บทที่ 5

วิจารณ์ผลการศึกษา

1. การคัดเลือกแพลงก์ตอนพืช

ก. *Chaetoceros*

Chaetoceros ที่คัดเลือกได้ทั้ง 6 โคลน เป็นเซลล์เดี่ยวทั้งหมด จากการสังเกตเซลล์จะไม่ต่อกันเป็นสายหรือจับเป็นคู่เมื่อเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาครั้งนี้ประสบปัญหาในการล้างเซลล์ ซึ่งเป็นการทำความสะอาดเซลล์เพื่อขจัดสารอินทรีย์ต่าง ๆ ออกจากเปลือกเซลล์ ทำให้เห็นรายละเอียดต่าง ๆ บนผนังเซลล์ไม่ชัดเจน ผลที่ได้จากการล้างเซลล์ใน *Chaetoceros* ทั้ง 6 โคลน ด้วยวิธีการของ Simonsen (1974 อ้างโดย โสภณา บุญญาภิวัฒน์ 2526) สังเกตพบสารอินทรีย์ที่ปกคลุมบนผนังเซลล์ค่อนข้างหนา ไม่สามารถขจัดออกได้หมด แม้จะมีการปรับเปลี่ยนขั้นตอนการล้างเซลล์หลายขั้นตอนเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมแล้วก็ตาม หลังจากนั้นนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน จึงถ่ายภาพได้บางโคลนเท่านั้น นอกนั้นเซลล์จะแตก บิดเบี้ยว และซีตีขาด นอกจากนี้ยังพบปัญหาจากข้อจำกัดของกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนของศูนย์เครื่องมือ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เนื่องจาก resolution ของกล้องยังไม่ดีเพียงพอ เมื่อต้องการเพิ่มกำลังขยายภาพที่ได้จะพร่ามัว ทำให้ไม่สามารถมองเห็นรายละเอียดของซีตีได้ จากภาคผนวก ค รูปที่ ค1 จะเห็นลักษณะเซลล์ทางด้านวาลว์ของทั้ง 3 โคลน ค่อนข้างแตกต่างกันโดย โคลน *Chaetoceros* (PP) จะเป็นรูปวงรี ส่วนโคลน *Chaetoceros* (NI) จะเป็นรูปค่อนข้างกลมกว่า *Chaetoceros* (BU) ที่มีด้านวาลว์นูนเล็กน้อย ซึ่งความแตกต่างของลักษณะดังกล่าวมีความเป็นไปได้ว่าทั้ง 3 โคลนน่าจะเป็น *Chaetoceros* ต่างชนิดกัน

สำหรับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ โดยพิจารณาจากขนาดเซลล์ทางด้านเกอเดิลของทั้ง 6 โคลน ซึ่งมีขนาดแกนอะพิคัลอยู่ในช่วง 4.17–7.86 ไมโครเมตร และแกนเพอร์วาลวาร์อยู่ในช่วง 5.06–8.82 ไมโครเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงที่มีการศึกษาใน *Chaetoceros* ชนิดที่เป็นเซลล์เดี่ยว ดังตารางที่ 19 จะเห็นได้ว่า *Chaetoceros* ทั้ง 6 โคลน มีขนาดใกล้เคียงกับ *Chaetoceros* ชนิดเซลล์เดี่ยวที่มีการรายงาน และเมื่อพิจารณาจากลักษณะการกางออกหรือการทำมุมกับแกนอะพิคัลของเซลล์ จากรูปที่ 9 จะสังเกตได้ว่าในบางโคลนจะมีลักษณะการกางของซีตีแตกต่างกัน การศึกษาของ Sar et al. (2002) รายงานว่าใน *C. tenuissimus* มีลักษณะการกางของซีตีทำมุมประมาณ 45° กับแกนอะพิคัลของเซลล์ เช่นเดียวกับการกางของซีตีโคลน *Chaetoceros* (BU) และ *Chaetoceros* (LA) ส่วนลักษณะการกางของซีตีโคลน *Chaetoceros* (AL),

Chaetoceros (BP), *Chaetoceros* (NI) และ *Chaetoceros* (PP) จะใกล้เคียงกับ *C. gracilis* ที่มีลักษณะการกางของซีตีทำมุมเล็กน้อยจนเกือบขนานกับแกนอะพิคัลของเซลล์ (Cupp, 1943) แต่จากการขอคำแนะนำจาก Dr. Jan Rines และ Dr. Paul Hargraves (ผู้เชี่ยวชาญทางด้านการจำแนกชนิด *Chaetoceros*, Graduate School of Oceanography University of Rhode Island) ทั้งสองท่านได้ให้ข้อแนะนำว่า *Chaetoceros* ที่คัดเลือกได้จากการศึกษาครั้งนี้ทั้ง 6 โคลน มีความใกล้ชิดทางสายพันธุ์กันมาก ซึ่งการจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์โดยการศึกษาด้วย SEM และ TEM อาจไม่สามารถระบุชนิดได้แน่นอน สิ่งที่ควรศึกษาประกอบกันได้แก่ การศึกษาทางนิเวศวิทยาของเซลล์ และทางด้านพันธุกรรม เช่น การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequence) ของเซลล์แต่ละโคลน เป็นต้น

ตารางที่ 19 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros* ชนิดต่าง ๆ

ชนิด	แกนอะพิคัล (µm)	แกนเพอร์วาลวาร์ (µm)	ที่มา
C. tenuissimus	3.5–4	4–11	Sar et al. (2002)
C. ceratosporus	6–18	5–16	Rines and Hargraves (1988)
C. muelleri var. *subsalsum*	3–16	3–11	Johansen and Rushforth (1985)
C. simplex	6–24	–	Rines and Hargraves (1988)
C. gracilis	9–12	–	Cupp (1943)
C. vistulae	7–8	–	Cupp (1943)
Chaetoceros 6 โคลน	4.17–7.86	5.06–8.82	การศึกษาครั้งนี้

ข. *Skeletonema*

Skeletonema ที่คัดเลือกได้มี 2 โคลน สามารถจำแนกชนิดได้โดยการพิจารณาจากขนาดลักษณะต่าง ๆ ของเซลล์ และถิ่นที่อยู่อาศัย ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ และเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง มีข้อสังเกตว่าทั้งสองโคลนถึงจะเป็นชนิดเดียวกันคือ *Skeletonema costatum* แต่มีขนาดเซลล์ต่างกัน โดยโคลน *S. costatum* (NI) มีขนาดเซลล์เฉลี่ย (8.94 × 8.04 ไมโครเมตร) ใหญ่กว่าโคลน *S. costatum* (BP) (7.17 × 7.93 ไมโครเมตร) (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาจากถิ่นที่อยู่อาศัย *S. costatum* (NI) มาจากบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดสงขลา ส่วน *S. costatum* (BP) มาจากบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทย จังหวัดชลบุรี ซึ่งอาจทำให้ทั้งสองโคลนมีความแตกต่างของขนาดเซลล์ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบขนาดเซลล์ของ *S. costatum* สายพันธุ์ต่างประเทศ ดังตารางที่ 20 จะเห็นได้ชัดเจนว่าแต่ละสายพันธุ์มีขนาดแตกต่างกันและลักษณะรูปร่างเซลล์ค่อนข้างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขณะที่สองโคลนจากการศึกษาครั้งนี้ลักษณะรูปร่างเซลล์เกือบจะเป็นสี่เหลี่ยมด้านเท่า ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า *S. costatum* จากแหล่งที่มาหรือถิ่นที่อยู่อาศัยต่างกันจะมี

ขนาดเซลล์และลักษณะรูปร่างต่างกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของเซลล์ รวมทั้งปัจจัยทางภูมิศาสตร์ของแหล่งที่อยู่อาศัย

ตารางที่ 20 ขนาดเซลล์ *S. costatum* จากแหล่งต่าง ๆ

ที่มา	ขนาดเซลล์ (μm)	แหล่งที่มา/ถิ่นที่อยู่อาศัย
Renaud et al. (1999)	9.8 × 3.5	Gulf of Carpentaria, ออสเตรเลีย
Brown et al. (1997)	10 × 5	Milford Harbor, สหรัฐอเมริกา
Harrison et al. (1977)	8.2 × 5.3	สหรัฐอเมริกา

2. อัตราการเติบโตของ *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ที่คัดเลือกได้

การเพาะเลี้ยงไดอะตอมทั้งสองสกุลของการศึกษาครั้งนี้ ได้ปรับสภาวะต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการให้ใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงแบบมหมวล หรือแบบปริมาณมาก (mass culture) ในสภาพท้องถิ่น เพื่อที่สามารถนำข้อมูลต่าง ๆ จากการศึกษานี้ไปใช้เปรียบเทียบได้ โดยมีอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 30 psu ความเข้มแสงประมาณ 3000 ลักซ์ และช่วงเวลาได้รับแสง:ไม่ได้รับแสงคือ 12 : 12 ชั่วโมง ประยูร สุรตระกูล (2540) รายงานว่า การเพาะเลี้ยง *Chaetoceros* แบบมหมวลในบ่อขนาดตันตามโรงเพาะฟักของเกษตรกรเพื่อใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน แถบจังหวัดฉะเชิงเทรา น้ำทะเลที่ใช้เพาะเลี้ยงมี pH อยู่ระหว่าง 7.5–8.3 ความเค็ม 28–30 psu โดยได้รับแสงและระยะเวลาการรับแสงตามธรรมชาติ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยง *Skeletonema* แบบมหมวล พบว่าค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25.2–28.3 องศาเซลเซียส ความเค็ม 28–31 psu pH อยู่ในช่วง 8.22–8.80 ซึ่งค่าต่าง ๆ อยู่ในช่วงที่เหมาะกับการเจริญเติบโตของ *Skeletonema* ที่เลี้ยงกลางแจ้ง (พูนสิน พานิชสุข และคณะ, 2538; ธิดา เพชรมณี, 2542)

การศึกษาครั้งนี้พบว่า *Chaetoceros* ทั้ง 6 โคลน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตไม่แตกต่างกันมากนัก อาจเนื่องมาจาก ความใกล้ชิดกันของสายพันธุ์ ดังที่กล่าวถึงในหัวข้อ 1. การคัดเลือกแพลงก์ตอนพืช เมื่อพิจารณาจากภาคผนวก ข รูปที่ ข1 ถึง ข6 พบว่าโคลน *Chaetoceros* (AL), *Chaetoceros* (BP), *Chaetoceros* (BU) และ *Chaetoceros* (LA) มีการเติบโตรวดเร็วตลอดระยะ log phase (3 วัน) ส่วน *Chaetoceros* (NI) และ *Chaetoceros* (PP) จะเติบโตช้าในช่วงวันแรกของระยะ log phase หลังจากนั้นก็จะเติบโตรวดเร็ว สำหรับใน *Skeletonema* ทั้งสองโคลน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตใกล้เคียงกันมาก จากภาคผนวก ข รูปที่ ข7 และ ข8 จะเห็นว่า *Skeletonema* มีระยะ lag phase ชัดเจนกว่า *Chaetoceros* จากการสังเกตเมื่อเซลล์เติบโตเข้าสู่วันที่ 4 พบว่าในสายของ *Skeletonema* จะเริ่ม

พบเซลล์ที่ตายแล้ว 1-2 เซลล์ต่อสาย แต่เซลล์ก็ยังมีการเพิ่มจำนวน เพียงแต่สภาพเซลล์จะไม่สมบูรณ์เท่าวันที่ 2-3 เมื่อการเติบโตเข้าสู่วันที่ 8 จะเป็นระยะ death phase พบว่าในสายของเซลล์มีเซลล์ตายมากกว่าเซลล์มีชีวิต จำนวนเซลล์จึงลดลงอย่างเห็นได้ชัด แต่ใน *Chaetoceros* จะไม่เป็นเช่นนี้ พบว่าจำนวนเซลล์ยังมีคงที่และเริ่มลดลงเรื่อย ๆ หลังจากวันที่ 12 โดยเซลล์ที่ตายจะมาเกาะรวมกัน และมีแบคทีเรียมาก

การศึกษาอัตราการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชโดยทั่วไปจะทำในห้องปฏิบัติการ แต่ละการศึกษามีสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแตกต่างกันไป ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่ออัตราการเติบโตของแพลงก์ตอนพืช จากการศึกษาอัตราการเติบโตของ *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (μ) อยู่ในช่วง 1.06–1.29 ต่อวัน (ตารางที่ 9) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าสัมประสิทธิ์ในการศึกษาอื่น ๆ ซึ่งแต่ละการศึกษามีสภาวะในการเพาะเลี้ยงแตกต่างกันทำให้มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตแตกต่างกัน แม้ว่าจะเป็นชนิดเดียวกันก็ตาม จากตารางที่ 21 ได้นำค่าของอุณหภูมิซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการเติบโตนำมาเปรียบเทียบ จะเห็นได้ว่า *Chaetoceros* ชนิดเดียวกัน แต่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิต่างกันทำให้มีสัมประสิทธิ์การเติบโตต่างกัน เช่นการศึกษาของ Timmermans et al. (2001) ใน *C. brevis* จะมีสัมประสิทธิ์การเติบโตต่ำมากเนื่องจากเป็น *Chaetoceros* บริเวณ Antarctic มีอุณหภูมิการเลี้ยงต่ำมาก (0–3 ° C) การแบ่งเซลล์จะเกิดได้ช้ากว่าในเขตร้อน ดังการศึกษาของ Shamsudin (1992) การศึกษาสัมประสิทธิ์การเติบโตใน *Skeletonema* ของ Shamsudin (1992) และ Renaud et al. (1999) พบว่ามีค่าต่ำกว่าการศึกษาครั้งนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สายพันธุ์หรือปัจจัยสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ นอกเหนือจากอุณหภูมิ

3. องค์ประกอบทางชีวเคมีของ *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ที่คัดเลือกได้

3.1 มวลชีวภาพ (biomass)

จากตารางที่ 22 ได้รวบรวมค่าน้ำหนักเซลล์ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* จากการศึกษาต่าง ๆ พบว่า *Chaetoceros* ต่างชนิดกันมีน้ำหนักต่อเซลล์ต่างกัน แต่ใน *Skeletonema* แม้ว่าจะเป็นชนิดเดียวกันก็มีความแตกต่างของน้ำหนักต่อเซลล์ ทั้งนี้อาจมาจากปัจจัยต่าง ๆ จากการเพาะเลี้ยง เช่น อุณหภูมิ, pH, ธาตุอาหาร เป็นต้น รวมทั้งปัจจัยทางสายพันธุ์และพันธุกรรมของเซลล์ดังที่กล่าวมาข้างต้น

3.2 องค์ประกอบทางชีวเคมีโดยรวม

เมื่อพิจารณาจากสัดส่วนของปริมาณองค์ประกอบทางชีวเคมีโดยรวม ได้แก่ โปรตีน ไขมัน

ตารางที่ 21 สัมประสิทธิ์การเติบโต (ต่อวัน) ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ชนิดต่าง ๆ

ชนิด	สัมประสิทธิ์การเติบโต (μ) (ต่อวัน)	อุณหภูมิ ($^{\circ}C$)	ที่มา
C. brevis	0.39	0-3	Timmermans et al. (2001)
C. calcitrans	1.39	17.5	Thompson et al. (1990)
C. calcitrans	1.14	28-30	Shamsudin (1992)
C. gracilis	1.36	25	Taguchi et al. (1987)
C. gracilis	1.61	17.5	Thompson et al. (1990)
C. muelleri	1.6	30	McGinnis et al. (1997)
C. simplex	1.75	17.5	Thompson et al. (1990)
Chaetoceros sp.	1.29	23-25	Reitan et al. (1994)
Chaetoceros sp.	0.56	25	Renaud et al. (1999)
Chaetoceros sp.	0.87	30	Renaud et al. (2002)
S. costatum	0.58	28-30	Shamsudin (1992)
S. costatum	0.69	25	Renaud et al. (1999)
Skeletonema sp.	0.73	25	Renaud et al. (1999)

คาร์โบไฮเดรต และเถ้า พบว่า *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลน มีสัดส่วนที่เหมือนกัน คือ เถ้า > โปรตีน > ไขมัน > คาร์โบไฮเดรต (ยกเว้น *Chaetoceros* (LA) มีปริมาณโปรตีนมากกว่าเถ้าเล็กน้อย) จากการศึกษาของ Renaud et al. (1999) พบว่าในแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมจะมีปริมาณเถ้ามากกว่าองค์ประกอบอื่น ๆ ส่วนแพลงก์ตอนพืชกลุ่ม Prymnesiophyceae และ Cryptophyceae พบปริมาณโปรตีนสูงกว่าปริมาณเถ้า ซึ่งโดยปกติปริมาณเถ้าในแพลงก์ตอนพืชจะมีน้อย (ประมาณ 10 % ของน้ำหนักแห้ง) ยกเว้นแพลงก์ตอนพืชที่ทนเค็มสูงและในไดอะตอม ซึ่งมีโครงสร้างผนังเซลล์เป็นซิลิกาจึงมีปริมาณเถ้าสูง (Werner, 1977; Becker, 1986) อย่างไรก็ตาม สภาวะในการเพาะเลี้ยงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณองค์ประกอบทางชีวเคมีในแพลงก์ตอนพืช ดังแสดงในตารางที่ 22 จะเห็นว่าใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกันเมื่อใช้สภาวะการเลี้ยงต่างกันจะทำให้มีปริมาณองค์ประกอบทางชีวเคมีโดยรวมแตกต่างเช่นกัน

ตารางที่ 22 ค่าน้ำหนักต่อเซลล์ (pg/cell) จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว ($\times 10^4$ cell/ml.) ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้าและสภาวะการเลี้ยง (% น้ำหนักแห้ง) ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema*

ชนิด	น้ำหนักต่อเซลล์	จำนวนเซลล์ขณะเก็บเกี่ยว	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า	สภาวะการเลี้ยง	เอกสารอ้างอิง
Chaetoceros sp.	43.4	289	36.7	17.0	6.2	21.2	f/2, pH 8, 25 °C, 25 psu., late log, 80 µmol. m^2. s^{-1}	Renaud et al. (1999)
Skeletonema sp.	15.7	376	28.1	13.3	4	33.1		
S. costatum	18.1	313	27.9	13.5	12.0	38.8		
C. calcitrans	11.3	343	34	16	6.0	-	f/2, 70-80 µmol. m^2. s^{-1}, 20 °C, late log, 12:12	Brown (1991)
C. gracilis	74.8	190	12	7.2	4.7	-		
S. costatum	52.2	105	25	10	4.6	-		
S. costatum (20 °C)	81	140	31	19	6.5	15	f/2, 70-80 µmol. m^2. s^{-1}, 20-25 °C, late log, 12:12	Brown and Jeffrey (1995)
Skeletonema sp. (25°C)	18	660	37	20	6.4	9.4		
Chaetoceros sp.	51.3	328	64.1	12.2	12.5	-	f/2, 80 µmol. m^2.s^{-1}, 30 °C, 12:12, pH 8.3	Renaud et al. (2002)
S. costatum	44	90	-	23.8	-	26.2	f/2, 190 µmol. m^2. s^{-1}, 23 °C, late log	Shifrin (1981)
S. costatum	23	100	-	23.2	-	14.4		
C. gracilis	-	-	39.4	30.7	13.3	-	100 µmol. m^2.s^{-1}, 25 °C, 12:12, log	Taguchi et al. (1987)
Chaetoceros sp.	-	-	40.8	17.0	7.5	20.8	f/2, 25 °C, 28 psu., late log, 80-100 µmol. m^2. s^{-1}	Thinh et al. (1999)
S. costatum	-	-	36.8	13.5	12.4	39.9		
S. costatum	-	-	39.5	13.3	12.2	32.5		
C. calcitrans	-	-	22.94	14.39	11.09	26.6	Conway, 60 µmol. m^2. s^{-1}, 15 °C, log	Whyte (1987)
Chaetoceros sp.	-	-	21.12	8.81	8.46	35.07		
Chaetoceros	16.35-29.37	98.67-154.00	32.60-38.50	15.75-21.59	1.98-4.48	37.04-42.47	Conway, 28 °C, 12:12, late log, 30 psu	การศึกษาครั้งนี้
Skeletonema	1279.61-1410.67	1.52-2.29	18.24-19.48	10.45-11.64	4.54-4.69	39.63-48.55	Conway, 28 °C, 12:12, late log, 30 psu	การศึกษาครั้งนี้

สภาวะการเลี้ยง: late log, log คือ ระยะการเก็บเกี่ยวเซลล์มาวิเคราะห์

f/2, Conway คือ สูตรอาหารที่ใช้

µmol. m^2. s^{-1} คือ ความเข้มแสงที่ใช้

3.3 องค์ประกอบกรดอะมิโน

การศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่พบใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลนอยู่ในหน่วย มิลลิกรัมต่อกรัม ของน้ำหนักแห้งตัวอย่าง เพื่อให้สอดคล้องกับค่าโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า และองค์ประกอบกรดไขมัน แต่งานทางด้านการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในแพลงก์ตอนพืช มีการแปลผลให้อยู่ในหน่วยแตกต่างกันแล้วแต่จุดประสงค์ของงานและวิธีการวิเคราะห์ เช่น % ของกรดอะมิโนทั้งหมด, μg anhydroamino acid residue per 10^6 cells, % ของกรดอะมิโนต่อน้ำหนักแห้ง เป็นต้น การศึกษาครั้งนี้พบว่ากรดแอสพาร์ติกและกรดกลูตามิก มีปริมาณที่สูงที่สุด (19.18–50.42 mg/g dw.) และฮิสติดีนมีปริมาณต่ำที่สุด (3.27–7.88 mg/g dw.) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Enright et al. (1986a); Brown (1991) และ Brown and Jeffrey (1995) ที่พบว่ากรดกลูตามิกมีปริมาณสูงสุด (8.0–16.9 % ของกรดอะมิโนทั้งหมด) และฮิสติดีนมีปริมาณต่ำที่สุด (1.6–2.4 % ของกรดอะมิโนทั้งหมด) ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ชนิดต่าง ๆ และส่วนในกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ พบว่ามีปริมาณแต่ละชนิดใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในโปรตีนมีหน้าที่เฉพาะที่เหมือนกันในแพลงก์ตอนพืชทุกชนิด เช่น เอนไซม์ C-fixation, โปรตีนเมมเบรนในรงควัตถุซึ่งมีการเก็บสะสมไว้ในเซลล์สูง และมีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละชนิด (Brown, 1991) จากการศึกษาของ Teshima et al. (1986) พบว่าในเนื้อกุ้ง *P. japonicus* วัยอ่อนมีปริมาณอาร์จินีนในเนื้อเยื่อสูง (9.1 % ของโปรตีน) และ 10.2 % ของกรดอะมิโนทั้งหมด ในเนื้อกุ้ง *P. esculentus* วัยรุ่น (Dall et al. 1987) และเมื่อนำค่าของปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็นที่พบใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ชนิดต่าง ๆ ของ Enright et al. (1986b); Brown (1991) และ Brown and Jeffrey (1995) มาเปรียบเทียบกับปริมาณกรดอะมิโนจากการวิเคราะห์ในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำวัยอ่อนและกุ้ง *P. japonicus* วัยอ่อน พบว่าในแพลงก์ตอนพืชเหล่านี้มีค่าเฉลี่ยปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็นทั้ง 10 ชนิด ใกล้เคียงกับในเนื้อเยื่อกุ้ง อาจชี้ให้เห็นว่าคุณภาพของกรดอะมิโนที่พบนี้มีความเพียงพอแก่ความต้องการของกุ้งวัยอ่อน ดังรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 23 แต่คุณภาพของกรดอะมิโนในแพลงก์ตอนพืชจะเปลี่ยนแปลงขึ้นกับปัจจัยการเพาะเลี้ยงต่าง ๆ เช่น ความแปรผันของความเข้มแสง (Brown et al. 1992b), ระยะของการเก็บเกี่ยวเซลล์ (Brown et al., 1992a), การจำกัดสารอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน หรือ ซิลิเกต เป็นต้น (Enright et al. 1986b) เป็นต้น

ตารางที่ 23 ปริมาณและองค์ประกอบของกรดอะมิโน (% ของกรดอะมิโนทั้งหมด) ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ชนิดต่าง ๆ และในเนื้อเยื่อกุ้งวัยอ่อน (nd. = ตรวจไม่พบ)

ที่มา	Brown and Jeffrey (1995)		Brown (1991)			Enright et al. (1986a)		Dy-Penaflorida (1989)	Teshima et al. (1986)
กรดอะมิโน	*S. costatum*	*Skeletonema* sp.	*C. calcitrans*	*C. gracilis*	*S. costatum*	*C. calcitrans*	*S. costatum*	*P. monodon* วัยอ่อน	*P. japonicus* วัยอ่อน
ชนิดจำเป็น									
ฮิสติดีน	2.2	2.4	1.9	2.4	1.6	2.3	2.1	1.8	2.9
อาร์จินีน	7.6	8.2	6.4	6.6	6.4	6.4	6.1	5.9	9.1
ทรีโอนีน	4.7	5.0	4.5	5.9	5.1	5.9	5.5	3.3	3.8
วาลีน	4.9	5.1	5.9	6.2	6.3	5.9	5.5	4.3	5.6
ไลซีน	6.1	5.0	6.3	5.1	5.7	7.3	7.9	6.9	8.4
เมไธโอนีน	2.5	2.4	2.6	2.4	2.2	2.3	1.3	2.1	nd.
ไอโซลิวซีน	4.5	5.0	5.5	5.8	5.2	5.5	5.9	3.6	5.9
ทริปโตเฟน	2.0	2.1	1.4	1.6	1.3	nd.	nd.	0.7	nd.
ลิวซีน	7.8	7.3	8.2	7.2	8.3	9.1	8.4	6.2	7.8
ฟีนิลอะลานีน	5.5	6.5	2.6	2.4	2.2	5.9	5.5	3.8	5.6
ชนิดไม่จำเป็น									
กรดแอสพาร์ติก	11.3	10.8	9.8	8.0	10.1	11.4	11.3	8.4	11.4
เซรีน	6.0	6.4	5.8	6.6	6.1	5.9	5.5	3.6	6.4
ซิสตีน	0.6	0.5	0.4	0.5	0.4	nd.	nd.	0.9	nd.
กรดกลูตามิก	12.9	11.8	10.5	9.4	10.4	15.0	16.9	11.4	15.6
ไกลซีน	6.0	6.3	5.9	5.1	6.4	5.5	5.5	5.1	5.8
อะลานีน	6.3	6.3	7.2	6.9	7.3	7.7	9.2	5.4	6.2
โพรลีน	4.3	4.5	5.6	6.3	4.9	nd.	nd.	3.5	6.6
ไทโรซีน	3.9	6.2	4.5	5.4	4.5	4.5	3.9	3.8	5.9

3.4 องค์ประกอบกรดไขมัน

สัดส่วนของกรดไขมันที่พบใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลน มีสัดส่วนสอดคล้องกับการศึกษาของ Ben-Amotz et al. (1987) ใน *C. gracilis*, Shamsudin (1992) ใน *C. calcitrans* แต่จะแตกต่างกับการศึกษาของ Volkman et al. (1989) ใน *C. calcitrans* ซึ่งพบว่าสัดส่วนจะเป็น MUFAsรวม > (PUFAsรวม + HUFAsรวม) > SFAsรวม และแตกต่างกับ Renaud (1999) ซึ่งศึกษาใน *Chaetoceros* sp. และพบว่าสัดส่วนจะเป็น (PUFAsรวม + HUFAsรวม) > SFAs รวม > MUFAsรวม

กลุ่มของกรดไขมัน SFAs ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลน จากการศึกษาครั้งนี้พบ C16:0 และ C14:0, ในกลุ่ม MUFAsพบ C16:1 และในกลุ่ม PUFAs + HUFAs พบ C20:5 เป็นกรดไขมันชนิดเด่น เช่นเดียวกับการศึกษาใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ชนิดต่าง ๆ ที่สภาวะการเลี้ยงแบบปกติ ของ Ben-Amotz et al. (1987); Shamsudin (1992); Volkman et al. (1989); Renaud et al. (1999); Dunstanst et al. (1994); Thinh et al. (1999); Napolitano et al. (1990); Fernandez-Reiriz et al. (1989); D' Souza and Loneragan (1999) สำหรับกรดไขมันชนิดจำเป็น (EFAs) ทั้ง 5 ชนิด ที่พบมี C20:5 สูงที่สุด ส่วน C18:2, C20:4 และ C22:6 มีปริมาณใกล้เคียงกันในทุกโคลน และ C18:3 พบได้บ้างในบางโคลนแต่มีปริมาณน้อยมาก เช่นเดียวกับการศึกษาอื่น กรดไขมันในกลุ่ม PUFAs และ HUFAs จะเป็นที่สนใจในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากกว่ากรดไขมันกลุ่มอื่น เนื่องจาก กรดไขมันกลุ่มนี้ประกอบด้วย กรดไขมันจำเป็น (EFAs) ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดของกุ้ง (Kanazawa et al. 1979; Jone et al. 1979 อ้างโดย Akiyama et al.1992; Kanazawa, 1984,1994; Volkman et al. 1989; Tocher and Sargent, 1984; Xu et al. 1994) ใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลน พบว่ามี EFAs ชนิดเด่นคือ C20:5 ส่วน C20:4, C22:6 และ C18:2 มีปริมาณน้อย ในบางโคลนตรวจไม่พบ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า C18:3 มีการสังเคราะห์ไปเป็น C20:5 จึงทำให้มีปริมาณ C20:5 สูง (Thompson, 1992)

ปัจจัยกายภาพในการเพาะเลี้ยง *Chaetoceros* และ *Skeletonema* มีผลต่อการผลิตองค์ประกอบทางชีวเคมีชนิดต่าง ๆ ในเซลล์ จะเห็นได้จากตารางที่ 24 เมื่อมีการทดลองเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่อุณหภูมิสูงแพลงก์ตอนพืชทะเลหลายชนิดจะสร้างกรดไขมันอิ่มตัว (SFAs) เพิ่มขึ้นใน เช่นการศึกษาของ Mortesen et al. (1988); Thompson et al. (1992); Renaud et al. (1995); Renaud et al. (2002) ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของของเหลวในชั้นฟอสโฟลิพิดในเซลล์เมมเบรน โดยขึ้นกับระดับของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (Harwood, 1988; Sargent et al. 1989) ด้วยการเพิ่มระดับของของเหลวมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมัน แนวโน้มสอดคล้องกับการศึกษาของ Renaud et al. (2002) และ Mortensen et al. (1988) ดังตารางที่ 24 จะเห็นได้ว่า SFAs เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่ PUFAsรวม และ HUFAs รวม ลดลง ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดภาวะที่รบกวนจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นต่อกระบวนการสังเคราะห์

กรดไขมันโดยการเพิ่มจำนวนคาร์บอนและการเพิ่มจำนวนพันธะคู่ ออกาเนลที่ใช้สังเคราะห์แสงในเมมเบรนจะมีกรดไขมันอยู่ถึง 75 % ของเซลล์เมมเบรนทั้งหมด (Forde and Steer, 1976; Fuller and Nes, 1987 อ้างโดย Thompson, 1992) และจะเป็นพวกที่ไม่อิ่มตัวสูง อย่าง PUFAs อยู่ถึง 90 % ส่วนไขมันในคลอโรพลาสต์ของไดอะตอม ส่วนใหญ่เป็น monogalactosyl diglycerides ซึ่งจะมี PUFAs มาก (Opute, 1974) การเติบโตที่อุณหภูมิต่ำทำให้มีการเพิ่มสภาวะของของเหลวในเมมเบรน (membrane fluidity) สูงขึ้น หรือเพิ่มการละลายของออกซิเจนมากขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนพันธะคู่ของกรดไขมัน (Harwood and Russell, 1984) ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานของ Seto et al. (1984) ศึกษาใน *Chlorella minutissima* รายงานว่า อุณหภูมิอาจมีผลเกี่ยวข้องกับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์บางชนิดที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัว ในกระบวนการเพิ่มจำนวนคาร์บอนและการเพิ่มจำนวนพันธะคู่ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเป็นอย่างมาก

การศึกษาของ Thompson et al. (1990) พบว่าผลของความเข้มแสง (โฟตอนฟลักซ์) มีผลต่อการผลิตกรดไขมันชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะ LA และ EPA โดยที่ความเข้มแสงต่ำ *C. calcitrans*, *C. gracilis* และ *C. simplex* จะผลิตกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้สูงขึ้น ส่วนภาวะขาดแคลนซิลิเกตทำให้การผลิตไขมันในเซลล์ของ *Chaetoceros gracilis* เพิ่มขึ้น ส่วนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตจะลดลง (Taguchi et al. 1987) (ตารางที่ 24) จากการศึกษาของ Reitan et al. (1994) พบว่าภาวะการขาดแคลนซิลิเกตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันใน *Chaetoceros* sp. โดย EPA และ DHA จะมีปริมาณลดลง (ตารางที่ 24) การศึกษาของ Shifrin and Chrisholm (1981) พบว่า ใน *Skeletonema costatum* จะการผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะขาดแคลนไนโตรเจน

การศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของไดอะตอมสกุล *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ในการศึกษาครั้งนี้ ได้กำหนดให้สภาวะการเลี้ยงให้มีความใกล้เคียงกับสภาพท้องถิ่น สามารถใช้เพาะเลี้ยงแบบมหมวลได้ แต่จากการศึกษาอื่น ๆ ดังตารางที่ 24 ทำให้เราสามารถปรับเปลี่ยนสภาวะการเลี้ยงต่าง ๆ เพื่อให้ได้องค์ประกอบชนิดต่าง ๆ เหมาะสมกับความต้องการของสัตว์น้ำ แต่จากการสำรวจการเพาะเลี้ยง *Chaetoceros* และ *Skeletonema* แบบมหมวลในแถบจังหวัดชลบุรีและฉะเชิงเทราซึ่งใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน เป็นการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (continuous culture) มีการเก็บเกี่ยวเซลล์บางส่วนไปใช้แล้วเติมอาหารและน้ำทะเล เพื่อขยายเชื้อต่อไป การเพาะเลี้ยงเช่นนี้เป็นการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง ปัจจัยสิ่งแวดล้อมมีการแปรผันตลอดเวลา แต่สิ่งที่สามารถควบคุมได้ก็คือปริมาณสารอาหาร และความเค็ม ซึ่งถ้ามีการปรับเปลี่ยนที่เหมาะสมอาจทำให้ได้ผลผลิตของแพลงก์ตอนพืชที่มีคุณภาพในแง่ของสารอาหารแก่สัตว์น้ำต่อไป

ตารางที่ 24 ปริมาณและองค์ประกอบกรดไขมันที่สภาวะเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ

สภาวะ/กรดไขมัน	*Chaetoceros* sp. (tropical)[a]					*C. gracilis* (temperate)[b]				*C. calcitrans*[c]				*C. gracilis*[c]				*C. simplex*[c]				*Chaetoceros* sp.[d]	
อุณหภูมิ (°C)	25	27	30	33	35	18	22	28	32														
ความเข้มแสง(µmol. m^2 .s^{-1})										225	80	24	6	225	125	44	6	225	125	44	6		
Si-limited																						ปกติ	จำกัด
SFAsรวม	33.5	31.6	32.1	33.8	38.2	36.3	41.5	39	41.3														
MUFAsรวม	39.4	39.3	42.5	40	36.5	27.8	33.4	37	33.5														
PUFAs+HUFAsรวม	19.5	20.8	19	19.8	20.4	32.3	21.9	22	22.3														
C18:2n-6	0.4	1.2	1.1	1.3	1.2	0.86	1.29	1.29	0.96	0.28		0.38	0.48	0.79	0.83	0.68	1.22	0.24	0.24	0.31	0.32	1.1	2.1
C18:3n-3	0.5	0.6	0.4	0.5	1																	0.3	0.3
C20:4n-6	4.1	4.5	4	3.6	2.7	0.7	2.5	5.5	5.5														
C20:5n-3	8	6.7	6.5	6.9	6.6	14.7	9.8	8.9	7.5	15.7	12.5	15.4	14.1	11.6	11.3	12.2	14.9	6.1	5.4	9.9	15.5	20.2	15.6
C22:6n-3	1	0.6	0.4	0.4	0.3	2	1.2	1.2	0.4	1.52	0.62	0.72	0.74	1.5	1.2	1	0.5	1.1	1	1.1	1.2	5.4	3

[a] Renaud et al. (2002) [b] Mortensen et al. (1988) [c] Thompson et al. (1990) [d] Reitan et al. (1994)

หน่วย คือ % ของกรดไขมันทั้งหมด

4. ผลของการใช้ *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ที่คัดเลือกได้ต่อการพัฒนาและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

การพิจารณาว่าอาหารหรือแพลงก์ตอนพืชชนิดใดมีความเหมาะสมกับความต้องการของสัตว์น้ำหรือไม่ ควรทำการศึกษาใน 3 ส่วนคือ

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีในแพลงก์ตอนพืช
2. วัดการตอบสนองของสัตว์น้ำ เช่น การเติบโต การพัฒนา และการรอด เป็นต้น
3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีในสัตว์น้ำที่ได้รับแพลงก์ตอนพืช

ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ทั้ง 8 โคลน ทำให้ทราบว่าแต่ละโคลนมีองค์ประกอบทางชีวเคมีแตกต่างกันอย่างไร แล้วจึงได้ทำการศึกษาส่วนที่ 2 และ 3 เพื่อประเมินว่า *Chaetoceros* และ *Skeletonema* โคลนใดมีความเหมาะสมที่สุดต่อการพัฒนาและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน โดยนำแพลงก์ตอนพืชมาอนุบาลกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะโปรโตซูเอียและระยะไมซิส จนลูกกุ้งเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I ซึ่งการศึกษาของ Kuban et al. (1985) พบว่าลูกกุ้งสามารถพัฒนาเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I และมีอัตรารอดสูง (85-99 %) เมื่อให้แพลงก์ตอนพืชเป็นอาหารอย่างเดียวโดยไม่ต้องให้แพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่น เช่น อาร์ทีเมีย เป็นต้น

4.1 การคัดเลือกโคลน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* เพื่อเป็นอาหารกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

จากการศึกษาของ Tobias-Quinitio and Villegas (1982) สรุปได้ว่าการวิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวม (โปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไขมัน) ในแพลงก์ตอนพืช 2 ชนิด คือ *C. calcitrans* และ *Tetraselmis chuii* ที่ใช้เป็นอาหารกุ้งกุลาดำวัยอ่อน ไม่สามารถอธิบายถึงความแตกต่างของการเจริญเติบโตและการรอดในลูกกุ้งได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Haryanti et al. (1994) ซึ่งสรุปไม่ได้ว่าผลจาก โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ไดอะตอม 2 ชนิด (*C. calcitrans* และ *S. costatum*) มีผลต่อลูกกุ้งอย่างไรจึงทำให้มีการรอดและพัฒนาการสูงกว่าแพลงก์ตอนพืชอีก 3 ชนิด ฉะนั้นการพิจารณาจากองค์ประกอบทางชีวเคมีในระดับโมเลกุล ได้แก่ กรดไขมันและกรดอะมิโน จึงน่าจะอธิบายผลได้ดีกว่า (Napolitano et al. 1990) ซึ่งการศึกษาของ Enright et al. (1986a); Brown (1991) และ Brown and Jeffrey (1995) พบว่าใน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* มีคุณภาพของกรดอะมิโนเพียงพอแก่ความต้องการของลูกกุ้ง ดังนั้นการคัดเลือกโคลน *Chaetoceros* และ *Skeletonema* เพื่อนำมาทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนและเปรียบเทียบการพัฒนาและอัตรารอด จึงใช้เกณฑ์จากกรดไขมันจำเป็น (EFAs) ซึ่งมีผลต่อการเติบโตและการรอดของลูกกุ้ง (Kanazawa et al. 1979; Jone et al. 1979 อ้างโดย Akiyama et al.1992; Kanazawa, 1984,1994; Volkman et al. 1989; Tocher and Sargent, 1984; Xu et al. 1994) สำหรับอัตราการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชมีส่วนสำคัญในการคัดเลือกนำมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน เนื่องจากโคลนที่มีอัตราการเติบโตดี สามารถนำ

ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงแบบมหมวล เพื่อใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนตามโรงเพาะฟักได้ดีกว่าโคลนที่มีอัตราการเติบโตต่ำ ดังนั้นจึงเลือก *Chaetoceros* โคลน *Chaetocersos* (BP) เป็นตัวแทนของกลุ่มโคลนที่มีปริมาณ EFAs สูงและอัตราการเติบโตสูง, โคลน *Chaetocersos* (NI) เป็นตัวแทนของกลุ่มโคลนที่มีปริมาณ EFAs ต่ำ และอัตราการเติบโตต่ำ และเลือก *Skeletonema* โคลน *Skeletonema* (BP) เป็นตัวแทนของโคลนที่มีปริมาณ EFAs ต่ำ และอัตราการเติบโตต่ำ

4.2 คุณภาพน้ำในการทดลอง

ในการทดลองนี้คุณภาพน้ำไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ความเค็มและอุณหภูมิจะควบคุมไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะอุณหภูมิ เนื่องจากการทดลองครั้งแรก (preliminary) พบว่าอุณหภูมิของน้ำเลี้ยงในรอบวันแตกต่างกัน โดยในช่วงกลางวันแตกต่างจากช่วงกลางคืน (02.00-06.00 น.) 4–5 °C (เลี้ยงในถังขนาด 12 ลิตร ปริมาตรน้ำเริ่มต้น 6 ลิตร ปริมาตรสุดท้ายประมาณ 10 ลิตร) ซึ่งมีปริมาตรน้ำค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบกับการเลี้ยงตามโรงฟักทั่วไปที่ใช้ปริมาตรน้ำเป็นพันลิตร จึงทำให้ลูกกุ้งมีอัตรารอดต่ำ (30–40%) ดังนั้นจึงออกแบบการเลี้ยงใหม่ โดยการสร้างเป็นตู้มืดบุโฟมที่หุ้มด้วยถุงดำทุกด้านเพื่อเป็นฉนวนกันความร้อน (ทำการทดลองในช่วงเดือนตุลาคมมีฝนตกเกือบทุกวันและอากาศค่อนข้างเย็นในตอนกลางคืน) ทำให้สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ดี (30–30.5 °C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 7.9–8.1 สอดคล้องกับ Treece (1985) ที่กล่าวว่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 7.8–8.2 เป็นช่วงที่เหมาะสมกับลูกกุ้งทะเล ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 6.5–6.9 ppm. อยู่ในช่วงเดียวกับ Boyd and Fast (1992) ค่าแอมโมเนีย 0.07–0.20 ppm. อยู่ในช่วงใกล้เคียงกับการศึกษาของ Tobias-Quinitio and Villegas (1982) ซึ่งมีค่า 0.015–0.34 ppm. ดังนั้นคุณภาพน้ำจึงไม่เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการรอดตายของลูกกุ้งในการทดลองครั้งนี้

4.3 อัตรารอดและระยะเวลาพัฒนาของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

จากการทดลองใช้ *Chaetoceros* และ *Skeletonema* ที่คัดเลือกมา 3 โคลน นำมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน พบว่าอัตรารอดของลูกกุ้งเมื่อเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I มีค่าอยู่ในช่วง 86.00-96.44 % โดยชุดที่เลี้ยงด้วย *Chaetocersos* (BP), *Chaetocersos* (NI) และ *Skeletonema* (BP) มีอัตรารอดสูงไปต่ำตามลำดับ ใกล้เคียงกับการศึกษาอื่น เช่น การศึกษาของ Haryanti et al. (1994) เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนจนถึงระยะโพสลาร์วา I ด้วย *C. calcitrans* และ *S. costatum* มีอัตรารอด 77.35 % และ 74.63 % ตามลำดับ (คุณภาพน้ำ อุณหภูมิ 28.5–29.0 °C, ความเค็ม 33-34 psu, pH 8.1–8.3 และมีแสงประมาณ 1000-2000 ลักซ์ ในบ่อเลี้ยง) เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ วุฒิ คุปตะวาทิน (2535) เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนจนถึงระยะโพสลาร์วา I ด้วย *S. costatum* มีอัตรารอด 80.0-82.3 % (ความเค็ม 30-31 psu, pH 8.20-8.31, แอมโมเนีย 0.24-1.08 ppm. และปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ 5.7-6.2

ppm.) สำหรับอัตรารอดของกุ้ง *P. japonicus* วัยอ่อน เมื่อเลี้ยงด้วย *C. gracilis* และ *Artemia salina* พบว่ามี 83 % (ที่อุณหภูมิ 26-27 °C) (Kanazawa et al. 1985) ส่วนในกุ้งพีเนียสชนิดอื่น ได้แก่ *P. aztecus*, *P. setiferus*, *P. vanamei* และ *P. Stylirostris* เมื่อเลี้ยงด้วย*C. calcitrans* และ *S. costatum* จนเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I พบว่ามีอัตรารอด 93%, 98%, 85% และ 99% ตามลำดับ โดยมีอุณหภูมิ 28 ±1 °C, ความเค็ม 32 ±2 psu และ pH 8.0 ±0.2 (Kuban et al.1985)

ระยะเวลาพัฒนาของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะต่าง ๆ และระยะเวลาพัฒนาที่เข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I อาจมีความแตกต่างจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น สภาวะการเลี้ยงและอาหาร เป็นต้น ซึ่งจะทำให้การเปลี่ยนระยะของลูกกุ้งช้าหรือเร็วกว่าปกติได้ การศึกษาครั้งนี้ลูกกุ้งพัฒนาเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I ภายในระยะเวลา 8–10 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Kungvankij et al. (1989) พบว่าลูกกุ้งใช้ระยะเวลาการพัฒนาเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา I ภายใน 10 วัน 10 ชั่วโมง และระยะเวลาการพัฒนาในระยะต่าง ๆ ดังตารางที่ 25 ซึ่งความแตกต่างของเวลาในแต่ละระยะอาจมาจากอุณหภูมิการเลี้ยงที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 25 ระยะการพัฒนาของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน ที่ความเค็ม 31-33 psu

ระยะของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน	ระยะเวลา (วัน/ชม.)	
อุณหภูมิการเลี้ยง	25–28 °C	30–30.5°C
ที่มา	Kungvankij et al. (1989)	การศึกษาครั้งนี้
นอเพลียส IV	1 วัน 20 ชม.	–
โปรโตซูเอีย I	2 วัน 16 ชม.	2 วัน 6 ชม.
โปรโตซูเอีย II	4 วัน 4 ชม.	3 วัน 14 ชม.
โปรโตซูเอีย III	6 วัน	4 วัน 14 ชม.
ไมซิส I	7 วัน 4 ชม.	6 วัน 1 ชม.
ไมซิส II	8 วัน 16 ชม.	7 วัน 1 ชม.
ไมซิส III	9 วัน 4 ชม.	7 วัน 22 ชม.
โพสลาร์วา I	10 วัน 10 ชม.	8 วัน 22 ชม.

4.4 ปริมาณและองค์ประกอบกรดไขมันที่สะสมในเนื้อกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะต่าง ๆ

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบกรดไขมันในเนื้อกุ้งกุลาดำระยะนอเพลียส IV พบว่าปริมาณกรดไขมันทุกชนิดในตัวกุ้งระยะนี้สูงกว่าระยะโปรโตซูเอีย I (ไม่ได้รับอาหาร) และระยะโพสลาร์วา I ที่ได้รับอาหาร โดยมีสัดส่วน (PUFAsรวม+HUFAsรวม) > SFAsรวม > MUFAsรวม สอดคล้องกับการศึกษาของ Mourente et al. (1995) และ D' Souza and Loneragan (1999) เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในกุ้ง *P. kerathurus* และ *Penaeus* spp. ระยะนอเพลียส พบว่ามีสัดส่วนเช่นเดียวกัน และมีปริมาณสูงกว่าในระยะโปรโตซูเอีย, ระยะไมซิส และระยะโพสลาร์วา I ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากในรังไข่ระยะไข่สุก (mature ovaries) ของกุ้งจะมีปริมาณกรดไขมันค่อนข้างสูง โดยมีชนิดเด่น ได้แก่ C16:0, C16:1n-7, C18:0, C18:1n-9, C20:4n-6, C20:5n-3 และ C22:6n-3 (Wouters et al. 2001) ซึ่งกรดไขมันที่พบในรังไข่มี EPA และ DHA ค่อนข้างสูง ทำให้เชื่อได้ว่ากรดไขมันทั้งสองนี้มีบทบาทในการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และการแพร่พันธุ์ของกุ้ง และจากการศึกษาครั้งนี้ก็พบกรดไขมันเหล่านี้เช่นเดียวกัน และด้วยเหตุนี้เองทำให้ลูกกุ้งระยะนอเพลียสมีปริมาณกรดไขมันสะสมในตัวสูง แม้ลูกกุ้งระยะนี้จะไม่กินอาหาร เนื่องจากมีอาหารสะสมในตัว (yolksac) เมื่อลูกกุ้งเปลี่ยนระยะทำให้ต้องใช้พลังงานสูง จึงเป็นผลให้ลูกกุ้งที่เปลี่ยนเข้าสู่ระยะโปรโตซูเอีย I โดยไม่ได้รับอาหาร มีสัดส่วนของกรดไขมันแต่ละชนิดลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน (ตารางที่ 18 และรูปที่ 12)

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันในลูกกุ้งระยะโปรโตซูเอีย I (ไม่ได้รับอาหาร) กับลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา I หลังจากที่เลี้ยงด้วย *Chaetoceros* และ *Skeletonema* พบว่าปริมาณกรดไขมันเกือบทุกชนิดในระยะโพสลาร์วา I มีปริมาณต่ำกว่าระยะโปรโตซูเอีย I ยกเว้นกรดไขมัน กลุ่ม PUFAs และ HUFAs โดยเฉพาะกรดไขมัน C20:5 ทั้งนี้อาจชี้ให้เห็นว่าปริมาณกรดไขมันที่สะสมในเนื้อกุ้งระยะโพสลาร์วา I นี้ เป็นผลมาจากกรดไขมันในแพลงก์ตอนพืชที่ใช้เป็นอาหาร นอกเหนือจากการสังเคราะห์กรดไขมันในตัวของกุ้งเอง แต่กุ้งก็มีความสามารถจำกัดในการสังเคราะห์ PUFAs และ HUFAs (Kanazawa et al. 1979) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Mourente et al. (1995) ได้วิเคราะห์กรดไขมันในกุ้ง *P. kerathurus* วัยอ่อนระยะโพสลาร์วา I หลังจากได้ให้อาหารที่ประกอบด้วยแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ ที่มีกรดไขมัน C20:5n-3 สูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นในกลุ่ม PUFAs และ HUFAs ทำให้ในเนื้อกุ้งระยะโพสลาร์วา I มีกรดไขมัน C20:5n-3 สูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นเช่นกัน

ผลจากอาหารเนื่องจาก *Chaetoceros* และ *Skeletonema* โคลนต่าง ๆ ที่มีการสะสมกรดไขมัน EFAs ในเนื้อกุ้งระยะโพสลาร์วา I พบว่า กุ้งชุดที่ 1 ที่เลี้ยงด้วย *Chaetoceros* (BP) มีปริมาณ C18:2, C18:3, C20:4, C20:5 และ C22:6 มากกว่ากุ้งชุดอื่น เนื่องจากโคลน *Chaetoceros* (BP) มีปริมาณกรดไขมัน EFAs ทั้ง 5 ชนิดนี้สูง ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากอาหารทำให้มีการสะสมกรดไขมัน EFAs ในเนื้อกุ้งสูงกว่ากุ้งชุดอื่น และมีผลต่ออัตรารอดที่สูงกว่าชุดอื่น ในทางตรงกันข้ามเมื่อกุ้งชุด

ที่ 2 และ 3 ที่เลี้ยงด้วย *Chaetoceros* (BP) และ *S. costatum* (BP) ซึ่งมีกรดไขมัน EFAs ต่ำกว่าชุดที่ 1 ทำให้การสะสมกรดไขมัน EFAs ในเนื้อกุ้งทั้งสองชุดนี้ต่ำกว่าชุดแรก และมีอัตรารอดที่ต่ำกว่า

จากข้อมูลในตารางที่ 18 และรูปที่ 13 – 2) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมัน EFAs 3 ชนิด ในเนื้อกุ้ง คือ C20:4, C20:5 และ C22:6 กับความสัมพันธ์ของอัตรารอดของกุ้ง จะเห็นได้ว่ากรดไขมัน C20:5 และ C22:6 ในเนื้อกุ้งทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่แตกต่างกันนัก แต่ความแตกต่างอยู่ที่กรดไขมัน C20:4 โดยชุดที่ 1 > ชุดที่ 2 > ชุดที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังนั้นปริมาณ C20:4 ที่มีมากน่าจะส่งผลทำให้อัตรารอดของกุ้งแตกต่างกัน D' Souza and Loneragan (1999) พบว่า C20:4n-6 สูงในตัวอ่อนกุ้ง *Penaeus* spp. ที่กินแพลงก์ตอนพืชชนิด *C. muelleri* และ *T. suecica* ที่มีปริมาณ C20:4n-6 สูง เป็นอาหาร และตัวอ่อนกุ้งเหล่านี้จะมีอัตรารอดและพัฒนาการสูงกว่าตัวอ่อนชุดอื่น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย