ผลของการอดอาหารต่อสภาวะทางสรีระบางประการของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)

EFFECTS OF STARVATION ON SOME PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF BLACK LONG-SPINE SEA URCHIN (*Diadema setosum*)

เกรียงไกร เตชะโกสิต
KRIANGKRAI TACHAKOSIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2563
KMITL-2020-AG-M-081-328

ผลของการอดอาหารต่อสภาวะทางสรีระบางประการของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)

EFFECTS OF STARVATION ON SOME PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF BLACK LONG-SPINE SEA URCHIN (*Diadema setosum*)

เกรียงไกร เตชะโกสิต

KRIANGKRAI TACHAKOSIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2563

KMITL-2020-AG-M-081-328

EFFECTS OF STARVATION ON SOME PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF BLACK LONG-SPINE SEA URCHIN (*Diadema setosum*)

KRIANGKRAI TACHAKOSIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2563

KMITL-2020-AG-M-081-328

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการอดอาหารต่อสภาวะทางสรีระบางประการของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)
นักศึกษา	ว่าที่ ร.ต.เกรียงไกร เตชะโกสิต
รหัสประจำตัว	59604028
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.มณฑล แก่นมณี

บทคัดย่อ

เม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เป็นสัตว์พื้นทะเลที่พบได้ทั่วไปในทะเลเขตร้อนถือเป็น keystone species ในระบบนิเวศแนวปะการัง มีการคาดการณ์ว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศจะทำให้อุณหภูมิน้ำทะเลและความเป็นกรดของน้ำทะเลเพิ่มขึ้น ปรากฏการณ์ดังกล่าวอาจทำให้ความหลากชนิดและปริมาณสาหร่ายทะเลซึ่งเป็นอาหารหลักของเม่นทะเลลดลง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการให้อาหารในที่น้อยกว่าค่าเฉลี่ยของการบริโภคในสภาวะปกติต่อสภาวะในการดำรงชีวิตบางประการซึ่งประกอบด้วยการลดลงของน้ำหนักตัว ดัชนีร่างกาย ดัชนีความสมบูรณ์เพศ ไตรกลีเซอรอลในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และอัตราการเมตาบอลิซึมในเม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) การทดลองทำในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 12 สัปดาห์โดยใส่เม่นทะเลหน่วยทดลองละ 3 ตัวลงในถังพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 52×36×30 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำ 37 ลิตร แต่ละชุดการทดลองให้อาหารในปริมาณต่างๆดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 สาหร่ายทะเล *Padina australis* 3 กรัม + สาหร่ายทะเล *Sargassum polycystum* 3 กรัม + แผ่นกระเบื้องดินเผาขนาด 11x11 เซนติเมตร ที่มีสาหร่ายเคลือบหรือ biofilm ตามธรรมชาติ 1 แผ่น ต่อสัปดาห์ ชุดการทดลองที่ 2 สาหร่ายทะเล *P. australis* 6 กรัม + สาหร่ายทะเล *S. polycystum* 6 กรัม + แผ่นกระเบื้องดินเผาขนาด 11×11 เซนติเมตร ที่มีสาหร่ายเคลือบหรือ biofilm ตามธรรมชาติ 2 แผ่น ต่อสัปดาห์ ชุดการทดลองที่ สาหร่ายทะเล *P. australis* 9 กรัม + สาหร่ายทะเล *S. polycystum* 9 กรัม + แผ่นกระเบื้องดินเผาขนาด 11×11 เซนติเมตร ที่มีสาหร่ายเคลือบหรือ biofilm ตามธรรมชาติ 3 แผ่น ต่อสัปดาห์ เมื่อครบ 12 สัปดาห์นำเม่นทะเลหนามดำมาวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนแล้วผ่าตัดนำอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ มาวิเคราะห์ดัชนีความสมบูรณ์เพศ ปริมาณไตรกลีเซอไรด์และกลีเซอรอล ผลการศึกษา

พบว่า การสูญเสียน้ำหนัก ดัชนีความสมบูรณ์เพศ และปริมาณกลีเซอรอล ลดลงในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารจากมากไปน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง การที่ดัชนีความสมบูรณ์เพศมีค่าต่ำในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารน้อย (ชุดการทดลองที่ 1) เนื่องจากในสภาวะอาหารที่ไม่เพียงพอแม่นทะเลหนามดำใช้พลังงานที่สะสมไว้ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์มาใช้ในการดำรงชีวิตซึ่งได้มาจากการสลายกลีเซอรอล อัตราการบริโภคออกซิเจนในชุดการทดลองที่ 1 สูงที่สุดสอดคล้องกับความต้องการในการใช้พลังงานเพื่อรักษาสมดุลของร่างกายรวมถึงอาจใช้สำหรับกลไกในการสร้างสารบางชนิดในสภาวะที่มีความเครียดเช่น Protein Chaperone จึงทำให้พลังงานที่สะสมไว้ในรูปกลีเซอรอลของชุดการทดลองนี้มีค่าต่ำที่สุด

Thesis	Effects of starvation on some physiological conditions of black long-spine sea urchin (*Diadema setosum*)
Student	Acting Sub Lt. Kriangkrai Tachakosit
Student ID.	59604028
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2020
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Monthon Ganmanee Ph.D.

Abstract

The black long-spine urchin, *Diadema setosum*, plays an important role as a keystone species in tropical subtidal and coral reef. Recent climate prediction have provide insight estimating that seawater temperature and acidity in tropical region will be increased. This phenomenon can cause reduces in abundance and diversity of seaweed or macroalgae which are main food sources for *Diadema*. Objective of the study is to examine effect of food limitation (lower than average feeding rate) to condition and metabolism of *D. setosum*. Using a laboratory design, responses of difference food quantity to weight loss, gonad index, triglyceride and free glyceride of the sea urchin were tested. Each experimental unit, three *D. setosum* were placed in 52×36×30 cm. rectangular plastic tank, filled with 37 l static seawater system and fed with one of three experimental treatments: (1) 3 g. of seaweed *Padina australis* + 3 g. of seaweed *Sargassum polycystum* + 1 of 11x11 cm. tile coated with turf algal or bilofilm per week (Low) (2) 6 g. of seaweed *P. australis* + 6 g. of seaweed *S. polycystum* + 2 of 11×11 cm. tiles coated with turf algal or bilofilm per week (Med) and (3) 9 g. of seaweed *P. australis* + 9 g. of seaweed *S. polycystum* + 9 of 11×11 cm. tiles coated with turf algal or bilofilm per week (High). After 12 weeks, *D. setosum* from each experimental unit were measured oxygen consumption in respirometer chamber in static condition. Then, gonads were dissected for triacylglyceride and free glycerol analysis. Although no statistical difference between treatments, weight loss, body index, gonad index and free glycerol tend to decrease from High to Low food quantity treatment. Trend towards lower Gonad Index with

lower food supply because the gonads are used for storage of energy reserves whilst free glycerol should be an available energy source for *D. setosum*. Therefore, there is a trend towards a relationship between food availability and energy availability. Metabolic rate also showed the same trend, highest in the treatment fed lowest food quantity. Sea urchins in the treatment were more stresses because they were likely to producing protective compounds and mechanisms (e.g. protein chaperones). This also means that they are using more energy, thus the lower available energy in the form of free glycerol.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.มณฑล แก่นมณี เป็นอย่างยิ่งที่ท่านสละเวลา กรุณามาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาซึ่งท่านได้ อบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำ และได้แสดงความคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผศ.ดร.อนัญญา เจริญพรนิพัทธ ผศ.ดร. ปวีณา ทวีกิจการและ ดร.วัลย์ลดา กลางนุรักษ์ ที่ให้คำปรึกษา ตลอดจนสอบถามความก้าวหน้าในการทำงาน ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จ

ขอขอบคุณ Assoc. Prof. Dr. Bayden Russell และ Jake Dytnerski จาก School of Biological Science, University of Hong Kong สำหรับความช่วยเหลือในการทำการทดลองและการให้คำแนะนำในการทำเล่มวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ อ.แขวลี วิบูลกิจ และน้องๆ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งการทำงานทดลองและ การใช้ชีวิตประจำวันขณะที่ทำงานทดลองอยู่ที่ จ.ชุมพร

ขอบคุณ น.ส.กิตติ์ธัญญา รังสีพัฒนกรณ์และ น.ส.ปิยธิดา อุณหคงคา ที่คอยให้คำปรึกษาและ ช่วยเหลือด้านต่างๆตลอดการทำงาน

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดาที่สนับสนุนการศึกษาและ ค่อยผลักดันให้สำเร็จการศึกษา จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

เกรียงไกร เตชะโกสิต

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... III

กิตติกรรมประกาศ..... V

สารบัญ..... VI

สารบัญตาราง..... IX

สารบัญภาพ..... XI

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาของปัญหา..... 2

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 3

1.4 ระยะเวลาดำเนินงาน..... 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 ลักษณะทั่วไป..... 4

2.1.1 การแพร่กระจาย..... 4

2.2 ชีววิทยาการสืบพันธุ์..... 5

2.3 พฤติกรรมการกินอาหาร..... 10

2.4 กรดไขมันภายในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์..... 12

2.4.1 ไขมันหรือลิพิด..... 12

2.4.2 ไขมัน และน้ำมัน..... 13

2.4.3 กรดไขมัน..... 13

2.4.4 ผลของอาหารต่อกรดไขมัน..... 18

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 อัตราการหายใจ..... 23

2.5.1 การศึกษากระบวนการทางชีวพลังงาน..... 23

2.5.2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการใช้ออกซิเจน..... 23

2.5.2.2 อาหาร..... 24

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 26

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... 30

3.1.1 อุปกรณ์..... 30

3.1.2 สารเคมี..... 30

3.2 การเตรียมการทดลอง..... 31

3.2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง..... 31

3.2.2 การเตรียมถังเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำ..... 31

3.2.3 การเตรียมอาหารสำหรับเม่นทะเลหนามดำ..... 32

3.2.4 การเตรียมระบบสำหรับวัดการบริโภคออกซิเจน..... 32

3.2.5 การเตรียมเม่นทะเลหนามดำเพื่อใช้ในการทดแทน..... 32

3.3 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณอาหารต่อสภาพในการดำรงชีวิตของเม่นทะเลหนามดำ (การทดลองช่วงที่ 1)..... 33

3.3.1 การวิเคราะห์สภาพการดำรงชีวิตของเม่นทะเลหนามดำ..... 35

3.3.2 การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ และกลีเซอรรอลในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ของเม่นทะเลหนามดำ..... 36

3.4 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณอาหารต่อการบริโภคออกซิเจนของเม่นทะเลหนามดำ (การทดลองช่วงที่ 2)..... 38

3.4.1 วิธีการวิเคราะห์อัตราการใช้ออกซิเจน..... 38

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล..... 39

3.6 สถานที่ทำการวิจัย..... 39

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.7 ระยะเวลาในการทำวิจัย..... 39

บทที่ 4 ผลการศึกษา..... 40

4.1 พฤติกรรมการกินอาหาร..... 40

4.2 การสูญเสียน้ำหนัก (Weight loss)..... 40

4.3 ดัชนีร่างกาย (Body index: BI)และดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonad index:GI)..... 41

4.4 ไตรกลีเซอไรด์ และ กลีเซอรอล..... 43

4.5 อัตราการใช้ออกซิเจน..... 45

4.6 อัตราการตาย..... 46

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 48

บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 51

บรรณานุกรม..... 52

ภาคผนวก..... 57

ประวัติผู้เขียน..... 73

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	น้ำหนักแห้ง และค่าดัชนีที่เกี่ยวข้องในการทดลองความถี่ของการให้อาหารในในแม่น ทะเล *Lytechinus variegatus* ที่ก่อนและหลังการทดลอง.....	9
2.2	องค์ประกอบของกรดไขมันของแม่นทะเล *A.lixula* ที่ La Herradura.....	15
2.3	กรดไขมันของแม่นทะเล *P.lividus* ที่ La Herradura.....	16
2.4	กรดไขมันของแม่นทะเล *P.lividus* ที่Torregorda.....	17
2.5	ผลของสาหร่ายต่อกรดไขมันในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแม่นทะเล *T. gratilla*.....	18
2.6	ส่วนประกอบกรดไขมันจากไขมันทั้งหมดจากอวัยวะสร้างเซลล์ของแม่นทะเล *S.droebachiensis*.....	20
2.7	ส่วนประกอบกรดไขมันจากไขมันไม่มีขั้วจากอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแม่น ทะเล *S.droebachiensis*.....	21
2.8	ส่วนประกอบกรดไขมันจากไขมันมีขั้วจากอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแม่นทะเล *S.droebachiensis*.....	22
2.9	ปริมาณการใช้ออกซิเจนของแม่นทะเล *E.tribuloides* ที่ได้รับอาหารและถูกอดอาหาร.....	24
2.10	การบริโภคออกซิเจน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง) ในแม่นทะเล *S.droebachiensis* ทั้ง 3 ขนาด (40 กรัม (S) 65กรัม (M) และ 100กรัม (L)) (f) คือได้รับอาหาร (s) คือไม่ได้รับ อาหาร ที่อุณหภูมิต่างกัน Q_{10} จากช่วงอุณหภูมิระหว่าง 4 ถึง 14 องศาเซลเซียส.....	25
3.1	ปริมาณอาหารที่แม่นทะเลหนามดำได้รับ.....	32
3.2	การจัดเตรียม Triglyceride Standard.....	36
3.3	การเตรียมส่วนผสมในการทำปฏิกิริยา.....	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้าที่

4.1 อัตราการตายของเม่นทะเล (*Diadema setosum*) หลังสิ้นสุด การทดลองการได้รับอาหารในปริมาณต่างๆ เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์..... 47

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แผนทีการกระจายตัวเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*).....	5
2.2	อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)	6
3.1	แผนผังสรุปรายละเอียดการทดลอง.....	26
3.2	แผนผังสรุปรายละเอียดการทดลองช่วงที่ 1.....	28
3.3	แผนผังสรุปรายละเอียดการทดลองช่วงที่ 2.....	29
3.4	แผนภาพการจัดเรียงถังในการทดลอง.....	31
3.5	ไดอะแกรมระบบสำหรับวัดการบริโภคออกซิเจน.....	33
3.6	ไดอะแกรมและภาพถ่ายหน่วยทดลองสำหรับเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำ.....	34
4.1	อัตราการสูญเสียน้ำหนักของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์	41
4.2	ดัชนีร่างกาย (Body index) ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และเม่นทะเลในช่วงก่อนเริ่มการทดลอง (Start)สัปดาห์.....	42
4.3	ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Body index) ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้าที่

4.4 ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์..... 44

4.5 ปริมาณกลีเซอรอลในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์..... 45

4.6 อัตราการใช้ออกซิเจนหลังสิ้นสุดการทดลองการได้รับอาหารในปริมาณต่างๆ ที่ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียสในเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์..... 46

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เป็นสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่แพร่กระจายอยู่ทั่วไปบริเวณเขตร้อนและกึ่งร้อนของชายฝั่งมหาสมุทรอินเดียตั้งแต่ด้านตะวันออกของทวีปแอฟริกา ทะเลแดง อ่าวเบงกอล ทะเลอันดามัน และทางด้านตะวันตกของแปซิฟิกตั้งแต่ประเทศญี่ปุ่นถึงทวีปออสเตรเลีย (Bronstein et al, 2017) เม่นทะเลชนิดนี้อาศัยอยู่ตั้งแต่เขตน้ำลงต่ำสุดจนถึงความลึกประมาณ 70 เมตร มักมีพฤติกรรมอยู่รวมกันเป็นกลุ่มตามพื้นทราย พื้นหิน แนวปะการัง (Pawson, 1978) กินอาหารแบบครูดหรือขูดแทะ (grazer) จึงไม่สามารถเลือกชนิดของอาหารที่กินได้โดยตรง (opportunistic feeder) เม่นทะเลในสกุล *Diadema* ถือเป็น keystone species ที่มีบทบาทสำคัญต่อโครงสร้างระบบนิเวศพื้นทะเลน้ำตื้นโดยเฉพาะแนวปะการังเม่นทะเลจะเป็นผู้ควบคุมสมดุลระหว่างปะการังและสาหร่าย การขูดแทะสาหร่ายที่ปกคลุมพื้นหิน (hard substrata) ในแนวปะการังช่วยให้ปะการังแข็งสามารถแก่งแย่งพื้นที่อาศัยและเติบโต (competition for space) กับสาหร่ายได้ดีขึ้น การลดพื้นที่ปกคลุมของสาหร่ายจากเม่นทะเลยังช่วยเพิ่มพื้นที่การลงเกาะของตัวอ่อนปะการังที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Ishikawa et al., 2016) การขูดแทะพื้นหินปูนที่เป็นโครงสร้างปะการังแข็งของเม่นทะเลทำให้เกิดการสึกกร่อน (bioerosion) ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการหมุนเวียนแคลเซียมไอออนในระบบนิเวศแนวปะการังอีกด้วย

ปริมาณอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเลซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็น (Geise, 1959; Boolotian, 1966; Sastry, 1975) รวมถึงเม่นทะเล (Stephen, 1972; Cochran and Engelmann, 1975; Lemire and Himmelman, 1996) มีการศึกษาพบว่าปริมาณอาหารมีผลต่อระดับพลังงานที่สะสมในตัวและขนาดของเซลล์สืบพันธุ์ รวมถึงการเจริญเติบโตและระยะเวลาที่ทำให้เม่นทะเลเริ่มสมบูรณ์เพศพร้อมสืบพันธุ์ในเม่นทะเล (Garrido and Barber, 2001) อัตราการเมตาบอลิซึมซึ่งวัดทางอ้อมจากอัตราการบริโภคออกซิเจน (oxygen consumption) จะแปรผันโดยตรงกับอุณหภูมิ ส่วนในเม่นทะเลชนิด *Strongylocentrotus droebachiensis* ในสภาวะที่ขาดอาหารอัตราการบริโภคออกซิเจนจะลดลง ร้อยละ 50 จากสภาวะปกติส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ลดต่ำลงด้วย (Ulbricht, 1969)

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโลก (climate change) ทำให้อุณหภูมิของน้ำทะเลมีแนวโน้มสูงขึ้น (ocean warming) และมีความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น (ocean acidification หรือ OA)

ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสมดุลและโครงสร้างของระบบนิเวศทุกแห่งในทะเลตั้งแต่ผู้ผลิตจนถึงผู้บริโภคลำดับสูงสุด (Lentz, 2017) จากการคาดการณ์ของ IPCC (2020) อุณหภูมิของน้ำทะเลเมื่อสิ้นสุดศตวรรษที่ 21 จะสูงขึ้นกว่าปัจจุบันประมาณ 1.5 – 2.0 องศาเซลเซียส ซึ่งสูงเพียงพอที่จะส่งผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตที่เป็น keystone species ในระบบนิเวศในทะเลอาทิเช่น ปะการังแข็งกลุ่ม hermatypic coral (Hughes et al. 2017) หอยสองฝาบางชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณปากแม่น้ำที่ทำหน้าที่ดูดซับโลหะหนัก ยาฆ่าแมลง ตะกอนแขวนลอย ที่มาจากแหล่งน้ำในแผ่นดิน (Kennedy, 1971) รวมถึงเม่นทะเลที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมปริมาณสาหร่ายที่ปกคลุมพื้นผิวแข็งพื้นทะเล (Clemente, 2014) ส่วนในสาหร่ายทะเลกลุ่ม macroalgae การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโลก และ ปรากฏการณ์ทะเลกรด อาจจะทำให้เกิดทั้งผลบวกและผลลบ โดยสาหร่ายทะเลบางชนิดจะมีอัตราการสังเคราะห์แสงและอัตราการเติบโตมากขึ้นเนื่องจากความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำทะเลซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจกชนิดหนึ่งเพิ่มสูงขึ้น ในขณะเดียวกันสภาวะที่น้ำทะเลที่มีความเป็นกรดสูงขึ้นก็จะส่งผลต่อกลไกการควบคุมสมดุลของกรดและเบสภายในเซลล์ของสาหร่ายทำให้สาหร่ายบางชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง โครงสร้างชุมชนของสาหร่ายพื้นทะเลในอนาคตอาจเปลี่ยนแปลงไป (Ji et al, 2016) การศึกษาผลของปริมาณสาหร่ายในธรรมชาติที่อาจลดลงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโลกต่อการตอบสนองทางสรีระของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศโดยเฉพาะกลุ่ม keystone species จึงเป็นเรื่องที่สำคัญ เนื่องจากระบบนิเวศหลายแห่งมีความสำคัญต่อมนุษย์ทั้งในด้านเศรษฐกิจและสังคม

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของปริมาณอาหารที่จำกัดต่ออัตราการสูญเสียน้ำหนัก ดัชนีความสมบูรณ์เพศ ระดับพลังงานที่สะสมในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และอัตราการเมตาบอลิซึมในเม่นทะเลหนามดำ (*D. setusum*) ซึ่งเป็น keystone species ในระบบนิเวศพื้นทะเลน้ำตื้นและระบบนิเวศแนวปะการัง โดยสมมติฐานการวิจัยคือในสภาวะอาหารจำกัดจะส่งผลต่อสภาวะทางร่างกายและอัตราการเมตาบอลิซึมของเม่นทะเลหนามดำหรือไม่อย่างไร

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

การศึกษาผลของปริมาณอาหารที่จำกัดต่ออัตราการสูญเสียน้ำหนัก ดัชนีความสมบูรณ์เพศ ระดับพลังงานที่สะสมในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และอัตราการเมตาบอลิซึม ในเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setusum*)

1.3 ขอบเขตการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาผลของปริมาณอาหารธรรมชาติที่จำกัดประกอบด้วย สาหร่ายทะเล 2 ชนิดคือ *Padina australis Sagrassum polycystum* และ biofilm ต่ออัตราการสูญเสียน้ำหนัก ดัชนีความสมบูรณ์เพศ ระดับพลังงานที่สะสมในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และอัตราการเมตาบอลิซึม ในเม่นทะเลหนามดำหนามดำ (*Diadema setosum*)

1.4 ระยะเวลาดำเนินการ

ตั้งแต่เดือนมีนาคม - สิงหาคม 2561

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงอิทธิพล ปริมาณอาหารที่จำกัดต่อสภาพในการดำรงชีวิต และการเมตาบอลิซึมของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)

2. เป็นข้อมูลอ้างอิงถึงการเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศแนวปะการังในอนาคตที่เกิดขึ้นหากเม่นทะเลหนามดำมีการเปลี่ยนแปลงไป ที่ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยที่เปลี่ยนแปลงไป

บทที่2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไป

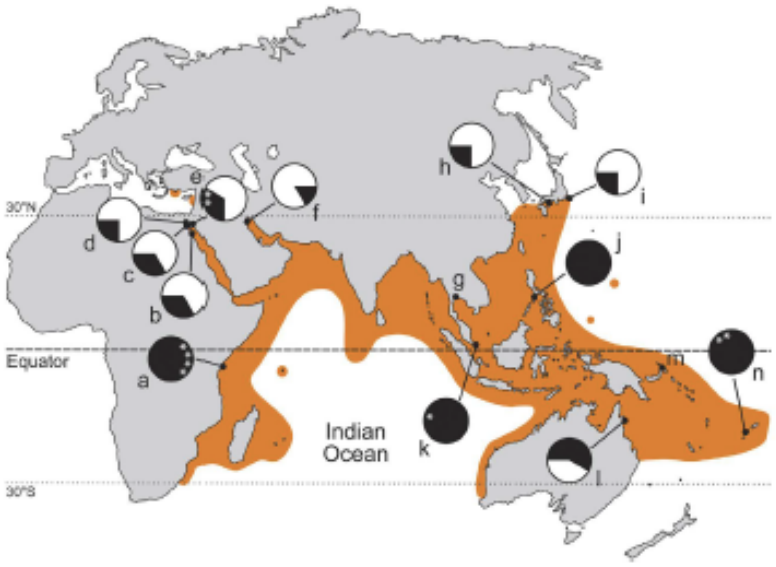
เม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum* ; Leske, 1778) เป็นสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่บริเวณพื้นทะเลที่ถือเป็น keystone species ชนิดหนึ่งของระบบนิเวศแนวปะการัง และพื้นหินน้ำตื้น สมาชิกในสกุล *Diadema* ประกอบด้วย *Diadema antillarum* PHILLIPI, 1845; *Diadema ascensionis* MORTENSON 1909; *Diadema mexicanum* A. AGASSIZ, 1863; *Diadema savignyi* MICHELIN, 1845; *Diadema setosum* LESKE, 1778; *Diadema palmeri* BAKER, 1967; *Diadema paucispinum* A. AGASSIZ, 1863 ลักษณะเฉพาะของเม่นทะเลในวงศ์นี้คือมีหนามยาวสีดำ (long black spines) *D. setosum* อาจพบอยู่ร่วมกับ *D. savigny* การจำแนกเม่นทะเลทั้งสองชนิดนี้จะพิจารณาจากสัณฐานของหนาม (spine morphology) เพดิเซลาเรีย (pedicellaria) และสีของบางตำแหน่งในตัว โดยบริเวณ anus ของ *D. setosum* จะมีวงแหวนสีส้มล้อมรอบ และจะมีจุดสีขาวห้าจุดอยู่บริเวณ interambulacral ของด้านตรงข้ามปาก (Muthiga, 2003) ในขณะที่ *D. savigny* จะมีแนวเส้นสีน้ำเงินสดระหว่างแนว interambulacral และรอบ peciproct (Pearse and Arch, 1969)

2.1.1 การแพร่กระจาย

เม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) พบแพร่กระจายทั่วไปในเขตร้อนและกึ่งร้อนบริเวณชายฝั่งมหาสมุทรอินเดีย (Mascarene Islands, East Africa, Madagascar, southeast Arabia, Red Sea, Persian Gulf, and Bay of Bengal) และทางด้านตะวันตกของแปซิฟิก (North Australia, Philippine Islands, China, south Japan, the South Pacific Islands; ภาพที่ 2.1) (Clark and Rowe, 1971) เม่นทะเลหนามดำชนิดนี้มี 2 clade คือ a และ b โดย clade b พบแพร่กระจายเข้าไปถึงในทะเลเมดิเตอร์เรเนียนคาดว่าน่าจะเกิดจากการที่ตัวอ่อนเม่นทะเลติดไปกับน้ำที่ใช้ถ่วงท้องเรือเดินสมุทรที่ผ่านจากทะเลแดงผ่านคลองสุเอซ (Bronstein et al., 2017; Bronstein and Kroh, 2018)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเม่นทะเลหนามดำประกอบด้วย ความลึก ชนิดและขนาดของตะกอนพื้นทะเล แรงกระทำของคลื่น อุณหภูมิ ความเค็มและองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตพื้นทะเล เม่นทะเลหนามดำจะอาศัยอยู่ตั้งแต่เขตน้ำลงต่ำสุดที่พื้นทะเลเป็นหิน ทราย หรือแนวปะการังจนถึงความลึกประมาณ 70 เมตร จากการวิเคราะห์ mDNA พบว่าเม่นทะเลหนามดำจะแพร่กระจายอยู่ตั้งแต่เขตน้ำลงต่ำสุดเป็นต้นไปจนถึงไหล่ทวีป (Lessios et al., 2001) (ภาพที่2.2)

บางแห่งพบพฤติกรรมอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (aggregation behavior) อาจมีความหนาแน่นสูงได้ถึง 34 ตัวต่อตารางเมตร (Muthiga and Macclanahan, 2007) สำหรับในประเทศไทยเม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) เป็นสัตว์พื้นทะเลที่พบได้ทั่วไป (common species) บริเวณชายฝั่งทะเลที่เป็นพื้นหินหรือทรายตั้งแต่เขตน้ำลงต่ำสุดเป็นต้นไป รวมถึงแนวปะการังทั้งในอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ในบางพื้นที่เม่นทะเลหนามดำเป็นสัตว์พื้นที่ขนาดใหญ่ที่เป็นชนิดเด่น (dominant species) (ทิพามาศ และ วีระชาติ, 2551; Yeemin et al., 2009)



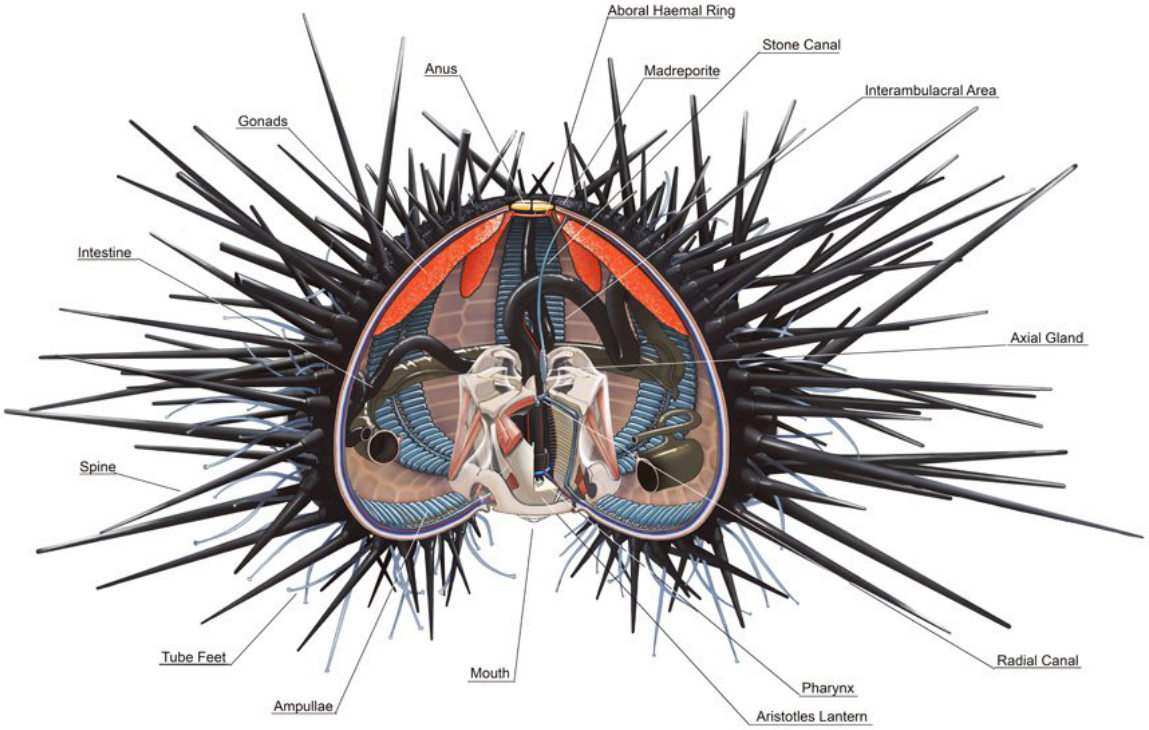
ภาพที่ 2.1 การแพร่กระจายตัวเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) ในมหาสมุทรอินเดียและเขตอินโดแปซิฟิก

ที่มา: Clark and Rowe (1971)

2.2 ชีววิทยาการสืบพันธุ์

เม่นทะเลหนามดำส่วนใหญ่มีเพศแยก โอกาสที่จะพบทั้งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในตัวเดียวกันค่อนข้างยาก (Pearse and Cameron, 1991) การสืบพันธุ์เป็นแบบภายนอก (external fertilization) คือปล่อยเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียให้ผสมกันในมวลน้ำ สัดส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียตามธรรมชาติมีค่าประมาณ 1:0.7 (Hori et al., 1987) อวัยวะเก็บเซลล์สืบพันธุ์ มี 5 ชิ้นเรียงอยู่ตามแนว interambulacral area (ภาพที่2.2) ปลายของ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ แต่ละชิ้นของด้านตรงข้ามปากจะมีท่อสั้นๆเปิดออกไปยัง gonopore (รูปล่อยเซลล์สืบพันธุ์) ที่อยู่บน genital plate ลำดับของการสร้างและพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลในสกุล *Diadema* เหมือนกับสัตว์ในกลุ่ม echinoid อื่นๆ โดยใช้เวลาตั้งแต่เริ่มสร้างเซลล์สืบพันธุ์จนกระทั่งสมบูรณ์พร้อมปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

ประมาณ 1-2 เดือน ความสำเร็จในการผสมพันธุ์ของเม่นทะเลขึ้นอยู่กับจังหวะของการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ที่สอดคล้องกันของทั้งเพศผู้และเพศเมีย (synchronous spawning) รวมถึงจำนวนของเม่นทะเลที่มารวมกลุ่มกัน (aggregation behavior) ในช่วงเวลาที่สืบพันธุ์เพื่อให้มีปริมาณสเปอร์มและไข่ในมวลน้ำที่มากพอ (Pennington, 1985)



ภาพที่ 2.2 กายวิภาคและอวัยวะภายในของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)
ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Sea_urchin#/media/File:Urchin9b.jpg

วงรอบของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ (gametogenic cycle) ของเม่นทะเลอาจมีความแตกต่างกันไปตามพื้นที่อยู่อาศัยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมหลายประการ (Muthiga and Macclanahan, 2007) ซึ่งประกอบด้วยอุณหภูมิน้ำทะเล (Pearse, 1968) ช่วงเวลาของกลางวันและกลางคืน (Hernandez et al., 2011) น้ำขึ้นน้ำลง (Coppard and Campbell, 2005) ปริมาณอาหาร (Garrido et al., 2000) และข้างขึ้นข้างแรม (Iliffe and Pearse, 1982)

Engelmann (1975) อธิบายว่าการพัฒนาของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเล *Stronglocentrotus droebachiensis* และ *S. purpuratus* สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำตามฤดูกาล และอาจเป็นปัจจัยในการควบคุมขบวนสร้างเซลล์สืบพันธุ์ด้วย การเปลี่ยนแปลงของ

อุณหภูมิน้ำส่งผลต่อขนาดอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเม่นทะเล การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เริ่มต้นในช่วงฤดูใบไม้ร่วง และสิ้นสุดในฤดูร้อนเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ในเม่นทะเลชนิด *Paracentrotus lividus* การพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ เริ่มต้นในช่วงเดือนที่หนาวที่สุด และเมื่ออุณหภูมิน้ำเพิ่มสูงขึ้น อาจทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Byrne, 1990)

ในสภาวะที่มีอาหารอย่างเพียงพอและคุณภาพสูง เม่นทะเลจะมีขนาดและน้ำหนักเพิ่มขึ้น รวมถึงสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ดี (Meidel and Scheibling, 1999) เม่นทะเลที่กินอาหารที่มีโปรตีนจากสัตว์หรืออาหารสำเร็จรูปมักมีไขมันและพลังงานสูงกว่าเม่นทะเลที่กินเพียงสาหร่ายแต่เพียงอย่างเดียว (Mcbride et al., 1997) พลังงานส่วนเกินที่ได้รับจากการกินอาหารถูกเก็บไว้ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเล และถูกนำมาใช้ในกระบวนการสืบพันธุ์

Minor and Scheibling (1997) ทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณอาหารและ การกินอาหารต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของเม่นทะเลชนิด *Strogylocentrotus drobachiensis* ประกอบด้วย (1) ได้รับปริมาณอาหารมากอย่างต่อเนื่องคือเม่นทะเลได้กินอาหารตลอด 24 สัปดาห์ (2) ได้รับปริมาณอาหารต่ำอย่างต่อเนื่องโดยเม่นทะเลได้กินอาหาร 1 วันต่อสัปดาห์ (3) ได้รับปริมาณอาหารจากมากไปน้อย โดยได้รับปริมาณอาหารมากใน 12 สัปดาห์แรก และได้รับปริมาณอาหารต่ำในอีก 12 สัปดาห์หลัง (4) ได้รับอาหารน้อยไปมาก โดยได้รับปริมาณอาหารน้อยใน 12สัปดาห์แรก และได้รับปริมาณอาหารมากในอีก 12 สัปดาห์หลัง พบว่าใน 6 สัปดาห์แรกของการทดลอง เม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารมาก มีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศที่สูงกว่าเม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่น้ำหนักและ ขนาดตัวแตกต่างกัน เมื่อสิ้นสุดของการทดลองพบว่า เม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารมากหรือเม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารมากไปน้อย มีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ น้ำหนักและ ขนาดตัวสูงกว่า เม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารน้อยตลอดการทดลองหรือเม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารจากมากไปน้อยอย่างมีนัยสำคัญสถิติ

Meidel and Scheibling (1999) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของชนิดและปริมาณของอาหาร ต่อการสืบพันธุ์และ การเจริญเติบโตของเม่นทะเลชนิด *S.droebachiensis* การทดลองแบ่งออกเป็น ชุดการทดลองที่ 1 เม่นทะเลจะได้รับสาหร่าย *Laminaria longicruris* และ *L.digitata* 6 วันต่อสัปดาห์และ หอยแมลงภู่สด (*Mytilus edulis* และ *M. trossulus*) 1 วันต่อสัปดาห์ ชุดการทดลองที่ 2 เม่นทะเลได้รับสาหร่าย *L.longicruris* และ *L.digitata* ตลอด 7 วันต่อสัปดาห์(ปริมารอาหารมากที่สุด) ชุดการทดลองที่ 3 เม่นทะเลได้รับสาหร่าย *L.longicruris* และ *L.digitata* 1 วันต่อสัปดาห์ (ปริมาณอาหารน้อยที่สุด) ชุดการทดลองที่ 4 ไม่มีการให้อาหารนอกจาก coralline algae เพียงอย่างเดียว ผลการทดลองพบว่า เม่นทะเลที่ได้รับสาหร่าย *L.longicruris* และ *L.digitata* และ หอยแมลงภู่

สดมีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศสูงที่สุด เม่นทะเลที่ไม่ได้รับอาหารเนื้อเยื่อของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ไม่มีการพัฒนาจากการตรวจสอบครั้งแรก ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของเพศผู้และ เพศเมียไม่มีความแตกต่างกัน แต่ในการตรวจสอบครั้งที่สองเพศเมียมีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เส้นผ่านศูนย์กลางลำตัวเพิ่มขึ้นมากสุดในชุดการทดลองที่ 1 เพิ่มขึ้น 34 มิลลิเมตร แต่ในชุดทดลองที่ 4 พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางมีขนาดลดลง 0.6 มิลลิเมตร

Scheilbling and Anthony (2001) ศึกษาการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และการรอดของเม่นทะเล *Strongylocentrotus droebachiensis* ต่ออาหารที่เป็นสาหร่ายเพียงชนิดเดียวและ สาหร่ายสองชนิดร่วมกัน (*Codium* หรือ *Laminaria)* และอาหารสำเร็จรูป ผลการศึกษาพบว่าการตายของเม่นทะเลที่ได้รับสาหร่าย *Laminaria* และอาหารสำเร็จรูปมีการตายลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง การรอดของเม่นทะเลที่ได้รับสาหร่าย *Codium* ลดลงอย่างต่อเนื่องเหลือ ร้อยละ 87 เส้นผ่านศูนย์กลางลำตัวเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลองประมาณ 4 มม. ในช่วง 2 เดือนแรก ขนาดของเม่นทะเลคงที่ตลอดช่วงฤดูร้อน และลดลงเล็กน้อยในช่วงฤดูหนาว เม่นทะเลที่ได้รับ สาหร่าย *Codium* มีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศน้อยกว่าเม่นทะเลที่ได้รับสาหร่าย *Laminaria* หรือที่ได้รับสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของเม่นทะเลที่ได้รับสาหร่าย *Codium* ไม่มีการเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นเพราะส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่ายชนิดต่างๆ

Lawrence et al. (2003) ทำการศึกษาผลของความถี่ในการให้อาหารต่อการกินอาหาร การผลิตเซลล์สืบพันธุ์ของ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ในเม่นทะเลชนิด *Lytechinus variegatus* ประกอบด้วย 3 ชุดการทดลองคือ ได้รับอาหารทุกวัน ทุก 2 วันและ ทุก 4 วัน ตลอดระยะเวลาการทดลอง 28 วัน พบว่าอัตราการกินอาหารมีความคล้ายกันในช่วงสัปดาห์แรก แต่ยังคงสูงสำหรับเม่นทะเลที่ได้รับอาหารทุก 2และ 4 วัน ในทางตรงกันข้ามชุดทดลองที่ได้รับอาหารตลอดจะมีอัตราการกินลดลง เม่นทะเลที่ได้รับอาหารทุกวันมีการขนาดตัว และค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญมากกว่าเม่นทะเลที่ได้รับอาหาร ทุก 2 และ 4 วัน (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 น้ำหนักแห้ง และค่าดัชนีที่เกี่ยวข้องในการทดลองความถี่ของการให้อาหารในในเม่นทะเล *Lytechinus variegatus* ระยะเวลาการทดลอง 28 วัน

Body compartment	Beginning of experiment	End of experiment		
		Fed every day	Fed one 1 day every 2 days	Fed 1 day every 4 days
Dry weight (g)				
Test and spines	12.29±0.89 A	15.62±1.02 A	14.40±1.01 A	13.57±0.71 A
Gut	0.211±0.014 A	0.37±0.03 B	0.26±0.02 A	0.22±0.02 A
Gonads	0.524±0.101 A	1.63±0.20 B	0.92±0.13 A	0.66±0.09 A
Aristotle's lantern	1.60±0.124 A	1.86±0.16 A	1.71±0.13 A	1.58±0.10 A
Index				
Test and spines	84.1±0.7 B	80.1±1.3 A	83.1±1.1 AB	84.6±0.8 B
Gut	1.5±0.1 A	1.9±0.1 B	1.5±0.1 A	1.4±0.1 A
Gonads	3.6±0.6 A	8.4±1.0 B	5.4±0.8 A	4.1±0.5 A
Aristotle's lantern	10.9±0.3 A	9.5±0.6 A	10.0±0.6 A	9.9±0.4 A

Mean±S.E. Means in a row with different letters in any 4-day period are significantly different. Statistics are in the text.

ที่มา: Lawrence et al. (2003)

Pearce et al. (2004) ศึกษาผลของขนาดตัวเริ่มต้นและอาหารต่อขนาดอวัยวะสืบพันธุ์ของเม่นทะเล *S. droebachiensis* แบ่งกลุ่มเม่นทะเลจำนวน 8 กลุ่มตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว อาหารที่ได้รับแบ่งออกเป็นได้อาหารสำเร็จรูป และสาหร่าย *Laminaria longicruris* และ/หรือ *L. digitata* พบว่าการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เมื่อสิ้นทุดการทดลอง ค่าเฉลี่ยของดัชนีความสมบูรณ์เพศของเม่นทะเลที่ได้รับอาหารทั้ง 8 กลุ่มมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 5.9±0.4 การเปลี่ยนแปลงดัชนีความสมบูรณ์เพศตลอด 6 สัปดาห์ของเม่นทะเลที่ได้รับอาหาร 8 กลุ่มอยู่ในช่วง ร้อยละ 68.8±4.9 อาหารและขนาดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงร้อยละการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และทั้ง 2 ปัจจัยมีอิทธิพลต่อกันและกัน น้ำหนักของ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ เท่ากับ 1.2±0.2 กรัม ค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตลอด 6 สัปดาห์อยู่ในช่วง ร้อยละ 79.9±4.5

Poorbagher et al. (2010) ทดลองผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของเม่นทะเล *Pseudechinus huttoni* อาหารที่ใช้ในการทดลองคือสาหร่าย *Macrocystis pyrifera* และหอยสองฝาชนิด *Austrovenus stutchburyi* การทดลองแบ่งออกเป็น กลุ่มที่ได้อาหารน้อยคือได้รับสาหร่ายอย่างไม่จำกัดเป็นเวลา 4 วันต่อสัปดาห์ หลังจากนั้นทำการนำอาหารออก ให้ไม่มีอาหารอยู่ภายในถัง 3วันที่เหลือ และกลุ่มที่ได้รับอาหารปริมาณสูง (ทั้งสาหร่ายและหอยแครง) สาหร่ายได้รับ

ตลอด 7 วัน ส่วนหอยแครงได้รับครึ่งตัวต่อตัวเม่นทะเลใน 1 สัปดาห์ ทำการทดลองเป็นเวลา 1 ปี พบว่าเพศเมียค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยยสำคัญทางสถิติ ชุดทดลองที่ได้ปริมาณอาหารมากที่สุด มีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศสูง gut index และ test index มีค่ามากที่สุดในเม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารมากที่สุด แต่ค่า lantern index มีค่ามากที่สุดในเม่นทะเลที่ได้รับปริมาณอาหารน้อยที่สุด

Kalam et al. (2011) ทำการศึกษาผลของอาหารและอุณหภูมิต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลชนิด *Strongylocentrotus purpuratus* ทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์ การทดลองมี 3 อุณหภูมิ 8 12 และ 16 องศาเซลเซียส และ อาหาร 4 ชนิดประกอบด้วยสาหร่าย 3 ชนิด สาหร่าย Macrocystis *integrifolia* สาหร่าย *Nereocystis luetkeana* และ สาหร่าย *Saccharina latissima* และอาหารสำเร็จรูป พบว่าน้ำหนักอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพิ่มสูงกว่ากลุ่มได้รับสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 12 และ 16 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ระยะเวลาการสร้างและปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลในสกุล *Diadema* แตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่อาศัย ตัวอย่างเช่นเม่นทะเลหนามดำชนิด *D. antillarum* ในเกาะ Virgin Island และ Curacao สามารถสืบพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี (Randal et al, 1964) ในขณะที่แถบชายฝั่ง Bermuda และ south Florida มีการสืบพันธุ์ตามฤดูกาล ส่วนเม่นทะเลหนามดำชนิด *D. setosum* ก็อาจมีการสืบพันธุ์ได้ตลอดทั้งปีและตามฤดูกาล โดยกลุ่มที่อาศัยในชายฝั่งประเทศเคนยาสามารถสืบพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี (Muthiga, 2003) ส่วนกลุ่มที่อาศัยอยู่ในอ่าว Suez และ Aqaba ในทะเลแดงมีการสืบพันธุ์ตามฤดูกาลในช่วงฤดูร้อน (Bronstein et al 2016) สำหรับในประเทศไทยจากรายงานของ Kobayashi (1996) เม่นทะเลชนิด *D. setosum* ทั้งในอ่าวไทย (เกาะสีชัง) และทะเลอันดามัน (ภูเก็ต) ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงรอยต่อของฤดูหนาวและฤดูร้อน โดยมีความสัมพันธ์กับช่วงข้างขึ้นข้างแรมทางจันทรคติ

2.3 พฤติกรรมการกินอาหาร

เม่นทะเลกินอาหารโดยใช้ฟันเรียกว่า Aristotle's lantern มีลักษณะเป็นแผ่นหินปูนปลายแหลมชิ้นเล็กๆ 5 ชิ้นอยู่รวมกันในช่องปากเพื่อใช้ในการขูดแทะ การขูดแทะนี้ทำให้ฟันของเม่นทะเลสึกกร่อนแต่ก็สามารถงอกขึ้นใหม่เพื่อทดแทนซี่ที่เสียหายได้ เม่นทะเลในสกุล *Diadema* จัดเป็น omnivorous grazer และ detritus feeder (Pearse, 1970) เนื่องจากเม่นทะเลกลุ่มนี้ไม่สามารถเลือกชนิดของอาหารที่กินได้โดยตรงดังนั้นจึงจัดให้มันอยู่ในกลุ่มของ opportunistic feeder จากการศึกษาชนิดของอาหารที่พบในกระเพาะของเม่นทะเลจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของอาหารที่

เม่นทะเลได้จากการขูดแทะตามธรรมชาติ จากการศึกษาอาหารที่พบในกระเพาะอาหารของเม่นทะเลหนามดำชนิด *D. setosum* ในแนวปะการังของประเทศเคนย่าพบเศษชิ้นส่วนปะการังแข็ง ร้อยละ 48-52 สาหร่าย ร้อยละ 20 และชิ้นส่วนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ร้อยละ 2 (Mcclanahan, 1988) หากพื้นทะเลเป็นพื้นหินแข็งปกคลุมด้วยสาหร่ายเคลือบผิว coralline algae และไบโอฟิล์ม ก็จะพบสิ่งดังกล่าวในกระเพาะอาหารมากที่สุดเช่นกัน (Masil, 2012) สำหรับเม่นทะเลที่รวมกลุ่มอยู่ตามพื้นทรายก็จะกินอินทรียสารที่อยู่ตามพื้นทรายเป็นอาหารทำให้สามารถพบเศษทรายของในกระเพาะของเม่นทะเลได้มาก โดย นฤมล (2555) รายงานว่าอาหารที่พบในกระเพาะของเม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) ที่รวบรวมจากหาดบ่อเมา อ.ปะทิว จ.ชุมพร จะพบทรายและเศษอินทรียสารเป็นหลัก

เม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) ที่อาศัยในแนวปะการังจัดเป็นสัตว์หน้าดินที่เป็น keystone species ในการควบคุมสมดุลการเจริญเติบโตของสาหร่ายและปะการังแข็ง จากการศึกษาของ Ishikawa et al. (2016) พบว่าเม่นทะเลหนามดำชนิดนี้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Sargassum* spp. โดยจะทำให้ร้อยละการปกคลุมของสาหร่ายลดลงเมื่อเม่นทะเลมีความหนาแน่นมากกว่า 2 ตัวต่อตารางเมตรขึ้นไป ในแนวปะการังเม่นทะเลมักมีการแก่งแย่งแข่งขันในการกินอาหารกับปลาในแนวปะการังที่มีพฤติกรรมการกินอาหารแบบเดียวกัน ในพื้นที่ที่เม่นทะเลตายจากโรคระบาดหรือการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจากปรากฏการณ์ El nino ทำให้พื้นที่การปกคลุมของสาหร่ายและประชากรปลาที่กินพืช (herbivorous fishes) ที่กินอาหารโดยการขูดแทะเพิ่มขึ้น Robertson (1991) รายงานว่าประชากรปลานกขุนทอง ปลาขี้ตังเบ็ด เพิ่มขึ้นเกือบ ร้อยละ 250 หลังจากที่เม่นทะเลหนามดำชนิด *D. antillarum* ในทะเลแคริบเบียนตายลงจากโรคระบาดระหว่างปี 1983-1984

พฤติกรรมการกินอาหารโดยขูดแทะของเม่นทะเลบนพื้นผิวแข็งสามารถทำให้บริเวณดังกล่าวเกิดการสึกกร่อนทางชีวภาพ (bioerosion) ได้ ซึ่งหากเกิดขึ้นในแนวปะการังจะมีส่วนทำให้การหมุนเวียนของแคลเซียมไอออนในแนวปะการังเกิดได้มากขึ้น จากการศึกษาของ Dumont et al. (2013) พบว่าเม่นทะเลหนามดำ *D. setosum* ในเขตปกครองพิเศษฮ่องกงนอกจากจะมีส่วนในการควบคุมการปกคลุมของสาหร่ายในแนวปะการังแล้วยังเป็นตัวการทำให้เกิดการสึกกร่อนทางชีวภาพของปะการังแข็งอีกด้วย โดยเฉพาะปะการังชนิดที่มีโครงร่างเป็นรูพรุน (porous) และเป็นชนิดเด่นในแนวปะการังทั่วไปเช่นในสกุล *Porites* เป็นต้น

2.4 กรดไขมันภายในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์

2.4.1 ไขมันหรือลิพิด

ไขมันหรือลิพิดเป็นสารอินทรีย์ที่พบในสิ่งมีชีวิต เป็นสารที่ไม่ละลายแต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เบนซิน ไขมันประกอบไปด้วยธาตุหลักคือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน หรือมีส่วนประกอบของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส โดยส่วนใหญ่เป็นสารประกอบ ประเภทเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล

ลิพิดมีหลายชนิดและโครงสร้างแตกต่างกันไป แบ่งออกเป็น 4 ประเภท คือลิพิดธรรมดา (Simple lipid) ลิพิดประกอบ (Compound lipid) อนุพันธ์ลิพิด (Derived lipid) และลิพิดเบ็ดเตล็ด (Miscellaneous lipid)

(1) ลิพิดธรรมดา (Simple lipid) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ เช่น ไขมันแท้ เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล เรียกว่า กลีเซอไรด์ (Glyceride) กลุ่ม Monoglyceride และ Diglyceride เป็นสารที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยไขมันและ ในการสังเคราะห์กรดไขมัน ส่วน Triglyceride เป็นไขมันทั้งหมดที่ถูกเก็บสะสมในพืชและสัตว์ ขี้ผึ้งหรือไข (Wax) เป็นเอสเทอร์ระหว่างกรดไขมันกับมอโนไฮดรอกซีแอลกอฮอล์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 14-36 อะตอม ไขมันในสภาพปกติเป็นของแข็ง

(2) ลิพิดประกอบ (Compound lipid) ได้แก่ ไขมันธรรมดาที่มีสารอื่นมาประกอบเพิ่มขึ้นอีกส่วนหนึ่ง แบ่งเป็นชนิดย่อย ตามชนิดที่เพิ่มเข้ามาเป็นสามชนิด ได้แก่ (2.1) ฟอสโฟลิปิด หรือฟอสโฟกลีเซอไรด์ หรือ ฟอสฟาไทด์ (Phospholopid, Phosphonglyceride หรือ Phosphatide) เป็นไขมันแท้ที่ถูกแทนที่ด้วยกรดฟอสฟอริก และสารประกอบจำพวกเบสที่มีไนโตรเจนโมเลกุล เช่น Lecitin, Cephalin และ Plasmalogen (2.2) ไกลโคลิพิด (Glycolipid) หรือ เซเรโบรไซด์ (Cerobroside) ประกอบด้วยกรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต และสารประกอบพวกเบสที่มีไนโตรเจน (2.3) ไลโพโปรตีน (Lipoprotein) เป็นลิพิดที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ พบในเยื่อเซลล์พลาสมา

(3) อนุพันธ์ของลิพิด (Derived lipid) เป็นสารที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ลิพิดทั้งสองประเภทแล้ว ได้แก่ กรดไขมัน กลีเซอรอล แอลกอฮอล์ ที่มีโมเลกุลใหญ่

(4) ลิพิดเบ็ดเตล็ด (Miscellaneous lipid) ได้แก่สารประกอบที่มีคุณสมบัติคล้ายลิพิด มักรวมกันกับลิพิดธรรมชาติ เช่น สารประกอบพวกแคโรทีนเทอร์ฟีน (Terpenoio) วิตามินที่ละลายในไขมันและสเทอรอยด์ (Steroid)

2.4.2 ไขมัน และน้ำมัน

ไขมันและน้ำมันเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรีน ไขมันเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง แต่น้ำมันเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งไขมัน และน้ำมันมีส่วนประกอบทางเคมีเหมือนกันถึงแม้ว่าสมบัติทางกายภาพบางประการจะแตกต่างกัน ไขมันหรือน้ำมันจากสัตว์มีกรดไขมันอิ่มตัวอยู่มากจึงมักเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง เช่นไขมันในสัตว์ ไขมันในไข่แดง ไขมันในนม น้ำมันหมู ส่วนไขมัน และน้ำมันจากพืชมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่มากจึงเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ได้แก่ น้ำมันรำ น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่ว น้ำมันดอกทานตะวัน

2.4.3 กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในลิพิดเกือบทุกชนิด ตามปกติไม่ค่อยพบกรดไขมันอิสระในธรรมชาติ แต่อยู่เป็นส่วนประกอบสำคัญของลิพิด กรดไขมันเป็นอนุพันธ์ของลิพิด เพราะเกิดจากการสลายตัวของลิพิด เช่น ต้มลิพิดพวกกลีเซอไรด์ด้วยด่างหรือกรด หรือย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสจะได้เป็นกรดไขมัน กรดไขมันมีมากกว่า 70 ชนิดในเซลล์ต่างๆ กรดไขมันประกอบด้วยคาร์บอนเป็นโซ่ยาวเกาะกันเป็นโซ่ตรง มีหมู่ –COOH ที่ปลายมีคาร์บอนตั้งแต่ 3 อะตอม จนถึงมากกว่า 20 อะตอม กรดไขมันที่พบมากที่สุดมีคาร์บอน 16-18 อะตอม กรดไขมันมีทั้ง พันธะเดียว พันธะคู่หรือพันธะสาม ดังนั้นจึงจำแนกชนิดของกรดไขมันตามชนิดของพันธะได้เป็นสองชนิด คือ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) และกดรไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid)

กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันะเดียวในโมเลกุล มีโครงสร้างเป็นโซ่ตรง มีสูตรทั่วไป C_nH_{2n+1} COOH เช่น Butyric acid เป็นกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไขมันในเนย กรดปาล์มิติก (Palmitic acid) กรดสเตียริก (Stearic acid) พบเป็นส่วนประกอบของไขมันสัตว์ และพืชทุกชนิด

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่หรือพันธะสามในโมเลกุล พบในไขมันพืชและสัตว์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่มีโมเลกุลเป็นสายยาวไม่มีกิ่งก้าน ไม่มี –OH และไม่มีส่วนที่เป็นวงแหวนโมเลกุล มีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่บางตัวพบในพืชหรือพวก Micro organism บางชนิดเท่านั้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความจำเป็นต่อร่างกาย เพราะร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ หรืออาจสังเคราะห์เองได้แต่ไม่เพียงพอ ต้องได้รับเพิ่มจากอาหาร ดังนั้นจึงเรียกว่ากรดไขมันจำเป็น (Essential fatty acid) ส่วนไขมันที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์เองได้ เรียกว่ากรดไขมันไม่จำเป็น (nonessential fatty acid) (กุลยา, 2533)

การวิเคราะห์กรดไขมัน เป็นเครื่องมือทางนิเวศวิทยาที่มีประสิทธิภาพสำหรับการมองความสัมพันธ์ทางโภชนาการในระบบนิเวศกับสัตว์น้ำ (Lverson, 2009) อาหารส่วนใหญ่ที่แม่นทะเล

กิน อุดมไปด้วยกรดไขมัน คือกลุ่มไขมันไม่อิ่มตัว โดยไขมันเป็นส่วนที่ถูกนำมาเก็บเป็นพลังงานสำรองที่สำคัญ ที่สามารถให้พลังงานได้มากต่อหน่วย (Torreiro et al., 1998) สิ่งที่ได้จากปฏิกริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน สามารถบ่งบอก ภาวะตึงเครียดในขบวนการเมตาบอลิซึมของเม่นทะเลได้

Martínez-Pita et al. (2010) ได้ทำการศึกษา ความแตกต่างเพศของเม่นทะเล 2 ชนิดคือ *Paracentrotus lividus* และ *Arbacia lixula* ต่อกรดไขมันในพื้นที่ชายฝั่งทางตอนใต้ของสเปน ใน 2 พื้นที่คือ La Herradura และ Torregorda กรดไขมันของเพศผู้และเพศเมีย แสดงในตารางที่ 2.2, 2.3 และ 2.4 พบกรดไขมันที่คล้ายกันทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่สำคัญสามตัวทั้งในเพศผู้และเพศเมียคือ myristic (14:0), palmitic (16:0) and stearic (18:0) กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 อัน (MUFA) ทั้งหมด 7 ตัวถูกพบใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ คือ 16:1n-7, 18:1n-7, 18:1n-9, 20:1n-7, 20:1n-9, 20:1n-11 and 22:1n-9 กรดไขมันไม่อิ่มตัว 2 ชนิด (PUFA) คือ Arachidonic (20:4n-6) (ร้อยละ 10-17) และEicosapentaenoic (20:5n-3) (ร้อยละ 13-17) โดย 20:4n-6 และ20:5n-3 จะพบมากในเพศผู้มากกว่าเพศเมีย แต่กรดไขมัน 18:2n6, 18:3n-3 และ 18:4n-3 พบในเพศเมียมากที่สุด ความแตกต่างของกรดไขมันใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ระหว่างเพศผู้และเพศเมียสะท้อนถึงลักษณะเฉพาะของการเผาผลาญของเนื้อเยื่อ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และเนื่องจากกรดไขมันในเซลล์สืบพันธุ์แต่ละเพศมีความแตกต่างกันอาจส่งผลให้กรดไขมันใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ มีความแตกต่างกันในแต่ละเพศ

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของกรดไขมันของแม่นทะเล *Arbacia lixula* ที่ La Herradura

Fatty acids	Males ($n = 37$)	Females ($n = 30$)
14:0	2.0 ± 1.1	3.1 ± 0.9[a]
15:0	1.2 ± 0.4	1.6 ± 0.4[a]
16:0 DMA	0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.5
16:0	15.0 ± 1.6	17.4 ± 2.1[a]
17:0	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.2[a]
18:0 DMA	4.0 ± 1.3	3.7 ± 1.1
18:0	7.1 ± 1.8	4.2 ± 1.4[a]
20:0	1.7 ± 0.5	1.3 ± 0.4[a]
∑ saturated	27.9 ± 2.0	28.2 ± 2.6
16:1n-7	1.4 ± 0.9	3.0 ± 1.2[a]
18:1n-9	1.1 ± 0.7	1.3 ± 0.4
18:1n-7	3.0 ± 0.7	3.7 ± 0.7[a]
20:1n-11	6.8 ± 2.7	6.7 ± 1.8
20:1n-9	1.1 ± 0.4	1.4 ± 0.4[a]
20:1n-7	1.3 ± 0.4	1.2 ± 0.3
22:1n-9	4.5 ± 1.2	2.6 ± 1.1[a]
∑ monoenoic	19.3 ± 3.2	19.8 ± 1.2
18:2n-6	0.5 ± 0.3	0.9 ± 0.4[a]
18:3n-6	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.2[a]
20:2n-6	1.9 ± 0.5	1.9 ± 0.4
20:3n-6	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
20:4n-6	16.9 ± 2.8	13.8 ± 2.5[a]
22:4n-6	1.8 ± 0.2	1.6 ± 0.3
22:5n-6	0.8 ± 0.4	0.7 ± 0.4
∑ PUFA n-6	21.7 ± 2.9	18.6 ± 2.8[a]
18:3n-3	0.6 ± 0.5	1.1 ± 0.5[a]
18:4n-3	1.2 ± 0.5	1.9 ± 0.5[a]
20:3n-3	1.2 ± 0.5	1.2 ± 0.3
20:4n-3	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1[a]
20:5n-3	15.5 ± 5.0	16.3 ± 4.2
22:5n-3	0.9 ± 0.3	0.7 ± 0.2[a]
22:6n-3	1.8 ± 0.8	1.9 ± 1.4
∑ PUFA n-3	21.4 ± 5.7	23.5 ± 4.6
20:2Δ 5,11 NMID	2.7 ± 0.8	3.1 ± 0.7[a]
20:2Δ 5,13 NMID	0.4 ± 0.3	0.6 ± 0.3[a]

Values are mean percentages ± SD

n Number of samples, *DMA* dimethylacetal, *NMID* non-methylene-interrupted diene, *PUFA* polyunsaturated fatty acids

[a] $P < 0.05$ with respect to males

ที่มา : Martínez-Pita et al. (2010)

ตารางที่ 2.3 กรดไขมันของแม่นทะเล *P.lividus* ที่ La Herradura

Fatty acids	Males ($n = 51$)	Females ($n = 15$)
14:0	7.3 ± 2.0	8.5 ± 1.2[a]
15:0	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.2[a]
16:0 DMA	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1[a]
16:0	16.9 ± 2.7	17.9 ± 1.9
17:0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:0 DMA	3.9 ± 1.1	3.3 ± 0.9
18:0	3.6 ± 0.7	3.1 ± 0.5[a]
20:0	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
∑ saturated	29.9 ± 4.3	31.7 ± 2.5
16:1n-7	2.2 ± 1.0	2.9 ± 0.7[a]
18:1n-9	1.4 ± 0.6	1.6 ± 0.4
18:1n-7	2.6 ± 0.4	2.7 ± 0.3
20:1n-7	1.2 ± 0.4	0.9 ± 0.2[a]
20:1n-9	4.3 ± 0.9	3.6 ± 0.6[a]
20:1n-11	5.7 ± 1.0	5.6 ± 1.2
22:1n-9	4.3 ± 0.9	3.5 ± 0.5[a]
∑ monoenoic	21.6 ± 1.8	20.9 ± 1.0
18:2n-6	0.8 ± 0.4	1.2 ± 0.3[a]
18:3n-6	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
20:2n-6	2.0 ± 0.7	1.7 ± 0.3
20:3n-6	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1
20:4n-6	10.8 ± 2.4	10.1 ± 1.3
22:4n-6	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.2
∑ PUFA n-6	16.2 ± 2.9	15.6 ± 1.5
18:3n-3	1.1 ± 0.4	1.6 ± 0.3[a]
18:4n-3	1.2 ± 0.6	1.8 ± 0.4[a]
20:3n-3	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.3
20:4n-3	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1
20:5n-3	17.5 ± 3.2	16.5 ± 1.8
22:5n-3	0.7 ± 0.3	0.5 ± 0.1[a]
22:6n-3	1.0 ± 0.4	0.9 ± 0.3
∑ PUFA n-3	23.4 ± 3.0	23.1 ± 2.0
20:2 5,11 NMID	4.0 ± 1.2	4.2 ± 0.6
20:2 5,13 NMID	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.1

Values are mean percentages ± SD

n Number of samples, *DMA* dimethylacetal, *NMID* non-methylene-interrupted diene, *PUFA* polyunsaturated fatty acids

[a] $P < 0.05$ with respect to males

ที่มา : Martínez-Pita et al. (2010)

ตารางที่ 2.4 กรดไขมันของแม่นทะเล *P.lividus* ที่ Torregorda

Fatty acids	Males ($n = 41$)	Females ($n = 29$)
14:0	7.8 ± 2.1	8.9 ± 1.5[a]
15:0	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.3
16:0 DMA	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1[a]
16:0	16.9 ± 2.6	18.2 ± 2.1[a]
17:0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:0 DMA	4.3 ± 1.5	3.5 ± 1.2[a]
18:0	3.7 ± 0.8	3.3 ± 0.5[a]
20:0	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.1
∑ saturated	30.4 ± 3.9	32.5 ± 3.2[a]
16:1n-7	2.1 ± 1.1	2.5 ± 0.8
18:1n-9	1.4 ± 0.6	1.6 ± 0.4
18:1n-7	2.9 ± 0.6	3.1 ± 0.5
20:1n-11	5.1 ± 1.4	4.8 ± 1.3
20:1n-9	4.8 ± 1.0	5.0 ± 1.2
20:1n-7	1.0 ± 0.4	0.9 ± 0.2
22:1n-9	4.3 ± 1.2	3.7 ± 0.9[a]
∑ monoenoic	21.6 ± 2.5	21.6 ± 1.5
18:2n-6	0.9 ± 0.4	1.1 ± 0.4[a]
18:3n-6	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1
20:2n-6	2.0 ± 0.5	1.8 ± 0.4
20:3n-6	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.2
20:4n-6	12.3 ± 1.8	11.3 ± 1.9[a]
22:4n-6	1.9 ± 0.4	2.1 ± 0.5
∑ PUFA n-6	18.4 ± 2.2	17.6 ± 2.4
18:3n-3	1.2 ± 0.6	1.5 ± 0.6
18:4n-3	1.4 ± 0.7	1.7 ± 0.5
20:3n-3	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.3
20:4n-3	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2
20:5n-3	14.6 ± 4.3	13.4 ± 3.4
22:5n-3	0.5 ± 0.3	0.4 ± 0.2
22:6n-3	0.8 ± 0.4	0.7 ± 0.2
∑ PUFA n-3	20.2 ± 3.7	19.4 ± 3.0
20:2 5,11 NMID	4.1 ± 1.1	4.4 ± 1.0
20:2 5,13 NMID	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2

Values are mean percentages ± SD

n Number of samples, *DMA* dimethylacetal, *NMID* non-methylene-interrupted diene, *PUFA* polyunsaturated fatty acids

[a] $P < 0.05$ with respect to males

ที่มา : Martínez-Pita et al. (2010)

2.4.4 ผลของอาหารต่อกรดไขมัน

Floreto et al. (1996) ศึกษาผลกระทบจากสาหร่ายทะเลต่อการเจริญเติบโต ลิพิดและ กรดไขมัน ของเม่นทะเล *Tripneustes gratilla* ทำการทดลองทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง โดยใช้สาหร่ายประกอบด้วย (1.) สาหร่ายสีเขียว (*Ulva pertusa* Kjellman) (2.) สาหร่ายสีแดง (*Gloiopeltis furcate* Postels et Ruprecht) (3) .สาหร่ายสีน้ำตาล (*Undaria pinnatifida* (Harv.) Sur.) และ (4.) สาหร่ายรวม (ให้สาหร่ายทั้ง 3 ชนิดในอัตราส่วน 1:1:1) พบว่าเม่นทะเลมีอัตราการรอด ร้อยละ 100 เม่นทะเลที่กิน *Undaria* มีการเพิ่มขึ้นของเส้นผ่านศูนย์กลาง น้ำหนักตัว และ อัตราการเจริญจำเพาะมากที่สุด เม่นทะเลที่กิน *Gloiopeltis* มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด (ร้อยละ 51.5) และมากที่สุดคือเม่นทะเลที่กิน *Undaria* (ร้อยละ 80) ลิพิดทั้ง 3 คลาสแต่สาหร่ายมีผลต่อกรดไขมัน (ตารางที่ 2.5) สาหร่ายสีน้ำตาล *Undaria* มีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีสำหรับเม่นทะเล *T.gratilla* เมื่อเทียบกับสาหร่ายอีก 2 ชนิด เนื่องจากผลขององค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย เช่น ไขมัน ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและ องค์ประกอบทางชีวเคมีของเม่นทะเล

ตารางที่ 2.5 ผลของสาหร่ายต่อกรดไขมันในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเล *T. gratilla*

Fatty acid	% of total*2	Source*3	Seaweed diets*1				SEM*5
			Ulva	*Gloiopeltis*	*Undaria*	Mixed algae*4	
14:0	2.6-3.6	0.22	0.27	0.26	0.35	0.34	0.02
16:0	12.0-17.9	1.08	1.41	1.21	1.78	1.67	0.10
18:0	4.1-5.3	0.32	0.42	0.40	0.49	0.51	0.02
20:1n-11	9.8-14.8	0.86	1.02	1.00	1.29	1.18	0.05
18:3n-3	nd*6-1.3	0.05	0.10^{ab}*7	nd^{c}	0.12^{a}	0.06^{b}	0.02
16:4n-3	5.6-10.3	0.58	0.86	0.73	0.91	0.89	0.04
18:4n-3	nd-3.6	0.16	0.18^{b}	nd^{c}	0.35^{a}	0.15^{bc}	0.04
20:4n-6	6.5-20.4	1.52	0.66^{c}	1.23^{b}	2.33^{a}	1.58^{b}	0.20
20:5n-3	4.3-18.6	0.73	0.99	1.46	1.08	1.12	0.08
Σ n-3 FAs	23.1-35.1	1.73	2.77	2.24	2.77	2.45	0.15
Σ n-6 FAs	7.9-24.0	1.80	0.81^{c}	1.35^{bc}	2.76^{a}	1.86^{b}	0.23
Σ S and M*8	47.4-55.5	3.56	4.62	4.32	5.54	5.22	0.26
Σ PUFA *9	42.4-51.4	3.75	4.04^{bc}	3.92^{c}	5.91^{a}	4.70^{ab}	0.31
Σ FAs*10	100	7.49	8.78^{ab}	8.39^{b}	11.61^{a}	10.02^{ab}	0.56

*1 Scientific names: *Ulva pertusa*, *Gloiopeltis furcata*, *Undaria pinnatifida*.
*2 Range of the fatty acid as a percent of total composition.
*3 Profile of the sea urchin before the feeding experiment, n=3.
*4 Combination of the three seaweeds.
*5 Standard error of the means; n=12.
*6 Not detected.
*7 Treatments with the same letter are not significantly different at the 5% level.
*8 Total identified saturated and monounsaturated fatty acids.
*9 Total identified polyunsaturated fatty acids.
*10 Total fatty acids.

ที่มา: Floreto et al. (1996)

Fernandez (1997) ศึกษาผลของอาหารต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของเม่นทะเล *Paracentrotus lividus* ที่อยู่ภายในธรรมชาติและ ที่ถูกเลี้ยงในสภาวะที่กำหนด ประชากร 2 กลุ่มในธรรมชาติเป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารปริมาณน้อยหรือมาก และเม่นทะเลที่อยู่ภายใต้สภาวะที่กำหนดได้รับอาหารธรรมชาติและ อาหารที่สร้างขึ้น รวบรวมส่วนประกอบของร่างกาย เช่นเปลือกรวมถึงหนาม ลำไส้และ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาระดับ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน พบว่าองค์ประกอบทางชีวเคมีจากอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้ง 2 พื้นที่มีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายกัน องค์ประกอบทางชีวเคมีของเม่นทะเลที่ถูกเลี้ยงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตามชนิดของอาหารที่ได้รับ ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ระดับไขมันสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มาจากสัตว์และอาหารผสมมากกว่าอาหารชนิดอื่น คาร์โบไฮเดรตมีระดับสูงที่สุดในเม่นทะเลที่ได้รับอาหารที่เป็นพืช อาหารมีอิทธิพลต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีของลำไส้อย่างมีนัยสำคัญ ไขมันและคาร์โบไฮเดรต มีระดับที่สูงในเม่นทะเลที่กินอาหารผสมและอาหารที่มีส่วนประกอบสัตว์ ในเม่นทะเลที่เลี้ยงภายในถัง ในเดือนสิงหาคมพบ ไขมันร้อยละ 23.3 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 15.7 ในเม่นทะเลที่กินอาหารผสม และ ไขมันร้อยละ 12.4 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 10.1 ทีกินสาหร่าย *Cymodocea nodosa* อาหารมีอิทธิพลต่อเปลือกของเม่นทะเลที่เลี้ยงในสภาวะที่กำหนด พบระดับคาร์โบไฮเดรตและ/หรือ ไขมัน มีระดับที่ต่ำที่สุดในเม่นทะเลที่กิน *Cymodocea nodosa* ไขมันร้อยละ 0.4 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 0.7 ในเดือนกุมภาพันธ์ ทั้ง 2พื้นที่เม่นทะเลในธรรมชาติมีองค์ประกอบทางชีวเคมีคล้ายกัน

Pathirana et al. (2002) ได้ทำการศึกษาผลของอาหารสำเร็จรูปต่อ องค์ประกอบทางชีวเคมีของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเล *Strongylocentrotus droebachiensis* ที่ Bonavista Bay, Newfoundland พบว่ากรดไขมันของเม่นทะเลจาก ไขมันทั้งหมด ไขมันที่ไม่ละลายน้ำ และไขมันที่ละลายน้ำ แสดงในตารางที่ 2.6, 2.7และ 2.8 ตามลำดับ พบไตรกลีเซอไรด์มากในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเล กรดไขมันอิ่มตัวที่สำคัญในเม่นทะเล ได้แก่ 14:0, 16:0 และ 20:0 ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีมากกว่าร้อยละ 2 ของไขมันทั้งหมดในช่วงระหว่างการทดลอง คือ 20:4 n-6 (arachidonic acid) และ 20:5 n-3 (eicosapentaenoic acid, EPA) แต่20:5 n-3 ลดลงอย่างมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 9 สัปดาห์ ชนิดและคุณภาพอาหารส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบชีวเคมีในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 2.6 ส่วนประกอบกรดไขมันจากไขมันทั้งหมดจากอวัยวะสร้างเซลล์ของเม่นทะเล *S.droebachiensis*

Fatty acid	Week 0	Week 3	Week 6	Week 9
14:0	9.4 (0.1)a	7.2 (0.2)b	7.0 (0.1)b	6.7 (0.1)b
15:0	0.4 (0.02)a	0.4 (0.02)a	0.3 (0.1)a	0.4 (0.1)a
16:0	11.1 (0.1)a	10.3 (0.2)b	10.5 (0.2)b	10.5 (0.1)b
17:0	ND	0.2 (0.02)a	0.1 (0.03)a	0.1 (0.03)a
18:0	2.2 (0.04)a	1.8 (0.1)a	1.8 (0.04)a	1.2 (0.2)b
20:0	2.9 (0.1)a	4.9 (0.1)b	4.5 (0.03)b	4.3 (0.4)b
14:1 n-7	0.8 (0.03)a	0.8 (0.03)a	0.7 (0.04)a	0.7 (0.03)a
14:1 n-5	0.2 (0.02)a	0.2 (0.03)a	0.2 (0.03)a	0.1 (0.02)a
16:1 n-9	4.8 (0.1)ac	6.3 (0.3)b	5.2 (0.1)c	4.8 (0.1)c
16:1 n-7	1.5 (0.1)a	1.9 (0.04)b	2.0 (0.1)b	1.8 (0.1)b
16:1 n-5	0.3 (0.03)a	0.3 (0.03)a	0.3 (0.02)a	0.3 (0.03)a
18:1 n-9	1.8 (0.1)a	2.3 (0.1)b	4.3 (0.1)c	4.9 (0.1)d
18:1 n-7	3.6 (0.1)a	4.9 (0.1)b	4.0 (0.1)c	3.6 (0.1)a
18:1 n-5	0.5 (0.02)a	0.2 (0.03)b	0.2 (0.03)b	ND
20:1 n-15	7.5 (0.2)a	3.3 (0.03)b	3.4 (0.1)b	3.2 (0.1)b
20:1 n-9	4.0 (0.03)a	1.8 (0.1)b	1.5 (0.04)c	1.4 (0. 03)c
20:1 n-7	2.2 (0.1)a	3.8 (0.2)b	4.3 (0.2)bc	4.6 (0.05)c
22:1 n-11	2.9 (0.04)a	1.7 (0.1)b	0.2 (0.02)c	0.2 (0.03)c
22:1 n-9	0.4 (0.03)a	0.1 (0.03)a	1.7 (0.2)b	1.6 (0.1)b
16:2 n-6	0.5 (0.03)a	1.7 (0.03)b	1.3 (0.1)c	1.2 (0.04)c
16:4 n-6	1.9 (0.1)a	1.7 (0.1)a	1.2 (0.02)bc	1.1 (0.03)c
18:2 n-9	ND	0.1 (0.04)a	0.1 (0.02)a	0.1 (0.02)a
18:2 n-6	1.1 (0.1)a	6.5 (0.2)b	13.8 (0.2)c	15.7 (0.1)d
18:3 n-6	1.4 (0.03)a	0.6 (0.03)b	0.5 (0.1)b	0.4 (0.04)b
18:3 n-3	1.3 (0.04)a	1.2 (0.03)a	1.8 (0.1)b	1.8 (0.2)b
18:4 n-3	3.8 (0.03)a	2.4 (0.04)b	1.8 (0.1)c	1.7 (0.1)c
20:2 Δ5, 13	0.9 (0.1)a	0.4 (0.03)b	0.3 (0.03)b	0.4 (0.04)b
20:2 n - 6	1.7 (0.1)a	3.3 (0.1)b	5.0 (0.1)c	5.2 (0.1)c
20:3 n-9	ND	0.8 (0.03)a	0.9 (0.02)b	1.2 (0.04)c
20:3 Δ5, 11, 14	ND	0.2 (0.1)a	0.4 (0.1)a	0.5 (0.2)a
20:3 n-6	0.4 (0.1)a	0.75 (0.1)b	1.1 (0.1)c	1.1 (0.1)c
20:4 n-6	7.0 (0.1)a	5.8 (0.3)b	5.1 (0.2)c	5.0 (0.1)c
20:3 n-3	1.7 (0.2)a	0.8 (0.03)b	ND	ND
20:4 n-3	1.2 (0.02)a	0.6 (0.02)b	0.7 (0.1)b	1.8 (0.03)c
20:5 n-3	16.3 (0.1)a	15.0 (0.1)b	9.4 (0.2)c	8.4 (0.1)d
22:2 Δ7, 13	ND	0.3 (0.04)a	0.3 (0.03)a	0.3 (0.03)a
22:2 Δ7, 15	ND	1.3 (0.03)a	1.1 (0.03)b	1.1 (0.04)b
22:4 n-6	ND	0.5 (0.03)a	0.4 (0.03)a	0.4 (0.1)a
22:5 n-6	0.2 (0.1)a	0.3 (0.04)a	0.3 (0.03)a	0.3 (0.04)a
22:5 n-3	0.6 (0.1)a	0.4 (0.03)ab	0.3 (0.1)b	0.2 (0.03)b
22:6 n-3	1.4 (0.1)a	0.3 (0.03)b	0.2 (0.04)b	0.1 (0.1)b

Results are mean values of three replicates ± standard deviation.
Values in each row with the same letter are not significantly different ($P > 0.05$) from one another.

ที่มา: Pathirana et al. (2002)

ตารางที่ 2.7 ส่วนประกอบกรดไขมันจากไขมันไม่มีขั้วจากอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแม่นทะเล *S.droebachiensis*

Fatty acid	Week 0	Week 3	Week 6	Week 9
14:0	10.8 (0.1)a	7.3 (0.1)b	6.83 (0.16)c	6.62 (0.05)c
15:0	0.3 (0.1)a	0.7 (0.04)b	0.9 (0.1)c	0.7 (0.1)b
16:0	16.9 (0.1)a	11.7 (0.2)b	11.8 (0.1)b	11.3 (0.04)b
18:0	2.8 (0.2)a	2.2 (0.1)b	2.1 (0.1)b	2.1 (0.1)b
19:0	0.1 (0.1)a	0.1 (0.1)b	ND	0.1 (0.1)a
20:0	1.9 (0.1)a	3.3 (0.02)b	3.6 (0.4)b	3.9 (0.1)b
14:1 n-7	0.5 (0.04)a	0.9 (0.03)b	0.6 (0.04)ac	0.7 (0.04)c
14:1 n-5	0.2 (0.03)ac	0.3 (0.03)a	0.2 (0.03)ac	0.1 (0.1)c
16:1 n-11	0.7 (0.04)a	ND	ND	ND
16:1 n-9	0.9 (0.1)a	4.8 (0.1)bd	4.1 (0.1)c	4.5 (0.1)dc
16:1 n-7	2.5 (0.1)a	2.1 (0.1)b	1.9 (0.1)b	1.6 (0.02)c
16:1 n-5	0.8 (0.1)a	0.4 (0.04)b	0.3 (0.03)b	0.3 (0.03)b
18:1 n-13	ND	0.5 (0.03)a	0.4 (0.03)b	ND
18:1 n-9	2.5 (0.2)a	7.1 (0.2)b	8.0 (0.3)c	6.6 (0.2)b
18:1 n-7	2.0 (0.1)a	4.7 (0.2)b	3.6 (0.2)c	3.2 (0.1)c
18:1 n-5	0.5 (0.03)a	0.2 (0.04)b	ND	0.2 (0.04)b
20:1 n-15	8.9 (0.1)a	3.1 (0.1)bc	2.7 (0.2)b	3.4 (0.1)c
20:1 n-9	3.3 (0.1)a	1.7 (0.1)b	0.8 (0.1)c	1.1 (0. 03)d
20:1 n-7	0.7 (0.1)a	3.5 (0.1)b	2.9 (0.1)c	2.6 (0.1)d
22:1 n-11	1.6 (0.1)a	0.2 (0.1)b	0.2 (0.1)b	0.4 (0.1)b
22:1 n-9	0.3 (0.1)a	0.2 (0.1)c	1.3 (0.1)bc	1.1 (0.03)c
22:1 n-7	ND	0.1 (0.02)	ND	ND
16:2 n-6	0.4 (0.1)a	0.6 (0.1)ac	1.1 (0.04)b	0.8 (0.1)c
16:4 n-6	1.4 (0.1)a	0.7 (0.04)b	1.8 (0.1)a	0.8 (0.03)b
18:2 n-9	0.4 (0.03)a	0.5 (0.04)b	0.2 (0.04)c	0.1 (0.02)c
18:2 n-6	1.8 (0.1)a	13.8 (0.3)b	20.4 (0.4)c	22.1 (0.1)d
18:3 n-6	0.7 (0.2)a	0.6 (0.1)ab	0.3 (0.04)b	0.3 (0.03)b
18:3 n-3	2.2 (0.2)a	2.6 (0.1)a	2.5 (0.2)a	2.2 (0.03)a
18:4 n-3	1.3 (0.1)a	1.3 (0.1)a	1.1 (0.04)a	1.2 (0.1)a
20:2 Δ5, 11	1.5 (0.3)a	1.2 (0.2)a	1.3 (0.1)b	1.9 (0.1)a
20:2 Δ5, 13	0.6 (0.04)a	0.3 (0.1)b	0.3 (0.1)b	0.3 (0.03)b
20:2 n - 6	2.1 (0.1)a	3.4 (0.1)b	4.4 (0.2)c	5.7 (0.1)d
20:3 n-9	0.2 (0.04)a	0.2 (0.04)a	0.3 (0.1)ab	0.4 (0.04)b
20:3 n-6	0.7 (0.1)a	0.7 (0.04)a	0.5 (0.04)a	1.1 (0.1)b
20:4 n-6	8.5 (0.5)a	2.3 (0.4)b	2.6 (0.1)bc	3.8 (0.1)c
20:3 n-3	1.2 (0.1)a	0.8 (0.1)b	0.6 (0.1)b	0.7 (0.1)b
20:4 n-3	0.8 (0.02)a	0.7 (0.1)a	0.3 (0.02)b	0.4 (0.04)b
20:5 n-3	14.1 (0.1)a	10.8 (0.1)b	7.3 (0.14)c	4.4 (0.1)d
20:2 Δ7,13	ND	0.2 (0.03)a	1.0 (0.06)b	0.3 (0.04)a
20:2 Δ7,15	ND	0.1 (0.03)a	0.2 (0.03)a	0.8 (0.04)b
22:5 n-6	0.6 (0.03)a	0.2 (0.03)b	0.2 (0.03)b	0.3 (0.04)b
22:5 n-3	0.3 (0.04)a	0.3 (0.04)a	0.3 (0.02)a	0.2 (0.04)a
22:6 n-3	0.7 (0.16)a	1.5 (0.1)b	0.5 (0.1)a	1.5 (0.3)b

Results are mean values of three replicates ± standard deviation.
Values in each row with the same letter are not significantly different ($P > 0.05$) from one another.

ที่มา: Pathirana et al. (2002)

ตารางที่ 2.8 ส่วนประกอบกรดไขมันจากไขมันมีขั้วจากอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเล *S.droebachiensis*

Fatty acid	Week 0	Week 3	Week 6	Week 9
14:0	8.3 (0.1)a	4.5 (0.1)b	2.4 (0.1)c	2.5 (0.04)c
15:0	0.2 (0.1)a	0.5 (0.04)ab	0.5 (0.1)b	0.9 (0.04)c
16:0	14.6(0.3)a	8.2 (0.04)b	8.1 (0.1)b	5.9 (0.1)c
18:0	2.1 (0.03)a	2.5 (0.03)a	2.8 (0.4)a	2.5 (0.1)a
20:0	0.3 (0.1)a	1.1 (0.2)bc	0.8 (0.04)c	0.3 (0.1)a
14:1 n-7	0.2 (0.04)a	0.2 (0.03)a	0.3 (0.04)ac	0.4 (0.04)c
14:1 n-5	0.1 (0.02)a	0.1 (0.03)a	0.2 (0.04)a	0.1 (0.1)a
16:1 n-9	1.4 (0.1)a	2.0 (0.1)b	2.8 (0.1)c	3.2 (0.1)d
16:1 n-7	1.1(0.1)a	0.7 (0.1)b	0.5 (0.1)b	0.2 (0.04)c
16:1 n-5	ND	ND	ND	0.2 (0.03)
18:1 n-9	1.0 (0.3)a	4.5 (0.3)b	7.4 (0.3)c	5.0 (0.1)b
18:1 n-7	ND	1.5 (0.2)a	2.1 (0.1)a	2.0 (0.1)a
18:1 n-5	ND	0.2 (0.1)a	0.2 (0.1)a	0.4 (0.04)a
20:1 n-15	12.6 (0.3)a	10.8 (0.2)b	6.6 (0.1)c	7.8 (0.1)d
20:1 n-9	4.3 (0.1)a	2.4 (0.1)b	4.3 (0.04)a	6.2 (0. 03)c
20:1 n-7	1.8 (0.1)a	4.1 (0.1)b	2.8 (0.1)c	1.8 (0.1)a
22:1 n-11	3.9 (0.1)a	1.2 (0.1)b	3.8 (0.2)ac	3.4 (0.1)c
22:1 n-9	1.1 (0.1)a	1.4 (0.1)b	1.1 (0.1)a	0.2 (0.1)c
22:1 n-7	0.3 (0.03)a	ND	ND	ND
16:2 n-6	1.3 (0.03)a	3.6 (0.1)b	4.9 (0.1)c	2.5 (0.3)d
16:4 n-6	0.5 (0.02)a	0.5 (0.03)a	0.7 (0.2)a	0.4 (0.1)a
16:4 n-3	1.3 (0.1)a	ND	ND	ND
18:2 n-9	ND	ND	0.4 (0.04)a	0.4 (0.02)a
18:2 n-6	0.6 (0.04)a	9.3 (0.2)b	14.0 (0.3)c	17.2 (0.1)d
18:3 n-6	0.5 (0.1)a	0.5 (0.3)a	0.3 (0.1)a	0.2 (0.03)a
18:3 n-3	0.2 (0.04)a	0.5 (0.03)b	1.4 (0.1)c	1.7 (0.03)d
18:4 n-3	1.1 (0.1)a	0.6 (0.1)b	1.4 (0.04)c	0.7 (0.1)b
20:2 Δ5, 11	2.2 (0.1)a	0.8 (0.2)b	0.6 (0.1)b	ND
20:2 Δ5, 13	0.4 (0.1)a	0.1 (0.1)b	ND	ND
20:2 n-6	1.8 (0.1)a	4.7 (0.3)b	5.1 (0.3)bc	5.9 (0.1)c
20:3 n-9	1.3 (0.2)a	0.7 (0.2)ab	0.4 (0.1)bc	0.9 (0.04)ac
20:3 n-6	0.3 (0.03)a	0.5 (0.04)b	0.7 (0.1)b	1.3 (0.1)c
20:4 n-6	9.2 (0.2)a	9.0 (0.2)a	9.4 (0.5)a	10.7 (0.2)b
20:3 n-3	1.3 (0.1)a	0.9 (0.03)b	0.8 (0.1)b	0.9 (0.1)b
20:4 n-3	0.3 (0.02)a	0.7 (0.1)b	1.5 (0.1)c	0.8 (0.03)b
20:5 n-3	21.5 (0.2)a	17.5 (0.4)b	14.4 (0.1)c	12.5 (0.1)d
22:4 n-6	0.3 (0.02)a	ND	ND	ND
22:5 n-6	0.3 (0.03)a	ND	ND	ND
22:5 n-3	0.5 (0.04)a	0.4 (0.04)b	ND	0.3 (0.03)c
22:6 n-3	1.2 (0.1)a	1.2 (0.4)a	1.1 (0.4)a	1.2 (0.1)a

Results are mean values of three replicates ± standard deviation.
Values in each row with the same letter are not significantly different ($P > 0.05$) from one another.

ที่มา: Pathirana et al. (2002)

2.5 อัตราการหายใจ

อัตราการหายใจวัดจากอัตราการใช้ออกซิเจนซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการสลายพลังงานเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต (Schmidt-Nielsen, 1984; Burggren and Roberts, 1991; Brey, 2010)

2.5.1 การศึกษากระบวนการทางชีวพลังงาน

ชีวพลังงาน (Bioenergetics) เป็นการศึกษาความต้องการพลังงาน และการไหลเวียนของพลังงานอย่างเป็นระบบในสิ่งมีชีวิต พลังงานเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตเพื่อการดำรงชีวิต การทำงานภายในร่างกาย การเกิดกระบวนการต่างๆในร่างกายเพื่อสร้างเนื้อเยื่อใหม่ การรักษาสมดุลของเกลือแร่ และน้ำในร่างกาย การเคลื่อนที่ของอาหารในระบบย่อยอาหาร การหายใจ การสืบพันธุ์ การเคลื่อนไหว กิจกรรมทุกอย่างต้องใช้พลังงานทั้งสิ้น โดยอัตราการหายใจของสัตว์น้ำสามารถบอกได้ถึงสภาวะการตอบสนอง ทางสรีระวิยาของสัตว์น้ำต่อสิ่งแวดล้อม ปริมาณการใช้พลังงานและออกซิเจนสามารถนำไปสร้างเป็นสมการทางชีวพลังงานเพื่อหาความสามารถในการเจริญเติบโต และสืบพันธุ์วิธีการวัดขบวนการหายใจเพื่อการสันดาปที่นิยมใช้กันในสัตว์น้ำ คือ Indirect calorimetry โดยหาจากอัตราการใช้ออกซิเจนในสภาวะ Standard metabolic rate คือความต้องการใช้ออกซิเจนที่น้อยที่สุดเพื่อการดำรงชีวิต

Static respirometer เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการวัดปริมาณการใช้ออกซิเจน เพื่อใช้ในกระบวนการสันดาป โดยทำในภาชนะปิดปริมาณน้ำคงที่ และไม่มีการหมุนเวียนในทิศทางที่ไม่แน่นอนมีการทำให้น้ำผสมกันด้วย Stirrer หรือการเคลื่อนที่ของสัตว์น้ำ โดยการทดลองจะใช้เวลาไม่นานเพราะจะเกิดสภาวะขาดออกซิเจน (Hypoxia) ซึ่งส่งต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา

2.5.2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการใช้ออกซิเจน

ออกซิเจนเป็นส่วนสำคัญในขบวนการเมตาบอลิซึม อัตราการใช้ออกซิเจนหรืออัตราการเมตาบอลิซึมมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิน้ำ ขนาดหรืออายุสัตว์ ปริมาณอาหาร ระยะการสืบพันธุ์และฤดูกาล (McPherson, 1968)

จากการศึกษาอัตราการใช้ออกซิเจนในเม่นทะเลสรุปได้ว่า เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่สำคัญ 2 ปัจจัยคือ อุณหภูมิและ น้ำหนัก (Schmidt-Nielsen, 1981; Burggren and Roberts, 1991) การใช้ออกซิเจนในเม่นทะเลจะลดลงเมื่อขนาดเพิ่มขึ้น (McPherson, 1968; Percy, 1972; Webster and Giese, 1975) และเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น (McPherson, 1968; Percy, 1972; Ulbricht and Pritchard, 1972) แต่บางครั้งในเม่นทะเลบางชนิดอัตราการใช้ออกซิเจนแสดงให้เห็นว่าค่อนข้างเป็น

อิสระในบางช่วงอุณหภูมิ (Ulbricht and Pritchard, 1972) การใช้ออกซิเจนของเม่นทะเลลดลงเมื่อ DO ลดลง (Johansen and Vadas, 1967; Webster and Giese, 1975; Lane and Lawrence, 1979)

2.5.2.1 อาหาร

McPherson (1968) ศึกษาผลของอาหารต่อการใช้ออกซิเจนของเม่นทะเล *Eucidaris tribuloides* โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ได้รับอาหาร และกลุ่มที่อดอาหาร กลุ่มที่ได้รับอาหารจะให้ฟองน้ำ *Clinona lampa* และมีอาหารอยู่ในกระเพาะ ซึ่งเม่นทะเลที่ถูกอดอาหารก็ได้รับฟองน้ำ *Clinona lampa* แต่จะถูกนำออกตามช่วงระยะเวลาที่กำหนด พบว่าเม่นทะเล *E.tribuloides* ที่ได้รับอาหารอย่างต่อเนื่องมีการใช้ออกซิเจนมากที่สุด ในช่วงวันแรกการใช้ออกซิเจนลดลงอย่างเห็นได้ชัดในกลุ่มที่ถูกอดอาหาร แต่หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.9 ปริมาณการใช้ออกซิเจนของเม่นทะเล *E.tribuloides* ที่ได้รับอาหารและถูกอดอาหาร

T.D. (mm.)	Wel-fed	O_2 per hour				
		Day of starvation				
		1	2	3	4	5
42	1.23	1.00	0.96		0.98	
26	0.45	0.34	0.34			
20	0.23	0.20				
28	0.65	0.65		0.28		
36	0.86	0.61		0.59		0.6
30	0.74	0.57	0.58			0.55

ที่มา: McPherson (1968)

Siikavuopio et al. (2008) ศึกษาผลของน้ำหนักตัวและ อุณหภูมิต่อการใช้ออกซิเจนของเม่นทะเล *Strongylocentrotus droebachiensis* ชุดทดลองถูกแบ่งออกตามน้ำหนักตัวคือ เล็ก (40 กรัม) กลาง (65 กรัม) และ ใหญ่ (100 กรัม) อุณหภูมิในการทดลองคือ 4, 6, 8, 10, 12 และ 14องศาเซลเซียส เม่นทะเลที่อดอาหารมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น จาก 6.66-9.06 (เล็ก) 3.84-5.64 (กลาง) และ 3.60-4.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง (ใหญ่) การใช้ออกซิเจนของเม่นทะเลที่ได้กินอาหารคือ 10.44-31.44 (เล็ก) 10.80-18.60 (กลาง)และ 7.08-14.28 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง (ใหญ่) การใช้ออกซิเจนของเม่นทะเลที่ได้รับอาหารทุกอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเร็วกว่าเม่นทะเลที่ถูกอดอาหาร โดยไม่คำนึงถึงขนาด สรุปได้ว่าการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทั้ง

ในกลุ่มที่อดอาหารและ กลุ่มที่ได้รับอาหารแต่กลับพบว่าเมื่อการใช้ออกซิเจนมีความสัมพันธ์ผกผันกับขนาดของร่างกายกล่าวคือ เมื่อแม่นทะเลมีขนาดใหญ่ขึ้นกลับพบว่ามีการใช้ออกซิเจนน้อยลงทั้งกลุ่มที่อดอาหารและ กลุ่มที่ได้รับอาหารในทุกอุณหภูมิ การเพิ่มขึ้นของการใช้ออกซิเจนจากการกินอาหาร เป็นผลมาจากการย่อยอาหารและ การเจริญเติบโตหรือเกิดจาก พลังงานความร้อนที่เกิดจากการบริโภคอาหาร(specific dynamic effect) คือพลังงานที่ร่างกายใช้ในการย่อย การดูดซึม การขนส่งอาหาร การเก็บสะสม และการนำไปใช้

ตารางที่ 2.10 การบริโภคออกซิเจน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง) ในแม่นทะเล *S.droebachiensis* ทั้ง 3 ขนาด (40 กรัม (S) 65 กรัม (M) และ 100 กรัม (L)) (f) คือได้รับอาหาร (s) คือไม่ได้รับอาหาร ที่อุณหภูมิต่างกัน Q_{10} จากช่วงอุณหภูมิระหว่าง 4 ถึง 14 องศาเซลเซียส

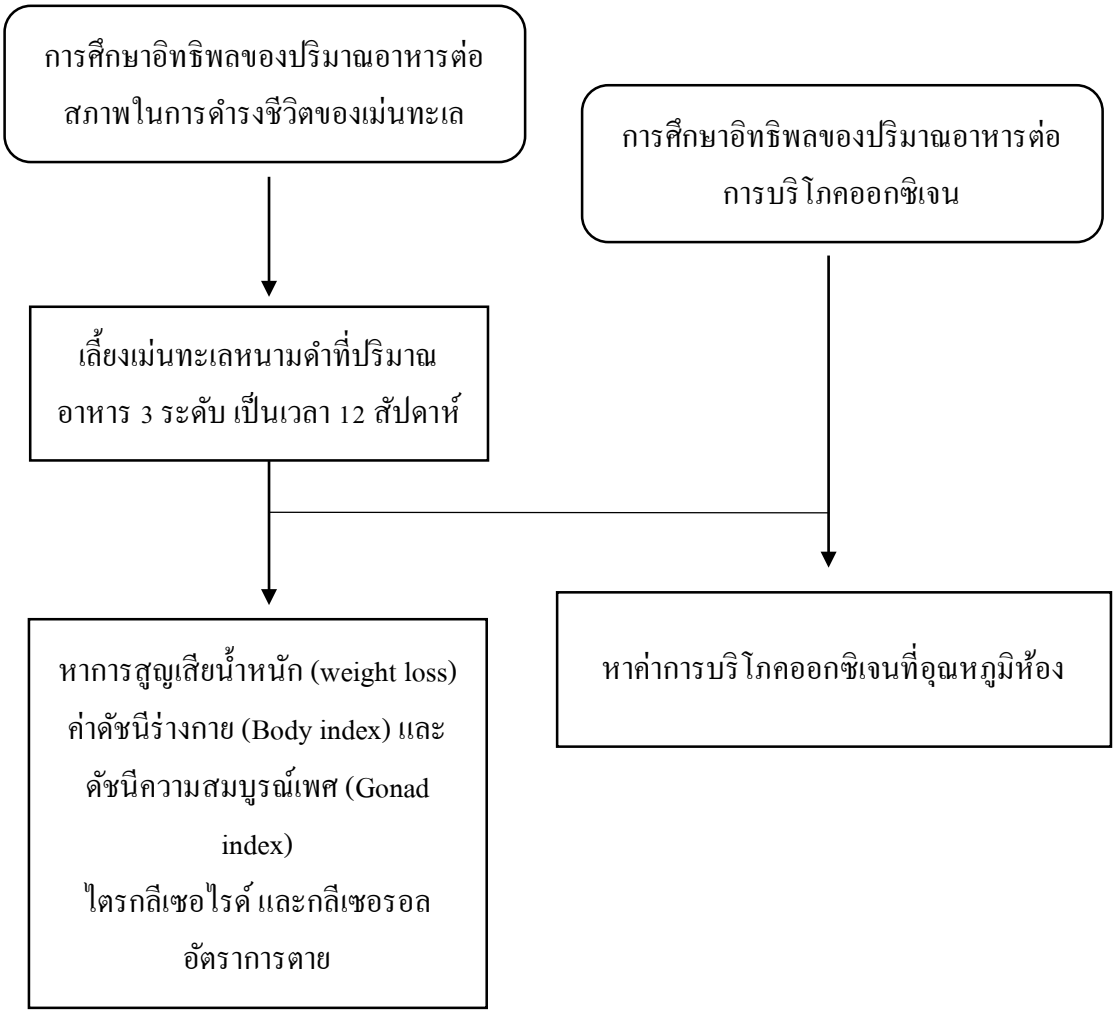
Temperature (องศาเซลเซียส)	N	S_f	S_s	M_f	M_s	L_f	L_s
4	5	10.44	6.66	10.8	3.84	7.08	3.6
6	5	14.64	7.14	12.36	4.2	8.52	3.72
8	5	18.84	7.62	13.92	4.56	9.96	3.84
10	5	23.04	8.1	15.48	4.92	11.4	3.96
12	5	27.24	8.58	17.04	5.28	12.84	4.08
14	5	31.44	9.06	18.6	5.64	14.28	4.2
Q_{10} (4-14 องศาเซลเซียส)		3.01	1.36	1.72	1.46	2.02	1.17

ที่มา: Siikavuopio et al. (2008)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยสรุปได้ดังนี้

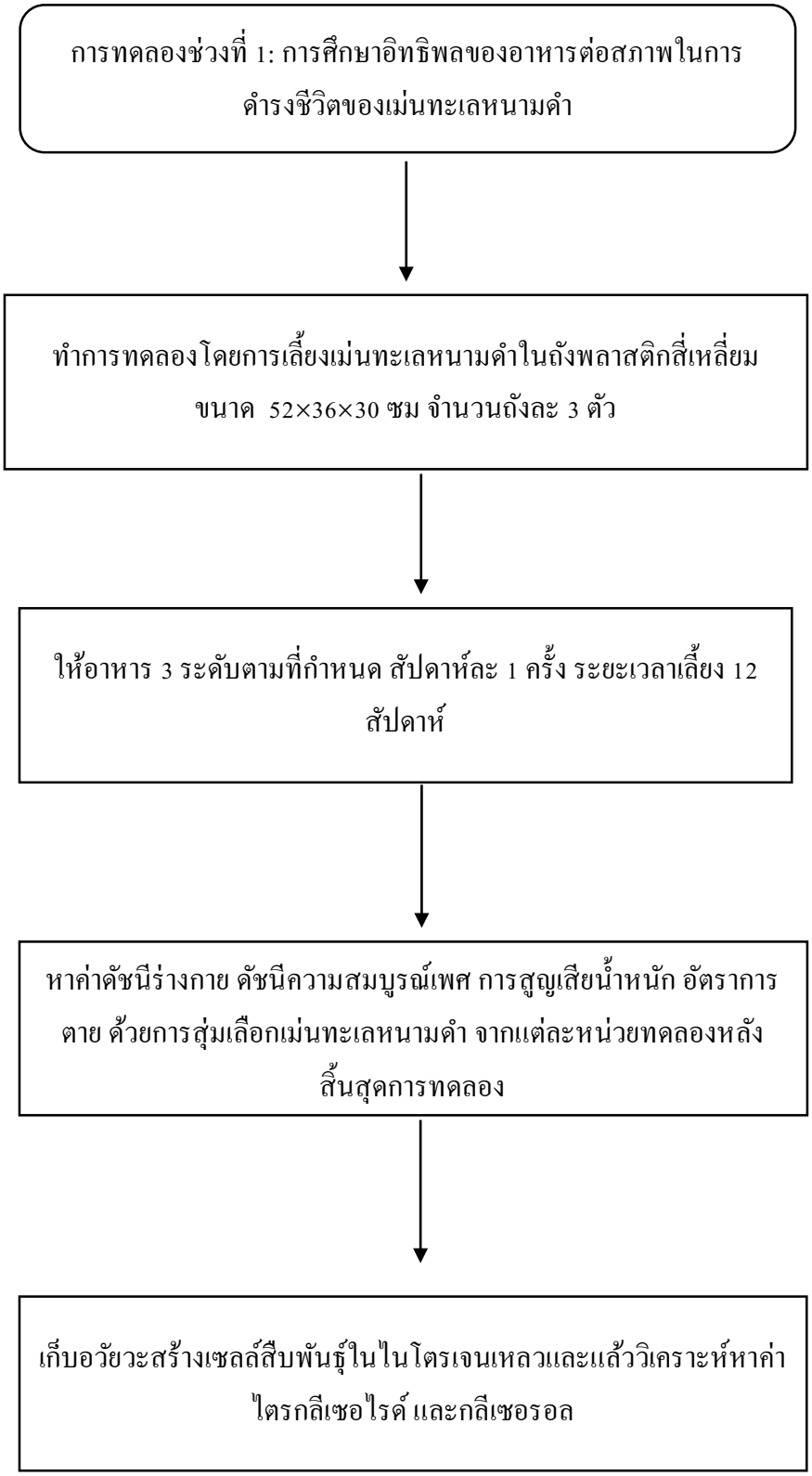


ภาพที่ 3.1 แผนผังสรุปรายละเอียดการทดลอง

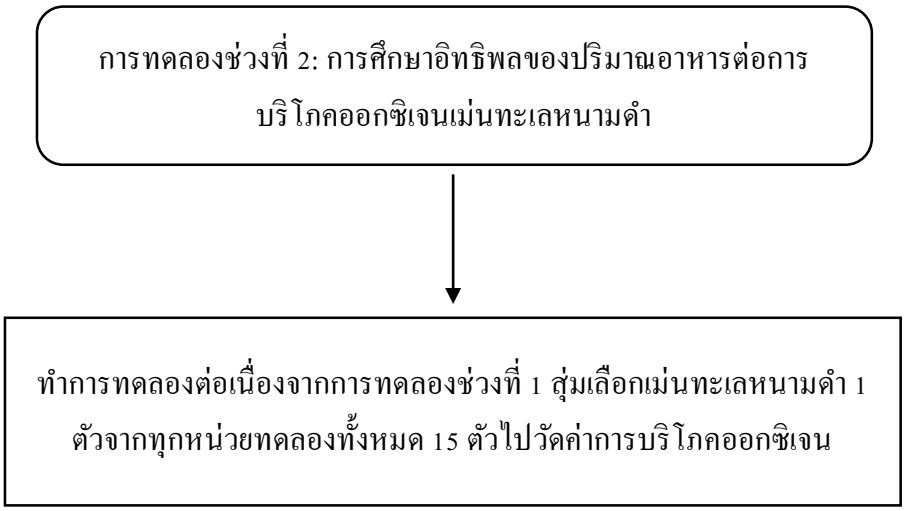
งานวิจัยนี้ดำเนินการทดลองที่อาคารปฏิบัติการ สาขาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง มีรายละเอียดดังนี้

<u>การทดลองช่วงที่ 1</u> การศึกษาอิทธิพลของอาหารต่อสภาพในการดำรงชีวิตของแม่นทะเลหนามดำ โดยศึกษาให้อาหารปริมาณแตกต่างกัน 3 แบบ คือ 1.สาหร่าย *Padina australis* น้ำหนัก 3 กรัม และสาหร่าย *Sargassum polycystum* น้ำหนัก 3 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 1 แผ่น (Low) 2. *P.australis* 6 กรัม และสาหร่าย *S.polycystum* 6 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 2 แผ่น (Mid) 3. *P.australis* 9 กรัม และสาหร่าย *S.polycystum* 9 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 3 แผ่น (High) สัปดาห์ละครั้ง ในถังพลาสติกขนาด 52×36×30 ซม ที่บรรจุน้ำทะเลปริมาตร 37 ลิตร ทำการทดลองภายในอาคารปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เป็นเวลา 12 สัปดาห์เพื่อหา หาการสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ค่าดัชนีร่างกาย (Body index:BI) และดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonad index:GI) ไตรกลีเซอไรด์ และกลีเซอรอล อัตราการตาย ดังรายละเอียดแสดงในแผนผังรูปที่ 3.2

<u>การทดลองช่วงที่ 2</u> การศึกษาอิทธิพลของปริมาณอาหารต่อการบริโภคออกซิเจนแม่นทะเลหนามดำเป็นการทดลองต่อเนื่องจากการทดลองช่วงที่ 1 คัดเลือกแม่นทะเลหนามดำ 1 ตัวจากแต่ละหน่วยทดลองไปวัดค่าการบริโภคออกซิเจน ดังรายละเอียดแสดงในแผนผังรูปที่ 3.3



ภาพที่ 3.2 แผนผังสรุปรายละเอียดการทดลองช่วงที่ 1



ภาพที่ 3.3 แผนผังสรุปรายละเอียดการทดลองช่วงที่ 2

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1.1 ถังไฟเบอร์ขนาด 36×57×30 ซม. 15 ใบ

3.1.1.2 ฮีทเตอร์ 100 วัตต์ 2 ตัว

3.1.1.3 หัวทราย

3.1.1.4 สายออกซิเจน

3.1.1.5 เครื่องปั๊มลม

3.1.1.6 เครื่องชั่งดิจิตอลทศนิยม 2 ตำแหน่ง (mettler Toledo รุ่น ML1502E)

3.1.1.7 เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์

3.1.1.8 มีดผ่าตัด

3.1.1.9 กรรไกร

3.1.1.10 ฟอร์เซป

3.1.1.11 Magnetic stirrer

3.1.1.12 Magnetic bar

3.1.1.13 กระบะพลาสติกขนาด 88x118x41 เซนติเมตร

3.1.1.14 ลังพลาสติกทึบขนาด 41.7×66.5×33.4 เซนติเมตร 2 ใบ

3.1.1.15 ขวดโหลสูญญากาศ 6 ใบ

3.1.1.16 Presens precision sensing gmbh fibox4

3.1.1.17 แผ่นกระเบื้องดินเผา 11×11 เซนติเมตร

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 ไนโตรเจนเหลว

3.1.2.2 10X Assay Buffer

3.1.2.3 5X Enzyme Mixture

3.1.2.4 10X Lipase Solution

3.1.2.5 200X Colorimetric Probe

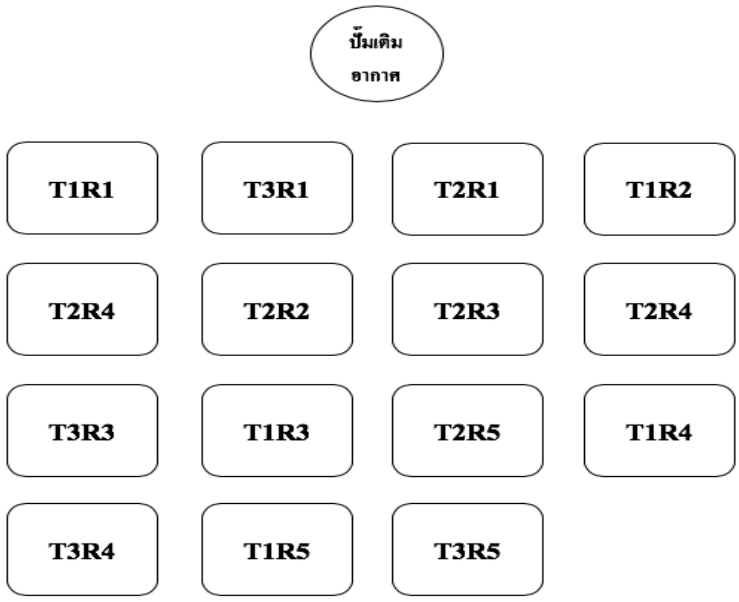
3.2 การเตรียมการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

เม่นทะเลหนามดำถูกรวบรวมจากอ่าวบ่อเมา อ.ปะทิว จ.ชุมพร โดยการดำน้ำแบบ scuba diving หลังจากนั้นจึงนำมาปรับสภาพที่อาคารปฏิบัติการ สาขาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเป็นเวลา 2 วันก่อนเริ่มการทดลอง โดยไม่ให้อาหารแต่ให้อากาศตลอดเวลา

3.2.2 การเตรียมถังเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำ

ระบบเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำที่ใช้ในการทดลองเป็นถังพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 52×36×30เซนติเมตร บรรจุน้ำทะเลปริมาตร 37 ลิตร ติดตั้งหัวทราย 1 หัวเพื่อเติมอากาศตลอดเวลา เปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละ 3 ครั้ง ทำการวัดอุณหภูมิ 2 ครั้งต่อวันและหลังเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกครั้งทำการวัดความเค็ม มีการใส่เศษปะการังภายในถัง การจัดวางถังเลี้ยงแบบสุ่มเรียงสลับกันในแต่ละปริมาณอาหารดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.4 แผนภาพการจัดเรียงถังในการทดลอง

3.2.3 การเตรียมอาหาร

รวบรวมสาหร่าย *Padina australis* และ *Sargassum polycystum* จากหาดอ่าวบ่อเมา ใกล้อาคารปฏิบัติการฯ นำมาเก็บไว้ยังถังพลาสติกปริมาตร 500 ลิตรที่เตรียมไว้แล้ว เติมอากาศในถังตลอดเวลา ส่วนแผ่นกระเบื้องดินเผานำไปวางไว้ในทะเลเป็นเวลา 2 สัปดาห์เพื่อให้เกิด biofilm

3.2.4 การเตรียมระบบสำหรับวัดการบริโภคออกซิเจน

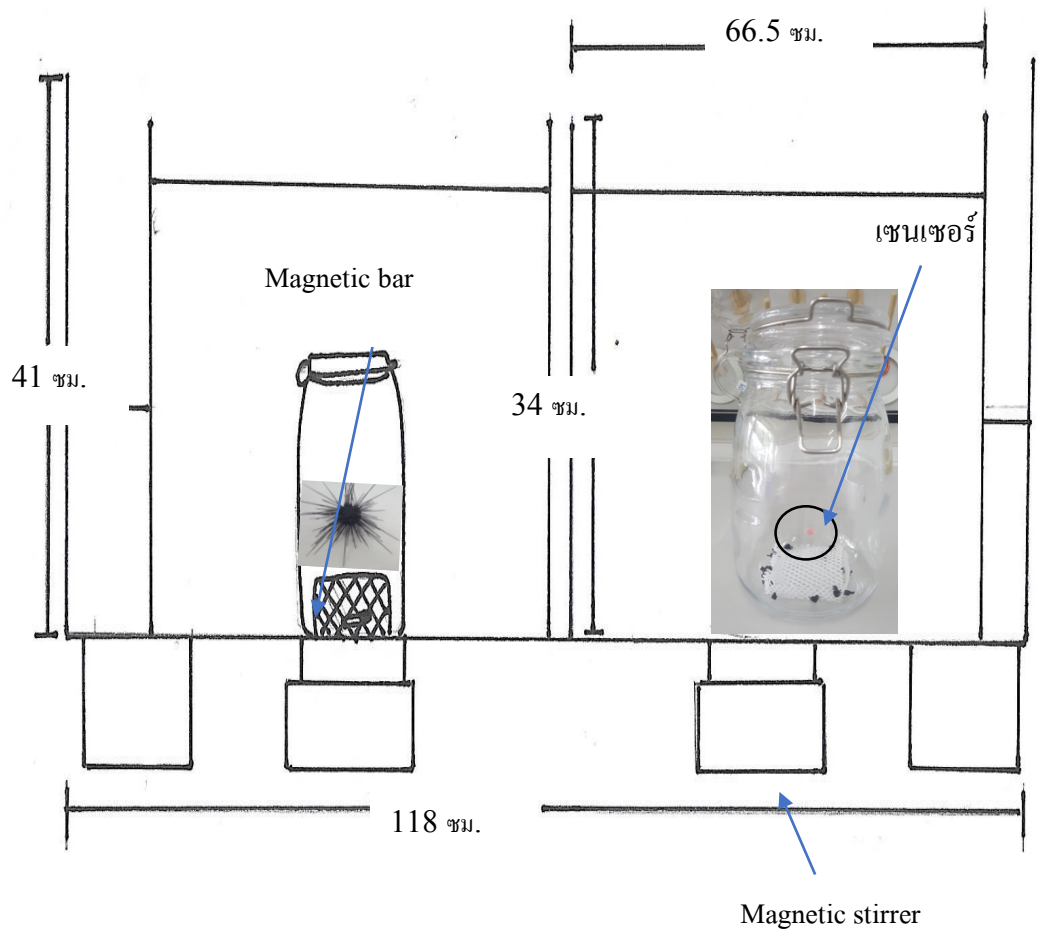
ระบบสำหรับวัดการบริโภคออกซิเจนของเม่นทะเลหนามดำโดยประกอบด้วยกระบะพลาสติกขนาด 88×118×41 เซนติเมตร เติมน้ำ 150 ลิตร รองด้วยอิฐบล็อคเพื่อยกให้ฐานสูงเหนือพื้นและข้างใต้มี Magnetic stirrer ภายในใส่ลังพลาสติกทึบขนาด 41.7×66.5×33.4 เซนติเมตร เติมน้ำ 55 ลิตร ที่มีฮิตเตอร์สำหรับการปรับอุณหภูมิ เตรียมขวดโหลสุญญากาศปริมาตร 1.8 ลิตร สำหรับใส่เม่นทะเลภายในขวดโหลมีตะแกรงพลาสติกสำหรับใส่ Magnetic bar เซนเซอร์ (Sensor) ถูกติดไว้ที่ข้างขวดสำหรับอ่านค่าบริโภคออกซิเจน การอ่านค่าบริโภคออกซิเจนโดยใช้เครื่อง Presens precision sensing gmbh fibox4 (ภาพที่ 3.3)

3.2.5 การเตรียมเม่นทะเลหนามดำเพื่อใช้ในการทดแทน

เม่นทะเลที่ใช้ถูกรวบรวมจาก อ่าวบ่อเมา อ.ปะทิว จ.ชุมพร นำกลับมาพักในถังพลาสติกทรงกลมขนาด 500 ลิตรที่อาคารปฏิบัติการฯ มีการให้อาหารและออกซิเจน เมื่อเม่นทะเลในหน่วยทดลองมีการตายเกิดขึ้น เม่นทะเลที่พักไว้ถูกนำมาทดแทนในหน่วยทดลองนั้น การจำแนกความแตกต่างระหว่างเม่นทะเลที่ถูกใส่ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองกับที่ถูกทดแทนโดยใช้ขนาดของเม่นทะเล และหลังสิ้นสุดการทดลองไม่มีการนำข้อมูลที่ได้จากเม่นทะเลที่ใส่ทดแทนมาใช้ในการวิเคราะห์

ตารางที่ 3.1 ปริมาณอาหารที่เม่นทะเลหนามดำได้รับ

ชุดทดลอง	ปริมาณ (กรัม)		แผ่นกระเบื้องมี biofilm (แผ่น)
	P.australis	*S.polycystum*	
1	3	3	1
2	6	6	2
3	9	9	3



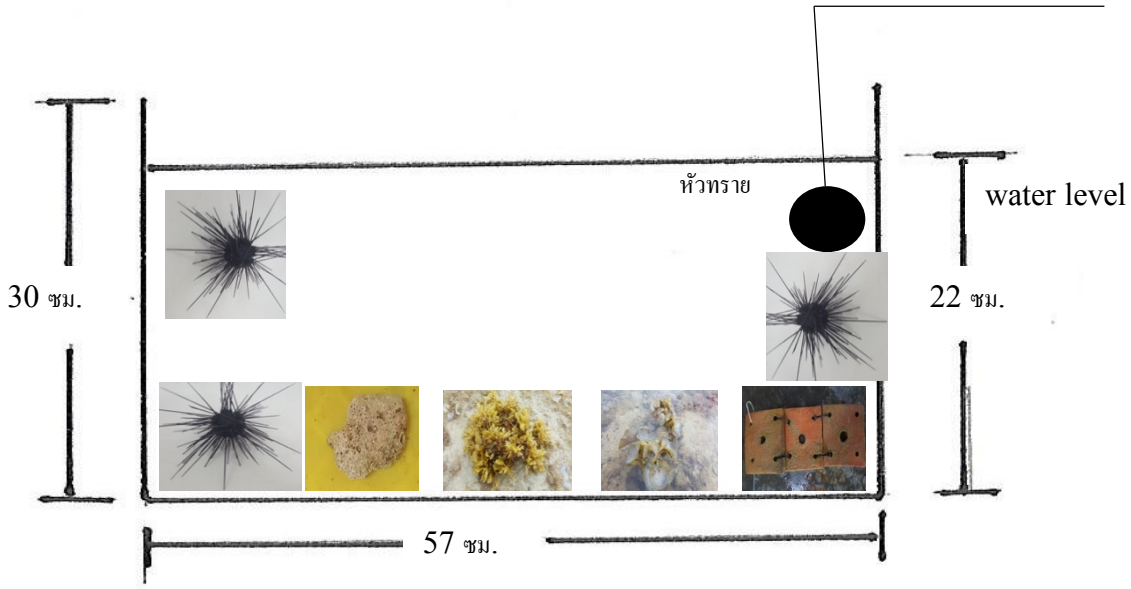
(Side view)

ภาพที่ 3.5 ไดอะแกรมระบบสำหรับวัดการบริโภคออกซิเจน

3.3 การศึกษาอิทธิพลของอาหารต่อสภาพในการดำรงชีวิตของเม่นทะเลหนามดำ (การทดลองที่ 1)

การวางแผนการทดลองเป็นแบบ CRD จำนวน 3 ชุดการทดลองละ 5 ซ้ำ

ทำการเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) 3 ตัวต่อ 1 ถัง ก่อนใส่เม่นทะเลลงในถังทำการชั่งน้ำหนักและวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง ให้ปริมาณอาหาร 3 ระดับตามที่กำหนดในแต่ละชุดการทดลอง (ตารางที่ 3.1)โดยที่อาหารจะให้สัปดาห์ละครั้งหากอาหารหมดก่อนครบสัปดาห์ไม่มีการให้อาหารเพิ่ม ทำการทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์หากมีการตายเกิดขึ้นระหว่างการทดลอง จะใส่เม่นทะเลหนามดำตัวใหม่ลงไปทดแทนเพื่อรักษาความหนาแน่น



(Side view)

(Top view)

ภาพที่ 3.6 ไดอะแกรมและภาพถ่ายหน่วยทดลองสำหรับเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำ

3.3.1 การวิเคราะห์สภาพการดำรงชีวิตของเม่นทะเล

หลังครบ 12 สัปดาห์คัดเลือกเม่นทะเลหนามดำจำนวน 1 ตัวจากแต่ละหน่วยทดลอง ทั้งหมด 15 ตัว ทำการชั่งน้ำหนัก วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง และผ่าเปิดเปลือกออกเพื่อเก็บอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ชั่งน้ำหนักอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ หลังจากนั้นจึงเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวเพื่อส่งไปวิเคราะห์หาไตรกลีเซอไรด์ที่ Hongkong University

วิธีการคำนวณดัชนีความสมบูรณ์เพศ

$$GI = (\text{Gonad WW}/\text{Total WW}) \times 100$$

โดย

GI = ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (ร้อยละ)

Gonad WW = น้ำหนักเปียกอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (กรัม)

Total WW = น้ำหนักเปียกทั้งหมด (กรัม)

วิธีคำนวณดัชนีร่างกาย

$$BI = \text{Wet weight}/\text{Diameter}$$

โดย

BI = ดัชนีร่างกาย (กรัมต่อมิลลิเมตร)

Wet weight = น้ำหนักตัว (กรัม)

Diameter = เส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)

วิธีการคำนวณการสูญเสียน้ำหนัก

วิธีคำนวณการสูญเสียน้ำหนัก (ร้อยละ)

$$\text{Weight loss} = (W_0 - W_t) \times 100$$

โดย

Weight loss = น้ำหนักที่หายไป

W_0 = น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)

W_t = น้ำหนักสิ้นสุด (กรัม)

3.3.2 การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ และกลีเซอรอล

(1) วิธีวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ และกลีเซอรอลในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์

(2) ชั่งตัวอย่างเนื้อเยื่อประมาณ 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองที่ cold PBS with 1%Triton -X 1000 ไมโครลิตร

(3) ผสมตัวอย่างให้เข้ากันโดนการใช้ tissue lyzer ที่ 30 Hz เป็นเวลา 3 นาที และนำตัวอย่างไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะพร้อมทำการวิเคราะห์

(4) ละลายตัวอย่าง

(5) นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ 10000 กรัมเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(6) นำส่วนใส 100 ไมโครลิตร ไปใส่ยังหลอดทดลองใหม่ และเจือจางด้วย 500 ไมโครลิตร UltraPure H_20.

(7) เตรียม Triglyceride Standard ทำการเจือจาง Triglyceride Standard 1:100 โดยน้ำกลั่น (เติม Triglyceride Standard 10 ไมโครลิตร ในน้ำกลั่น 990 ไมโครลิตร) ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ใช้ Triglyceride Standard 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร สำหรับการเตรียม Standard ที่ความเข้มข้น 0 – 40 มิลลิกรัม/เดซิลิตร โดยการเจือจางกับน้ำกลั่น ตามตาราง 3.1

ตารางที่ 3.2 การจัดเตรียม Triglyceride Standard

Standard Tubes	200 มิลลิกรัม/เดซิลลิตร Triglyceride Standard (ไมโครลิตร)	Deionized Water (มิลลิกรัม)	Final Triglyceride Standard (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	Final Triglyceride Standard (ไมโครเมตร)
1	200	800	40	458
2	250 of Tube #1	250	20	229
3	250 of Tube #2	250	10	114.5
4	250 of Tube #3	250	5	57.25
5	250 of Tube #4	250	2.5	28.63
6	250 of Tube #5	250	1.25	14.31
7	250 of Tube #6	250	0.625	7.156
8	0	250	0	0

(8) ใส่ Triglyceride Standard หรือ ตัวอย่างลงใน 96-well microtiter plate ปริมาณ 10 ไมโครลิตร

(9) เตรียมส่วนผสมในการทำปฏิกิริยา ปริมาณตามตารางเติมน้ำกลั่นลงในหลอดและเติม 10X Assay Buffer ผสมให้เข้ากัน เติม 5X Enzyme Mixture เติม 10X Lipase Solution แต่เพื่อหา Free Glycerol การเตรียมส่วนผสมในการทำปฏิกิริยาอีกชุดนึงโดยไม่เติม 10X Lipase Solution สุดท้าย เติม 200X Colorimetric Probe และผสมให้เข้ากัน

ตารางที่ 3.3 การเตรียมส่วนผสมในการทำปฏิกิริยา

Deionized Water (มิลลิลิตร)	10X Assay Buffer (มิลลิลิตร)	5X Enzyme Mixture (มิลลิลิตร)	10X Lipase Solution (มิลลิลิตร)	200X Colorimetric Probe (ไมโครลิตร)	Total Volume of Reaction Mixture (มิลลิลิตร)	# of Tests in 96-well Plate (90 ไมโครลิตร/test)
4.950	1	2	1	50	9	100
2.475	0.5	1	0.5	25	4.5	50
0.990	0.2	0.4	0.2	10	1.8	20

(10) เติมส่วนผสมในการทำปฏิกิริยา 90 ไมโครลิตร ในแต่ละตัวอย่างและ standardsที่อยู่ใน 96-well microtiter plate

(11) ปิด 96-well microtiter plate ด้วยฟรอยด์และ บ่มที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องปั่นแบบโคจร เป็นเวลา 30 นาที

(12) นำ 96-well microtiter plate ไปอ่านที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader

(13) คำนวณความเข้มข้นของไตรกลีเซอไรด์ภายในตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างกับเส้นโค้งมาตรฐาน

3.4 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณอาหารต่อการบริโภคออกซิเจนของเม่นทะเลหนามดำ (การทดลองช่วงที่2)

การวางแผนการทดลองเป็นแบบ CRD ปริมาณอาหาร 3 ระดับ ทั้งหมด 3 ชุดการทดลอง ละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัว

การทดลองส่วนนี้เป็นการทดลองต่อเนื่องจากการทดลองช่วงที่ 1 หลังสิ้นสุด 12 สัปดาห์ ในการทดลองช่วงที่ 1 คัดเลือกเม่นทะเลหนามดำ 1 ตัวจากแต่ละหน่วยทดลองมาทำการวัดการบริโภคออกซิเจนที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิภายในหน่วยทดลอง

3.4.1 วิธีการวิเคราะห์อัตราการใช้ออกซิเจน

(1) เตรียมขวดสูญญากาศจำนวน 6 ขวดปริมาตร 1.8 ลิตรสำหรับใส่เม่นทะเล

(2) เตรียมน้ำทะเลสำหรับใช้ วัดการบริโภคออกซิเจนและ สำหรับปรับสภาพเม่นทะเลที่อุณหภูมิห้อง

(3) นำเม่นทะเลหนามดำ 1ตัวจากแต่ละหน่วยทดลอง เป็นตัวที่อยู่ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนักและ วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง นำเม่นทะเลใส่ลงในขวดสุญญากาศ 5 ขวด ขวดละ1 ตัวโดยให้อีก 1 ขวดเป็นชุดควบคุมคือไม่มีเม่นทะเลอยู่ภายในขวด นำไปไว้ในถังพลาสติกที่เตรียมน้ำทะเลไว้เป็นเวลา 10 นาทีก่อนเริ่มการทดลอง หลังจากนั้นจึงทำการปิดฝาโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศภายในขวด

(4) ย้ายขวดสุญญากาศทั้ง6 ขวดไปไว้ในลังพลาสติกทึบที่ ทำการวัดการบริโภคออกซิเจนครั้งแรก และทำการวัดซ้ำทุก 5 นาที เป็นเวลา 30 นาทีด้วยเครื่อง Presens precision sensing gmbh fibox4

วิธีการคำนวณ Oxygen consumption rate

$$Qo_2 = (C_0 - C_t)/VWT$$

โดย

Qo_2 = อัตราการบริโภคออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตรต่อกรัมต่อชั่วโมง)

C_0 = ปริมาณออกซิเจนในน้ำเริ่มต้น (มิลลิกรัม ออกซิเจนต่อลิตร)

C_t = ปริมาณออกซิเจนในน้ำสิ้นสุด (มิลลิกรัม ออกซิเจนต่อลิตร)

V = ปริมาตรขวดสุญญากาศ (ลิตร)

W = น้ำหนักของเม่นทะเลหนามดำ (กรัม)

T = ระยะเวลาในการทดลอง (ชั่วโมง)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี One–way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์SPSS for Window Version 16.0

3.6 สถานที่ทำการวิจัย

อาคารปฏิบัติการ สาขาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร

3.7 ระยะเวลาในการทำวิจัย

มีนาคม - สิงหาคม 2561

บทที่4
ผลการศึกษา

4.1 พฤติรรมการกินอาหาร

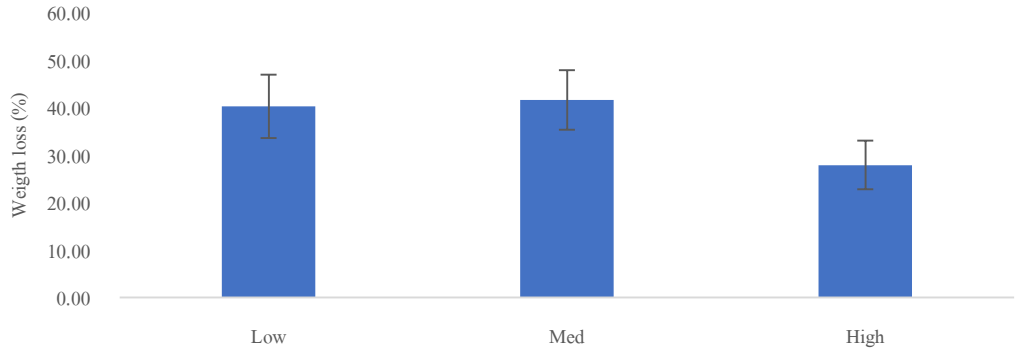
จากการสังเกตอัตราการกินอาหารในแต่ละหน่วยทดลองพบว่าเม่นทะเลหนามดำในชุดการทดลองที่ 1 ใช้เวลาประมาณ 2-3 วันในการกินสาหร่ายในหน่วยทดลองจนหมด ส่วนเม่นทะเลหนามดำในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ใช้เวลาประมาณ 4-5 วันและ 6-7 วัน ตามลำดับ ดังนั้นเม่นทะเลที่ได้รับอาหารน้อยและปานกลาง (ชุดการทดลองที่ 1 และ 2) จะอยู่ในสภาวะขาดอาหารประมาณ 2-4 วัน อาหารที่เม่นทะเลหนามดำเลือกกินก่อนในการทดลองครั้งนี้คือสาหร่ายทะเล *Padina australia* เมื่อสาหร่ายชนิดดังกล่าวหมดแล้วจึงมากินสาหร่ายทะเล *Sargassum polycystum* และเมื่อสาหร่ายหมดก็จะมาขูดแทะแผ่นกระเบื้องดินเผาที่มี biofilm เป็นชนิดสุดท้าย

4.2 การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss)

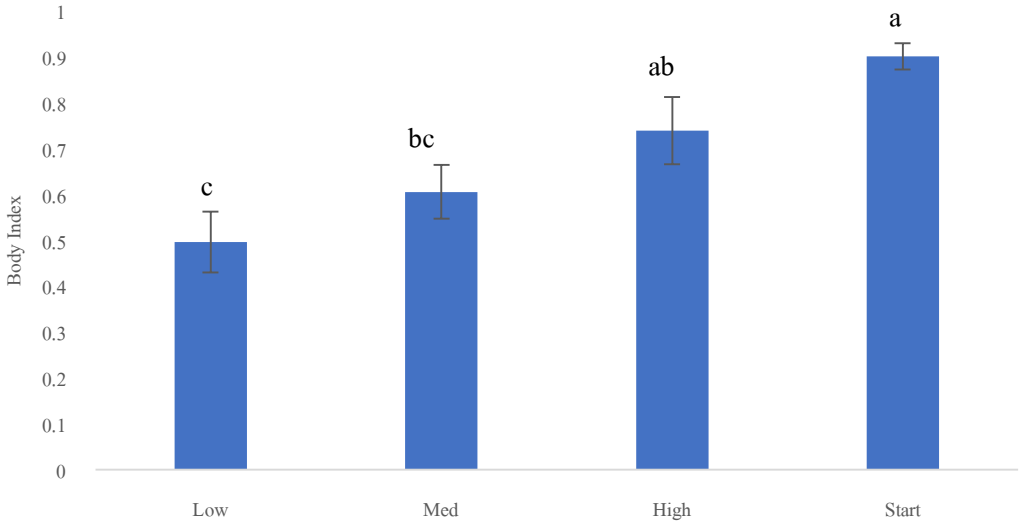
จากการทดลองเลี้ยงเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เป็นเวลา 12 สัปดาห์โดยโดยให้อาหารในปริมาณต่างๆกันประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 สาหร่าย *Padina australis* น้ำหนัก 3 กรัม และสาหร่าย *Sargassum polycystum* น้ำหนัก 3 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 1 แผ่น (Low) ชุดการทดลองที่ 2 สาหร่าย *P. australis* 6 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 6 กรัม แผ่นกระเบื้อง 2 แผ่น (Mid) ชุดการทดลองที่ 3 สาหร่าย *P. australis* 9 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 9 กรัม แผ่นกระเบื้อง 3 แผ่น (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ผลการศึกษาพบว่าภายใต้สภาวะที่มีอาหารจำกัดเป็นเวลานาน เม่นทะเลในทุกชุดการทดลองมีน้ำหนักตัวลดลง อย่างไรก็ตามอัตราการสูญเสียน้ำหนักของเม่นทะเลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (One Way ANOVA; $P > 0.05$) โดยในชุดการทดลอง 3 ซึ่งได้รับอาหารปริมาณมากที่สุดมีอัตราการสูญเสียน้ำหนักต่ำที่สุด (ร้อยละ 27.85 ± 5.10) ส่วนชุดการทดลองที่ 2 ที่ได้รับอาหารปานกลาง และชุดการทดลองที่ 1 ที่ได้รับอาหารปริมาณน้อยมีอัตราการสูญเสียน้ำหนักใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 41.54 ± 6.30 สำหรับชุดการทดลองที่ 2 และ ร้อยละ 40.21 ± 6.67 สำหรับชุดการทดลองที่ 1 ตามลำดับ) (ภาพที่4.1)

4.3 ดัชนีร่างกาย (Body index: BI) และดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonad index: GI)

ดัชนีร่างกายของเม่นทะเลซึ่งคำนวณจากสัดส่วนของน้ำหนักตัว (กรัม) ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของลำตัว (มิลลิเมตร)ในช่วงเริ่มต้นการทดลองเม่นทะเลมีดัชนีร่างกายเท่ากับ 0.90 ± 0.03 ในชุดการทดลองทั้งสามภายหลังการทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเม่นทะเลได้รับอาหารเพิ่มมากขึ้น โดยในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งได้รับอาหารน้อยที่สุด (สาหร่าย *Padina australis* น้ำหนัก 3 กรัม และสาหร่าย *Sargassum polycystum* น้ำหนัก 3 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 1 แผ่น (Low) ต่อสัปดาห์) มีค่าดัชนีร่างกายต่ำที่สุด (0.49 ± 0.07 กรัมต่อมิลลิเมตร) ส่วนชุดการทดลองที่ 2 (สาหร่าย *P. australis* 6 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 6 กรัม แผ่นกระเบื้อง 2 แผ่น (Mid) ต่อสัปดาห์) มีค่าดัชนีร่างกายเท่ากับ 0.61 ± 0.06 กรัมต่อมิลลิเมตร ในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับอาหารปริมาณมากที่สุด (สาหร่าย *P. australis* 9 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 9 กรัม แผ่นกระเบื้อง 3 แผ่น (High) ต่อสัปดาห์) มีดัชนีร่างกายสูงที่สุด (0.74 ± 0.07 กรัมต่อมิลลิเมตร) (ภาพที่ 4.2) แต่เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทั้ง 4 ชุดการทดลองพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (One Way ANOVA; $P < 0.05$)

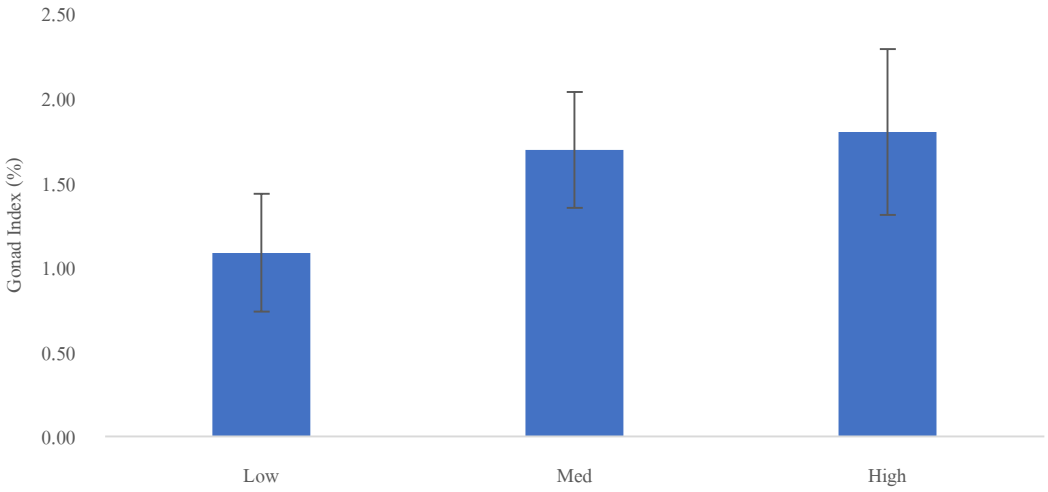


ภาพที่ 4.1 อัตราการสูญเสียน้ำหนักของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์



ภาพที่ 4.2 ดัชนีร่างกาย (Body index) ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*)เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และเม่นทะเลในช่วงก่อนเริ่มการทดลอง (Start)

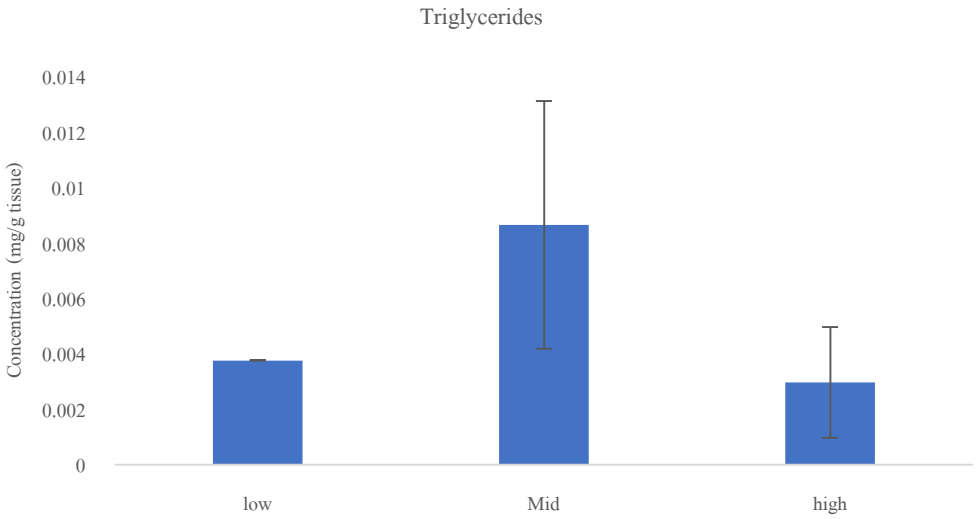
ดัชนีความสมบูรณ์เพศของเม่นทะเลเมื่อสิ้นสุดการทดลองให้ผลเช่นเดียวกับดัชนีความสมบูรณ์เพศคือมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเม่นทะเลได้รับอาหารมากขึ้นโดย โดยในชุดการทดลองที่ 1 มีดัชนีความสมบูรณ์เพศต่ำที่สุด (ร้อยละ 1.09 ± 0.35) ส่วนชุดการทดลองที่ 2 มีดัชนีความสมบูรณ์เพศเท่ากับร้อยละ 1.69 ± 0.34 ในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับอาหารปริมาณมากที่สุดมีดัชนีความสมบูรณ์เพศเท่ากับร้อยละ 1.80 ± 0.49 (ภาพที่ 4.3) ค่าความแปรปรวนของข้อมูลแต่ละชุดการทดลองค่อนข้างมาก ทำให้ดัชนีความสมบูรณ์เพศของแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (One Way ANOVA; $P > 0.005$)



ภาพที่ 4.3 ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonad index) ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์

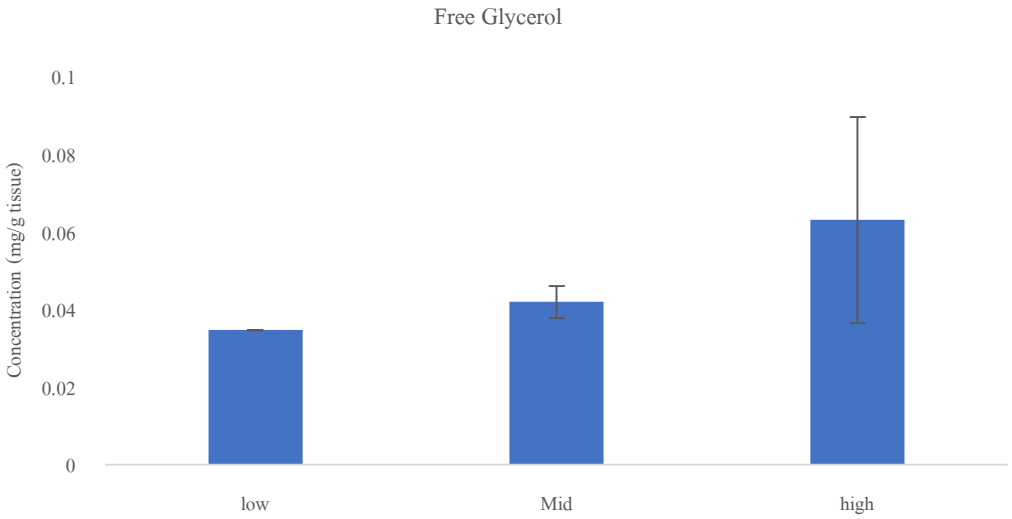
4.4 ไตรกลีเซอไรด์ และ กลีเซอรอล

จากการวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ของเม่นทะเล พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่เม่นทะเลได้รับตลอดระยะเวลาทดลอง 12 สัปดาห์ (ภาพที่ 4.4) โดยใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ของเม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 2 (สาหร่าย *P. australis* 6 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 6 กรัม แผ่นกระเบื้อง 2 แผ่น (Mid) ต่อสัปดาห์) มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์สูงที่สุด (0.008 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ) ส่วนชุดการทดลองที่ 1 (ได้รับสาหร่าย *P. australis* น้ำหนัก 3 กรัม และสาหร่าย *S. polycystum* น้ำหนัก 3 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 1 แผ่น (Low) ต่อสัปดาห์) และชุดการทดลองที่ 3 (สาหร่าย *P. australis* 9 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 9 กรัม แผ่นกระเบื้อง 3 แผ่น (High) ต่อสัปดาห์) มีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ใกล้เคียงกัน คือ 0.003 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.003 ± 0.000 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อตามลำดับ)



ภาพที่ 4.4 ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์

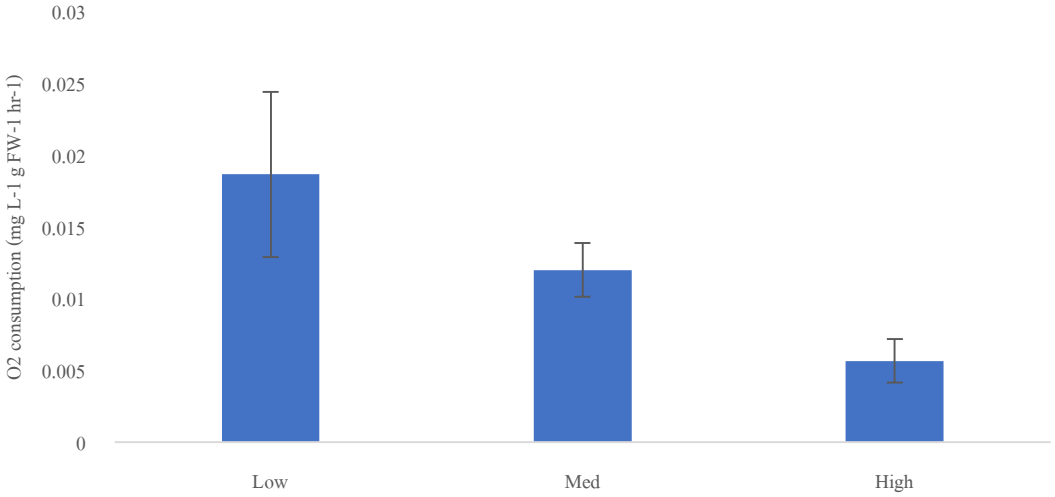
ส่วนปริมาณกลีเซอรอลใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ของเม่นทะเลสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่ได้รับ โดยจะมีปริมาณมากที่สุดในเม่นทะเลชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งได้รับอาหารมากที่สุด (0.063 ± 0.036 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ) ส่วนในชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณเท่ากับ 0.041 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ) และในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งได้รับอาหารน้อยที่สุดมีปริมาณเท่ากับ 0.034 ± 0.000 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 4.5) โดยแต่ละชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (One Way ANOVA; $P > 0.05$)



ภาพที่ 4.5 ปริมาณกลีเซอรอลใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ของเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดในปริมาณประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์

4.5 อัตราการใช้ออกซิเจน

จากการวัดอัตราการใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียสในเม่นทะเลที่ได้รับอาหารในปริมาณต่างกันอย่างจำกัดแสดงให้เห็นว่าอัตราการใช้ออกซิเจนลดลงเมื่อได้รับอาหารเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (One Way ANOVA; P = 0.10) อัตราการใช้ออกซิเจนในชุดการทดลองที่ 1 (สาหร่าย *Padina australis* น้ำหนัก 3 กรัม และสาหร่าย *Sargassum polycystum* น้ำหนัก 3 กรัม แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm 1 แผ่น (Low) ต่อสัปดาห์) มีค่าเท่ากับ 0.018 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อกรัมน้ำหนักสดต่อชั่วโมง) ส่วนในชุดการทดลองที่ 2 (สาหร่าย *P. australis* 6 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 6 กรัม แผ่นกระเบื้อง 2 แผ่น (Mid) ต่อสัปดาห์) มีอัตราการใช้ออกซิเจนเท่ากับ 0.012 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อกรัมน้ำหนักสดต่อชั่วโมง และในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับอาหารมากที่สุด (สาหร่าย *P. australis* 9 กรัม สาหร่าย *S. polycystum* 9 กรัม แผ่นกระเบื้อง 3 แผ่น (High) ต่อสัปดาห์) มีอัตราการใช้ออกซิเจนเท่ากับ 0.005 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อกรัมน้ำหนักสดต่อชั่วโมง (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.6 อัตราการใช้ออกซิเจนหลังสิ้นสุดการทดลองการได้รับอาหารในปริมาณต่างๆ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียสในเม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setosum*) โดยประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 12 สัปดาห์

4.6 อัตราการตาย

อัตราการตายของเม่นทะเลในทุกชุดการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1 โดยเม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งได้รับอาหารน้อยที่สุด จะเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 6 อาการที่สังเกตได้ก่อนเม่นทะเลตายคือหนามจะหลุดร่วงและกินอาหารน้อยลง หลังจากสัปดาห์ที่ 9 จึงเริ่มพบการตายในชุดการทดลองอื่นๆ สำหรับในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับอาหารมากที่สุดมีอัตราการตายต่ำที่สุดคือ ร้อยละ 20

ตารางที่ 4.1 อัตราการตายของเม่นทะเล (*Diadema setosum*) หลังสิ้นสุดการทดลองการได้รับอาหารในปริมาณต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อได้รับอาหารอย่างจำกัดประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณอาหารน้อยที่สุด (Low) ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณอาหารปานกลาง (Mid) ชุดการทดลองที่ ปริมาณอาหารมากที่สุด (High) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

Treatment	Cumulative mortality	% mortality
Low	4	26.7
Mid	5	33.3
High	3	20.0

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

เม่นทะเลหนามดำ (*Diadema setsum*) เป็นสัตว์พื้นทะเลที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) รวมถึงกินอินทรียสารเป็นอาหาร (detritus feeder) จากผลการศึกษาของ Moore et al. (2019) พบว่าเม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 5 ซม สามารถบริโภคสาหร่ายทะเล (*Ulva*, *Gracilaria*) และหญ้าทะเล (*Enhalus*, *Thalassia*) ได้ประมาณ 4.45 กรัมต่อวันต่อตัว ปริมาณอาหารที่ใช้ในทุกชุดการทดลองของการทดลองครั้งนี้ที่ คือ สาหร่ายทะเลน้ำหนักรวม 6 กรัม ร่วมกับแผ่นกระเบื้องดินเผาที่มี biofilm1 แผ่น (ชุดการทดลองที่ 1) สาหร่ายทะเลน้ำหนักรวม 9 กรัม ร่วมกับแผ่นกระเบื้องดินเผาที่มี biofilm 2 แผ่น (ชุดการทดลองที่ 2) และสาหร่ายทะเลน้ำหนักรวม 18 กรัม ร่วมกับแผ่นกระเบื้องดินเผาที่มี biofilm 3 แผ่น (ชุดการทดลองที่ 3) ต่อ 1 สัปดาห์ต่อหน่วยทดลองที่มีเม่นทะเลหนามดำจำนวน 3 ตัว จึงถือว่ามีจำกัดเนื่องจากต่ำกว่าความต้องการในการกินอาหารของเม่นทะเลชนิดนี้

ปริมาณอาหารที่มีอย่างจำกัดในการทดลองครั้งนี้ทำให้น้ำหนักของเม่นทะเลหนามดำลดลง โดยชุดการทดลองที่ได้รับอาหารมากที่สุดมีน้ำหนักลดลง (weight loss) น้อยที่สุดในระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ร้อยละ 27.85 ± 5.10) ในขณะที่ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารปานกลางและต่ำมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่ลดลงใกล้เคียงกันคือประมาณ ร้อยละ 40 จากการศึกษาของ Lawrence et al. (1965) เม่นทะเลชนิด *Strongylocentrotus purpulatus* ในธรรมชาติมีปริมาณอาหารเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาลจะมีขนาดกระเพาะอาหารลดลงในฤดูที่อาหารน้อย ส่วน Ebert (1980) รายงานว่าในสภาพที่ปริมาณอาหารในธรรมชาติมีน้อยหรือมีจำกัด เม่นทะเลหนามดำ (*D. setosum*) จะปรับขนาดตัวให้เล็กลง และจะขยายขนาดของ Aristotle's lantern (ฟันที่ใช้ขูดแทะ) ให้ใหญ่ขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการขูดแทะอาหารในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำการวัดขนาดของ Aristotle's lantern ก่อนและหลังการทดลอง

นอกจากเม่นทะเลจะไม่มีการเติบโต (somatic growth) ในสภาวะที่มีอาหารจำกัดแล้วยังมีผลต่อพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ (reproductive growth หรือ gonadal development) อีกด้วย (Larson et al., 1980) จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าดัชนีร่างกายและดัชนีความสมบูรณ์เพศมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณอาหารที่ได้รับถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลทำหน้าที่ในการสะสมพลังงาน (energy reserve) ในเซลล์ nutritive phagocytes หรือเซลล์ที่ทำหน้าที่สะสมอาหารทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน เมื่อมีปริมาณอาหารเพียงพอก็จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (gamete) และเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้อง (gamete tissue) ต่อไป ดังนั้นในสภาวะที่ปริมาณอาหารมีอยู่มาก ขนาดของ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการ

สะสมอาหารใน nutritive phagocytes (Holland and Giese 1965, Chatlynne, 1969; Gonor, 1973; Meidel and Scheibling, 1998) และจะเริ่มผลิตเซลล์สืบพันธุ์เมื่อปริมาณอาหารเริ่มลดลง (Minor and Scheibling, 1997; Meidel and Scheibling, 1999) พลังงานจากอาหารที่เม่นทะเลหนามดำได้รับส่วนหนึ่งก็จะสะสมไว้ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณอาหารที่ได้รับนั่นเอง

ไตรกลีเซอไรด์ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมัน 3 หน่วย และกลีเซอรอล 1 หน่วยเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง กรดไขมัน(fatty acid) สามารถใช้เป็น biomarker ที่บ่งบอกถึงชนิดของอาหารที่สิ่งมีชีวิตกินเข้าไปและนำมาสะสมในตัวในรูปของกรดไขมัน ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในการศึกษาการส่งผ่านพลังงานจากการกินของสิ่งมีชีวิตในห่วงโซ่อาหารของระบบนิเวศ ไขมันที่สะสมไว้ในสิ่งมีชีวิตประกอบด้วยไขมันที่สะสมไว้เพื่อใช้เป็นพลังงาน (energy lipid) และเป็นส่วนประกอบในโครงสร้างของเซลล์ (structural lipid) เม่นทะเลสะสมไขมันส่วนใหญ่ไว้ในกระเพาะอาหารและอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ จึงนิยมวิเคราะห์ชนิดและปริมาณไขมันเพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดและปริมาณอาหารที่มีต่อวงรอบการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ (gametogenic cycle) ในเม่นทะเล (Zarate et al., 2016) จากผลการศึกษาครั้งนี้ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ไม่แสดงความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่เม่นทะเลหนามดำได้รับ ส่วนปริมาณกลีเซอรอลมีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารแสดงให้เห็นว่ากลีเซอรอลซึ่งเป็น energy lipid ถูกนำมาสะสมในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตามปริมาณอาหารที่ได้รับ ส่วนปริมาณกรดไขมันในสภาวะอาหารจำกัดมีความผันแปรไม่แน่นอน ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาในรายละเอียดเกี่ยวกับชนิดของกรดไขมันในเม่นทะเลที่อยู่ในสภาวะดังกล่าว

อัตราการใช้ออกซิเจนหรืออัตราการเมตาบอลิซึมแสดงให้เห็นถึงสภาวะการทำงานในระบบทางสรีระของสิ่งมีชีวิตโดยจะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณอาหาร เพศ อายุ เป็นต้น จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเม่นทะเลหนามดำที่ได้รับอาหารน้อยที่สุดมีอัตราการเมตาบอลิซึมสูงที่สุดทั้งนี้เนื่องจากเม่นทะเลหนามดำในชุดการทดลองนี้อยู่ในภาวะเครียด (stress) มากที่สุด ทำให้ร่างกายต้องรักษาสภาวะการทำงานของร่างกายให้สามารถดำรงชีวิตได้เป็นปกติมากที่สุดผ่านกลไกบางอย่างเช่น การสร้างโปรตีน Chaperone ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการซ่อมสร้างโปรตีนในร่างกายที่เสื่อมสภาพระหว่างหรือภายหลังร่างกายอยู่ในสภาวะเครียด (Whitney et al., 1999) อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีน Chaperone ในเม่นทะเลยังจำกัดอยู่ในเม่นทะเลที่เกิดความเครียดจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในสภาพแวดล้อม (Gonzalez et al., 2016)

อย่างไรก็ตามทุกผลการศึกษาในการทดลองนี้ ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยอื่น เช่น ฤดูกาล อุณหภูมิ และข้างขึ้นข้างแรมเป็นต้น การเปลี่ยนอุณหภูมิในแต่ละฤดูกาลส่งผลต่อวงจรการสืบพันธุ์ของเม่นทะเลหนามดำ โดยเม่นทะเลหนามดำมีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศสูงสุด

ในเดือนเมษายน และลดลงต่ำสุดในเดือนมกราคมซึ่งเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิต่ำสุด ประมาณ 16 องศาเซลเซียส (Alsaffar and Lone, 2000) หรืออาจเกิดจากข้างขึ้นข้างแรม พบว่าแม่นทะเลหนามดำมีการสะสมเซลล์สืบพันธุ์ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุดในช่วง พระจันทร์เต็มดวง (Lessios, 1981) การลดลงของค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศลดลงเกิดจากการลดลงของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นไขมันที่ถูกเก็บในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อไตรกลีเซอไรด์ จากการศึกษาของ Pathirana et al. (2002) แสดงให้เห็นว่าแม่นทะเล *S.droebachiensis* ในช่วงฤดูใบไม้ผลิและช่วงฤดูร้อนที่มีอุณหภูมิสูง มีการเก็บไตรกลีเซอไรด์ไว้ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์มากกว่าในช่วงฤดูใบไม้ร่วงและฤดูหนาวที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า หรืออาจเป็นผลจากความเครียดที่เกิดจากอุณหภูมิน้ำในระบบที่ต่ำกว่าในแหล่งที่อยู่อาศัยของแม่นทะเล อุณหภูมิน้ำทะเลในจังหวัดชุมพรอยู่ในช่วง ประมาณ 29-32 องศาเซลเซียส (พรพิมล และคณะ, 2561) แต่อุณหภูมิน้ำภายในระบบอยู่ที่ 26-28 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะความเครียดแม่นทะเลจำเป็นต้องการพลังงาน (ATP) เพิ่มมากขึ้นเพื่อปรับให้ร่างกายเข้าสู่สภาวะสมดุล เช่นการสร้างโปรตีน Chaperones และ Stress protein (Koehn amd Bayne, 2009) พลังงานของสิ่งมีชีวิตได้รับจากกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งกระบวนการเมตาบิลิซึมแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการคือ แอแนบอลิซึม และแคแทบอลิซึม ในสภาวะที่อาหารมีเพียงพอ สิ่งมีชีวิตจะมีการสังเคราะห์ ไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นการสังเคราะห์จากการใช้ กลีเซอรอล 1 หน่วยรวมกับ กรดไขมัน 3 หน่วย เรียกว่ากระบวนการแอแนบอลิซึม และเก็บสะสมในลำไส้หรือ อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ แต่ในสภาวะที่มีอาหารไม่เพียงพอ สิ่งมีชีวิตจะทำการไฮโดรไลซ์กลีเซอไรด์ที่ถูกสะสมหรือจากอาหารที่ได้รับมาแยกเป็น กรดไขมันและกลีเซอรอล สำหรับเป็นพลังงานเพื่อปรับสมดุลร่างกายให้เข้าสู่สภาวะปกติเรียกว่ากระบวนการ แคแทบอลิซึม (Lee et al., 2018)

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 การศึกษาอัตราการสูญเสียน้ำหนักของเม่นทะเลหนามดำที่ได้รับปริมาณอาหารต่างกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับปริมารอาหารมากที่สุดมีอัตราการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด (ร้อยละ 27.85 ± 5.10)

6.2 การศึกษาดัชนีร่างกาย และดัชนีความสมบูรณ์เพศของเม่นทะเล มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปริมาณอาหารมากขึ้น ในการทดลองครั้งพบว่าเม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 3 ทีได้รับปริมาณอาหารมากที่สุด มีดัชนีร่างกาย และดัชนีความสมบูรณ์เพศสูงที่สุด 0.74 ± 0.07 กรัมต่อมิลลิเมตร และร้อยละ 1.80 ± 0.49 ตามลำดับ

6.3 การศึกษาไตรกลีเซอไรด์ และ กลีเซอรอล ของเม่นทะเลไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่เม่นทะเลได้รับตลอดระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์ โดยพบไตรกลีเซอไรด์มากสุดในเม่นทะเลหนามดำในชุดการทดลองที่2 ที่ได้รับปริมาณอาหารปานกลาง (0.008 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ) แต่ปริมาณกลีเซอรอลที่พบใน อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลมีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหาร โดยพบมากสุดในเม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับปริมาณอาหารมากที่สุด (0.063 ± 0.036 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อเยื่อ)

6.4 การศึกษาอัตราการใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อได้รับปริมาณอาหารมากขึ้น อัตราการใช้ออกซิเจนกลับลดลง โดยเม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งได้รับปริมาณอาหารน้อยที่สุดมีอัตราการใช้ออกซิเจนมากที่สุด (0.018 ± 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อกรัมน้ำหนักสดต่อชั่วโมง)

6.5 การศึกษาอัตราการตายตลอดระยะเวลา 12 สัปดาห์ เม่นทะเลในชุดการทดลองที่ 3 ที่ได้รับปริมาณอาหารมากที่สุดพบการตายน้อยที่สุด (ร้อยละ 20)

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

(1) ควรมีชุดควบคุมที่ได้รับอาหารอย่างเพียงพอ หรือการนำเม่นทะเลหนามดำในธรรมชาติมาเป็นตัวเปรียบเทียบ

(2) เม่นทะเลที่นำมาทดแทน ควรเป็นเม่นทะเลที่ถูกเลี้ยงในปริมาณอาหารเหมือนกับเม่นทะเลในชุดทดลองนั้น

(3) ไม่จำเป็นต้องใช้แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm เป็นอาหาร

บรรณานุกรม

กุลยา จันทร์อรุณ. 2533. เคมีอาหาร. ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการหน่วยศึกษานิเทศก์กรมการฝึกหัดครู. 315 หน้า.

ทิพามาศ อุปน้อย และวีระชาติ เพ็งจำรัส. 2551. ความชุกชุมของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในระบบนิเวศแนวปะการัง ของเกาะบริวารด้านใต้เกาะภูเก็ต. ภูเก็ต: สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน.

พรพิมล พิมลรัตน์, อัมรินทร์ ม่วงหีต, วีรชัย เพชรสุทธิ์ และนาตาลี อาร์ ใจเย็น. 2561. ผลของฤดูกาลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำบริเวณชายฝั่งทะเลละแม อำเภอละแม จังหวัดชุมพร. ใน **รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ One World One Ocean: New and More Value of the Seas.** น.785-795. โรงแรมบางแสนเฮอริเทจ, ชลบุรี.

Alsaffar, A.H. and K.P. Lone. 2000. "Reproductive cycles of Diadema setosum and Echinometra mathaei (Echinoidea: Echinodermata) from Kuwait (Northern Arabian Gulf)". Bulletin of Marine Science 67: 845-856.

Brey, T. 2010. "An empirical model for estimating aquatic invertebrate respiration". Methods in Ecology and Evolution 1: 92-101.

Bronstein, O. and A. Kroh. 2018. "Needle in a haystack-genetic evidence conrms the expansion of the alien echinoid *Diadema setosum* (Echinoidea: Diadematidae) to the Mediterranean coast of Israel". Zootaxa 4497(4): 593-599.

Burggren, W. and J. Roberts. 1991. Respiration and metabolism. In Environmental and Metabolic Animal Physiology. 4 th Edition. New York: WileyLiss Inc.

Byrne, M. 1990. "Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland". **Marian Biology** 104: 275-289.

Clark, A.M. and F.W.E. Rowe. 1971. "Monograph of shallow-water Indo-West Pacific echinoderms". Trustees of the British Museum (Natural History): London.

Cochran, R.C. and F. Engelmann. 1975. "Enviromental regulation of the annual reproductive season of *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson)". **Biology Bull** 148: 393-401.

Coppard, S. E. and A.C. Campbell. 2005. “Lunar periodicities of diadematid echinoids breeding in Fiji”. Coral Reefs 24: 324–332.

Dumont, C.P., I. Deschenes and J.H. Himmelman. 2008. “Multiple factors explain the covering behaviour in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*”. **Animal Behaviour** 73: 979-986.

Fenaux, L., G.C Malara Cellario, R. Charra, and I. Palazzoli. 1977. “Evolution des constituants biochimiques des principaux compartiments de l’oursin Arbacia lixula (L.) au cours duree cycle sexuel et e¡ets d’un jeune de courte dure¤ e au cours de la maturation sexuelle”. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 28: 17-30.

Fernandez, C. 1997. “Effect of diet on the biochemical composition of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) under natural and rearing conditions (Effect of diet on biochemical composition of urchins)”. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A** 118: 1377-1384.

Floreto, E.A.T., S.Teshima and M.Ishikawa. 1996. “The effect of seaweed diets on the growth, lipid and fatty acid of juveniles of the White sea urchins *Tripneustes*” **Fisheries Science** 62: 589-593.

Garrido, M. J., R.J. Haroun and H.A. Lessios. 2000. “Annual reproductive periodicity of the sea urchin *Diadema antillarum* Philippi in the Canary Islands” **Bulletin of Marine Science** 67: 989–996.

Garrido, C.L. and B.J. Barber. 2001 “Effect of temperature and food ration on gonad growth and oogensis of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*” **Marine Biology** 138: 447 – 456.

Gonzalez, K., J. Gaitan-Espitia, A. Font, C.A. Cardenas and M. Gonzalez-Aravena. 2016. “Expression pattern of heat shock proteins during acute thermal stress in the Antarctic sea urchin, *Sterechinus neumayeri*”. **Revista Chilena de Historia Natural** 89(1) 1-9.

Gonzalez, M., R. Urtubia, K.C. Del, P. Lavin, C. Wong and C. Cardenas. 2016. “Antibiotic and metal resistance of cultivable bacteria in the Antarctic sea urchin”. **Antarctic Science** 17: 603-616

Hori, R., V.P. Phang and T.J. Lam. 1987. “Preliminary study on the pattern of gonadal development of the sea urchin, *Diadema setosum*, off the coast of Singapore”. **Zoology Science** 4: 665–673.

Hughes, T.P., J.T. Kerry, M.Alvarez-Noriega and J.G. Alvarez-Romero. 2017. “Global warming and recurrent mass bleaching of corals”.**Nature** 543: 373-377.

Iliffe, T. M. and J.S. Pearse. 1982. “Annual and lunar reproductive rhythms of the sea urchin, *Diadema antillarum* (Philippi) in Bermuda”. ***International Journal of Invertebrate*** **Reproduction** 5: 139–148.

Ishikawa T, M. Maegawa and A. Kurashima. 2016. “Effect of sea urchin (Diadema setosum) density on algal composition and biomass in cage experiments”. **Plankton Benthos Research** 11: 112–119.

Johansen, K. and R. L. VADAS. 1967. “Oxygen uptake and responses to respiratory stress in sea urchins”. Biology Bulletin 132: 16-22.

Koehn, R.K. and B.L. Bayne. 2009. “Towards a physiological and genetical understanding of the energetics of the stress response”. Biological Journal of the Linnean Society 37: 157–171.

Lane, J.M. and J. M. Lawrence. 1979. “Gonadal growth and gametogenesis in the sand doller Mellita quinquiesperjorata (Leske, 1778)”. The Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 38: 271-285.

Lawrence, J.M. and L. Hughes-Games. 1972. “The diurnal rhythm of feeding and passage of food through the gut of *Diadema setosum* (Echinodermata: Echinoidea)”. **Zoology** 21: 13-16.

Lawrence, J.M., L.R. Plank and A.L. Lawrence. 2003 “The effect of feeding frequency on consumption of food, absorption efficiency, and gonad production in the sea urchins *Lytechinus variegatus*”. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A** 134: 69-75.

Lee, M.C., J.C. Park. and J.S. Lee. 2018. “Effects of environmental stressors on lipid metabolism in aquatic invertebrates”. **Aquatic Toxicology** 200: 83–92.

Lessios, H.A. 1981. “Reproductive periodicity of the echinoid Diadema and Echinometra on two coast of Panamá”. The Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 80: 47–61.

Lessios, H.A., B.D. Kessing and J.S. Pearse. 2001. “Population structure and speciation in tropical seas: global phylogeography of the sea urchin Diadema”. Evolution 55: 955–975.

Martínez-Pita, I., G.J. Francisco and P. María-Luisa. 2010. “Males and females gonad fatty acids of the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* (Echinodermata)”. **Helgoland Marine Research** 64: 135–142.

Mcbride, S.C., W.D. Pinnix, J.M. Lawrence, A.L. Lawrence and T.M. Mulligan. 1997. “The effect of temperature on production of gonads by the sea urchins *Strongylocentrotus franciscanus* fed natural and prepared diets” **World aquaculture society** 28: 357 – 365.

Mcpherson, B.F. 1968. “Feeding and oxygen uptake of the tropical sea urchin *Eucidaris tribuloides* (Lamarck)”. **Biological Bulletin** 135: 308-321.

McClanahan, T.R. 1988. “Kenyan coral reef-associated gastropod fauna: a comparison between protected and unprotected reefs”. Marine Ecology Progress Series 53: 11–20.

Meidel, S.K. and R.E. Scheibling. 1999 “Effects of food type and ration on reproductive maturation and growth of the sea urchin *Strongylocentritus droebachiensis*” **Marine Biology** 134: 155-156.

Minor, M.A. and R.E. Scheibling. 1997. “Effects of food ration and feeding regime on growth and reproduction of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*” **Marine Biology** 129: 159-167.

Moore, A., S. Ndobe, R. Ambo-Rappe, J. Jompa and I. Yasir. 2019. “Dietary preference of key microhabitat *Diadema setosum*: a step towards holistic Banggai cardinalfish conservation” **Earth and environmental Science** 235: 1-8.

Muthiga, N.A. 2003. “Coexistence and reproductive isolation of the sympatric echinoids Diadema savignyi Michelin and *Diadema setosum* (Leske) on Kenyan coral reefs”. **Marine Biology** 143: 669–677.

Muthiga, N.A. and T.R. McClanahan. 2007. Ecology of Diadema. In J.M. Lawrence (ed.). Edible Sea Urchins: Biology and Ecology.Elsevier: Amsterdam.

Pathirana, C.L., F. Shahidi and A. Whittick. 2002. “The effect of an artificial diet on the biochemical composition of the gonad of the sea urchin (*Strongylocentrotus drobachiensis*)” **Food Chemistry** 79: 461-472.

Pearse, J. S. 1968. “Patterns of reproductive periodicities in four species of indo-pacific echinoderms”. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B** 67: 247–279.

Pearse, J.S., S.W. Arch. 1969. “The aggregation behavior of *Diadema* (Echinodermata, Echinoidea)”. **Micronesia** 5: 165–171.

Pennington, T. J. 1985. “The ecology of fertilization of echinoid eggs: The consequences of sperm dilution, adult aggregation and synchronous spawning”. **Biological Bulletin** 169: 417–430.

Pearse, J.S., R.A. Cameron. 1991. Echinodermata: Echinoidea. In: A.C. Giese,J.S. Pearse, (ed). Echinodermata. Blackwell Scientific. Palo Alto: Calif.

Pearse, J.S. 1970.” Reproductive periodicities of Indo-Pacific invertebrates in the Gulf of Suez. III. The echinoid *Diadema setosum* (Leske)”. **Bullerin Marien Science** 20: 697–720.

Pearse, V.B. Reproduction of Marine Invertebrates.vol. 6. The Boxwood Press, Pacific Grove.

Poorbagher, H., M.D. Lamare, M.F. Barker and W. Rayment. 2010. "Relative importance of parental diet versus larval nutrition on development and phenotypic plasticity of *Pseudechinus huttoni* larvae (Echinodermata: Echinoidea)". **Marine Biology Research** 6: 302–314.

Randall, J.E., R. Schroeder and W. Starck. 1964. "Notes on the biology of the echinoid Diadema antillarum". Caribbean Journal of Science 4: 421–433.

Robertson, D.R. 1991. "Increases in surgeonfish populations after mass mortality of the sea urchin *Diadema antillarum* in Panama indicate food limitation". Marine Biology 111: 437–44.

Scheibling, R.E. and S.X. Anthony. 2001. "Feeding, growth and reproduction of sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*) on single and mixed diets of kelp (Laminaria spp.) and the invasive alga Codium fragile spp. tomentosoides" **Marine biology** 139: 139 – 146.

Siikavuopio, S.L., A. Mortensen and J.S. Christiansen. 2008. "Effect of body weight and temperature on feed intake, gonad growth and oxygen consumption in green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*". **Aquaculture** 281: 77-82.

Ulbricht, R.J. 1974. "Effect of temperature acclimation on the metabolic rate of sea urchins". **Marine Biology** 19: 273 – 277.

Webster, S.K. and A.C. Giese. 1975. "Oxygen consumption of the purple sea urchin with special reference to the reproductive cycle". Biology Bulletin 148: 165-180.

Yeemin T, C. Saenghaisuk, M. Sutthacheep, S. Pengsakun, W. Klinthong and K. Saengmanee. 2009 "Conditions of coral communities in the Gulf of Thailand: a decade after the 1998 severe bleaching event". **Galaxea** 11:207-217.

ภาคผนวก ก.

ข้อมูลดิบ

ตารางภาคผนวก ก.1 น้ำหนักและเส้นผ่านศูนย์กลางแม่นทะเลหนามดำก่อนเริ่มการทดลอง

Treatment	Replication	Ind. No.	Tank	Initial weight	mean initial wt	Initial diameter
1	1	1	1	58		49.3
1	1	2	1	54	59.33333333	51.6
1	1	3	1	66		51.2
1	1	4	1			
1	1	5	1			
1	2	1	4	32		35.3
1	2	2	4	23	26	33.4
1	2	3	4	23		34.1
1	2	4	4			
1	3	1	10	19		32.3
1	3	2	10	15	18.66666667	32.5
1	3	3	10	22		34.2
1	4	1	12	31		41.2
1	4	2	12	30	32.66666667	40.5
1	4	3	12	37		41.6
1	4	4	12			
1	5	1	14	20		34.1
1	5	2	14	18	18.66666667	32.2
1	5	3	14	18		29.8
2	1	1	3	46		48.5
2	1	2	3	49	47	49.2
2	1	3	3	46		46.4
2	1	4	3			
2	2	1	6	45		46.2
2	2	2	6	41	43.33333333	44.1
2	2	3	6	44		45.5
2	2	4	6			
2	3	1	7	47		44.6
2	3	2	7	52	52.66666667	49.4
2	3	3	7	59		52.3
2	3	4	7			
2	3	5	7			
2	4	1	8	36		42.1
2	4	2	8	38	37	42.4
2	4	3	8	37		39.5
2	4	4	8			
2	5	1	11	25		32.8
2	5	2	11	25	28	35.1
2	5	3	11	34		35.2

3	1	1	2	34		43.4
3	1	2	2	45	39	48.7
3	1	3	2	38		45.1
3	1	4	2			
3	2	1	5	56		52
3	2	2	5	56	58	49.9
3	2	3	5	62		55.3
3	2	4	5			
3	2	5	5			
3	3	1	9	55		47.3
3	3	2	9	54	50	49.6
3	3	3	9	41		42.1
3	4	1	13	31		37.4
3	4	2	13	31	30	38.1
3	4	3	13	28		27.6
3	5	1	15	35		36.2
3	5	2	15	42	38	38.4
3	5	3	15	37		35.7

ตารางภาคผนวก ก.2 การตายของแม่นทะเลหนามดำระหว่างการตาย

Tank	Dead
1	2
2	1
3	1
4	1
5	2
6	1
7	2
8	1
9	0
10	0
11	0
12	1
13	0
14	0
15	0

ตารางผนวก ก.3 น้ำหนัก เส้นผ่านศูนย์กลาง ความสูง น้ำหนักอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และดัชนีความสมบูรณ์เพศของเม่นทะเลหนามดำ

Tank	Weight (g.)	Diameter (mm.)	High(mm.)	Gonad weight (g.)	Gonad Index
1	28.04	37.2	23.1	2.8	9.98
2	44.46	39.5	27.2	1.29	2.90
3	25.12	39.8	10.5	0.7	2.78
4	15.56	29.1	10.7	0.12	0.77
5	20.3	33.6	19.6	0.4	1.97
6	19.31	40	16.2	0.26	1.34
7	19.91	29.9	21	0.49	2.46
8	25.82	34.6	20.8	0.38	1.47
9	23.11	42.2	19.2	0.33	1.42
10	12.46	29.2	16.4	0.28	2.24
11	21.21	32.2	17.3	0.15	0.70
12	10.16	25.1	12.4	0.04	0.39
13	15.77	34.6	17.8	0.21	1.33
14	16.3	30.8	17.6	0.26	1.59
15	17.14	36	17.3	0.3	1.75

ตารางผนวก ก.4 อัตราการใช้ออกซิเจนของเม่นทะเลหนามดำที่อุณหภูมิ 27องศาเซลเซียส

Urchin number	weight (g)	test diameter (mm)	height (mm)	treament urchin was put into	tank number	temp 1(องศาเซลเซียส)	read 1(mg/L)	read 2	read 3	read 4	read 5	read 6	read 7(mg/L)	temp 7(องศาเซลเซียส)
1	28.06	37.2	23.1	1/3	1	26.4	5.87	5.8	5.72	5.61	5.54	5.37	5.3	27
2	44.46	39.5	27.2	1	2	26.4	5.88	5.72	5.65	5.54	5.42	5.21	5.14	27
3	25.12	39.8	19.5	2/3	3	26.4	5.78	5.88	5.85	5.76	5.72	5.57	5.52	26.9
4	15.56	29.1	10.7	1/3	4	26.9	6.09	5.99	5.93	5.86	5.82	5.76	5.7	27.2
5	20.3	33.6	19.6	1	5	26.9	6.03	5.92	5.9	5.88	5.78	5.68	5.61	27.1
blank	~	~	~	~	~	26.9	6.07	5.95	5.95	5.93	5.85	5.87	5.85	27.1
6	19.31	40	16.2	2/3	6	27.5	5.72	5.72	5.65	5.62	5.62	5.62	5.55	27.4
7	19.91	29.9	21	2/3	7	27.5	5.61	5.63	5.57	5.52	5.47	5.46	5.34	27.4
8	25.82	34.6	20.8	2/3	8	27.5	5.66	5.72	5.62	5.61	5.58	5.6	5.51	27.3
9	23.11	42.2	19.2	1	9	26.7	5.87	5.84	5.81	5.71	5.75	5.66	5.67	26.7
10	12.46	29.2	16.4	1/3	10	26.7	5.9	5.88	5.85	5.74	5.78	5.69	5.73	26.6
blank	~	~	~	~	~	26.7	5.87	5.88	5.88	5.8	5.83	5.76	5.82	26.6
11	21.21	32.2	17.3	2/3	11	27.1	5.65	5.56	5.54	5.43	5.46	5.43	5.39	27
12	10.16	25.1	12.4	1/3	12	27.1	5.65	5.6	5.61	5.53	5.55	5.56	5.55	27
13	19.77	34.6	17.8	1	13	27.1	5.66	5.63	5.63	5.54	5.57	5.6	5.59	27
14	16.3	30.8	17.6	1/3	14	26.4	5.8	5.73	5.75	5.58	5.7	5.63	5.6	26.5
15	17.14	36	17.3	1	15	26.4	5.8	5.77	5.82	5.63	5.74	5.65	5.66	26.5
blank	~	~	~	~	~	26.4	5.81	5.78	5.83	5.66	5.8	5.73	5.74	26.5

ตารางผนวก ก.5 อัตราการใช้ออกซิเจนของเม่นทะเลหนามดำที่อุณหภูมิ 31องศาเซลเซียส

Urchin number	weight (g)	treament urchin was put into	tank number	temp 1(องศาเซลเซียส)	read 1(mg/L)	read 2	read 3	read 4	read 5	read 6	read 7(mg/L)	temp 7(องศาเซลเซียส)
1	27.22	1/3	1	31.1	5.59	5.57	5.54	5.51	5.43	5.39	5.37	30.8
2	21.19	1	2	31.1	5.45	5.44	5.44	5.45	5.4	5.39	5.38	30.9
3	19.98	2/3	3	31.1	5.42	5.4	5.38	5.37	5.3	5.27	5.24	30.8
4	9.85	1/3	4	31.4	5.05	5.01	5	4.97	4.97	5.02	4.97	31.3
5	39.99	1	5	31.4	5	4.94	4.79	4.32	4.62	4.69	4.61	31.3
blank	~	~	~	31.3	5.17	5.13	5.14	5.11	5.09	5.13	5.1	31.2
6	20.51	2/3	6	31	5.44	5.4	5.35	5.31	5.3	5.24	5.2	31.2
7	24.51	2/3	7	31.3	5.32	5.24	5.27	5.24	5.25	5.19	5.17	31.1
8	26.51	2/3	8	31	5.52	5.28	5.25	5.18	5.11	5.03	4.98	31.2
9	36.65	1	9	31.4	4.78	4.67	4.65	4.6	4.61	4.48	4.43	31.2
10	10.24	1/3	10	31	5.14	5.11	5.06	5.02	5.01	4.97	4.95	31.1
blank	~	~	~	31.4	5.05	5	5.03	5.04	5.07	5	5.03	31.1
11	18.71	2/3	11	30.9	5.33	5.32	5.24	5.2	5.17	5.09	5.01	31
12	24.41	1/3	12	30.8	5.3	5.29	5.22	5.19	5.16	5.1	5.01	31
13	19.11	1	13	30.8	5.31	5.3	5.22	5.18	5.13	5.06	4.97	31
14	13.7	1/3	14	31.3	4.96	4.94	4.93	4.92	4.89	4.84	4.84	31
15	31.91	1	15	31.2	4.93	4.87	4.84	4.77	4.7	4.61	4.6	31
blank	~	~	~	31.2	5.03	5.01	5.01	5.01	4.98	4.97	5	31

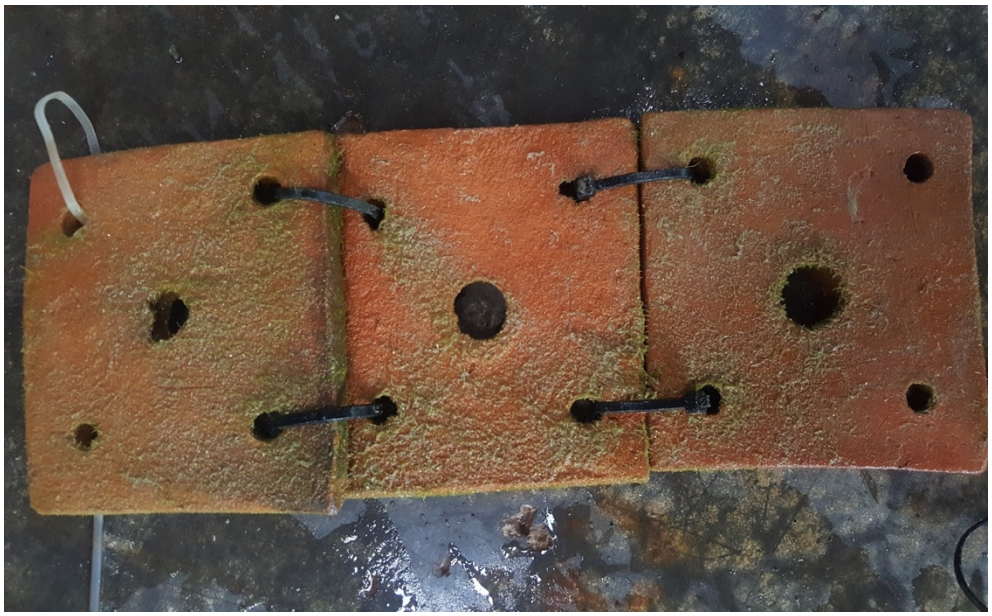
ภาคผนวก ข
ภาพที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง

ภาพภาคผนวก ข.1 เม่นทะเลหนามดำในห่อพัก

ภาพภาคผนวก ข.2 การนำเม่นทะเลหนามดำมาพักในบ่อพักหลังจากการรวบรวม

ภาพภาคผนวก ข.3 สาหร่าย *Sagrassum polycystum*

ภาพภาคผนวก ข.4 สาหร่าย *Padina australis*



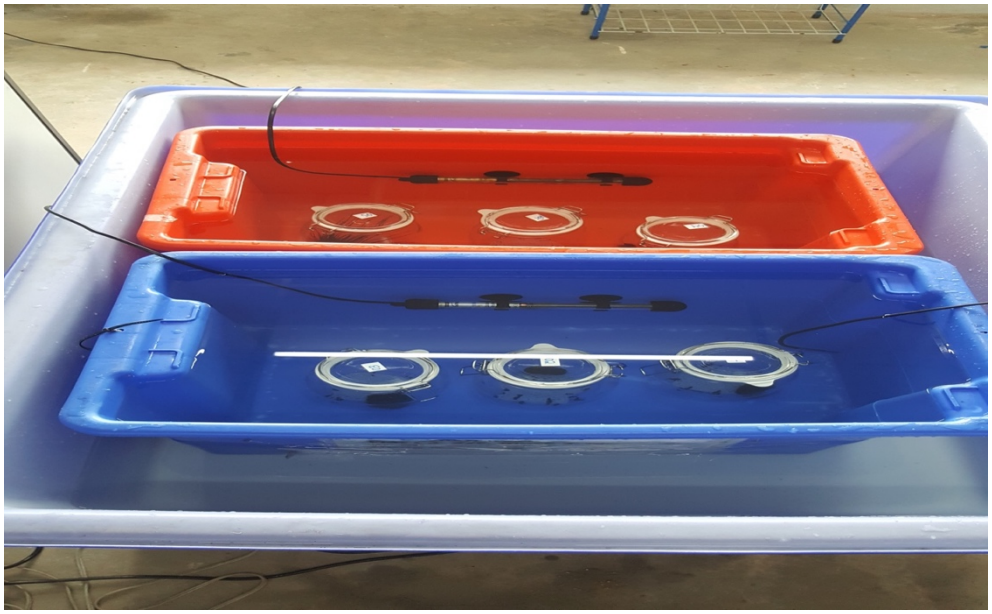
ภาพภาคผนวก ข.5 แผ่นกระเบื้องที่มี biofilm

ภาพภาคผนวก ข.6 การรวบรวมอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์เม่นทะเลหนามดำ

ภาพภาคผนวก ข.7 ขวดสูญญากาศ

ภาพภาคผนวก ข.8 การพักแม่นทะเลก่อนเริ่มวัดอัตราการใช้ออกซิเจน

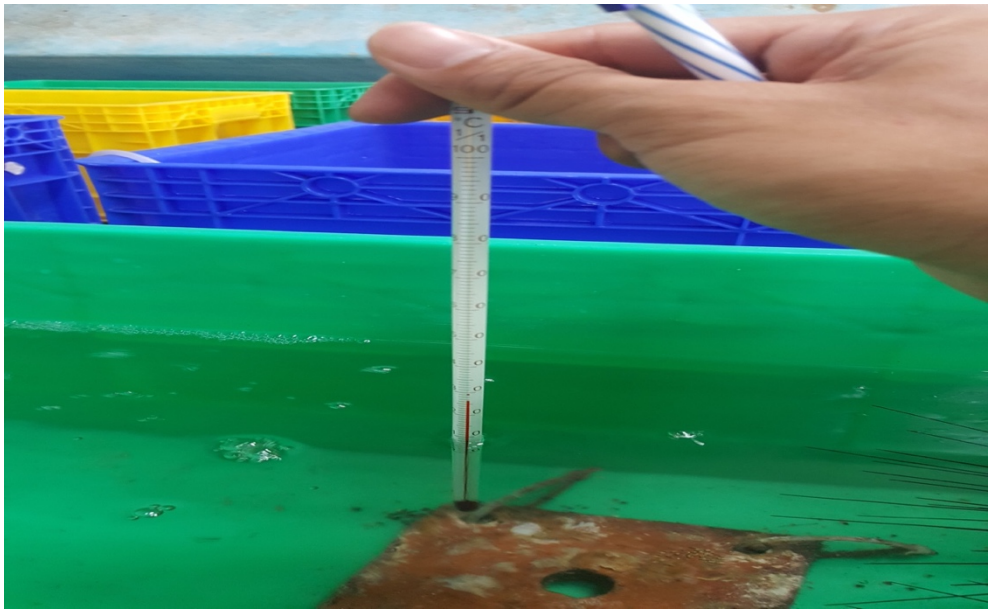
ภาพภาคผนวก ข.9 เครื่อง Presens precision sensing gmbh fibox4



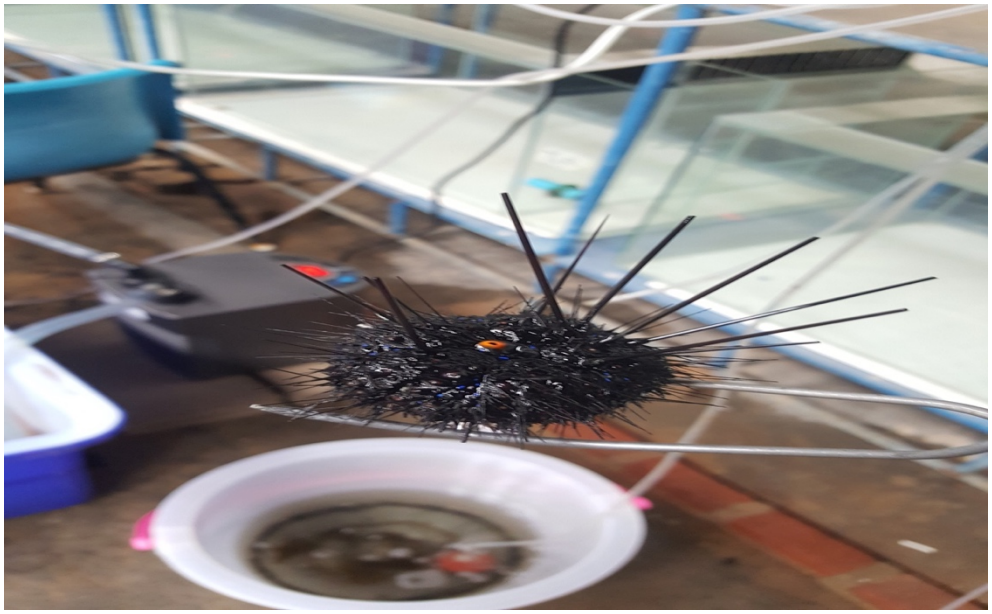
ภาพภาคผนวก ข.10 การวัดการบริโภคออกซิเจน

ภาพภาคผนวก ข.11 gonad ของแม่นทะเลหนามดำ

ภาพภาคผนวก ข.12 แม่นทะเลหนามดำที่ตายแล้วถูกรวบรวมและจดบันทึก

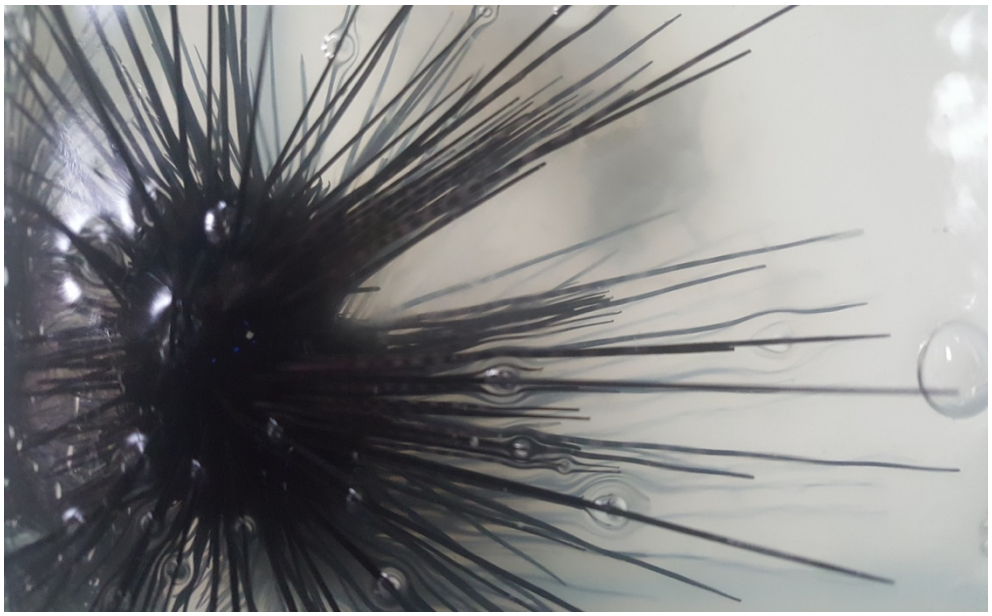


ภาพภาคผนวก ข.13 วัดอุณหภูมิ

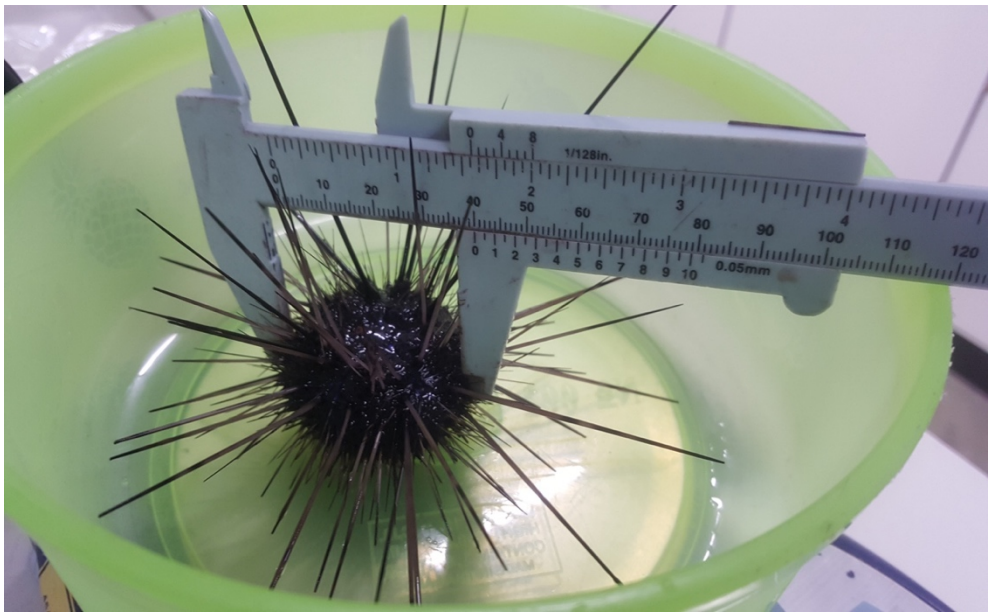


ภาพภาคผนวก ข.14 เม่นทะเลหนามดำที่หนามที่การหักและหลุดออก

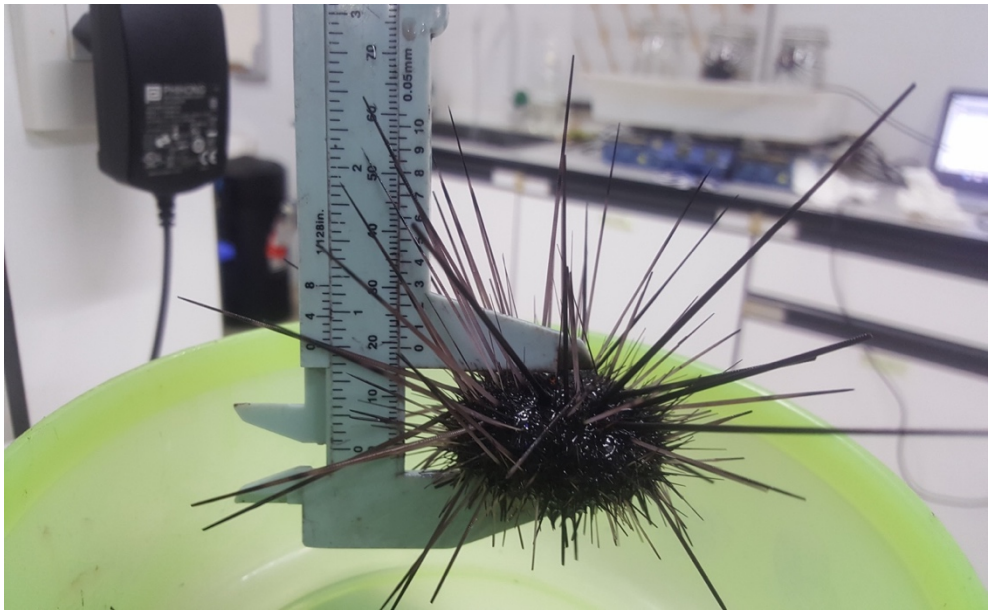
ภาพภาคผนวก ข.15 เม่นทะเลหนามดำที่ตายก่อนเริ่มการทดลอง



ภาพภาคผนวก ข.16 การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของเม่นทะเลหนามดำ



ภาพภาคผนวก ข.17 การวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเม่นทะเลหนามดำ



ภาพภาคผนวก ข.18 การวัดส่วนสูงเม่นทะเลหนามดำ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล ว่าที่ ร.ต.เกรียงไกร เตชะโกสิต

วัน เดือน ปีเกิด 17 มกราคม 2537

ที่อยู่ 6ซ.10 เกษมสำราญ2 แขวงพระโขนงเหนือ เขตวัฒนา กทม.10110

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2555 - 2559 ปริญญาตรีภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559 -ปัจจุบัน กำลังศึกษาปริญญาโทภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง