



อัตราส่วนที่เหมาะสมของดีเอชเอต่ออีพีเอที่เสริมใน
 โรติเฟอร์ *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

ปริยภัทร ภัทรธำรง^{2*} สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิกรกุล^{1,2} วารินทร์ ธนาสมหวัง³ และ พนิดา อุนะกุล⁴

บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอที่เสริมในโรติเฟอร์ *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 เลี้ยงและอนุบาลตั้งแต่ระยะชูเอี้ยง 1 จนถึงระยะปูกระดองแรก (first crab) โดยเสริมผ่านโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียที่เป็นอาหารลูกปูม้าระยะต่าง ๆ ทำการเสริมกรดไขมันตามสัดส่วนดังกล่าวเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงและให้ตัวอ่อนปูม้าระยะชูเอี้ยง 1 ถึงระยะชูเอี้ยง 2 และระยะชูเอี้ยง 3 ถึงระยะปูกระดองแรก (first crab) ตามลำดับ ชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 2:2 มีอัตราการรอดของลูกปู 24.44 ± 5.56 % เท่ากับลูกปูในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:2 มีอัตราการรอด 24.44 ± 8.89 % ส่วนชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 ให้ระยะเวลาระหว่างการลอกคราบของตัวอ่อนปูในระยะชูเอี้ยง 2 3 และ 4 น้อยที่สุด

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

² ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

³ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง

⁴ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

*Corresponding Author, E-mail: priyapat.p@hotmail.com

ABSTRACT

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 to 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.

คำสำคัญ: ตัวอ่อนปูม้า *Portunus pelagicus* ดีเอชเอ อีพีเอ *Brachionus rotundiformis* *Artemia* spp.

Keywords: *Portunus pelagicus* larvae, DHA, EPA, *Brachionus rotundiformis*, *Artemia* spp.

บทนำ

อาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งที่จะทำให้การเพาะเลี้ยงปูม้า *Portunus pelagicus* ประสบความสำเร็จ การให้สารอาหารที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการร่างกายหรือไม่สมดุล อาจทำให้ตัวอ่อนปูม้าไม่สามารถเติบโต ลอกคราบ มีพัฒนาการได้ตามระยะอย่างเหมาะสม หากตัวอ่อนปูม้าได้รับสารอาหารอย่างสมบูรณ์เพียงพอจะทำให้ตัวอ่อนปูม้าสามารถเจริญเติบโต มีความแข็งแรงและมีอัตราการสูง

การเพาะเลี้ยงปูม้าในปัจจุบันให้โรติเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักเป็นอาหารในแต่ละช่วงระยะการพัฒนาของวัยอ่อน แต่เนื่องจากโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงให้เป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้า นั้น มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายสั้นและกรดไขมันไม่อิ่มตัวโมเลกุลเดี่ยวในปริมาณสูง ในขณะที่มีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า-3 ชนิดกรดไอโคสะเพนทาอีนอิก (eicosapentaenoic acid, EPA 20:5n-3) และกรดโดโคสะเฮกซะอีนอิก (docosahexaenoic acid, DHA 22:6n-3) ในตัวต่ำ (Laven and Sorgeloos, 1996; Estevez et al., 1999) อีกทั้งตัวอ่อนปูม้าขาด

ความสามารถในการเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันโอเมก้า-3 ที่มีสารตั้งต้นเป็นกรดลิโนเลนิก (18:3 n-3) ให้เป็นกรดไขมันอีพีเอ (20:5 n-3) หรือกรดไขมันดีเอชเอ (22:6 n-3) (Levine and Sulkin, 1984) ดังนั้นตัวอ่อนปูม้าจึงจำเป็นต้องได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงเหล่านี้ทางอาหาร วิธีการหนึ่งคือการเพิ่มสารอาหารผ่านทางอาหารที่มีชีวิตคือโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟัก เพื่อให้อาหารที่มีชีวิตดังกล่าวส่งผ่านสารอาหารไปยังตัวอ่อนอีกทอดหนึ่ง ซึ่งกรดไขมันอีพีเอ มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของตัวอ่อน ส่วนกรดไขมันดีเอชเอ จะช่วยเร่งให้ระยะเวลาระหว่างการลอกคราบสั้นลง และช่วยให้กระดองของตัวอ่อนปูมีความกว้างเพิ่มมากขึ้น (Takeuchi et al., 1999) นอกจากปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเมก้า-3 จะมีความสำคัญต่อการพัฒนาการของตัวอ่อนแล้ว อัตราส่วนที่เหมาะสมของกรดไขมันทั้งสองชนิดก็มีความสำคัญเช่นเดียวกัน Rodriguez et al. (1997) พบว่าการที่อัตราส่วนของกรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอไม่เหมาะสมสามารถเปลี่ยนองค์ประกอบของพอลิฟลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีผลต่อบทบาททาง

ชีวเคมีของเยื่อหุ้มเซลล์ ท้ายที่สุดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลา gilthead seabream (*Sparus aurata*) ดังรายงานจาก Watanabe and Kiron (1994) ที่เน้นว่าการที่ปริมาณของกรดไขมันทั้งดีเอชเอและอีพีเอไม่สมดุลกันอาจเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้การเลี้ยงปลาทะเลไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นการเพิ่มกรดไขมันอีพีเอและกรดไขมัน ดีเอชเอในอัตราส่วนที่เหมาะสมให้กับโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักด้วยการผสมของน้ำมันจากปลาทะเลให้เป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปูม้า *Portunus pelagicus* จะทำให้โรติเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักมีปริมาณกรดไขมันดังกล่าวเพิ่มขึ้นและสามารถส่งผ่านสารอาหารไปยังตัวอ่อน ตัวอ่อนปูม้าได้รับสารอาหารที่เหมาะสมเพียงพอ ทำให้มีอัตราการรอดและอัตราการเจริญที่สูงขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

การวางแผนการทดลอง

ทำการวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาทูน่าแบบกลั่นบริสุทธิ์ (fully refined) ที่ซื้อจากบริษัททีซี ยูเนี่ยน โอโกรเทค และน้ำมันอีพีเอยี่ห้อ Pura EPA โดยการสกัดตัวอย่างให้อยู่ในรูปของสารละลายเมทิลเอสเทอร์ ด้วยวิธีของ Lapage and Roy (1984) ด้วยสารละลาย 5% ของกรดซัลฟูริกในเมทานอลที่ผสมบิวทิลเลด ไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene (BHT)) และเติมกรดเซปตะเดคะโนอิก (heptadecanoic acid, C17:0) ในเฮกเซน นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ยี่ห้อชิมัสซี (SHIMADZU) รุ่น GC-17A+ AOC-20i ที่มี flame ionization เป็นตัวตรวจจับ โดยใช้คอลัมน์ยี่ห้อ Omegawax™ 250 Capillary Column ขนาด 30 m×0.25 mm×0.25 μm มีแก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา

อุณหภูมิของ injector เท่ากับ 250 °C และ detector เท่ากับ 260 °C โดยอุณหภูมิของคอลัมน์ถูกตั้งค่าให้เพิ่มจาก 200 °C (คงที่เป็นเวลา 10 นาที) จนกระทั่งอุณหภูมิสุดท้ายที่ 230 °C ที่อัตรา 5 °C/ นาที คำนวณปริมาณกรดไขมันดีเอชเอและกรดไขมันอีพีเอที่ใช้ทำอัตราส่วนในแต่ละชุดการทดลองโดยอ้างอิงจากกราฟผลการวิเคราะห์ข้างต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดแบบ 3×3 ปัจจัย ที่ประกอบด้วยกรดไขมันดีเอชเอ 3 ระดับ คือ 16 32 และ 48 มิลลิกรัม และกรดไขมันอีพีเอ 3 ระดับ คือ 16 32 และ 48 มิลลิกรัม ได้ชุดทดลองตามอัตราส่วนของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ และกรดไขมันอีพีเอ 9 ชุดการทดลอง (16:16 (1:1), 16:32 (1:2), 16:48 (1:3), 32:16 (2:1), 32:32 (2:2), 32:48 (2:3), 48:16 (3:1), 48:32 (3:2), และ 48:48 (3:3)) ทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ โดยทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ เพาะฟักอาร์ทีเมีย และอนุบาลตัวอ่อนปูม้า ทำการสกัดกรดไขมันจากตัวอย่างที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และทำการวิเคราะห์ชนิดองค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมัน ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

การเพิ่มกรดไขมันในโรติเฟอร์ เพื่อเป็นอาหารตัวอ่อนปูม้าระยะชูเอีย 1-ชูเอีย 3

เก็บเกี่ยวโรติเฟอร์จากบ่อเลี้ยงด้วยถุงกรองขนาดตา 69 ไมครอน จากนั้นเตรียมโรติเฟอร์ในโหลแก้วขนาด 6 ลิตร ความหนาแน่น 300 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตร 3500 มิลลิลิตร ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน พร้อมทั้งใส่ยีสต์น้ำหนักรวม 0.1 กรัม/น้ำทะเล 1 ลิตร เพื่อเป็นอาหาร (ดัดแปลงจาก Rodriguez et al., 1997) จากนั้นนำน้ำทะเลความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน

ปริมาณน้ำ 500 มิลลิลิตร และน้ำมันปลาที่ผสมในอัตราส่วนของแต่ละชุดการทดลองลงในโถปั่น ใช้ระยะเวลาปั่นชุดการทดลองละ 10 นาที ที่ความเร็วของมอเตอร์ 12,000 รอบต่อนาที เทสารละลายระหว่างน้ำมันปลากับน้ำทะเลลงในโหลแก้วบรรจุโรติเฟอร์ที่เตรียมไว้ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง จึงเก็บโรติเฟอร์ด้วยตะแกรงกรองขนาดตา 69 ไมครอน ล้างน้ำสะอาดและนำโรติเฟอร์ที่ได้ใส่ถุงซิปล็อกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเพิ่มกรดไขมันในอาร์ทีเมียเพื่อเป็นอาหารตัวอ่อนปูม้าระยะซูเอีย 4 ถึงระยะปูกระดองแรก

ฟักอาร์ทีเมียจากซีสตาร์ทีเมียกระดอง โดยใช้ น้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 30 ลิตร ให้อากาศค่อนข้างแรงตลอด 24 ชั่วโมง และเก็บเกี่ยวอาร์ทีเมียแรกฟักด้วยตะแกรงขนาดตา 100 ไมครอน จากนั้นเตรียมอาร์ทีเมียในน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ความหนาแน่น 200 ตัว/มิลลิลิตร ปริมาตรน้ำ 3,500 มิลลิลิตร ในโหลแก้วขนาด 6 ลิตร จากนั้นนำน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และน้ำมันปลาที่ผสมในอัตราส่วนของแต่ละชุดการทดลองตามที่ออกแบบข้างต้นลงในโถปั่น ใช้ระยะเวลาปั่นชุดการทดลองละ 10 นาที ที่ความเร็วของมอเตอร์ 12,000 รอบต่อนาที เทสารละลายผสมระหว่างน้ำมันปลากับน้ำทะเลลงในโหลแก้วที่เตรียมอาร์ทีเมียไว้ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง เก็บอาร์ทีเมียด้วยตะแกรงขนาดตา 100 ไมครอน นำอาร์ทีเมียที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในถุงซิปล็อก

การออกแบบการทดลอง

ปูม้า *Portunus pelagicus* ที่มีไข่นอกกระดองได้จากชาวประมงที่หาดวอนนภา ตำบลแสนสุข อำเภอเมืองจังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือน

พฤศจิกายน จำนวน 30 ตัว ถูกลำเลียงในกล่องโฟมที่มีน้ำทะเลสะอาด ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน โดยให้อากาศตลอดเวลา เมื่อถึงโรงเพาะฟัก ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร กรมประมง ตำบลโคกขาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร ทำการตัดแผ่นท้อง (abdomen) ที่มีไข่นอกกระดองใส่ในภาชนะที่มีน้ำทะเลสะอาดความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน คัดแยกไข่ที่เจริญในระยะที่แตกต่างกัน โดยดูจากสีของไข่นั่นเอง ซึ่งแสดงถึงความเจริญพันธุ์ของไข่น้อยไปมาก แยกไข่ออกจากแผ่นท้องโดยแก้วเบา ๆ ในน้ำ จากนั้นกรองสิ่งสกปรกและล้างไข่ที่ได้น้ำด้วยน้ำทะเลสะอาด 3 ครั้ง นำไข่ที่ผ่านการทำความสะอาดไปฟักในภาชนะพลาสติกขนาด 100 ลิตร พร้อมให้อากาศค่อนข้างแรงเพื่อให้ไข่กระจายในมวลน้ำอย่างทั่วถึง ใช้ระยะเวลาประมาณ 2-3 วัน ตัวอ่อนจะฟักออกจากไข่ เมื่อตัวอ่อนฟักออกจากไข่ ทำการแยกจากถังฟักโดยหยุดให้อากาศ ตัวอ่อนที่แข็งแรงจะลอยบริเวณผิวน้ำ ใช้สายยางดูดน้ำพร้อมตัวอ่อนลงสู่กะละมังที่มีน้ำทะเล เพื่อเตรียมสำหรับการทดลองหาระยะของตัวอ่อนปูม้าที่เหมาะสมสำหรับการเสริมกรดไขมัน (การทดลองที่ 1) และการทดลองหาอัตราส่วนอีพีไอต่อดีเอชไอที่เหมาะสมในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้าต่อไป (การทดลองที่ 2)

การทดลองที่ 1 เพื่อหาอัตราส่วนอีพีไอต่อดีเอชไอที่เหมาะสมในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้า โดยพิจารณาจากอัตราการรอดของตัวอ่อน ด้วยการอนุบาลในภาชนะพลาสติกสีดำขนาด 60 ลิตร ปริมาตรน้ำ 50 ลิตร ความเค็มน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ จำนวน 27 ถึง ที่ความหนาแน่น 100 ตัวต่อลิตร เปลี่ยนน้ำวันเว้นวันปริมาตร 50 เปอร์เซ็นต์ และให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้า (08.00 น.) และค่ำ (20.00 น.) เป็นโรติเฟอร์ (ระยะซูเอีย 1-2) และอาร์ทีเมียแรก

ฟัก (ระยะชูเอี้ย 3 ถึงระยะปูกระดองแรก) ที่ผ่านการเสริมกรดไขมันเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง สุ่มวัดอัตรารอดของตัวอ่อน บันทึกข้อมูลทุกวัน

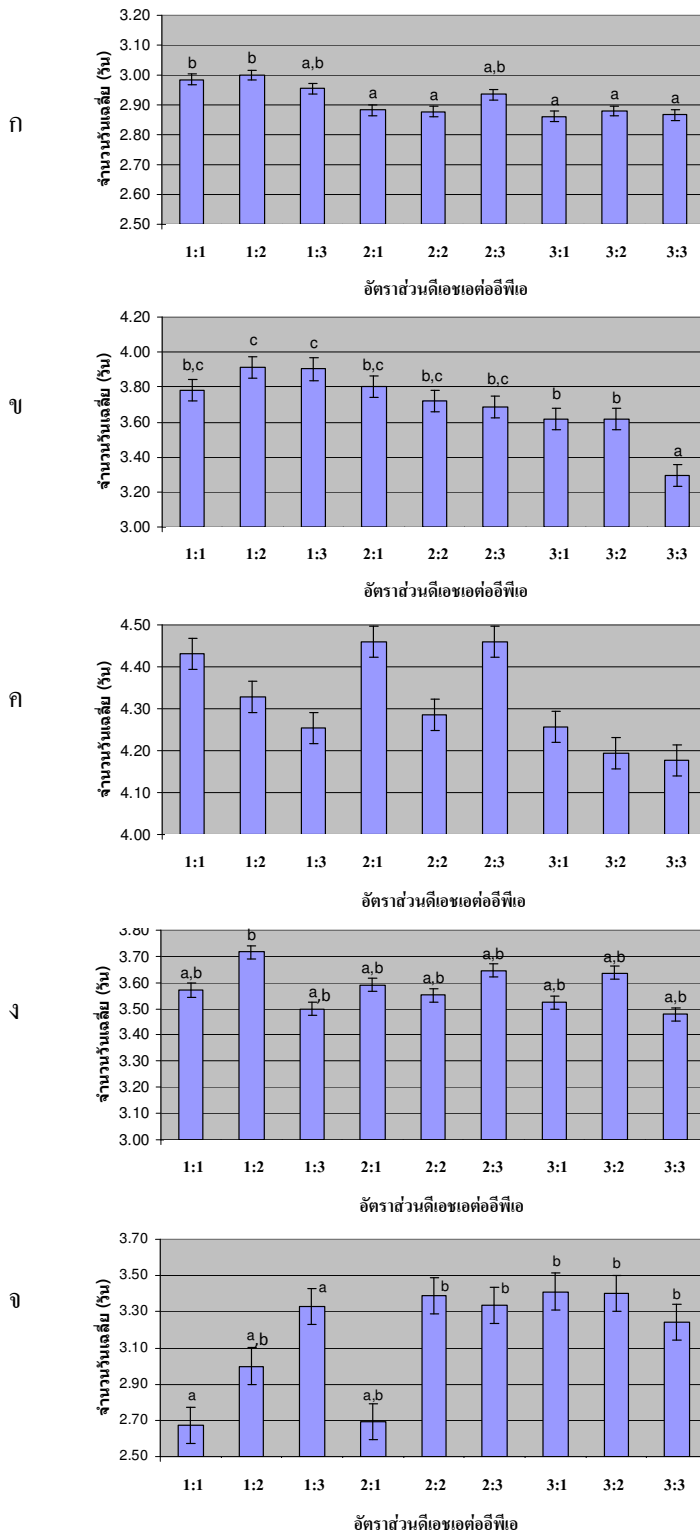
การทดลองที่ 2 เพื่อหาอัตราส่วนอีพีเอต่อดีเอชเอที่เหมาะสมในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้า โดยพิจารณาจากระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการเข้าสู่ระยะต่อไป ทำการอนุบาลตัวอ่อนในภาชนะพลาสติกขนาด 15 มิลลิลิตร ภาชนะละ 1 ตัว ชุดการทดลองละ 30 ภาชนะ ความเค็มน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน ในระยะชูเอี้ย 1-2 ให้โรติเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นอาหาร ส่วนในระยะชูเอี้ย 3 ถึงระยะปูกระดองแรก (first crab) ให้อาร์ทีเมียแรกฟักที่ผ่านการเพิ่มกรดไขมันระยะเวลา 12 ชั่วโมงเป็นอาหาร เปลี่ยนน้ำทุกวันด้วยการใช้ฟาสเจอร์ ปีเปตดูดตัวอ่อนปูลงสู่ภาชนะพลาสติกที่มีน้ำใหม่และให้อาหารโดยใช้ฟาสเจอร์ปีเปตวันละ 1 ครั้ง บันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงระยะของตัวอ่อนทุกวัน

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ ด้วยวิธีการวิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง means ของชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่นัยสำคัญที่ 95%

ผลการทดลอง

การทดลองเพื่อหาอัตราส่วนอีพีเอต่อดีเอชเอที่เหมาะสมในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้า โดยพิจารณาจากอัตรารอดของตัวอ่อน ผลการทดลองอนุบาลตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะชูเอี้ย 1 ถึงระยะปูกระดองแรก พบว่า ลูกปูที่ให้อาหารเป็นโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียแรกฟักในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอ ต่ออีพีเอ 2:2 มีเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกปู (24.44 ± 5.56 %) เท่ากับลูกปูในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอ 3:2 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอด 24.44 ± 8.89 % (รูปที่ 2) จากการทดสอบทางสถิติพบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกปูตั้งแต่ระยะชูเอี้ย 1 ถึงระยะปูกระดองแรก ในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อทำการทดสอบระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดในแต่ละช่วงระยะการพัฒนารูปของลูกปูกับชุดการทดลองพบว่าระยะชูเอี้ย 3 ระยะชูเอี้ย 4 และระยะเมกาโลปาเท่านั้น ที่เปอร์เซ็นต์การรอดในแต่ละระยะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดการทดลอง



รูปที่ 1 กราฟจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกปูใช้พัฒนาการในระยะชูเอีย 1 (ก), ระยะชูเอีย 2 (ข), ระยะชูเอีย 3 (ค), ระยะชูเอีย 4 (ง) และระยะเมกาโลปาก่อนพัฒนาเข้าสู่ระยะปูกระดองแรก (จ) อักษรแสดงเหนือกราฟแท่งที่เหมือนกันแสดงค่าที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

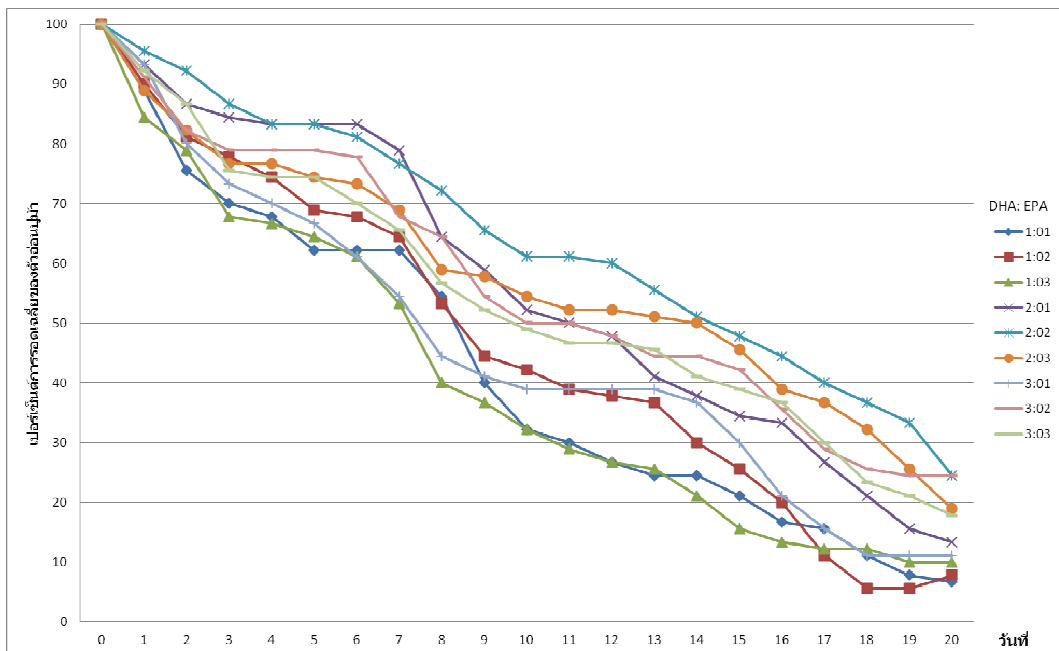
การทดลองที่ 2 เพื่อหาอัตราส่วนอีพีเอต่ออีเอชเอที่เหมาะสมในการอนุบาลตัวอ่อนปูม้า โดยพิจารณาจากระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการเข้าสู่ระยะต่อไป

ข้อมูลการติดตามการเติบโตของตัวอ่อนปูด้วยการจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงระยะ พบว่าจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะชูเอีย 1 เท่ากับ 2.86 ± 0.01 วัน ในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:1 (รูปที่ 1 ก) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 1:1 และ 1:2 เท่านั้น

ส่วนในระยะชูเอีย 2 (รูปที่ 1 ข) พบว่า ชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 มีจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะนี้ (3.30 ± 0.14 วัน) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอช

เอต่ออีพีเอเท่ากับ 1:2 1:3 3:1 และ 3:2 ส่วนในระยะชูเอีย 3 (รูปที่ 1 ค) จำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะนี้เท่ากับ 4.18 ± 0.03 วัน ในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 ส่วนระยะชูเอีย 4 (รูปที่ 1 ง) พบว่าชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 มีจำนวนวันเฉลี่ยน้อยที่สุดที่ตัวอ่อนดำรงชีวิตอยู่ในระยะนี้ (3.48 ± 0.04 วัน) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองกับชุดทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 1:2 เท่านั้น และในระยะเมกาโลปาช่วงเวลาที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะนี้น้อยที่สุด (2.67 ± 0.89 วัน) ในชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 1:1 (รูปที่ 1 จ) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 1:3 2:2 2:3 3:1 3:2 และ 3:3



รูปที่ 2 กราฟเปอร์เซ็นต์รอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูม้าตั้งแต่ระยะชูเอีย 1 ถึงระยะปูกระดองแรก เป็นเวลา 20 วัน

อภิปรายผลการทดลอง

ผลการอนุบาลลูกปูเพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดตาย พบว่าเปอร์เซ็นต์รอดเฉลี่ยของตัวอ่อนปูมีแนวโน้มลดลงในทุกชุดการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า เปอร์เซ็นต์รอดเฉลี่ยของลูกปูม้าตั้งแต่ระยะชูเอี้ยง 1 ถึงระยะปูกระดองแรก ชุดการทดลองทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ในระยะการพัฒนาระยะชูเอี้ยง 1 และระยะชูเอี้ยง 3 ไม่พบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง อาจเนื่องมาจากในช่วงชีวิตระยะแรกของตัวอ่อนยังใช้พลังงานจากสารอาหารที่มีการสะสมในไข่ก่อนฟัก เห็นได้จากองค์ประกอบกรดไขมันไขในปูและปูวัยอ่อนระยะต่าง ๆ ที่สุพิศ และคณะ (2548) ศึกษาและพบว่าปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (20:5n-3) ในตัวอ่อนปูม้าแรกฟักนั้นมีค่าสูง 14.19 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันรวมสูงกว่าปริมาณในไขปูก่อนฟัก 9.38 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันรวม ในขณะที่กรดไขมันดีเอชเอ (C22:6n-3) มีค่า 10.07 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันรวม และในไขปูก่อนฟัก 10.82 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันรวม เมื่อลูกปูพัฒนาเข้าสู่ระยะที่สูงขึ้น จะใช้สารอาหารที่สะสมหมดไปจึงพบว่า อัตรารอดเฉลี่ยในระยะชูเอี้ยง 3 ระยะชูเอี้ยง 4 และระยะเมกาโลปา จึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง เนื่องจากอิทธิพลของกรดไขมันจากอาหารที่ได้รับ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบอัตราการรอดเฉลี่ยดีที่สุดเมื่อเลี้ยงลูกปูด้วยโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียที่เสริมกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอ 2:2 (24.44+5.56 %) และ 3:2 (24.44+8.89 %) อัตราการตายในลูกปูที่เลี้ยงด้วยโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียที่เสริมกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอ 2:2 มีค่า 3.55% ต่อวัน เป็นค่าที่ต่ำที่สุดในทุกชุดการทดลอง แสดงว่ากรดไขมันที่เหมาะสมที่ใช้ในการ

เสริมโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียควรอยู่ในระดับดีเอชเอต่ออีพีเอ 32 มิลลิกรัม: 32 มิลลิกรัมระดับของกรดไขมันที่ทำให้ลูกปูม้ามีอัตราการรอดสูงสุด Takeuchi et al. (1999) ทดลองระดับของกรดไขมันดีเอชเอ 38 มิลลิกรัม เลี้ยงตัวอ่อนปู *Portunus trituberculatus* พบว่ามีการเจริญเติบโตความกว้างของกระดองมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดเฉลี่ยของลูกปูม้าในการทดลองของวารินทร์ และคณะ (2548) ที่อนุบาลตัวอ่อนปูม้าระยะชูเอี้ยง 1 ถึงระยะชูเอี้ยง 4 ด้วยการให้คีโตเซอโรสและโรติเฟอร์ 3 วัน ก่อนให้อาร์ทีเมียแรกฟักและคีโตเซอโรส พบว่ามีอัตราการรอดตายเฉลี่ย 37.78 ± 2.92 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากกว่าการศึกษานี้ซึ่งมีการให้อาหารเพียง 1 ครั้งต่อวัน และเลี้ยงแบบแยกเดี่ยวเพื่อลดปัจจัยการกินกันเอง การทดลองของวารินทร์ และคณะ (2548) ให้อาหาร 5 ครั้งต่อวัน และเลี้ยงแบบหมวลในบ่อขนาด 2 ตัน

เวลาระหว่างการลอกคราบของตัวอ่อนปูระยะชูเอี้ยง 2 3 และ 4 พบว่าอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 (48 มิลลิกรัมต่อ 48 มิลลิกรัม) มีค่าน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนปูมีความต้องการกรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอในสัดส่วนที่สูงเพื่อการพัฒนาของระยะชูเอี้ยง Levine and Sulkin (1984) รายงานว่า ความสามารถในการเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายสั้น (18:3n-3) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (20:5n-3) ของตัวอ่อนปูมีจำกัด การพัฒนาตัวอ่อนในระยะชูเอี้ยงจึงต้องการกรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอสูง ดังนั้นการเพิ่มกรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอในอาหารสำหรับเลี้ยงตัวอ่อนจึงทำให้ลูกปูมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

โรติเฟอร์เป็นอาหารแรกมีชีวิตชนิดแรกที่ทำให้แก่สัตว์น้ำวัยอ่อนเนื่องจากมีขนาดเล็กประมาณ 200 ไมครอน แต่การให้โรติเฟอร์เป็นอาหารแก่ตัวอ่อนปู

เพียงอย่างเดียวตลอดระยะเวลาที่เลี้ยงไม่สามารถทำให้ปู *Callinectes sapidus* (Sulkin, 1978) และปู *Scylla tranquebarica* (Baylon, 2009) ลอกคราบเข้าสู่ระยะเมกาโลปาได้ ต้องมีการเพิ่มชนิดของอาหารให้เหมาะสม การเพิ่ม อาร์ทีเมียแรกฟักอาจเป็นวิธีการหนึ่ง แต่ Ruscoe et al. (2004) พบว่าการให้อาร์ทีเมียแรกฟักเพียงอย่างเดียวลูกปูจะใช้เวลาในการลอกคราบสู่ระยะเมกาโลปานานขึ้นและมีอัตราการตายมากขึ้น การให้โรติเฟอร์เป็นอาหารเพียงอย่างเดียวในระยะซูเอีย 1 จะให้อัตรารอดดีกว่าการให้ร่วมกับอาร์ทีเมีย ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Baylon (2009) ที่พบว่าการให้อาหารผสมระหว่างโรติเฟอร์และตัวอ่อนอาร์ทีเมียแก่ลูกปู *Scylla tranquebarica* ระยะซูเอีย 1 ถึงระยะซูเอีย 3 และให้ตัวอ่อนอาร์ทีเมียตั้งแต่วัยซูเอีย 4 จะทำให้ลูกปูมีอัตราการรอดสูงสุด มีการพัฒนาการเร็วขึ้นและสามารถพัฒนาจนถึงระยะเมกาโลปาได้ดีที่สุด

งานวิจัยหลายชิ้นพบว่าปริมาณสารอาหารของโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียในธรรมชาตินั้นไม่เพียงพอต่อความต้องการกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของตัวอ่อนปู (Suprayudi et al., 2002; Takeuchi et al., 1999; Hamasaki et al., 2002) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย (Coutteau and Sorgeloos, 1997) แต่การเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียนั้นสามารถทำได้หลายวิธี การวิจัยครั้งนี้เลือกการเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียในระยะเวลา 12 ชั่วโมง และมีการให้สารอย่างต่อเนื่อง จึงมั่นใจได้ว่าองค์ประกอบของสารอาหารในตัวโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียมีความสม่ำเสมอ โรติเฟอร์ที่ผ่านการเพิ่มสารอาหารแบบที่ดำเนินการทดลองนี้มีความเสถียรของ

สารอาหารภายในตัวมากกว่าและมีการสูญเสียของสารอาหารภายในตัวต่ำกว่า (Dhert et al., 2001)

สรุปผลการวิจัย

ชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 2:2 ซึ่งมีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ 32 มิลลิกรัม และกรดไขมันอีพีเอ 32 มิลลิกรัม ให้อัตรารอดเฉลี่ยดีที่สุดและให้อัตราการตายต่อวันน้อยที่สุดเท่ากับ 24.44 ± 5.56 เปอร์เซ็นต์ และ 3.55 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ แต่ชุดการทดลองที่ให้ระยะเวลาระหว่างการลอกคราบของตัวอ่อนปูหรือระยะเวลาที่ตัวอ่อนอยู่ในระยะซูเอีย 2 3 และ 4 น้อยที่สุด คือชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนกรดไขมันดีเอชเอต่ออีพีเอเท่ากับ 3:3 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ 48 มิลลิกรัม และกรดไขมันอีพีเอ 48 มิลลิกรัม แสดงว่ากรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอ มีความสำคัญต่อตัวอ่อนปูม้าเท่า ๆ กัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญ พระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. (2550). กรุงเทพฯ: กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ สถิติการประมง ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง.
- วารินทร์ ธนาสมหวัง ภมรพรรณ ฉัตรภูมิ ส่งา สิงห์หงษ์ ศิริภรณ์ โคตะมี และ พรทิพย์ ทองบ่อ. (2548). "การอนุบาลลูกปูม้า," ใน รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการผลิตพันธุ์และการเลี้ยงปูม้า (*Portunus*

- pelagicus* Linnaeus, 1758) เจริญพาณิชย์. กรุงเทพฯ. หน้า 111-193.
- สุพิศ ทองรอด วารินทร์ ธนาสมหวัง มณฑกานติ ท้ามดีน จีร์รัตน์ เกื้อแก้ว และ สิริพร ลือชัย ชัยกุล. การผลิตอาหารสำเร็จสำหรับการเลี้ยงปูม้า, ใน รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ การผลิตพันธุ์และการเลี้ยงปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) เจริญพาณิชย์. กรุงเทพฯ. หน้า 278-283.
- 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.
- 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.
- 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.
- Hamasaki, K., Suprayudi, M.A. and Takeuchi, T. (2002). Effect of dietary n₃HUFA 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.
- Lapage, G and Roy, C.C. (1984). Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid Research* 25: 1391-1396.
- 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.
- 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.
- Rodriguez, C., Perez, J.A., Diaz, M., Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios, H., Lorenzo, A. (1997). Influence of the EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture* 150: 77-89.
- 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^o) larval rearing. *Aquaculture* 231: 517-527.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. (2001). Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200: 147-159.
- 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.

- 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.
- Watanabe, T. and Kiron, Y. (1994). Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124: 223-251.

