

บทคัดย่อ:

ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศอุตสาหกรรมกุ้งที่ใหญ่ที่สุดของโลก การเพิ่มผลผลิตกุ้งและการลดต้นทุนการผลิตนั้น สามารถทำได้โดยการพัฒนากระบวนการเลี้ยง ตั้งแต่การเพาะเลี้ยงและการจัดการดูแลกุ้งวัยอ่อนจนถึงวัยที่นำไปบริโภคได้ การเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารเพาะเลี้ยงจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ โดยอาหารมีชีวิตที่นิยมใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งคือ สาหร่ายเซลล์เดียวกลุ่มไดอะตอม ได้แก่ *Chaetoceros* และ *Skeletonema* spp.

ด้วยคุณสมบัติทางสารอาหารของไดอะตอมกลุ่ม *Thalassiosira* spp. ทำให้ไดอะตอมชนิดนี้ถูกเลือกมาสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* จากการทดลองเลี้ยงไดอะตอม 4 ชนิด คือ (1) ไดอะตอมที่เพาะเลี้ยงลูกกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* ในโรงเพาะฟักแห่งหนึ่งของเอกชน ที่เข้าใจว่าเป็น *Thalassiosira* sp. และให้ชื่อย่อว่า TB (2) ไดอะตอมที่ใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนจากหน่วยงานราชการแห่งหนึ่ง ที่เข้าใจว่าเป็น *Thalassiosira* sp. และให้ชื่อย่อว่า BIMS (3) *Thalassiosira pseudonana* ซึ่งได้มาจาก CSIRO ประเทศออสเตรเลีย และ (4) *Chaetoceros* sp. ที่ใช้เพาะเลี้ยงลูกกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* และลูกกุ้งกุลาดำ จากโรงเพาะฟักแห่งหนึ่งของเอกชน เพื่อใช้เป็นกลุ่มควบคุม ได้เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารสองชนิดเปรียบเทียบกัน ได้แก่ สูตรอาหารปรับปรุงจากสูตรมาตรฐานสำหรับสาหร่ายเซลล์เดียว F/2 และ สูตรอาหารในโรงเพาะเลี้ยงในเชิงอุตสาหกรรม ที่มีชื่อว่า AGP ผลการเพาะเลี้ยง พบว่า สูตรอาหาร F/2 ให้คุณภาพของเซลล์และยืดอายุของเซลล์ได้มากกว่า เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมในระยะยาว สูตรอาหาร AGP มีความสามารถในการเร่งการเจริญเติบโตของไดอะตอม มีการแบ่งเซลล์เร็วขึ้น แต่ทำให้เซลล์สังเคราะห์โปรตีนได้น้อย แต่สังเคราะห์กรดไขมันได้มากกว่า

จากการศึกษานี้พบว่าการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ ตั้งแต่ระยะ nauplius ถึง postlarva 1 ที่ได้รับการอนุบาลด้วย (1) ไดอะตอมแบบผสมระหว่าง TB และ *Chaetoceros* sp. และ (2) TB เพียงอย่างเดียว ให้อัตราการรอดสูงสุด และมีระดับการพัฒนา (metamorphosis) ของลูกกุ้งที่เร็วกว่ากลุ่ม (3) ที่ได้รับ *Chaetoceros* sp. แต่เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ TB ยังเป็นไดอะตอมที่มีปริมาณ protein, total fatty acids, และ polyunsaturated fatty acids ต่อเซลล์ สูงกว่าไดอะตอมอีกสามชนิด (BIMS, *T. pseudonana* และ *Chaetoceros* sp.) และมีปริมาณ eicosapentaenoic acid และ docosahexaenoic acid สูงสุดด้วย จึงเป็นเหตุผลว่า TB เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ และพบว่าในระยะเวลาที่เท่ากัน ลูกกุ้งที่กิน TB จะได้รับสารอาหารทุกชนิดมากกว่าลูกกุ้งที่กิน *Chaetoceros* sp.

ได้ทำการสร้าง primers เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ไดอะตอมทั้ง 4 ชนิด โดยใช้ universal primer (18SF/28SR) ที่มีความจำเพาะต่อ large subunit ของ ribosomal DNA (LSU rDNA) และออกแบบ nested PCR primers (N2-FW/N2-RW) ในการวินิจฉัยไดอะตอมชนิดนี้ด้วย two-step nested PCR จาก sequences ของ PCR product ที่ได้ พบว่า ไดอะตอม TB คือ *Thalassiosira*

weisflogii ไดอะตอม BIMS คือ *Cyclotella meneghiniana* และไดอะตอม *Chaetoceros* sp. คือ *Chaetoceros gracilis* และได้จดลิขสิทธิ์ของวิธีการตรวจวินิจฉัยไดอะตอม *Thalassiosira weisflogii* ไว้

Abstract:

Thailand is one of the important countries for shrimp culture and export. For successful shrimp culture, shrimp hatchery that produces high-quality seed is the first-step requirement, and one important factor contributing to high-quality seed is the quality of diatom that is used to feed the shrimp larvae. Currently, *Chaetoceros* spp. and *Skeletonema* spp. are two most commonly used diatoms for shrimp larviculture.

The purpose of this study was to find an alternative diatom species that was equal or better than the one currently used. Two tentative species of *Thalassiosira* (TB and BIMS), *Thalassiosira pseudonana* and one *Chaetoceros* sp. were tested for their growth rate and nutritional values. The growth rate of TB, BIMS and *T. pseudonana* was tested in two types of media: Guillard F/2 and AGP. TB and BIMS cultured in F/2, the lab-graded medium had a higher cell density at the stationary phase than the diatoms cultured in AGP, the commercial-grade medium. Protein contents per dry weight and per cell were also higher in TB than in BIMS, *T. pseudonana* and *Chaetoceros* sp.

To compare the performance of *Penaeus monodon* larvae fed by two species of diatoms, TB and *Chaetoceros* sp., were fed to the larvae from zoea 1 to postlarva 1 stage and growth (metamorphosis) and survival rates of the larvae at each stage were determined. Highest survival and metamorphosis rates were observed in the shrimp fed with TB or TB and *Chaetoceros* sp. The number of cells of TB and *Chaetoceros* sp. consumed by each stage of the larvae was determined and it revealed that the larvae consumed more *Chaetoceros* sp. than TB. However, when the amounts of protein and total fatty acids contained in the diatoms consumed were calculated, it turned out that the larvae received higher amount of both nutrients by consuming TB.

To detect all the four types of diatoms by DNA-based technology, universal primers (18SF/28SR) specific for large subunit of ribosomal DNA gene were employed in the polymerase chain reaction (PCR) to identify the diatom species. The amplified product from TB (764 bp) was 87% identical to *Thalassiosira weisflogii*, that from BIMS (783 bp) was 90% identical to *Cyclotella meneghiniana*, and that from *Chaetoceros* sp. (921 bp) was 98% identical to *Chaetoceros gracilis*. The second set of primers was designed (N2-FW/N2-RW) to amplify the first product of TB. The nested-PCR result revealed specificity of the detection, and the PCR fragment of the 5.8S rDNA region had sequence that was 100% identical to *T. weisflogii*. It was concluded that *T. weisflogii* was the better diatom than *C. gracilis* to feed *P. monodon* larvae.