รายงานการวิจัย

การผลิตลูกพันธุ์หอยแครงจากโรงเพาะฟัก

Blood Clam (*Anadara granosa* Linnaeus, 1758) Seed Production from Hatchery

สุวัจน์ ธัญรส **Suwat Tanyaros**

ประเสริฐ ทองหนูนุ้ย **Prasert Tongnunui**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2551-2553

การผลิตลูกพันธุ์หอยแครงจากโรงเพาะฟัก

สุวัจน์ ธัญรส[1] และประเสริฐ ทองหนูน้อย[1]

บทคัดย่อ

พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครงสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ระยะ คือ ระยะเริ่มการพัฒนา ระยะกำลังพัฒนา ระยะสมบูรณ์เพศ ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ เมื่อหอยวางไข่แล้ว อวัยวะสืบพันธุ์เริ่มเข้าสู่ระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ยังพบไข่และสเปอร์มตกค้างใน gonad และจะถูกย่อยสลายโดยเซลล์ Phagocyte ก่อนจะพัฒนาไปสู่ระยะเริ่มการพัฒนา เป็นการเริ่มวัฏจักรการสืบพันธุ์ใหม่อีกครั้ง ส่วนพัฒนาการของแอมบริโอและตัวอ่อน พบว่าสามารถพัฒนาจากไข่ที่ได้รับการผสมไปจนถึงระยะลงเกาะใช้ระยะเวลา 18-21 วัน ผลจากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครง (*Anadara granosa*) เมื่อนำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟักพบลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ที่หยุดการพัฒนาที่ชัดเจน โดยการหยุดการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียจะสังเกตได้ง่ายกว่าและใช้เวลาเร็วกว่าในเพศผู้ ลักษณะการหยุดการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในเพศเมียใหม่ๆสามารถสังเกตได้จากกลุ่มเซลล์ไข่ที่พัฒนาเต็มที่หลังจากที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟักแล้วจะมีลักษณะการฝ่อไปพร้อมๆกัน โดยเซลล์ไข่จะมีลักษณะเหี่ยวลงและสลายไปในที่สุด สำหรับอวัยวะสืบพันธุ์ที่หยุดพัฒนามาระยะหนึ่งแล้วจะพบกลุ่มเซลล์น้ำเหลืองที่ทำหน้าที่ย่อยสลายกระจายทั่วไปในรังไข่นอกจากนี้ยังไม่พบการพัฒนาของเซลล์ไข่ในพื้นที่ของเนื้อเยื่อใกล้เคียง ส่วนในเพศผู้พบการหยุดการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ โดยสามารถสังเกตจากระยะที่พร้อมปล่อยเซลล์สืบพันธุ์เช่นกัน ซึ่งจะมีลักษณะสีซีดลง พร้อมทั้งพบกลุ่มเซลล์น้ำเหลืองอยู่เป็นกลุ่มๆและร่องรอยของการย่อยสลายของกลุ่มสเปิร์ม การนำพ่อแม่พันธุ์หอยแครงมาเลี้ยงเพื่อขุนเป็นพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักจึงจำเป็นต้องปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมและให้อาหารที่เพียงพอต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยจึงจะได้พ่อแม่พันธุ์ที่พร้อมสำหรับการผสมพันธุ์ วิธีการใช้อุณหภูมิ สามารถกระตุ้นให้หอยแครงเกิดการวางไข่มากที่สุด ความเค็มมีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนลูกหอยแครง โดยพบว่าที่ระดับความเค็มต่ำกว่า 30 ppt ลูกหอยในระยะ D-shape มีการพัฒนาผิดปกติ 100 % และไม่สามารถพัฒนาต่อได้ ชนิดและปริมาณอาหารที่ให้พบว่าเมื่อลูกหอยในระยะ D-shape การให้สาหร่ายเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* จะเหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีเซลล์ขนาดเล็ก คือ 6-8 ไมครอน เมื่อลูกหอยพัฒนาขึ้นเข้าสู่ระยะ Umbo จำเป็นต้องให้อาหารที่มีขนาดโตขึ้น คือ *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งมีขนาด 10 ไมครอน แต่ต้องค่อยๆ ปรับสัดส่วนโดยค่อยๆ ลดปริมาณ *I. galbana* และเพิ่ม *C. calcitrans* ขึ้นเมื่อลูกหอยแครงมีขนาดโตขึ้นอาหารที่ให้ ในการ

อนุบาลลูกหอยลงเกาะจะเป็น *C. calcitrans* และ *Tetraselmis* sp. ในอัตราส่วน 50 : 50 การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ดในสภาพโรงเพาะฟักมีสภาพไม่เหมาะสม ลูกหอยมีอัตราการตายสูง ดังนั้นลูกหอยแครงในระยะวัยเกล็ดขนาดโตกว่า 5 มิลลิเมตร สามารถนำไปเลี้ยงในสภาพฟาร์มเลี้ยงในธรรมชาติ

คำสำคัญ: หอยแครง พัฒนาการของแอมบริโอ การอนุบาล ลูกหอยระยะวัยเกล็ด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

.....

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ. สิเกา จ. ตรัง

Blood Clam (*Anadara granosa* Linnaeus, 1758) Seed Production from Hatchery

Suwat Tanyaros[1] and Prasert Tongnunui[1]

Abstract

Gonad development of the blood cockle (*Anadara granosa*) can be divided into five stages, including: early active, developing, mature, spawning and spent stage. After egg and sperm release, the reproductive organs were developed to spent stage. The remaining eggs and sperm were degraded by phagocyte cells; then the gonad will develop into the early active and start off the reproductive cycle again. The fertilized eggs were developed to settlement stage within 18-21 days. Based on histological examination, the gametes atresia was clearly observed in gonad of blood cockle (*Anadara granosa*) under hatchery condition. Comparatively, the gametes atresia in female blood cockle was clearer and faster than that of the male one. The new disturbed gonad of female had showed signs of prevalence of oocyte atresia when the mass of ripe oocytes were showed abnormal shape, shrinking cell. In case of old one, the cell phagocytosis of heamocyte had been found within the follicles. In addition, the early development oocytes acini were not observed. For male, the first appearance of gamete degeneration was identified by the basinoic fading of ripe sperm cliff, whereas the old one can be found residual sperm containing the cell phagocytosis. In order to give brood stock ready to breed, the cockle brood stock in hatchery should be reared under the sufficient and nutritive feed and healthy environment. Temperature shock was showed highly effective in stimulating eggs and sperms from bloodstock. Embryonic and larvae development was influenced by water salinity. Abnormal development at D-shape stage was found 100% at water salinity lower than 30 ppt. Water salinity at 35 ppt. was suitable for nursing blood cockle larvae. A single cell algae *Isochrysis galbana* was suitable food for D-shape larvae and *Chaetoceros calcitrans* was added when the larvae reach to umbo stage. The ratio between *I. galbana* and *C. calcitrans* was the size of larvae bigger and reach to

pediveliger stage by reducing *I. galbana* and increasing *C. calcitrans* ration. After setting stage, *C. calcitrans* and *Tetraselmis* sp. at the ration of 50 : 50 was suitable as feed. However, nursing blood cockle spat at the size 5 mm under hatchery condition was shown high mortality.

Key wards: Blood cockle (*Anadara granosa*), embryonic development, nursing, spat

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

……..

[1] Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางสุพัชชา ชูเสียงแจ้ว นางสาวเครือวัลย์ อินทสระ ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูล ขอขอบพระคุณ คุณจินตนา นักระนาด ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่สนับสนุนการฝึกอบรมการเพาะเลี้ยงหอยทะเล ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับทำการวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่สนับสนุนทุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	I
Abstract	III
บทนำ	1
วิธีดำเนินการทดลอง	3
ผลการศึกษา	12
วิจารณ์ผลการศึกษา	30
สรุปผลการศึกษา	35
ข้อเสนอแนะ	36
กิตติกรรมประกาศ	37
เอกสารอ้างอิง	38

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครง	13
2	ระยะเวลาของการพัฒนาหลังการปฏิสนธิของลูกหอยแครง	15
3	แสดงค่าดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแครง	17
4	ชนิดของแพลงก์ตอนและปริมาณที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกหอยแครงระยะต่างๆ	36

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระบบขุนพ่อแม่พันธุ์หอยแครง	3
2	ถังไฟเบอร์กลาสสำหรับติดตั้งถังลงเกาะ	6
3	ถังลงเกาะลูกหอย	7
4	แสดงกลไกการไหลเวียนของน้ำของถังเพาะเลี้ยงลูกหอยแครง แบบ Down-welling	8
5	แสดงทิศทางการไหลระบบ Down-welling ของถังลงเกาะลูกหอย	8
6	แสดงการทำงานจริงของระบบแบบ Down-welling ในช่วงก่อนลูกหอยลงเกาะ	8
7	แสดงกลไกการไหลเวียนของน้ำของถังเพาะเลี้ยงลูกหอยแครง แบบ Upwelling	9
8	แสดงทิศทางการไหลระบบ Upwelling ของถังลงเกาะลูกหอย	9
9	แสดงการทำงานจริงของระบบแบบ Upwelling ในช่วงหลังลูกหอยลงเกาะ	10
10	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครงเพศเมีย	12
11	แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครงเพศผู้	14
12	พัฒนาการของแอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครงในระยะต่างๆ	16
13	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่หอยแครงที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก	19
14	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของอัณฑะหอยแครงที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก	20
15	เปอร์เซ็นต์ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครงเพศเมียและเพศผู้ หลังจากนำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก	21
16	การเหนี่ยวนำโดยวิธีปล่อยแห้ง คลุมพลาสติกสีดำเพื่อจำลองสภาพกลางคืน	22
17	การเหนี่ยวนำให้วางไข่และปล่อยน้ำเชื้อโดยใช้อุณหภูมิ	22
18	พ่อแม่พันธุ์หอยแครงในสภาพกำลังมีการปล่อยไข่ (A) และสเปิร์ม (B)	23
19	เปอร์เซ็นต์ผลสำเร็จจากการเหนี่ยวนำให้เกิดจากวางไข่โดยวิธีต่างๆ	23
20	การแยกเพศผู้และเพศเมียเมื่อหอยแครงมีการปล่อยไข่และ	24
21	การฟักไข่หอยแครง	24

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตพัทลุง

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	ลูกหอยแครงระยะ Umbo stage และระยะ Pediveliger	26
23	แสดงอัตราการรอดของลูกหอยแครงในระยะต่างๆ	26
24	การอนุบาลลูกหอยแครงในระยะก่อนลงเกาะแบบ Downweller	27
25	การอนุบาลลูกหอยแครงในระยะหลังการลงเกาะแบบ Upweller	28
26	ลูกหอยแครงขนาดความยาวเปลือกประมาณ 5 มิลลิเมตร	28
27	การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ดในระบบปิดในโรงเพาะฟัก	29

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

บทนำ

หอยแครง (*Anadara granosa* L.) เป็นหอยสองฝาที่อยู่ในครอบครัว Arcidae ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ในประเทศไทย ผลผลิตหอยแครงที่นำมาบริโภคมาจากทั้งการทำการประมงและจากฟาร์มเลี้ยง โดยมีผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 80 ล้านตันต่อปี (กรมประมง, 2547) แหล่งที่อยู่อาศัยของหอยแครงจะเป็นพื้นท้องทะเลที่เป็นโคลนหรือโคลนปนทราย (Swennen et al., 2001) หอยแครงเป็นหอยสองฝาที่นิยมบริโภคกันโดยทั่วไปเนื่องจากราคาไม่แพง เมื่อเทียบกับหอยชนิดอื่นๆ จากสภาพความต้องการของตลาดดังกล่าวทำให้มีการขยายพื้นที่การเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น การเลี้ยงหอยแครงในสภาพปัจจุบันจะเป็นในลักษณะการใช้ลูกหอยที่ได้จากการผลิตจากธรรมชาติ โดยแหล่งใหญ่อยู่ในประเทศมาเลเซีย การเลี้ยงหอยแครงในประเทศไทยปัจจุบันจะเป็นไปในลักษณะการนำเข้าลูกพันธุ์มาจากประเทศมาเลเซียมาเลี้ยงเป็นส่วนใหญ่ จากการที่จำนวนฟาร์มเลี้ยงหอยแครงเพิ่มมากขึ้นทำให้ความต้องการลูกพันธุ์หอยแครงมีมากขึ้น ขณะที่ความสามารถในการผลิตลูกหอยจากธรรมชาติมีขีดจำกัด ส่งผลให้เกิดการแย่งชิงในเรื่องการจัดหาลูกพันธุ์ ทำให้ฟาร์มเลี้ยงหอยแครงในหลายพื้นที่ต้องหยุดกิจการลง เนื่องจากการขาดแคลนลูกพันธุ์หอย แนวทางในการศึกษาการผลิตลูกพันธุ์หอยแครงจากโรงเพาะฟัก เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถขจัดปัญหาดังกล่าวได้ เนื่องจากการผลิตลูกหอยจากโรงเพาะฟักนอกจากจะสามารถแก้ไขปัญหาการขาดแคลนลูกหอยได้แล้วยังมีข้อได้เปรียบหลายประการเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการผลิตตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตามการให้ได้มาซึ่งเทคนิคและวิธีการเพาะขยายพันธุ์หอยแครงภายใต้ระบบโรงเพาะฟักนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่มีการศึกษาข้อมูลพื้นฐานต่างๆ เช่นข้อมูลชีววิทยาระบบสืบพันธุ์ มีการศึกษาข้อมูลชีววิทยาระบบสืบพันธุ์เพื่อความพยายามในการเพาะพันธุ์ของหอยแครงในสกุล *Anadara* ในประเทศไทย โดย Suwanjarat and Parnrong (1990) และ Suwanjarat *et al*. (2009) อย่างไรก็ตามจากข้อมูลในการศึกษาดังกล่าว หากพิจารณาถึงข้อมูลพื้นฐานทางด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์สำหรับหอยชนิดนี้แล้วถือว่ายังมีน้อย เป็นข้อมูลการศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์เฉพาะพื้นที่และเป็นการศึกษาในเชิงการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมเป็นส่วนใหญ่ มีความพยายามทดลองในการเพาะอนุบาลในโรงเพาะฟักในประเทศไทย โดย คมน์ และคณะ (2530) โดยพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติ อย่างไรก็ตามการทดลองยังคงไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร ยังมีอีกหลายปัจจัยที่จำเป็นจะต้องมีการศึกษา ตั้งแต่การคัดเลือกและปรับสภาพพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสม การเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่ การอนุบาลลูกหอยแครงในระยะก่อนลงเกาะและลูกหอยในระยะวัยเกล็ด ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งทำการศึกษาตั้งแต่ชีววิทยาการสืบพันธุ์ พัฒนาการของตัวอ่อน ผลของการขุนพ่อแม่พันธุ์ในระบบโรงเพาะฟักต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ เทคนิคการกระตุ้นการวางไข่ การอนุบาลลูกหอยทั้งในระยะ

ก่อนลงเกาะและหลังการลงเกาะ เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญในการพัฒนาไปสู่การเพาะพันธุ์หอยแครงในโรงเพาะฟักต่อไป

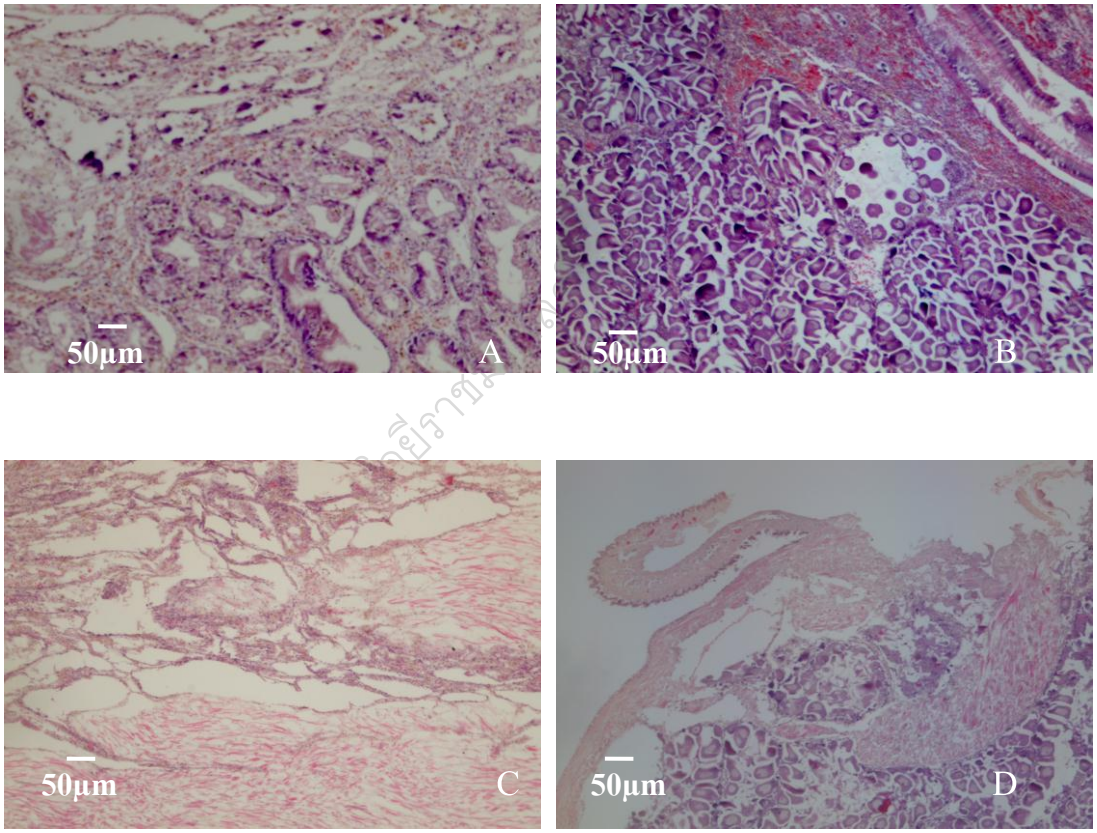
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

ผลการศึกษา

1. พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ แอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครง

1.1 พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์

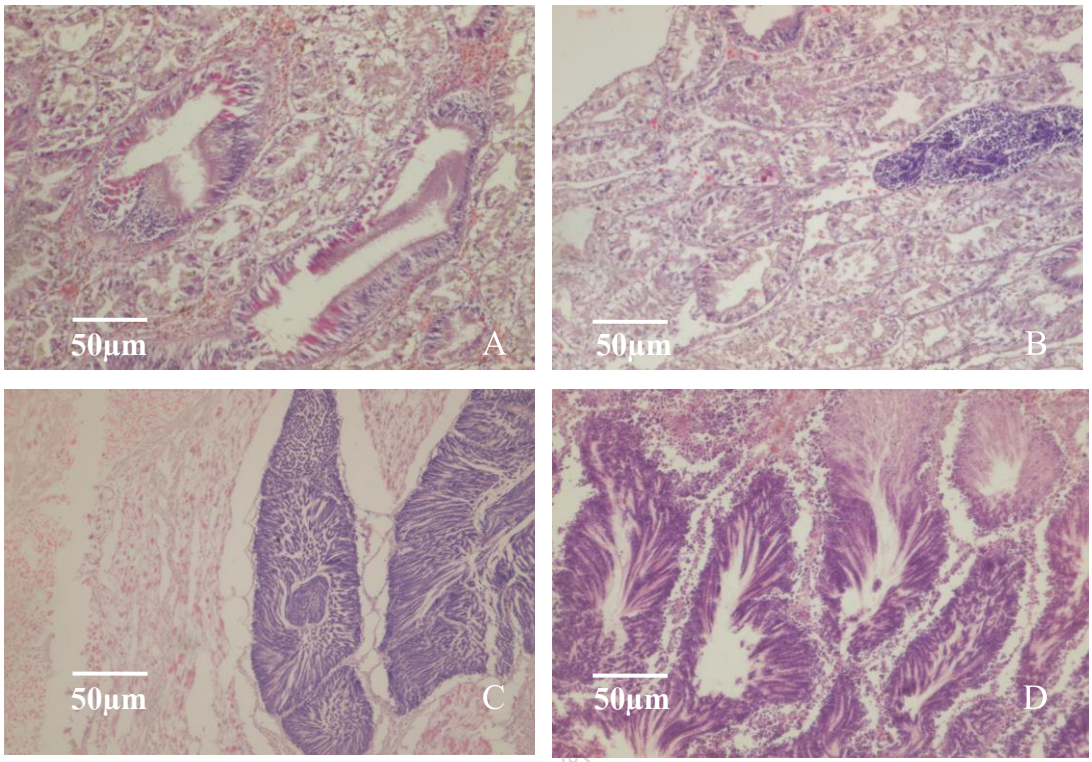
จากผลการศึกษาทางโครงสร้างของเนื้อเยื่อ พบว่าระยะของการพัฒนาทั้งในส่วนที่เป็นอวัยวะสืบพันธุ์หอยแครงทั้งเพศเมียและเพศผู้สามารถจำแนกออกได้เป็น 5 ระยะ คือ ระยะเริ่มพัฒนา (Early active) ระยะกำลังพัฒนา (Developing) ระยะสมบูรณ์เพศ (Mature) ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Spawning) และระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Spent) ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 10 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครงเพศเมีย A = ระยะเริ่มพัฒนา; B = ระยะสมบูรณ์เพศ; C = ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และ D = ระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

ตารางที่ 1 พัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครง

ระยะของเซลล์สืบพันธุ์	ลักษณะทางเนื้อเยื่อ	
	เพศเมีย	เพศผู้
ระยะเริ่มพัฒนา (Early active)	มีการสร้าง follicle ขนาดเล็ก ระหว่าง follicle พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) จำนวนมาก ผนังของ follicle ประกอบด้วย oogonia เพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 1A)	Follicle มีลักษณะว่างเปล่าและแคบ พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) อยู่ในระหว่าง follicle (ภาพที่ 2A)
ระยะกำลังพัฒนา (Developing)	ผนังของ follicle จะหนา แต่ละ follicle มีการสร้าง young oocyte เกิดขึ้นแต่มีขนาดเล็กเรียงล้อมรอบภายใน follicle เซลล์ oocyte ยังไม่สมบูรณ์ ยังไม่พบนิวเคลียสชัดเจน	ขนาดของ follicle ขยายใหญ่ขึ้น ผนังของ follicle จะหนาบนผนังของ follicle พบเซลล์สืบพันธุ์หลายแบบ spermatogonia ในปริมาณค่อนข้างมาก มี spermatocyte เรียงตัวติดจากชั้นของ spermatogonia แต่มีขนาดเล็กกว่า (ภาพที่ 2B)
ระยะสมบูรณ์เพศ (Mature)	ผนังของ follicle จะบาง พบ oocyte มีขนาดใหญ่และมีก้านติดกับผนัง บาง oocyte จะหลุดจากผนังเข้าไปใน lumen ซึ่งพร้อมที่จะปล่อยออกไปนอก follicle ส่วนใหญ่จะพบเซลล์ของ oocyte จะเห็นนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสชัดเจน (ภาพที่ 1B)	ผนังของ follicle จะบาง พบ spermatozoa จำนวนหนาแน่น อยู่ภายใน lumen ของ follicle พร้อมที่จะปล่อยออกจาก follicle ปริมาณของ spermatocyte มีน้อย (ภาพที่ 2C)
ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Spawning)	ผนัง follicle จะแตกออก ส่วน lumen ของ follicle จะว่าง ปริมาณของ oocyte ขนาดใหญ่ลดลง (ภาพที่ 1C)	Spermatozoa ที่อยู่ตรงกลางของ follicle ถูกปล่อยออกไป ทำให้ lumen ว่างลง เหลือแต่ spermatocyte และพร้อมที่จะพัฒนาเป็น spermatozoa (ภาพที่ 2D)
ระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Spent)	ผนังของ follicle มีขนาดเล็กลง พบเซลล์จำพวกเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ถูกสร้างขึ้นระหว่าง follicle (ภาพที่ 1D)	ผนังของ follicle มีขนาดเล็กลง มี Spermatozoa บางส่วนหลงเหลืออยู่ใน lumen



ภาพที่ 11 แสดงระยะของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครงเพศผู้ A = ระยะเริ่มพัฒนา; B =ระยะกำลังพัฒนา; C = ระยะสมบูรณ์เพศ และ D = ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

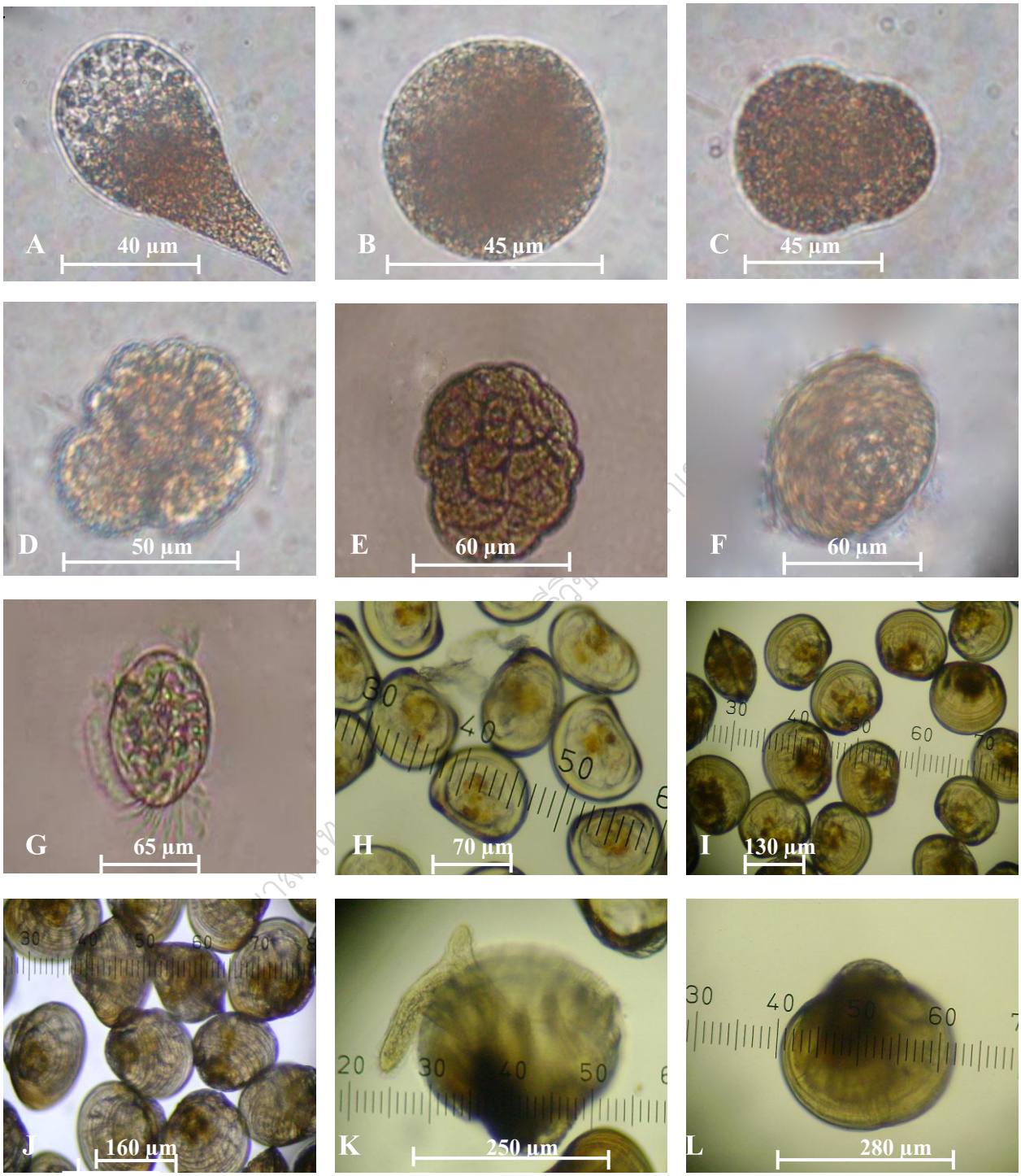
1.2 พัฒนาการของแอมบริโอและตัวอ่อน

ตารางที่ 2 แสดงถึงระยะเวลาของการพัฒนาของแอมบริโอและตัวอ่อนในทุกระยะของหอยแครง ไข่ที่ได้รับการผสมจะมีลักษณะผนังเซลล์ที่หนาขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับไข่ที่ไม่ได้รับการผสม (ภาพที่ 12B) หลังจากนั้นเป็นระยะเวลา 15 นาที จะมีการแบ่งเซลล์ในระยะ 1st Polar body ภายหลังจากไข่ได้รับการผสม ต่อจากนั้นก็จะมีการแบ่งเซลล์เป็นระยะ 2-celled และ Multicelled ในระยะเวลา 30-40 นาที และ 3 ชั่วโมงตามลำดับ (ภาพที่ 12C,D) ในช่วงระยะเวลา 4-5 ชั่วโมง ภายหลังจากไข่ได้รับการผสมก็จะพัฒนาเข้าระยะ Blastula และ Gastrula ตามลำดับ (ภาพที่ 3 E,F) ลูกหอยแครงจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ Trochophore larvae (ภาพที่ 12G) ภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมง ภายหลังจากไข่ได้รับการผสมก่อนที่จะพัฒนาเข้าสู่ระยะ D-shape (ภาพที่ 12H) ในระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง และจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ Early umbo (ภาพที่ 12I) และระยะ Umbo (ภาพที่ 12J) ในระยะเวลา 5 และ 10 วัน ตามลำดับ ลูกหอยจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ Pediveliger larvae (ภาพที่ 12K) ประมาณวันที่ 17 ภายหลังไข่ได้รับการผสม ภายหลังจากระยะนี้ก็จะพัฒนาเข้าสู่ระยะลงเกาะ (Setting) (ภาพที่ 12L) ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 1-3 วัน ลูกหอยก็จะลงเกาะสู่พื้น

ตารางที่ 2 ระยะเวลาของการพัฒนาหลังการปฏิสนธิของลูกหอยแครง

ระยะ	ขนาด (µm)	เวลา
1 st Polar body	45	15 นาที
2-celled stage	50	30-40 นาที
Multicelled stage	50	3 ชั่วโมง
Blastula	60	4 ชั่วโมง
Gastrula	60	5 ชั่วโมง
Trochophore	65	6 ชั่วโมง
D-shape	70	18-24 ชั่วโมง
Early umbo	130	5 วัน
Umbo	160	10 วัน
Pediveliger	250	17 วัน
Setting	280	18-21 วัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 12 พัฒนาการของแอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครงในระยะต่างๆ (A = Egg; B = Fertilized egg; C = 2-celled stage; D = Multicelled stage; E = Blastula; F = Gastrula; G = Trochophore; H = D-shape; I = Early umbo; J = Umbo; K = Pediveliger และ L = Setting)

2. การศึกษาการขุนพ่อ-แม่พันธุ์หอยแครงภายใต้โรงเพาะฟัก

2.1 ดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแครง (Condition Index)

จากการศึกษาดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแครงที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟักเป็นระยะเวลา 1 เดือน ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างทุก 10 วัน พบว่าหอยแครงมีดัชนีความสมบูรณ์ตั้งแต่ 21.29- 26.66 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 23.84 ± 4.17 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงค่าดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแครง

ระยะเวลาการเลี้ยง	ดัชนีความสมบูรณ์ (Condition index)
1	24.39 ±5.32
10	21.29 ± 3.58
20	23.02 ± 3.90
30	26.66 ± 3.87
ค่าเฉลี่ย C.I.	23.84 ± 4.17

2.2 ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์เ

ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์โดยอาศัยข้อมูลทางเนื้อเยื่อวิทยาที่ศึกษาจากตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์หอยแครง *Anadara granosa* ที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก สามารถแยกระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ได้ 3 ระยะในเพศเมีย และ 4 ระยะในเพศผู้ โดยสามารถอธิบายลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาได้ดังนี้

2.2.1 ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย

Early active หมายถึงระยะของรังไข่ที่เริ่มมีการสร้างเซลล์ไข่ ซึ่งเซลล์ไข่ยังมีขนาดเล็กติดอยู่กับผนังรังไข่ ยังไม่มีการสะสมไข่แดง พื้นที่ส่วนใหญ่ของรังไข่จะเต็มไปด้วยวงของการสร้างเซลล์ไข่ (ภาพที่ 13A)

Ripe stage หมายถึงระยะของรังไข่ที่มีเซลล์ไข่พัฒนาเต็มที่หรือไข่สุกมีการสะสมไข่แดงเต็มที่ ขนาดของเซลล์ไข่มีความสม่ำเสมอตลอดทั้งถุง ไข่แต่ละฟองจะมีก้านยึดติดกับผนังรังไข่ พื้นที่ส่วนใหญ่ของรังไข่ (ภาพที่ 13B)

β-Artesia stage หมายถึงระยะของรังไข่ที่มีเซลล์ไข่เริ่มมีการฝ่อ โดยเซลล์ไข่มีรูปร่างผิดปกติเหี่ยวลงอย่างเห็นได้ชัด เริ่มปรากฏเซลล์น้ำเหลือง (heamocytic cell) ในพื้นที่ส่วนใหญ่ของรังไข่ (ภาพที่ 13C-D)

α-Artesia stage หมายถึงระยะของรังไข่ที่มีเซลล์ไข่ที่มีการฝ่อมาระยะหนึ่ง โดยเซลล์ไข่บางเซลล์ถูกย่อยไปเกือบหมดแล้ว ในพื้นที่ส่วนใหญ่ของรังไข่เหลือเพียงเป็นรังไข่ว่างๆที่เต็มไปด้วยเซลล์น้ำเหลือง (heamocytic cell) มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ในบางพื้นที่ (ภาพที่ 13 E-F)

2.2.2 ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

Developing stage หมายถึงระยะการพัฒนาของอัณฑะที่เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่เป็น สเปอร์มาติด (spermatids cell) เป็นส่วนใหญ่ แต่ก็พบเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (สเปอร์มาโทซัว: spermatozoa) ได้บ้าง ผนังของวงการพัฒนา (follicle) จะมีลักษณะหนา หากเทียบกับระยะอื่น (ภาพที่ 14A-B)

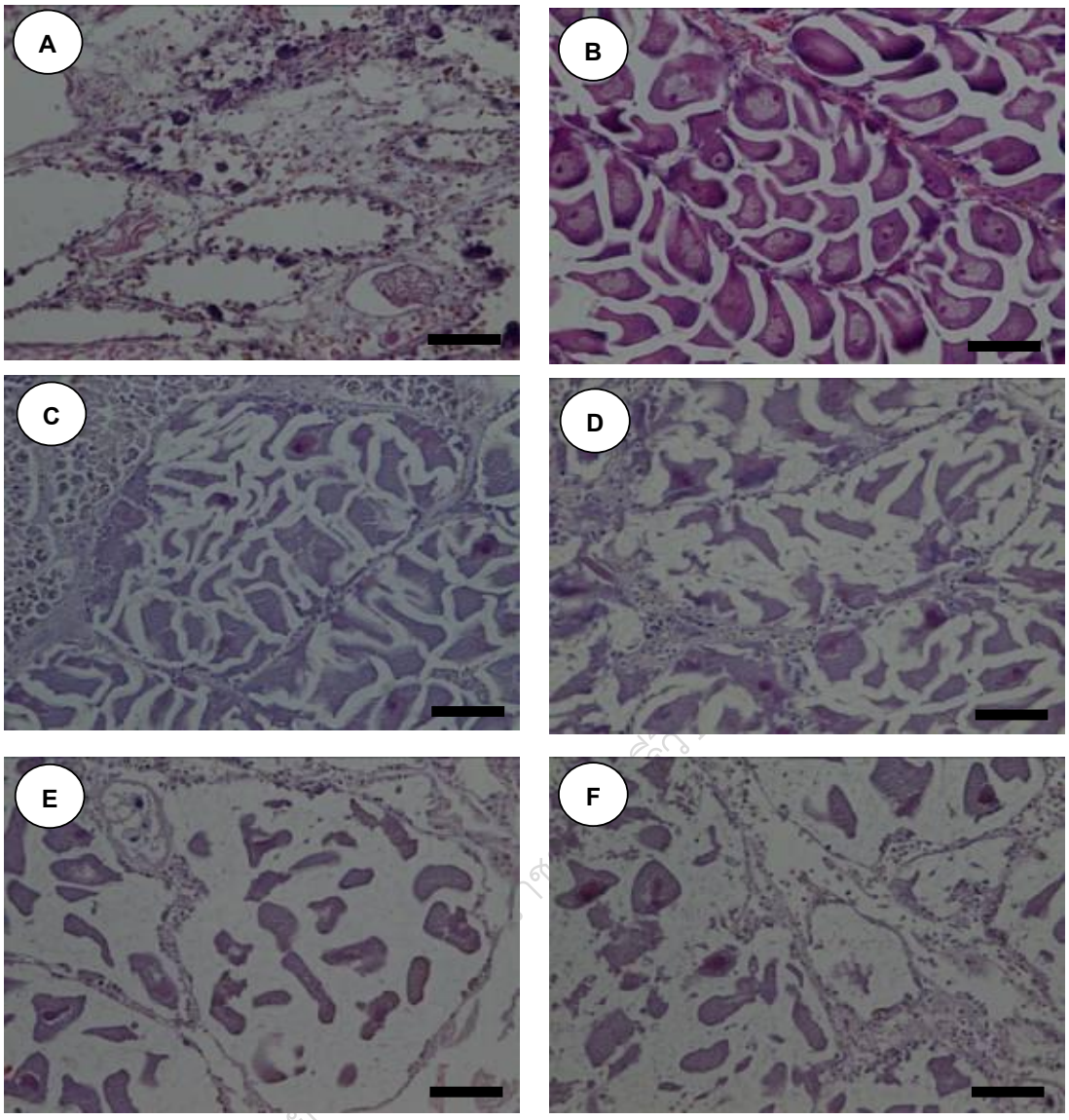
*Ripe stag*e หมายถึงระยะของอัณฑะที่มีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่พัฒนาเต็มที่ พื้นที่ของอัณฑะส่วนใหญ่จะถูกปกคลุมด้วย สเปอร์มาโทซัว ซึ่งมีการไหลมารวมกันบริเวณตอนกลางของวงการพัฒนา (follicle) โดยผนังของวงการพัฒนาจะมีลักษณะบาง (ภาพที่ 14C)

β-Artesia stage หมายถึงระยะของอัณฑะที่มีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เริ่มมีเสื่อมลง เริ่มปรากฏเซลล์น้ำเหลือง ในพื้นที่ส่วนใหญ่ของอัณฑะ (ภาพที่ 14D)

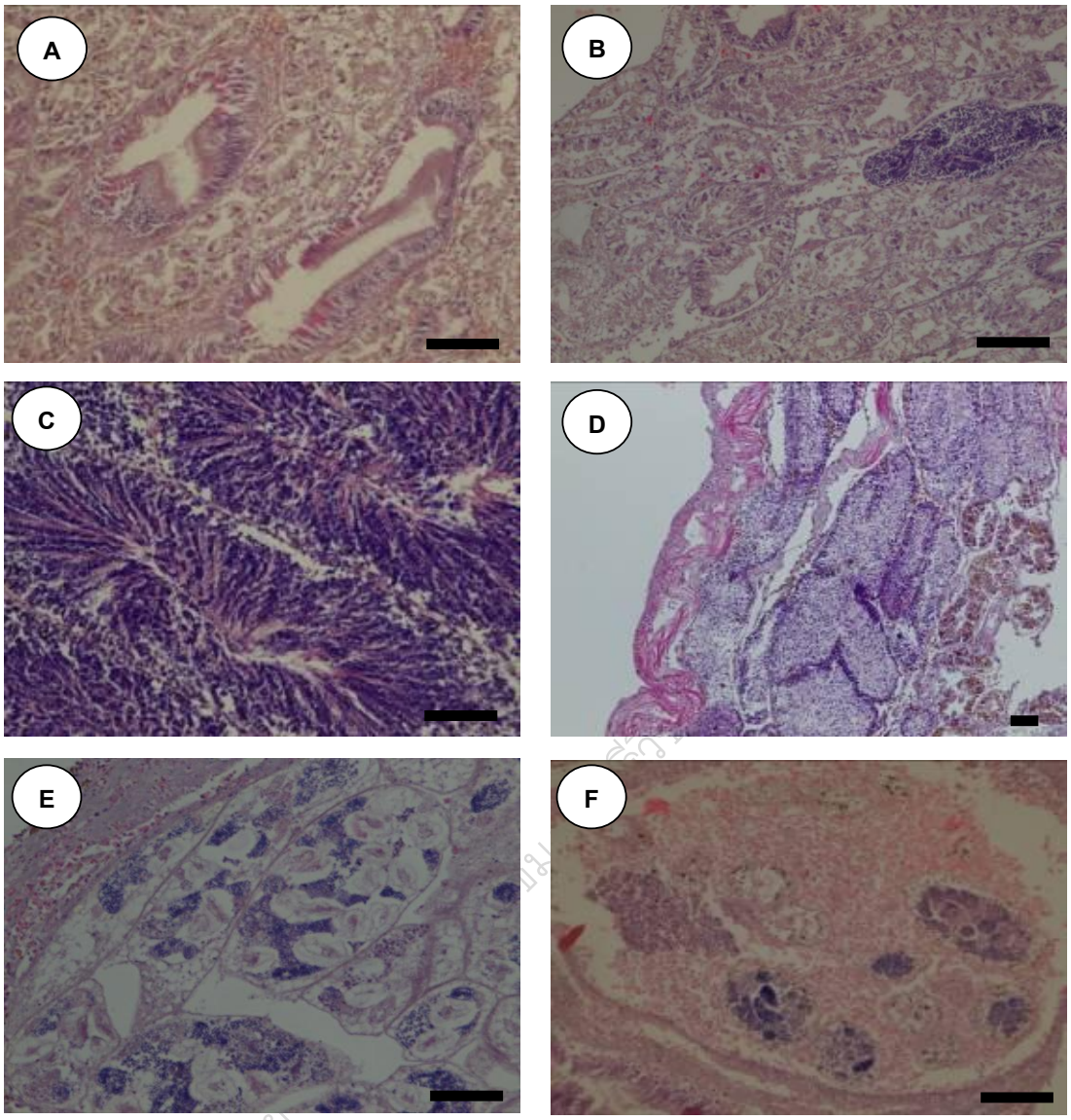
α-Artesia stage หมายถึงระยะของอัณฑะที่มีเซลล์เพศผู้ส่วนใหญ่ถูกย่อยโดยเซลล์น้ำเหลืองไปเกือบหมดแล้ว เหลือเพียงเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้บางส่วนที่ยังตกค้างอยู่ มีพื้นที่ที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันปรากฏในบางพื้นที่ (ภาพที่ 14E-F)

ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ของทั้งเพศเมียและเพศผู้จะมีลักษณะแตกต่างจากการศึกษาหอยสองฝาในธรรมชาติซึ่งปกติจะพบระยะหลังการวางไข่ (spawned or spawning stage)

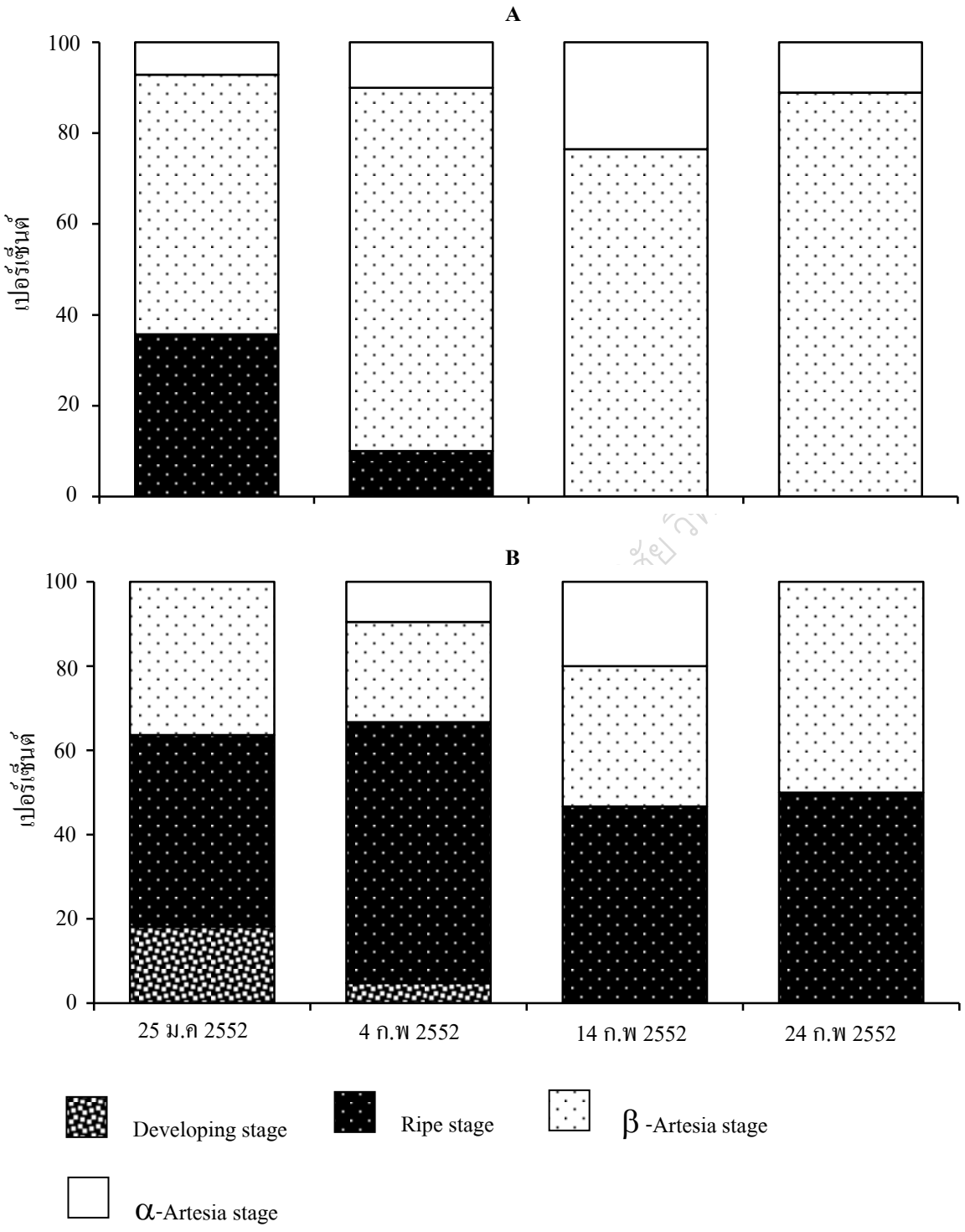
จากการเก็บตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์หอยแครงที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟักทุกๆ 10 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ของระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์แตกต่างกันทั้งในเพศเมียและเพศผู้ โดยเมื่อเริ่มการทดลองก็สามารถสังเกตพบเปอร์เซ็นต์อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่หยุดการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ แล้วจะพบตัวอย่างที่มีการย่อยสลายของเซลล์สืบพันธุ์เพิ่มมากขึ้น และจะพบตัวอย่างที่มีการย่อยสลายของเซลล์สืบพันธุ์เป็น 100% ภายใน 20 วัน (ภาพที่ 15A) ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แม้ว่าพบตัวอย่างที่มีการย่อยสลายของเซลล์สืบพันธุ์ในทุกระยะเวลาที่ทำการทดลอง แต่ก็ยังปรากฏตัวอย่างของอวัยวะสืบพันธุ์ที่อยู่ในระยะที่พร้อมปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Ripe stage) ในเปอร์เซ็นต์ค่อนข้างสูงตลอดการทดลอง อย่างไรก็ตามไม่พบเปอร์เซ็นต์ระยะกำลังพัฒนา (Developing stage) เมื่อครบ 20 วันผ่านไป (ภาพที่ 15B) การศึกษาในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นสัญญาณการหยุดพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งเพศเมียและเพศผู้หลังจาก 20 วันผ่านไปนับจากที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมหรือนำไปเลี้ยงที่แตกต่างจากสภาพเดิมอย่างโรงเพาะฟัก



ภาพที่ 13 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของรังไข่หอยแครงที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก (A) Early active; (B) Ripe stage; (C-D) β -Artesia stage; (E-F) α-Artesia stage. Scale bars= 200 µm.



ภาพที่ 14 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของอัณฑะหอยแครงที่นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก (A-B) Developing stage; (C) Ripe stage; (D) β -Artesia stage; (E-F) α-Artesia stage. Scale bars= 200 µm.



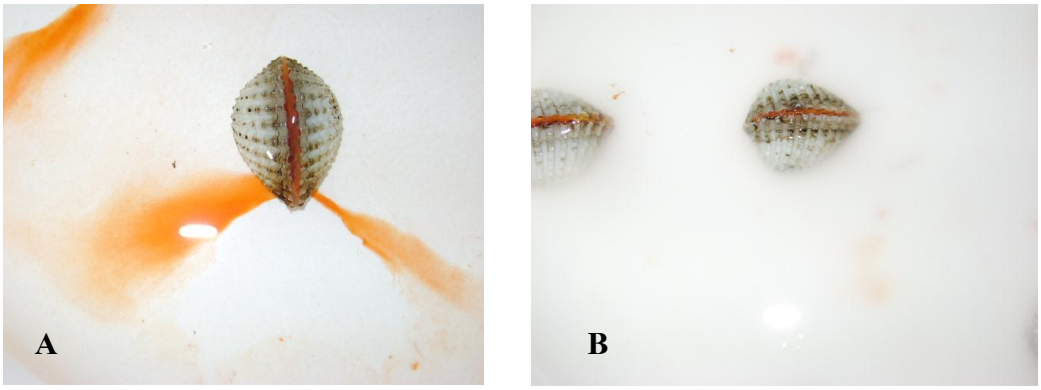
ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์ระยะการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครงเพศเมีย (A) และเพศผู้ (B) หลังจากที่ นำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก

3. การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่

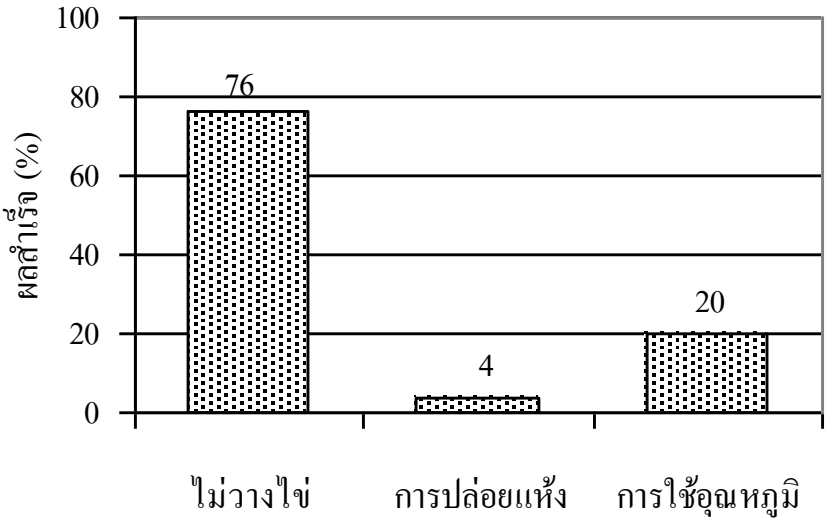
นำพ่อแม่พันธุ์หอยแครงที่มีการเจริญพันธุ์อย่างเต็มที่ มากระตุ้นให้เกิดการวางไข่โดยใช้เทคนิคการกระตุ้นต่างๆประกอบด้วย วิธีการปล่อยแห้ง (ภาพที่ 16) และ การใช้อุณหภูมิกระตุ้น (ภาพที่ 17) โดยทุกวิธีจะปกคลุมด้วยพลาสติกสีดำเพื่อจำลองสภาพให้อยู่ในสภาพไม่มีแสง เนื่องจากหอยแครงจะผสมพันธุ์วางไข่ในช่วงกลางคืน จากการทดลองศึกษาการเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่ รวมทั้งหมด 25 ครั้ง พบว่า วิธีการใช้อุณหภูมิ สามารถกระตุ้นให้หอยแครงเกิดการวางไข่มากที่สุด จำนวน 5 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 20 (ภาพที่ 19)

ภาพที่ 16 การเหนี่ยวนำโดยวิธีปล่อยแห้ง คลุมพลาสติกสีดำเพื่อจำลองสภาพกลางคืน

ภาพที่ 17 การเหนี่ยวนำให้วางไข่และปล่อยน้ำเชื้อโดยใช้อุณหภูมิ



ภาพที่ 18 แสดงพ่อ-แม่พันธุ์หอยแครงในสภาพกำลังมีการปล่อยไข่ (A) และสเปิร์ม (B)



ภาพที่ 19 เปอร์เซ็นต์ผลสำเร็จจากการเหนี่ยวนำให้เกิดจากวางไข่โดยวิธีต่างๆ

4. การอนุบาลลูกหอยแครงในระยะก่อนลงเกาะ

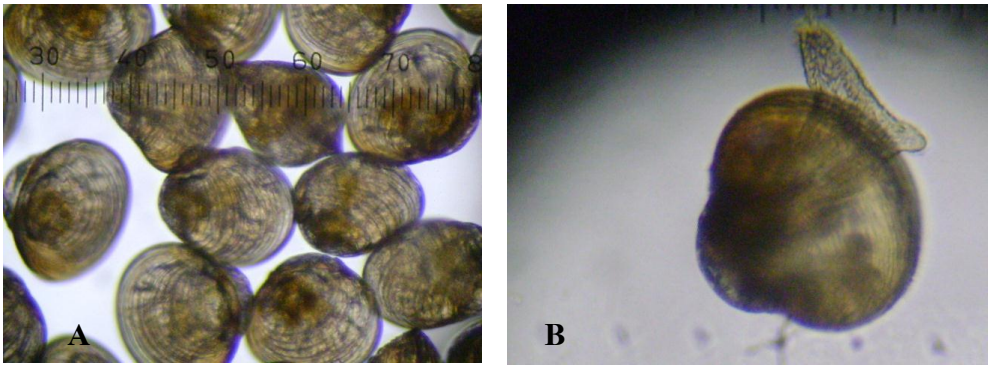
นำพ่อแม่พันธุ์ที่มีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ นำมากระตุ้นให้วางไข่และปล่อยน้ำเชื้อ วิธีการปล่อยโดยการใช้อุณหภูมิ เป็นวิธีการกระตุ้นการวางไข่ได้ดีที่สุด โดยทำความสะอาดบริเวณเปลือกและจุ่มในน้ำจืดประมาณ 1-2 นาที เพื่อกำจัดปรสิตบริเวณเปลือกหอย นำพ่อแม่พันธุ์วางในกระบะสำหรับการกระตุ้น ทำการกระตุ้นโดยวิธีการใช้อุณหภูมิ ซึ่งจะปรับอุณหภูมิของน้ำในกระบะให้ได้ 30-35 องศา พร้อมทั้งให้น้ำไหลเวียนตลอดเวลา ทิ้งไว้ประมาณ 30-60 นาที แล้วปรับระดับอุณหภูมิของน้ำในกระบะให้ลดลงเหลือ 20-25 องศาเซลเซียส น้ำไหลเวียนตลอดเวลา ทิ้งไว้ประมาณ 30-60 นาที แล้วปรับระดับอุณหภูมิของน้ำให้สูงอีกเท่าครั้งแรก ทำซ้ำประมาณ 3 รอบ ทิ้งไว้ประมาณ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้น

หอยจะเริ่มมีการปล่อยไข่และสเปิร์มออกมา เมื่อหอยมีการปล่อยไข่และสเปิร์มออกมาแล้วทำการแยกเพศผู้และเพศเมีย โดยหยิบตัวที่ปล่อยไข่ออกมาแล้วจุ่มในน้ำเค็มที่สะอาดอีกครั้งเพื่อเป็นการทำความสะอาดอีกครั้ง แล้วนำไปวางใส่กะละมัง 1 ตัว/ 1 ใบ (ภาพที่ 20) เมื่อพ่อแม่พันธุ์หอยปล่อยไข่และสเปิร์มเสร็จแล้ว นำไข่มากรองเศษขยะออกด้วยผ้ากรองขนาด 30/45 µm ใส่ถังที่มีปริมาตร 50 ลิตร สุ่มนับปริมาณไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตักสเปิร์มด้วยบีกเกอร์ใส่ในถังที่มีไข่ คนให้เข้ากัน สุ่มไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อเช็คอัตราส่วนสเปิร์ม : ไข่ ให้ได้อัตราส่วน 6: 1 หากดูแล้วปริมาณสเปิร์มน้อยเกินไปให้ตักใส่เพิ่มอีก หากได้อัตราส่วนที่เหมาะสมแล้ว ปล่อยทิ้งไว้ 10-20 นาที แล้วนำถังไข่ลูกหอยเทลงในถัง 1 ตัน ที่ใส่ EDTA ความเข้มข้น 10 ppm เตรียมไว้ไม่ต่ำกว่า 20 นาที โดยให้ความหนาแน่นของไข่ 10-20 ฟองต่อมิลลิลิตร ใส่ยาปฏิชีวนะ Streptomycin และ Neomycin ความเข้มข้น 5 ppm ให้อากาศเบาๆ ใช้ความเค็มของน้ำ 35 ppt (ภาพที่ 21)

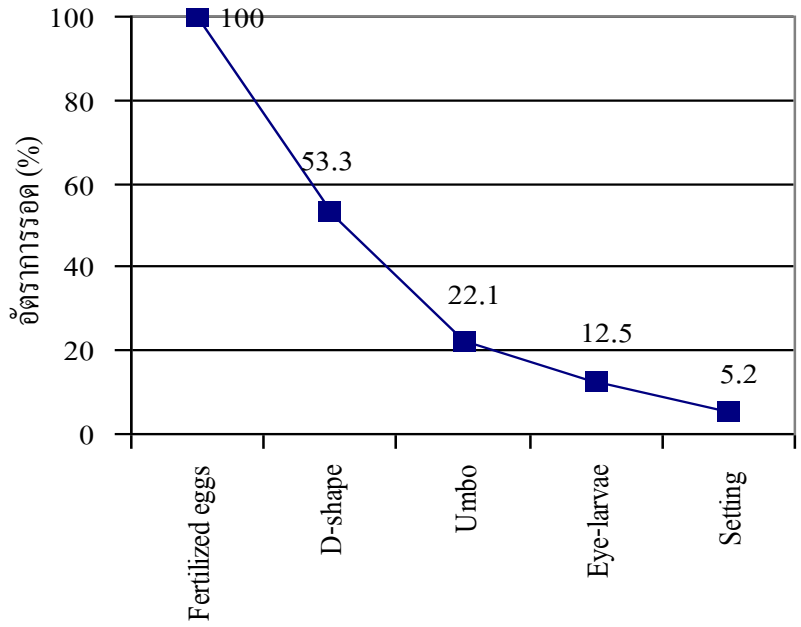
ภาพที่ 20 การแยกเพศผู้และเพศเมียเมื่อหอยแครงมีการปล่อยไข่และสเปิร์ม

ภาพที่ 21 การฟักไข่หอยแครง

เมื่อไข่และสเปิร์มผสมกัน ไข่ที่ได้รับการผสมจะพัฒนาเป็นระยะที่ไม่มีเปลือกแต่มีการเคลื่อนที่เรียกระยะนี้ว่า Trochophore ภายใน 4-8 ชั่วโมง แล้วจะพัฒนาเป็นระยะตัวอ่อนที่มีเปลือกบานพับเส้นตรง เรียกระยะนี้ว่า D-shape ภายใน 16-24 ชั่วโมง ซึ่งลูกหอยจะมีขนาด 50-55 µm ทั้งนี้การพัฒนาในแต่ละระยะขึ้นอยู่กับ ความหนาแน่น อุณหภูมิ ด้วย จะทำการถ่ายน้ำลูกหอยเมื่อลูกหอยเข้าระยะ D-shape หรือมีอายุ 1 วัน เนื่องจากระยะนี้ลูกหอยจะมีเปลือกหุ้มสามารถทนต่อแรงกระแทกได้ ทำการถ่ายน้ำโดยการใช้ตะแกรงขนาด 40/50 µm ในการรองรับลูกหอย สุ่มลูกหอยเพื่อคำนวณอัตราการฟักของแต่ละถัง จากการทดลองพบอัตราการฟัก คิดเป็น 55.3 % ใส่ลูกหอยกลับลงถังแต่ละถังในน้ำที่เตรียม EDTA ไว้ซึ่ง EDTA จะใส่ทุกครั้งที่มีการถ่ายน้ำ ในช่วง 5 วันแรกจะให้อาหารลูกหอยเป็นแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก *Isochrysis galbana* ในความเข้มข้น 12,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น และเติมยาปฏิชีวนะ Streptomycin และ Neomycin ลงไปด้วย หลังถ่ายลูกหอยลงถังแต่ละถังเสร็จ ซึ่งยาปฏิชีวนะ Streptomycin และ Neomycin จะใช้ในวันเวลาที่เหมาะสมช่วงที่ลูกหอยไม่ค่อยแข็งแรง ในช่วงหลังเมื่อลูกหอยมีสภาพที่ปกติ ว่ายน้ำแข็งแรงก็จะหยุดใส่ยา ลูกหอยจะเริ่มพัฒนาเข้าระยะ Umbo เมื่ออายุ 4-7 วัน โดยมีขนาด 90-110 µm หลังจากวันที่ 5 จะเพิ่มอาหารเป็น *Chaetoceros calcitran* แต่จะให้ *Isochrysis galbana* ในอัตราส่วนที่มากกว่า ปริมาณอาหารที่ให้แต่ละวันจะเพิ่มขึ้นตามความต้องการของลูกหอย (ตารางที่ 4) เมื่อตอนเช้าทำการสุ่มเช็คอาหารแล้วปรากฏว่าไม่มีอาหารเหลือ จะต้องเติมอาหารปริมาณเพิ่มขึ้น ถ้าให้อาหารน้อยเกินไปก็จะไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของลูกหอย หากมีการเติมอาหารที่ปริมาณมากเกินไปจะมีผลยับยั้งอัตราการกรองกินอาหารของลูกหอยด้วย ทำให้อัตราการ เจริญเติบโตต้องชะงักเช่นกัน และทำให้เกิดอาหารเหลือเกิดโปรโตซัวขึ้น ดังนั้นการให้อาหารจึงต้องคำนวณปริมาณความหนาแน่นของเซลล์อาหารต่อปริมาตรน้ำที่ใช้อนุบาลลูกหอยด้วย ทุกครั้งที่ทำการถ่ายน้ำจำต้องทำการสุ่มนับจำนวน และวัดขนาดลูกหอย เพื่อตรวจสอบอัตราการรอดและการเจริญเติบโต และสังเกตลักษณะความสมบูรณ์ของลูกหอยด้วย ซึ่งลูกหอยที่สมบูรณ์เมื่อถ่ายน้ำ จะสังเกตเห็นลูกหอยที่ติดค้างบนตะแกรงจะมีสีน้ำตาลแดงเข้ม เมื่อนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่าลูกหอยว่ายน้ำแข็งแรง บริเวณกระเพาะอาหารจะมีสีเหลืองหรือน้ำตาลเข้มเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังจะมองเห็นการเคลื่อนที่และการทำงานของอวัยวะภายในด้วย เมื่อลูกหอยมีขนาด 170-200 µm จะเริ่มมีจุดดำๆ กลางลำตัวเรียกว่า Eye-larvae (ภาพที่ 22) และหลังจากนั้นจะมีการพัฒนาของเท้าเจริญขึ้นจนเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่อวัยวะส่วนที่ว่ายน้ำ (Velum) จะค่อยๆ ลดความสำคัญลงไปและหายไปเมื่อมีขนาดประมาณ 240-270 µm หรือมีอายุ15-18 วัน ลูกหอยเริ่มจะลงเกาะ จากผลการศึกษาพบว่าจากระยะไข่ที่ได้รับการผสม (Fertilized eggs) จนถึงระยะลงเกาะ (Setting) มีอัตราการรอดเพียง 5.2 % (ภาพที่ 23) จากผลการศึกษาพบว่าความเค็มมีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนลูกหอยแครง โดยพบว่าที่ระดับความเค็มต่ำกว่า 30 ppt ลูกหอยในระยะ D-shape มีการพัฒนาผิดปกติ 100 % และไม่สามารถพัฒนาต่อได้



ภาพที่ 22 ลูกหอยแครงระยะ Umbo stage (A) และระยะ Pediveliger (B)



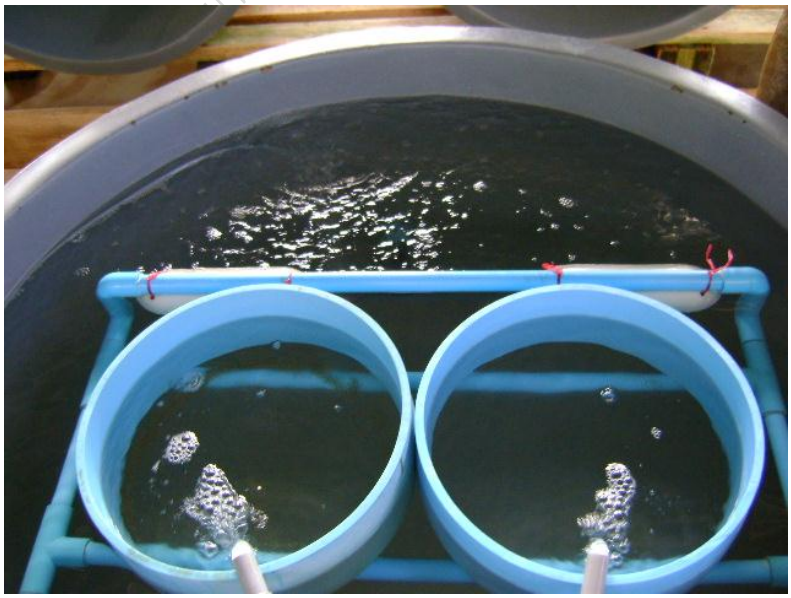
ภาพที่ 23 แสดงอัตราการรอดของลูกหอยแครงในระยะต่างๆ

ตารางที่ 4 ชนิดของแพลงก์ตอนและปริมาณที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกหอยแครงระยะต่างๆ

ระยะ	ชนิดของแพลงก์ตอน	ปริมาณ (เซลล์/มิลลิลิตร/วัน)
Trochophore	-	-
D-shape	*Isochrysis galbana*	24,000
Early-umbo	*Isochrysis galbana* + *Chaetoceros calcitrans*	25,000 +10,000
Umbo	*Isochrysis galbana* + *Chaetoceros calcitrans*	15,000 + 30,000
Eye-larvae	*Chaetoceros calcitrans* + *Tetraselmis* sp.	30,000 + 10,000

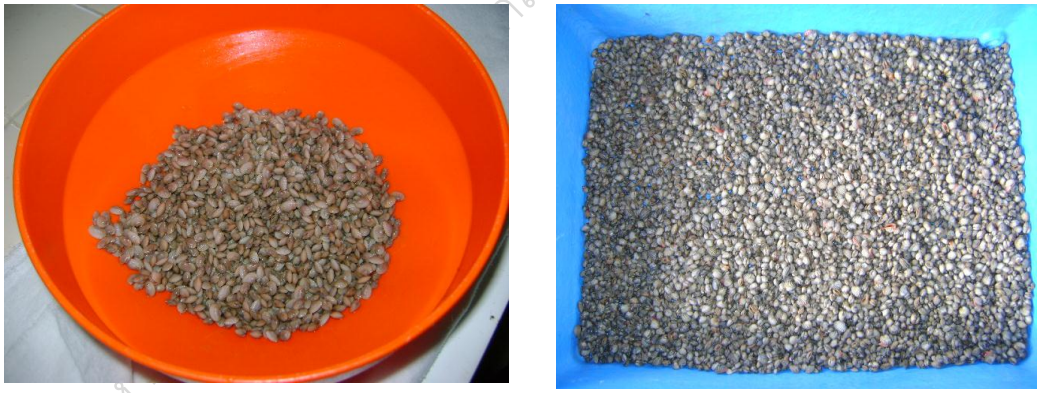
5. การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการลงเกาะของลูกหอยและการอนุบาล

ภายหลังจากลูกหอยมีการพัฒนาเข้าระยะที่มีจุดตาเล็กๆ หรือเรียกว่า eye larvae แล้วเริ่มมีส่วนของเท้าชัดเจน ระยะนี้ลูกหอยจะต้องลงเกาะพื้น ดังนั้นจะต้องทำการถ่ายน้ำลูกหอยจากถังอนุบาล 1 ตัน ย้ายไปอนุบาลต่อในระบบที่มีการไหลเวียนน้ำตลอดเวลา ซึ่งในช่วงแรกจะใช้ระบบที่มีน้ำพร้อมอาหารไหลเข้าจากด้านบน ผ่านลูกหอยที่อยู่บนตะแกรงแล้วผ่านออกนอกระบบ ซึ่งระบบนี้เรียกว่า (Downflow หรือ Downweller) (ภาพที่ 24) ซึ่งระบบ Downflow นี้ มักใช้อนุบาลลูกหอยวัยเกล็ดขนาดเล็ก ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหนักลูกหอยยังน้อย จึงต้องการแรงของน้ำที่ไหลจากด้านบนช่วยในการลงเกาะของลูกหอย เมื่ออนุบาลลูกหอยในระบบ Downflow ประมาณ 1 อาทิตย์ หรือหลังจากที่ลูกหอยลงเกาะพื้นหมดแล้ว จึงเปลี่ยนทิศทางการไหลของน้ำ โดยมีการไหลเข้าทางด้านล่างผ่านตะแกรงผ่านลูกหอยแล้วผ่านออกนอกระบบ ซึ่งเรียกระบบนี้ว่า Upweller (ภาพที่ 25) ซึ่งหากว่ายังคงใช้ระบบ Downflow อยู่ แรงกดทับจากน้ำจะมีส่วนทำให้ลูกหอยพิการหรือรูปทรงไม่สวยได้ ซึ่งระบบ Upweller จะช่วยลดการสะสมของเสียหรือสิ่งขับถ่ายของลูกหอยที่มีอยู่ในถังเลี้ยงให้อยู่ในระดับต่ำอยู่เสมอ ซึ่งในการอนุบาลลูกหอยในระยะนี้ จะต้องได้รับการเปลี่ยนผ้ากรองก้นถังให้มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยให้สอดคล้องกับขนาดลูกหอยที่โตขึ้นด้วย อาหารลูกหอยในระยะลงเกาะนี้จะให้อาหารในปริมาณมาก แต่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมตามปริมาณความหนาแน่นของเซลล์และปริมาตรน้ำในถังเลี้ยง ซึ่งในระยะนี้อาหารที่ให้ในการอนุบาลลูกหอยลงเกาะจะเป็น *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis* sp. ในอัตราส่วน 50 : 50 และทำการถ่ายน้ำล้างถังเลี้ยงใหม่ทุกวัน จนลูกหอยที่อนุบาลมีขนาดโตขึ้นขนาด 5 มิลลิเมตร สามารถนำออกสู่ธรรมชาติได้ (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 24 การอนุบาลลูกหอยแครงในระยะก่อนลงเกาะแบบ Downweller

ภาพที่ 25 การอนุบาลลูกหอยแครงในระยะหลังการลงเกาะแบบ Upweller



ภาพที่ 26 ลูกหอยแครงขนาดความยาวเปลือกประมาณ 5 มิลลิเมตร

6. การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ด

จากการศึกษาโดยจำลองสภาพเหมือนธรรมชาติ ทำการใส่โคลนลงบนภาชนะทดลองในระดับความหนาที่แตกต่างกัน ทำการเลี้ยงในระบบปิด (ภาพที่ 27) โดยการเติมอาหารประกอบด้วยแพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis* sp. พร้อมกับมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน จากผลการศึกษาเป็นระยะเวลา 1 เดือนพบว่าลูกหอยแครงมีอัตราการตายสูง แสดงให้เห็นว่าการอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ดในสภาพโรงเพาะฟักมีสภาพไม่เหมาะสม ลูกหอยมีอัตราการตายสูง ดังนั้นลูกหอยแครงในระยะวัยเกล็ดขนาดโตกว่า 5 มิลลิเมตร สามารถนำไปเลี้ยงในสภาพฟาร์มเลี้ยงใน

ธรรมชาติจะสามารถทำให้ลูกหอยมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการตายที่สูงกว่าการอนุบาลในโรงเพาะฟัก

ภาพที่ 27 การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ดในระบบปิดในโรงเพาะฟัก

วิจารณ์ผลการศึกษา

1. พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ แอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครง

สภาวะทรัพยากรประมงหอยแครงซึ่งเป็นหอยสองฝาที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยในปัจจุบันมีแนวโน้มลดลงอย่างเรื่อยๆ อันมีสาเหตุมาจากสภาวะการจับมากเกินไปและปัญหามลพิษที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกวัน การเลี้ยงหอยแครงในปัจจุบันอาศัยลูกหอยจากธรรมชาติ ปัจจุบันปริมาณลูกหอยแครงจากธรรมชาติที่ใช้สำหรับการเลี้ยงมีปริมาณลดลงและไม่เพียงพอสำหรับฟาร์มเลี้ยง ในอนาคตกิจกรรมการเพาะขยายพันธุ์หอยแครงจากโรงเพาะจะต้องมีบทบาทสำคัญเพื่อผลิตลูกพันธุ์รองรับกิจกรรมการเลี้ยง ดังนั้นข้อมูลการศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ เช่น พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ แอมบริโอและตัวอ่อน เนื่องจากจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญในการพัฒนาเทคนิคการเพาะพันธุ์ในระบบโรงเพาะฟัก มีรายงานการศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ในหอยแครงหลายชนิด เช่น ชนิด *Anadara granosa* โดย Broom (1983), Suwanjarat and Parnrong (1990) และ Suwanjarat *et al*. (2009) ชนิด *Anadara inaequivalvis* โดย Sahin *et al*. (2006) ซึ่งจากผลการศึกษาสามารถสรุประยะของการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครงออกได้เป็น 5 ระยะ เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ คือ ระยะเริ่มพัฒนา ระยะกำลังพัฒนา ระยะสมบูรณ์เพศ ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ จากรายงานการศึกษาของ ธนิษฐา (2530) พบว่าหอยแครงในอ่าวนครศรีธรรมราช จะมีไข่แก่ในเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม และมีระยะพักตัวภายในรังไข่ว่างเปล่า ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน-เมษายน เช่นเดียวกับการศึกษาของ ยุทธ (2534ข) พบว่าการพัฒนาของ gonad และการวางไข่ของหอยแครงในอ่าวนครศรีธรรมราช จะเข้าระยะฟักตัวตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน-เมษายน ใช้เวลา 4-5 เดือนในการสร้างไข่และสเปิอร์ม และจะวางไข่ในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ส่วนการศึกษาพัฒนาการของแอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครง (*Anadara granosa*) ในครั้งนี้พบว่าลูกหอยแครงสามารถพัฒนาจากไข่ที่ได้รับการผสมไปจนถึงระยะลงเกาะใช้เวลาในการพัฒนา 18-21 วัน ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ ซึ่งใช้ระยะเวลาใกล้เคียงกับการลงเกาะของลูกหอยแครงพันธุ์เพชรบุรี (*Anadara nodifera*) ซึ่งใช้เวลาในการพัฒนาและลงเกาะสู่พื้นในระยะเวลา 19 วัน (คมน์และคณะ, 2530ข) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาของการพัฒนาของแอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครงในแต่ละระยะ จะใช้เวลาที่แตกต่างกันหากเทียบกับรายงานการศึกษาในหอยสองฝาชนิดอื่น เช่น หอย *Placuna placenta* (Dharmaraj *et. al.,* 2004), หอย *Tivela mactroides* (Reverol *et al*., 2004) และ หอย *Ensis arcuatus* (Da Costa *et al*., 2008) เป็นต้น

2. การศึกษาการขุนพ่อ-แม่พันธุ์หอยแครงภายใต้โรงเพาะฟัก

ความพยายามจากนักเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในการที่จะผลิตพันธุ์หอยแครงจากโรงเพาะฟักเพื่อให้สามารถผลิตพันธุ์หอยได้ตลอดปี โดยมีหลักการเหมือนกับหอยสองฝาชนิดอื่นๆเช่น หอยนางรม หอยเชลล์ และหอยแมลงภู่ ที่ประสบความสำเร็จในการผสมพันธุ์และอนุบาลในโรงเพาะจนได้ขนาดเหมาะที่จะนำไปเลี้ยงในธรรมชาติ สำหรับหอยแครงนั้นมีการทดลองในการเพาะอนุบาลในโรงเพาะฟักเช่นกัน (คมณ์ และคณะ, 2530) โดยพ่อแม่พันธุ์ที่นำมาทดลองได้จากธรรมชาติ ซึ่งความสมบูรณ์ขึ้นอยู่กับฤดูกาล มีความพยายามทดลองเลี้ยงหอยแครงเป็นพ่อแม่พันธุ์ โดยใช้หอยแครง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์เพชรบุรี (*Anadara nodifera*) และพันธุ์มาเลเซีย (*A. granosa*) ในบริเวณอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าหอยที่เลี้ยงสามารถมีไข่และน้ำเชื้อได้ภายในระยะเวลา 1 เดือน โดยภายหลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือนพบว่าหอยแครงพันธุ์มาเลเซียมีความสมบูรณ์เพศ (มีไข่และน้ำเชื้อ) 100% ส่วนหอยแครงพันธุ์เพชรบุรีพบมีว่าสมบูรณ์เพศ 92.7% จากการศึกษา พบว่าหอยแครงทั้ง 2 พันธุ์ ที่มีขนาด 1.78-3.8 เซนติเมตร สามารถสืบพันธุ์วางไข่ได้ (ยุทธ, 2534ก) จากการศึกษาของ ธนิษฐาและคณะ (2526) พบว่าหอยแครงสามารถสืบพันธุ์วางไข่ได้เมื่อมีขนาด 1.71 เซนติเมตร ขึ้นไป โดยจะเริ่มมีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ตั้งแต่ขนาด 1 เซนติเมตร ขณะที่ Broom (1983) ได้ศึกษาในหอยแครงพันธุ์มาเลเซีย พบว่าหอยแครงเริ่มมีการพัฒนารังไข่ตั้งแต่มีขนาด 1.75 เซนติเมตร และสามารถสืบพันธุ์ว่างไข่ได้เมื่อมีความยาวเปลือกขนาด 2.4-2.5 เซนติเมตร ขึ้นไป

มีความพยายามในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักเพื่อที่จะได้ทดลองเพาะฟักได้ตลอดปี (Kamal, 1986) ซึ่งปกติโดยทั่วไปการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักจะต้องเลี้ยงในภาวะที่มีคุณภาพน้ำและปริมาณอาหารที่ให้ต้องเหมาะสมมีสารอาหารครบถ้วน (Utting and Millican, 1998) จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถสังเกตพบเปอร์เซ็นต์อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่หยุดการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์แล้วจะพบตัวอย่างที่มีการย่อยสลายของเซลล์สืบพันธุ์ 100% ภายใน 20 วัน ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แม้ว่าพบตัวอย่างที่มีการย่อยสลายของเซลล์สืบพันธุ์ในทุกระยะเวลาที่ทำการทดลอง ไม่พบเปอร์เซ็นต์ระยะกำลังพัฒนาเมื่อครบ 20 วัน แสดงให้เห็นสัญญาณการหยุดพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งเพศเมียและเพศผู้หลังจาก 20 วันผ่านไปนับจากที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมหรือนำไปเลี้ยงที่แตกต่างจากสภาพเดิมอย่างโรงเพาะฟัก

ลักษณะการฝ่อของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในครั้งนี้เป็นการฝ่อหลังจากที่อวัยวะสืบพันธุ์พัฒนาไปจนถึงระยะพร้อมปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งเป็นปรากฏการณ์เช่นเดียวกับที่พบในหอยสองฝาที่อยู่ในสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมในธรรมชาติ (Ortiz-Zarragoitia and Cajaraville, 2010) จากการศึกษาในครั้งนี้พบระยะการฝ่อของเซลล์สืบพันธุ์จากตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์หอยแครงที่เลี้ยงในธรรมชาติด้วยแสดงให้เห็นว่าการเกิดฝ่อลีบของเซลล์สืบพันธุ์เกิดขึ้นได้หากสภาพแวดล้อมในธรรมชาติที่ไม่เหมาะแก่การ

ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หรือปริมาณอาหารไม่เพียงพอ ซึ่งเป็นกลไกปกติของอวัยวะสืบพันธุ์เพื่อการเริ่มสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใหม่

3. การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่

จากผลการศึกษาพบว่าการใช้อุณหภูมิในการกระตุ้นให้ผลดีกว่าการปล่อยแห้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ ทรงชัย และคณะ (2527) พบว่าการเพาะพันธุ์หอยแครงในโรงเพาะฟักโดยการเหนี่ยวนำในมีการวางไข่ พบว่าการกระตุ้นด้วยวิธีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิให้ผลดีที่สุดทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โดยการเหนี่ยวนำนอกจากจะใช้อุณหภูมิแล้วยังต้องปรับสภาพให้มืดโดยการคลุมพลาสติกสีดำ จึงจะให้ผลดี ซึ่งสดคล้องกับการรายงานของ ทรงชัย และคณะ (2527) ที่กล่าวว่า การปล่อยไข่และน้ำเชื้อของหอยแครงจะเกิดในช่วงพลบค่ำ ปริมาณแสงเข้มข้นต่ำกว่า 8 ลักส์ ปัญหาสำคัญในการกระตุ้นการวางไข่ของหอยแครงก็คือพ่อแม่พันธุ์ต้องมีอวัยวะเพศที่สมบูรณ์จริงๆ คือช่วงฤดูการวางไข่ หากเลยช่วงระยะเวลาดังกล่าวโอกาสที่จะกระตุ้นให้วางไข่จะน้อยลง จากการนำเอาพ่อแม่พันธุ์จากพื้นที่ในจังหวัดตรัง กระบี่ และพังงา มากระตุ้นวางไข่ พบว่าช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม จะมีการวางไข่เกิดขึ้นแต่หลังจากช่วงดังกล่าวไม่พบการวางไข่ แสดงว่าในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงฤดูการผสมพันธุ์วางไข่ของหอยแครงในธรรมชาติในพื้นที่ดังกล่าว มีข้อมูลรายงานการศึกษาฤดูการสืบพันธุ์ของหอยแครงในหลายพื้นที่ของประเทศไทย เช่น ถาวรและคณะ (2530) พบการวางไข่ของหอยแครงอ่าวสวี จังหวัดชุมพร ทุกเดือนที่ทำการศึกษา โดยพบมากที่สุดในเดือนกรกฎาคม และจากการนำเอาหอยแครงในพื้นที่เดียวกันมากระตุ้นการวางไข่ในห้องปฏิบัติการ โดย คมน์และคณะ (2530ก) พบว่า หอยสามารถปล่อยไข่และสเปอร์มได้ดีที่สุดคือในช่วงเดือน มิถุนายน-กรกฎาคม และจากการศึกษาของ ธนิษฐา(2530) พบว่าฤดูการวางไข่ของหอยแครงในอ่าวนครศรีธรรมราช จะมีช่วงเดียวคือมิถุนายน-กันยายน เนื่องจากระดับความเค็มลดต่ำลง สำหรับในประเทศมาเลเซีย จากรายงานการศึกษาของ Broom (1983) พบว่าหอยแครง (*Anadara granosa*) จะวางไข่ตลอดปี แต่จะวางไข่มากที่สุดในช่วงเดือนตุลาคม

4. การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยอ่อน (larvae)

จากการทดลองอนุบาลหอยแครงระยะวัยอ่อนพบว่า ลูกหอยแครงที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่ำกว่า 30 ppt พบว่าเมื่อลูกหอยพัฒนาเข้าสู่ระยะ D-shape มีการพัฒนาผิดปกติเกือบทั้งหมด สอดคล้องกับการศึกษาของ ทรงชัย และคณะ (2527) ความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยแครงเป็นอย่างมาก โดยความเค็มที่เหมาะสม คือ 34-35 ppt ลูกหอยแครงจึงจะพัฒนาปกติ ส่วนชนิดและปริมาณอาหารที่ให้พบว่าเมื่อลูกหอยในระยะ D-shape การให้สาหร่ายเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* จะเหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีเซลล์ขนาดเล็ก คือ 6-8 ไมครอน เมื่อลูกหอยพัฒนาขึ้นเข้าสู่ระยะ Umbo จำเป็นต้องให้อาหารที่มีขนาดโตขึ้น คือ *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งมีขนาด 10 ไมครอน แต่ต้องค่อยๆ ปรับสัดส่วนโดย

ค่อยๆ ลดปริมาณ *I. galbana* และเพิ่ม *C. calcitrans* ขึ้นเมื่อลูกหอยแครงมีขนาดโตขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ คเชนทร (2544) ที่กล่าวว่า อาหารที่เหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงลูกหอยในระยะแรก คือ *I. galbana* เมื่อลูกหอยโตขึ้นมีขนาดเกิน 100 ไมครอน ควรใช้ *C. calcitrans* ร่วมด้วย และเมื่อลูกหอยมีขนาดโตกว่า 300 ไมครอนขึ้นไป ให้ใช้พวก *Tetraselmis* sp. ร่วมด้วย โดยจากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าการให้อาหารลูกหอยจะให้หลังจากลูกหอยมีอายุ 1 วัน โดยสามารถให้อาหารเริ่มต้นที่ระดับความหนาแน่น 20,000 เซลล์/มิลลิลิตร โดยปริมาณอาหารที่ให้สูงสุดในแต่ละครั้งไม่ควรเกิน 50,000 เซลล์/มิลลิลิตร เพื่อป้องกันอาหารเหลือซึ่งจะทำให้เกิดโปรโตซัวขึ้นได้

5. การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการลงเกาะของลูกหอยและการอนุบาล

จากผลการศึกษาพบว่าการลงเกาะของลูกหอยแครงจะลงเกาะโดยไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุลงเกาะเหมือนกับลูกหอยนางรม กล่าวคือลูกหอยจะลงเกาะบนผ้าสกรีนและจะไม่เกาะติดแบบถาวร เนื่องจากลูกหอยแครงในระยะ Pediveliger จะไม่มีการสร้าง cement ในการเกาะ เมื่อลูกหอยลงสู่พื้นโดยสมบูรณ์ ส่วนของ food ก็จะค่อยๆ ลดขนาดและหายไปเมื่อมีการลงเกาะสู่พื้นโดยสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามการปรับระบบน้ำสำหรับลูกหอยก่อนการลงเกาะสู่พื้นก็จะเป็นแบบ Downflow โดยใช้อัตราการไหลของน้ำไม่เกิน 0.5 ลิตร/นาที โดยในช่วงดังกล่าวไม่จำเป็นต้องให้อาหาร เมื่อลูกหอยลงสู่พื้นทั้งหมดระบบลงเกาะจะถูกปรับเป็นแบบ Upflow และเพิ่มอัตราการไหลของน้ำเพิ่มขึ้นให้มีอัตราการไหลของน้ำไม่น้อยกว่า 8 ลิตร/นาที เนื่องจากลูกหอยแครงในระยะการลงเกาะต้องอาหารมากในการเจริญเติบโตโดยการกรองกินอนุภาคของสารที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ (Suspension feeders) มีความสัมพันธ์กับการหมุนเวียนของมวลน้ำ (Eckman *et al*., 1989) เนื่องจากอัตราการไหลของน้ำมีผลต่อปริมาณการ พัดพาเอาอนุภาคต่างๆ ที่เป็นอาหาร ที่ผ่านสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ (Muschenheim, 1987) ดังนั้น การกรองสาหร่ายเซลล์เดียวและอนุภาคสารแขวนลอยต่างๆ ของหอยสองฝาขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของน้ำ อัตราการไหลของน้ำที่เหมาะสมที่ไหลผ่านระบบอนุบาลจะมีผลต่อการกินอาหารซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยที่มีขนาดเล็ก (Hickman *et al*., 1999) อัตราการไหลของน้ำที่เพิ่มขึ้นเป็น การเพิ่มปริมาณอาหารให้ไหลผ่านลูกหอยมากขึ้น ทำให้ลูกหอยมีโอกาสในการกรองอาหารได้เพิ่มมากขึ้น ขณะเดียวกันอัตราการไหลของน้ำที่เพิ่มขึ้นเป็นการเพิ่มอัตราการแทนที่ของอาหารเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนักวิจัยหลายท่านที่พบว่าการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณอาหารนั่นเอง (Malouf and Breese, 1977; Manzi *et al*., 1986)

6. การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ด

จากการทดลองนำเอาลูกหอยแครงในระยะวัยเกล็ดในโรงเพาะฟักโดยระบบน้ำแบบปิดพบว่าลูกหอยมีอัตราการตายสูง ถึงแม้ว่าจะมีการใช้ดินโคลนจากธรรมชาติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขาดการถ่ายเทของน้ำ มีการสะสมของของเสียเกิดขึ้นเนื่องจากเป็นระบบปิด การอนุบาลลูกหอยแครงในสภาพโรงเพาะฟักจำเป็นต้องใช้ระบบน้ำไหลผ่านตลอด อย่างไรก็ตามก็จะทำให้ต้นทุนสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อลูกหอยแครงมีขนาดโตกว่า 5 มิลลิเมตร ควรเอาไปอนุบาลในแปลงธรรมชาติน่าจะมีความเหมาะสมมากกว่า อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องดังกล่าวในอนาคตต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

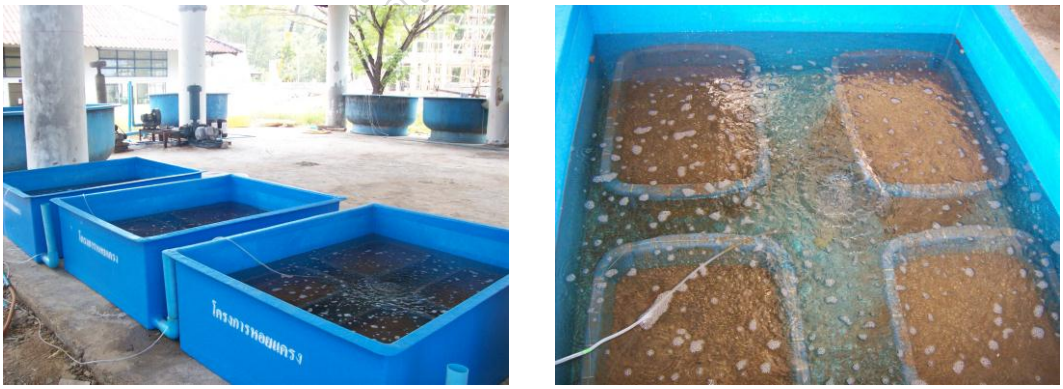
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ แอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครง

1. 1. การเตรียมพ่อแม่พันธุ์หอยแครง

นำพ่อแม่พันธุ์หอยแครงขนาด ความยาวลำตัวระหว่าง 22.19-39.64 มิลลิเมตร ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์ชายฝั่งจังหวัดสมุทรสงคราม มาเลี้ยงในระบบขุนพ่อแม่พันธุ์ (Broodstock conditioning) แบบกึ่งปิด (Semi-closed system) โดยถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1,260 ลิตร (กว้าง 120 เซนติเมตร × ยาว 150 เซนติเมตร × ลึก 70 เซนติเมตร) จำนวน 3 ถัง (ภาพที่ 1) ใช้อัตราความหนาแน่น 80 ตัว/ตารางเมตร ใช้ระดับความเค็ม 30 ppt ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% ทุกวัน พร้อมกับมีการเติมอาหารสาหร่ายเซลล์เดียวชนิด *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetraselmis suecica* ให้เป็นอาหารในอัตรา 6% ต่อมิลลิกรัมของหอยแครง (น้ำหนักแห้งของสาหร่าย/น้ำหนักแห้งของเนื้อหอยแครง) ทำการเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์ๆละ 10 ตัว/ถัง เพื่อนำไปศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์

จากการศึกษาอัตราส่วนเพศของหอยแครงที่นำมาทดลอง โดยกรรมวิธีทางไมโครเทคนิค โดยใช้ตัวอย่างหอยแครงจำนวน 104 ตัว มีความยาวเปลือก 26.40-38.50 มิลลิเมตร โดยมีความยาวเฉลี่ย 30.51±2.64 มิลลิเมตร แยกเป็นหอยเพศผู้ 44 ตัวและหอยเพศเมีย 60 ตัว คิดเป็นอัตราส่วนเพศของหอยเพศผู้ : หอยเพศเมีย เท่ากับ 0.73: 1



ภาพ 1 ระบบขุนพ่อแม่พันธุ์หอยแครง

1.2. การศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์

เทคนิคการศึกษาระยะของการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ในครั้งนี้ ทำการศึกษาโดยนำเอาพ่อแม่พันธุ์หอยแครงที่เก็บตามข้อ 1 มาเปิดฝาผ่าตัดเอาอวัยวะเพศมาชั่งน้ำหนักแล้วเก็บรักษาในน้ำยาฟอร์มาลิน 10% นำชิ้นเนื้อของอวัยวะสืบพันธุ์มาศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาการ โดยอาศัยวิธี

จุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (Histological technique) โดยตัดเอาชิ้นเนื้อของอวัยวะสืบพันธุ์ส่วนกลางมาผ่านกระบวนการพาราฟินเทคนิคแล้วตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 6 μm ย้อมสีด้วย Mayer's haematoxylin และ Eosin Y (Broom, 1983) จากนั้นนำเอาแผ่นเนื้อเยื่อที่ได้มาเตรียมบนแผ่นสไลด์ก่อนนำมาส่องดูเพศและการเปลี่ยนแปลงทางเนื่อเยื่อของเซลล์สืบพันธุ์ในระยะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกับถ่ายภาพบันทึกไว้

1.3 การศึกษาพัฒนาการของแอมบริโอ

นำเอาพ่อแม่พันธุ์ที่มีการเจริญพันธุ์อย่างเต็มที่จาก ศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์ชายฝั่งจังหวัดสมุทรสงคราม ใส่ลงในถาดสำหรับเหนี่ยวนำ กระตุ้นให้เกิดการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์โดยการใช้เทคนิคการกระตุ้นโดยใช้การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ เมื่อพ่อแม่พันธุ์มีการปล่อยไข่และสเปิร์ม ให้แยกเพศผู้และเพศเมียใส่ภาชนะที่เตรียมไว้ (ภาชนะ 1 ใบ / หอย 1 ตัว) เมื่อมีการปล่อยไข่และสเปิร์มสมบูรณ์ นำไข่และสเปิร์มมาผสมกันในสัดส่วนตัวผู้ต่อตัวเมีย 1 : 4 จากนั้นตรวจสอบการพัฒนาของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกับบันทึกภาพและเวลาของพัฒนาการในแต่ละระยะ

1.4 การศึกษาพัฒนาการของตัวอ่อน

ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่และปล่อยน้ำเชื้อ เมื่อไข่และสเปิร์มผสมกัน ไข่ที่ได้รับการผสมจะถูกฟักในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร อัตราความหนาแน่น 15 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยน้ำที่ใช้ในการฟักและอนุบาลจะกรองผ่านวัสดุกรองขนาด 1 μm และผ่านการฆ่าเชื้อด้วย UV ไข่ที่ได้รับการผสมจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ D larvae จากนั้นจะลดความหนาแน่นในการอนุบาลมาอยู่ที่ 5 larvae ต่อมิลลิลิตร มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดถังอนุบาลทุกๆ 2 วัน มีการเติมยาปฏิชีวนะควบคุมทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ในแต่ละช่วงของการเปลี่ยนถ่ายน้ำจะมีการคัดขนาดของลูกหอยโดยใช้ผ้ากรอง ลูกหอยในระยะ D larvae จะให้อาหารทุกวันโดยใช้ *Isochrysis galbana* ในอัตราความหนาแน่น 20,000 เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อลูกหอยมีขนาดโตกว่า 100 μm จะให้อาหารผสมระหว่าง *Isochrysis galbana* และ *Chaetoceros calcitrans* ทุกวันและปรับปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดไม่เกิน 50,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (คเชนทร, 2544) จนลูกหอยพัฒนาเข้าสู่ระยะ pediveliger stage เริ่มมีกระบวนการ metamorphosis เกิดขึ้น บันทึกภาพและเวลาของพัฒนาการของตัวอ่อนในแต่ละระยะภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. การศึกษาการขุนพ่อ-แม่พันธุ์หอยแครงภายใต้โรงเพาะฟัก

2.1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำหอยแครงขนาดความยาวลำตัวระหว่าง 22.19-39.64 มิลลิเมตร มีน้ำหนักตัวระหว่าง 7.52-43.80 กรัม ไปเลี้ยงแบบธรรมชาติในบริเวณหาดโคลนของพื้นที่คลองสิเกา อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง เป็นระยะเวลา 3 เดือน พื้นที่ที่มีลักษณะเป็นโคลน เมื่อน้ำลงต่ำสุดจะมีการโผล่แห้งในช่วงของน้ำเกิด เป็น

พื้นที่ที่ได้รับอิทธิพลการขึ้นลงของน้ำวันละ 2 ครั้ง หลังจากที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน ได้เก็บตัวอย่างหอยมาเลี้ยงในโรงเพาะฟัก โดยการนำหอยมาใส่ในตะกร้าที่มีโคลนจากธรรมชาติ ถังละ 4 ใบ ในแต่ละตะกร้าได้ใส่หอยแครงจำนวน 25 ตัว ให้แพลงก์ตอนพืชผสมระหว่าง *Chaetoceros calcitrans* และ *Tetracelmis* sp. ที่ผ่านการเลี้ยงมาเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้แสงปกติเป็นอาหาร โดยให้วันละครั้งๆละ 10 ลิตร เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกสัปดาห์ เก็บตัวอย่างหอยแครงเมื่อเริ่มต้นการศึกษาและทุกๆ 10 วันเป็นเวลา 1 เดือน โดยตัวอย่างที่เก็บในแต่ละครั้งได้นำมารักษาสภาพในน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

2.2 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

นำตัวอย่างหอยที่รักษาสภาพไว้ในน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 5% นาน 72 ชั่วโมง แยกเอาเฉพาะตัวอย่างเนื้อหอยบริเวณตอนกลางของลำตัวมาขจัดน้ำด้วยแอทธานอลที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างๆ กันจากน้อยไปหามาก แล้วแช่ในไซลีนเพื่อฝังในพาราฟิน ก่อนนำไปตัดชิ้นเนื้อที่ขนาดความหนา 6 ไมครอน แล้วย้อมสีด้วยสีย้อม Mayer's hematoxylin และ eosin แล้วจัดทำเป็นสไลด์ถาวร การจำแนกระยะการพัฒนาอวัยวะการสืบพันธุ์ของหอยตลับได้ดัดแปลงจากการศึกษาในหอยสองฝาของ Ropes (1968), Baron (1992) และ Suwanjarat *et al*. (2009) การพิจารณาลักษณะการเปลี่ยนแปลงอวัยวะการสืบพันธุ์ของหอยแครงที่ศึกษาในครั้งนี้ ได้อาศัยลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้และเพศเมีย ตามที่มีรายงานการศึกษาอวัยวะสืบพันธุ์ที่เกี่ยวกับหอยสองฝาได้แก่ Ortiz-Zarragoitia and Cajaraville (2010) และ Suárez *et al*. (2005)

3. การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดการวางไข่

นำพ่อแม่พันธุ์ที่ต้องการนำมาเพาะพันธุ์มีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ก็สามารถนำมากระตุ้นให้วางไข่ และปล่อยน้ำเชื้อตามธรรมชาติได้ โดยคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีการเจริญพันธุ์เต็มที่จำนวน 250 ตัว ขัดทำความสะอาดบริเวณเปลือกและจุ่มในน้ำจืดประมาณ 1-2 นาที เพื่อกำจัดปรสิตบริเวณเปลือกหอย นำพ่อแม่พันธุ์วางในกระบะสำหรับการกระตุ้น โดยใช้เทคนิคการกระตุ้น 2 วิธีด้วยกัน คือ

1. วิธีการปล่อยแห้ง
2. วิธีการใช้อุณหภูมิ

4. การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยอ่อน (larvae)

ทำการกระตุ้นโดยวิธีการใช้อุณหภูมิ เมื่อหอยมีการปล่อยไข่และสเปิร์มออกมาแล้วทำการแยกเพศผู้และเพศเมีย โดยหยิบตัวที่ปล่อยไข่ออกมาแล้วจุ่มในน้ำเค็มที่สะอาดอีกครั้งเพื่อเป็นการทำความสะอาดอีกครั้ง แล้วนำไปวางใส่กะละมัง 1 ตัว/ 1 ใบ เมื่อพ่อแม่พันธุ์หอยปล่อยไข่และสเปิร์มเสร็จแล้ว นำไข่

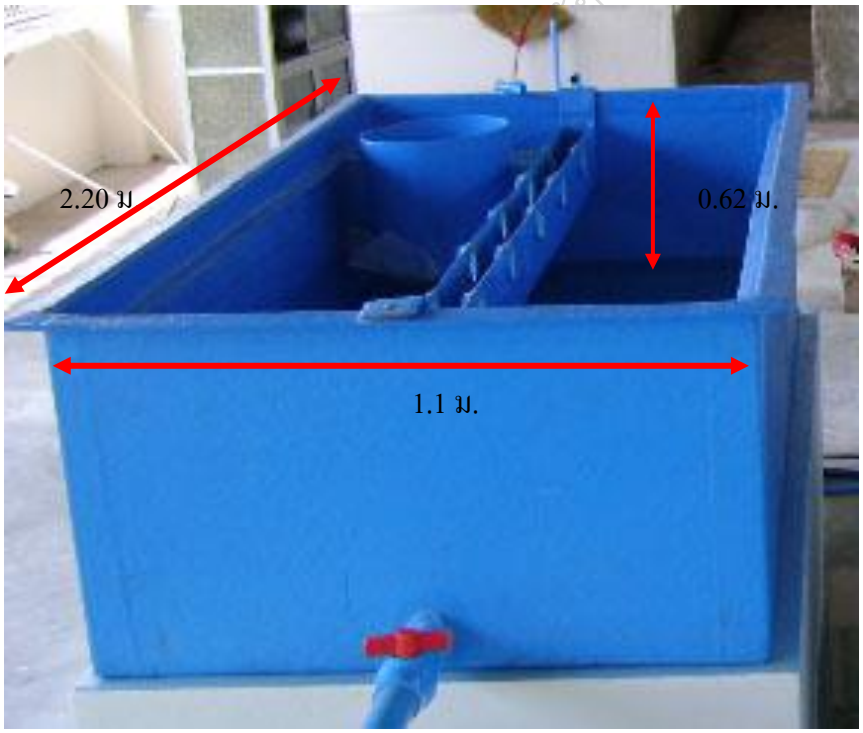
มากรองเศษขยะออกด้วยผ้ากรองขนาด 30/45 µm ใส่ถังที่มีปริมาตร 50 ลิตร สุ่มนับไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อเช็คอัตราส่วนสเปิร์ม : ไข่ ให้ได้อัตราส่วน 6: 1 ปล่อยทิ้งไว้ 10-20 นาที แล้วนำถังไข่ลูกหอยเทลงในถัง 1 ตัน ให้ความหนาแน่นของไข่ 10-20 ฟองต่อมิลลิลิตร ใส่ยาปฏิชีวนะ Streptomycin และ Neomycin ความเข้มข้น 5 ppm ให้อากาศเบาๆ บันทึกชนิดและปริมาณอาหารที่ให้จนลูกหอยเข้าระยะ Eye-larvae จึงนำไปเกาะในระบบลงเกาะต่อไป

5. การศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการลงเกาะของลูกหอยและการอนุบาล

ระบบบ่อสำหรับลงเกาะและอนุบาลลูกหอยแครงวัยอ่อน ประกอบไปด้วย

5.1 ถังไฟเบอร์กลาส (Fiberglass tank)

ทำด้วยไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 1,500 ลิตร (กว้าง 1.10 เมตร ยาว 2.20 เมตร ลึก 0.62 เมตร) มีทางน้ำออกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 นิ้วพร้อมวาวล์เปิดปิดอยู่ด้านล่างเพื่อปล่อยน้ำทิ้งและล้างทำความสะอาด ดังแสดงในภาพที่ 2

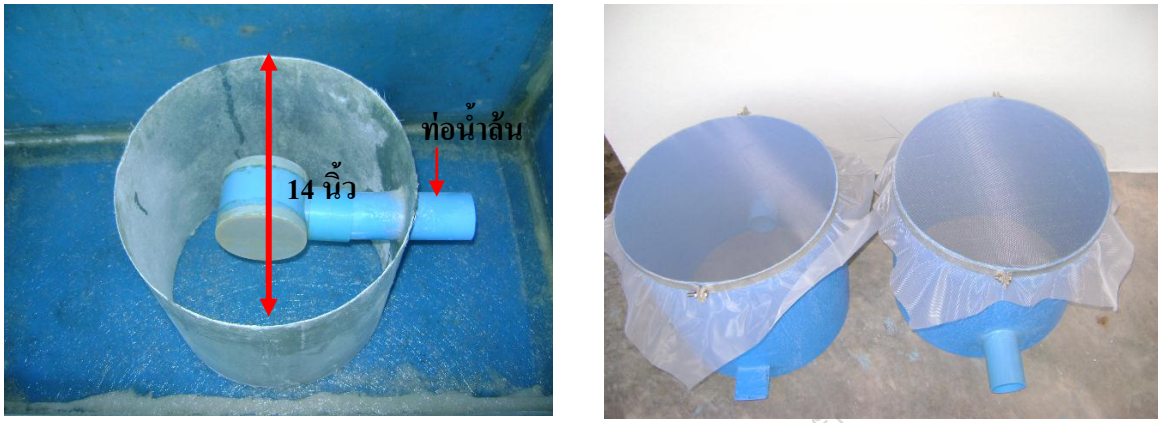


ภาพที่ 2. ถังไฟเบอร์กลาสสำหรับติดตั้งถังลงเกาะ

5.2. ถังลงเกาะลูกหอย (Setting tank)

ทำด้วยไฟเบอร์กลาสรูปทรงกระบอก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 40 เซนติเมตร และความยาว 30 เซนติเมตร มีท่อน้ำล้นทำด้วยท่อพีวีซีขนาด 2 นิ้วอยู่ห่างจากขอบด้านบน 10 เซนติเมตร

(ภาพที่ 3) ด้านล่างของถังลงเกาะจะปิดด้วยผ้ากรอง (Screen) ที่มีขนาดช่องตาแตกต่างกัน 2 ขนาด คือ 200 µm และ 400 µm ขึ้นอยู่กับขนาดของลูกหอยในช่วงอนุบาลภายหลังการลงเกาะ โดยในถังไฟเบอร์กลาสจะสามารถติดตั้งอยู่ในถังลงเกาะลูกหอยได้ทั้งหมด 10 ชุด

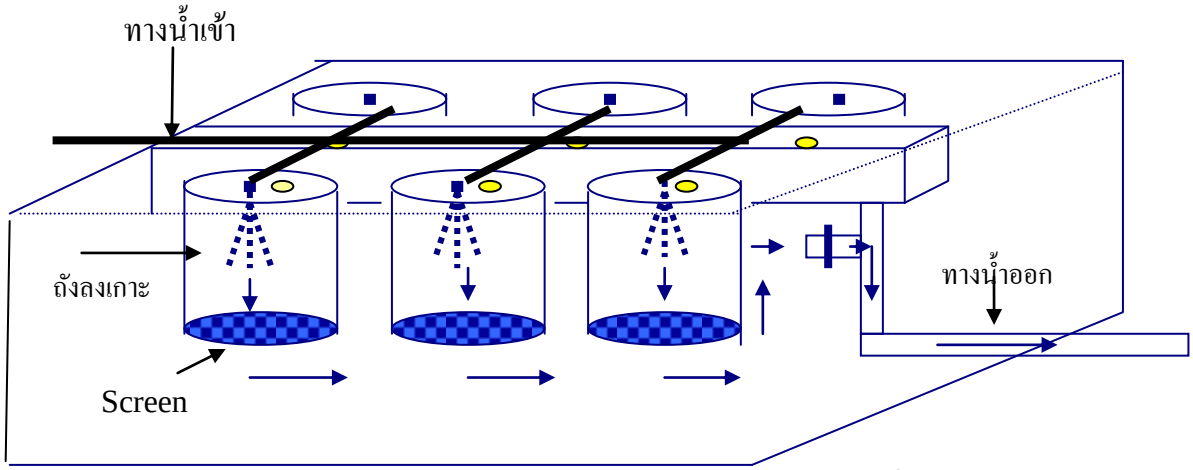


ภาพที่ 3 ถังลงเกาะลูกหอย

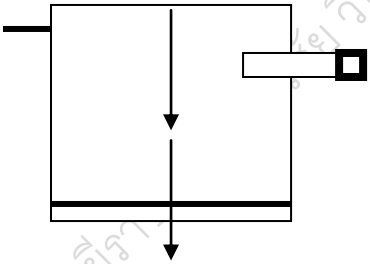
5.3. ระบบน้ำ (Water system)

5.3.1 ระยะก่อนลงเกาะ (Pre-settling)

ระบบน้ำในช่วงระยะก่อนลงเกาะ จะใช้ระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิด (Closed recirculation system) โดยน้ำทะเลที่เก็บในถังเก็บน้ำขนาด 1 ตัน จะถูกสูบเข้าสู่ระบบโดยใช้ปั๊มน้ำแบบจุ่ม โดยจะมีการปล่อยน้ำเข้าสู่ระบบแบบ Down-welling (ดังแสดงในภาพที่ 4-6) มีการเติมแพลงก์ตอนพืชชนิด *Chaetoceros calcitran* และ *Isochrysis galbana* ลงในถังเก็บน้ำเพื่อเป็นอาหารสำหรับลูกหอย โดยจะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันในช่วงที่ลูกหอยยังลงเกาะไม่หมด ในแต่ละถังลงเกาะจะควบคุมอัตราการไหลของน้ำลงสู่ถังลงเกาะในอัตราไม่เกิน 1-1.5 ลิตร/นาที



ภาพที่ 4 แสดงกลไกการไหลเวียนของน้ำของถังเพาะเลี้ยงลูกหอยแครง แบบ Down-welling

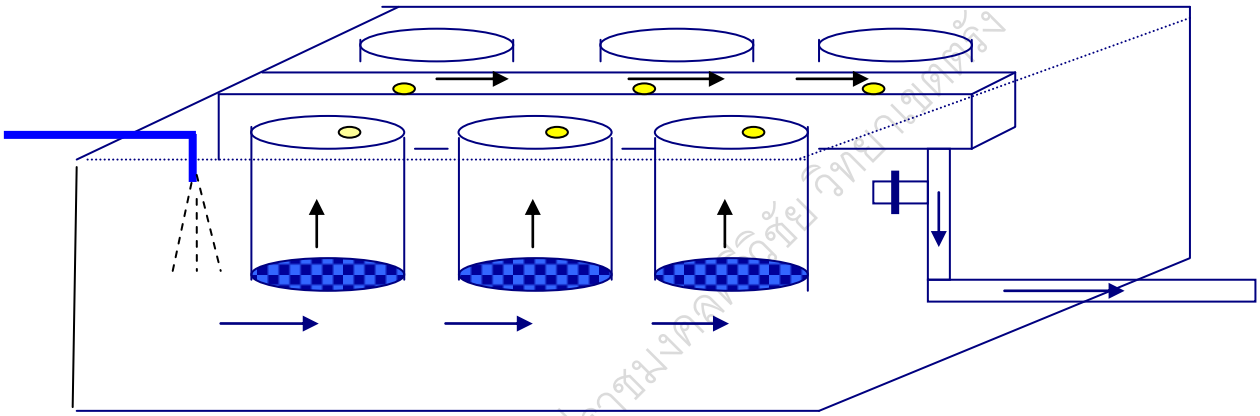


ภาพที่ 5 แสดงทิศทางการไหลระบบ Down-welling ของถังลงเกาะลูกหอย

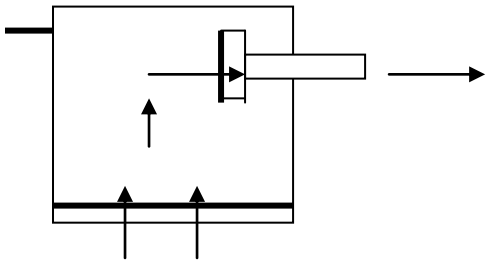
ภาพที่ 6 แสดงการทำงานจริงของระบบแบบ Down-welling ในช่วงก่อนลูกหอยลงเกาะ

5.3.2 ระยะหลังการลงเกาะ (Post-setting)

เมื่อลูกหอยแครงลงเกาะในถังลงเกาะหมดแล้ว ระบบน้ำในถังลงเกาะก็จะปรับเปลี่ยนเป็นระบบ Upwelling โดยน้ำทะเลที่ใช้ในระบบ จะใช้น้ำที่สูบจากทะเลมาเก็บไว้ในถังพักน้ำขนาด30 ลูกบาศก์เมตร มีระดับความสูงจากพื้นดิน 4 เมตร เพื่อลดปริมาณสารแขวนลอยและเพิ่มปริมาณแพลงก์ตอนพืชซึ่งเป็นอาหารธรรมชาติสำคัญในการอนุบาลลูกหอยแครงภายหลังระยะลงเกาะ น้ำทะเลจะถูกปล่อยเข้าสู่ระบบจะเป็นแบบไหลผ่านตลอด (Flow through system) ในช่วงนี้จะควบคุมอัตราการไหลของน้ำออกจากถังลงเกาะในอัตรา 8-10 ลิตร/นาที ดังแสดงในภาพที่ 7-9



ภาพที่ 7 แสดงกลไกการไหลเวียนของน้ำของถังเพาะเลี้ยงลูกหอยแครง แบบ Upwelling



ภาพที่ 8 แสดงทิศทางการไหลระบบ Upwelling ของถังลงเกาะลูกหอย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตสงขลา

ภาพที่ 9 แสดงการทำงานจริงของระบบแบบ Upwelling ในช่วงหลังลูกหอยลงเกาะ

5.4 การนำลูกหอยลงเกาะ

ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อระบบอนุบาลและอุปกรณ์ต่างๆ โดยใช้คลอรีนและล้างทิ้งไว้ให้แห้ง ทำการประกอบชุดอนุบาลลูกหอยเข้ากับระบบอนุบาล และเปิดน้ำเข้าสู่บ่ออนุบาล ใส่วัสดุสำหรับลูกหอยลงเกาะให้กระจายทั่วพื้นถังที่ทำด้วยผ้ากรองในอัตรา 100 กรัม/ถัง แช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน โดยไม่ต้องให้ระบบน้ำหมุนเวียนเพื่อปรับสภาพ นำลูกหอย ระยะ eye spot ที่ได้จากการอนุบาลมาการปรับสภาพก่อนใส่ในถังอนุบาล โดยในการศึกษาในครั้งนี้ใช้ลูกหอยในอัตราความหนาแน่นต่างกัน เพื่อหาระดับความหนาแน่นที่เหมาะสม เปิดระบบหมุนเวียนน้ำแบบ Downwelling โดยการเปิดน้ำไหลผ่านในระดับต่าง ๆ กัน หลังจากปล่อยลูกหอยลงอนุบาลแล้ว 48 ชั่วโมง เพื่อหาระดับการไหลของน้ำที่เหมาะสมตรวจเช็คการลงเกาะลูกหอยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เมื่อลูกหอยลงเกาะหมดแล้ว เปลี่ยนระบบการหมุนเวียนน้ำเป็นแบบ Upwelling เมื่อลูกหอยโตขึ้นก็จะเปลี่ยนผ้าปิดท้ายถังกรอง เพื่อหาขนาดของ Screen ที่เหมาะสมตามอายุของลูกหอย ทำความสะอาดลูกหอยขณะอนุบาลจะกระทำโดยถ่ายน้ำออกให้หมดแล้วใช้น้ำจืดฉีดล้างตะกอนสิ่งสกปรก วันละ 1 ครั้ง แล้วเปิดน้ำผ่านตามปกติ เมื่อลูกหอยมีขนาดโตขึ้น ความหนาแน่นมากขึ้นทำให้ตะกอนและสิ่งสกปรกที่เกิดจากการกรองเพิ่มมากขึ้น จึงต้องทำความสะอาดวันละ 2 ครั้ง

6. การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ด

เมื่อลูกหอยแครงผ่านการอนุบาลในระบบโรงเพาะฟักตามวิธีการที่เหมาะสมตามข้อ 5 แล้ว จนเข้าสู่ระยะวัยเกล็ด ในระยะนี้ก็ต้องนำมาอนุบาล โดยจะทำการศึกษาโดยจำลองสภาพเหมือนธรรมชาติ ทำการใส่โคลนลงบนภาชนะทดลองในระดับความหนาที่แตกต่างกัน ทำการสุ่มวัดอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายเป็นระยะ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

สรุปผลการศึกษา

1. พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครงสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ระยะ คือ ระยะเริ่มการพัฒนา ระยะกำลังพัฒนา ระยะสมบูรณ์เพศ ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และระยะหลังปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

2. พัฒนาการของแอมบริโอและตัวอ่อน พบว่าสามารถพัฒนาจากไข่ที่ได้รับการผสมไปจนถึงระยะลงเกาะใช้ระยะเวลา 18-21 วัน

3. ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครง (*Anadara granosa*) เมื่อนำมาเลี้ยงในโรงเพาะฟักพบลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ที่หยุดการพัฒนาที่ชัดเจน โดยการหยุดการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียจะสังเกตได้ง่ายกว่าและใช้เวลาเร็วกว่าในเพศผู้ การนำพ่อแม่พันธุ์หอยแครงมาเลี้ยงเพื่อขุนเป็นพ่อแม่พันธุ์ในโรงเพาะฟักจึงจำเป็นต้องปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมและให้อาหารที่เพียงพอต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยจึงจะได้พ่อแม่พันธุ์ที่พร้อมสำหรับการผสมพันธุ์

4. วิธีการใช้อุณหภูมิ สามารถกระตุ้นให้หอยแครงเกิดการวางไข่มากที่สุด

5. ความเค็มมีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนลูกหอยแครง โดยพบว่าที่ระดับความเค็มต่ำกว่า 30 ppt ลูกหอยในระยะ D-shape มีการพัฒนาผิดปกติ 100 % และไม่สามารถพัฒนาต่อได้ ระดับความเค็มที่เหมาะสมในการอนุบาลคือ 35 ppt.

6. ลูกหอยในระยะ D-shape การให้สาหร่ายเซลล์เดียว *Isochrysis galbana* จะเหมาะสมที่สุด เมื่อลูกหอยพัฒนาขึ้นเข้าสู่ระยะ Umbo จำเป็นต้องให้อาหารที่มีขนาดโตขึ้น คือ *Chaetoceros calcitrans* ซึ่งมีขนาด 10 ไมครอน แต่ต้องค่อยๆ ปรับสัดส่วนโดยค่อยๆ ลดปริมาณ *I. galbana* และเพิ่ม *C. calcitrans*

7. การอนุบาลลูกหอยลงเกาะจะเป็น *C. calcitrans* และ *Tetraselmis suecica* ในอัตราส่วน 50 : 50

8. การอนุบาลลูกหอยแครงระยะวัยเกล็ดในสภาพโรงเพาะฟักมีสภาพไม่เหมาะสม ลูกหอยแครงมีอัตราการตายสูง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตสงขลา

ข้อเสนอแนะ

1. การเลี้ยงพ่อ-แม่พันธุ์หอยแครงในโรงเพาะฟักจำเป็นต้องใช้อาหารที่เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวเป็นอาหาร ในการเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียวจำเป็นต้องใช้ปุ๋ย เมื่อมีการนำมาให้พ่อ-แม่หอยแครงกินอาจมีปุ๋ยตกค้าง จึงจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของปุ๋ยตกค้างที่กระทบต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยแครง

2. ควรมีการศึกษาถึงอายุของพ่อ-แม่พันธุ์ของหอยแครงที่เหมาะสมสำหรับการเพาะพันธุ์ จากข้อสังเกตุหอยที่มีขนาดใหญ่ (4-5 เซนติเมตร) มักจะวางไข่ได้ดีเมื่อมีการกระตุ้น เมื่อเทียบกับขนาดที่เล็กกว่า รวมทั้งมีปริมาณของไข่มาก

3. ควรศึกษาเพิ่มเติมผลของการใช้ EDTA ในการปรับสภาพน้ำต่อการพัฒนาแอมบริโอและตัวอ่อนของหอยแครง

4. ควรศึกษาเปรียบเทียบถึงการอนุบาลลูกหอยแครงวัยเกล็ดในระบบธรรมชาติและระบบโรงเพาะฟักแบบน้ำไหลผ่านตลอด ทั้งในเรื่องการเจริญเติบโต อัตราการรอด รวมถึงต้นทุนการผลิตเพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจในเรื่องแหล่งอนุบาลต่อไป

5. ควรศึกษาอาหารทดแทนสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีราคาถูกกว่าในการอนุบาลลูกหอยแครงเพื่อลดต้นทุนการผลิต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลาเขตพัทลุง

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2547. **สถิติการสำรวจการเลี้ยงหอยทะเล ปี 2545 (เอกสารกรมประมง).** กลุ่มวิเคราะห์สถิติและวิจัยทรัพยากรประมง ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศทางการประมง, กรุงเทพฯ.

คมน์ ศิลปาจาร, ชนินทร์ แสงรุ่งเรือง, สุทธิโณ ลิ้มสุรัตน์ และ สมชาย ยังพลขันธ์. 2530ก. **การศึกษาชีววิทยาของหอยแครงในอ่าวทุ่งคา จังหวัดชุมพร ปี 2528** เอกสารวิชาการฉบับที่ 48/2530. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

คมน์ ศิลปาจาร, จินตนา นักระนาด และ สุทธิโณ ลิ้มสุรัตน์. 2530ข. **การเพาะพันธุ์หอยแครง** เอกสารวิชาการฉบับที่ 49/2530. สถานีประมงน้ำกร่อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สถานีประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

คเชนทร เฉลิมวัฒน์. 2544. **การเพาะเลี้ยงหอย.** สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

ถาวร ธรรมเศวต, วิรัช ภัทรภิญโญ, จินตนา นักระนาด และ คมน์ ศิลปาจาร. 2530. **ชีววิทยาของหอยแครง กรณีศึกษาจากแหล่งปล่อยพ่อแม่พันธุ์และแปลงทดลองเลี้ยงที่อ่าวสวี บ้านทุ่งคา อำภอเมือง จังหวัดชุมพร ปี 2527** เอกสารวิชาการฉบับที่ 43/2530. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สถานีประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

ทรงชัย สหวัชรินทร์ และคณะ. 2527. **ผลการทดลองเพาะพันธุ์หอยสองฝาบางชนิด.** วารสารการประมง. 37 (5) 408-417.

ธนิษฐา จงพีร์เพียร. 2530. **เพศ ฤดูการวางไข่ และพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครง (*Anadara granosa*) ในแหล่งเลี้ยงอ่าวนครศรีธรรมราช** เอกสารวิชาการฉบับที่ 38/2530. กองประมงน้ำกร่อย กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

ธนิษฐา จงพีร์เพียร, สมศักดิ์ พิภพภิญโญ, สุรางค์ ทิพย์โยธิน และ ประนอม เบ็ญจมาลย์. 2526. **อัตราส่วนเพศและพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแครง (*Anadara granosa*) ขนาดเล็ก** เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 28. กองสำรวจแหล่งประมง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

ยุทธ ฮั่นโสภา. 2534ก. **การทดลองเลี้ยงหอยแครงเป็นพ่อแม่พันธุ์** เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2534. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสตูล กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.

ยุทธ ฮั่นโสภา. 2534ข. **การศึกษาชีววิทยาบางประการของหอยแครงในแปลงเลี้ยงบริเวณอ่าวจังหวัดนครศรีธรรมราช** เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2534. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสตูล กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

สุนันท์ ทวยเจริญ, วัฒนา ภู่เจริญ และ ประนอม เบญจมาลย์. 2526. **การพัฒนาของอวัยวะเพศของหอยแครงเต็มวัยและสภาพแวดล้อมที่จังหวัดสมุทรสงครามและเพชรบุรี** เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2526. ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

Baron, J. 1992. Reproductive cycles of the bivalve molluscs, *Atactodea striata* (Gmelin), *Gafrarium tumidum* Röding and *Anadara scapha* (L.) in New Caledonia. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research** 43: 393–401.

Broom, M.J. 1983. Gonad development and spawning in *Anadara granosa* (L.) (Bivalvia: Arcidae). **Aquaculture** 30:211-219.

Da Costa, F., Darriba, S. and Martínez-Patiño, D. 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia: Pharidae). **Journal of Molluscan Studies** 74:103-109.

Dharmaraj, S., Shanmugasundaram, K. and Suja, C.P. 2004. Larval rearing and spat production of the windowpane shell *Placuna placenta.* **Aquaculture Asia** 9(2): 20-23.

Eckman, J.E., Peterson, C.H. and Cahalan, J.A. 1989. Effects of flow speed, turbulence, and orientation on growth of juvenile bay scallops *Argopecten irradians concentricus* (Say). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 132: 123–14.

Hickman, R.W., Illingworth, J., Forman, J. and Kendrick, T.H. 1999. A Pump-pot nursery system for rearing juvenile New Zealand dredge oysters *Tiostrea lutaria*. **Aquaculture Research** 30: 673–680.

Kamal, Z.M. 1986. Note on the maturation and spawning of the cockle (*Anadara granosa* L.) under culture condition, its induced spawning and larva rearing. **Paper presented in Workshop on the Biology of *Anadara granosa* 22-23 January 1986 Penang.**

Kan-no, H. 1963. Breeding of the ark *Anadara broughtoni* (Schrenk) in tank. **Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory** 23: 108-116.

Kim, J.D. and Koo, J.H. 1973. Studies on the seedling production of the ark *Anadara brough toni* (Schrenk) in tank. (1). **Bulletin of Fisheries Research and Development Agency, Korea** 11:71-78.

Malouf, R.E. and Breeze, W.B. 1977. Seasonal changes in the effects of temperature and water flow rate on the growth of juvenile Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). **Aquaculture** 12:1–13.

Manzi, J.J., Hadley, N.H. and Maddox, M.B. 1986. Seed clam, *Mercenaria mercenaria*, culture in an experimental- scale upflow nursery system. **Aquaculture** 54: 301–311.

Muschenheim, D.K. 1987. The dynamics of near-bed seston flux and suspension- feeding benthos. **Journal of Marine Research** 45: 473–496.

Ortiz-Zarragoitia, M. and Cajaraville, M.P. 2010. Intersex and oocyte atresia in a mussel population from the Biosphere's Reserve of Urdaibai (Bay of Biscay). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 73: 693-701.

Reverol, Y.M., Delgado, J.G., De Severeyn, Y.G. and Severeyn, H.J. 2004. Embrionary and larval development of the marine clam *Tivela mactroides*(Bivalvia: Veneridae) in Zulia State, Venezuela. **Revista de Biologia Tropica** 52: 903-909.

Ropes, J.W. 1968. Reproductive cycle of the surf clam, *Spisula solidissima*, in Offshore New Jersey. **Biological Bulletin** 135: 349–365.

Sahin, C., Düzgünes, E. and Okumus, I. 2006. Seasonal variations in condition index and gonadal development of the introduced blood cockle *Anadara inaequivalvis* (Bruguiere, 1789) in the Southeastern Black Sea Coast. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 6:155-163.

Suárez, M.P., Alvarez, C., Molist, P. and Juan, F.S. 2005. Particular Aspects of Gonadal Cycle and Seasonal Distribution of Gametogenesis Stages of *Mytilus galloprovincialis* culture in the estuary of Vigo. **Journal of Shellfish Research** 24(2): 531-540.

Suwanjarat, J. and Parnrong, S. 1990. Reproductive cycles of *Anadara granosa* L. in Jebilung, Satun Province. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 12:341–351.

Suwanjarat, J., Pituksalee, C. and Thongchai, S. 2009. Reproductive cycle of *Anadara granosa* at Pattani Bay and its relationship with metal concentrations in the sediments. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 31:471-479.

Swennen, C., Moolenbeek, R. G., Ruttanadakul, N.,Hobbelink, H., Dekker, H. and Hajisamae, S. 2001. **The Molluscs of the Southern Gulf of Thailand.** Biodiversity Research and Training Program, Bangkok.

Ting, Y., Kasahara, S. and Nakamura, N. 1972. An ecological study of the so-called Mogai *Anadara subcrenata* (Lischke) cultured in Kasaoka Bay. **Journal of the Faculty of Fisheries and Animal usbandry** 11: 91-110.

Utting, S.D., Millican, P.F. 1998. The role of diet in hatchery conditioning of *Pecten maximus* L.: A review. **Aquaculture** 165: 167-178.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง