เอกสารวิชาการฉบับที่ ๕/๒๕๕๘ Technical Paper No. 5/2015

ผลการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda & Yokochi, 1998) ในอาหารมีชีวิตสำหรับการอนุบาลลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1785)

Effect of *Schizochytrium limacinum* (D. Honda&Yokochi, 1998) Supplementation in Living Feed for Nursing Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1785)

มีชัย แก้วศรีทอง Meechai Kaewsrithong

กองวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง Coastal Fisheries Research and Development Division
กรมประมง Department of Fisheries
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๕/๒๕๕๘ Technical Paper No. 5/2015

ผลการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda & Yokochi, 1998) ในอาหารมีชีวิตสำหรับการอนุบาลลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1785)

Effect of *Schizochytrium limacinum* (D. Honda&Yokochi, 1998) Supplementation in Living Feed for Nursing Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1785)

มีชัย แก้วศรีทอง Meechai Kaewsrithong

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาและอนุรักษ์พันธุ์ปูป่าทุ่งทะเล อันเนื่องมาจากพระราชดำริ
กองวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง
กรมประมง
๒๕๕๘

Thung Talae Forest Royal Development Study and Crab Conservation Center
Coastal Fisheries Research and Development Division
Department of Fisheries
2015

รหัสทะเบียนวิจัย 57-0350-57006

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	5
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	5
สถานที่ทดลอง	5
การวางแผนการทดลอง	5
การเตรียมน้ำ และอุปกรณ์การทดลอง	5
การเตรียมอาหาร และการให้อาหาร	6
การจัดการระหว่างการอนุบาล	7
คุณภาพน้ำในถังอนุบาลลูกปูม้า	7
การศึกษาการพัฒนาการ การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกปูม้า	7
ความทนทานต่อความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม (Stress tolerance to salinity change)	7
การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน	8
การวิเคราะห์ข้อมูล	8
ผลการศึกษา	8
พัฒนาการของลูกปูม้า	8
การเจริญเติบโต ขนาดความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้า	9
อัตราการรอดตายของลูกปูม้า	10
ความทนทานต่อความเครียดของลูกปูม้าจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม	11
คุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลลูกปูม้า	12
องค์ประกอบของกรดไขมัน	12
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	15
เอกสารอ้างอิง	18

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดและปริมาณการให้อาหารลูกปูม้า (*P. pelagicus*) แต่ละระยะ	6
2	ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาตัวอ่อนลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะต่างๆ ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm จากระยะ Zoea 1 ถึง Crab 2	9
3	ความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะ Crab 2 ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm	10
4	อัตราการรอดตายเฉลี่ย (%) ของลูกปูม้า (*P. pelagicus*) จากระยะ Zoea 1 ถึง Crab 2	11
5	อัตราการรอดตายเฉลี่ย (%) ภายหลังจากการทดสอบความทนทานต่อความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มของลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะ Zoea 4, Megalopa และ Crab 1 ในระยะเวลา 3 วัน	12
6	องค์ประกอบกรดไขมัน (% area TFA) ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม และ เสริม S. limacinum 50, 100, 150 และ 200 ppm และลูกปูม้าระยะ Crab 2 ที่ให้กิน โรติเฟอร์และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม และเสริม S. limacinum 50, 100, 150 และ 200 ppm	14

ผลการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda &Yokochi, 1998) ในอาหารมีชีวิตสำหรับการอนุบาลลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1785)

มีชัย แก้วศรีทอง

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาและอนุรักษ์พันธุ์ปู ป่าทุ่งทะเล อันเนื่องมาจากพระราชดำริ

บทคัดย่อ

การศึกษาผลการเสริม *Schizochytrium limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม ที่ความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm ต่อพัฒนาการ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และความทนทานต่อความเครียดในลูกปูม้า โดยอนุบาลลูกปูม้าระยะ Zoea 1 จนถึงระยะ Crab 2 ในชุดทดลองที่ 1 (T1), 2 (T2), 3 (T3), 4 (T4), 5 (T5) ตามลำดับ พบว่าลูกปูม้า T4 และ T5 มีพัฒนาการเร็วกว่า T1, T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วน T2 และ T3 มีพัฒนาการเร็วกว่า T1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้า T4 และ T5 มากกว่า T1, T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

อัตราการรอดตาย พบว่าลูกปูม้า T4 และ T5 มีอัตราการรอดตายมากกว่า T1, T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และความทนทานต่อความเครียด (Stress-test) ของลูกปูม้าทั้ง 3 ระยะ คือ Zoea 4, Megalopa และ Crab 1 โดยการลดความเค็ม พบว่า T1 ซึ่งไม่เสริม *S. limacinum* มีความทนทานต่อความเครียดน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

องค์ประกอบกรดไขมัน พบว่าโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด DHA สูงกว่าชุดที่ไม่เสริม *S. limacinum* โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนความเข้มข้นของ *S. limacinum* ส่วนในลูกปูม้าพบว่ามีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด DHA เพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือ 0.02, 0.04, 0.04 และ 0.04 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ

คำสำคัญ : ปูม้า (*Portunus pelagicus*), *Schizochytrium limacinum,* การอนุบาล

Effect of *Schizochytrium limacinum* (D. Honda&Yokochi, 1998) Supplementation in Living Feed for Nursing Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1785)

Meechai Kaewsrithong
Thung Talae Forest Royal Development Study and Crab Conservation Center

Abstract

Study the effect of *Schizochytrium limacinum* supplementation at different concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 mg/l) on the developmental period, growth rate, survival rate and stress resistance of blue swimming crab larvae were studied. *S. limacinum* was used to supplement rotifer and artemia used in crab nursing from Zoea 1 stage to Crab 2 stage at the concentrations of 0 (T1), 50 (T2), 100 (T3), 150 (T4) and 200 (T5) mg/l, respectively. The results showed that the developmental periods of T4 and T5 were better than T1, T2 and T3 ($p<0.05$), however, among 3 treatments (T1, T2 and T3), T2 and T3 were provided better result than T1 ($p<0.05$). For carapace width and mean weight of those T4 and T5 were better than those T1, T2 and T3 ($p<0.05$).

For Survival rate of T4 and T5 were higher than those T1, T2 and T3 ($p<0.05$). The results of stress resistance (stress-test) of the crab was done on 3 stage of crab; Zoea 4, Megalopa and Crab 1 by decreasing the salinity, indicated that less stress resistance of for T1 was than T2, T3, T4 and T5 ($p<0.05$)

Result of the study of fatty acid composition showed that rotifers and artemia enriched with *S. limacinum* provide a higher accumulation of DHA than unenriched rotifers and artemia. The concentrations of unenriched fatty acid in diets increased with increasing *S. limacinum* concentrations. Finally, the accumulation of DHA in young blue swimming crab increased between 0.02-0.04 g / 100 g dry weight.

Keywords : Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus*), *Schizochytrium limacinum*, Nursing

คำนำ

ปูม้า (Blue swimming crab หรือ Flower crab) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758 เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย พบแพร่กระจายอยู่ทั้งบริเวณฝั่งทะเลอ่าวไทยและทะเลอันดามัน เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งภายในประเทศและเป็นสินค้าส่งออกโดยนำมาแปรรูปเป็นเนื้อปูบรรจุกระป๋องสามารถนำรายได้เข้าประเทศเป็นมูลค่าสูงถึง 5,391 ล้านบาท (กองเศรษฐกิจการประมง, 2548) อย่างไรก็ตาม ผลผลิตปูม้าที่จับได้จากธรรมชาติในปี 2543 มีเท่ากับ 58,100 ตัน ในปี 2548 ลดลงเหลือ 37,900 ตัน (กองเศรษฐกิจการประมง, 2548) และมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆโดยเหลือเพียง 31,800 ตัน ในปี 2553 (กรมประมง, 2555) เนื่องจากถูกจับเกินกว่ากำลังผลิตทดแทนตามธรรมชาติจากเครื่องมืออวนจมปูม้าและลอบปูม้าที่มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ประชากรปูม้าในธรรมชาติลดลงอย่างมากจนน่าเป็นห่วง (กองเศรษฐกิจการประมง, 2545) จากการที่ปริมาณปูม้าในธรรมชาติลดลง กรมประมงจึงมีแนวคิดในการเพาะพันธุ์ปูม้า เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มพันธุ์ปูม้าทั้งเพื่อการปล่อยเสริมในแหล่งน้ำธรรมชาติ และการเลี้ยงในเชิงพาณิชย์เพื่อสนองความต้องการของตลาดในภาวะปัจจุบัน

ปัจจุบันการเพาะขยายพันธุ์ลูกปูม้าในโรงเพาะได้พัฒนาก้าวหน้าขึ้นมามากขึ้น โดยมีการพัฒนารูปแบบวิธีการเพาะและอนุบาลลูกปูม้าให้มีผลผลิตและอัตราการรอดตายที่สูงขึ้น ได้แก่การศึกษาถึงระดับความเค็มที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปูม้า และมีการใช้วัสดุหลบซ่อนเข้าไปแก้ไขปัญหาการกินกันเอง (วารินทร์ และคณะ, 2547, 2548)

การวิจัยและพัฒนาอาหารให้เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำ เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประสบผลสำเร็จ สารอาหารที่สำคัญที่สัตว์น้ำต้องการ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่ โดยความต้องการกรดไขมันของสัตว์น้ำแต่ละชนิดแตกต่างกัน ในสัตว์น้ำจำพวกครัสตาเชียน มีความต้องการสารอาหารพวกกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid; EFA) และไขมันในรูปอื่นๆ เช่น ฟอสโฟไลปิด สเตอรอล และพวกคาร์โรทีนอยด์ (Kanazawa *et al*., 1979a) ไขมันทำหน้าที่สำคัญโดยเป็นตัวนำวิตามินที่ละลายในไขมันไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย เป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมน และเป็นแหล่งของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่จำเป็นต่อร่างกายของสัตว์น้ำ การจัดสรรสารอาหารเหล่านี้อย่างเหมาะสมมีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ซึ่งเกี่ยวเนื่องกับการเปลี่ยนแปลงรูปแบบ และโครงสร้าง ด้านสรีรวิทยา และด้านเคมีวิทยาที่เกิดขึ้นในสัตว์น้ำ (Ong, 1964) ความต้องการไขมันในอาหารมีความหลากหลายแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์น้ำ และอิทธิพลจากสภาวะทางสิ่งแวดล้อมของสัตว์น้ำนั้น แต่สำหรับสัตว์น้ำในกลุ่มครัสตาเชียนส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตสูงสุด เมื่อได้รับไขมันทั้งหมดที่ระดับระหว่าง 2 ถึง 10% ของอาหารโดยน้ำหนักแห้ง (Sheen and D'Abramo, 1991) อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย ไม่เพียงขึ้นอยู่กับผลของปริมาณไขมันที่ได้รับเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับคุณภาพไขมันด้วย (Sheen and Wu, 1999) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเช่น linoleic acid และ linolenic acid ถูกใช้เป็นสารตั้งต้น สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัว และมีงานวิจัยหลายเรื่องที่แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันสองรูปนี้ เป็นส่วนประกอบที่จำเป็นสำหรับอาหารของสัตว์น้ำในกลุ่มครัสตาเชียน (Castell and Covey, 1976; Kanazawa *et al*., 1979b; Read, 1981) ในขณะที่สัตว์น้ำทะเลในกลุ่มครัสตาเชียนส่วนใหญ่ไม่สามารถสังเคราะห์ Highly unsaturated fatty acids (HUFA) จาก linoleic acid และ linolenic acid (Kanazawa *et al*., 1979b; Bottino *et al*., 1980) ในขณะที่การค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับปูในด้านนี้ยังมีจำนวนน้อย โดย Levine and Sulkin (1984) ได้ระบุว่าการขาด Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) เป็นผลทำให้อัตราการรอดตายต่ำ ระยะเปลือกแข็ง (intermolt) ยาวนานขึ้น ในปู *Eurypanopeus depressus* ต่อมาได้มีผลการศึกษาที่คล้ายคลึงกันในปูทะเลวัยอ่อน

Scylla serrata (Sheen and Wu, 2003; Suprayudi *et al*., 2004) การเสริม HUFA ผ่านโรติเฟอร์และไรน้ำเค็มก่อนนำไปอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนด้วยวิธีต่างๆ ปัจจุบันมี 3 วิธี ได้แก่ เสริมน้ำมันในรูปแคปซูล (Ozkizilcik and Chu, 1994) เสริมน้ำมันจากปลาทะเลในรูป emulsion (Sorgeloos and Leger, 1992; Ozkizilcik and Chu, 1994) และเสริมสาหร่ายมีชีวิตขนาดเล็กที่มีกรดไขมันที่จำเป็นสูง เช่น *Chaetoceros gracillis* และ *Isochrysis galbana* (Whyte and Nagata, 1990; Ozkizilcik and Chu, 1994) ในปัจจุบันแหล่งของ DHA คือ ปลา และน้ำมันปลาที่มี DHA อยู่ประมาณ 7-14% (Kamlangdee and Fan, 2003) ปริมาณ EPA และ DHA แตกต่างกันตามชนิดของปลา แหล่งที่อยู่อาศัย ฤดูกาล ช่วงเวลาการวางไข่ และปริมาณเอมไซม์ในการสร้าง EPA และ DHA จากกรดไขมันชนิดอื่น (Stansby *et al*., 1990) นอกจากนี้ปริมาณกรดไขมันภายในตัวปลาก็มีความแปรปรวนสูง และถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายจึงทำให้กลิ่น รส และคุณภาพของกรดไขมันลดลง เนื่องจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวจากปลาทะเลมีคุณภาพแตกต่างกันดังกล่าวแล้ว จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์หันมาสนใจแหล่งไขมันจากสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกแพลงก์ตอน และสาหร่าย (ศิริวรรณ, 2541)

Schizochytrium sp. เป็นจุลินทรีย์น้ำเค็มกลุ่ม Marine thraustochytrids พบแพร่กระจายบริเวณผิวหน้าของสาหร่ายที่เจริญเติบโตในแหล่งน้ำกร่อย น้ำทะเล และในดินเค็ม (Lopez-Garcia *et al*., 2001) ซึ่งสามารถแยกจุลินทรีย์น้ำเค็มได้จากผิวหน้าของสาหร่าย และพืชที่เจริญเติบโตตามตะกอนดินทั่วไปในป่าชายเลน (Miller and Jones, 1983) Kamlangdee and Fan (2003) พบว่า *Schizochytrium* sp. มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และมีอัตราส่วนของ DHA ในไขมันสูงมากกว่า 35% ของกรดไขมันทั้งหมด *Schizochytrium* sp. เป็นผู้ผลิตปฐมภูมิมีคุณสมบัติพิเศษในการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในเซลล์สูง ซึ่งส่วนใหญ่เป็น HUFA ในกลุ่มโอเมก้า 3 พวก DHA (Yongmanitchai *et al*., 2007) จูอะดี และคณะ (2553) และกอบศักดิ์ และคณะ (2553) รายงานว่าการเสริม *S. limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ใช้อนุบาลปูม้า และปูทะเลระยะ Zoea 1 ถึงระยะ Crab 2 มีผลต่อพัฒนาการของตัวอ่อนปูม้า และปูทะเลทำให้การเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนจากระยะหนึ่งเข้าสู่ตัวอ่อนอีกระยะหนึ่งได้เร็วขึ้น ทั้งช่วยให้ลูกปูม้า และปูทะเลมีอัตราการรอดตาย ขนาดความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยสูงขึ้น กอบศักดิ์ และคณะ (2556) ได้ทดลองเปรียบเทียบการใช้ *S. limacinum* และน้ำมันปลา 50 ppm เสริมในอาหารมีชีวิตในการอนุบาลลูกปูม้า และลูกปูทะเล พบว่าการใช้ *S. limacinum* มีอัตราการรอดตายสูงกว่า Ganuza *et al*., (2008) รายงานการใช้ *Schizochytrium* sp. ทดแทนน้ำมันปลาในอาหารลูกปลา gilthead seabrem (*Sparus aurata*) พบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. มีอัตราการรอดตาย การเจริญเติบโต ความต้านทานโรค และความทนทานต่อสภาพขาดอากาศได้ดีไม่แตกต่างจากลูกปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันปลา แสดงว่า *Schizochytrium* sp. สามารถใช้ทดแทนน้ำมันปลาได้

ดังนั้นในการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเสริม *S. limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มในการอนุบาลลูกปูม้า ซึ่งเป็นแนวทางที่สำคัญในการพัฒนาด้านโภชนาการของอาหารมีชีวิต เพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและความแข็งแรงของลูกปูม้า เพื่อพัฒนาเทคนิคการอนุบาลปูม้าให้ได้อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายสูงขึ้น ซึ่งมีผลต่อเนื่องถึงการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปูม้าในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบการพัฒนาการ การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของลูกปูม้าระยะ Zoea 1 – Crab 2 ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม ที่เสริม *S. limacinum*

2. เพื่อทราบความแข็งแรงของลูกปูม้าในแต่ละระยะระหว่างการอนุบาลลูกปูม้าจากระยะ Zoea 1 – Crab 2 ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum*

3. เพื่อทราบองค์ประกอบกรดไขมันของลูกปูม้าจากระยะ Zoea 1 – Crab 2 ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum*

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

สถานที่ทดลอง

ทดลองที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาและอนุรักษ์พันธุ์ปู ป่าทุ่งทะเล อันเนื่องมาจากพระราชดำริ 79 หมู่ 3 ตำบลเกาะกลาง อำเภอเกาะลันตา จังหวัดกระบี่ ระหว่างเดือน มกราคม – มีนาคม 2557

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (Completely Randommized Design) โดยดำเนินการทดลองในปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะ Zoea 1 ถึงระยะ crab 2 แบ่งชุดทดลองเป็น 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองมี 3 ซ้ำ

ชุดทดลองที่ 1 (T1) อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม *S. limacinum*
ชุดทดลองที่ 2 (T2) อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* 50 ppm
ชุดทดลองที่ 3 (T3) อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* 100 ppm
ชุดทดลองที่ 4 (T4) อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* 150 ppm
ชุดทดลองที่ 5 (T5) อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* 200 ppm

2. การเตรียมน้ำ และอุปกรณ์การทดลอง

เตรียมน้ำทะเลสำหรับการทดลองอนุบาลลูกปูม้า โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติความเค็ม 30 ppt มาผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ($Ca(OCl)_2$) 30 ppm ให้อากาศเป็นระยะเวลา 3 วัน แล้วปิดเครื่องให้อากาศ ทิ้งให้ตกตะกอน หลังจากนั้นสูบมาเก็บไว้ในบ่อคอนกรีตขนาด 200 ตัน (12×12×1.5 เมตร) ที่มีหลังคาคลุม ปั้มน้ำขึ้นหอจ่ายน้ำขนาด 50 ตัน (5×5×2 เมตร) เตรียมถังกลมขนาด 250 ลิตร โดยด้านบนถังมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 75 เซนติเมตร ด้านก้นถังมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 56 เซนติเมตร สูง 73 เซนติเมตร จำนวน 15 ถัง ต่อการทดลอง ติดตั้งหัวทรายสำหรับให้อากาศ 1 หัวต่อถัง เติมน้ำจากหอจ่ายน้ำที่เตรียมไว้โดยผ่านถุงกรองน้ำขนาด 10 ไมครอน ลงในแต่ละถังๆ ละ 200 ลิตร นำลูกปูม้าที่ฟักออกจากแม่ปูที่มีความกว้างกระดอง 11.42 เซนติเมตร และน้ำหนัก 250 กรัม ใส่ในถังด้วยอัตราความหนาแน่น 100 ตัวต่อลิตร

3. การเตรียมอาหาร และการให้อาหาร

S. limacinum อยู่ในรูปของเหลวที่มีจำนวนเซลล์ 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ *S. limacinum* 0, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตร ใส่ในถังกลมปริมาตร 250 ลิตร ที่บรรจุน้ำ 200 ลิตร ได้ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm ตามลำดับ กรองโรติเฟอร์ที่เลี้ยงด้วยคลอเรลลานำมาเสริม *S. limacinum* 6 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ลูกปูม้า โดยให้โรติเฟอร์ที่เสริม *S. limacinum* ในอัตราความหนาแน่นถังละ 3 ตัว ต่อมิลลิลิตร ให้วันละ 3 มื้อ ส่วนไรน้ำเค็มเสริม *S. limacinum* 0, 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตร ใส่ในถังปริมาตร 250 ลิตร ที่บรรจุน้ำ 200 ลิตร เสริม *S. limacinum* 6 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ลูกปูม้า โดยให้ไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* อัตราความหนาแน่นถังละ 5 ตัว ต่อมิลลิลิตร ให้วันละ 3 มื้อ

ให้อาหารตามการพัฒนาของลูกปู โดยระยะ Zoea 1 ให้โรติเฟอร์ และเมื่อลูกปูเข้าสู่ระยะ Zoea 2 ถึง Zoea 4 ให้ไรน้ำเค็มที่ฟักออกเป็นตัวมาแล้ว 6 ชั่วโมง นำมาเสริม *S. limacinum* 6 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ลูกปู เมื่อเข้าระยะ Megalopa ให้ไรน้ำเค็มขนาดกลาง ซึ่งมีขนาดความยาวลำตัวอยู่ในช่วง 3.5 ถึง 6 มิลลิเมตร ที่เลี้ยงไว้ในบ่อคอนกรีตขนาด 20 ตัน (2×10×1 เมตร) นำมาเสริม *S. limacinum* 6 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ลูกปูม้า และเมื่อเข้าระยะ Crab 1 ให้ไรน้ำเค็มตัวเต็มวัยที่ได้จากบ่อเลี้ยงไรน้ำเค็มจากจังหวัดเพชรบุรี นำมาเสริม *S. limacinum* 6 ชั่วโมง ก่อนนำไปให้ลูกปูม้า ชนิดและปริมาณการให้อาหารลูกปูม้าแต่ละระยะดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณการให้อาหารลูกปูม้า (*P. pelagicus*) แต่ละระยะ

ระยะลูกปู	ชนิดอาหาร	ปริมาณอาหารมีชีวิต (ตัว/มล.)	จำนวนมื้อ	การจัดการถังอนุบาล
Zoea 1	โรติเฟอร์	3	3	ดูดตะกอนเปลี่ยนถ่ายน้ำ 10-20%
Zoea 2	โรติเฟอร์	3	3	ดูดตะกอนเปลี่ยนถ่ายน้ำ 10-20%
	ไรน้ำเค็มแรกฟัก	3		
Zoea 3	ไรน้ำเค็มแรกฟัก	4	3	ดูดตะกอนเปลี่ยนถ่ายน้ำ 30-50%
Zoea 4	ไรน้ำเค็มแรกฟัก	4	3	ดูดตะกอนเปลี่ยนถ่ายน้ำ 30-50% ลดความเค็มเหลือ 25 ppt
Megalopa	ไรน้ำเค็มขนาดกลาง	5	3	ดูดตะกอนเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% ใส่กิ่งสนเพื่อเป็นวัสดุให้ลูกปูเกาะ
Young crab	ไรน้ำเค็มตัวเต็มวัย	5	3	ดูดตะกอนเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50%

4. การจัดการระหว่างการอนุบาล

การจัดการในถังอนุบาลลูกปูม้าระหว่างการทดลองมีการดูดตะกอน และเปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 1 ครั้งประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในถัง ในระยะ Zoea 1 ถึง Zoea 2 และเปลี่ยนถ่ายน้ำเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 30-50 เปอร์เซนต์ ในระยะ Zoea 2 ถึง Megalopa ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำค่อยๆ ลดความเค็มของน้ำลงจาก 30 ppt ลงไปจนถึง 25 ppt เมื่อลูกปูม้าเข้าระยะ Zoea 4 เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 ppt ตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง และเมื่อลูกปูพัฒนาเข้าระยะ Megalopa ใส่กิ่งสนเพื่อเป็นที่หลบซ่อน และเป็นที่ยึดเกาะของลูกปู

5. คุณภาพน้ำในถังอนุบาลลูกปูม้า

วัดอุณหภูมิน้ำด้วยเทอร์โมมิเตอร์ ความเค็มด้วย Salino refractometer ยี่ห้อ ATAGO รุ่น S-10E ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำด้วยวิธีการของ Strickland and Parsons (1972) ความเป็นด่าง (alkalinity) โดยใช้วิธี Potentiometric Titration to Pre-Selected pH (APHA, AWWA and WPCF, 1980) วิเคราะห์ความเข้มข้นแอมโมเนียรวมโดยวิธี Modified Indophenol (Sasaki and Sawada,1980) ไนไตรท์ใช้วิธี Diazotization (Bendschneider and Robinson,1952) และไนเตรทโดยวิธีของ APHA, AWWA and WPCF, (1980) และวัดความเป็นกรด-ด่างโดยใช้ pH meter ยี่ห้อ wtw รุ่น inoLap pH Level 1 ตรวจวัดและเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำทุกครั้ง เมื่อมีการเปลี่ยนระยะพัฒนาของลูกปูม้า

6. การศึกษาพัฒนาการ การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกปูม้า

1. คำนวณระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาตัวอ่อนลูกปูม้าระยะต่างๆ (ชั่วโมง)

2. หาอัตราการรอดตายระยะ Zoea 1, Zoea 2, Zoea 3, Zoea 4, Megalopa และ Crab 2 โดยการสุ่มลูกปูม้าแต่ละถังทดลองถังละ 5 จุด นับจำนวนลูกปูม้าแต่ละจุด นำมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นนำมาคำนวณจำนวนลูกปูม้าทั้งหมดแต่ละชุดทดลอง

3. เมื่อลูกปูม้าเข้าระยะ Crab 2 โดยสมบูรณ์ครบทุกตัว ทำการนับจำนวนลูกปู โดยการนับจำนวนลูกปูม้าทุกตัวที่เหลือรอดในแต่ละถังทดลอง เพื่อหาอัตราการรอดตายในแต่ละชุดทดลอง

4. สุ่มลูกปูม้าระยะ Crab 2 ถังละ 30 ตัว วัดความกว้างกระดอง และชั่งน้ำหนักเพื่อนำไปหาอัตราการเจริญเติบโต

7. ความทนทานต่อความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม (Stress tolerance to salinity change)

ทดสอบความทนทานต่อความเครียดในลูกปูม้าระยะ Zoea 4 Megalopa และ Crab 1

1. เตรียมน้ำทะเลความเค็ม 25 ppt ใส่ลูกปูม้าระยะ Zoea 4, Megalopa และ Crab 1 ใส่ลูกปูม้าแต่ละชุดทดลองลงในถังที่บรรจุน้ำ 20 ลิตร ชุดละ 3 ถัง จำนวน 15 ถัง ต่อการทดลอง โดยในระยะ Zoea 4 ใส่ลูกปูม้า 300 ตัว ต่อถัง ระยะ Megalopa ใส่ลูกปูม้า 100 ตัว ต่อถัง และ ระยะ Crab1 ใส่ลูกปูม้า 50 ตัว ต่อถัง ให้อากาศในถังด้วยระบบให้อากาศผ่านสายยาง และหัวทราย จำนวน 1 หัวต่อถัง ลดความเค็มลงเป็น 10 ppt ใช้เวลา 30 นาที

2. นำลูกปูม้าที่ผ่านการลดความเค็มอย่างเฉียบพลัน ระยะ Zoea 4, Megalopa และ Crab 1 ใส่ในน้ำทะเลความเค็มระดับ 25 ppt เป็นเวลา 3 วัน

3. บันทึกจำนวนการรอดตายของลูกปูม้าที่ความเค็มน้ำระดับ 25 ppt

8. การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน

เก็บตัวอย่างโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม ที่ไม่เสริม และเสริม *S. limacinum* 50, 100, 150 และ 200 ppm โดยทำการกรองโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มด้วยผ้ากรอง ล้างด้วยน้ำจืด ซับน้ำให้แห้ง ชั่งน้ำหนักเก็บใส่ถุงพลาสติก นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่วนลูกปูม้าเก็บตัวอย่างระยะ Crab 2 ซับน้ำให้แห้ง เก็บใส่ถุงพลาสติกนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยส่งตัวอย่างไปห้องปฏิบัติการกลาง ดำเนินการวิเคราะห์ องค์ประกอบของกรดไขมัน โดยใช้วิธี gas-chromatography ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Auto System XL

9. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการพัฒนาของตัวอ่อน ความกว้างกระดอง น้ำหนัก และ อัตราการรอดตาย ของลูกปูม้า ในระยะต่างๆ ที่นำมาทดสอบความทนทานต่อความเครียด (Stress tolerance) จากการเปลี่ยนแปลงความเค็มของลูกปูม้าในแต่ละชุดทดลอง แล้วนำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan´s multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (จรัญ, 2523) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window

ผลการศึกษา

1. **พัฒนาการของลูกปูม้า**

ผลการอนุบาลลูกปูม้าที่เสริม *S. limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm (T1, T2, T3, T4 และ T5) ตามลำดับ ลูกปูม้าในใช้เวลาอยู่ในระยะ Zoea 1 57.33±0.58, 54.00±1.00, 51.67±0.58, 51.33±0.58 และ 49.67±0.58 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่าลูกปูม้า T2, T3, T4 และ T5 ลูกปูม้าพัฒนาจาก Zoea 1 เข้าสู่ Zoea 2 และ Zoea 2 เข้าสู่ Zoea 3 มีพัฒนาการเร็วกว่า T1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ระยะ Zoea 3 เข้าสู่ Zoea 4 พบว่า T1 มีพัฒนาการช้ากว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วน T5, ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับ T3 และ T4 แต่เปลี่ยนระยะเร็วกว่า T2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ระยะ Zoea 4 เข้าสู่ Megalopa พบว่าลูกปูม้า T2, T3, T4 และ T5 พัฒนาการเร็วกว่า T1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วน T4 กับ T5 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีพัฒนาการเร็วกว่า T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ระยะ Megalopa เข้าสู่ Crab 1 พบว่าลูกปูม้า T4 และ T5 พัฒนาการเร็วกว่า T1, T2, และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วน T2 และ T3 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีพัฒนาการเร็วกว่า T1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

และจากระยะ Crab 1 เข้าสู่ Crab 2 พบว่า T1 มีการพัฒนาช้ากว่าชุดทดลอง T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วน T4 และ T5 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีพัฒนาการเร็วกว่า T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และ T3 มีพัฒนาการเร็วกว่า T2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาตัวอ่อนลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะต่างๆ ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm จากระยะ Zoea 1 ถึง Crab 2

ระยะ	ระยะเวลาเฉลี่ยในการพัฒนาตัวอ่อนระยะต่างๆ (ชั่วโมง)				
	T1	T2	T3	T4	T5
Zoea 1 - Zoea 2	57.33^{d}±0.58	54.00^{c}±1.00	51.67^{b}±0.58	51.33^{b}±0.58	49.67^{a}±0.58
Zoea 2 - Zoea 3	54.67^{d}±0.58	51.67^{c}±0.58	51.33^{bc}±0.58	50.67^{ab}±0.58	50.00^{a}±0.00
Zoea 3 - Zoea 4	56.67^{c}±1.15	53.00^{b}±1.00	52.67^{ab}±0.58	51.67^{ab}±0.58	51.00^{a}±1.00
Zoea4 -Megalopa	50.33^{d}±0.58	47.67^{c}±0.58	46.33^{b}±0.58	44.33^{a}±0.58	44.00^{a}±1.00
Megalopa - Crab1	99.33^{c}±0.58	95.33^{b}±1.00	94.67^{b}±0.58	91.67^{a}±0.58	91.00^{a}±1.00
Crab 1 – Crab 2	115.67^{d}±0.58	113.00^{c}±1.00	110.67^{b}±1.15	106.33^{a}±1.15	105.67^{a}±0.58

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2. การเจริญเติบโต ขนาดความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้า

ลูกปูม้าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปูม้าในชุดทดลองที่ T1, T2, T3, T4 และ T5 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 0.0406±0.0012, 0.0429±0.0014, 0.0431±0.0014, 0.0466±0.0014 และ 0.0469±0.0012 กรัม และมีความกว้างกระดองเฉลี่ยเท่ากับ 0.5060±0.0365, 0.5366±0.0348, 0.5460±0.0303 0.5690±0.0280 และ0.5732±0.0262 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ชุดทดลอง T1 ลูกปูม้ามีการเจริญเติบโตโดยมีความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเข้าสู่ระยะ Crab 2 น้อยกว่าลูกปูม้าที่อนุบาลด้วย โรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม ชุดทดลอง T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 และ T3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)แต่มีความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วน T4 และ T5 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะ Crab 2 ที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm

ชุดทดลอง	การเจริญเติบโต	
	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	ความกว้างกระดองเฉลี่ย (เซนติเมตร)
T1	0.0406^{c}±0.0012	0.5060^{c}±0.0365
T2	0.0429^{b}±0.0014	0.5366^{b}±0.0348
T3	0.0431^{b}±0.0014	0.5460^{b}±0.0303
T4	0.0466^{a}±0.0014	0.5698^{a}±0.0280
T5	0.0469^{a}±0.0012	0.5732^{a}±0.0262

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3. อัตราการรอดตายของลูกปูม้า

ลูกปูม้าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 ppm เมื่อเข้าระยะ Zoea 2 T1, T2, T3, T4 และ T5 มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 86.92±0.67, 91.64±0.62, 92.43±0.85, 93.96±0.22 และ 93.91±0.34% ตามลำดับ โดย T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 และ T3 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T4 และ T5 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ในระยะ Zoea 3 พบว่า T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T3 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T4 มีอัตราการรอดตายสูงสุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ T5 ($p>0.05$) เมื่อเข้าระยะ Zoea 4 พบว่า T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T3 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T4 และ T5 มีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) และในระยะ Megalopa พบว่า T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับ T3 แต่ มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T3 มีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ T5 ($p>0.05$) แต่น้อยกว่า T4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเข้าระยะ Crab 1 พบว่า T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 และ T3 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T4 มีอัตราการรอดตายสูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ T5 ($p>0.05$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 อัตราการรอดตายเฉลี่ย (%) ของลูกปูม้า (*P. pelagicus*) จากระยะ Zoea 1 ถึง Crab 2

ระยะ	ชุดทดลอง				
	T1	T2	T3	T4	T5
Zoea 1	100	100	100	100	100
Zoea 2	86.92^{c}±0.67	91.64^{b}±0.62	92.43^{b}±0.85	93.96^{a}±0.22	93.91^{a}±0.34
Zoea 3	70.70^{d}±0.28	80.80^{c}±0.26	86.42^{b}±0.44	91.72^{a}±1.04	90.45^{a}±1.18
Zoea 4	66.61^{d}±1.04	74.56^{c}±0.48	78.18^{b}±0.58	82.01^{a}±0.17	82.00^{a}±0.40
Megalopa	41.94^{d}±2.50	55.11^{c}±3.87	58.15^{bc}±0.30	64.39^{a}±0.15	61.28^{ab}±1.17
Crab 2	12.28^{c}±0.63	13.65^{b}±0.18	14.19^{b}±0.25	15.97^{a}±0.25	15.42^{a}±0.35

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4. ความทนทานต่อความเครียดของลูกปูม้าจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม

ความทนทานต่อความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มของลูกปูม้าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 0 (T1), 50 (T2), 100 (T3), 150 (T4) และ 200 (T5) ppm พบว่า ระยะ Zoea 4 มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 47.56±1.35, 64.89±1.92, 66.00±1.00, 67.44±0.51 และ 68.22±0.69% ตามลำดับ โดย T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T2 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ T3 ($p>0.05$) ส่วน T3, T4 และ T5 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) การทดสอบในระยะ Megalopa T1 มีอัตราการรอดตายน้อยกว่า T2, T3, T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วน T3, T4 และ T5 อัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่สูงกว่า T2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนการทดสอบในระยะ Crab 1 พบว่า T2, T3, T4 และ T5 มีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีอัตราการรอดตายสูงกว่า T1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราการรอดตายเฉลี่ย (%) ภายหลังจากการทดสอบความทนทานต่อความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มของลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะ Zoea 4, Megalopa และ Crab 1 ในระยะเวลา 3 วัน

ชุดทดลอง	อัตราการรอดตายเฉลี่ย (%)		
	Zoea 4	Megalopa	Crab 1
T1	47.56^{c}±1.35	61.67^{c}±1.53	79.67^{b}±2.52
T2	64.89^{b}±1.92	81.67^{b}±2.52	91.00^{a}±3.00
T3	66.00^{ab}±1.00	85.00^{a}±1.00	92.67^{a}±1.15
T4	67.44^{a}±0.51	86.33^{a}±1.15	93.67^{a}±0.58
T5	68.22^{a}±0.69	87.33^{a}±2.31	94.67^{a}±1.15

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5. คุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลลูกปูม้า

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในแต่ละระยะของการอนุบาลลูกปูม้า พบว่า ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความเป็นด่าง ออกซิเจนละลายน้ำ แอมโมเนียรวม ไนไตรท์ และไนเตรท ของแต่ละชุดทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยความเค็มตลอดการอนุบาลอยู่ในช่วง 25-30 ppt ความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.85-8.35 อุณหภูมิตลอดการทดลองอยู่ในช่วง 29.5-32.0 องศาเซลเซียส ความเป็นด่างอยู่ในช่วง 110-130 มิลลิกรัมต่อลิตร ออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 6.50-8.30 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียรวมอยู่ในช่วง 0.01-0.36 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.01-0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนเตรทอยู่ในช่วง 0.01-0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคุณภาพน้ำเฉลี่ยในการทดลองอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของการอยู่อาศัยของสัตว์น้ำชายฝั่ง (คณิต และคณะ, 2537)

6. องค์ประกอบของกรดไขมัน

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันใน *S. limacinum* มีกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C16:0 และ C14:0 เท่ากับ 24.80 และ 5.78% area Total fatty acid (TFA) ตามลำดับ เป็นองค์ประกอบหลัก กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง (n-3 HUFA) ชนิด DHA (22:6n-3) เท่ากับ 38.42% area และมี EPA (20:5n-3) เท่ากับ 3.04% area มี n-3 HUFA เท่ากับ 42.49% area มี total n-3 เท่ากับ 43.96% area และ total n-6 เท่ากับ 1.85% area ทำให้สัดส่วน n-3: n-6 = 23.51

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในโรติเฟอร์ที่ไม่เสริม และเสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm พบว่า มีกรดไขมันชนิด DHA (22:6n-3) เท่ากับ 0.12, 20.35, 23.64, 24.46 และ 24.27% ตามลำดับ EPA เท่ากับ 1.10, 2.74, 2.78, 3.02 และ 3.33 % ตามลำดับ n-3 HUFA เท่ากับ 7.47, 27.36, 29.21, 30.48 และ 30.67% ตามลำดับ องค์ประกอบกรดไขมันชนิด n-3 HUFA, DHA

และ EPA ในโรติเฟอร์ที่เสริม *S. limacinum* สูงกว่าไม่เสริม *S. limacinum* โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนความเข้มข้น *S. limacinum* ที่เสริมในโรติเฟอร์ (ตารางที่ 6)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม และเสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm ไม่พบกรดไขมันชนิด DHA ในไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม *S. limacinum* ส่วนที่เสริม *S. limacinum* เท่ากับ 0.78, 1.22, 1.56 และ 1.62% ตามลำดับ EPA เท่ากับ 1.98, 2.88, 3.67, 3.88 และ 3.64% ตามลำดับ n-3 HUFA เท่ากับ 3.67, 5.52, 6.69, 5.65 และ 6.86% ตามลำดับ องค์ประกอบกรดไขมันชนิด n-3 HUFA, DHA และ EPA ในไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* สูงกว่าที่ไม่เสริม *S. limacinum* โดยปริมาณ DHA และ n-3 HUFA เพิ่มขึ้นสูงสุดในไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 200 ppm ส่วน EPA เพิ่มขึ้นสูงสุดในไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 150 ppm

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างลูกปูม้าที่ไม่เสริม และเสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm พบว่า มีกรดไขมันชนิด DHA เท่ากับ 0, 0.02, 0.04, 0.05 และ 0.04% ตามลำดับ ไม่พบกรดไขมันชนิด EPA ส่วน n-3 HUFA เท่ากับ 0, 0.02, 0.04, 0.05 และ 0.04% ตามลำดับ องค์ประกอบกรดไขมันชนิด n-3 HUFA, DHA และ EPA ในลูกปูม้าที่เสริม *S. limacinum* สูงกว่าไม่เสริม *S. limacinum* โดยปริมาณ DHA และ n-3 HUFA เพิ่มขึ้นสูงสุดในไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 150 ppm (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 องค์ประกอบกรดไขมัน (% area TFA) ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม และ เสริม *S. limacinum* 50, 100, 150 และ 200 ppm และลูกปูม้า (*P. pelagicus*) ระยะ Crab 2 ที่ให้กินโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม และเสริม *S. limacinum* 50, 100, 150 และ 200 ppm

กรดไขมัน	S	โรติเฟอร์					ไรน้ำเค็ม					ลูกปูม้าระยะcrab2				
		T1	T2	T3	T4	T5	T1	T2	T3	T4	T5	T1	T2	T3	T4	T5
C12:0	0.15	0.08	0.10	0.11	0.11	0.11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	5.78	1.63	2.34	3.01	3.23	3.39	0.74	1.03	1.79	1.82	1.75	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
C14:1	0.09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.32	0.84	0.45	0.40	0.39	0.39	0.19	0.20	0.25	0.27	0.22	ND	ND	0.01	0.01	ND
C16.0	24.80	20.48	18.28	18.42	18.17	18.20	10.45	11.01	15.76	13.96	15.54	0.13	0.31	0.38	0.39	0.35
C16:1	0.24	1.76	0.82	0.68	0.67	0.67	2.99	2.61	2.80	2.30	2.28	ND	ND	0.02	0.01	0.01
C17:0	0.16	0.88	0.42	0.34	0.32	0.31	0.59	0.66	0.54	0.70	0.56	**0.01**	**0.02**	0.02	0.02	0.01
C17:1	0.17	1.93	1.14	0.89	0.79	0.78	1.46	1.11	1.18	0.99	1.01	ND	ND	0.01	0.01	ND
C18:0	0.65	6.25	3.34	3.02	2.89	2.75	4.07	4.18	5.24	4.56	4.89	**0.10**	**0.18**	0.22	0.23	0.21
C18:1n-9	ND	7.42	3.45	2.90	2.56	2.38	17.01	14.34	14.48	15.78	13.75	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n-7	0.12	2.50	1.24	1.33	1.12	1.01	5.98	6.39	6.17	7.56	5.96	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n-6	0.06	11.25	13.21	8.23	6.78	6.01	6.25	6.20	6.12	4.56	4.19	0.09	0.06	0.14	0.13	0.10
C18:3n-6	0.35	0.22	0.24	0.31	0.32	0.38	0.66	0.64	0.60	0.65	0.54	ND	ND	ND	ND	ND
C18:3n-3	0.05	18.65	14.56	13.06	10.87	9.64	30.12	29.68	23.32	17.12	17.36	0.17	0.05	0.04	0.04	0.02
C18:4n-3	0.65	ND	0.23	0.29	0.36	0.42	4.89	4.73	3.45	2.13	2.34	ND	ND	ND	ND	ND
C20:0	0.11	2.09	1.02	0.98	0.86	0.75	0.11	0.14	0.15	0.17	0.15	ND	ND	ND	ND	ND
C20:1	ND	1.75	0.92	0.89	0.78	0.68	0.46	0.47	0.45	0.49	0.43	ND	0.01	0.01	0.01	0.01
C20:2n-6	0.05	0.22	0.13	0.14	0.15	0.13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C20:3n-6	0.08	0.87	0.61	0.58	0.56	0.52	0.21	0.23	0.21	0.21	0.20	ND	ND	ND	ND	ND
C20:4n-6	1.31	0.40	1.26	1.30	1.38	1.39	0.72	1.64	1.56	1.80	1.76	ND	0.03	0.05	0.05	0.04
C20:3n-3	0.23	1.61	1.32	1.24	1.07	1.02	0.70	0.69	0.68	0.54	0.58	ND	ND	ND	ND	ND
C20:4n-3	1.10	2.62	2.67	2.74	2.55	2.49	0.82	0.85	0.74	0.64	0.80	ND	ND	ND	ND	ND
C20:5n-3	3.04	1.10	2.74	2.78	3.02	3.33	1.98	2.88	3.67	3.88	3.64	ND	ND	ND	ND	ND
C21:0	2.37	0.61	0.73	0.78	0.98	2.01	0.18	0.21	0.24	0.78	0.92	ND	ND	ND	MD	ND
C22:0	0.12	0.54	0.31	0.29	0.28	0.25	0.13	0.16	0.32	0.41	0.56	.01	.03	0.10	0.09	0.09
C22:1n-9	ND	0.71	0.21	0.19	0.18	0.16	ND	0.06	0.09	0.11	0.12	ND	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C22:5n-3	ND	ND	0.64	0.66	0.69	0.71	ND	0.17	0.19	0.20	0.18	ND	ND	ND	ND	ND
C22:6n-3	38.42	0.12	20.35	23.64	24.46	24.27	ND	0.78	1.22	1.56	1.62	ND	0.02	0.04	0.04	0.04
C23.0	0.18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C24.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C24.1	ND	0.15	0.08	0.09	0.12	0.10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
other	19.42	11.87	15.54	15.87	16.87	16.51	8.52	11.11	10.48	11.42	11.55	8.42	9.15	10.22	9.03	10.32
total unsat	45.96	53.26	63.95	60.72	57.67	55.30	74.42	73.62	67.12	59.85	56.80	0.26	0.17	0.31	0.300	0.22
total sat	34.64	32.22	27.21	27.63	27.09	28.18	16.46	17.59	24.29	24.70	24.59	0.26	0.55	0.74	0.75	0.67
total n-3	43.96	24.19	40.57	43.09	42.13	41.04	38.68	39.93	33.46	24.90	26.56	0.17	0.07	0.08	0.09	0.06
n-3 HUFA	42.49	7.47	27.36	29.21	30.48	30.67	3.67	5.52	5.65	6.69	6.86	0.00	0.02	0.04	0.04	0.04
total n6	1.85	13.06	15.52	10.63	9.26	8.45	7.84	8.71	8.49	7.22	6.69	0.09	0.09	0.19	0.18	0.14
n3/n6	23.51	1.85	2.61	4.05	4.55	4.86	4.93	4.58	3.94	3.45	3.97	1.89	0.78	0.42	0.50	0.43

หมายเหตุ S = *S. limacinum* แบบผง total unsat = total unsaturated fatty acid total sat = total saturated fatty acid

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการเสริม *S. limacinum* 4 ระดับในการอนุบาลลูกปูม้า พบว่าการเสริม *S. limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm ก่อนนำมาให้เป็นอาหาร ลูกปูม้า มีการพัฒนาเข้าระยะต่างๆ ได้เร็วกว่าลูกปูม้าที่ให้ โรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่ได้เสริม *S. limacinum* โดยพบว่าเมื่อเสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 150 ppm ขึ้นไป มีการพัฒนาเข้าระยะต่างๆ ได้เร็วกว่าเสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ กอบศักดิ์ และคณะ (2553) ศึกษาผลการเสริม *S. limacinum* ในอาหารต่อพัฒนาการของลูกปูทะเล (*Scylla paramamosain*) พบว่าลูกปูทะเลที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* มีพัฒนาการเร็วกว่าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม *S. limacinum* โดยทั่วไปโรงเพาะฟักปูม้าใช้อาหารมีชีวิต พวกโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มในการอนุบาลลูกปูม้าวัยอ่อน Southgate (2003) รายงานว่าอาหารมีชีวิตเหล่านี้ขาดกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (HUFA) ที่มีความจำเป็นสำหรับการพัฒนาของสัตว์น้ำวัยอ่อน Sheen and Wu (1999) รายงานว่าปริมาณไขมันในอาหารปูทะเล (*S. serrata*) ทำให้มีความถี่ในการลอกคราบสูงขึ้น และระดับไขมันที่เหมาะสมของปูทะเลอยู่ในช่วง 5.3-13.8% โดยเฉพาะ DHA มีบทบาทสำคัญในการเร่งระยะเวลาช่วงการลอกคราบแต่ละระยะให้เร็วขึ้น

ขนาดและน้ำหนักของลูกปูม้าในระยะ Crab 2 ที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้นสูงมีขนาดและน้ำหนักมากกว่าลูกปูม้าที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้นต่ำ สอดคล้องกับ Sheen and Wu (1999) รายงานว่าการเสริมไขมันในอาหารปูทะเล (*S. serrata*) ทำให้ความกว้างกระดองขยายใหญ่กว่าเก่าได้มากขึ้นในปูทะเลในช่วงระยะ juveniles นอกจากนี้ พัชรี และคณะ (2553) ได้ศึกษาผลการเสริม *S. limacinum* ในอาหารต่อการเจริญเติบโตของลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่อนุบาลโดยคีโตเซอรอส และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* มีการเจริญเติบโตดีกว่าลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่อนุบาล โดยคีโตเซอรอส และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม *S. limacinum*

อัตราการรอดตายพบว่าลูกปูม้าที่อนุบาลโดยเสริม *S. limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ความเข้มข้นสูงมีมากกว่าอัตราการรอดตายของลูกปูม้าที่เสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้นต่ำ เนื่องจากมีกรดไขมัน DHA สูงรวมทั้งโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 เป็นกรดไขมันจำเป็นที่สัตว์จำพวกกุ้ง ใช้เพื่อการเจริญเติบโต โดยเฉพาะกลุ่มโอเมก้า 3 มีผลต่อการรอดตายของกุ้งสูง (Guary *et al*., 1976) กอบศักดิ์ และคณะ (2556) ได้ทดลองเปรียบเทียบการใช้ *S. limacinum* และน้ำมันปลา 50 ppm เสริมในอาหารมีชีวิตในการอนุบาลลูกปูม้า และลูกปูทะเล พบว่า อัตราการรอดตายของลูกปูม้าในระยะ crab2 เท่ากับ 13.45 % ใกล้เคียงกับอัตราการรอดตายของลูกปูม้าที่ทดลองในครั้งนี้ที่เสริม *S. limacinum* ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 13.65 % และ Boeing (2005) พบว่าลูกกุ้งขาวแวนนาไมตั้งแต่ระยะซูเอี้ย 1 ถึงระยะโพสลาร์วา 1 ที่ได้รับอาหารมีชีวิตเสริม *Schizochytrium* sp. มีอัตราการรอดตายสูงกว่าลูกกุ้งที่ไม่ได้เสริม *Schizochytrium* sp. ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ทรงทรัพย์ และคณะ (2551) พบว่าการใช้ *S. limacinum* ในการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม ทดแทนหรือการเสริมคีโตเซอรอสด้วยสาหร่ายขาวทำให้อัตราการรอดตายของลูกกุ้งจากระยะซูเอี้ย 1 ถึงระยะไมซิส 1 และจากระยะไมซิส 1 ถึงระยะโพสต์ลาวา สูงกว่าชุดที่อนุบาลด้วยคีโตเซอรอสเพียงชนิดเดียว ส่วนวิเชียร (2551) ได้ทำการสกัดน้ำมันจาก *S. limacinum* โดยมีน้ำมันประมาณ 35 % ซึ่งประกอบด้วย DHA มากถึง 40 % และนำน้ำมันที่สกัดได้ไปเสริมในอาหารอนุบาลลูกกุ้งขาว พบว่า ลูกกุ้งมีความแข็งแรงและมีอัตราการรอดตายสูง 89-90 % เมื่อเปรียบเทียบกับลูกกุ้งที่ไม่มีการเสริมน้ำมัน ซึ่งมีอัตราการรอดประมาณ 55-60 % Rees *et al*. (1994) ได้ศึกษาปริมาณของกรดไขมันไม่

อิ่มตัวสูง (HUFA) โดยเสริมให้ไรน้ำเค็มในอัตราส่วน 100, 200, 300 และ 400 ppm ก่อนนำไปอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาร์วา 5 ถึงระยะโพสลาร์วา 15 พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยไรน้ำเค็มเสริม HUFA 100 ppm มีการเจริญเติบโตสูงไม่แตกต่าง จากกุ้งที่เลี้ยงด้วย ไรน้ำเค็มเสริม HUFA 200 ppm แต่กุ้งที่เลี้ยงด้วยไรน้ำเค็มเสริม HUFA 200 ppm มีอัตราการรอดตายสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยไรน้ำเค็มเสริม HUFA 100 ppm Cuzon *et al*. (2004) พบว่ากุ้ง *L. vannamei* ระยะ juvenile มีความต้องการกรดไขมันจำเป็นจากอาหาร เพื่อการเจริญเติบโต และการรอดตาย เนื่องจากกุ้งทะเลไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันเหล่านี้ได้ ปูม้าก็เป็นสัตว์ในกลุ่มครัสตาเซียนซึ่งมีกลไกในการลอกคราบเช่นเดียวกับกุ้ง จึงจำเป็นต้องได้รับกรดไขมันจำเป็นซึ่งได้จากอาหารเท่านั้น แต่ในการเสริมน้ำมันปลามีอัตราการรอดตายต่ำกว่าการเสริม *S. limacinum* เนื่องจากรายงานการวิจัยบางฉบับ พบว่าการเสริมกรดไขมันในรูปน้ำมันปลาสามารถเพิ่ม DHA ในตัวโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มได้ไม่มากนัก ดังรายงานของ Hamre and Harboe (in press) พบว่าการเสริมกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในรูปน้ำมันปลาไม่ได้มีผลต่อการสะสมในไรน้ำเค็ม ซึ่งสอดคล้องกับ Ozkizilcik and Chu (1994) พบว่า ตรวจไม่พบปริมาณ DHA ในไรน้ำเค็มภายหลังการเสริมด้วยน้ำมันปลา และจากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 150 ppm มีอัตราการรอดตายสูงกว่าทุกชุดทดลอง รวมทั้งชุดทดลองที่เสริม *S. limacinum* ความเข้มข้น 200 ppm การเสริมน้ำมันปลาในระดับที่สูงอาจทำให้ระดับของ HUFA มากจนอิ่มตัว แม้ว่าระดับรวมของไขมันในอาหารที่ดีที่สุดสำหรับสัตว์น้ำพวกปูอยู่ที่ 6% โดยน้ำหนักแห้งของอาหาร (Genodepa *et al*., 2004)

การทดสอบความทนทานต่อความเครียด พบว่าลูกปูม้าที่อนุบาลโดยการเสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm มีอัตราการตายสะสมน้อยกว่าลูกปูม้าที่ไม่ได้เสริม *S. limacinum* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ กอบศักดิ์ และคณะ (2553) ศึกษาผลการเสริม *S. limacinum* ในอาหารต่อพัฒนาการ อัตราการรอดตายและความทนทานต่อความเครียดของลูกปูทะเล (*S. paramamosain*) โดยการลดความเค็ม พบว่าลูกปูม้าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* มีความทนทานต่อความเครียดมากกว่าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ไม่เสริม *S. limacinum* Alvarez *et al*. (2004) ทำการทดลองเกี่ยวกับผลของการให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (HUFA) ต่อการตอบสนองของลูกกุ้งขาวแวนนาไมในสภาพความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ซึ่งพบว่าลูกกุ้งที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมีความทนทานต่อการลดความเค็มได้ดีกว่ากุ้งในกลุ่มควบคุม พัชรี และคณะ (2553) ทดสอบความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างเฉียบพลันในลูกกุ้งขาวแวนนาไม *L. vannamei* พบว่าลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่เสริม *S. limacinum* มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดที่ไม่เสริม *S. limacinum* Alvarez *et al*. (2004) ที่ทำการทดลองเกี่ยวกับผลของการให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (HUFA) ต่อการตอบสนองของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาพความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ซึ่งพบว่าลูกกุ้งที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมีความทนทานต่อการลดความเค็มได้ดีกว่ากุ้งในกลุ่มควบคุม เนื่องจากกุ้งที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจะมีความ สามารถควบคุมขบวนการ Osmoregulation โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Na^+/K^+ ATPase ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม สอดคล้องกับการทดลองของ ปกป้อง (2543) พบว่าลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา 15 ที่ได้รับ HUFA โดยผ่านไรน้ำเค็ม ที่มีอัตราส่วนของ EPA และ DHA ที่ระดับ 1:1 และ 1:2 มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดที่ไม่ให้ HUFA ผ่านไรน้ำเค็ม สุพิศ และคณะ (2538) ศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำระยะนอเพลียสถึงระยะไมซิส 3 ด้วยอาหารเสริมน้ำมันตับปลา และเปรียบเทียบกับอาหารมีชีวิต พบว่าปริมาณกรดไขมัน n-3 HUFA ในอาหารโดยการเสริมกรดไขมันในอาหารผงสำเร็จรูป สามารถเพิ่มความทนทานของลูกกุ้งต่อสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป และพบกรดไขมันที่จำเป็นชนิด n-3 HUFA สูงกว่าในไรน้ำเค็มวัยอ่อน

ในการทดลองครั้งนี้ การเสริม *S. limacinum* ในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันพบว่าใน *S. limacinum* มี DHA อยู่ถึง 38.42 % area และเมื่อเสริมลงในโรติเฟอร์

พบว่ามี DHA อยู่ถึง 20.35, 23.64, 24.46 และ 24.27 % area จากที่ไม่เสริม *S. limacinum* ซึ่งมีอยู่เพียง 0.12 % area ซึ่ง Yamasaki *et al.* (2007) รายงานการตรวจพบเซลล์ *Schizochytrium* sp. ภายในตัวโรติเฟอร์ภายหลังการเสริม *Schizochytrium* sp. และสรุปว่า *Schizochytrium* sp. มีขนาดเซลล์ที่เล็กเหมาะสมสำหรับให้โรติเฟอร์กิน และส่งผลให้ปริมาณ DHA สะสมในตัวโรติเฟอร์สูงขึ้นด้วย และพบปริมาณ DHA ในไรน้ำเค็มที่เสริม *S. limacinum* อยู่ 0.78, 1.22, 1.56 และ 1.62 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง Jaritkhuan (2001) พบว่าจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่ม Thraustochytrids มีปริมาณ DHA สูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อนำจุลินทรีย์กลุ่มนี้ไปเป็นอาหารไรน้ำเค็มพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ DHA ในไรน้ำเค็มได้ และเมื่อนำไรน้ำเค็มที่อุดมไปด้วย DHA ไปเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาร์วา 4 ถึงโพสลาร์วา 16 ทำให้ลูกกุ้งมีปริมาณ DHA สูงตามไปด้วย ส่วนลูกปูม้าระยะ Crab 2 ที่ไม่เสริม *S. limacinum* ไม่พบปริมาณ DHA ส่วนชุดทดลองที่เสริม *S. limacinum* มีปริมาณ DHA เพิ่มขึ้นเล็กน้อยคือ 0.02-0.04 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง จากการศึกษาของ สุทธินี และคณะ (2553) ในการเสริม *Schizochytrium* sp. เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม เพื่อใช้อนุบาลปลากะพงขาว ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200 และ 300 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่ามี DHA อยู่ถึง 0, 1.63, 0.82 และ 0.82% area TFA ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจากการที่ลูกปูม้ากินอาหารแบบกัดแทะไม่ได้กินไรน้ำเค็มทั้งตัวเหมือนปลา อีกทั้งปูม้าที่นำมาวิเคราะห์มีขนาดเล็กมีเนื้อเพียงเล็กน้อยต้องบดรวมทั้งเปลือก จึงทำให้พบปริมาณ DHA อยู่น้อย

จากผลการวิจัยการเสริม *S. limacinum* 4 ระดับในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม เพื่อเพิ่มระสิทธิภาพในการอนุบาลลูกปูม้า ครั้งนี้สรุปได้ว่า

1. การใช้ *S. limacinum* เสริมในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม มีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนลูกปูม้า ให้เปลี่ยนแปลงตัวอ่อนในแต่ละระยะได้เร็วขึ้น โดยการใช้ *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 150 ppm ขึ้นไป มีผลทำให้การเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนในแต่ละระยะดีกว่า การเสริม *S. limacinum* ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า

2. การใช้ *S. limacinum* เสริมในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม มีผลทำให้ความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้าเพิ่มขึ้น โดยชุดที่เสริม *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 150 ppm ขึ้นไป มีความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้ามากกว่า การเสริม *S. limacinum* ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า

3. การใช้ *S. limacinum* เสริมในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม มีผลช่วยให้ลูกปูม้ามีอัตราการรอดตายสูงขึ้น และการใช้ *S. limacinum* ที่ความเข้มข้น 150 ppm ขึ้นไป มีอัตราการรอดตายดีกว่า การเสริม *S. limacinum* ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า

4. การใช้ *S. limacinum* เสริมในโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม มีผลต่อความทนทานต่อความเครียดของลูกปูม้ามากกว่าที่ไม่เสริม *S. limacinum*

5. ลูกปูม้าที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์ และไรน้ำเค็ม เสริม *S. limacinum* พบว่ามี DHA (C22:6n-3) แต่ขณะเดียวกันลูกปูม้าที่กินอาหารไม่เสริม *S. limacinum* ไม่พบ DHA (C22:6n-3)

การวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่า การใช้ *S. limacinum* ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 150 ppm เหมาะสมที่สุด มีผลทำให้การพัฒนาเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนในแต่ละระยะลูกปูม้าเร็วขึ้น ความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปูม้ามากขึ้น อัตราการรอดตายเพิ่มขึ้น และการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันชนิด DHA (C22:6n-3) ในลูกปูม้า

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2555. สถิติการประมงแห่งประเทศไทยพ.ศ. 2553. ศูนย์สารสนเทศ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กองเศรษฐกิจการประมง. 2545. สถิติการประมงแห่งประเทศไทยปี 2542. เอกสารวิชาการเลขที่ 10 ฝ่ายสถิติและสารสนเทศการประมง, กองเศรษฐกิจการประมง, กรมประมง. 87 หน้า.

กองเศรษฐกิจการประมง. 2548. สถิติหน่วยธุรกิจการประมงปี 2548. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง, ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง.

กอบศักดิ์ เกตุเหมือน, สรรเสริญ ช่อเจี้ยง และ จูอะดี พงศ์มณีรัตน์. 2553. ผลของการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda &Yokochi, 1998) ในอาหารต่อพัฒนาการ อัตราการรอดตาย และความทนทานต่อความเครียดของลูกปูทะเล (*Scylla paramamosian* Estampador, 1949)**.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2553. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. 18 หน้า.

กอบศักดิ์ เกตุเหมือน, จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และ ภาสกร นบนอบ. 2556. ผลของการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda &Yokochi, 1998) และน้ำมันปลาในอาหาร ต่อพัฒนาการ อัตราการรอดตาย และความทนทานต่อความเครียดของลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758) และลูกปูทะเล (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949). เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2556. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. 24 หน้า.

คณิต ไชยาคำ, สิริ ทุกข์วินาศ, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, พุทธ ส่องแสงจินดา และ ดุสิต ตันวิไลย. 2537. คุณภาพน้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, ความรู้เบื้องต้นและการวิเคราะห์. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. 110 หน้า.

จรัญ จันทลักขณา. 2523. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. บริษัทสำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด. 468 หน้า.

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์, กอบศักดิ์ เกตุเหมือน และ ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์. 2553. ผลของการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda &Yokochi, 1998) ในอาหารต่อพัฒนาการ อัตราการรอดตาย และความทนทานต่อความเครียดของลูกปูม้า (*Portunus pelagicus* Linnaeus, 1758). รายงานการประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2553. วันที่ 28-29 มิถุนายน 2553 กรมประมง. กรุงเทพมหานคร. หน้า 25-38.

ทรงทรัพย์ อรุณกมล, นนทวิทย์ อารีย์ชน, วิเชียร ยงมานิตชัย, สาวิตรี ลิ่มทอง และ เดือนรัตน์ ชลอุดมกุล. 2551. การใช้สาหร่ายขาว *S. limacinum* ในการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*, Boone) และผลที่มีต่อความทนทานต่อความเครียดและความต้านทานโรค. ใน**:** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 138-146.

ปกป้อง อุ่มอยู่. 2543. ผลของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (กลุ่มโอเมก้า 3) ที่มีอัตราส่วนของกรด Eicosapentaenoic (EPA) และกรด Docosahexaenoic (DHA) ต่างกัน ต่อความเครียด และความต้านทานโรคของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) โดยผ่านอาร์ทีเมีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 101 หน้า.

พัชรี ซุ่นสั้น, จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ จำเริญศรี พวงแก้ว และ ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์. 2553. ผลของการเสริม *Schizochytrium limacinum* (D. Honda &Yokochi, 1998) ในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และความทนทานของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) ระยะวัยอ่อน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2553. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. 23 หน้า.

วารินทร์ ธนาสมหวัง, พรทิพย์ ทองบ่อ, ฉลอง ทองบ่อ และ วุฒิชัย ทองล้ำ. 2547. การอนุบาลลูกปูม้า (Portunus pelagicus Linnaeus, 1758) ในที่กักขังโดยให้ที่หลบซ่อนต่างชนิด. เอกสารวิชาการฉบับที่ 35/2547. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 21 หน้า.

วารินทร์ ธนาสมหวัง, สง่า สิงห์หงษ์ และ ฉลอง ทองบ่อ. 2548. ผลของความเค็มของน้ำต่อรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกปูม้า (Potunus pelagicus Linnaeus, 1758) ที่อนุบาลในที่กักขัง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 19/2548. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 30 หน้า.

วิเชียร ยงมานิตชัย. 2551. เสริม DHA จากสาหร่ายช่วยยับยั้งไวรัสเพิ่มอัตรารอดให้ลูกกุ้ง 30 เปอร์เซ็นต์. ใน: วารสารสัตว์น้ำ ฉบับประจำเดือนกุมภาพันธ์. หน้า 131-134.

ศิริวรรณ เพชรสมบัติ. 2541. ปริมาณโปรตีน ไขมันชนิด EPA และ DHA ในสาหร่ายเซลล์เดียวบางชนิด. ปัญหาพิเศษภาควิชาวาริชศาสตร์. สาขาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา. 89 หน้า.

สุทธินี ลิ้มธรรมมหิศร, มนทกานติ ท้ามติ้น และ คมคาย ลาวัณยวุฒิ. 2553. การเสริมเชื้อรา *Schizochytrium sp.* แบบผงเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*, Tschugunoff, 1921) และไรน้ำเค็ม (*Artemia sp.*) เพื่อใช้อนุบาลลูกปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch, 1790). เอกสารวิชาการฉบับที่ 53/2553. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. 19 หน้า.

สุพิศ ทองรอด, อนันต์ ตันสุตะพานิช, ธนัญช์ สังกรธนกิจ และ ปราณี สระบัว. 2538. การศึกษาเบื้องต้นในการอนุบาลกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะ Nauplius ถึง Mysis ด้วยอาหารเสริมน้ำมันตับปลา และเปรียบเทียบกับอาหารมีชีวิต. วารสารการประมง 48(3) **:** 241-248

Alvarez, A.L., I. Racotta, A. Olivia and P. Elena. 2004. Salinity stress test as a predictor of survival during growout in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture.* 237 : 237-249.

American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation. 1980. Standard method for the examination of water and waste water. 15th ed. American Public Health Publishers Inc., New York. 1134 pp.

APHA, AWWA and WPCF. 1980. Standard Methods For Examination of Water and Westewater. 15 thed. American Public Health Association, Washington. 1134 pp.

Bendschneider, K. and J. R. Robinson. 1952. A new spectrophoto metric method for the determination of nitrite in seawater. *J. Mar. Res*. 11 : 87-96.

Boeing, P. 2005. Partial Replacment of Live Algae in the Larviculture of *Penaeus vannamei* with Microencapsulates and Spray-dried Algae *Schizochytrium sp*. Bio-Marine, INC. Aquafauna. Available Source:

Bottino, N.R., Gennity, J., Lilly, M.L., Simmons, E., Finne, G., 1980. Seasonal and nutritional effects on the fatty acids of three species of shrimp, *Penaeus setiferus*, *P. actecus* and *P. duorarum*. *Aquaculture*. 19 : 139–148.

Castell, J. and J. Covey. 1976. Dietary lipid requirements of adult lobster, *Homarus americanus*. *J. Nutr*. 106 : 1159–1165.

Cuzon, G., A. Lawrence., G. Gaxiola., C. Rosas and J. Guillaume. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture* . 235 : 513-551.

Ganuza, E., T. Benitez-Santann, E. Atalah, O. Vega-Orellana, R. Ganga and M.S. Izquierdo. 2008. *Crypthecodinium cohnii* and *Schizochytrium* sp. As potential substitutes to fisheries-derived oils from seabeam (*Sparus aurata*) microdiets. *Aquaculture*. 227 : 109-116.

Genodepa, J., Zeng, C., Southgate, P.C., 2004. Preliminary assessment of a microbound diet as an *Artemia* replacement for mud crab, *Scylla serrata*, megalopa. *Aquaculture*. 230 : 493-505.

Guary, J.C., K. Kayama, Y. Murakami and H.J. Ceccaldi. 1976. The effect of a fat-free diet and compounded diet supplemented with various oils on molt, growth and fatty acid composition of prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*. 7 : 245-259.

Hamre, K. and T. Harboe. In press. Critical levels of essential fatty acids for normal pigmentation in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* Doi : 10.1016/j. aquaculture. 2008.02.020

Jaritkhuan, S. 2001. Thraustochytrids as a Food Source in Aquaculture. Docteral Dissertation, Biology Science. University of Portsmouth.

Kamlangdee, N. and K. W. Fan. 2003. Polyunsaturated fatty acids production by *Schizochytrium* sp. isolated from mangrove. *Songkhlanakarin J.Sci. Technol*. 25(5) : 643-650.

Kanazawa, A., S. Teshima and K. Ono. 1979a. Relationship between essential fatty acids requirements of aquatic animals and the capacity of bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol*. 63B : 295–298.

Kanazawa, A., S. Teshima, S. Tokiwa and H. J. Ceccaldi. 1979b. Effects of dietary linoleic and linolenic acids on growth of prawn. *Oceanol. Acta* 2 : 41–47.

Levine, D. M. and S. D. Sulkin. 1984. Nutritional significance of longchain polyunsaturated fatty acids to the zoeal development of the brachyuran crab, *Eurypanopeus depressus* (Smith*). J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 81 : 211-223.

Lopez-Garcia, P., F. Rodriguez-Valera, C. Pedro-Alio and D. Moreira. 2001. Unexpected diversity of small eukaryotes in deep sea Antarctic plankton. *Nature.* 409 : 603-607

Miller, J. D. and E. B. G. Jone. 1983. Observation on the association of Thraustochytrids marine fungi with decaying seaweed. *Bot. Mar*. 24 : 345-351.

Ong, S. 1964. Early development stages of *Scyll serrata* (Crustacean: Portunidae) reared in the laboratory. Proceeding Indo-Pacific Fisheries Concil. 11 : 135-146.

Ozkizilcik, S. and F. E. Chu. 1994. Evaluation of omega-3 fatty acid enrichment of *Artemia* nauplii as food for striped bass *Morone saxatillis* Walbaum larvae. *J. World Aquacult. Soc*. 25 : 147-154.

Read, G.H.L., 1981. The response of *Penaeus indicus* (Crustacea: Penaeidea) to purified and compounded diets of varying fatty acid composition. *Aquaculture.* 24 : 245–256.

Rees, J.F., K. Cure, S. Piyatirattivorakul, P. Sorgeloos and P. Menasveta. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment. *Aquaculture*. 122 : 193-207.

Sasaki, K. and Y. Sawada. 1980. Determination of ammonia estuary. *Bull. Jpn. Soc. of Sci. Fish.* 46 : 319-321.

Sheen, S.S., D'Abramo, L.R., 1991. Response of juvenile freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to different levels of a cod liver oil/corn oil mixture in a semi-purified diet. *Aquaculture*. 93 : 121–134.

Sheen, S.S. and S.W. Wu. 1999. The effects of dietary lipid levels on the growth response of juvenile mud crab *Scylla serrata. Aquaculture*. 175 : 143-153.

Sheen, S.S. and S.W. Wu. 2003. Essential fatty acid requirements of juvenile mud crab, *Scylla serrata* (Forskaal, 1775) (Decapoda, Scyllaridae). *Crustaceana.* 75 : 1387–1401.

Sorgeloos, P. and P. Leger. 1992. Improved Larviculture output of marine fish, shrimp and prawn. *J. World Aquacult. Soc*. 23 : 251-264.

Southgate, P. 2003. Feeds and Feed Production. In:Lucas, J. and P. Southgate (Eds): Aquaculture; Farming Aquatic Animal and Plants. Blackwell Publishing, Victoria, Australia. p. 172-198.

Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons. 1972. A pratical handbook of seawater analysis. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin* 167. Ottawa. 310 pp.

Stansby, M. E., H. Schlenk, and E. H. Gruger, Jr. 1990. Fatty acid composition of fish. Fish oils in nutrition. Van Nostrand Reinhold, New York. p. 6-39,

Whyte, J. N. C. and W. D. Nagata. 1990. Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, Brachionus plicatilis, fed monospecific diets of yeast or phytoplankton. *Aquaculture.* 89 : 263-272

Yamasaki, T., T. Aki, Y. Mori, T. Yamamoto, M. Shinozaki, S. Kawamoto and K. Ono. 2007. Nutritional enrichment of larval fish feed with thaustochytrid producing polyunsaturated fatty acid and xanthophylls. *J. Biosci. Bioeng.* 104(3) : 200-206

Yongmanitchai, W., W. Chatdumrong, S. Limtong and W. Worawattanmateekul. 2007. Optimization of docosahexaenoic acid (DHA) production and improvement of astaxanthin content in a mutant *S. limacinum* isolated from mangrove forest in Thailand. *Kasetsart J.* 41(2) : 324-334.