



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการเติบโตและการกินอาหารของตัวอ่อนของหอยเป๋าฮื้อ
**Monitoring on settlement growth and food consumption of
donkey's ear abalone *Haliotis asinina*
from settling larvae to post larvae**

โดย นางสาวณิชา ประดิษฐ์ทรัพย์ และคณะ

31 พฤษภาคม พ.ศ. 2551

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการเติบโตและการกินอาหารของตัวอ่อนของหอยเป่าฮื้อ
Monitoring on settlement growth and food consumption of donkey's
ear abalone *Haliotis asinina* from settling larvae to post larvae

คณะผู้วิจัย

1. นางสาวณิชา ประดิษฐ์ทรัพย์
2. นางสาวชลรดา ทรงรูป

สังกัด

สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชุดโครงการหอยเป่าฮื้อ

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยนี้จะไม่สำเร็จลงได้หากไม่ได้รับความสนับสนุนจากหน่วยงานและบุคคลจำนวนมาก ซึ่งก่อนอื่นผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ความสนับสนุนงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. ดร. เติมศักดิ์ จารยะพันธุ์ และ รศ. ดร. อัจฉรา ภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ขอขอบคุณ ดร.พอจำ อรรถยกานนท์ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะ ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮือไทยในการอนุเคราะห์ลูกหอยเป่าฮือระยะวัยน้ำที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภายในสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำและสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชังในการอำนวยความสะดวกต่างๆ

คณะผู้วิจัย

Executive Summary

Abalone (*Haliotis* sp.) is one of the high value market species. Abalone could be found in many countries of the world, including Thailand. Three species of abalone, *H. asinina*, *H. varia* and *H. ovina* were commonly found. Among 3 species, *H. asinina* (donkey's ear abalone) has the highest potential to be developed in commercial scale because of the fast growing and the high ratio of meat to shell weight. Preceding, Thai abalones have been studied in many fields such as developing aquaculture techniques, heredity improvement, developing the suitable diet (both natural and artificial diet) and larval settlement.

Although, the *H. asinina* could be reared in captivity but the early life stage of *H. asinina* still have little information, especially during the period of settling larvae to post larvae. The improvement of larval settlement is quite important because of its impact on the seed production. The availability of benthic diatoms is one of many factors, which affected the larval settlement and growth. Thus, the monitoring on settlement rate and the potential of inducing by varying the starting benthic diatom species, (*Nitzschia*, *Navicula* and *Amphora*) and observing the growth and food consumption of donkey's ear abalone *H. asinina* should be studied.

From this study, found that *H. asinina* larvae has highest settlement rate on *Nitzschia*, followed by *Amphora* and *Navicula*, respectively. The settlement rate depended on temperature and salinity. If the experimental periods was conducted during low temperature or low salinity, the settlement rate of *H. asinina* was quite low. Growth of abalone larvae were investigated from the period of settlement between 3 – 8 weeks by plate sampling. Completely settled larvae were measured under microscope with calibrated scale during 6 – 8 weeks after settlement. The result showed that growth in each starting benthic diatoms trials were not different.

From the observation of benthic diatoms succession during week 3-8 after stocking of abalone larvae, 26 genera of diatom were found as following: *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Bellerochea*, *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Entomoneis*, *Licmophora*, *Lyrella*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Paralia*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Pseudonitzschia*, *Rhizosolenia*, *Surirella*, *Thalassionema*, *Thalassiosira* and *Triceratium* and 2 Cyanabacteria (*Oscillatoria* and *Planktolyngbya*). The benthic diatoms succession varied in each experiment and time period. *Asterionella* and *Cocconeis* were dominant and well established on plates. Moreover, frequently found 11 genera of microalgae were *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella*, *Oscillartoria*, and *Pleurosigma/Gyrosigma*.

Three benthic diatoms as *Navicula*, *Nitzschia* and *Amphora* were determined from stomach content and frequently found as well as on plate. Conclusively, single cell diatoms especially with *Navicula*, *Nitzschia* and *Amphora* may be suitable and preferred by abalone post-larvae rather than colonial large-size diatoms as *Asterionella* and *Bacillaria*.

รหัสโครงการ: RDG4920046

ชื่อโครงการ: โครงการการเติบโตและการกินอาหารของตัวอ่อนของหอยเป่าฮื้อ

ชื่อนักวิจัย: นิชยา ประดิษฐ์ทรัพย์¹, ชลธยา ทรงรูป²

¹สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

email address: nichaya.p@chula.ac.th, nichaya_p@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : กันยายน 2549 – พฤษภาคม 2551

จากการศึกษาติดตามการตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อ *Haliotis asinina* โดยเปรียบเทียบระหว่างแผ่นอาหารที่มีเบเนทิกไดอะตอมตั้งต้น 3 ชนิด คือ *Nitzschia*, *Amphora* และ *Navicula* พบว่าลูกหอยเป่าฮื้อมีเปอร์เซ็นต์การลงเกาะมากที่สุดบนแผ่นอาหารที่เริ่มต้นเคลือบด้วย *Nitzschia* ($5.9 \pm 6.7\%$) รองลงมาคือ *Amphora* ($3.4 \pm 2.3\%$) และ *Navicula* ($1.02 \pm 0.6\%$) ตามลำดับ โดยเมื่อศึกษาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป่าฮื้อช่วงอายุระหว่าง 3-8 สัปดาห์ที่ล่อให้ลงเกาะด้วย *Nitzschia* พบเบเนทิกไดอะตอมรวม 7 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Campyrodiscus*, *Navicula*, *Nitzschia* และ *Licmophora* นอกจากนี้ยังพบไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุล คือ *Oscillatoria* จากเบเนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นอาหารทั้งหมด 20 สกุล บนแผ่นอาหารที่เริ่มต้นเคลือบด้วย *Amphora* พบเบเนทิกไดอะตอมในกระเพาะอาหารลูกหอย 7 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* จากเบเนทิกไดอะตอมบนแผ่นอาหาร 14 สกุล และพบเบเนทิกไดอะตอมในกระเพาะอาหารในลูกหอยที่ล่อให้ลงเกาะด้วย *Navicula* 3 สกุล คือ *Amphora*, *Navicula* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* จากเบเนทิกไดอะตอมบนแผ่นอาหาร 16 สกุล ทั้งนี้ในแต่ละการทดลองสกุลที่มีความถี่ของการพบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อคือ *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* ซึ่งเป็นเบเนทิกไดอะตอมกลุ่มเด่นที่พบบนแผ่นอาหารลูกหอยแต่กลับไม่พบ *Asterionella* และพบ *Bacillaria* ในกระเพาะอาหารลูกหอยได้ในบางช่วงเท่านั้นถึงแม้ว่าจะเป็นเบเนทิกไดอะตอมชนิดเด่นบนแผ่นเพลทเช่นเดียวกัน อาจเนื่องมาจาก *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นไดอะตอมเซลล์เดี่ยว ทำให้ลูกหอยสามารถครูดกินเข้าสู่ช่องปากได้รวมทั้งลูกหอยสามารถย่อยได้ง่ายกว่าเบเนทิกไดอะตอมสกุลอื่น ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่าอัตราการเติบโตของลูกหอยเป่าฮื้อบนแผ่นเพลทเบเนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆ จากสัปดาห์ที่ 4 ถึง 8 หลังให้ลูกหอยลงเกาะไม่แตกต่างกัน

คำหลัก: ลูกหอยวัยอ่อน, หอยเป่าฮื้อไทย, เบเนทิกไดอะตอม, องค์ประกอบในกระเพาะอาหาร

Project Code: RDG4920046

Project Title: Monitoring on settlement growth and food consumption of donkey's ear abalone *Haliotis asinina* from settling larvae to post larvae

Investigators: Praditsup N.¹, Song-roop C.²

¹Aquatic Resource Research Institute, Chulalongkorn University,

²Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

email address: nichaya.p@chula.ac.th, nichaya_p@yahoo.com

Project Duration: September 2006 – May 2008

The study of monitoring the response on settlement of donkey's ear abalone, *Haliotis asinina*, larva was conducted by comparing the results from food plates inoculated with 3 different benthic diatoms, *Nitzschia*, *Amphora*, and *Navicula*. The highest settlement rate of abalone larvae was found on food plates inoculated with *Nitzschia* ($5.9 \pm 6.7\%$), followed by those of *Amphora* ($3.4 \pm 2.3\%$) and *Navicula* ($1.02 \pm 0.6\%$) respectively. The examination of stomach content of 3-8 weeks old abalone settled on *Nitzschia*-inoculated plates revealed that only 7 genera of benthic diatom namely *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Campyrodiscus*, *Navicula*, *Nitzschia*, and *Licmophora* and one genus of cyanobacteria, *Oscillatoria*, were found from 20 genera found on the food plates. On the *Amphora*-inoculated plates, 7 genera of benthic diatom namely *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella* and *Pleurosigma/Gyrosigma* were found from 14 genera found on the food plates. Only 3 genera of benthic diatom namely *Amphora*, *Navicula* and *Pleurosigma/Gyrosigma* were found from 16 genera found on the *Navicula*-inoculated plates. In each trial, the frequently-found benthic diatom genera in the abalone stomach were *Navicula*, *Nitzschia* and *Amphora* which were the dominant groups on the food plates. *Asterionella* was not found in the stomach of the examined-abalone and *Bacillaria* could be found during a certain period although it was the dominant group on the food plates. The explanation could be that *Navicula*, *Nitzschia* and *Amphora* are single-cell diatoms which enabled the abalone to graze and digest more easily than other genera of benthic diatoms. The result of the study also showed that growth rates of abalone found on plates inoculated with different benthic diatoms during 4-8 weeks after settlement were not significantly different.

Keywords: Post-larvae, Donkey's ear Abalone, Benthic Diatoms, Stomach Content

สารบัญ

รายละเอียด	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	
Executive Summary	
บทคัดย่อ	
บทนำ	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	2
การทบทวนเอกสารและงานวิจัย	3
วิธีดำเนินการศึกษา	8
ผลการศึกษา	19
วิจารณ์ผลการทดลอง	51
สรุปผลการศึกษา	55
เอกสารอ้างอิง	58
ภาคผนวก	62

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การตอบสนองในการลงเกาะ การเจริญเติบโต อัตรารอด และประสิทธิภาพการย่อยของลูกหอยเป่าฮื้อต่อเบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆ	6
2	การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช Guillard's F/2	10
3	การเตรียมอาหารเลี้ยงไดอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ	11
4	สภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ	11
5	สูตรอาหารดัดแปลง Guillard's F/2 ที่ใช้เพาะเลี้ยงไดอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ	12
6	ค่าคุณภาพน้ำทะเลเปรียบเทียบระหว่างบ่อดลองที่มีเพลงทอาหารเคลื่อนด้วย <i>Nitzschia</i> sp. และ บ่อดลองที่มีเพลงทอาหารเคลื่อนด้วยเบนทิกไดอะตอมจากธรรมชาติ	32
7	ค่าคุณภาพน้ำทะเลเปรียบเทียบระหว่างบ่อดลองที่มีเพลงทอาหารเคลื่อนด้วย <i>Nitzschia</i> sp., <i>Amphora</i> sp. และ <i>Navicula</i> sp.	33
8	การทดลองการตอบสนองในการลงเกาะและการเติบโตของลูกหอยเป่าฮื้อบนเบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆ	34
9	สาหร่ายขนาดเล็กที่เติบโตบนแผ่นเพลทสำหรับให้ลูกหอยเป่าฮื้อลงเกาะ	35
10	องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อที่เริ่มต้นด้วยเบนทิกไดอะตอมธรรมชาติ (n=25)	48
11	องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อที่เริ่มต้นด้วย <i>Nitzschia closterium</i> (n=25)	49
12	องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อที่เริ่มต้นด้วย <i>Amphora costata</i> (n=30)	50
13	องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อที่เริ่มต้นด้วย <i>Navicula</i> sp. (n=30)	50
14	เบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทและในกระเพาะอาหารลูกหอยเป่าฮื้อ	53
15	ประสิทธิภาพการย่อยของลูกหอยเป่าฮื้อต่อเบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆ	54

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	หอยเป้าฮื้อไทยชนิด <i>Haliotis asinina</i> (Donkey's ear abalone)	3
2	เบนทิกไดอะตอมที่ใช้ในการศึกษา <i>Amphora costata</i> (ก), <i>Navicula</i> sp. (ข) และ <i>Nitzschia closterium</i> (ค)	9
3	เพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมชนิด <i>Nitzschia</i> sp. แล้ว	13
4	ระบบบ่อจำลองที่ใช้ในการศึกษา	14
5	อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป้าฮื้อ	15
6	ลูกหอยที่ถูกแยกเปลือกและส่วนอวัยวะภายใน	16
7	กระเพาะอาหารถูกตัดแยกออกจากส่วนลำตัว	16
8	ลูกหอยเป้าฮื้อ <i>H. asinina</i> ระยะวัยน้ำ (Veliger)	19
9	แสดงเปอร์เซ็นต์การลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมต่างชนิดกัน	20
10	หอยเป้าฮื้อ <i>H. asinina</i> อายุ 4 สัปดาห์ที่เกาะอยู่บนเพลททดลอง	21
11	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป้าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย <i>Nitzschia</i> sp. กับ อุณหภูมิ	22
12	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป้าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย <i>Nitzschia</i> sp. กับ ความเค็ม	23
13	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป้าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย <i>Amphora</i> sp. กับ อุณหภูมิ	24
14	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป้าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย <i>Amphora</i> sp. กับ ความเค็ม	25
15	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป้าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย <i>Navicula</i> sp. กับ อุณหภูมิ	26
16	ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป้าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย <i>Navicula</i> sp. กับ ความเค็ม	27
17	ความยาวเปลือกของลูกหอยเป้าฮื้อ <i>H. asinina</i> ที่เลี้ยงอยู่บนเพลทอาหารชนิด <i>Nitzschia</i> sp., <i>Amphora</i> sp. และ <i>Navicula</i> sp.	29
18	ความยาวเปลือกของลูกหอยเป้าฮื้อ <i>H. asinina</i> ที่เลี้ยงอยู่บนเพลทอาหารชนิด <i>Nitzschia</i> sp. และ เพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมจากน้ำทะเลธรรมชาติ	30

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
19	เบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท ชนิด (ก-ข) <i>Amphora costata</i> , (ค) <i>Amphora robusta</i> , (ง) <i>Campyrodiscus</i> sp. (จ-ฉ) <i>Cocconeis</i> sp.	36
20	เบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท ชนิด (ซ-ช) <i>Navicula</i> sp., (ฌ) <i>Campyrodiscus</i> sp., (ญ) <i>Entomoneis</i> sp., (ฎ) <i>Asterionella</i> sp., (ฏ) <i>Pleurosigma/Gyrosigma</i> sp.	37
21	เบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท ชนิด (ถ) <i>Bacillaria</i> sp., (ท) <i>Diatoma</i> sp., (ธ) <i>Achananthes</i> sp., (ณ) <i>Paralia</i> sp.	38
22	การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนทิกไดอะตอมที่ได้จากธรรมชาติ	39
23	การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนทิกไดอะตอมที่เริ่มต้นด้วย <i>Nitzschia</i> <i>closterium</i>	41
24	การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนทิกไดอะตอมที่เริ่มต้นด้วย <i>Amphora</i> <i>costata</i>	43
25	การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนทิกไดอะตอมที่เริ่มต้นด้วย <i>Navicula</i> sp. เดือนกันยายน - พฤศจิกายน 2550	44
26	ลักษณะเปลือกของลูกหอยเป่าฮือบนแผ่นเพลทเบนทิกไดอะตอม (ก) ลักษณะเปลือกลูกหอยเมื่อลงเกาะได้ 4-5 สัปดาห์ (ข) ลักษณะเปลือก ลูกหอยเมื่อลงเกาะได้ 8 สัปดาห์	46
27	เบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮือ	47

บทนำ

หอยเป่าฮื้อหรือหอยร้อยรู (Abalone) ถือว่าเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เพราะมีมูลค่าสูง และได้รับความนิยมในการบริโภคทั้งในประเทศญี่ปุ่น จีน สหรัฐอเมริกา รวมทั้งประเทศในแถบทวีปยุโรป นอกจากนี้เนื้อที่นำมาบริโภคแล้วเปลือกยังสามารถนำมาทำเป็นเครื่องประดับแบบต่างๆ และใช้ประดับบนเครื่องใช้ได้อีกด้วย ในประเทศไทยพบหอยเป่าฮื้อหลายชนิดทั้งทางฝั่งทะเลอันดามัน และฝั่งอ่าวไทย ได้แก่ *Haliotis asinina*, *H. varia* และ *H. ovina* ด้วยความนิยมในการบริโภคหอยเป่าฮื้อที่มีอย่างแพร่หลายทำให้จำนวนหอยเป่าฮื้อในธรรมชาติลดลง จึงจำเป็นที่จะต้องมีการเพาะเลี้ยงเพื่อทดแทนหอยเป่าฮื้อที่จับจากธรรมชาติ

สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อชนิดพันธุ์ *H. asinina* และ *H. ovina* มีการศึกษามาอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาหลายปี โดยเฉพาะ *H. asinina* นั้นเป็นชนิดที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ทั้งนี้การศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในระบบการเลี้ยงหอยเป่าฮื้อขนาดเล็ก การอนุบาลลูกหอยเป่าฮื้อในห้องปฏิบัติการ การศึกษาเชิงลึกด้านพัฒนาการของตัวอ่อน ระบบการสืบพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ ส่วนข้อมูลที่ยังมีอยู่น้อยมากคือการศึกษาเกี่ยวกับการอนุบาลหอยเป่าฮื้อวัยอ่อนตั้งแต่ระยะลงเกาะจนถึงอายุ 2 เดือน

ในการเพาะเลี้ยงหรือผลิตลูกพันธุ์หอยเป่าฮื้อสำหรับการทำฟาร์มเชิงพาณิชย์ ช่วงเวลาที่ลูกหอยลงเกาะและเจริญเติบโตอยู่บนแผ่นฟิล์มเบนทิกไดอะตอมเป็นช่วงเวลาสำคัญที่ส่งผลต่ออัตราการรอดหรือผลผลิตของลูกพันธุ์หอยเป่าฮื้อ เพราะลูกหอยเป่าฮื้อในช่วงนี้มีความอ่อนแอต่อปัจจัยแวดล้อมที่เกิดขึ้นในบ่ออนุบาลเป็นอย่างมาก ทั้งนี้จากรายงานเกี่ยวกับการตอบสนองในการลงเกาะและพัฒนาการของลูกหอยเป่าฮื้อ รวมทั้งอัตราการรอดของลูกหอยเป่าฮื้อในช่วงดังกล่าวยังคงอยู่ในระดับต่ำ และส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการและทำในหอยเป่าฮื้อชนิดที่อาศัยอยู่ในเขตบ่ออนุบาลมากกว่าชนิดที่อาศัยอยู่ในเขตร้อนชื้น จากการดำเนินงานผลิตลูกพันธุ์หอยเป่าฮื้อในระบบการทำฟาร์มบนบกเชิงพาณิชย์ของหน่วยปฏิบัติการวิจัยการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อไทย สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ ที่ดำเนินการอยู่ ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี พบว่าอัตราการรอดของลูกหอยเป่าฮื้อตั้งแต่ระยะลงเกาะจนถึงอายุ 2-3 เดือน ยังอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ ซึ่งจากการสังเกตและตรวจวัดปัจจัยสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแอมโมเนีย ในบ่ออนุบาลลูกหอยระยะลงเกาะพบว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ยกเว้นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์มเบนทิกไดอะตอม (*Nitzschia* sp.) ที่ให้ลูกหอยเป่าฮื้อลงเกาะ ดังนั้นหากมีการศึกษาติดตามการลงเกาะ การเติบโต และการกินอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อตั้งแต่ระยะลงเกาะจนถึงอายุ 2-3 เดือน จะทำให้ทราบว่าลูกหอยเป่าฮื้ออายุระหว่างลงเกาะจนถึง 2-3 เดือนสามารถกินเบนทิกไดอะตอมหรือสาหร่ายอื่นที่มาเกาะบนพลาสติกชนิดใดได้บ้าง และให้ผลการเติบโตเป็นอย่างไร เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงระบบการผลิตลูกพันธุ์หอยเป่าฮื้อให้มีอัตราการรอดของลูกหอยอายุ 2-3 เดือนเพิ่มสูงขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการ

ศึกษาและติดตามการตอบสนองในการลงเกาะบนเบนทิกไดอะตอม 3 ชนิด ได้แก่ *Nitzschia*, *Navicula* และ *Amphora* ในด้านการเจริญเติบโต การกินอาหาร และอัตราการรอดของลูกหอยเป่าฮื้อ เป็นระยะเวลา 2 เดือน

การทบทวนเอกสารและงานวิจัย

หอยเป้าฮื้อ (Abalone) หรือ มีอีกชื่อหนึ่งว่าหอยร้อยรู เป็นหอยฝาเดียว ถูกจัดอยู่ใน Phylum Mollusca, Order Archaeogastropoda, Class Gastropoda, Family Haliotidae, Genus Haliotis หอยเป้าฮื้อจัดเป็นสัตว์น้ำอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นสัตว์น้ำที่นิยมบริโภครสชาติดี เป็นที่ต้องการของตลาด มีราคาสูง ในขณะที่จำนวนหอยเป้าฮื้อในธรรมชาติมีจำนวนน้อยลง ดังนั้นจึงมีภาคีศึกษาด้านต่างๆของหอยชนิดนี้ได้แก่ การเพาะและการเลี้ยง การพัฒนาอาหารสำเร็จรูป การปรับปรุงพันธุ์ เป็นต้น เพื่อเพิ่มผลผลิตของสัตว์น้ำชนิดนี้ ซึ่งมีการศึกษาอย่างแพร่หลายทั้งในหอยเป้าฮื้อเขตอบอุ่นและในเขตร้อน

ในประเทศไทยนั้นพบหอยเป้าฮื้อ 3 ชนิด คือ ชนิด *Haliotis asinina*, *H. varia* และ *H. ovina* พบอาศัยอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงตั้งแต่ความลึก 1-7 เมตร ในหอยเป้าฮื้อชนิด *H. asinina* และ *H. ovina* นั้นสามารถพบได้ทั้งในฝั่งอันดามันและอ่าวไทยส่วนชนิด *H. varia* สามารถพบได้ทางฝั่งอันดามันเท่านั้น (Jarayabhand and Paphavasit, 1996)



รูปที่ 1 หอยเป้าฮื้อไทยชนิด *Haliotis asinina* (Donkey's ear abalone)

การศึกษาหอยเป้าฮื้อชนิด *H. asinina*

สำหรับหอยเป้าฮื้อชนิด *H. asinina* (รูปที่ 1) หรือที่มีชื่อเรียกว่า Donkey's ear Abalone นั้นเป็นอีกชนิดหนึ่งที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ คือมีอัตราส่วนที่เป็นเนื้อมาก และเป็นพันธุ์ที่มีอัตราการเติบโตที่รวดเร็ว (<http://www.thailandabalone.com>) ที่ผ่านมามีการศึกษามากมายได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาการเพาะและการเลี้ยง (Singhagraiwan and Sasaki, 1991; Singhagraiwan and Doi, 1992; Singhagraiwan *et al*, 1992; Singhagraiwan and Doi, 1993; รัชชัย และคณะ, 2547) การศึกษาด้านพันธุกรรม (Klinbunga, *et al* 2003; Klinbunga, *et al* 2004; Tang, *et al*, 2004; Tang, *et al*, 2005; Lucas *et al.*, 2006) การศึกษาเกี่ยวกับด้านโภชนาการของหอยเป้าฮื้อทั้งจากการสำรวจในหอยเป้าฮื้อตามธรรมชาติและการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยที่ผ่าน

มานั้นมีการสำรวจการเลือกกินอาหารของหอยเป่าฮือในสภาพธรรมชาติโดย Sawatpeera, *et al.* (1998) และ Tahil and Juinio-Menez (1999) จากการศึกษาร่องรอยประกอบในกระเพาะอาหารของหอยเป่าฮือ *H. asinina* ที่พบบริเวณเกาะเสม็ด จังหวัดระยองที่ขนาดความยาวเปลือกเฉลี่ย 68.3 ± 9.1 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 48.2 ± 11.4 กรัม พบว่าองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะส่วนใหญ่เป็น เบเนติกไดอะตอมขนาดเล็ก (เล็กกว่า 120 ไมโครเมตร) โดยชนิดที่พบเป็นกลุ่มเด่นคือ *Nitzschia* sp., *Amphora* sp., *Cocconeis* sp., *Navicula* sp. และ *Diploneis* sp. (Sawatpeera, *et al.*, 1998) แต่จากการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบในกระเพาะอาหาร (gut content) ของหอยเป่าฮือชนิด *H. asinina* ที่มีขนาดความยาวเปลือกประมาณ 3.0 ถึง 8.5 เซนติเมตร ที่จับจากธรรมชาติที่บริเวณ Suang Kagang Point, Bongao, Tawi-Tawi, ประเทศฟิลิปปินส์พบว่าหอยเป่าฮือกินสาหร่ายสีแดง (Red Algae, Rhodophyta) เป็นส่วนใหญ่ (72.2 %) โดยกลุ่มที่พบบ่อยได้แก่ *Laurencia*, *Hypnea*, *Amphiroa* และ *Coelothrix* (Tahil and Juinio-Menez, 1999)

การศึกษาเกี่ยวกับการทดลองอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ การศึกษาคุณค่าทางอาหารของไดอะตอมที่นำมาเลี้ยงลูกหอยเป่าฮือ โดยได้ทำการทดลองนำเบเนติกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp., *Navicula* sp. ไดอะตอมธรรมชาติ และ สาหร่ายผสมมาเลี้ยงลูกหอยเป่าฮือที่มีขนาดความยาวเฉลี่ย 10 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 180 มิลลิกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่า ลูกหอยที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายผสมนั้นมีอัตราการเติบโตที่สูงสุดรองลงมาคือ *Nitzschia* sp., และ *Navicula* sp. ตามลำดับ (อมรรัตน์ ชมรุ่ง, 2543) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการทดลองการกินอาหารของหอยเป่าฮือโดยใช้สาหร่ายขนาดใหญ่ (Upatham *et al.*, 1998) การพัฒนาอาหารสำเร็จรูป (Bautista-Teruel and Millamena, 1999; Bautista-Teruel *et al.*, 2003; Thongrod *et al.*, 2003) และการศึกษาผลของอาหารต่อการสืบพันธุ์ (Bautista-Teruel *et al.*, 2001) ด้วย

การศึกษาเกี่ยวกับหอยเป่าฮือวัยอ่อน

การผลิตลูกพันธุ์หอยเป่าฮือเป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญที่จะช่วยให้มีการเพิ่มผลผลิตของการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮือ อัตราการรอดที่ต่ำเนื่องจากลูกหอยเป่าฮือลงเกาะน้อยเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การผลิตลูกพันธุ์ได้น้อย (Hahn, 1989 อ้างจาก Gapasin and Polohan, 2004) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงหรือผลิตลูกพันธุ์หอยเป่าฮือสำหรับการทำฟาร์มเชิงพาณิชย์นั้น ช่วงเวลาที่ลูกหอยลงเกาะและเจริญเติบโตอยู่บนแผ่นฟิล์มเบเนติกไดอะตอมเป็นช่วงเวลาสำคัญที่ส่งผลต่ออัตราการรอดหรือผลผลิตของลูกพันธุ์หอยเป่าฮือ เพราะลูกหอยเป่าฮือในช่วงนี้จะมีความอ่อนแอต่อปัจจัยแวดล้อมที่เกิดขึ้นในบ่ออนุบาลเป็นอย่างมาก เช่น อุณหภูมิความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแอมโมเนีย รวมถึงชนิดและปริมาณเบเนติกไดอะตอมที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มซึ่งลูกหอยต้องใช้เป็นอาหารจนถึงอายุ 2-3 เดือน

จากปัญหาดังกล่าวที่ผ่านมาได้ศึกษาอย่างแพร่หลายเกี่ยวกับการตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือ การเติบโต และอัตราการรอด ของลูกหอยเป่าฮือตั้งแต่ระยะลงเกาะจนถึงอายุ 2 เดือนต่อเบเนติกไดอะตอมโดยเฉพาะการศึกษาในหอยเป่าฮือในเขตอบอุ่น เช่น ในชนิด *Haliotis discus hannai* (Kawamura, *et al.*, 1998; Gordon, *et al.*, 2002; Gordon, *et al.*, 2004), *Haliotis iris* (Kawamura, *et al.*, 1998; Roberts, *et al.*, 2003), *Haliotis virginea* (Daume, S., 2003), *Haliotis*

fulgens (Searcy-Bernal, *et al.*, 2001) และ *Haliotis rufescens* (Martinez-Ponce and Searcy-Bernal, 1998) เป็นต้น ในก่อนหน้านี้นี้ได้มีการรายงานไว้ว่าไดอะตอมเกาะติด (Benthic Diatom) เป็นอาหารที่สำคัญสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน (Kawamura *et al.*, 1998) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อวัยอ่อนนั้นก็นิยมใช้เบนทิกไดอะตอมในการเพาะเลี้ยงเช่นกัน นอกจากนี้พบว่า การตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป๋าฮื้อจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับทั้งชนิดของเบนทิกไดอะตอมและชนิดพันธุ์ของหอยเป๋าฮื้อ (Robert, *et al.*, 2003) และยังขึ้นอยู่กับอายุของเบนทิกไดอะตอมฟิล์มที่ให้ลูกหอยลงเกาะ (Searcy-Bernal, *et al.*, 2001) นอกจากนี้การเติบโตของลูกหอยเป๋าฮื้อแต่ละชนิดเมื่ออนุบาลด้วยเบนทิกไดอะตอมต่างชนิดกันก็จะมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไปอีกด้วย (Kawamura, *et al.*, 1998) ดังสรุปไว้ในตารางที่ 1

ในส่วนของการทดลองเกี่ยวกับการเพิ่มผลผลิตของลูกพันธุ์หอยเป๋าฮื้อ *H. asinina* นั้นที่ผ่านมาได้มีการทดลองเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำการลงเกาะและการพัฒนาของตัวอ่อนโดยใช้เบนทิกไดอะตอมและสารเหนี่ยวนำต่างๆ เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตลูกพันธุ์หอยเป๋าฮื้อระยะวัยอ่อน (Gallardo and Buen, 2003; Gapasin and Polohan, 2004; Gapasin and Polohan, 2005) ในปี 2004 Gapasin and Polohan ได้ศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารเคมีคือ สาร Gamma-aminobutyric Acid (GABA) และ Potassium Chloride (KCl) ในการชักนำการลงเกาะของลูกหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina* พบว่า สาร Gamma-aminobutyric Acid (GABA) มีความสามารถในการเหนี่ยวนำการลงเกาะของลูกหอยระยะวัยอ่อนน้ำได้ดีกว่า สาร Potassium Chloride (KCl) โดยที่ความเข้มข้นของสารเคมีที่แตกต่างกันนั้นชักนำให้เปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยแตกต่างกันไปด้วย (Gapasin and Polohan, 2004) จากการทดลองของ Gallardo and Buen (2003) โดยใช้เบนทิกไดอะตอมชนิด *Navicula* เบนทิกไดอะตอมผสม และเมือกที่สร้างโดยหอยเป๋าฮื้อ (Abalone Mucus) ชักนำการลงเกาะของลูกหอยระยะวัยอ่อนน้ำ พบว่าลูกหอยมีการลงเกาะมากที่เพลทอาหารที่เคลือบด้วย Mucus, *Navicula*, *Navicula* + Mucus และ เพลทที่มีไดอะตอมหลายชนิด + Mucus มากกว่า เพลทอาหารที่เคลือบด้วยไดอะตอมหลายชนิดเพียงอย่างเดียว ต่อมา Gapasin and Polohan (2005) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการชักนำการลงเกาะของลูกหอยเป๋าฮื้อระยะวัยอ่อนน้ำโดยใช้ เบนทิกไดอะตอมชนิด *Amphora* sp., *Nitzschia* และ *Nitzschia cf. frustulum* พบว่า Diatom Slurry ชักนำให้เกิดการตอบสนองของลูกหอย (metamorphic response) มากที่สุดรองลงมาคือ *Amphora* sp., *Nitzschia* และ *Nitzschia cf. frustulum* ตามลำดับ

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับด้านอาหารของลูกหอยเป๋าฮื้อวัยอ่อนในระบบจำลองจากฟาร์มการเพาะเลี้ยงลูกหอย ณ สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี โดยศึกษาเกี่ยวกับการลงเกาะของลูกหอยเป๋าฮื้อชนิด *H. asinina* ที่ตอบสนองต่อเบนทิกไดอะตอม 3 ชนิดคือ *Nitzschia closterium*, *Amphora costata* และ *Navicula* sp. พร้อมทั้งการเปลี่ยนแปลงบนเพลทอาหารตลอด 2 เดือน ตลอดจนการกินอาหารของลูกหอยเป๋าฮื้อวัยอ่อนด้วย

ตารางที่ 1 การตอบสนองในการลงเกาะ การเจริญเติบโต อัตรารอด และประสิทธิภาพการย่อยของลูก
หอยเป่าอื้อต่อเบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆ

หอยเป่าอื้อ	เบนทิกไดอะตอม	การลง เกาะ (%)	การเติบโต (μm /วัน)	อัตรา รอด (%)	การย่อย (%)	เอกสารอ้างอิง
<i>H. discuss hannai</i>	<i>Nitzschia laevis</i>	22				Gordon, et al. (2004)
	<i>Amphora cf tenerrium</i>	14				
	สองชนิดผสมกัน	7 - 13				
	<i>Amphora angusta</i>		29		8.2	Kawamura, et al. (1998)
	<i>Nitzschia closterium</i>		50.1		100	
	<i>Navicula ramosissima</i>		21.1		16.5	
<i>H. discuss hannai</i>	<i>Nitzschia laevis</i> <i>Navicula lenzi</i> <i>Amphora luceae</i>		36	50		Gordon, et al. (2002)
<i>H. fulgen</i>	<i>Nitzschia incerta</i>		14.9 - 33.4	95		Searcy-Bernal, et al. (2001)
<i>H. iris</i>	<i>Navicula</i> sp.		15.1		18.6	Kawamura, et al. (1998)
	<i>Nitzschia</i> sp.		35.3		92.7	
	<i>Nitzschia ovalis</i>		15.4		32.3	
	<i>Cocconeis scutellum</i>	92				Roberts, et al. (2003)
	<i>Nitzschia cf longissima</i>	14				
<i>H. laevigata</i>	<i>Navicula</i> sp.		24 - 35	21 - 25		Daume, S. (2003)
<i>H. rubra</i>	<i>Navicula</i> sp.	1 - 6				Daume, S. (2003)
	<i>Cylindrotheca</i> sp.	(ชนิด เดี่ยว)				
	<i>Cocconeis</i> sp.	7 - 13				
	<i>Amphora</i> sp.	(ชนิดผสม)	15 - 39	17 - 75		
<i>H. rufescens</i>	<i>Nitzschia incerta</i>		11 - 37			Martinez-Ponce and Searcy- Bernal, (1998)
<i>H. virginea</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	90				Roberts and Nicholson, (1997)

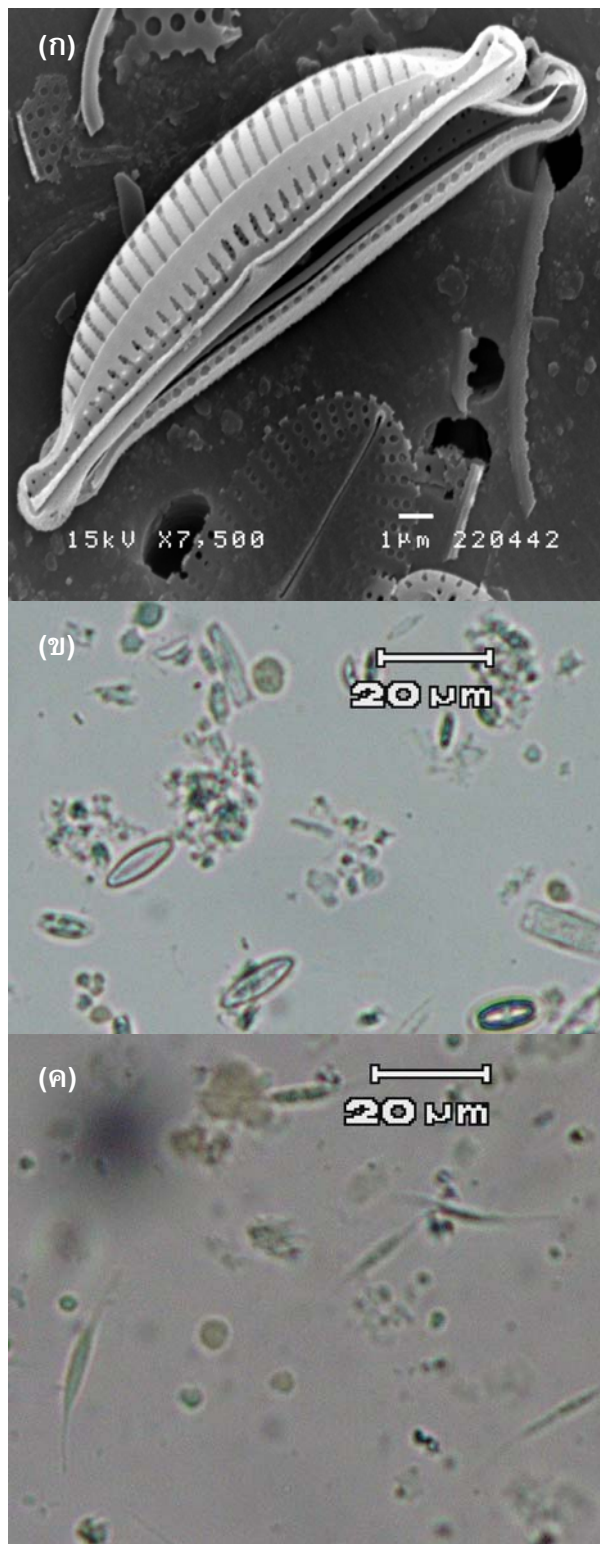
วิธีดำเนินการศึกษา

1. การคัดเลือกหัวเชื้อและการขยายเบบึงไดอะตอม

โดยมีขั้นตอนการผลิตหรือการเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวสามารถแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนได้แก่การคัดแยกสายพันธุ์จากน้ำทะเลธรรมชาติและการเพาะขยายที่สภาวะในห้องปฏิบัติการแบบเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (batch culture) ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

1. การคัดแยกสายพันธุ์ไดอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวจากน้ำทะเลธรรมชาติ

เก็บน้ำทะเลในบริเวณสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง มาตรวจหาไดอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิว ได้แก่ *Nitzschia* sp. , *Navicula* sp. , *Amphora* sp., *Cocconeis* sp., และ *Diploneis* sp. (รูปที่ 2) ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบด้วยเลนส์กำลังขยาย 10 เท่า เมื่อพบไดอะตอมสกุลดังกล่าว นำมาคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์เพื่อเพาะเลี้ยงเป็นชนิดเดียว (monoclonal culture) ด้วยเทคนิคการคัดเลือกเซลล์เดี่ยวด้วยหลอดแก้วปลายแหลม (Pasteur pipette isolation technique) ลงเลี้ยงในถาดหลุม multi well plate หลุมละ 1 เซลล์ ตามวิธีของ Hoshow และ Rosowski (1973) ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Guillard's F/2 (ตารางที่ 2) ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อจะต้องเตรียมที่ความเค็มเดียวกันกับที่พบในธรรมชาติ ดังรายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงในตารางที่ 3 จากนั้นนำถาดหลุมและจานเพาะเชื้อที่ได้มาวางบนชั้นเลี้ยงแสงที่ตอนพืชที่จัดสภาวะในการเลี้ยงไว้ (ตารางที่ 4) และคอยสังเกตการเติบโตของไดอะตอม ที่คัดเลือกไว้ภายในระยะเวลาประมาณ 7 ถึง 10 วันจะสังเกตเห็นสีน้ำตาลเกิดขึ้นในถาดหลุมเลี้ยงเซลล์ ซึ่งจะต้องนำมาตรวจยืนยันว่าเป็นไดอะตอมชนิดที่ต้องการอีกครั้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากมีการปนเปื้อนจะต้องนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีครูดเซลล์ลงบนผิวหน้าอาหารวันหรือคัดแยกเซลล์ซ้ำอีกครั้ง



รูปที่ 2 เบนทิกไดอะตอมที่ใช้ในการศึกษา *Amphora costata* (ก), *Navicula* sp. (ข) และ *Nitzschia closterium* (ค)

ตารางที่ 2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรียพืช Guillard's F/2

ลำดับ	สารเคมี	ปริมาณการเตรียม	ปริมาณที่ใช้ต่อ น้ำทะเล 1 ลิตร
	Na_2NO_3	75 กรัม / ลิตร	1 มิลลิลิตร
	NaH_2PO_4	5 กรัม / ลิตร	0.5 มิลลิลิตร
	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	30 กรัม / ลิตร	0.5 มิลลิลิตร
	Trace Metals : a. primary trace metal stocks - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ b. working trace metal stock - Na_2EDTA - $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - primary trace metal	0.98 กรัม / 100 มิลลิลิตร 2.2 กรัม / 100 มิลลิลิตร 1.0 กรัม / 100 มิลลิลิตร 1.8 กรัม / 100 มิลลิลิตร 0.63 กรัม / 100 มิลลิลิตร 4.36 กรัม 3.15 กรัม นำมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร * ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน ในน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ลิตร	1 มิลลิลิตร
ลำดับ	สารเคมี	ปริมาณการเตรียม	ปริมาณที่ใช้ต่อ น้ำทะเล 1 ลิตร
	Vitamins a. primary stocks - Vitamin B12 - Biotin b. working stock - Biotin - Vitamin B12 - Thiamine HCl	100 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร 10 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร 10.0 มิลลิลิตร biotin primary stock 1.0 มิลลิลิตร B12 primary stock 200 มิลลิกรัม * ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้า ด้วยกันในน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ลิตร	0.5 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3 การเตรียมอาหารเลี้ยงไตอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ

ปัจจัยที่ใช้เตรียม	รายละเอียด
ความเค็มน้ำทะเล	28 – 30 ส่วนในพัน
สูตรอาหาร	Guillard's F/2 สำหรับขวดน้ำเกลือขนาด 0.5 และ 1 ลิตร สูตรดัดแปลงสำหรับขวดแก้วขนาด 5 ลิตร
อาหารวัน	Guillard's F/2 เติมน้ำวัน 7.5 – 15 กรัม ต่อ ลิตร
ระบบกรองน้ำทะเล	ไส้กรองที่มีรูเลือกผ่านขนาด 1 ไมครอน
ปริมาตรภาชนะ	ขวดน้ำเกลือขนาด 0.5 และ 1 ลิตร ขวดแก้วขนาด 5 ลิตร
วิธีการฆ่าเชื้อ	ขวดน้ำเกลือใช้การฆ่าเชื้อด้วยวิธีสเตอริไลซ์ ขวดแก้วขนาด 5 ลิตรใช้การต้มเดือดแล้วรอกใส่ขวดขณะร้อน

ตารางที่ 4 สภาวะที่ใช้เพาะเลี้ยงไตอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	รายละเอียด
อุณหภูมิห้อง	25 – 28 องศาเซลเซียส
ความเข้มแสง	2,500-3,000 ลักซ์
ช่วงเวลาในการให้แสง	12 ชั่วโมง

2. การเพาะเลี้ยงไคอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวที่สภาวะในห้องปฏิบัติการแบบเก็บเกี่ยวครั้งเดียว (batch culture)

2.1 การเก็บรักษาหัวเชื้อไคอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ

นำไคอะตอมที่ต้องการจากภาตหลุม มาเพาะเลี้ยงขยายต่อลงในขวดเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ขนาด 150 มิลลิลิตร ที่ปิดปากขวดด้วยจุกสำลี ซึ่งเก็บไว้เป็นหัวเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงแบบมวล (mass culture) ได้ต่อไป โดยในขั้นตอนนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Guillard's F/2 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง (ตารางที่ 3) จากนั้นเมื่อไคอะตอมเติบโตจนเห็นสีน้ำตาลเข้มขึ้นในขวดให้เพาะขยายลงในขวดเลี้ยงขนาด 500 มิลลิลิตร และในภาชนะเลี้ยงจะต้องให้อากาศเพื่อทำให้เซลล์ของไคอะตอมลอยอยู่ในมวลน้ำและได้รับแสงอย่างทั่วถึงจากชั้นเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชที่จัดสภาวะในการเลี้ยงไว้ (ตารางที่ 4)

2.2 การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพื่อเป็นหัวเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงแบบมวลในห้องปฏิบัติการ

นำไคอะตอมที่เลี้ยงอยู่ในขวดน้ำเกลือขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตรมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในขวดแก้วขนาด 5 ลิตร พร้อมให้อากาศในภาชนะเลี้ยงเพื่อให้เซลล์ลอยอยู่ในมวลน้ำและได้รับแสงอย่างทั่วถึง ซึ่งในขั้นตอนนี้จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรดัดแปลงจาก Guillard's F/2 (ตารางที่ 5) และผ่านการฆ่าเชื้อโดยการต้มให้เดือดแล้วกรอกอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ขวดแก้วในขณะที่ยังร้อนและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำมาใช้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อสังเกตเห็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อในขวดมีสีน้ำตาลเข้มให้ขยายเทใส่ลงในขวดแก้วที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่บรรจุอยู่เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงในบ่อปล่อยลูกหอยลงเกาะต่อไป

ตารางที่ 5 สูตรอาหารดัดแปลง Guillard's F/2 ที่ใช้เพาะเลี้ยงไคอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวในห้องปฏิบัติการ

สารเคมี	ปริมาณต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร	ปริมาณที่ใช้
NaNO ₃	80 กรัม	1 มิลลิลิตร ต่อ น้ำทะเลกรอง 1 ลิตร
NaH ₂ PO ₄	10 กรัม	
Na ₂ SiO ₃	50 กรัม	
FeCl ₃	5 มิลลิลิตร (จากสารละลายอิ่มตัว)	
Na ₂ EDTA	10 กรัม	
Vitamin B1	0.25	

เมื่อเตรียมไคอะตอม ได้ในปริมาณมากพอก็จะเป็นขั้นตอนการนำแผ่นพลาสติกลงจุ่มเพื่อให้ไคอะตอม เคลือบและเติบโตเป็นแผ่นฟิล์มสีน้ำตาลบนแผ่นพลาสติกสำหรับใช้เป็นอาหารของลูกหอย เป้าอื้อระยะ creeping stage จนถึงระยะวัยรุ่น

3. การนำไคอะตอมที่เติบโตบนพื้นผิวมาเป็นอาหารลูกหอยเป่าอี้อระยะ creeping stage

ในขั้นตอนนี้จะต้องเตรียมบ่อสำหรับอนุบาลหอยเป่าอี้อวัยอ่อนและเตรียมแผ่นพลาสติกสำหรับให้ลูกหอยลงเกาะซึ่งแผ่นพลาสติกแต่ละแผ่นจะมีขนาดพื้นที่ลงเกาะ 10×10 ตารางเซนติเมตร โดยจะต้องเพาะเลี้ยงไคอะตอมให้เติบโตบนผิวพลาสติกจนเห็นเป็นฟิล์มสีน้ำตาลไว้ก่อนที่จะนำลูกหอยเป่าอี้อระยะลงเกาะมาปล่อยลงในบ่ออนุบาลที่เตรียมไว้ประมาณ 7 - 10 วัน เมื่อได้แผ่นฟิล์มที่มีเบเนทิกไคอะตอมเกาะแล้วจะทำการย้ายเพลทไปยังบ่อทดลองที่เตรียมน้ำใหม่เพื่อจะพยายามไม่ให้มีเบเนทิกไคอะตอมเกาะอยู่ตามที่แตกต่างกัน ของบ่อทดลองแต่ให้มีเบเนทิกไคอะตอมเฉพาะที่เพลททดลองที่เตรียมไว้เท่านั้น (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 เพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบเนทิกไคอะตอมชนิด *Nitzschia closterium* แล้ว

2. การติดตามการตอบสนองของการลงเกาะของลูกหอยเป่าอี้อ *H. asinina* ต่อชนิดเบเนทิกไคอะตอม

ในการทดสอบการตอบสนองของการลงเกาะของลูกหอยเป่าอี้อต่อเบเนทิกไคอะตอมทั้ง 3 ชนิดนั้น ได้ทำการทดลองในบ่อจำลองขนาด $15 \times 15 \times 120$ ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่มีระบบน้ำไหลผ่าน (รูปที่ 4) บ่อจำลองที่นำมาใช้ในการทดลองนั้นเป็นการจำลองมาจากระบบการอนุบาลลูกหอยวัยอ่อนของหน่วยปฏิบัติการเพาะเลี้ยงหอยเป่าอี้อไทย โดยการทำให้ระบบการอนุบาลมีขนาดที่เล็กลงทั้งขนาดของบ่อและแผ่นพลาสติกที่ใช้ล่อลูกหอยเพื่อให้สะดวกต่อการเก็บข้อมูลและการดูแลทำความสะอาดบ่อจำลอง จากนั้นนำลูกหอยระยะวัยว่ายน้ำ (Veliger) ที่ได้จากหน่วยปฏิบัติการเพาะเลี้ยงหอยเป่าอี้อไทยปล่อยลงในบ่อจำลองที่ได้เตรียมเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบเนทิกไคอะตอมแต่ละชนิดไว้แล้วประมาณ 10,000 ตัว ต่อ 1 บ่อ ซึ่งในแต่ละบ่อทดลองนั้นมีพื้นที่การลงเกาะ 8,000 ตารางเซนติเมตร เท่าๆ กันทุกบ่อ จากนั้นจะจัดการ flow น้ำเป็นเวลา 48 ชั่วโมงเพื่อป้องกันการไหลออกนอกระบบทดลองของลูกหอยใน ระยะวัยว่ายน้ำ (โดยยังคงให้อากาศตลอดเวลา) หลังจากนั้นจะทำการเปิดน้ำเพื่อให้เป็นระบบน้ำแบบไหลผ่าน นับจำนวนลูกหอยเป่าอี้อที่ลงเกาะบนเพลทในสัปดาห์ที่ 3-4 เปรียบเทียบกันในแต่ละบ่อทดลอง



รูปที่ 4 ระบบบ่อจำลองที่ใช้ในการศึกษา

3. การติดตามการเจริญเติบโตและการกินอาหารของลูกหอยเป่าฮือ

หลังจากเก็บข้อมูลการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไโดอะตอมต่างชนิดแล้วนั้น จะทำการเก็บตัวอย่างลูกหอยเพื่อวัดขนาดในแต่ละสัปดาห์เพื่อดูการเจริญเติบโตโดยทำการวัดเปลือกส่วนที่ยาวที่สุดของลูกหอยเป่าฮือในแต่ละบ่อจากนั้นทำการหาค่าเฉลี่ยของความยาวเปลือกเพื่อเปรียบเทียบในแต่ละชุดการทดลองที่เริ่มต้นเคลือบด้วยเบนทิกไโดอะตอมต่างชนิดกัน นอกจากนี้จะนำตัวอย่างลูกหอยที่ได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารโดยการใช้มีดผ่าตัดขนาดเล็กตัดแยกส่วนเนื้อออกจากแผ่นเปลือก จากนั้นผ่าครึ่งแบ่งเนื้อของลูกหอย เพื่อให้ส่วนกระเพาะถูกตัดออกและสามารถถูกย่อยได้ง่ายด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ นอกจากนี้ยังต้องใช้เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่สูง (รูปที่ 5) ช่วยในการทำให้เซลล์ไโดอะตอมหลุดออกจากเนื้อเยื่อลูกหอยด้วย ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. นำลูกหอยที่เก็บจากแผ่นล่อลูกหอยลงเกาะซึ่งปล่อยลูกหอยลงเกาะไว้แล้วเป็นเวลา 2 เดือน มาตัดแยกเนื้อออกจากเปลือก (รูปที่ 6) จากนั้นทำความสะอาดชิ้นเนื้อไม่ให้มีสิ่งปนเปื้อนโดยการนำใส่ในชุดกรองที่มีผ้ากรองขนาดตา 100 ไมครอน
2. นำชิ้นเนื้อลูกหอยที่ทำความสะอาดแล้วใส่ลงในกระเจกนาฟิกา ผ่าแยกกระเพาะอาหารออกจากชิ้นเนื้อส่วนอื่น (รูปที่ 7)
3. ใช้มีดขนาดเล็กตัดแยกกระเพาะและใช้เข็มเย็บปลายแหลมขนาดเล็กเย็บให้ชิ้นส่วนของกระเพาะอาหารแยกกระจายออก เพื่อให้ห้องประกอบในกระเพาะอาหารแยกกระจายออกจากกัน
4. ตรวจสอบชนิดของเบนทิกไโดอะตอมที่พบในกระเพาะอาหารของลูกหอย พร้อมบันทึกข้อมูลและใช้ในการเปรียบเทียบกับเบนทิกไโดอะตอมจากบนแผ่นเพลท เพื่อแปรผลการกินอาหารของลูกหอยต่อไป



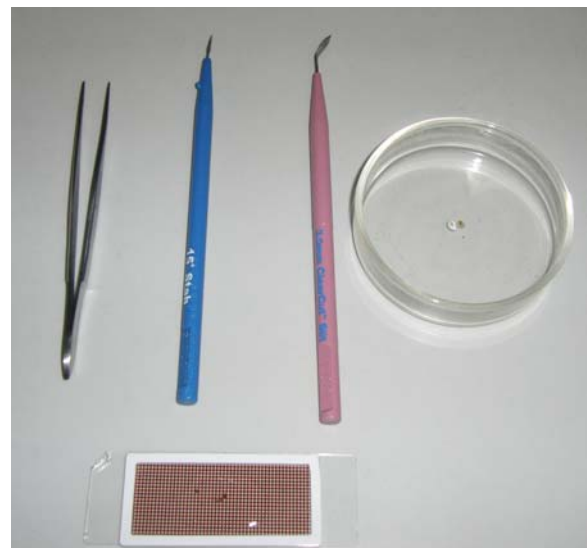
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 5 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป่าฮื้อ

(ก) กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo

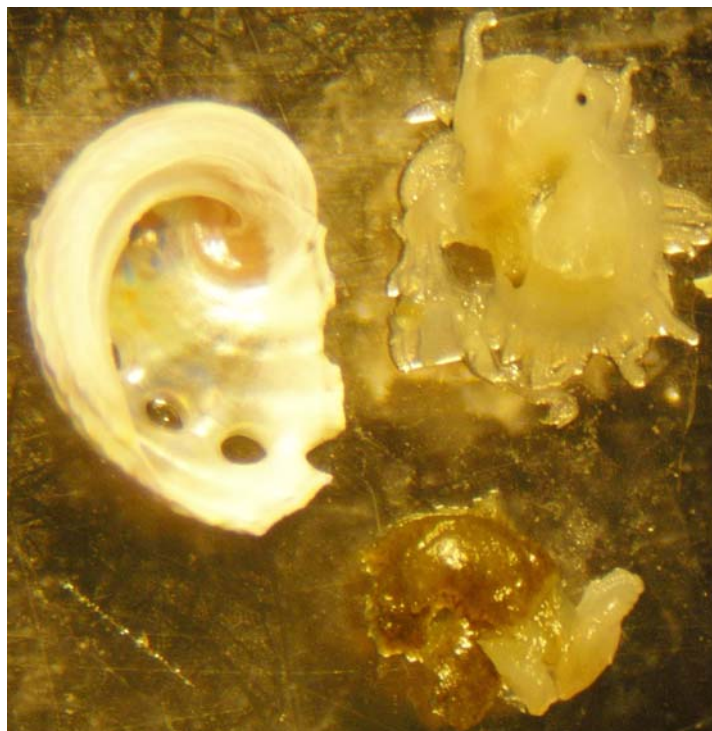
(ข) กล้องจุลทรรศน์แบบ Compound

(ค) เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่ (Sonicator)

(ง) อุปกรณ์ชุดผ่าตัด



รูปที่ 6 ลูกหอยที่ถูกแยกเปลือกและส่วนอวัยวะภายใน (กระเพาะมีสีน้ำตาลด้านล้างของส่วนลำตัวด้านซ้าย)



รูปที่ 7 กระเพาะอาหารถูกตัดแยกออกจากส่วนลำตัว

5. การตรวจวัดสภาพแวดล้อมในบ่อจำลอง

การตรวจวัดปัจจัยสภาพแวดล้อมในบ่อจำลองนั้นจะทำการวัด ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลาย ปริมาณธาตุอาหารละลายน้ำ โดยจะทำการตรวจวัด ณ จุดเก็บตัวอย่างทุกวัน ส่วนปริมาณธาตุอาหารละลายน้ำ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรต ฟอสเฟต และ อัลคาลินิตี (Alkalinity) ของน้ำทะเลตรวจวิเคราะห์สัปดาห์ละครั้ง โดยวิธีการนั้นได้ทำการปรับปรุงจากของ Strickland and Parsons (1972) และ Grasshoff (1976) ดังแจกแจงได้ดังต่อไปนี้

1. การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ใช้วิธีการที่ได้ปรับปรุงจากวิธี NED Colourimetric Method (Strickland and Parsons, 1972)
2. การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรต ใช้วิธีการที่ได้ปรับปรุงจากวิธี Cadmium Reduction Colourimetric method (Strickland and Parsons, 1972)
3. การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย ใช้วิธีการที่ได้ปรับปรุงจากวิธี Phenol - hypochloride (Grasshoff, 1976)
4. ฟอสเฟต Ascorbic acid (Grasshoff, 1976)
5. Alkalinity

6. และการเปลี่ยนแปลงของเบนทิกไดอะตอมบนเพลา

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตชนิดเกาะติดบนแผ่นเบนทิกไดอะตอมนั้นจะเก็บข้อมูลทุกสัปดาห์พร้อมกันกับการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อวัดขนาดลูกหอยและดูลักษณะประกอบในกระเพาะอาหาร จากนั้นนำมาตรวจวิเคราะห์ได้กล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาลักษณะสัญญาณวิทยาและการจัดจำแนกชนิด พร้อมทั้งถ่ายรูปประกอบการจัดจำแนกซึ่งใช้เอกสาร Dexing *et al.* (1984) และ Tomas (1996)

การเตรียมตัวอย่างไดอะตอมสำหรับการจำแนกชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ทำได้โดยการกำจัดสารอินทรีย์ที่ผนังเซลล์ไดอะตอมออกไปเพื่อให้สามารถมองเห็นรายละเอียดต่างๆ ที่ใช้ในการจำแนกชนิด ซึ่งเดิมกำหนดไว้ใช้ตามวิธีของโสภณา บุญญาภิวัฒน์ (2526) ได้ปรับปรุงเพิ่มเติม โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำเซลล์ไดอะตอมที่เก็บรักษาสภาพในน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 2-4 เปอร์เซ็นต์ผสมกับกรดซัลฟูริกเข้มข้นในอัตราส่วน 1:1
2. เติมน้ำละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตอ้อมตัวลงไป สังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนไป โดยเมื่อเริ่มเติมน้ำละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตสารละลายจะมีสีน้ำตาล จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำลงไปทีละน้อย พร้อมเขย่าให้ผสมกัน ทั้งนี้ให้เติมเพิ่มลงไปจนกว่าสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้มของโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต
3. เติมน้ำออกซาลิกอ้อมตัวลงในสารละลายตัวอย่างข้างต้นในปริมาณน้อยๆ พร้อมเขย่าให้สารละลายเข้ากันดี ค่อยๆ เติมน้ำออกซาลิกลงไปจนกว่าสารละลายตัวอย่างจะเปลี่ยนสีเป็นสารละลายใส
4. ล้างกรดออกโดยการเจือจางด้วยน้ำประปา ซึ่งทำได้โดยการเติมน้ำลงในสารละลายตัวอย่าง

5. กรองเก็บเซลล์ไดอะตอมด้วยผ้ากรองขนาดตา 10 ไมครอน พร้อมกับล้างกรวดออกอีกครั้งผ่านผ้ากรองด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บเซลล์ลงในขวดเก็บตัวอย่าง
6. ตรวจสอบสภาพเซลล์ที่ถูกกำจัดสารอินทรีย์แล้วภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ้าเซลล์ไม่สะอาดให้ย้อนกลับไปทำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 2 อีกครั้ง
7. คัดเลือกเซลล์ไดอะตอมที่ต้องการนำไปตรวจสอบชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง ควรเลือกเซลล์ให้ได้จำนวนไม่น้อยกว่า 50 เซลล์ หรือสามารถสุ่มเซลล์ที่ได้จากขั้นตอนที่ 5 มากรองผ่านแผ่นกรองโพลีคาร์บอเนตขนาดรู 2-8 ไมครอน ได้ทันที เพื่อเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนต่อไป
8. นำเซลล์ไดอะตอมที่เลือกไว้หรือสุ่มดูตัวอย่างจากขั้นตอนที่ 5 มากรองผ่านแผ่นกรองโพลีคาร์บอเนตขนาดรู 2-8 ไมครอน ซึ่งประกอบไว้กับชุดกรองสำหรับการเตรียมตัวอย่าง SEM จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง
9. กำนํ้าออกจากเซลล์ด้วยเอทานอลระดับความเข้มข้น 15%, 30%, 50%, 70%, 90%, 95% และ absolute ตามลำดับ โดยการหยดเอทานอลผ่านลงในชุดกรองที่กรองเก็บตัวอย่างไว้ พร้อมกับแช่ตัวอย่างในเอทานอลแต่ละความเข้มข้นไว้ในชุดกรองชั้นละ 10 นาที
10. นำแผ่นกรองโพลีคาร์บอเนตที่มีเซลล์ไดอะตอมอยู่ด้านบนมาติดลงบนแท่นติดตัวอย่าง (stub) จากนั้นนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อปล่อยให้เซลล์แห้ง เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง
11. นำตัวอย่างไปฉาบด้วยทองคำภายใต้สภาวะควบคุม เพื่อให้สามารถนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และตรวจสอบชนิดพร้อมบันทึกภาพ

จากการเตรียมตัวอย่างหั่วเชื้อไดอะตอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเพื่อจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเซลล์ที่ได้มีเมือกอินทรีย์ห่อหุ้มเซลล์อยู่อย่างหนาแน่น ไม่สามารถกำจัดสารอินทรีย์ออกได้ ทำให้เสียเวลาในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสารอินทรีย์ แต่ยังไม่ประสบความสำเร็จ จึงใช้ตัวอย่างที่ได้จากแผ่นล่อลูกหอยให้ลงเกาะแทน จากนั้นเปรียบเทียบลักษณะที่สังเกตเห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบเทียบเคียงกับที่ถ่ายได้จากจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อจัดจำแนกต่อไป ทั้งนี้ทำให้การจัดจำแนกสามารถทำได้เพียงระดับสกุล แต่อย่างไรก็ตามสามารถสังเกตเทียบเคียงกับตัวอย่างเบนทิกไดอะตอมที่เก็บได้จากองค์ประกอบในกระเพาะอาหารลูกหอยได้ว่าเป็นไดอะตอมสกุลใด

ผลการศึกษา

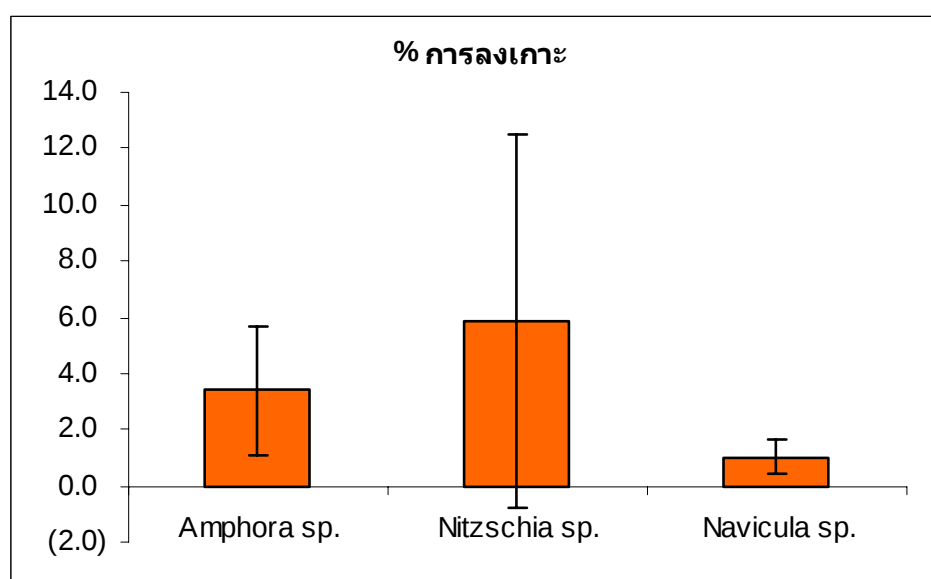
- การตอบสนองของลูกหอยเป่าฮื้อ *Halotis asinina* ต่อเบนทิกไคอะตอม

การทดสอบการตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อต่อเบนทิกไคอะตอมต่างชนิดจากการเปรียบเทียบจำนวนการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อในสัปดาห์ที่ 3-4 ระหว่างเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia costerium*, *Amphora costata* และ *Navicula* sp. โดยปล่อยลูกหอยระยะวัยน้ำ (Villiger) (รูปที่ 8) ที่ได้จากหน่วยปฏิบัติการวิจัยการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อไทยลงในบ่อทดลองขนาด $15 \times 15 \times 120$ ลูกบาศก์เซนติเมตรในจำนวนที่เท่าๆกัน (10,000 ตัว) ซึ่งตลอดการทดลองใช้ระบบน้ำไหลผ่าน ที่มีเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไคอะตอมแล้วโดยมีจำนวนพื้นที่การลงเกาะทั้งหมด 8,000 ตารางเซนติเมตร ในช่วงแรกของการทำการวิจัยนั้นประสบปัญหาเกี่ยวกับการแยกและการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเบนทิกไคอะตอมชนิด *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. เนื่องจากขาดเซลล์หัวเชื้อตั้งต้นจากธรรมชาติบริเวณสถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีชัง ในช่วงเวลาที่เก็บน้ำทะเลมาคัดเลือกเซลล์ไคอะตอมที่ต้องการใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ รวมถึงอาจมีสภาวะในการเพาะเลี้ยงไคอะตอมบางประการที่ยังไม่เหมาะสมต่อการเพาะขยายปริมาณสำหรับไคอะตอมดังกล่าว ในเบื้องต้นจึงได้ทำการทดสอบการตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อต่อเบนทิกไคอะตอมชนิด *Nitzschia* sp. และเบนทิกไคอะตอมจากธรรมชาติ จากการทดลองพบว่าลูกหอยเป่าฮื้อลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp. คิดเป็น 0.85% และ 1.42 % ซึ่งมากกว่าเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไคอะตอมที่ล่อน้ำทะเลธรรมชาติ (0.42 %)



รูปที่ 8 ลูกหอยเป่าฮื้อ *H. asinina* ระยะวัยน้ำ (Veliger)

อย่างไรก็ตามเมื่อสามารถขยายหัวเชื้อเบนทิกไดอะตอมชนิด *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. ได้แล้ว ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าอี้อะหว่างเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp., *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. พบว่าลูกหอยเป่าอี้อลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp. อยู่ระหว่าง 0.42 ถึง 21.61 % (%เฉลี่ย = 5.88 ± 6.67 , N = 12) ลูกหอยเป่าอี้อที่ลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Amphora* sp. คิดเป็นร้อยละ 1.39 ถึง 7.09 (%เฉลี่ย = 3.39 ± 2.32 , N = 5) และเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Navicula* sp. มีลูกหอยลงเกาะอยู่ระหว่างร้อยละ 0.58 – 1.71 (%เฉลี่ย = 1.02 ± 0.61 , N = 3) จากข้อมูลที่ได้มีแนวโน้มว่าลูกหอยเป่าอี้อเลือกลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp. มากที่สุด รองลงมาคือ *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. ตามลำดับ (รูปที่ 9)

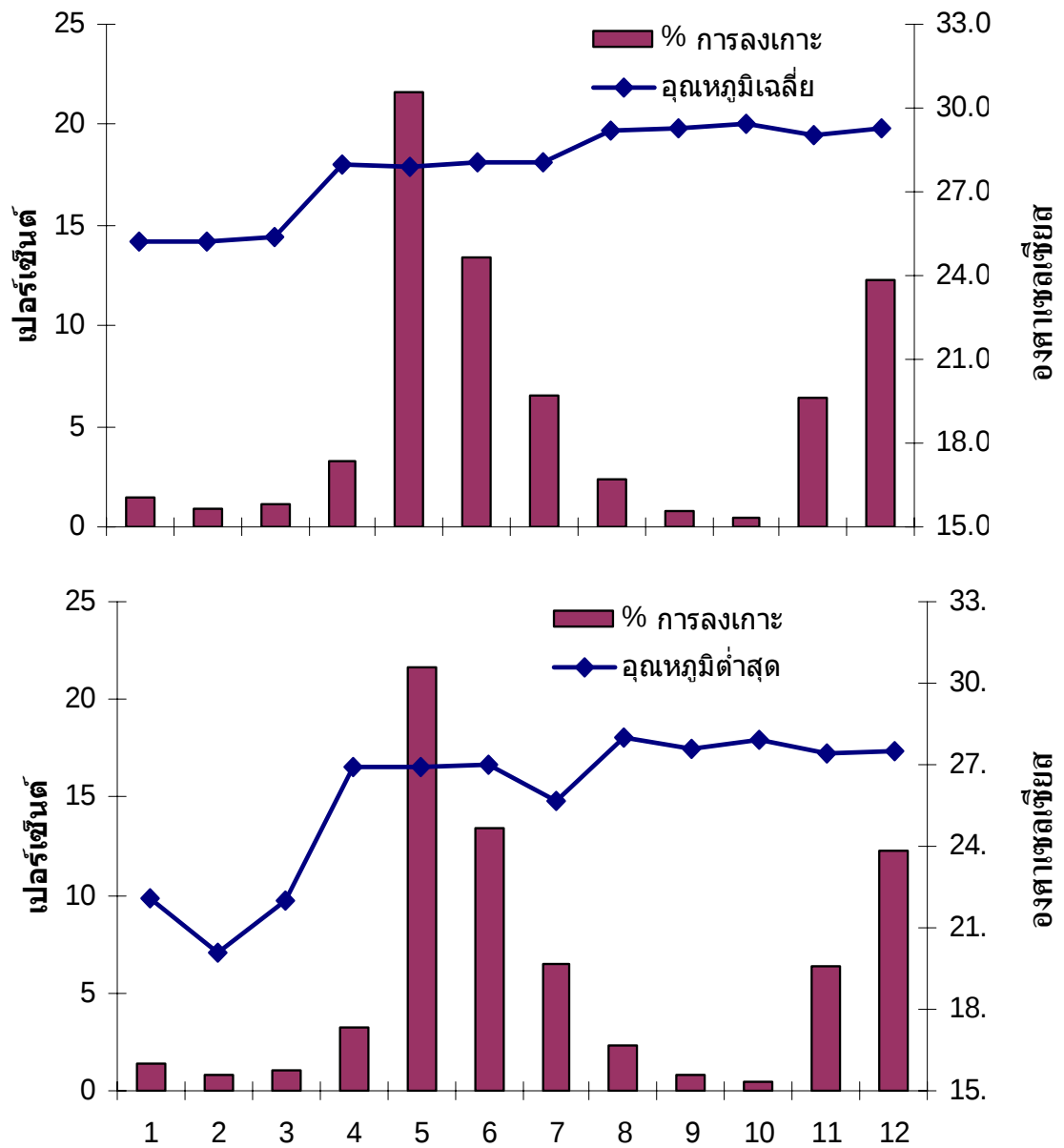


รูปที่ 9 เปอร์เซนต์การลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมต่างชนิดกัน

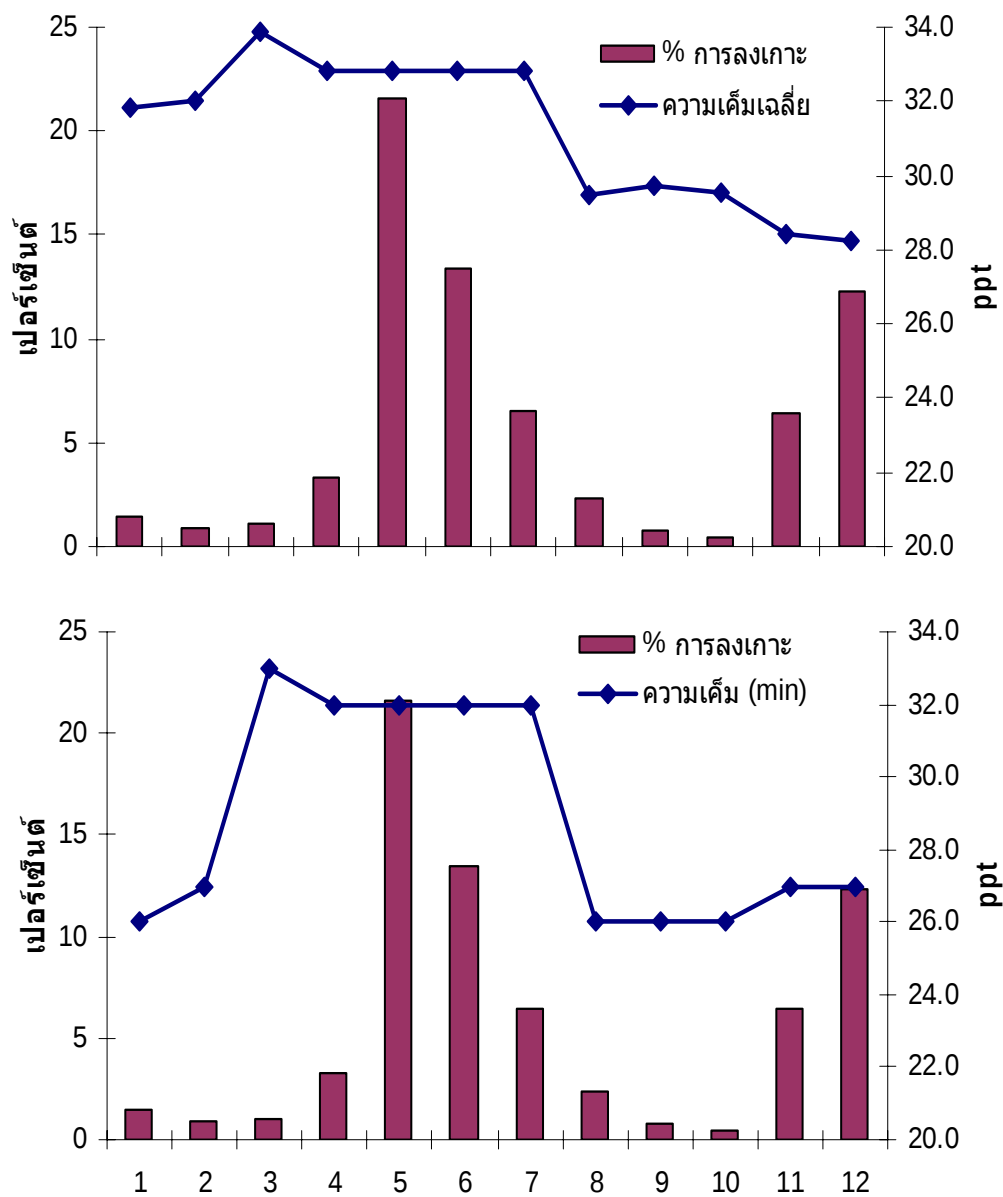
จากข้อมูลพบว่าเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าอี้อบนเพลทอาหารนั้นมีความแตกต่างกันถึงแม้ว่าจะเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมชนิดเดียวกัน จากข้อมูลพบว่าเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยนั้นค่อนข้างสัมพันธ์กับอุณหภูมิและความเค็มโดยเปอร์เซ็นต์การลงเกาะค่อนข้างลดลงเมื่ออุณหภูมิหรือความเค็มลดต่ำลง ซึ่งแนวโน้มนี้พบทั้งปอดทดลองอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp., *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. (รูปที่ 11 ถึง รูปที่ 16) ในชุดการทดลองที่ *Nitzschia* เป็นเบนทิกไดอะตอมสกุลตั้งต้นที่มีเปอร์เซ็นต์การลงเกาะมากกว่า 5 เปอร์เซนต์ (6.4 – 21.6 %) พบว่าทั้งความเค็มต่ำสุดและอุณหภูมิต่ำสุดอยู่ในช่วง 27 – 32 ppt และ 25.7 – 27.5 องศาเซลเซียส โดยในการทดลองที่มีการลงเกาะน้อยกว่าร้อยละ 5 พบว่า ปัจจัยอุณหภูมิต่ำสุดหรือความเค็มต่ำสุดน้อยกว่าช่วงดังกล่าว (รูปที่ 11 และรูปที่12) แต่จากการทดสอบทางสถิติไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ (correlation) อย่างมีนัยสำคัญระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะและอุณหภูมิ ($r = 0.351$, $p = 0.264$) และระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะและความเค็ม ($r = 0.436$, $p = 0.157$)



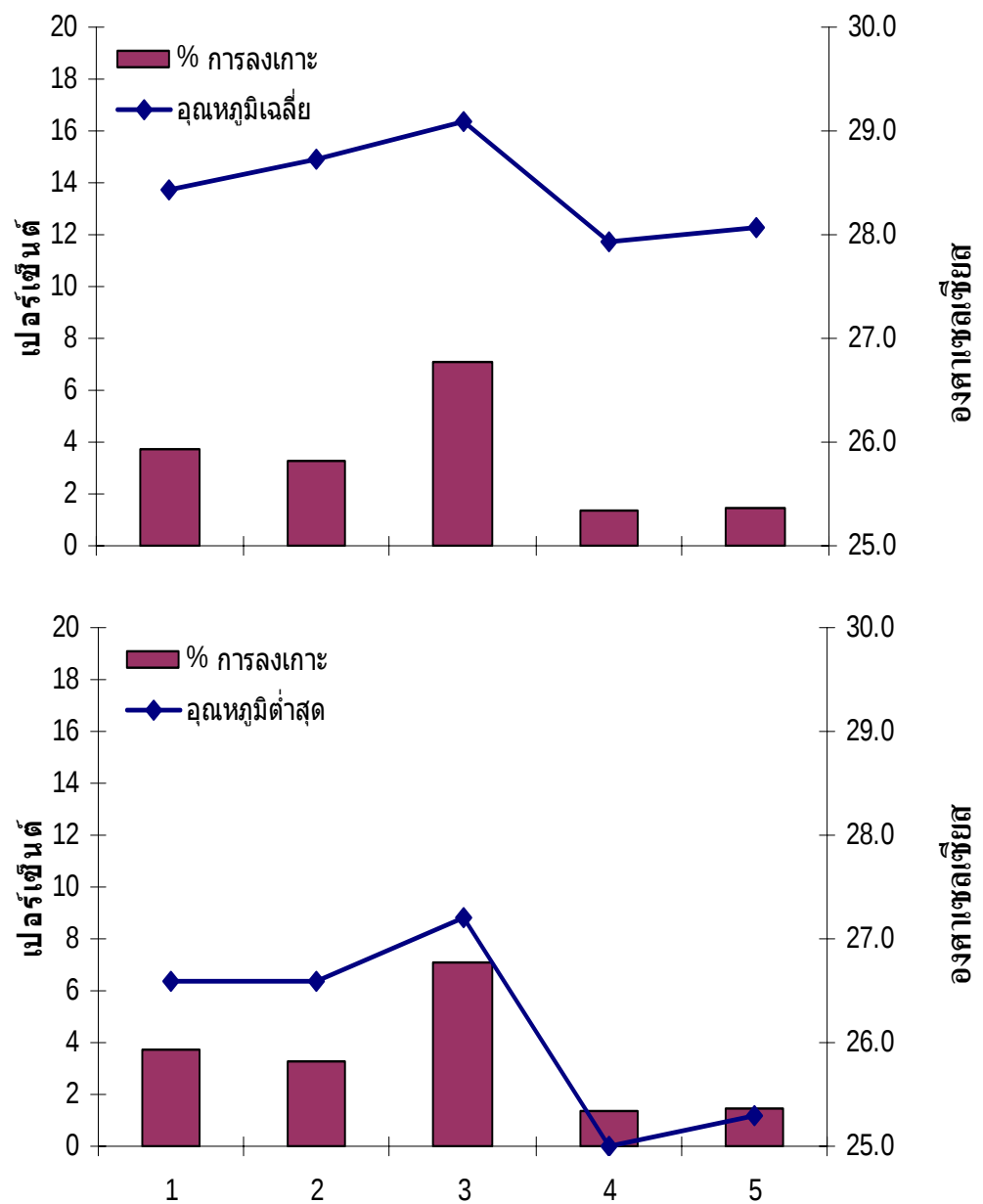
รูปที่ 10 ลูกหอยเป่าฮื้อ *H. asinina* อายุ 4 สัปดาห์ที่เกาะอยู่บนเพลททดลอง



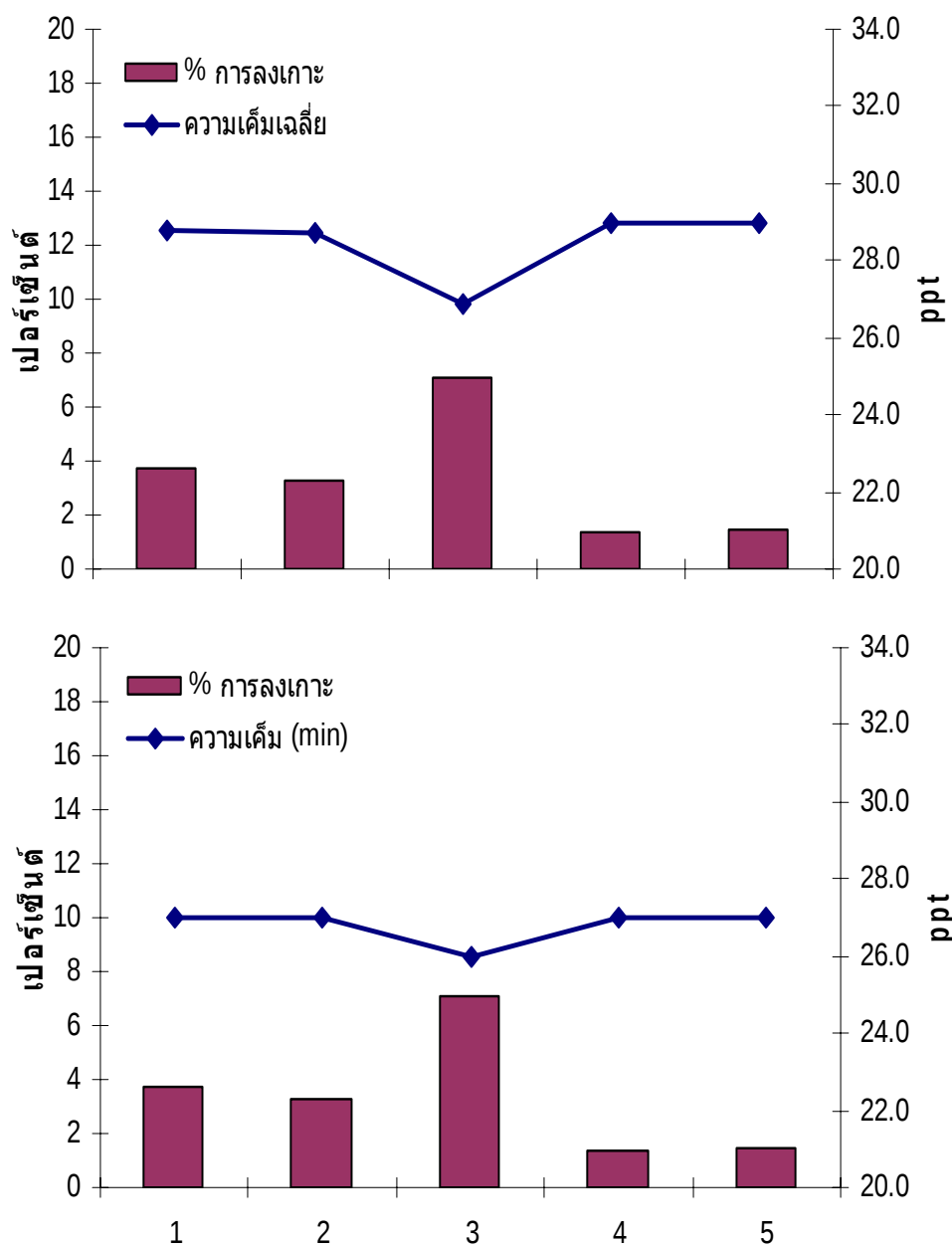
รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของลูกหอยเป่าฮื้อบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp. กับ อุกุณภูมิ



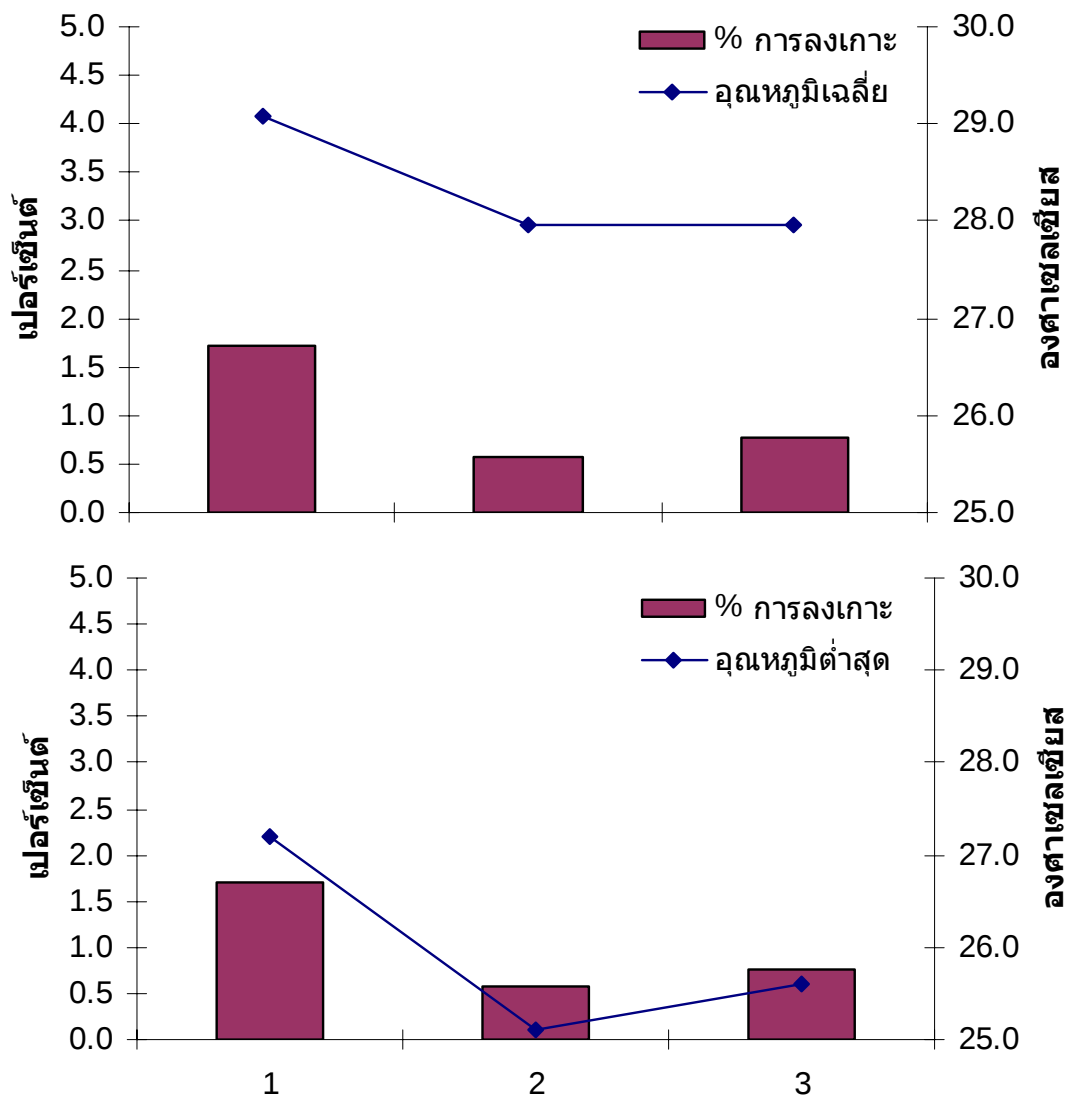
รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าฮ็อบบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp. กับ ความเค็ม



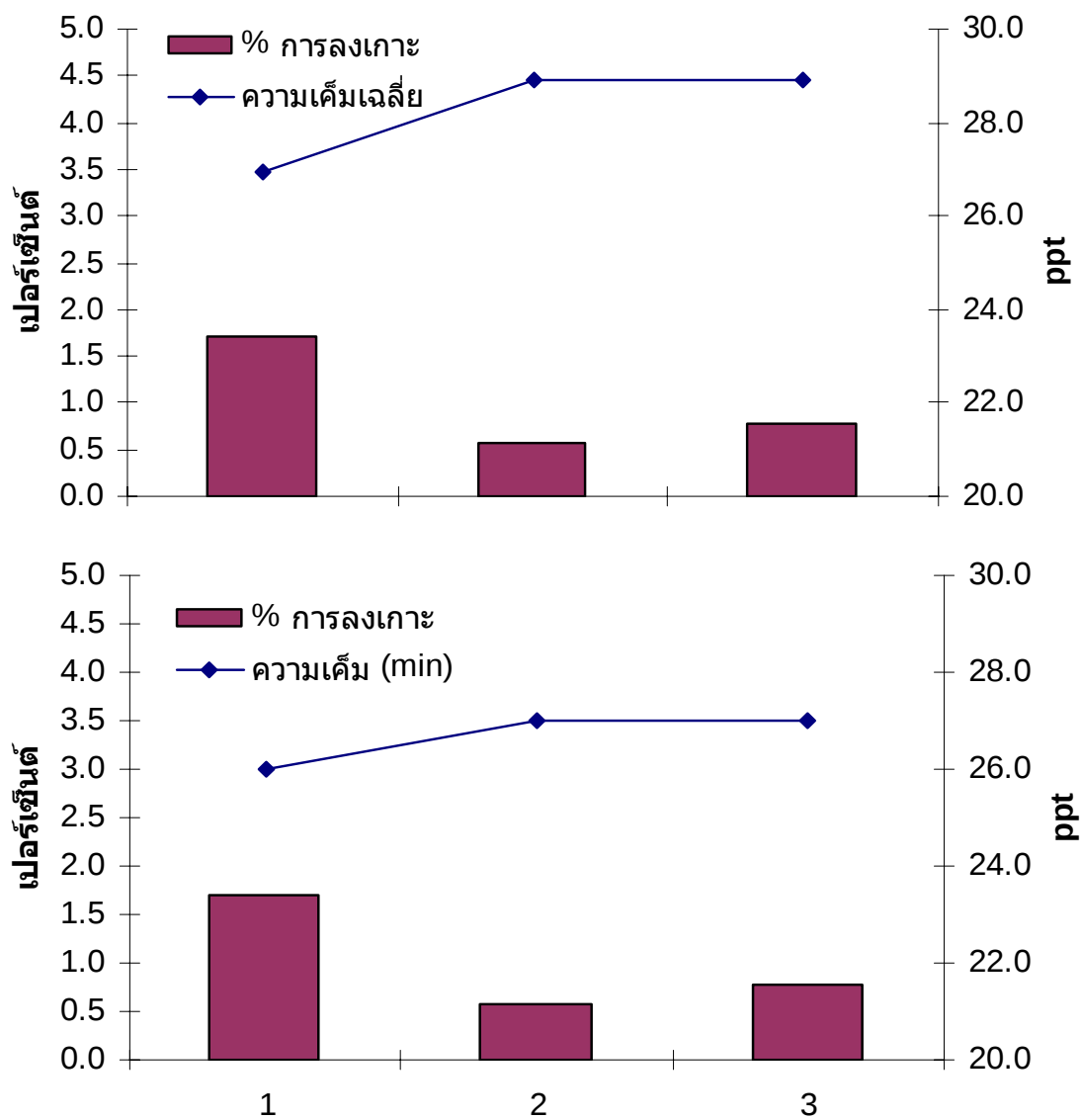
รูปที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Amphora* sp. กับ อุณหภูมิ



รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Amphora* sp. กับ ความเค็ม



รูปที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าสีอ่อนบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Navicula* sp. กับ อุดหนุมิ

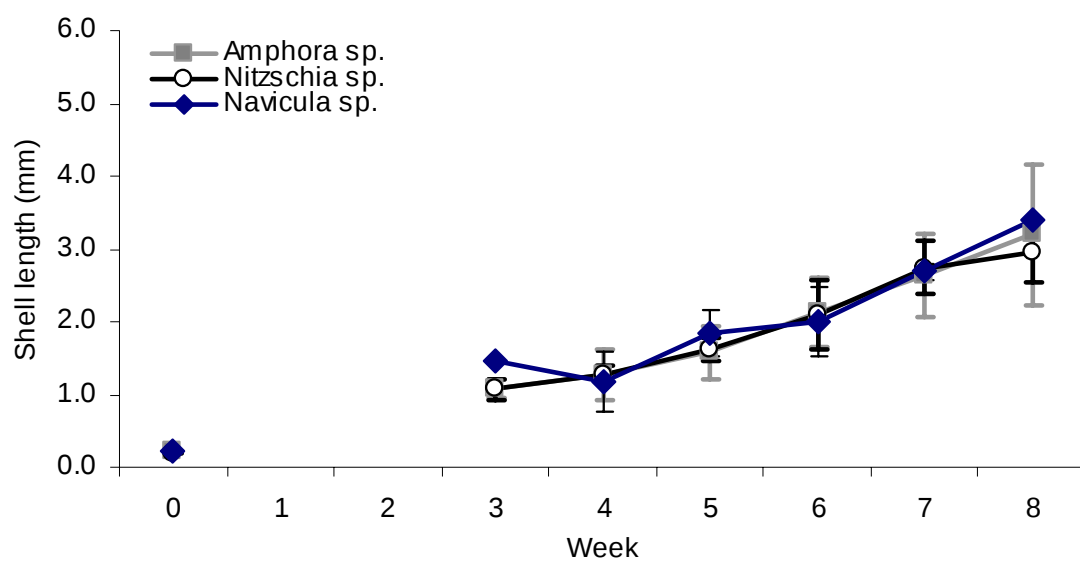


รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยเป่าฮ็อบบนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Navicula* sp. กับ ความเค็ม

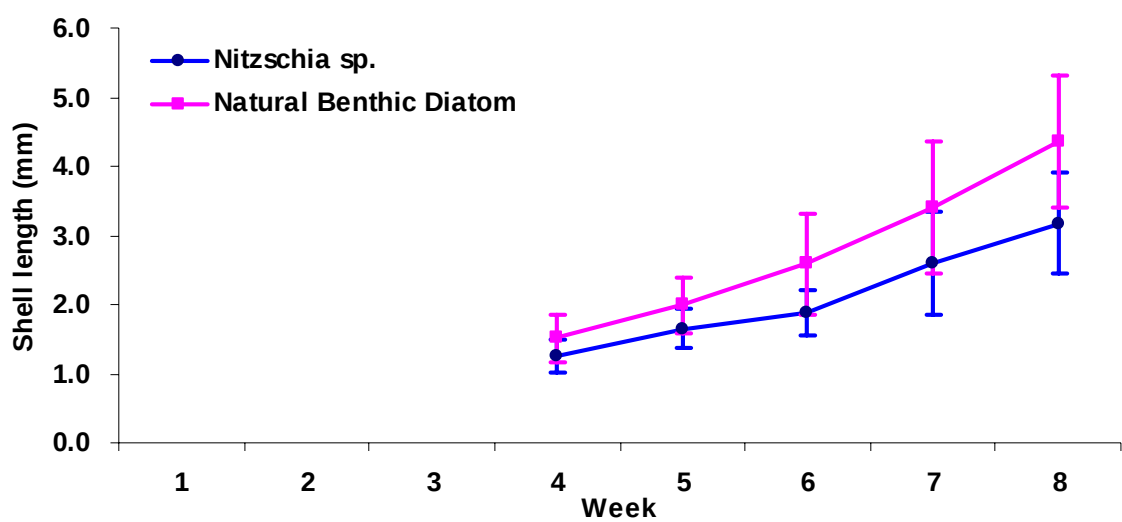
- การเติบโตของลูกหอยเป่าฮื้อ *H. asinina*

ขนาดของลูกหอยเป่าฮื้อที่ใช้ในการทดลองเริ่มต้น (Veliger) นั้นมีขนาดเฉลี่ย 0.20 ± 0.006 มิลลิเมตร จากการวัดการเจริญเติบโตของลูกหอยในแต่ละสัปดาห์ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์ที่ 8 ในบ่อทดลองที่มีเพลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp., *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. พบว่าขนาดของลูกหอย (ขนาดเฉลี่ย $\pm$ ค่าความแปรปรวน) ที่อาศัยอยู่บนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Nitzschia* sp. ในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8 มีขนาด 1.1 ± 0.1 , 1.3 ± 0.1 , 1.6 ± 0.2 , 2.1 ± 0.5 , 2.7 ± 0.4 , 3.0 ± 0.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ ขนาดของลูกหอย (ขนาดเฉลี่ย $\pm$ ค่าความแปรปรวน) ที่อาศัยอยู่บนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Amphora* sp. ในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8 นั้นมีขนาด 1.1 ± 0.1 , 1.3 ± 0.3 , 1.6 ± 0.4 , 2.1 ± 0.5 , 2.6 ± 0.6 , 3.2 ± 1.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับขนาดของลูกหอย (ขนาดเฉลี่ย $\pm$ ค่าความแปรปรวน) ที่อาศัยอยู่บนเพลทอาหารที่เคลือบด้วย *Navicula* sp. ในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8 นั้นมีขนาด 1.5 , 1.2 ± 0.4 , 1.8 ± 0.3 , 2.0 ± 0.5 , 2.7 ± 0.1 , 3.4 มิลลิเมตร ตามลำดับ

โดยพบว่าขนาดของลูกหอยที่เกาะอาศัยบนแผ่นพลาสติกที่เคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมตั้งต้นทั้งสามชนิดนั้นค่อนข้างไม่มีความแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 17 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในก่อนหน้านี้นี้ระหว่างการตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อต่อเบนทิกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp. และเบนทิกไดอะตอมจากธรรมชาตินั้นพบว่าถึงแม้ว่าลูกหอยจะมีการลงเกาะบนเพลทอาหารที่เคลือบที่ *Nitzschia* sp. มากกว่าแต่ก็มีขนาดเฉลี่ยเล็กกว่า (รูปที่ 18)



รูปที่ 17 ความยาวเปลือกของลูกหอยเป่าชื่อ *H. asinina* ที่เลี้ยงอยู่บนเพลทอาหารชนิด *Nitzschia* sp. *Amphora* sp. และ *Navicula* sp.



รูปที่ 18 ความยาวเปลือกของลูกหอยเป่าชื่อ *H. asinina* ที่เลี้ยงอยู่บนเพลทอาหารชนิด *Nitzschia* sp. และ เพลทอาหารที่เคลือบด้วยเบนิทิกไดอะตอมจากน้ำทะเลธรรมชาติ

- การตรวจวัดสภาพแวดล้อมในบ่อดทดลอง

1. การตรวจวัดสภาพในบ่อดทดลองระหว่างบ่อดทดลองที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Nitzschia* sp. และบ่อดทดลองที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไโดอะตอมจากธรรมชาติ

จากการติดตามคุณภาพน้ำในบ่อดทดลองที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Nitzschia* sp. มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 26 – 34 ppt (ค่าเฉลี่ย = 33.1 ± 1.4 ppt) อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 20.1 – 28.0 องศาเซลเซียส (ค่าเฉลี่ย = 25.4 ± 1.7 องศาเซลเซียส) ค่าการละลายออกซิเจนในน้ำ (DO) มีค่าอยู่ระหว่าง 5.6 – 7.2 มิลลิกรัม / ลิตร (ค่าเฉลี่ย = 6.6 ± 0.3 มิลลิกรัม / ลิตร) และปริมาณธาตุอาหาร มีค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.002 – 0.084 μg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.018 ± 0.019 μg - at N/L) ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.004 – 0.081 μg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.022 ± 0.019 μg - at N/L) ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.023 – 0.080 μg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.041 ± 0.016 μg - at N/L) ปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.002 – 0.011 μg - at P/L (ค่าเฉลี่ย = 0.005 ± 0.003 μg - at P/L) และค่า Alkalinity อยู่ในช่วง 96.0 – 151.0 mgCaCO_3/L (ค่าเฉลี่ย = 129.6 ± 10.6 mgCaCO_3/L)

จากการติดตามคุณภาพน้ำในบ่อดทดลองที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไโดอะตอมจากธรรมชาติมีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 27 – 34 ppt (ค่าเฉลี่ย = 33.0 ± 1.5 ppt) อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 20.1 – 29.0 องศาเซลเซียส (ค่าเฉลี่ย = 25.6 ± 1.9 องศาเซลเซียส) ค่าการละลายออกซิเจนในน้ำ (DO) มีค่าอยู่ระหว่าง 5.9 – 7.2 มิลลิกรัม / ลิตร (ค่าเฉลี่ย = 6.5 ± 0.3 มิลลิกรัม / ลิตร) และปริมาณธาตุอาหาร มีค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.001 – 0.028 μg - N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.015 ± 0.01 μg - N/L) ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.01 – 0.077 μg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.027 ± 0.021 μg - at N/L) ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.021 – 0.064 μg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.038 ± 0.013 μg - at N/L) ปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.003 – 0.016 μg - at P/L (ค่าเฉลี่ย = 0.006 ± 0.004 μg - at P/L) และค่า Alkalinity อยู่ในช่วง 118.0 – 131.0 mgCaCO_3/L (ค่าเฉลี่ย = 126.9 ± 4.1 mgCaCO_3/L) (ตารางที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณธาตุอาหารในบ่อดทดลองกับมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลพบว่า ปริมาณธาตุอาหารในบ่อดทดลองมีค่าอยู่ในระดับที่เหมาะสมและปลอดภัย (Safety Level) ต่อการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อ ค่าคุณภาพน้ำในบ่อดทดลองบ่ที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Nitzschia* sp. และบ่อดทดลองที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไโดอะตอมจากธรรมชาตินั้นไม่มีความแตกต่างกันทั้งความเค็ม (Mann - Witney Test, $P = 0.965$) อุณหภูมิในน้ำ (Mann - Witney Test, $P = 0.405$) และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO)(t - test, $P = 0.723$) นอกจากนี้ปริมาณธาตุอาหารในบ่อดทดลองแต่ละบ่ไม่มีความแตกต่างกันทั้งปริมาณแอมโมเนีย (t - test, $P = 0.683$) ไนไตรท์ (Mann - Witney Test, $P = 0.475$) ไนเตรท (t - test, $P = 0.635$) ฟอสเฟต (Mann - Witney Test, $P = 0.328$) และค่า Alkalinity (t - test, $P = 0.448$)

ตารางที่ 6 ค่าคุณภาพน้ำทะเลเปรียบเทียบระหว่างบ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Nitzschia* sp. และ บ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมจากธรรมชาติ

ปัจจัยแวดล้อมในบ่อกุ้งเลี้ยง	บ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย <i>Nitzschia</i> sp.	บ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมจากธรรมชาติ
ความเค็ม (ppt)	33.1 ± 1.4	33.0 ± 1.5
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25.4 ± 1.7	25.6 ± 1.9
ค่าการละลายออกซิเจนในน้ำ (DO) (มิลลิกรัม / ลิตร)	6.6 ± 0.3	6.5 ± 0.3
แอมโมเนีย (µg - at N/L)	0.018 ± 0.019	0.015 ± 0.01
ไนไตรท์ (µg - at N/L)	0.022 ± 0.019	0.027 ± 0.021
ไนเตรท (µg - at N/L)	0.041 ± 0.016	0.038 ± 0.013
ฟอสเฟต (µg - at P/L)	0.005 ± 0.003	0.006 ± 0.004
Alkalinity (mgCaCO ₃ /L)	129.6 ± 10.6	126.9 ± 4.1

2. การตรวจวัดสภาพในบ่อกุ้งเลี้ยงระหว่างบ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp. *Amphora* sp. และ *Navicula* sp.

จากการติดตามคุณภาพน้ำในบ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Nitzschia* sp. มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 26 – 34 ppt (ค่าเฉลี่ย = 30.2 ± 0.34 ppt) อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 20.1 – 30.3 องศาเซลเซียส (ค่าเฉลี่ย = 27.6 ± 0.38 องศาเซลเซียส) ค่าการละลายออกซิเจนในน้ำ (DO) มีค่าอยู่ระหว่าง 5.6 – 7.2 มิลลิกรัม / ลิตร (ค่าเฉลี่ย = 6.6 ± 0.004 มิลลิกรัม / ลิตร) และปริมาณธาตุอาหารมีค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.001 – 0.086 µg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.024 ± 0.019 µg - at N/L) ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.002 – 0.081 µg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.025 ± 0.018 µg - at N/L) ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.015 – 0.118 µg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.041 ± 0.026 µg - at N/L) ปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง < 0.001 – 0.011 µg - at P/L (ค่าเฉลี่ย = 0.004 ± 0.003 µg - at P/L) และค่า Alkalinity อยู่ในช่วง 70.0 – 220.0 mgCaCO₃/L (ค่าเฉลี่ย = 127.3 ± 18.1 mgCaCO₃/L)

จากการติดตามคุณภาพน้ำในบ่อกุ้งเลี้ยงที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Amphora* sp. มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 26 – 35 ppt (ค่าเฉลี่ย = 31.1 ± 3.0 ppt) อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 24.3 – 30.3 องศาเซลเซียส (ค่าเฉลี่ย = 27.7 ± 1.3 องศาเซลเซียส) และปริมาณธาตุอาหาร มีค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.010 – 0.130 µg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.029 ± 0.024 µg - at N/L) ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.002 – 0.091 µg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.031 ± 0.019 µg - at N/L) ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.019 – 0.097 µg - at N/L (ค่าเฉลี่ย = 0.042 ± 0.019 µg - at N/L) ปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.002 – 0.019 µg - at P/L (ค่าเฉลี่ย = 0.008 ± 0.004 µg - at P/L) และค่า Alkalinity อยู่ในช่วง 104.0 – 168.0 mgCaCO₃/L (ค่าเฉลี่ย = 130.0 ± 9.5 mgCaCO₃/L) (ตารางที่ 7)

จากการติดตามคุณภาพน้ำในบ่อดูดที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Navicula* sp. มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 26 – 35 ppt (ค่าเฉลี่ย = 31.1 ± 3.1 ppt) อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 22.5 – 35.5 องศาเซลเซียส (ค่าเฉลี่ย = 27.5 ± 1.6 องศาเซลเซียส) และปริมาณธาตุอาหาร มีค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.009 – 0.073 $\mu\text{g} - \text{at N/L}$ (ค่าเฉลี่ย = $0.022 \pm 0.016 \mu\text{g} - \text{at N/L}$) ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.006 – 0.067 $\mu\text{g} - \text{at N/L}$ (ค่าเฉลี่ย = $0.029 \pm 0.019 \mu\text{g} - \text{at N/L}$) ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.019 – 0.131 $\mu\text{g} - \text{at N/L}$ (ค่าเฉลี่ย = $0.045 \pm 0.027 \mu\text{g} - \text{at N/L}$) ปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.001 – 0.027 $\mu\text{g} - \text{at P/L}$ (ค่าเฉลี่ย = $0.007 \pm 0.006 \mu\text{g} - \text{at P/L}$) และค่า Alkalinity อยู่ในช่วง 88.0 – 158.0 mgCaCO_3/L (ค่าเฉลี่ย = $125.3 \pm 15.4 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$) (ตารางที่ 7)

ปริมาณธาตุอาหารในบ่อดูดของเบนทิกไดอะตอมทั้งสามชนิดนั้นมีค่าอยู่ในระดับที่ปลอดภัย (Safety Level) ต่อการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮื้อ นอกจากนี้ปริมาณธาตุอาหารในบ่อดูดแต่ละบ่อไม่มีความแตกต่างกันทั้งปริมาณแอมโมเนีย (Kruskal – Wallis test, $P = 0.514$) ไนไตรท์ (Kruskal – Wallis test, $P = 0.120$) ไนเตรท (Kruskal – Wallis test, $P = 0.418$) และค่า Alkalinity (Kruskal – Wallis test, $P = 0.318$) แต่พบว่ามีค่าแตกต่างกันในปริมาณฟอสเฟต (Kruskal – Wallis test, $P < 0.001$)

ตารางที่ 7 ค่าคุณภาพน้ำทะเลเปรียบเทียบระหว่างบ่อดูดที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย *Nitzschia* sp. *Amphora* sp. และ *Navicula* sp.

ปัจจัยแวดล้อมในบ่อดูด	บ่อดูดที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย <i>Nitzschia</i> sp.	บ่อดูดที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย <i>Amphora</i> sp.	บ่อดูดที่มีเฟลทอาหารเคลือบด้วย <i>Navicula</i> sp.
ความเค็ม (ppt)	30.2 ± 0.34	31.1 ± 3.0	31.1 ± 3.1
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	27.6 ± 0.38	27.7 ± 1.3	27.5 ± 1.6
ค่าการละลายออกซิเจนในน้ำ (DO) (มิลลิกรัม / ลิตร)	6.6 ± 0.004	-	-
แอมโมเนีย ($\mu\text{g} - \text{at N/L}$)	0.024 ± 0.019	0.029 ± 0.024	0.022 ± 0.016
ไนไตรท์ ($\mu\text{g} - \text{at N/L}$)	0.025 ± 0.018	0.031 ± 0.019	0.029 ± 0.019
ไนเตรท ($\mu\text{g} - \text{at N/L}$)	0.041 ± 0.026	0.042 ± 0.019	0.045 ± 0.027
ฟอสเฟต ($\mu\text{g} - \text{at P/L}$)	0.004 ± 0.003	0.008 ± 0.004	0.007 ± 0.006
Alkalinity (mgCaCO_3/L)	127.3 ± 18.1	130.0 ± 9.5	125.3 ± 15.4

ทั้งนี้คุณภาพน้ำและปริมาณธาตุอาหารในบ่อดูดไม่มีความแตกต่างกันมากนักอาจเนื่องมาจากระบบน้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นระบบน้ำแบบไหลผ่าน ซึ่งน้ำที่ใช้เป็นน้ำทะเลที่มาจากแหล่งเดียวกัน นอกจากนี้ตลอดการทดลองในแต่ละบ่อดูดได้ทำการให้อากาศตลอด 24 ชั่วโมงทำให้น้ำในแต่ละบ่อดูดค่อนข้างมีคุณภาพที่ดี

- การเปลี่ยนแปลงของเบนทิกไดอะตอมบนเพลทอาหาร

การศึกษาครั้งนี้ทำการทดลองด้วยเบนทิกไดอะตอม 3 ชนิด ได้แก่ *Nitzschia closterium*, *Navicula* sp. และ *Amphora costata* นอกจากนี้ยังได้ทดลองกับเบนทิกไดอะตอมที่ได้จากการล่อให้ลงเกาะตามธรรมชาติ ซึ่งได้ทำการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคม 2549 จนถึงเดือนพฤศจิกายน 2550 แบ่งเป็นการทดลองที่เริ่มต้นด้วยเบนทิกไดอะตอม *Nitzschia* จำนวน 2 ครั้ง การทดลองเริ่มด้วยเบนทิกไดอะตอม *Navicula* 1 ครั้ง เริ่มต้นการทดลองด้วย *Amphora* จำนวน 2 ครั้ง และเบนทิกไดอะตอมที่ได้จากธรรมชาติอีก 1 ครั้ง ดังตารางที่ 8

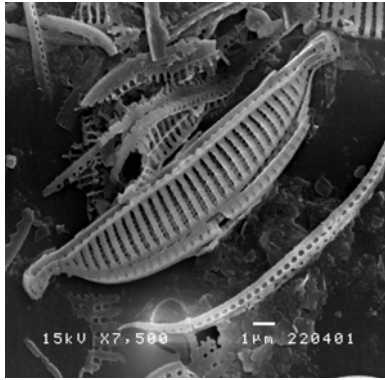
ตารางที่ 8 การทดลองการตอบสนองในการลงเกาะและการเติบโตของลูกหอยเป่าฮ็อบบนเบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆ

ลำดับ	เบนทิกไดอะตอมตั้งต้น	ช่วงเวลาที่ทดลอง
1	เบนทิกไดอะตอมธรรมชาติ	ธันวาคม 2549 – กุมภาพันธ์ 2550
2	<i>Nitzschia longissima</i>	มิถุนายน – กันยายน 2550
3	<i>Amphora costata</i>	สิงหาคม – พฤศจิกายน 2550
4	<i>Navicula</i> sp.	กันยายน – พฤศจิกายน 2550

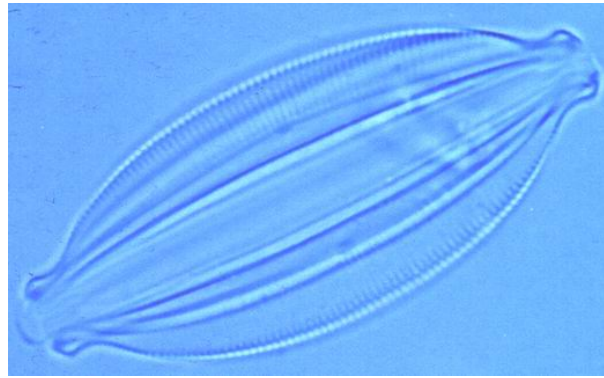
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทล่อให้ลูกหอยลงเกาะขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 8 หลังจากให้ลูกหอยลูกหอยระยะวัยน้ำ (Veliger) ลงเกาะ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทจากเบนทิกไดอะตอมที่ใช้เป็นชนิดเริ่มต้น และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทในช่วงเวลาต่างๆ พบว่าการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นล่อลูกหอยมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันไปตามชนิดของไดอะตอมตั้งต้น และช่วงเวลาในการศึกษา รวมทั้งความหนาแน่นเซลล์ของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นล่อลูกหอยก็มีความแตกต่างกันตามตำแหน่งของแผ่นล่อในบ่อทดลองและระยะเวลาที่ทดลองอีกด้วย โดยพบไดอะตอมสามารถเติบโตอยู่บนแผ่นเพลทได้หลากหลายถึง 26 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Belleriochea*, *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Entomoneis*, *Licmophora*, *Lyrella*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Paralia*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Pseudonitzschia*, *Rhizosolenia*, *Surirella*, *Thalassionema*, *Thalassiosira* และ *Triceratium* นอกจากนี้ไดอะตอมแล้วยังพบไซยาโนแบคทีเรียได้อีก 1 สกุล คือ *Oscillatoria* ดังตารางที่ 9 รวมทั้งสาหร่ายสีเขียวที่ไม่สามารถจำแนกได้ (unknown green algae) อีก 1 สกุล ทั้งนี้พบว่าไดอะตอมสกุลที่สามารถเติบโตขึ้นแทนที่เบนทิกไดอะตอมตั้งต้นได้ดี คือ *Asterionella*, *Cocconeis*, *Bacillaria* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* โดยที่เบนทิกไดอะตอมสกุล *Asterionella* และ *Cocconeis* เป็นสกุลที่สามารถเพิ่มจำนวนขึ้นแทนที่ได้ดีที่สุด รองลงมาคือไดอะตอมสกุล *Cylindrotheca*, *Bacillaria* และ ไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria*

ตารางที่ 9 สหราชอาณาจักรที่เติบโตบนแผ่นเพลทสำหรับให้ลูกหอยเป่าออลงเกาะ

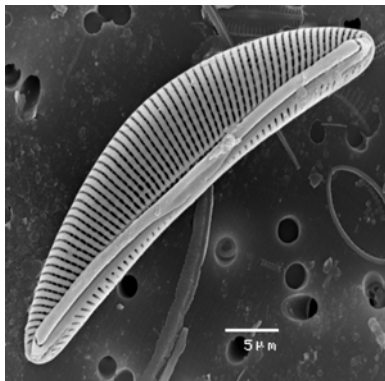
ดิวิชั่น	คลาส	อันดับ	วงศ์	สกุล
Cyanophyta	Cyanophyceae	Oscillatoria	Oscillatoriaceae	<i>Oscillatoria</i> <i>Plantkolyngbya</i>
Bacillariophyta	Coscinodiscophyceae	Thalassiosirales	Thalassiosiraceae	<i>Thalassiosira</i>
		Melosirales	Melosiraceae	<i>Melosira</i>
		Paraliales	Paraliaceae	<i>Paralia</i>
		Coscinodiscales	Coscinodiscaceae	<i>Actinoptycus</i>
		Triceratiales	Tricerataceae	<i>Odontella</i> <i>Triceratium</i>
		Biddulphiales	Thalassiosiraceae	<i>Cyclotella</i> <i>Biddulphia</i>
	Fragilariophyceae	Licmophorales	Licmophoraceae	<i>Licmophora</i>
		Fragilariales	Fragiriaceae	<i>Diatoma</i>
	Bacillariophyceae	Lyrellales	Lyrellaceae	<i>Lyrella</i>
		Achnanthes	Achnanthes	<i>Achnanthes</i>
			Cocconeidaceae	<i>Cocconeis</i>
		Naviculales	Diploneidaceae	<i>Diploneis</i>
			Naviculaceae	<i>Navicula</i> <i>Pleurosigma/</i> <i>Gyrosigma</i>
		Thalassiosiphysales	Catenulaceae	<i>Amphora</i>
		Thalassionemathales	Thalassionamataceae	<i>Thalassionema</i>
		Bacillariales	Bacillariophyceae	<i>Nitzschia</i> <i>Bacillaria</i> <i>Cylindrotheca</i>
			Nitzschiaceae	<i>Cylindrotheca</i>
		Surirellales	Surirellaceae	<i>Campyrodiscus</i>
		Pennales	Fragilariaceae	<i>Asterionella</i>
			Entomoneidaceae	<i>Entomoneis</i>



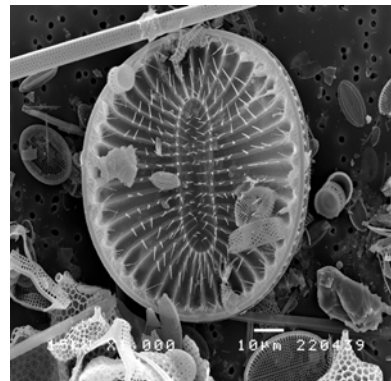
(ก)



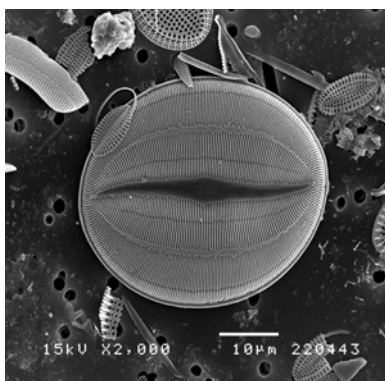
(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูปที่ 19 เบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท

(ก-ข) *Amphora costata* (ค) *Amphora robusta*

(ง) *Campyrodiscus* sp. (จ-ฉ) *Cocconeis* sp.



(ซ)



(ฌ)



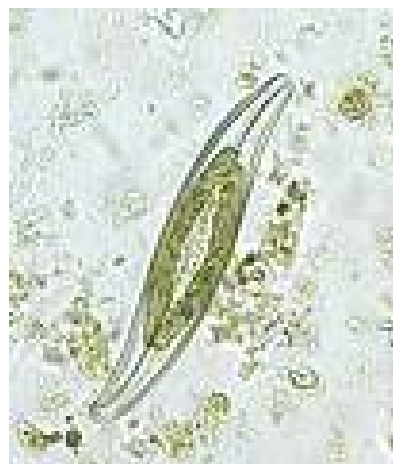
(ฉ)



(ญ)



(ฎ)

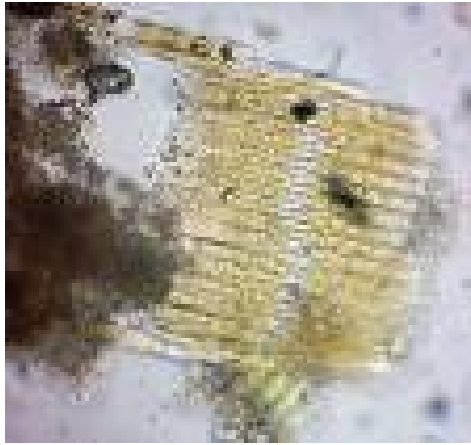


(ฏ)

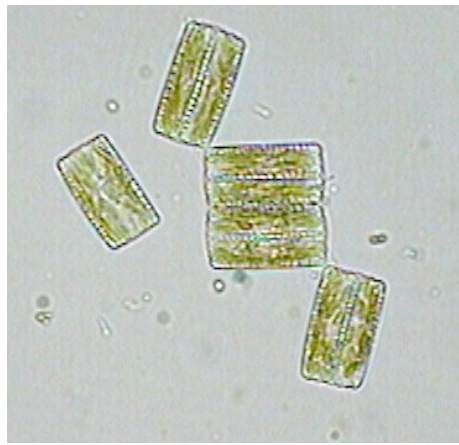
รูปที่ 20 เบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท (ต่อ)

(ซ-ฌ) *Navicula* sp. (ฉ) *Campyrodiscus* sp. (ญ) *Entomoneis* sp.

(ฎ) *Asterionella* sp. (ฏ) *Pleurosigma/Gyrosigma* sp.



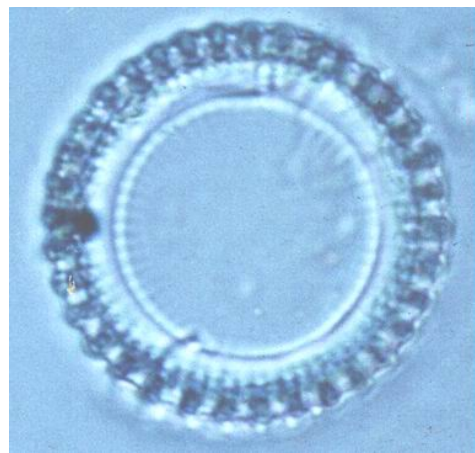
(ก)



(ท)



(ธ)



(น)

รูปที่ 21 เบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท (ต่อ)

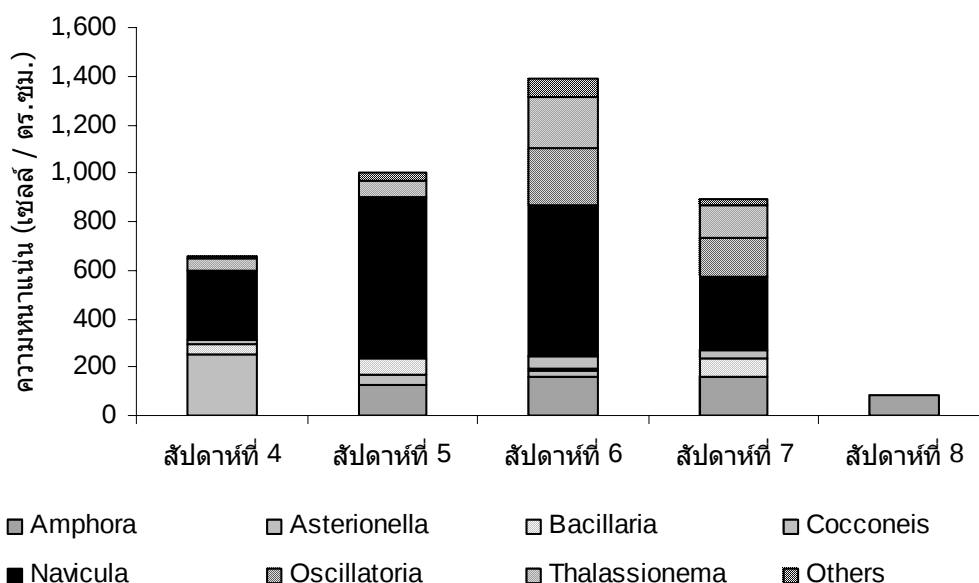
(ก) *Bacillaria* sp.

(ท) *Diatoma* sp.

(ธ) *Achananthes* sp.

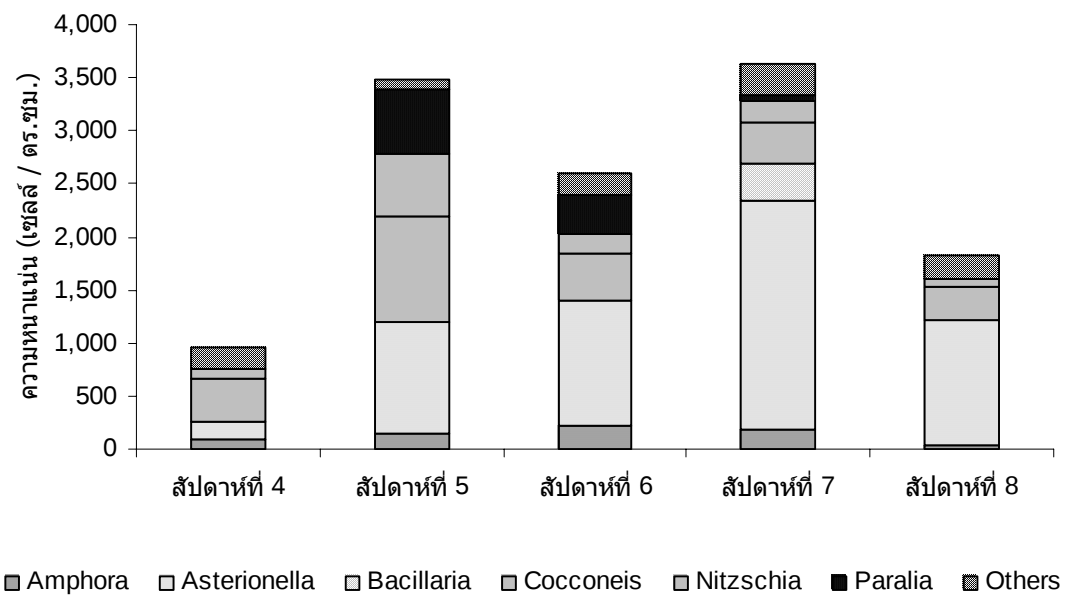
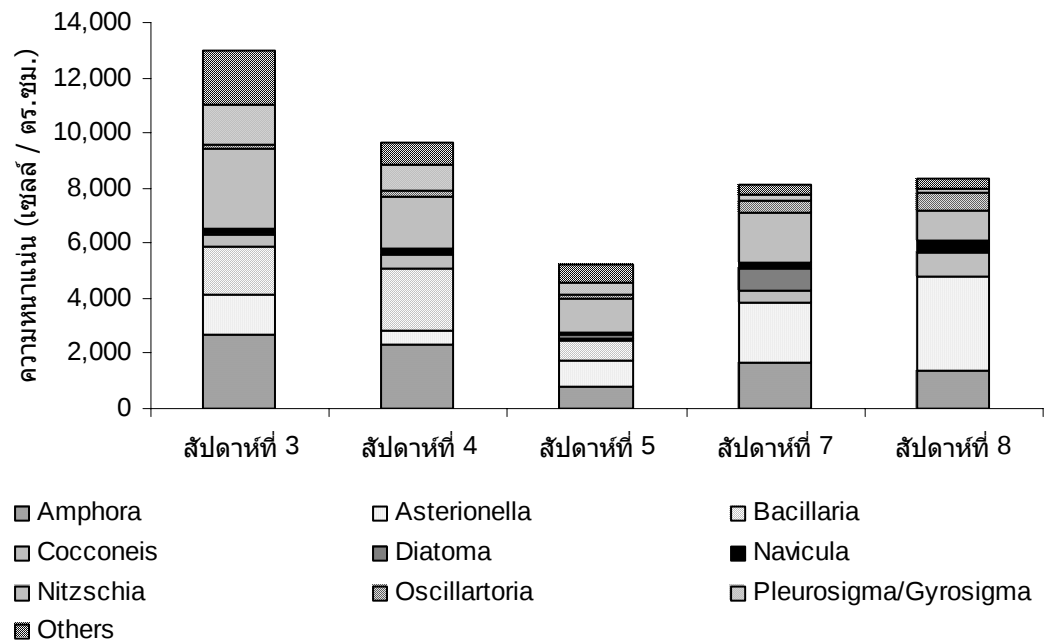
(น) *Paralia* sp.

เนื่องจากปัญหาการคัดเลือกเซลล์จากธรรมชาติมาเพาะเลี้ยงให้ได้เป็นหัวเชื้อเบนทิกไดอะตอมตั้งต้นสำหรับการทดลองในช่วงแรกของการศึกษาครั้งนี้ไม่ประสบความสำเร็จ จึงได้ทดลองกระตุ้นให้เบนทิกไดอะตอมเติบโตขึ้นบนแผ่นเพลทสำหรับล่อให้ลูกหอยลงเกาะโดยตรง ซึ่งไม่ต้องใช้หัวเชื้อไดอะตอมมาเป็นตัวตั้งต้น พบว่าสามารถกระตุ้นให้เบนทิกไดอะตอมเติบโตขึ้นจากน้ำธรรมชาติได้ตั้งนี้ เมื่อทดลองกระตุ้นให้เบนทิกไดอะตอมตามธรรมชาติเติบโตบนแผ่นเพลทที่จะใช้ล่อให้ลูกหอยเป่าฮื้อลงเกาะในเดือนธันวาคม 2549 ถึงกุมภาพันธ์ 2550 พบว่ามีเบนทิกไดอะตอมตามธรรมชาติสามารถเติบโตบนแผ่นเพลทได้ 11 ชนิด คือ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Pleurosigma/Gyrosigma* และ *Thalassionema* โดยไดอะตอมสกุลเด่นคือ *Asterionella* และ *Amphora* รองลงมาคือ *Nitzschia* และ *Navicula* นอกจากนี้ยังพบไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* และ *Planktolyngbya* บนแผ่นเพลทด้วย ดังรูปที่ 22 สำหรับความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทมีแนวโน้มความหนาแน่นเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 2-4 หลังจากให้ลูกหอยลงเกาะ ซึ่งมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง 654 – 1,391 เซลล์ / ตารางเซนติเมตร จากนั้นลดลงเป็น 894 เซลล์ ในสัปดาห์ที่ 6 และลดลงเรื่อยๆ จนถึง 87 เซลล์ในสัปดาห์ที่ 8 ทั้งนี้พบ *Navicula* และ *Asterionella* เป็นสกุลเด่นในช่วงแรก หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงของเบนทิกไดอะตอมชนิดเด่นเป็น *Navicula*, *Amphora* และ *Thalassionema* ขึ้นมาแทนที่ในสัปดาห์ที่ 3-6 ต่อมาในสัปดาห์ที่ 8 พบไดอะตอมชนิดเด่นคือ *Amphora* โดยมีความหนาแน่นเพียง 87 เซลล์//ตารางเซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบ *Oscillatoria* สามารถเติบโตได้ดีบนแผ่นเพลทในสัปดาห์ที่ 4



รูปที่ 22 การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนทิกไดอะตอมที่ได้จากธรรมชาติ

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมที่ใช้ *Nitzschia closterium* เป็นไดอะตอมชนิดเริ่มต้นบนแผ่นเพลทขนาด 10 x 10 เซนติเมตร หรือคิดเป็นพื้นที่ 200 ตารางเซนติเมตร ในช่วงสัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 8 หลังจากให้ลูกหอยระยะวัยน้ำลงเกาะ พบว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทจากเบนทิกไดอะตอมตั้งต้นเป็นไดอะตอมสกุลต่างๆ มีความแตกต่างกันตามช่วงเวลาในการทดลอง พบว่าการทดลองช่วงเดือนมิถุนายน-สิงหาคม 2550 มีความหลากหลายของเบนทิกไดอะตอมที่เติบโตบนแผ่นเพลทสูงกว่าในเดือนกรกฎาคม - กันยายน 2550 ทั้งนี้เบนทิกไดอะตอมสกุลที่พบรวม 20 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Belleochea*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Licmophora*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Oscillatoria*, *Paralia*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Thalassionema*, *Thalassisia* โดยความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทอยู่ในช่วง 1,320 – 12,960 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ซึ่งมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 และลดลงในสัปดาห์ที่ 5 จากนั้นกลับเพิ่มขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 7 ทั้งนี้ในช่วงสัปดาห์ที่ 0-3 มีองค์ประกอบหลักเป็น *Nitzschia*, *Amphora*, *Bacillaria*, *Asterionella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* เป็นสกุลเด่น และเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 7-8 มี *Asterionella*, *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นสกุลเด่น ดังรูปที่ 23 ส่วนการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทในเดือนกรกฎาคมพบว่าความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 960 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ในสัปดาห์ที่ 4 และเพิ่มขึ้นต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 7 จากนั้นกลับลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียง 1,824 เซลล์/ตารางเซนติเมตร โดยมี *Asterionella*, *Cocconeis*, *Paralia* และ *Nitzschia* เป็นสกุลเด่นในช่วงแรก และเปลี่ยนเป็น *Asterionella*, *Nitzschia* และ *Bacillaria* เป็นสกุลเด่นในสัปดาห์สุดท้าย จากที่พบความหลากหลายสกุลทั้งสิ้น 16 สกุล

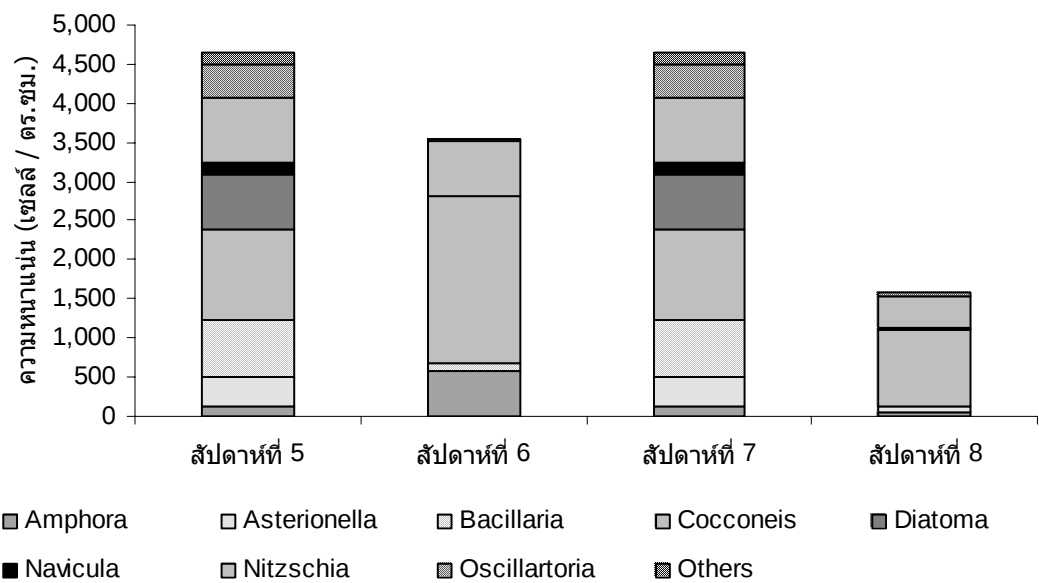
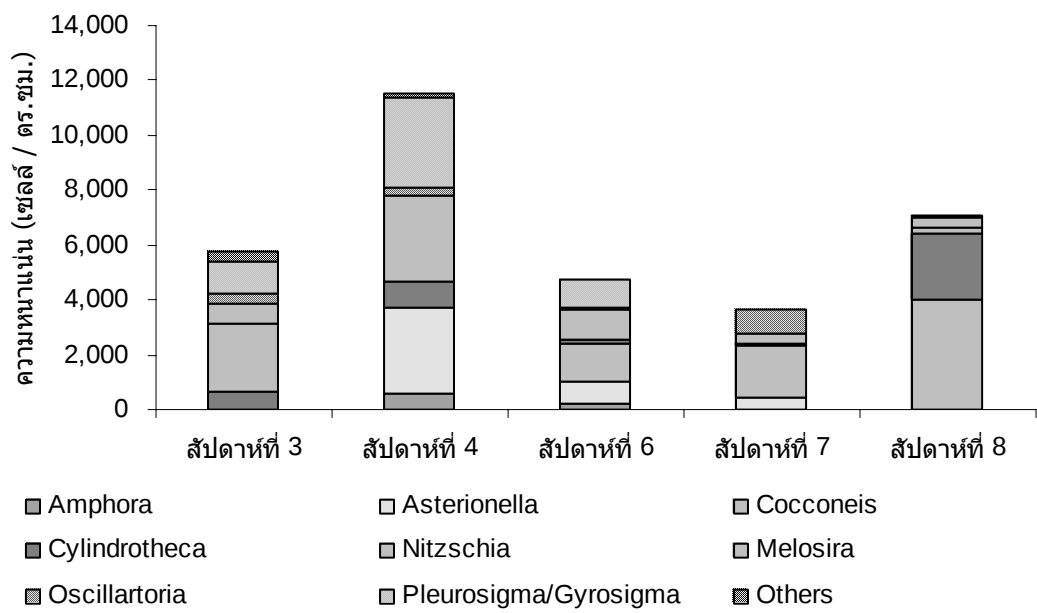


รูปที่ 23 การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนิทิกไดอะตอมที่เริ่มต้นด้วย *Nitzschia closterium*

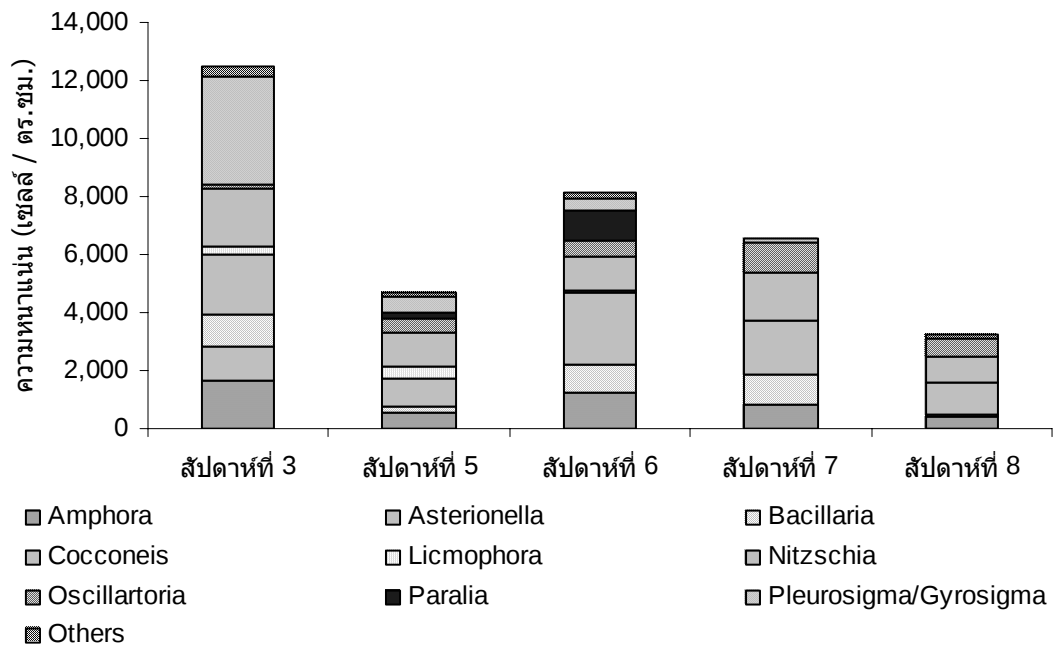
เดือนมิถุนายน – สิงหาคม 2550 (บน) เดือนกรกฎาคม – กันยายน 2550 (ล่าง)

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมที่ใช้ *Amphora costata* เป็นไดอะตอมชนิดเริ่มต้นบนแผ่นเพลทขนาด 10 x 10 เซนติเมตร หรือคิดเป็นพื้นที่ 200 ตารางเซนติเมตร ในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 8 หลังจากให้ลูกหอยระยะวัยน้ำลงเกาะ พบว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทจากเบนทิกไดอะตอมตั้งต้นเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงเวลาในการทดลอง ทั้งนี้การทดลองช่วงเดือน สิงหาคม-กันยายน 2550 มีความหลากหลายของเบนทิกไดอะตอมที่เติบโตบนแผ่นเพลทรวม 11 สกุล ซึ่งน้อยกว่าที่พบในเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน 2550 ที่มีความหลากหลายสกุลของไดอะตอมรวม 14 สกุล ทั้งนี้เบนทิกไดอะตอมสกุลที่พบ ได้แก่ *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Actinoptycus*, *Diatoma*, *Navicula*, *Cocconeis*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Licmophora*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* นอกจากนี้พบไซยานแบคทีเรีย 1 สกุล คือ *Oscillatoria* โดยความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทอยู่ในช่วง 1,600 - 8,050 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ซึ่งมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจากสัปดาห์ที่ 3 จนถึงสัปดาห์ที่ 8 ทั้งนี้ในช่วงสัปดาห์ที่ 3-5 มีองค์ประกอบหลักเป็น *Nitzschia*, *Amphora*, *Bacillaria*, *Asterionella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* เป็นสกุลเด่น และเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 7-8 มี *Asterionella*, *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นสกุลเด่น ส่วนการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทในเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน 2550 พบว่าความหนาแน่นเซลล์ลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 ถึง สัปดาห์ที่ 8 จากความหนาแน่น 4,660 เซลล์/ตารางเซนติเมตร และลดลงเหลือเพียง 1,580 เซลล์/ตารางเซนติเมตร โดย *Cocconeis*, *Nitzschia*, *Diatoma*, *Bacillaria* และ *Oscillatoria* เป็นสกุลเด่นตลอดช่วงการทดลอง แต่พบในความหนาแน่นลดลงเท่านั้น ดังรูปที่ 24

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมที่ใช้ *Navicula* sp. เป็นไดอะตอมชนิดเริ่มต้นบนแผ่นเพลทขนาด 10 x 10 เซนติเมตร หรือคิดเป็นพื้นที่ 200 ตารางเซนติเมตร ในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 8 หลังจากให้ลูกหอยระยะวัยน้ำลงเกาะ โดยทำการทดลองในกันยายน - พฤศจิกายน 2550 และพบว่าองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาทดลอง อยู่ในช่วงความหนาแน่น 3,250 - 12,450 เซลล์/ตารางเซนติเมตร มีความหลากหลายสกุลรวม 16 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Licmophora*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Oscillatoria*, *Paralia* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* ซึ่งมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 5 สัปดาห์ของการทดลอง สำหรับองค์ประกอบชนิดเบนทิกไดอะตอมที่พบมีการเปลี่ยนแปลงสกุลเด่นตลอดช่วงการทดลองเช่นกัน โดยในสัปดาห์ที่ 3 มี *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Cocconeis*, *Nitzschia*, *Amphora* และ *Asterionella* เป็นสกุลเด่น ต่อมาในสัปดาห์ที่ 6 พบ *Cocconeis*, *Nitzschia* และ *Amphora* รวมทั้ง *Oscillatoria* เป็นสกุลเด่นต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งเป็นสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ดังรูปที่ 25



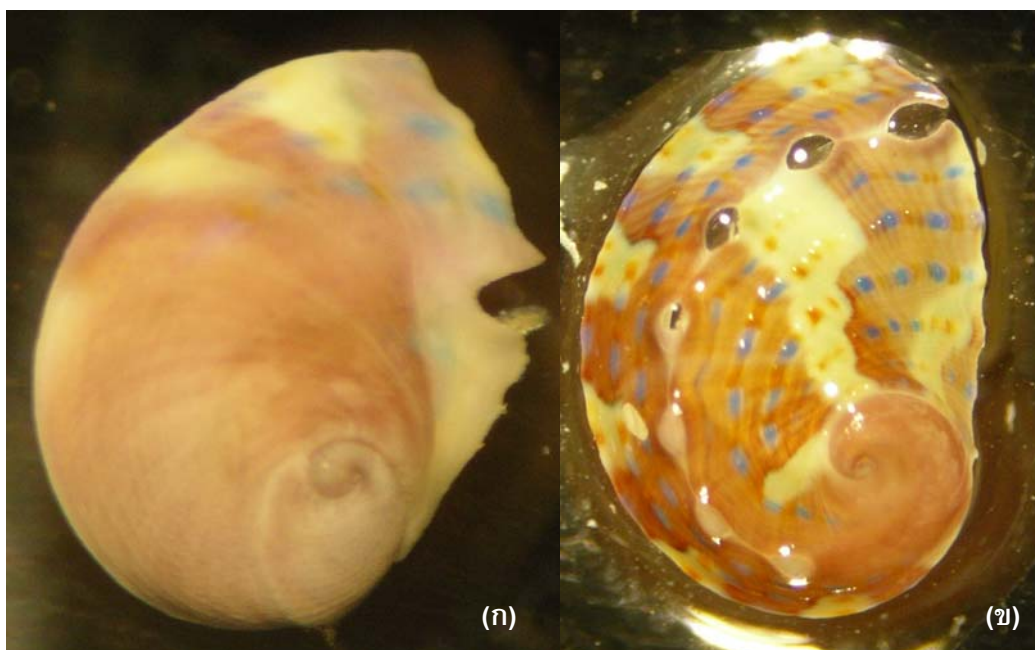
รูปที่ 24 การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนิทิกไดอะตอมที่เริ่มต้นด้วย *Amphora costata*
 เดือนสิงหาคม - ตุลาคม 2550 (บน) เดือนกันยายน - พฤศจิกายน 2550 (ล่าง)



รูปที่ 25 การเปลี่ยนแปลงชนิดเบนทิกไดอะตอมที่เริ่มต้นด้วย *Navicula* sp. เดือนกันยายน - พฤศจิกายน 2550

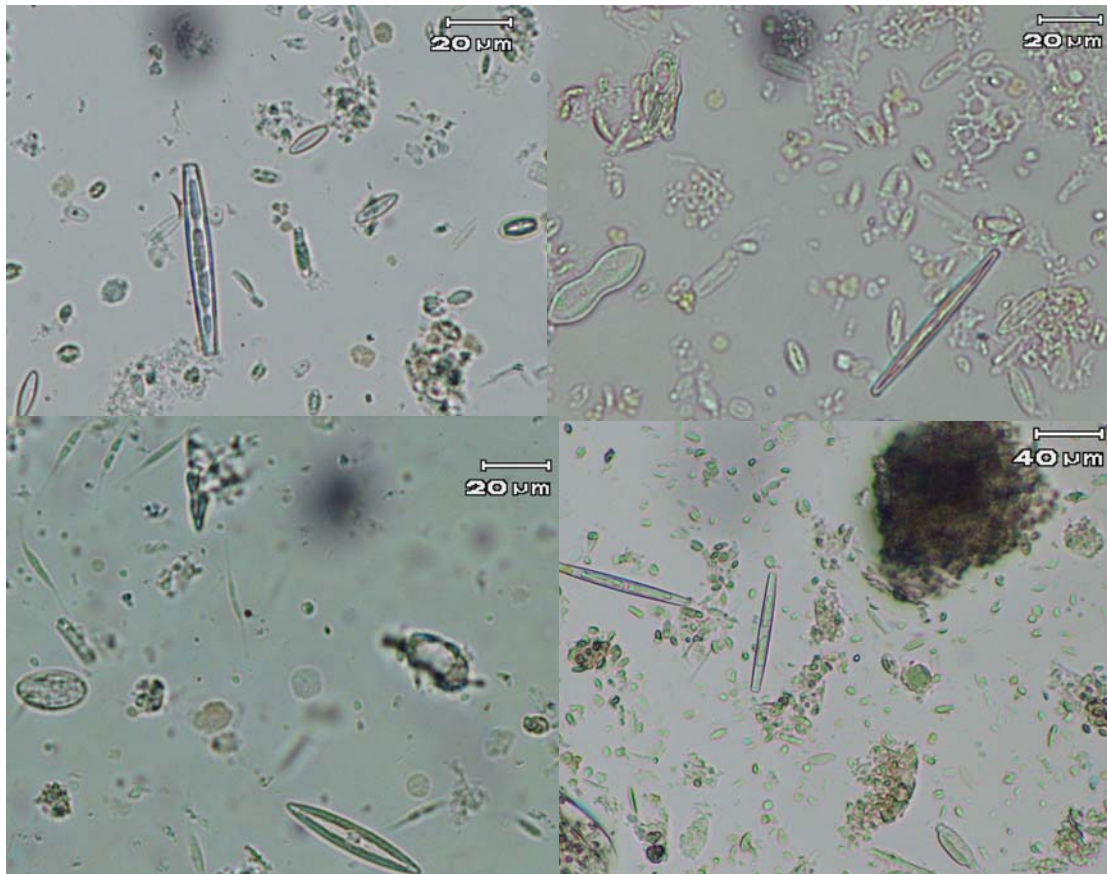
- การศึกษาการกินอาหารของลูกหอยเป่าอี้อระยะลงเกาะ

การศึกษาค้นคว้านี้ติดตามการกินอาหารของลูกหอยเป่าอี้อระยะลงเกาะตลอดระยะเวลาหลังจากให้ลูกหอยเกาะบนแผ่นล่อลูกหอยที่มีเบนทิกไดอะตอมเคลือบอยู่ ซึ่งแผ่นล่อให้ลูกหอยลงเกาะมีขนาด 10x10 เซนติเมตร หรือคิดเป็น 200 ตารางเซนติเมตร การติดตามการกินอาหารของลูกหอยระยะดังกล่าวจะเริ่มดำเนินการหลังจากปล่อยให้ลูกหอยลงเกาะแล้ว 3-5 สัปดาห์ เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่ลูกหอยลงเกาะอย่างสมบูรณ์และสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า โดยในช่วงหลังจากปล่อยให้ลงเกาะแล้ว 3-5 สัปดาห์จะสังเกตเห็นลูกหอยที่เกาะอยู่บนแผ่นเพลทได้จากลักษณะสีเปลือกของตัวลูกหอยมีสีชมพูอ่อน (รูปที่ 26 ก.) จากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปเข้าสู่สัปดาห์ที่ 5-6 ลูกหอยมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเขียวนปนพร้อมกับสีชมพูเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดงอมน้ำตาล และเริ่มเห็นรูเปิดช่องแรกๆ บนเปลือก จากนั้นสีเปลือกจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงเข้มพร้อมกับขนาดเปลือกที่ใหญ่ขึ้นและจำนวนรูเปิดเพิ่มมากขึ้นด้วย (รูปที่ 26 ข.) การศึกษาค้นคว้านี้ใช้วิธีการผ่ากระเพาะลูกหอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (stereo microscope) และจำแนกเซลล์เบนทิกไดอะตอมที่พบ (รูปที่ 27) พร้อมบันทึกผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope) โดยใช้ตัวอย่างลูกหอยจากการทดลองการลงเกาะบนแผ่นเพลทเบนทิกไดอะตอม ผลการศึกษากินอาหารจะทำให้ทราบว่าลูกหอยเป่าอี้อในระยะลงเกาะจะเลือกลงเกาะกับเบนทิกไดอะตอมชนิดใดมากที่สุด และแต่ละช่วงเวลากินเจริญเติบโตจะสามารถกินเบนทิกไดอะตอมชนิดใดได้บ้าง และเป็นชนิดที่กำหนดให้ตั้งต้นหรือเป็นชนิดที่เติบโตเปลี่ยนแปลงแทนที่อยู่บนแผ่นเพลทล่อลูกหอยหรือไม่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลปรับปรุงการผลิตลูกหอยได้ในอนาคต



รูปที่ 26 ลักษณะเปลือกของลูกหอยเป่าที่อยู่บนแผ่นเพลทเบนทิกไดอะตอม

- ก. ลักษณะเปลือกลูกหอยเมื่อลงเกาะได้ 4-5 สัปดาห์
- ข. ลักษณะเปลือกลูกหอยเมื่อลงเกาะได้ 8 สัปดาห์



รูปที่ 27 เบนทิกไดอะตอมชนิดต่างๆในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าอื้อ

ผลการศึกษารวบรวมองค์ประกอบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป่าฮือระยะลงเกาะพบเบเนติกไดอะตอมในกระเพาะอาหารรวมทั้งสิ้น 11 สกุล ได้แก่ *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella*, *Oscillartoria*, และ *Pleurosigma/Gyrosigma* โดยเบเนติกไดอะตอมสกุลที่มีความถี่ในการพบมากที่สุดคือ *Navicula* รองลงมาเป็น *Nitzschia* และ *Amphora* ทั้งนี้จำนวนสกุลของเบเนติกไดอะตอมที่พบในกระเพาะอาหารลูกหอยส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 1-3 สกุล และพบสูงสุดเท่ากับ 6 สกุล ในตัวอย่างลูกหอยจากแผ่นเพลทซึ่งเริ่มต้นด้วยเบเนติกไดอะตอมจากธรรมชาติหลังจากลงเกาะได้ 7 สัปดาห์

องค์ประกอบกระเพาะอาหารในลูกหอยที่ล่อให้ลงเกาะด้วยไดอะตอมตามธรรมชาติพบเบเนติกไดอะตอมจำนวน 6 สกุล ได้แก่ *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Diploneis*, *Navicula*, *Licmophora* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* แนวโน้มจำนวนสกุลที่ลูกหอยกินได้มีเพิ่มขึ้น โดยสัปดาห์ที่ 6 พบจำนวนสกุลมากที่สุด และมี *Navicula* เป็นสกุลที่พบได้ตลอดระยะเวลาที่ลูกหอยเจริญเติบโตอยู่บนแผ่นเพลท ดังตารางที่ 10 และเบเนติกไดอะตอมที่พบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป็นกลุ่มเด่นที่พบอยู่บนแผ่นเพลท

ตารางที่ 10 องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮือที่เริ่มต้นด้วยเบเนติกไดอะตอมธรรมชาติ (n=25)

ลำดับ	สกุล	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
1	<i>Amphora</i>	-	*	-	*	-
2	<i>Bacillaria</i>	-	-	*	*	*
3	<i>Campyrodiscus</i>	-	-	-	-	*
4	<i>Diploneis</i>	-	-	-	*	-
5	<i>Navicula</i>	*	-	*	*	*
6	<i>Licmophora</i>	-	-	-	*	-
7	<i>Pleurosigma/Gyrosigma</i>	-	-	-	*	-
	รวม	1	1	2	6	3

องค์ประกอบกระเพาะอาหารในลูกหอยที่ล่อให้ลงเกาะด้วย *Nitzschia closterium* ในการทดลองเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม 2550 และ เดือนกรกฎาคมถึงกันยายน 2550 พบเบเนติกไดอะตอมรวม 7 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Campyrodiscus*, *Navicula*, *Nitzschia* และ *Licmophora* นอกจากนี้ยังพบไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุล คือ *Oscillartoria* แนวโน้มจำนวนสกุลที่ลูกหอยกินได้มีเพิ่มขึ้นในชุดการทดลอง เดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม 2550 โดยส่วนใหญ่พบจำนวน 3 สกุลในแต่ละสัปดาห์ ซึ่งในสัปดาห์ที่ 7 มีเพียงสกุลเดียวที่พบในกระเพาะอาหาร ดังตารางที่ 11 สำหรับการทดลองในเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน 2550 พบองค์ประกอบชนิดในกระเพาะลูกหอย มีจำนวน

สกุลลดลงตามระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป และ *Navicula* เป็นสกุลที่พบได้ตลอด และเบนทิกไดอะตอมที่พบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป็นกลุ่มเด่นที่พบอยู่บนแผ่นเพลทด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 11 องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าอื้อที่เริ่มต้นด้วย *Nitzschia closterium* (n=25)

ลำดับ	สกุล	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 7	สัปดาห์ที่ 8
เดือนมิถุนายน – สิงหาคม 2550						
1	<i>Amphora</i>			*		*
2	<i>Bacillaria</i>		*			
3	<i>Cocconeis</i>			*		
4	<i>Navicula</i>	*				*
5	<i>Nitzschia</i>	*	*		*	
6	<i>Licmophora</i>	*	*			*
7	<i>Oscillatoria</i>			*		
	รวม	3	3	3	1	3
เดือนกรกฎาคม – กันยายน 2550						
1	<i>Amphora</i>	*	*			
2	<i>Bacillaria</i>				*	
3	<i>Campyrodiscus</i>			*		
4	<i>Navicula</i>	*	*			*
5	<i>Nitzschia</i>	*		*		
	รวม	3	2	2	1	1

องค์ประกอบกระเพาะอาหารในลูกหอยที่ล่อให้ลงเกาะด้วย *Amphora costata* ในการทดลองเดือนสิงหาคมถึงตุลาคม 2550 และ เดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน 2550 พบเบนทิกไดอะตอมรวมทั้งสิ้น 7 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* ส่วนใหญ่พบจำนวนสกุลเบนทิกไดอะตอมในกระเพาะลูกหอย 1-2 สกุล โดยพบ *Navicula* ได้ตลอดการทดลองเดือนสิงหาคมถึงตุลาคม 2550 และสำหรับการทดลองในเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน 2550 พบ *Nitzschia* ได้ทุกสัปดาห์ ดังตารางที่ 12 ทั้งนี้เบนทิกไดอะตอมที่พบในกระเพาะอาหารลูกหอยเป็นกลุ่มเด่นที่พบอยู่บนแผ่นเพลทอีกด้วย

ตารางที่ 12 องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮือที่เริ่มต้นด้วย *Amphora* (n=30)

ลำดับ	สกุล	สัปดาห์ ที่ 3	สัปดาห์ ที่ 4	สัปดาห์ ที่ 5	สัปดาห์ ที่ 6	สัปดาห์ ที่ 7	สัปดาห์ ที่ 8
เดือนสิงหาคม–กันยายน 2550							
1	<i>Bacillaria</i>					*	
2	<i>Cocconeis</i>			*			*
3	<i>Navicula</i>	*	*	*	*	*	*
4	<i>Licmophora</i>			*			
5	<i>Odontella</i>				*		
6	<i>Pluerosigma/Gyrosigma</i>				*		
	รวม	1	1	3	3	2	2
เดือนกันยายน–พฤศจิกายน 2550							
1	<i>Cocconeis</i>				*		*
2	<i>Nitzschia</i>	*	*	*	*	*	*
3	<i>Odontella</i>			*	*	*	
	รวม	1	1	2	3	2	2

องค์ประกอบกระเพาะอาหารในลูกหอยที่ปล่อยให้ลงเกาะด้วย *Navicula* sp. ในเดือนกันยายน ถึงพฤศจิกายน 2550 พบเบเนทิกไดอะตอมรวม 3 สกุล คือ *Amphora*, *Navicula* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* ส่วนใหญ่พบจำนวนสกุลเบเนทิกไดอะตอมในกระเพาะลูกหอยเพียง 1 สกุล โดยพบ *Navicula* ได้ตลอดการทดลอง รองลงมาคือ *Amphora* ดังตารางที่ 13 ทั้งนี้พบว่าในสัปดาห์ที่ 3 นั้นเบเนทิกไดอะตอมบนสกุลเด่นบนแผ่นเพลทมีด้วยกันหลายสกุล เช่น *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Cocconeis*, *Nitzschia* และ *Amphora* แต่พบเพียง *Amphora* ในกระเพาะลูกหอยเท่านั้น

ตารางที่ 13 องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าฮือที่เริ่มต้นด้วย *Navicula* (n=30)

ลำดับ	สกุล	สัปดาห์ ที่ 3	สัปดาห์ ที่ 4	สัปดาห์ ที่ 5	สัปดาห์ ที่ 6	สัปดาห์ ที่ 7	สัปดาห์ ที่ 8
1	<i>Amphora</i>	*	*	*			*
2	<i>Navicula</i>		*	*	*	*	*
3	<i>Pluerosigma/Gyrosigma</i>						*
	รวม	1	2	2	1	1	3

วิจารณ์ผลการทดลอง

- การตอบสนองของลูกหอยเป่าฮือ *H. asinina* ต่อ เบนทิกไดอะตอม

จากการทดสอบผลของการตอบสนองในการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือ *H. asinina* ต่อเบนทิกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp., *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. โดยการนับจำนวนตัวของลูกหอยเป่าฮือที่เกาะบนเพลทไดอะตอมในระยะที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าหลังจากปล่อยให้ลูกหอยลงเกาะแล้วประมาณ 3 สัปดาห์แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลงเกาะพบว่า ลูกหอยมีการลงเกาะในแผ่นอาหารที่เคลือบตั้งต้นด้วย *Nitzschia cloterium* มากที่สุดรองลงมาคือ *Amphora costata* และ *Navicula* sp. ตามลำดับ (รูปที่ 9) ซึ่งผลการวิจัยที่ได้มีความแตกต่างจากการศึกษาโดย Gapasin and Polohan (2005) ในหอยเป่าฮือชนิด *H. asinina* เช่นกัน ซึ่งรายงานไว้ว่าเบนทิกไดอะตอมชนิด *Amphora* sp. สามารถชักนำการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับเบนทิกไดอะตอมชนิด *Nitzschia* sp. และ *Nitzschia cf. frustulum* แต่จากการทดลองปล่อยให้ลูกหอยเป่าฮือลงเกาะด้วยเบนทิกไดอะตอมชนิดเดียว พบว่ามีการลงเกาะของลูกหอยระยะวัยน้ำมากกว่าเพลทอาหารที่เตรียมจากเบนทิกไดอะตอมจากธรรมชาติ ซึ่งมีไดอะตอมหลายชนิดอยู่บนกันทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Gallardo and Buen (2003) ที่ได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบการชักนำการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮือชนิด *H. asinina* ระหว่างเบนทิกไดอะตอม *Navicula* sp. และ เพลทอาหารที่มีไดอะตอมอยู่หลายชนิด พบว่าเพลทอาหารเบนทิกไดอะตอม *Navicula* sp. ให้การตอบสนองการลงเกาะที่ดีกว่าเพลทอาหารที่มีไดอะตอมเคลือบอยู่หลายชนิด

ในการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของลูกหอยไม่สูงนักโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $4.5 \pm 5.5 \%$ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Gapasin and Polohan (2005) และ Pang *et al.* (2006) อาจเนื่องมาจากขนาดของระบบการทดลองที่มีความแตกต่างกัน และจากการทดลองนี้ระยะที่ปล่อยให้ลูกหอยระยะวัยน้ำลงบ่อทดลองและระยะที่ทำการสำรวจเก็บข้อมูลค่อนข้างกินเวลาระยะหนึ่งและระบบที่ใช้ในการทดลองเป็นการจำลองบ่อการเลี้ยงจริงซึ่งเป็นระบบเปิดและระบบที่มีขนาดใหญ่กว่า อาจมีบางปัจจัยทำให้ลูกหอยบางส่วนได้ตายลงระหว่างระยะเวลาดังกล่าวได้ เช่นเดียวกับการศึกษาในก่อนหน้านี้ ที่มีรายงานไว้ว่าการทดลองในระบบทดลองที่ขนาดใหญ่ขึ้นจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การลงเกาะที่น้อยลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากหลายปัจจัยได้แก่ ความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนเพลทอาหาร ความเข้มแสง คุณภาพน้ำ และปริมาณแบคทีเรีย (Pang *et al.*, 2006) เป็นต้น

- การเติบโต การกินอาหารและการเปลี่ยนแปลงของเบนทิกไดอะตอมบนเพลทอาหาร

จากผลการศึกษาเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทปล่อยให้ลูกหอยลงเกาะพบความหลากหลายของเบนทิกไดอะตอมที่เคลือบอยู่บนแผ่นเพลทถึง 26 สกุล นอกจากไดอะตอมแล้วยังพบไซยาโนแบคทีเรียอีก 1 สกุลคือ *Oscillatoria* โดยสกุลของเบนทิกไดอะตอมที่สามารถเติบโตเคลือบอยู่บนแผ่นเพลทเป็นสกุลเบนทิกไดอะตอมที่พบได้ทั่วไป และมีรายงานจากการศึกษาอื่นๆ ซึ่งไดอะตอมกลุ่มนี้สามารถเติบโตได้บนพื้นผิววัสดุต่างๆ ทั้งในสภาพธรรมชาติและในระบบการเพาะเลี้ยง (อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และคณะ, 2545; Roberts *et al.*, 2003) จะเห็นว่าไดอะตอมที่พบเคลือบอยู่บนแผ่นเพลทมีการเปลี่ยนแปลงเติบโตแทนที่ และความหนาแน่นเซลล์บนแผ่นเพลทตามช่วงเวลาเก็บ

ตัวอย่าง รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในบ่อทดลอง เช่น ความเค็ม ปริมาณสารอาหาร และกลุ่มของเบนทิกไดอะตอมที่สามารถเติบโตขึ้นมาแทนที่ไดอะตอมตั้งต้นด้วย อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองที่มีพื้นฐานการจำลองระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์มาใช้ ดังนั้นสำหรับขนาดเล็กจากน้ำทะเลธรรมชาติจึงสามารถหลุดรอดเข้าสู่ระบบบ่อทดลองได้ รวมทั้งปริมาณสารอาหารละลายน้ำและความเค็มของน้ำทะเลพบว่าอยู่ในระดับความเข้มข้นในช่วงที่พบได้ในน้ำทะเลบริเวณเกาะสีชัง (สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ, 2548) ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมในการศึกษาครั้งนี้ คือความเค็มน้ำทะเล ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทเกิดขึ้นตลอดเวลา โดยพบว่า *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นสกุลที่สามารถพบได้ทุกช่วงเวลาในทุกการทดลอง เนื่องจากทั้งสองสกุลเป็นไดอะตอมที่สามารถเติบโตได้ดีในช่วงความเค็มตั้งแต่ 15-35 ppt โดยเฉพาะ *Amphora* (Redekar and Wagh, 2000) ซึ่งความเค็มน้ำทะเลในบ่อทดลองครั้งนี้มีค่าอยู่ในช่วง 25-34 ppt หากพิจารณาการเปลี่ยนแปลงแทนที่ด้วยไดอะตอมสกุลอื่นๆ ที่พบบนแผ่นเพลทพบว่าไดอะตอมสกุลที่สามารถเติบโตขึ้นแทนที่เบนทิกไดอะตอมตั้งต้นได้ดี คือ *Asterionella*, *Cocconeis*, *Bacillaria* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* โดยเฉพาะเบนทิกไดอะตอมสกุล *Asterionella* และ *Cocconeis* เป็นสกุลที่สามารถเพิ่มจำนวนขึ้นแทนที่ได้ดีที่สุด (ตารางที่ 1) เนื่องจาก *Asterionella* เป็นไดอะตอมที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มโคโลนีไม่ต่ำกว่า 10 เซลล์ในแต่ละโคโลนี ทำให้ติดเกาะติดและเติบโตเพิ่มจำนวนแผ่ขยายแบบสายตามแผ่นเพลทได้ ส่วน *Cocconeis* เป็นไดอะตอมเซลล์เดี่ยวที่มีการเกาะติดกับพื้นผิววัสดุได้อย่างดี (Zrinka et al., 2004) สำหรับความหนาแน่นเซลล์ของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลทขนาด 200 ตารางเซนติเมตร มีค่าอยู่ในช่วง 17,000- 5,000,000 เซลล์ โดยความหนาแน่นบนแผ่นเพลทจากเบนทิกไดอะตอมธรรมชาติมีความหนาแน่นน้อยที่สุดเพียง 17,000-200,000 เซลล์เท่านั้น ส่วนแผ่นเพลทเริ่มต้นด้วย *Nitzschia* มีความหนาแน่นสูงที่สุด รองลงมาเป็นแผ่นเพลทที่เริ่มต้นด้วย *Navicula* และ *Amphora* ที่ระดับความหนาแน่นอยู่ในช่วง 650,000 – 5,300,000 เซลล์/200 ตารางเซนติเมตร หรือเท่ากับ 1,500 – 25,000 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ Zrinka et al. (2004) ซึ่งพบความหนาแน่นของเบนทิกไดอะตอมบนพื้นผิววัสดุมากกว่า 10^6 เซลล์/ตารางเซนติเมตร

องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าอื้อแสดงให้เห็นถึงการกินอาหารของลูกหอยเป่าอื้อซึ่งพบว่าลูกหอยเป่าอื้อสามารถกินสาหร่ายขนาดเล็กที่เคลือบอยู่บนแผ่นเพลทได้รวม 11 สกุล และไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุล เบนทิกไดอะตอมที่ลูกหอยกินได้แก่ *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella*, *Pleurosigma/Gyrosigma* ส่วนไซยาโนแบคทีเรีย คือ *Oscillatoria* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Matthews and Cook (1995) ที่พบ *Cocconeis*, *Amphora*, *Achnanthes*, *Diploneis* และ *Nitzschia* ในกระเพาะลูกหอยเป่าอื้อ *H. midae* เช่นกัน จากเบนทิกไดอะตอมที่พบบนแผ่นเพลท 26 สกุล โดยมี *Navicula*, *Nitzschia*, *Amphora* เป็นเบนทิกไดอะตอมสกุลที่มีความถี่ในการพบในกระเพาะลูกหอยเป่าอื้อตามลำดับ เมื่อพิจารณาตารางที่ 14 จะเห็นได้ว่าแม้บนแผ่นเพลทที่มีไดอะตอมเคลือบอยู่หลายชนิดแต่ลูกหอยสามารถกินไดอะตอมหรือเลือกกินไดอะตอมเพียงไม่กี่สกุล โดยเฉพาะไดอะตอม 3 สกุลข้างต้น ทั้งนี้เนื่องจาก *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นไดอะตอมเซลล์เดี่ยว และลูกหอยสามารถครูดกินเข้าสู่ช่องปากได้ง่ายกว่าสกุลอื่น เช่น *Asterionella* และ *Bacillaria* ซึ่งมักพบเป็นสกุลเด่นบางช่วงแต่ลูกหอยไม่สามารถครูดกินเข้าสู่ช่องปากได้เนื่องจากมีลักษณะเป็นโคโลนีขนาดใหญ่

กว่าช่องปากของลูกหอย นอกจากนี้ไดอะตอมทั้งสามสกุลเป็นสกุลที่ลูกหอยเป่าอ้อสามารถย่อยได้ดี โดยเฉพาะ *Nitzschia* ตามที่มีรายงานไว้ในการศึกษาของ Kawamura, et al. (1998) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 15

ตารางที่ 14 เบนทิกไดอะตอมบนแผ่นเพลท และในกระเพาะอาหารลูกหอยเป่าอ้อ

สกุล	เริ่มต้นด้วย Natural		เริ่มต้นด้วย <i>Nitzschia</i>		เริ่มต้นด้วย <i>Amphora</i>		เริ่มต้นด้วย <i>Navicula</i>	
	pl	st	pl	st	pl	st	pl	st
<i>Achnanthes</i>	/	-	/	-	-	-	/	-
<i>Actinoptycus</i>	-	-	-	-	/	-	-	-
<i>Amphora</i>	/	*	/	*	/	-	/	*
<i>Asterionella</i>	/	-	/	-	/	-	/	-
<i>Bacillaria</i>	/	*	/	*	/	*	/	*
<i>Bellaerochea</i>	-	-	/	-	-	-	-	-
<i>Campyrodiscus</i>	/	*	/	-	-	-	/	-
<i>Cocconeis</i>	/	-	/	*	/	-	/	*
<i>Cyclotella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cylindrotheca</i>	-	-	/	-	/	-	/	-
<i>Diploneis</i>	/	*	/	-	/	-	/	-
<i>Diatoma</i>	-	-	/	-	/	-	-	-
<i>Entomoneis</i>	-	-	/	-	-	-	-	-
<i>Licmophora</i>	-	*	/	*	/	*	/	*
<i>Lyrella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Navicula</i>	/	*	-	*	/	*	/	*
<i>Nitzschia</i>	/	-	/	*	/	-	/	-
<i>Melosira</i>	-	-	/	-	/	-	/	-
<i>Odontella</i>	/	-	/	-	/	-	/	*
<i>Oscillartoria</i>	-	-	/	*	/	-	/	*
<i>Paralia</i>	-	-	/	-	-	-	/	-
<i>Pleurosigma/Gyrosigma</i>	/	*	/	-	/	-	/	*
<i>Psuedo-nitzschia</i>	/	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizosolenia</i>	-	-	/	-	-	-	-	-
<i>Surirella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Thalassionema</i>	/	-	/	-	-	-	-	-
<i>Thalassiosira</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triceratium</i>	-	-	/	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : pl แทน เพลทเบนทิกไดอะตอม, st แทน กระเพาะอาหารลูกหอยเป่าอ้อ

ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพการย่อยของลูกหอยเป่าฮื้อต่อแบคทีเรียไดอะตอมชนิดต่างๆ

หอยเป่าฮื้อ	แบคทีเรียไดอะตอม	ประสิทธิภาพการย่อย (ร้อยละ)
<i>Haliotis discushannai</i>	<i>Amphora angusta</i>	8.2
	<i>Nitzschia closterium</i>	100
	<i>Navicula ramosissima</i>	16.5
<i>Haliotis iris</i>	<i>Navicula</i> sp.	18.6
	<i>Nitzschia</i> sp.	92.7
	<i>Nitzschia ovalis</i>	32.3

สรุปผลการศึกษา

1. ลูกหอยเป่าชื่อ *H. asinina* ตอบสนองต่อชนิดเบนทิกไดอะตอมโดยมีอัตราการรอดของลูกหอยบนแผ่นล่อลูกหอยที่มีอาหารตั้งต้นคือ *Nitzschia* มากที่สุด รองลงมาคือ *Amphora* sp. และ *Navicula* sp. ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าความเค็มและอุณหภูมิค่อนข้างมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การลงเกาะถึงแม้ว่าจะไม่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยในชุดการทดลองที่เริ่มต้นเคลือบด้วย *Nitzschia* พบว่าการทดลองที่มีการลงเกาะมากกว่าร้อยละ 5 นั้นจะมีอุณหภูมิต่ำสุดและความเค็มต่ำสุดมากกว่า 25.7 องศาเซลเซียส และ 27 ppt
2. จากการศึกษาพบว่าแผ่นพลาสติกที่เริ่มต้นเคลือบด้วย *Nitzschia* มีการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมไปจากสกุลที่เคลือบไว้โดยพบไดอะตอมที่สามารถเติบโตแทนที่อยูบนแผ่นเพลทอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกหอยเป่าชื่อได้ 20 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Belleochea*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Licmophora*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Oscillatoria*, *Paralia*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Thalassionema*, *Thalassisia* จากการวิเคราะห์องค์ประกอบในกระเพาะอาหารพบเบนทิกไดอะตอมรวม 7 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Campyrodiscus*, *Navicula*, *Nitzschia* และ *Licmophora* นอกจากนี้ยังพบไซยาโนแบคทีเรียอีก 1 สกุล คือ *Oscillatoria*
3. จากการศึกษาพบว่าแผ่นพลาสติกที่เริ่มต้นเคลือบด้วย *Amphora* มีการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมไปจากสกุลที่เคลือบไว้โดยพบไดอะตอมที่สามารถเติบโตแทนที่อยูบนแผ่นเพลทอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกหอยเป่าชื่อได้ 14 สกุล ทั้งนี้เบนทิกไดอะตอมสกุลที่พบ ได้แก่ *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Actinoptycus*, *Diatoma*, *Navicula*, *Cocconeis*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Licmophora*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* นอกจากนี้พบไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุล คือ *Oscillatoria* จากการวิเคราะห์องค์ประกอบในกระเพาะอาหารพบเบนทิกไดอะตอมรวม 7 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Cocconeis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella* และ *Pleurosigma/Gyrosigma*
4. จากการศึกษาพบว่าแผ่นพลาสติกที่เริ่มต้นเคลือบด้วย *Navicula* มีการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมไปจากสกุลที่เคลือบไว้โดยพบไดอะตอมที่สามารถเติบโตแทนที่อยูบนแผ่นเพลทอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกหอยเป่าชื่อได้ 16 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Licmophora*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Oscillatoria*, *Paralia* และ *Pleurosigma/Gyrosigma* จากการวิเคราะห์องค์ประกอบในกระเพาะอาหารพบเบนทิกไดอะตอมรวม 3 สกุล คือ *Amphora*, *Navicula* และ *Pleurosigma/Gyrosigma*

5. จากการติดตามเปรียบเทียบขนาดของลูกหอยที่อาศัยอยู่บนแผ่นพลาสติกที่เริ่มต้นเคลือบด้วยเบนทิกไดอะตอม *Nitzschia*, *Amphora* และ *Navicula* พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากในการทดลองครั้งนี้ใช้น้ำทะเลกรองแบบไหลผ่านจากระบบน้ำที่ติดตั้งตัวกรองหยاب ซึ่งอาจทำให้สาหร่ายขนาดเล็กและไดอะตอมจากน้ำทะเลธรรมชาติที่สามารถรอดผ่านตัวกรองมาได้หลายชนิด เกิดการเติบโตแทนที่บนเพลทลงเกาะของลูกหอย และลูกหอยเป้าฮือสามารถครูดกินได้

ปัญหาอุปสรรคและข้อเสนอแนะ

การทดสอบการตอบสนองของลูกหอยเป่าฮื้อในการลงเกาะ การกินอาหาร และการเติบโต ต่อเบนทิกไโดอะตอมชนิดเดียว ควรมีการควบคุมระบบน้ำทะเลสำหรับชุดทดลองให้มีตัวกรองที่สามารถกรองดักแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นๆไม่ให้เข้าสู่ระบบทดลองได้เพื่อป้องกันความผิดพลาดในการติดตามและแปลผลการศึกษานอกจากนี้การทดสอบการตอบสนองต่อการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อต่อเบนทิกไโดอะตอมควรทำในภาชนะเปิดขนาดไม่ใหญ่มากนักและทำในช่วงระยะเวลาสั้นๆ เพื่อให้สามารถควบคุมปัจจัยที่ต้องการทดสอบและปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆได้อย่างรัดกุมและให้ผลการทดสอบที่ชัดเจนมากขึ้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการลงเกาะของลูกหอยเป่าฮื้อนั้นนอกจากชนิดของอาหารที่ใช้ดึงดูดลูกหอยแล้วยังมีปัจจัยทางกายภาพอื่นๆอีก เช่น ผลของความเค็มและอุณหภูมิ และจากการศึกษาในครั้งนี้มีแนวโน้มว่าการลดลงของความเค็มและอุณหภูมินั้นมีผลทำให้การลงเกาะลดลงซึ่งน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องดังกล่าวเพื่อจะได้หาช่วงอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมที่จะสามารถเพิ่มการลงเกาะเพื่อให้สามารถเพิ่มผลผลิตลูกหอยมากขึ้นได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- รัชชัย ทองน้อย วาสุภา กฤตรัชตนันต์ ธนาวุฒิ กล้าวเกลี้ยง และกัตติกา ตูวิเชียร. 2547. การเลี้ยงหอยเป่าฮื้อ (*Haliotis asinina* Linne) ด้วยการควบคุมแสงต่างกัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2547. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล. 18 หน้า.
- ผุสดี ศรีพยัคฆ์. 2536. การแยกสายพันธุ์แพลงก์ตอนพืชให้บริสุทธิ์และการเพาะเลี้ยง. ใน รวมคำบรรยายสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องน้ำเปลี่ยนสี. 31 พ.ค. – 3 มิ.ย. 2536. ณ ศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก. หน้า 33 - 48.
- สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ. 2548. ทรัพยากรชายฝั่งและชุมชนเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี. ประสัชชัยการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 197 หน้า.
- โสภณา บุญญาภิวัฒน์. 2528. การเตรียมตัวอย่างไดอะตอมเพื่อการวิเคราะห์ชนิด. วารสารการประมง. กรุงเทพฯ 38 (1): 67-71.
- อมรรัตน์ ชมรุ่ง. 2542. คุณค่าทางอาหารของไดอะตอม 2 ชนิด เพื่อเป็นอาหารของลูกหอยเป่าฮื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา. 100 หน้า
- อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบุรณ์ ชลธยา ทรงรูป และชูวงศ์ ตมิศานนท์. 2545. รายงานการวิจัยสาหร่ายหน้าดินขนาดเล็กในป่าชายเลนและระบบนิเวศชายฝั่ง. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 66 หน้า.
- Bautista-Teruel, M. N. and Millamena, O. M. 1999. Diet Development and Evaluation for Juvenile Abalone, *Haliotis asinina*: Protein/Energy Levels. Aquaculture. 178: 117-126.
- Bautista-Teruel, M. N. and Millamena, O. M., and Fermin, A. C. 2001. Reproductive Performance of Hatchery-bred Donkey's ear Abalone, *Haliotis asinina*, Linne, Fed Natural and Artificial Diets. Aquaculture Research. 32: 249-254.
- Bautista-Teruel, M. N, Fermin, A. C., and Koshio S. S. 2003. Diet Development and Evaluation for Juvenile Abalone, *Haliotis asinina*: Animal and Plant Protein Sources. Aquaculture. 219: 645-653.
- Daume, s. 2003. Early life history of abalone (*Haliotis rubra*, *H. laevigata*) settlement, survival and early growth. Fisheries Research Contract Report No. 3, Final Report for FRDC Project 1998/306. WA Marine Research Laboratories, North Beach, Australia.
- Dexing, J. , Zhaodi, C., Junmin, L. and Shicheng, L. 1984. The Marine Benthic diatoms in china Vol. I. China Ocean Press, Beijing. 313 p.
- Fukami, K., Kawai, A., Asada, M., Okabe, M., Hotta, T., Moriyama, T., Doi, S., Nishijima, T., Yamaguchi, M. and Taniguchi, M. 1998. Continuous and simultaneous cultivation of benthic food diatom *Nitzschia* sp. And abalone *Haliotis sieboldii* by using deep seawater. J. Mar. Biotechnol. 6:237 – 240.

- Gallardo, W. G. and Buen, S. M. 2003. Evaluation of Mucus, *Navicula*, and Mixed Diatoms as Larval Settlement Inducers for the Tropical Abalone *Haliotis asinina*. *Aquaculture*. 221. 357-364.
- Gapasin, R. S. J. and Polohan, B. B. 2004. Induction of Larval Settlement and Metamorphosis in the Donkey-ear Abalone *Haliotis asinina* Linnaeus, by Chemical Cues. *Hydrobiologia*. 519: 9-17.
- Gapasin, R. S. J. and Polohan, B. B. 2005. Response of the Tropical Abalone, *Haliotis asinina*, Larvae on combinations of Attachment Cues. *Hydrobiologia*. 548: 301-306.
- Gordon, N., Neori, A., Hapaz, S. and Shipgel, M. 2002. Nutritional requirements of postlarvae of the Japanese abalone *Haliotis discus hannai*. *The Israel Journal of Aquaculture*, vol. 54(2).
- Gordon, N., Shipgel, M., Harpaz, S., Lee, J.J. and Neori, A. 2004. The settlement of abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) larvae on culture layers of different diatoms. *J. of Shellfish Research*, vol. 23. No. 2. 561-568 pp.
- Grasshoff, K. 1976. *Method of Seawater Analysis*. Verlag Chemic, Germany. 314 pp.
- Hoshaw, R.W. and Rowski, J.R. 1973. Method for microscopic algae. *In* J.R. Stein (ed.), *Handbook of Phycological Methods*, 53 – 68. U.S.A : Cambridge Univ. Press.
- Jarayaphand, P. and Paphavasit, N. 1996. A Review of The Culture of Tropical Abalone with Special Reference to Thailand. *Aquaculture*. 140: 159-168.
- Kawamura, T., Saido T., Takani H., Yamashita Y. 1995. Dietary values of benthic diatoms for the growth of post-larval abalone *Haliotis discus hannai*. *J. Exp. Mar. Ecol.* 194: 189 – 199.
- Kawamura, T. Roberts, R.D. and Takami, H. 1998. A review of the feeding and growth of postlarval abalone. *J. of Shellfish Research*, vol. 17. No. 3. 615-625 pp.
- Klinbunga, S., Pripue, P., Khamnamtong, N., Puanglarp, N., Tassanakajon, A., Jarayabhand, P., Hirono, I. and Menasveta, P. 2003. Genetic diversity and molecular markers of the tropical abalone (*Haliotis asinina*) in Thailand. *Marine biotechnology*. 5 (5), p.505-517.
- Klinbunga, S., Amparyup, P., Leelatanawit, R., Tassanakajon, A., Hirono, I., Aoki, T., Jarayabhand, P. and Menasveta, P. 2004. Species identification of the tropical abalone (*Haliotis asinina*, *Haliotis ovina*, and *Haliotis varia*) in Thailand using RAPD and SCAR markers. *Journal of biochemistry and molecular biology*. 37 (2), p.213-222.
- Tang, S., Tassanakajon, A., Klinbunga, S., Jarayabhand, P. and Menasveta, P. 2004. Population structure of tropical abalone (*Haliotis asinina*) in coastal waters of Thailand determined using microsatellite markers. *Marine biotechnology*. 6 (6), p.604-611.
- Tang, S., Pongviwat, A., Klinbunga, S., Tassanakajon, A., Jarayabhand, P., Menasveta, P. 2005. Genetic heterogeneity of the tropical abalone (*Haliotis asinina*) revealed by RAPD

- and microsatellite analyses. *Journal of biochemistry and molecular biology*. 38 (2), p.182-190.
- Lucas, T., Macbeth M., Degnan, S. M., Knibb, W., Degnan, B. M. 2006. Heritability Estimates for Growth in the Tropical Abalone *Haliotis asinina* Using Microsatellites to Assign Parentage. *Aquaculture*. 259: 146-152.
- Martinez-Ponce, D.R. and Searcy-Bernal, R. 1998. Grazing rates of red abalone (*Haliotis rufescens*) postlarvae feeding on the benthic diatom *Navicula incerta*. *J. of shellfish Shellfish Research*, vol. 17. No. 3. 627-630 pp.
- Matthews, I. and P.a. Cook. 1995. Diatom diet of abalone post-larvae (*Haliotis midae*) and effect of Pre-grazing the diatom. *Marine and Freshwater Research*. 46(3) : 545-548.
- Poudreau K. N., Burns, D., Cooke, C.A. and Austin, A. 1986. A Simple Technique for Detection of Feeding in Newly Metamorphosed Abalone. *Aquaculture* 51 : 313-317.
- Redekar, P.D. and A.b., Wagh. 2000. Growth of fouling diatoms from the Zuari estuary, Goa (West Coast of India) under different salinities in the laboratory. *Seaweed Res. Utilin.* 22(1&2) : 121-124.
- Roberts, R.D. and Nicholson, C.M. 1997. Variable response from abalone larvae (*Haliotis iris*, *H. virginea*) to a range of settlement cues. *Mollusc Research*. Vol. 18. 131-141 pp.
- Roberts, R.D., Kawamura, T. and Nicholson, C.M. 2003. Settlement of abalone larvae, *Haliotis iris*, in response to benthic diatom films. *In* The 5th International Abalone Symposium, 20-25 April 2003, Qingdao, China.
- Sawatpeera, S., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Ingsrisawang, V., Singhagraiwan, T., Chitramvong, Y.P., and Parkpoomkamol, K. 1998. Determination of Gut Contents of Thai Abalone *Haliotis asinina* Linnaeus. *Journal of Shellfish Research*. 17 (3): 765-769.
- Sawatpeera S., Upatham E.S., Kruatrachue M., Chitramvong Y.P., Sonchaeng P., Pumthong T., and Nugranad J. 2001. Larval Development in *Haliotis asinina* Linnaeus. *Journal of Shellfish Research*. 20 (2): 593-601.
- Searcy-Bernal, R., velez-Espino, L.A. and Anguina-Beltran, C. 2001. Effect of biofilm density on grazing and growth rates of *Haliotis fulgens* postlarvae. *J. of shellfish Shellfish Research*, vol. 20. No.2 587-591 pp.
- Singhagraiwan, T and Sasaki, M. 1991. Breeding and Early Development of The Donkey's ear Abalone *Haliotis asinina* Linne. *Thai Marine Fisheries Research Bulletin*. 2:95-100.
- Singhagraiwan, T and Doi, M. 1992. Spawning Pattern and Fecundity of the Donkey's ear Abalone *Haliotis asinina* Linne, Observed in Captivity. *Thai Marine Fisheries Research Bulletin*. 3:61-69.

- Singhagraiwan, T and Doi, M. 1993. Seed Production and Culture of a Tropical Abalone, *Haliotis asinina* Linne. Eastern Marine Fisheries Development Center (EMDEC), Thailand and Japan International Cooperation Agency (JICA). 32 pp.
- Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada. Bull. 167 2nd ed. Ottawa. 308 p.
- Tahil, A. S. and Juinio-Menez M. A. 1999. Natural Diet, Feeding Periodicity and Functional Response to Food Density of the Abalone, *Haliotis asinina* L., (Gastropoda). Aquaculture Research. 30: 95-107.
- Thongrod, S., Tamtin, M., Chairat, C., and Boonyaratpalin, M. 2003. Lipid to Carbohydrate Ratio in Donkey's ear Abalone (*Haliotis asinina*, Linne) Diets. Aquaculture. 225: 165-174.
- Tomas, C.R. 1996. Identification Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press. San Diego. 598p.
- Upathum, E. S., Sawatpeera, S., Kruatrachue, M., Chitramvong, Y. P., Singhagraiwan, T., Pumthong, T., and Jarayaphand, P. 1998. Food Utilization by *Haliotis asinina* Linnaeus. Journal of Shellfish Research. Vol 17. No. 3. p 771-776.
- Zrinka, B., Katarina, C. and Damir, V. 2004. Distribution of the diatom *Cocconeis scutellum* in the Karstic estuary (Zrmanja, Eastern Adriatic Sea). Biologia Bratislava. 59(1) : 1-7.
- Http:// www.thailandabalone.com (กุมภาพันธ์ 2551)

ภาคผนวก

(ร่างรายงานวิจัยฉบับเต็มเพื่อเสนอผลงานวิจัย (Proceeding)

งานประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล)

การกินอาหารของตัวอ่อนของหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis asinina*

Feeding ecology of donkey's ear abalone *Haliotis asinina* postlarvae

ณิชา ประดิษฐ์ทรัพย์¹, ชลธยา ทรงรูป²

¹สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ: การศึกษาในเวศวิทยาการกินอาหารของลูกหอยเป๋าฮื้อ *H. asinina* อายุ 3-8 สัปดาห์หลังการลงเกาะและการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นอาหารสำหรับล่อลูกหอยเป๋าฮื้อ พบเบนทิกไดอะตอมรวม 26 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Bellerochea*, *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Entomoneis*, *Licmophora*, *Lyrella*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Paralia*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Pseudonitzschia*, *Rhizosolenia*, *Surirella*, *Thalassionema*, *Thalassiosira* และ *Triceratium* และไซยาโนแบคทีเรีย 1 สกุลคือ *Oscillatoria* ต้องประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป๋าฮื้ออายุ 3 สัปดาห์ ถึง 8 สัปดาห์ ประกอบด้วยเบนทิกไดอะตอมและไซยาโนแบคทีเรียเพียง 11 สกุล คือ *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella*, *Pleurosigma/Gyrosigma* และ *Oscillatoria* ไดอะตอมสกุล *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* ที่เป็นกลุ่มเด่นบนแผ่นอาหารนั้นเป็นสกุลที่พบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป๋าฮื้อบ่อยที่สุดในขณะที่ *Asterionella* และ *Cocconeis* ซึ่งเป็นเบนทิกไดอะตอมกลุ่มเด่นบนแผ่นอาหารเช่นเดียวกันแต่พบในกระเพาะอาหารลูกหอยได้เพียงบางช่วงเวลาเท่านั้น ทั้งนี้ไดอะตอมที่เป็นเซลล์เดี่ยว เช่น *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* นั้นถูกครูดกินเข้าสู่ช่องปากของลูกหอยได้ดีและถูกย่อยได้ง่ายกว่าไดอะตอมที่เป็นโคโลนีที่มีขนาดใหญ่ เช่น *Asterionella*, *Cocconeis* และ *Bacillaria*

คำสำคัญ: ลูกหอยเป๋าฮื้อ, *Haliotis asinina*, เบนทิกไดอะตอม, องค์ประกอบในกระเพาะอาหาร

Abstract: Succession of benthic diatoms; one of the principal food source for donkey's ear abalone *Haliotis asinina* postlarvae; and stomach content analysis of the 3- to 8-week old abalone larvae were conducted. A total of 26 genera of diatoms and one Cyanobacteria genus were recorded: *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Bellerochea*, *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Entomoneis*, *Licmophora*, *Lyrella*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Paralia*, *Pleurosigma/Gyrosigma*, *Pseudonitzschia*, *Rhizosolenia*, *Surirella*, *Thalassionema*, *Thalassiosira*, *Triceratium* and *Oscillatoria*. Only 11 genera were found in the abalone stomach namely *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella*, *Pleurosigma/Gyrosigma* and *Oscillatoria*. Three benthic diatoms, *Navicula*, *Nitzschia* and *Amphora* the dominant species on plates were frequently found in the stomach contents of abalone postlarvae. The result was reversed in case of two other abundant genera; *Asterionella* and *Cocconeis*; which could hardly found in the stomach content of the larvae. The preference of diatom genera may be size-dependent since the single cell diatoms *Navicula*, *Nitzschia* and *Amphora* are much smaller than the colony of *Asterionella*, *Cocconeis* and *Bacillaria*.

KeyWords: Donkey's ear abalone postlarvae, *Haliotis asinina*, benthic diatoms, stomach content

บทนำ

การอนุบาลหอยเป่าฮือวัยอ่อนในช่วงเวลาที่ลูกหอยลงเกาะและเจริญเติบโตอยู่บนแผ่นฟิล์มเบนทิกไคอะตอมเป็นช่วงเวลาสำคัญต่ออัตราการรอดของลูกหอยเป่าฮือ เพราะลูกหอยเป่าฮือในช่วงนี้มีความอ่อนแอต่อปัจจัยแวดล้อมในบ่ออนุบาลเป็นอย่างมาก จากการศึกษาข้อมูลในโรงเพาะฟัก พบว่าอัตราการรอดและอัตราการเติบโตของลูกหอยอยู่ในระดับต่ำเป็นผลสืบเนื่องมาจากการได้รับอาหารไม่เพียงพอหรืออาหารที่ได้รับไม่มีความเหมาะสมต่อการเติบโตของลูกหอย (Takami, 2008) เบนทิกไคอะตอมจัดเป็นอาหารสำคัญในการเลี้ยงลูกหอยเป่าฮือวัยอ่อนชนิดต่างๆ ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการกินอาหารและการเติบโตของลูกหอยเป่าฮือได้แก่ อายุและขนาดของลูกหอยเป่าฮือ ลักษณะสัณฐานของไคอะตอมที่เป็นอาหาร การเกาะติดของไคอะตอมกับพื้นผิวยึดเกาะ และความแข็งแรงของผนังเซลล์ไคอะตอม (Kawamura, et al., 1998a) ในปัจจุบันหอยเป่าฮือชนิด *H. asinina* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยและมีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์สามารถทำการเพาะและเลี้ยงได้สำเร็จแล้ว แต่อัตราการรอดในระยะวัยอ่อนยังคงอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์มเบนทิกไคอะตอมที่ลูกหอยลงเกาะ พร้อมทั้งติดตามการเปลี่ยนแปลงและการกินอาหารของลูกหอยเป่าฮือจนถึงอายุ 2 เดือน ซึ่งจะทำให้ทราบว่าลูกหอยเป่าฮือในอายุระหว่างลงเกาะจนถึง 2-3 เดือน สามารถกินเบนทิกไคอะตอมหรือสาหร่ายอื่นที่มาเกาะบนแผ่นพลาสติกสำหรับให้ลูกหอยลงเกาะชนิดใดได้บ้าง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงระบบการผลิตลูกพันธุ์หอยเป่าฮือให้มีอัตราการรอดของลูกหอยช่วงอายุ 2-3 เดือนเพิ่มสูงขึ้น

วิธีการศึกษา

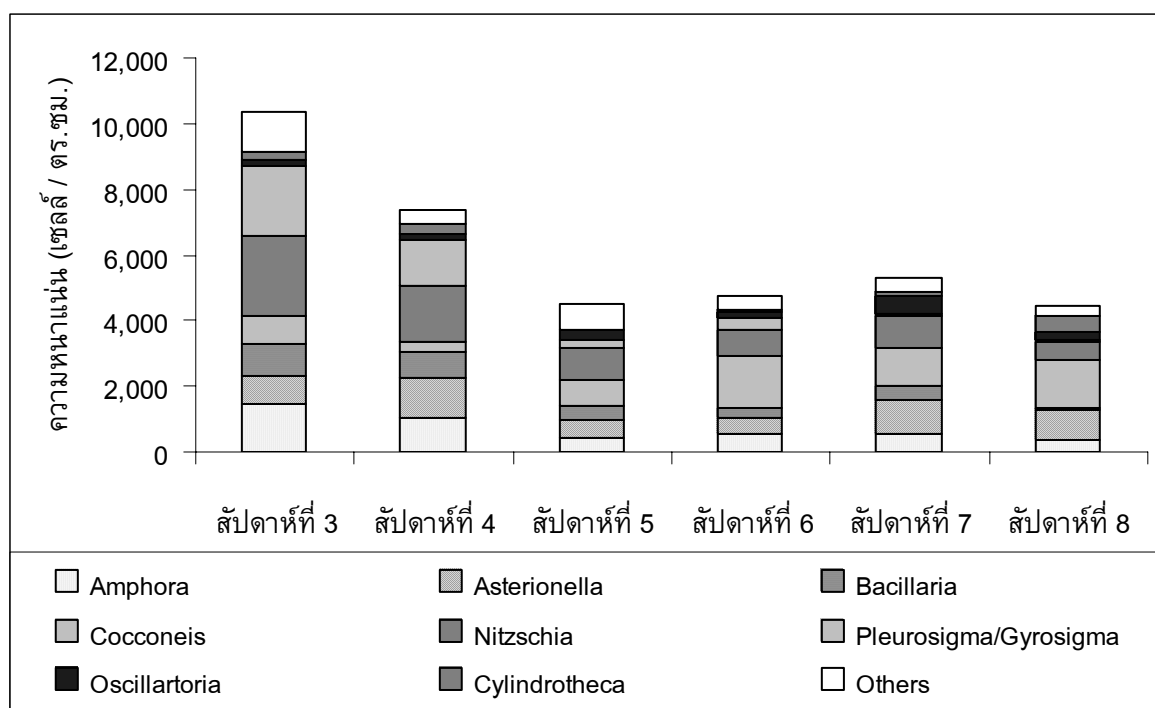
ดำเนินการทดลอง ณ หน่วยปฏิบัติการเพาะเลี้ยงหอยเป่าฮือไทย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล และศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชัง จ.ชลบุรี ระหว่างช่วงเดือนธันวาคม 2549 – เดือนพฤศจิกายน 2550 ทำการเลี้ยงลูกหอยเป่าฮือวัยอ่อนที่เพาะได้จากหน่วยปฏิบัติการฯ ในบ่อจำลองขนาด $15 \times 15 \times 120$ ลูกบาศก์เซนติเมตรที่มีระบบน้ำไหลผ่านโดยแต่ละบ่อใช้แผ่นพลาสติกขนาด 10×10 ตารางเซนติเมตร (พื้นที่รวม 200 ตร.ซม.) เพื่อเคลือบด้วยเบนทิกไคอะตอมและใช้เป็นที่ยึดเกาะของลูกหอยเป่าฮือ จากนั้นเก็บตัวอย่างลูกหอย เมื่ออายุได้ 3-8 สัปดาห์ เพื่อนำมาศึกษาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารด้วยวิธีการผ่ากระเพาะลูกหอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและจำแนกชนิดเบนทิกไคอะตอมที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบและบันทึกผล พร้อมกันนี้ยังเก็บเบนทิกไคอะตอมบนแผ่นล่อลูกหอยเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไคอะตอมในระยะดังกล่าว เพื่อศึกษาความสัมพันธ์กับการกินอาหารของลูกหอยเป่าฮือ

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของชนิดเบนทิกไคอะตอมบนแผ่นพลาสติก

การศึกษานี้เป็นการทดลองที่มีพื้นฐานการจำลองระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์มาใช้ ดังนั้นสาหร่ายขนาดเล็กจากน้ำทะเลธรรมชาติจึงสามารถหลุดรอดเข้าสู่ระบบบ่อทดลองได้ ระหว่างที่ทำการศึกษาวัดค่าความเค็มได้อยู่ในช่วง 26 ถึง 34 ppt จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชนิดของเบนทิกไคอะตอมบนแผ่นพลาสติกล่อให้ลูกหอยลงเกาะขนาด 10×10 เซนติเมตร ในช่วงอายุสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 8 พบไคอะตอมสามารถเติบโตอยู่บนแผ่นพลาสติกได้ถึง 26 สกุล ได้แก่ *Achnanthes*, *Amphora*, *Asterionella*, *Bacillaria*, *Bellerrochea*, *Campylodiscus*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Cylindrotheca*, *Diploneis*, *Diatoma*, *Entomoneis*, *Licmophora*, *Lyrella*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Odontella*, *Paralia*, *Pleurosigma*/*Gyrosigma*, *Pseudonitzschia*, *Rhizosolenia*, *Surirella*, *Thalassionema*, *Thalassiosira* และ *Triceratium* นอกจากนี้ไคอะตอมแล้วยังพบไซยาโนแบคทีเรียอีก 1 สกุล คือ *Oscillatoria* โดยสกุลของ

เบนทิกไดอะตอมที่สามารถเติบโตเคลือบอยู่บนแผ่นพลาสติกเป็นสกุลเบนทิกไดอะตอมที่พบได้ทั่วไปและมีรายงานจากการศึกษาอื่นๆ ซึ่งไดอะตอมกลุ่มนี้สามารถเติบโตได้บนพื้นผิววัสดุต่างๆ ทั้งในสภาพธรรมชาติและในระบบการเพาะเลี้ยง (อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และคณะ, 2545; Roberts *et al.*, 2003) ทั้งนี้พบว่าไดอะตอมสกุลที่สามารถเติบโตขึ้นแทนที่ได้ดี คือ *Nitzschia* (552 – 2,459 เซลล์/ตร.ซม.), *Amphora* (369 – 1,454 เซลล์/ตร.ซม.), *Pleurosigma/Gyrosigma* (54 – 2,106 เซลล์/ตร.ซม.), *Asterionella* (485 – 1,277 เซลล์/ตร.ซม.) และ *Cocconeis* (293 – 1,616 เซลล์/ตร.ซม.) โดยที่เบนทิกไดอะตอมสกุล *Asterionella* และ *Cocconeis* เป็นสกุลที่สามารถเพิ่มจำนวนขึ้นแทนที่ได้ดีที่สุด รองลงมาคือไดอะตอมสกุล *Cylindrotheca* และไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Oscillatoria* (รูปที่ 1)

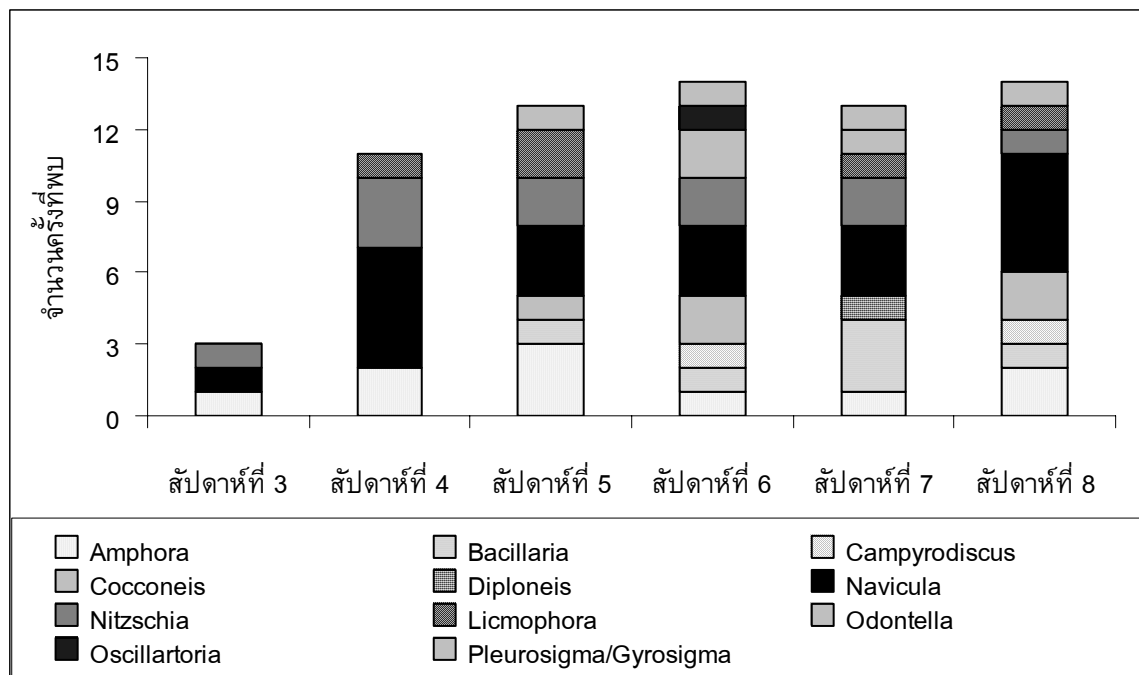


รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงแทนที่และความหนาแน่นเฉลี่ยของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นพลาสติกที่ใช้เลี้ยงลูกหอยเป่าอื้อ

ไดอะตอมที่พบเคลือบอยู่บนแผ่นพลาสติกมีการเปลี่ยนแปลงเติบโตแทนที่และความหนาแน่นเซลล์ไปตามช่วงเวลาที่เกิดขึ้นอย่าง รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในบ่อทดลอง เช่น ความเค็ม ปริมาณสารอาหาร และกลุ่มของเบนทิกไดอะตอมที่สามารถเติบโตขึ้นมาแทนที่ด้วย ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมในการศึกษาครั้งนี้ คือความเค็มน้ำทะเล ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบนทิกไดอะตอมบนแผ่นพลาสติกเกิดขึ้นตลอดเวลา โดยพบว่า *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นสกุลที่สามารถพบได้ทุกช่วงเวลาในทุกการทดลอง เนื่องจากทั้งสองสกุลเป็นไดอะตอมที่สามารถเติบโตได้ดีในช่วงความเค็มตั้งแต่ 15-35 ppt โดยเฉพาะ *Amphora* (Redekar and Wagh, 2000) ซึ่งความเค็มน้ำทะเลในบ่อทดลองครั้งนี้มีค่าอยู่ในช่วง 26-34 ppt การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของ *Nitzschia* และ *Amphora* ด้วยไดอะตอมสกุลอื่นๆ ที่พบบนแผ่นพลาสติกพบว่าไดอะตอมสกุลที่สามารถเติบโตขึ้นแทนที่ได้ดีคือ *Asterionella* และ *Cocconeis* เนื่องจาก *Asterionella* เป็นไดอะตอมที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มโคโลนีไม่ต่ำกว่า 10 เซลล์ในแต่ละโคโลนีทำให้ติดเกาะติดและเติบโตเพิ่มจำนวนแผ่ขยายแบบสายตามแผ่นพลาสติกได้ ส่วน *Cocconeis* เป็นไดอะตอมเซลล์เดี่ยวที่มีการเกาะติดกับพื้นผิววัสดุได้อย่างดี (Zrinka *et al.*, 2004; Kawamura, *et al.*, 1998a)

การกินอาหารของลูกหอยเป่าอื้อ

ลูกหอยที่นำมาศึกษาในครั้งนี้มีขนาดเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8 คือ 1.19 ± 0.29 , 1.42 ± 0.41 , 1.66 ± 0.54 , 1.94 ± 0.68 , 2.58 ± 0.90 และ 3.17 ± 1.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ องค์ประกอบในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าอื้อแสดงให้เห็นถึงการกินอาหารของลูกหอยเป่าอื้อซึ่งพบว่าลูกหอยสามารถกินเบนทิกไดอะตอมและไซยาโนแบคทีเรียที่เคลือบอยู่บนแผ่นพลาสติกได้รวม 11 สกุล (40.7 % ของสกุลที่พบบนแผ่นอาหาร) ได้แก่ *Amphora*, *Bacillaria*, *Campyrodiscus*, *Cocconeis*, *Diploneis*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Licmophora*, *Odontella*, *Oscillartoria*, และ *Pleurosigma/Gyrosigma* หลายสกุลของเบนทิกไดอะตอมที่พบคล้ายกับสกุลที่พบในการศึกษาของลูกหอยวัยอ่อนชนิด *H. midae* (Matthews and Cook, 1995) ทั้งนี้จำนวนสกุลของเบนทิกไดอะตอมที่พบในกระเพาะอาหารลูกหอยส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 1-3 สกุล เบนทิกไดอะตอมสกุลที่มีความถี่ในการพบมากที่สุดคือ *Navicula* (20/32) รองลงมาเป็น *Nitzschia* (11/32) และ *Amphora* (10/32) โดยทั้งสามชนิดนั้นสามารถพบได้ตลอดช่วงอายุของลูกหอยที่ทำการศึกษา (3 – 8 สัปดาห์) ส่วนเซลล์ไดอะตอมที่ขนาดค่อนข้างใหญ่ เช่น *Cocconeis* และ *Bacillaria* จะพบในกระเพาะอาหารของลูกหอยตั้งแต่นั้นสัปดาห์ที่ 5 ของการเลี้ยง (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ชนิดและความถี่ในการพบเบนทิกไดอะตอมในกระเพาะอาหารของลูกหอยเป่าอื้อ

จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าแม้บนแผ่นพลาสติกที่มีไดอะตอมเคลือบอยู่หลายชนิดแต่ลูกหอยสามารถกินไดอะตอมหรือเลือกกินไดอะตอมเพียงไม่กี่สกุล โดยเฉพาะไดอะตอม 3 สกุล คือ *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* ซึ่ง Kawamura, et al. (1998) ได้รายงานไว้ว่าขนาดของเซลล์เบนทิกไดอะตอมและลักษณะการยึดติดของเบนทิกไดอะตอมกับพื้นที่ยึดเกาะ (attachment) มีผลต่อการกินอาหารของลูกหอยเป่าอื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องจาก *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* เป็นไดอะตอมที่อยู่เซลล์เดี่ยวและมีขนาดเล็กลูกหอยสามารถครูดกินเข้าสู่ช่องปากได้ง่าย นอกจากนี้ *Navicula*, *Nitzschia* และ *Amphora* นั้นเป็นกลุ่มเบนทิกไดอะตอมที่ไม่ติดแน่นกับพื้นผิวมาก (low attachment) ซึ่งอาจทำให้ง่ายต่อการครูดกินของลูกหอยมากกว่าในชนิดที่มีการเกาะติดกับพื้นที่ยึดเกาะสูง (เช่น *Cocconeis*) นอกจากนี้ไดอะตอมทั้งสามสกุลเป็นสกุลที่ลูกหอยเป่าอื้อสามารถย่อยได้ดีโดยเฉพาะ *Nitzschia* (Kawamura, et al., 1998b) เบนทิกไดอะตอมสกุล *Asterionella*,

Bacillaria และ *Cocconeis* นั้นมักพบเป็นสกุลเด่นบางช่วงแต่ไม่พบ *Asterionella* และพบ *Bacillaria* (6/32) และ *Cocconeis* (5/32) ก่อนข้างน้อย ในกระเพาะอาหารของลูกหอย อาจเนื่องมาจากลูกหอยไม่สามารถครูดกินเข้าสู่ช่องปากได้โดยเฉพาะลูกหอยที่มีขนาดเล็ก เพราะเบนทิกไดอะตอมดังกล่าวมีลักษณะเป็นเซลล์ / โคโลนีขนาดใหญ่ ทำให้ยากต่อการครูดกินผ่านช่องปากของลูกหอย จากการศึกษาการกินอาหารลูกหอย เป้าอื้อชนิด *H. iris* โดย Kawamura, et al (1998a) ได้รายงานไว้ว่าลูกหอยที่มีขนาดเล็ก (ความยาวเปลือกเล็กกว่า 870 ไมครอน) ไม่สามารถกิน เบนทิกไดอะตอมชนิด *C. pseudomarginata* จากแผ่นอาหารได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย (RDG4920046) จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สถานีวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิตเกาะสีชังในการอำนวยความสะดวกพื้นที่ทดลอง และกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. เติมศักดิ์ จารยะพันธุ์ และ รศ. ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจสอบความถูกต้องของบทความวิจัยฉบับเต็ม

เอกสารอ้างอิง

- อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ ชลธยา ทรงรูป และชูวงศ์ ตมิศานนท์. 2545. รายงานการวิจัยสำหรับวิทยานิพนธ์ขนาดเล็กในป่าชายเลนและระบบนิเวศชายฝั่ง. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 66 หน้า.
- Kawamura, T., Roberts, R.D., and Nicholson, C. M. 1998a. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*. 160: 81-88.
- Kawamura, T., Roberts, R.D., and Takami, H. 1998b. A review of the feeding and growth of postlarval abalone. *J. of Shellfish Research*, vol. 17. No. 3. 615-625 pp.
- Matthews, I., and Cook, P.A. 1995. Diatom diet of abalone post-larvae (*Haliotis midae*) and effect of Pre-grazing the diatom. *Marine and Freshwater Research*. 46(3): 545-548.
- Redekar, P.D., and Wagh, A.B. 2000. Growth of fouling diatoms from the Zuari estuary, Goa (West Coast of India) under different salinities in the laboratory. *Seaweed Res. Utilin.* 22(1&2): 121-124.
- Roberts, R.D., Kawamura, T., and Nicholson, C.M. 2003. Settlement of abalone larvae, *Haliotis iris*, in response to benthic diatom films. In *The 5th International Abalone Symposium*, 20-25 April 2003, Qingdao, China.
- Zrinka, B., Katarina, C., and Damir, V. 2004. Distribution of the diatom *Cocconeis scutellum* in the Karstic estuary (Zrmanja, Eastern Adriatic Sea). *Biologia Bratislava*. 59(1): 1-7.
- Takami, H. www.lib.noaa.gov/japan/aquaculture/proceedings/report32/takami_corrected.pdf (Last update: Jan, 2008)