, S. 1978. Nutritional requirements during larval development of the Portunid crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. **Journal of experimental in marine biology and ecology** 34: 29-41.

Suprayudi, M.A., Takeuchi, T., Hamasaki, K., Hirokawa, J., 2002. Effect of *Artemia* feeding schedule and density on the survival and development of larval mud crab *Scylla serrata*. **Fisheries Science** 68: 1295-1303.

Takeuchi, T., Satoh, N., Sekiya, S., Shimizu, T. and Watanabe, T., 1999. The effect of dietary EPA and DHA on molting rate of larval swimming crab *Portunus trituberculatus*. **Nippon Suisan Gakkaishi** 65: 988– 1004.

Tomkins, S.P., Dann, L. 2009. Sexual selection in brine shrimps Practical investigations using *Artemia franciscana*. **Bioscience explained** 5: 1-22.

Treece, G.D. and Davis, D.A. 2001. Culture of small zooplankton for the feeding of larval fish. **SRAC Publication** 701 pp.

Welch, J.M. and Epifanio, C.E. 1995. Effect of variations in prey abundance on growth and development of crab larvae reared in the laboratory and in large field deployed enclosures. **Marine Ecology Progress Series** 116: 55-64.

Williams, G., Wood, J., Dalliston, B., Shelley, C. and Khu, C. 1999. Mud crab (*Scylla serrata*) megalopa larvae exhibit high survival rates on Artemia-based diets. In: Keenan, C., Blackshaw, A. (Eds.), **Mud Crab Aquaculture and Biology**. ACIAR, Canberra, Australia, pp. 131–137.

Wouters, R., Vanhauwaert, A., Naessens, E., Ramos, X., Pedrazzoli, A., Lavens, P., 1997. The effect of dietary (n-3) HUFA and 22:6(n-3)/20:5(n-3) ratio on white shrimp larvae and postlarvae. **Aquaculture International** 5: 113–126.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การสกัดกรดไขมันจากตัวอย่างโรทิเฟอร์ อาร์ทีเมีย และตัวอ่อนปูม้า

1. วิธีสกัดตัวอย่างให้อยู่ในรูปของ Methyl Ester (Lapage and Roy, 1984)

นำตัวอย่างที่ทำให้แห้งด้วยการ freeze dry มาชั่ง 100 กรัม ใส่ในขวดตัวอย่าง เติม 2 มิลลิลิตร ของ 5% Sulfuric acid ใน methanol ที่ผสม butylated hydroxytoluene (BHT) 10 มิลลิกรัม จากนั้นเติม 0.1 มิลลิลิตร ของ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร Heptadecanoic acid (C17:0) ใน hexane ปิดฝาให้สนิท เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer ให้ความร้อนด้วย water bath อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม hexane และน้ำกลั่นอย่างละ 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer รอให้ตัวอย่างแยกชั้น เมื่อเกิดการแยกชั้นแล้วดูดตัวอย่างชั้นบนกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4) นำตัวอย่างที่ได้ไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography

2. การวิเคราะห์ Methyl Ester ด้วย Gas Chromatography

Brand : SHIMADZU model GC-17A+ AOC-20i

Column : Omegawax™ 250 Capillary Column 30 m×0.25 mm×0.25 μm

Injection temperature : 250 °C

Detector temperature : FID, 260 °C

Column temperature : 200 °C

	Rate (°C/min)	Temperature ((°C)	Time(min.)
Initial temperature		200	10
Final temperature	5	230	20

Split ratio : 100:1

สูตรคำนวณ

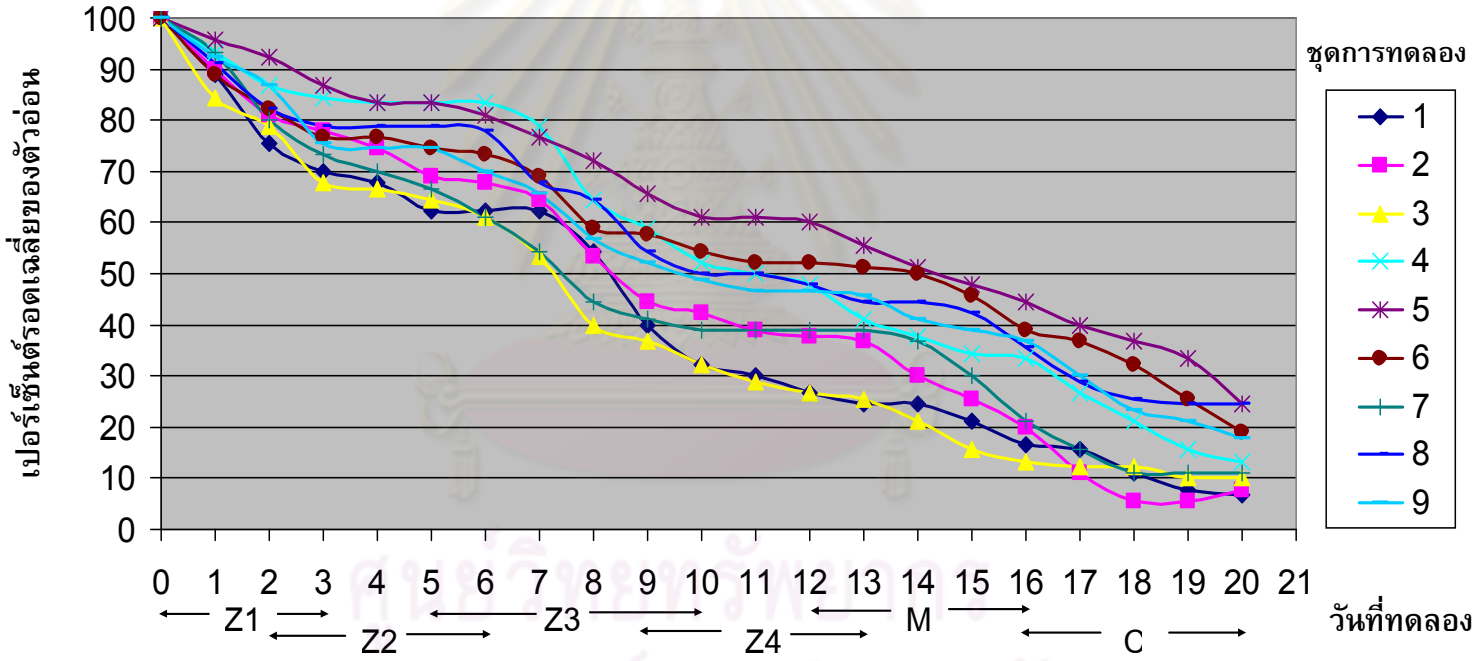
$$\text{เปอร์เซ็นต์พื้นที่กรดไขมัน (Area percentage)} = \frac{100 \times A_X}{A_T - A_I}$$

โดยที่ A_X คือ พื้นที่ของกรดไขมัน "X"

A_T คือ พื้นที่ของโครมาโตแกรมทั้งหมด

A_I คือ พื้นที่ของเฮกเซน

รูปที่ 20 กราฟอัตารอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะ first crab โดยชุดการทดลอง 1- 9 แสดงอัตราส่วนของกรดไขมัน DHA ต่อ EPA ตามลำดับดังนี้ 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:2, 2:3, 3:1, 3:2 และ 3:3 โดยที่ Z1 = zoea 1, Z2 = zoea 2, Z3 = zoea 3, Z4 = zoea 4, M = megalopa, และ C = first crab



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปริยภัทร ภัทรธำรง เกิดเมื่อวันเสาร์ที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2529 ที่จังหวัดภูเก็ต จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิตในปีการศึกษา 2550 จากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากนั้นเข้าศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต แขนงวิชาชีววิทยาทางทะเล สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2551 โดยได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช รุ่นที่ 10 (3/2552) สำหรับการทำวิทยานิพนธ์ และในปี 2553 ได้เข้าร่วมการนำเสนอผลงานแบบบรรยาย ในงานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเลครั้งที่ 2 ณ จังหวัดภูเก็ต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย