

847.7545

15255

73

การศึกษาออร์โมนลอกกราบจากคักแค้ใหม่ และผลของอาหารผสมคักแค้ใหม่
ที่มีต่อการรอดและขั้นตอนของการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

18 ส.ค. 2526

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ 11 โทร. 3921575, 3915058

ปริญญานิพนธ์

ของ

นารีวิลาส กิจวิธิ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

ตุลาคม 2525

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

150940

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิต และคณะกรรมการสอบ ได้พิจารณา
ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการที่ปรึกษา

คณะกรรมการสอบ

อรรถ พงษ์เอก
ศาสตราจารย์
อรรถ พงษ์เอก

ประธาน

กรรมการ

กรรมการ

อรรถ พงษ์เอก

ประธาน

อรรถ พงษ์เอก

กรรมการ

อรรถ พงษ์เอก

กรรมการ

อรรถ พงษ์เอก

กรรมการ

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลงด้วยความช่วยเหลือและคำแนะนำอย่างดียิ่งจาก
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันต์ พณิชกุล ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์สมคิด เกษรสมบุญ ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และอาจารย์สมเกียรติ ปิยะธีรชิตีวรกุล
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรรมการ
ท่านอาจารย์ทั้งสามได้กรุณาให้คำปรึกษา และแนะนำในด้านการค้นคว้าทดลอง และได้
กรุณาตรวจแก้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้
 ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต ภาควิชา
วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความ
อนุเคราะห์แม่พันธุ์กุ้งก้ามกราม พร้อมทั้งให้คำปรึกษาเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณประคอง พันธุ์ไร และคุณอุษาวดี ถาวรระ แห่ง
กองกัญญาวิทยาทางแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่กรุณาให้ใช้เครื่องมือทำการทดลอง
พร้อมทั้งให้คำปรึกษา และแนะนำ เกี่ยวกับวิธีการทดลองเป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณ
ดร.อภิชาติ สุขสำราญ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง
ที่กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการทดลอง

ขอขอบคุณ คุณอุบล จำรูญรัตน์ แห่งโรงงานกรุงเทพอาหารสัตว์ ที่กรุณาตรวจหา
ปริมาณโปรตีนในอาหาร คุณณฤมล เรืองฤทธินนท์ นิสิตปริญญาโทภาควิชาชีวเคมี
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และคุณสมนึก สถิตย์สุนทร ที่ให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับการจัด
หาอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอน้อมรำลึกถึงพระคุณของ คุณพ่อ คุณแม่ ตลอดจนเจ้านี่ ๆ และ
น้องทุกคนที่เป็นกำลังใจอันสูงสุด และให้การสนับสนุนการศึกษาของผู้วิจัยมาโดยตลอด

นารีวิลาส กิจวิจิ

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	3
ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	3
ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	4
2 เอกสารการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
3 วิธีดำเนินการทดลอง	26
การทดลองวัดแอกทีวิตีและปริมาณของฮอร์โมนออกคราบ	26
การสกัดฮอร์โมนออกคราบจากคักแคใหม่	29
การทดลองเลี้ยงดูลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน	32
4 ผลการทดลอง	44
ผลการทดลองวัดแอกทีวิตีของสารมาตรฐาน เบตา-เอคโดโน	44
ผลการสกัดการทดลองวัดแอกทีวิตี และปริมาณของฮอร์โมน ออกคราบจากคักแคใหม่	47
ผลของอาหารผสมคักแคใหม่ที่มีต่อขั้นตอนการเจริญ และการรอด ของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน	51
5 สรุปผล อภิปรายผล และขอเสนอแนะ	76
สรุป และอภิปรายผลการทดลอง	76
ขอเสนอแนะ	86
บรรณานุกรม	88
ภาคผนวก	95

บัญชีการาง

การาง	หน้า
1 วิตามินรวม	37
2 แร่ธาตุรวม	38
3 แสดงส่วนประกอบของอาหารสูตรต่าง ๆ	40
4 แสดงผลการทดลองวัดแอกทีวี่ของสารมาตรฐานเบตา-เอกลโคโซน	45
5 แสดงแอกทีวี่ของสารมาตรฐานเบตา-เอกลโคโซน	47
6 แสดงแอกทีวี่และปริมาณฮอร์โมนลอกกราบจากสารสกัดของคักแคใหม่	50
7 แสดงผลการวิเคราะห์คุณค่าอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน	53
8 ขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาร์ทีเมียและอาหารสูตร	55
9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนสำหรับอาหารแต่ละชนิด	59
10 การเปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาร์ทีเมียและอาหารสูตร	60
11 แสดงความยาวเป็นมิลลิเมตรของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาร์ทีเมียและอาหารสูตร	61
12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาหาร 4 ชนิด	65
13 การเปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาหาร 4 ชนิด	65
14 แสดงความยาวที่เพิ่มขึ้นเป็นมิลลิเมตรทุก ๆ 2 วันของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาหาร 4 ชนิด	66

15	แสดงความยาวเป็นมิลลิเมตรที่เปลี่ยนไปในแต่ละขั้นตอนการเจริญ ของงูกล้ามเนื้อที่เลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด	69
16	การวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างความยาวและขั้นตอน การเจริญของงูกล้ามเนื้อที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เมียบ และ อาหารสูตร	72
17	เปอร์เซ็นต์การรอดของงูกล้ามเนื้อ หลังจากเลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด เป็นเวลา 37 วัน	74
18	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ เปอร์เซ็นต์การรอดของงูกล้ามเนื้อ วันนอน	74
19	การเปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ เปอร์เซ็นต์การรอดของงูกล้ามเนื้อที่เลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด	75
20	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวน	97
21	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทิศทางเดียว	99
22	การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม	100

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงการทำงานของฮอร์โมนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ในแมลง	6
2 ตัวอย่างของฮอร์โมนดอกกราบที่สกัดได้จากพืชและสัตว์	10
3 การเปรียบเทียบโครงสร้างของโคเลสเตอรอล แอลฟา และเบตา เอกลโคโซน	12
4 แสดงระบบการเพาะเลี้ยงกิ่งกามกรามวัยอ่อนบนน้ำหมุนเวียนนิก	35
5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับแอลคิวิตี ของสารมาตรฐานเบตา-เอกลโคโซน	48
6 แสดงรูปแบบของแอลคิวิตีของฮอร์โมนดอกกราบ เมื่อแยกโดยวิธี คอลัมน์โครมาโทกราฟี	52
7 แสดงขั้นตอนการเจริญของกิ่งกามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาร์ทีเมีย และอาหารสูตร	58
8 แสดงความยาวของกิ่งกามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาร์ทีเมีย และ อาหารสูตร	63
9 แสดงอัตราความยาวที่เพิ่มขึ้นของกิ่งกามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงควย อาร์ทีเมีย และอาหารสูตร	68
10 แสดงความยาวที่เปลี่ยนแปลงไปตามขั้นตอนการเจริญของกิ่งกามกราม วัยอ่อนที่เลี้ยงควยอาร์ทีเมีย และอาหารสูตร	70

บัญชีแผนภาพ

แผนภาพ	หน้า
1 แสดงขั้นตอนการสกัดออร์โมนออกจากรากกล้วย	13
2 แสดงวงจรชีวิตของ ^๒ ^๒ กุ้งก้ามกราม	23
3 แสดงขั้นตอนการสกัดกล้วย	31

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันนี้เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปแล้วว่า อาหารประเภทโปรตีนนั้นวันจะมีราคาสูงขึ้นเรื่อย ๆ และปริมาณที่ผลิตได้ก็มีแนวโน้มที่จะไม่พอเพียงแก่ความต้องการ สัตว์น้ำเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งนับวันจะลดจำนวนลง (สมศักดิ์ สิงหลกะ 2517 : 1) กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) เป็นกุ้งน้ำจืดที่มีขนาดใหญ่ จัดอยู่ในอาหารประเภทสัตว์น้ำชั้นดี ราคาสูง เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย ตลาดมีความต้องการมากโดยไม่จำกัดปริมาณทั้งภายในและภายนอกประเทศ จากรายงานผลการสำรวจสินค้ากุ้งชนิดนี้ที่จับได้จากแหล่งน้ำเพื่อจำหน่ายในตลาดทั่วประเทศ มีจำนวนไม่น้อยกว่า 700 ตัน มูลค่าประมาณ 40 ล้านบาทต่อปี จึงนับได้ว่ากุ้งชนิดนี้เป็นชลสมบัติที่มีคุณค่าในทางเศรษฐกิจยิ่งชนิดหนึ่งของประเทศไทย (เชิดชาย อมาตยกุล และธีระพันธ์ ภูคาสวรรค 2517 : 8)

ปัจจุบันปริมาณของกุ้งก้ามกรามในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องมาจากการสร้างเขื่อนขวางกั้นการอพยพย้ายถิ่น (migration) น้ำเสีย และการประมงกุ้งก้ามกรามที่เพิ่มขึ้นตามความต้องการของตลาด (สมเกียรติ ปิยะธีรจิตวิกรกุล 2522 : 1) จากแนวโน้มดังกล่าว ทำให้ราคากุ้งก้ามกรามสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว จากราคากิโลกรัมละ 50 บาท ในปี พ.ศ. 2515 เป็นกิโลกรัมละ 180 - 200 บาท ในปี พ.ศ. 2523 โดยเฉพาะตลาดต่างประเทศ เช่น สิงคโปร์ และฮาวาย ราคากุ้งก้ามกรามสูงถึงกิโลกรัมละ 250 - 260 บาท (สมบุญ อนันตลาโภชัย 2523 : 2) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามให้มีผลผลิตสูงขึ้นชดเชยกับปริมาณของกุ้งก้ามกรามที่ลดลงในธรรมชาติ

กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์ในไฟลัม อาร์โทพอด (Phylum Arthropoda) คลาส ครัสเตเชียน (Class Crustacean) ดังนั้นการเจริญเติบโตจึงต้องขึ้นอยู่กับการลอก

คราบเป็นสำคัญ เช่นเดียวกับสัตว์จำพวกแมลง (Horn and others. 1968 : 399 citing Gabc. 1953) สฮอร์โมนที่กระตุ้นให้เกิดการลอกคราบได้คือ สฮอร์โมนลอกคราบ (molting hormones) หรืออาจเรียกว่า เอกไดโซน (ecdysones) ซึ่งเป็นสารพวกสเตอรอยด์ (steroid) สามารถละลายได้ในน้ำ (พุดังค์ วรวิ 2515 : 19 - 20) คานาซาวา และคนอื่น ๆ (Kanazawa and others. 1971 : 494 - 954) ได้ทำการทดลองพบว่ากุ้งมีความต้องการสารสเตอรอยด์ เพื่อการเจริญเติบโต เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์สารนี้ได้ จึงต้องมีการนำเข้าสู่จากภายนอก และพบว่าอาหารทุกชนิดที่มี เอกไดโซนน้อยทำให้อัตราการเจริญของกุ้งต่ำ

สฮอร์โมนลอกคราบ หรือเอกไดโซนนี้สามารถสกัดได้ทั้งจากพืช และสัตว์ จากการศึกษพบว่าในตัวไหม (Silkworm, Bombyx mori) มีเอกไดโซนอยู่หลายชนิด เช่น แอลฟา-เอกไดโซน (α -ecdysone) เบตา-เอกไดโซน (β -ecdysone) เป็นต้น (Karlsen. 1956 : 234 - 241) ในประเทศไทยมีการเลี้ยงไหมอย่างแพร่หลายทั่วไป โดยเฉพาะแถบภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ จากรายงานการเลี้ยงไหม ปี พ.ศ. 2522 พบว่า จำนวนครัวเรือนของประชาชนที่เลี้ยงไหม มีถึง 515, 693 ครัวเรือน (กรมส่งเสริมการเกษตร 2522 : 1) ในการผลิตไหมนั้นสิ่งพลอยได้ที่สำคัญคือ คักแด่ไหม ซึ่งในต่างประเทศมีการใช้ประโยชน์จากคักแด่ไหมกันมาก เช่น ใช้เลี้ยงสัตว์ หรือสกัดเอาน้ำมันมาทำสบู่ เป็นต้น ในประเทศไทยยังไม่มี การนำสิ่งพลอยได้นี้มาใช้ประโยชน์กันมากนัก (อรอุไร 2514 : 109 - 110) จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและไขมันของคักแด่ไหม พบว่ามีโปรตีนประมาณร้อยละ 56 ไขมันประมาณร้อยละ 25 ซึ่งนับว่าคักแด่ไหมเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญอย่างหนึ่ง จากการศึกษาของ ฮีสมีทส์ และคนอื่น ๆ (Hysmith and others. 1972 : 365 - 388) พบว่า อาหารที่มีโปรตีนสูงสามารถใช้เลี้ยงกุ้งบราวน์ ชริม (Brown shrimp, Penaeus aztecus) ให้มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูงกว่าอาหารที่มีโปรตีนต่ำ

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่จะได้ทำการศึกษา เพื่อหาสูตรอาหารที่มีคุณค่าและมีราคาถูก ซึ่งเหมาะสมเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยง ลูกกุ้งก้ามกราม

วัยอ่อน ให้มีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดสูง อีกทั้งเป็นการนำเอาสิ่งพลอยได้จากการอุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิดประโยชน์และคุณค่ามากยิ่งขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะได้ศึกษาถึงสอร์โบนลอกกราบ ในตัวคักแค้ใหม่ที่เกิดขึ้นภายในประเทศ รวมทั้งศักยภาพของการนำเอาคักแค้ใหม่มาประยุกต์เพื่อใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนอีกด้วย และในประเทศไทยก็ยังไม่มีการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษานี้มาก่อนเลย

จุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาวิธีวัด แอคติวิตี (activity) และปริมาณของสอร์โบนลอกกราบ จากคักแค้ใหม่
2. เพื่อศึกษาวิธีสกัดสอร์โบนลอกกราบจากคักแค้ใหม่
3. ศึกษาผลกระทบของการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมคักแค้ใหม่

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. ทำให้ทราบถึงเทคนิคและวิธีการที่ใช้ในการสกัด รวมถึงวิธีวัดแอคติวิตี และปริมาณของสอร์โบนจากคักแค้ใหม่
2. เป็นการนำเอาสิ่งพลอยได้จากการเลี้ยงไหมมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น
3. ทำให้ทราบถึงเทคนิคการเพาะเลี้ยงและการเตรียมอาหารเพื่อใช้เพาะเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน
4. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ หรือพัฒนาเทคนิคใหม่ ๆ เพิ่มเติมเพื่อให้ได้สูตรอาหารที่ทำให้ลูกกุ้งเจริญเติบโตได้ดีขึ้น
5. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. คักแค้ไหมที่ใช้ในการศึกษา เป็นพันธุ์ลูกผสม จีน-ญี่ปุ่น ซึ่งได้ผ่านการสาวไหมออกแล้ว อบอุ่นให้แห้งด้วยไอน้ำ จากศูนย์อบรมและวิจัยไหมนครราชสีมา
2. ในการสกัดใช้ เมทานอล เฮกเซน น้ำ เอซิลอะซีเตต และโคเอทิลอีเทอร์ เป็นตัวทำละลาย
3. การทดสอบหาแอกติวิตีและปริมาณของฮอโมนลอกคราบในสารสกัดที่ได้จากคักแค้ไหม จะใช้วิธีทดสอบกับหนอนแมลงวันบ้าน (*Musca domestica* L.) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเบตา-เอคโดโนน (β - ecdysone) ซึ่งมีความบริสุทธิ์ประมาณ 95% (บริษัทชิกมา สหรัฐ)
4. กุ้งก้ามกรามที่ใช้ในการทดลอง ใช้ลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (larva) โดยจะเริ่มทดลองตั้งแต่ลูกกุ้งฟักออกจากไข่จนกระทั่งลูกกุ้งตัว โดยใช้ระบบน้ำหมุนเวียนปิด (closed recirculating water system)
5. อาหารที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนมี 4 ชนิด คือ
 - 5.1 อาหารคักแค้ไหม สูตร Bmp.
 - 5.2 อาหารคักแค้ไหมเค็มคาเซอิน สูตร Bmp. (C.)
 - 5.3 อาหารผสมคาเซอิน สูตร Mp. (L.O.)
 - 5.4 ตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย (*Artemia salina*) Ar.

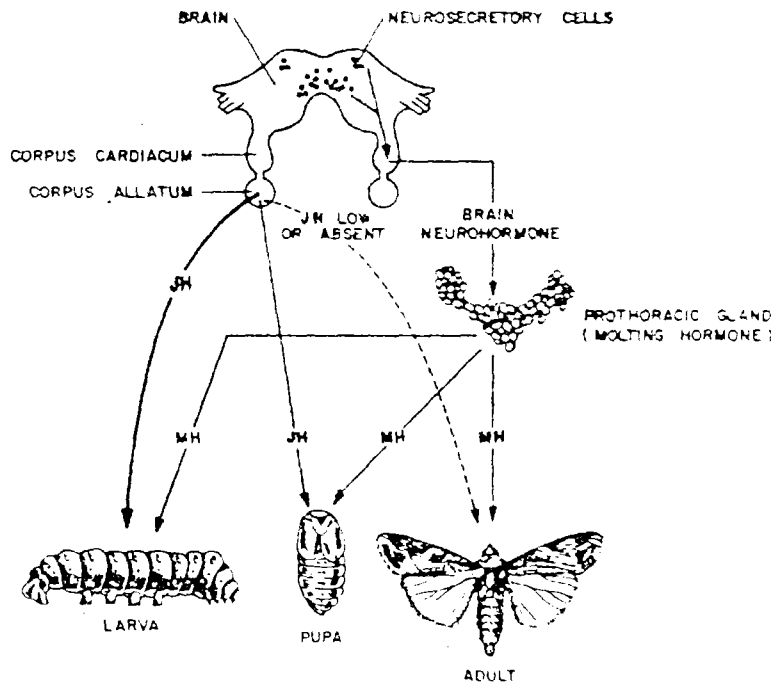
บทที่ 2

เอกสารการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลของฮอร์โมนลอกคราบต่อการเจริญเติบโตในแมลง

การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างต่าง ๆ ของแมลง จะพบอยู่เสมอทั้งในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย อย่างเช่นเมื่อหนอนของผีเสื้อพักออกจากไข่ตอนแรกจะมีขนาดเล็ก ต่อมาตัวหนอนจะลอกคราบ เพื่อให้ตัวเองมีขนาดใหญ่ขึ้น กินอาหารได้มากขึ้น จากนั้นก็จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อเข้าดักแด้และออกจากดักแด้ กลายเป็นผีเสื้อเต็มวัยต่อไป (สุรเชษฐ์ จามรนา 2524 : 1) ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องในการลอกคราบของแมลงประกอบด้วย ฮอร์โมนสมอง (brain hormone, BH) ฮอร์โมนลอกคราบ และจูวีไนล์ฮอร์โมน (juvenile hormone, JH) (Turner. 1966 : 85 - 86) ในการลอกคราบแต่ละครั้งจะเริ่มด้วยฮอร์โมนสมอง ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ผลิตมาจากกลุ่มเซลล์ประสาทที่ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมน (neurosecretory cells) ทำหน้าที่กระตุ้นต่อมโปรทอเรติก (prothoracic gland) ให้ผลิตฮอร์โมนลอกคราบ ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดการลอกคราบ และเปลี่ยนแปลงไปเป็นตัวเต็มวัยได้

นอกจากฮอร์โมนลอกคราบแล้ว ยังมีจูวีไนล์ฮอร์โมน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่สร้างขึ้นมาจากต่อมคอร์ปัส อัลเลตุม (corpus allatum) ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นต่อมโปรทอเรติกให้ผลิตฮอร์โมนเช่นกัน โดยทั่ว ๆ ไปแล้วการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลงจะถูกควบคุมโดยระดับของฮอร์โมนลอกคราบและจูวีไนล์ฮอร์โมนในเลือด แมลงจะสามารถลอกคราบครั้งสุดท้ายและเปลี่ยนแปลงรูปร่าง เป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ได้ก็ต่อเมื่อไม่มีจูวีไนล์ในเลือด และแมลงจะยังคงมีรูปร่างลักษณะเป็นตัวอ่อนอยู่เรื่อยไปถ้าระดับของจูวีไนล์ในเลือดยังไม่ลดต่ำ (พุดพิงศ์ วรวิจิ 2515 : 2)



ภาพประกอบ 1 แสดงการทำงานของฮอร์โมนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง
รูปร่างในแมลง (จาก *General Endocrinology 4th edition*
ของ C.D. Turner. 1966)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในสัตว์พวกครัสเตเชียนซึ่งได้แก่ สัตว์จำพวกกุ้ง และปู
ต่าง ๆ นั้นมีการศึกษาไม่มากนัก ทราบแต่เพียงว่าฮอร์โมนลอกคราบของครัสเตเชียนจะถูกสร้าง
จากต่อมที่เรียกว่า วาย-ออร์แกน (**y - organ**) ซึ่งคล้ายกับต่อมโปรทอเรติกในแมลง และ
ฮอร์โมนลอกคราบจะถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนที่สร้างจาก เอกซ์-ออร์แกน (**x - organ**)
ซึ่งอยู่ในก้านตา (**eyestalks**) (Snodgrass. 1956 : 5 - 6)

การทดสอบแอกติวิตีของฮอร์โมนลอกกราว

ในปี ค.ศ. 1952 คาร์ลสัน และแฮนเซอร์ (Karlson. 1956 : 241 - 263 citing Karlson and Hanser. 1952 : 80 - 83) ศึกษาถึงวิธีในการทดสอบหาแอกติวิตีของฮอร์โมนลอกกราวโดยใช้วิธีไบโอแอสเส (bioassay) กับหนอนแมลงวัน (Calliphora erythrocephala) ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า Calliphora test คาร์ลสันได้นำวิธีการนี้ไปทดสอบกับดักแด้ไหม (Bombyx pupa, Silkworm pupa) พบว่า มีแอกติวิตีของฮอร์โมนลอกกราว 2 ชนิด คือ แอลฟาและเบตา-เอคไคโชน

คาพลานีส และคนอื่น ๆ (Kaplanis and others. 1966 : 625 - 631) ทำการศึกษาพบว่า หนอนแมลงวันบ้าน (Musca domestica L.) มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นตัวอย่าง ในการทดสอบหาแอกติวิตีของฮอร์โมนลอกกราวได้เช่นเดียวกับหนอนแมลงวัน (Calliphora erythrocephala) วิธีนี้เรียกว่า house fly test คาพลานีส ได้นำวิธีการนี้มาทดสอบวัดแอกติวิตีของแอลฟา-เอคไคโชน ซึ่งเป็นฮอร์โมนลอกกราวที่สกัดได้จากหนอนใบยาสูบ (tobacco hornworm)

ฮอร์โมนลอกกราวจากพืช และสัตว์

ฮอร์โมนลอกกราว หรือเอคไคโชน นอกจากจะพบว่า มีอยู่ในสัตว์ซึ่งเรียกว่า ซูเอคไคโชน (zooeecdysones) แล้วยังพบว่า มีฮอร์โมนลอกกราวในพืชหรือไฟโตเอคไคโชน (phytoecdysones) อีกด้วย

ในปี ค.ศ. 1954 บิวเทนแนนด์ และคาร์ลสัน (Buttenandy and Karlson. 1954 : 389) พบฮอร์โมนลอกกราวของแมลงเป็นครั้งแรก โดยทำการสกัดจากตัวไหม และให้ชื่อว่า แอลฟา-เอคไคโชน (α -ecdysone) จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1964 จึงมีผู้สามารถแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของแอลฟา-เอคไคโชนคือ (20 S)-2p, 3p, 14 α 22 R, 25-pentahydroxy-5p - cholest - 7 en - 6 - one ส่วนฮอร์โมนลอกกราวอีกชนิดที่ได้จากตัวไหมคือ เบตา-เอคไคโชน (β -ecdysone หรือ crustecdysone,

20 - hydroxyecdysone, ecdysterone) (Nakanishi. 1971 : 167 - 176; Judy. 1974 : 13) ชูเอคไคโชน มีหลายชนิดซึ่งสามารถสกัดได้จากสัตว์ต่าง ๆ เช่น สัตว์จำพวกอาร์โทพอด แมลง และครัสเตเชีย พบว่า ชูเอคไคโชนในแมลงมีปริมาณน้อยมาก คือ มีเพียงร้อยละ 10^{-5} - 10^{-9} โดยน้ำหนักของสารตั้งต้นที่สกัด (Hikino and Takemoto. 1974 : 185)

คาฟลานีส และคนอื่น ๆ (Kaplanis and others. 1966 : 605 - 623) สามารถสกัดเอคไคโชนจากคักแคของหนอนใบยาสูบในช่วงอายุต่าง ๆ กัน พบว่าในช่วงที่คักแคมีอายุ 6 - 8 วัน จะมีปริมาณเอคไคโชนสูงมาก เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนแมลงวันบ้าน นอกจากนั้นเขายังสามารถแยกเอคไคโชน 2 ชนิด จากคักแคที่มีอายุ 7 วัน พบว่า เอคไคโชนชนิดแรกคือ แอลฟา-เอคไคโชน ซึ่งเหมือนกับที่สกัดได้จากคักแคใหม่ ส่วนเอคไคโชนชนิดที่สอง คล้ายกับแอลฟา-เอคไคโชน แต่มีหมู่ไฮดรอกซี (hydroxy group) เพิ่มขึ้นที่ตำแหน่ง C-20 และ polar กว่า แอลฟา-เอคไคโชน ต่อมาทอมสัน และคนอื่น ๆ (Thomson and others. 1967 : 650 - 653) สามารถแยก 20, 26 - dihydroxyecdysone ซึ่งเป็นเอคไคโชนชนิดที่ 3 ได้จากหนอนใบยาสูบ

นากานิชิ และคนอื่น ๆ (Nakanishi and others. 1966 : 915 - 917) ทำการสกัดใบของต้นโพโดคาร์ปัส นากาอิ (*Podocarpus nakaii*) ได้สารประกอบ 3 ชนิด คือ โพนัสเตอรอน เอ บี และซี (ponasterone A, B และ C) ตามลำดับ โดยสารทั้ง 3 ชนิดมีแอกติวิตีเหมือนกับฮอร์โมนลอกคราบในแมลง ซึ่งนับว่าเป็นการเริ่มต้นของการศึกษาเกี่ยวกับฮอร์โมนลอกคราบในพืช

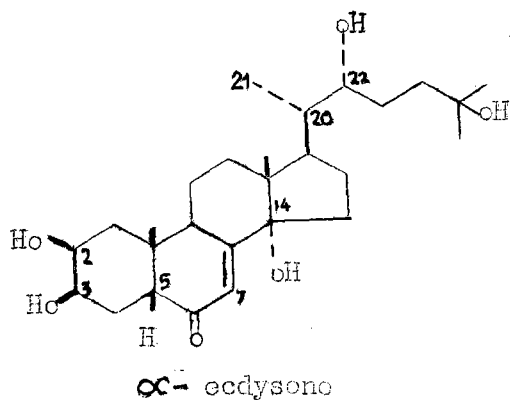
กอลไบรท์ และฮอร์น (Galbraith and Horn. 1969 : 1045 - 1057) สามารถสกัด ครัสเอคไคโชน (crustecdysone) ซึ่งเป็นฮอร์โมนลอกคราบได้จากต้น *Podocarpus elatus* และจาก species อื่น ๆ ของมัน เขาพบว่า ครัสเอคไคโชน ที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืชเหล่านี้มีปริมาณต่างกัน

เปลือกของพืชชนิดนี้ พบว่า มีปริมาณของฮอร์โมนลอกกราบอยู่มาก (0.05%) ผลึกของ คริสเทโคโคนที่แยกได้มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 242-244 °C.

อิมโม และคนอื่น ๆ (Imai and others, 1969 : 340 - 342) ทำ การแยกไซแอสเทอโรน (cyasterone) และเอคโคสเตอโรนจากพืชหลายชนิด พบว่า ไซแอสเทอโรนที่ได้มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลว 160-162 °C มีสูตรโมเลกุล $C_{29}H_{44}O_8$ และเอคโคสเตอโรนที่ได้มีลักษณะเป็น ผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลว 241-242 °C มีสูตรโมเลกุล $C_{27}H_{44}O_7$

เบิร์นส์ และกิลแกน (Burns and Gilgan, 1976 : 1129 - 1134) ทดลองแยก เอคโคสเตอโรนจากต้นสนพญาไม้ (Taxus cuspidata)หนัก 2 กิโลกรัม น้ำหนักเปียก และ 0.8 กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง ได้ผลึกของเอคโคสเตอโรนหนัก 169 มิลลิกรัม และผลึกของมาคิสเทอโรน เอ (makisterone A) 13.4 มิลลิกรัม ซึ่งต่อมาได้มีผู้สกัดฮอร์โมนลอกกราบจากพืชและสัตว์กันอย่างแพร่หลาย และพบว่า ฮอร์โมนลอกกราบมีหลายชนิดด้วยกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 2

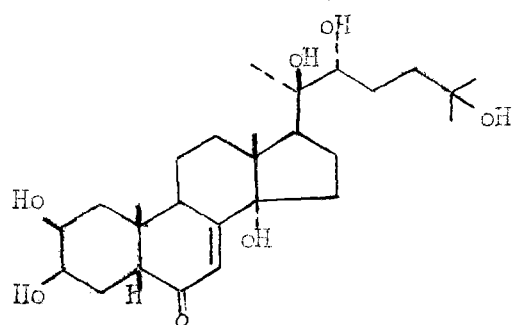
ฮอร์โมนลอกกราบหรือเอคโคโคนที่มีความสำคัญคือ แอลฟา และ เบตา-เอคโคโคนที่จากการศึกษาของคิง และซิดดอลล์ (King and Siddall, 1974 : 147 - 149) พบว่า โคเอสเทอรอลเป็นสารเริ่มต้น (precursor) ที่สำคัญของการสังเคราะห์แอลฟา-เอคโคโคนที่ และแอลฟา-เอคโคโคนที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นเบตาเอคโคโคนที่ได้ ซึ่งเขาให้ข้อสังเกตว่า เบตา-เอคโคโคนที่น่าจะเป็นฮอร์โมน ลอกกราบที่แท้จริง ส่วนแอลฟา-เอคโคโคนที่เพียงโปรฮอร์โมน (prohormone) เท่านั้น เบตา-เอคโคโคนที่มีความสำคัญสูงกว่าแอลฟา-เอคโคโคนที่ ถึงแม้ว่า แอลฟาและเบตา-เอคโคโคนที่จะมีโครงสร้างคล้ายคลึงกันก็ตาม แต่เบตา-เอคโคโคนที่ มีหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง C_{20} เพิ่มขึ้นอีกหนึ่ง พบว่า การมีหมู่ไฮดรอกซีอยู่ ภายในโมเลกุลจะทำให้เอคโคโคนที่มีความสำคัญทางชีววิทยา ส่วนการขาดหมู่ไฮดรอกซีไป จากโมเลกุลจะทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการกระตุ้นการลอกกราบและการเจริญเติบโต



* Bombyx mori (silkworm) (1954)
structure, (1964)

Pteridium aquilinum (1967)

Polypodium vulgare (1967)



* Bombyx mori (1956, 1966)

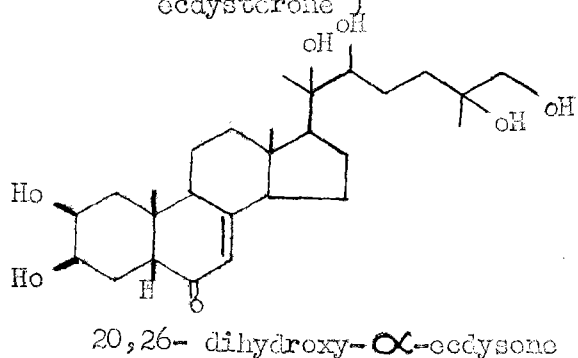
* Jasus lalandei (1966)

Achyranthes fauriei (1967)

Podocarpus elatus (1966)

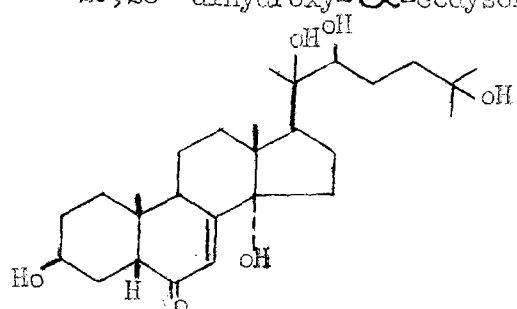
Osmunda japonica (1968)

β -ecdysone
(crustecdysone,
20-hydroxyecdysone,
ecdysterone)



* Manduca sexta (1967)

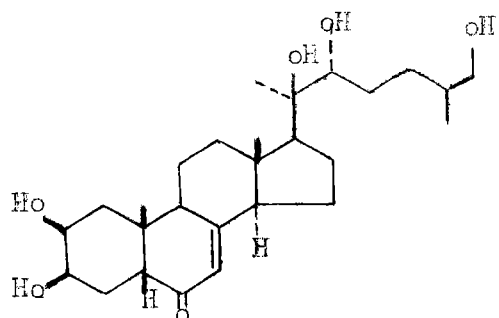
(tobacco hornworm)



2-deoxy- β -ecdysone

* Jasus lalandei (1968)

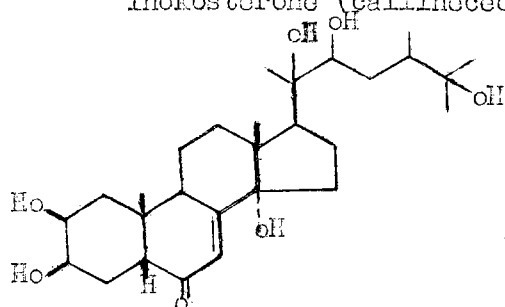
(sea water crayfish)



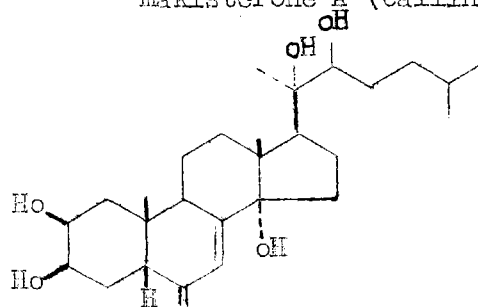
inokosterone (callinocecdysone A)

* Callinectes sapidus (1969)

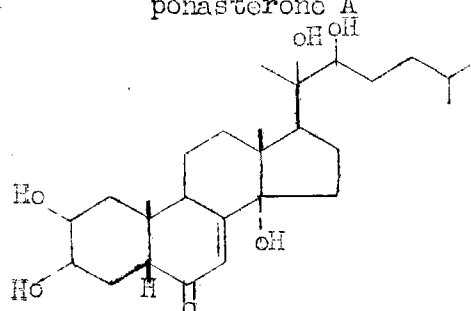
(marine crab)

Achyranthes fauriei (1967)

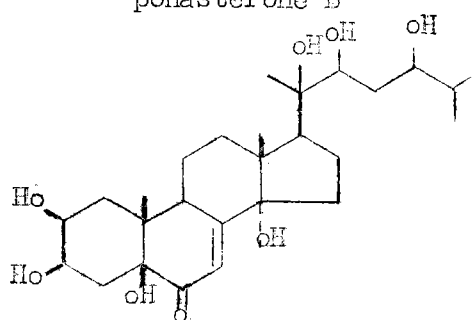
nakisterone A (callinocecdysone B)

* Callinectes sapidus (1969)Podocarpus macrophyllus (1968)

ponasterone A

Podocarpus nakaii (1966)

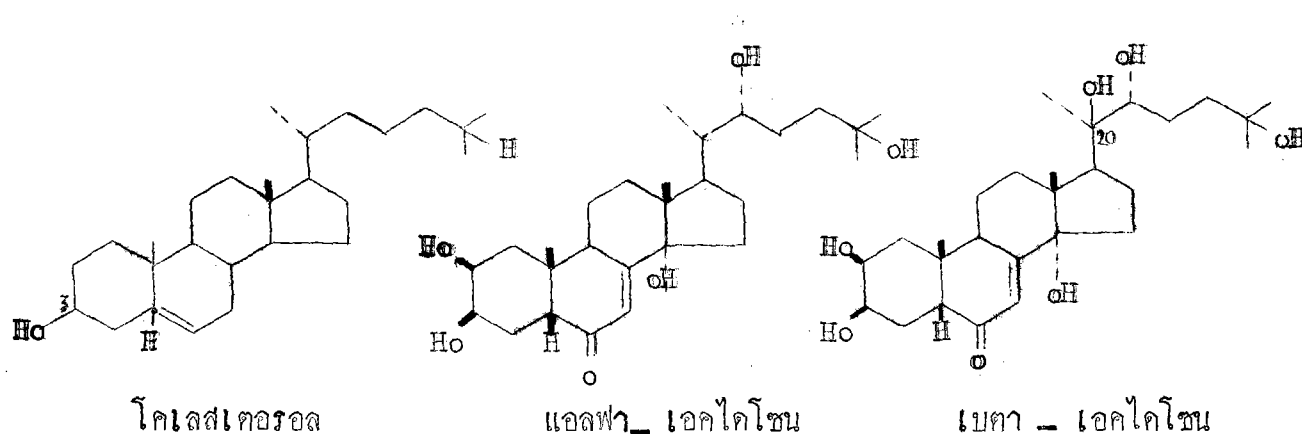
ponasterone B

Podocarpus nakaii (1968)

ponasterone C

Podocarpus nakaii (1970)

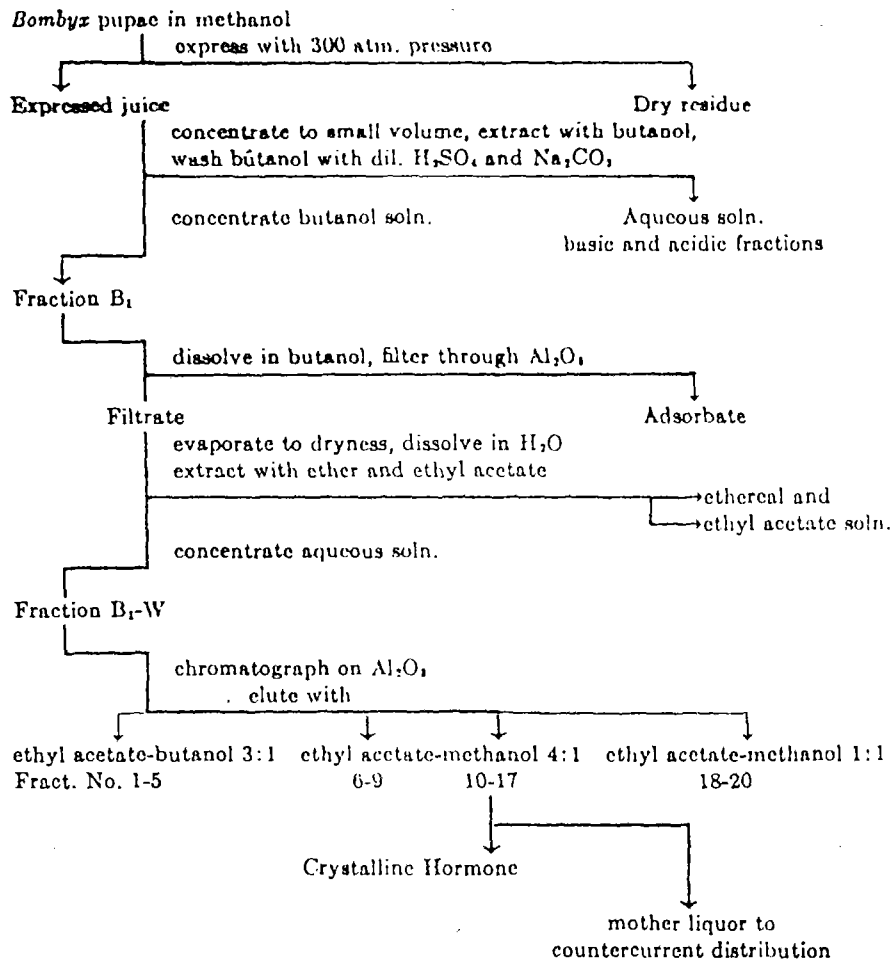
จากตัวอ่อนไปเป็นตัวเต็มวัย ดังนั้นการที่เบตา - เอคโคโน มีหมู่ไฮดรอกซิลมากกว่า แอลฟา-เอคโคโน จึงทำให้มีฤทธิ์กระตุ้นได้แรงกว่า (พุดังศ วรวิธ 2515 : 19 - 20)



ภาพประกอบ 3 เปรียบเทียบโครงสร้างของโคเลสเตอรอล แอลฟา และเบตา-เอคโคโน

การสกัดฮอร์โมนลอกกราบ

ในปี ค.ศ. 1954 บิวเทนแนนด์ และคาร์ลสัน (Butenandt and Karlson. 1954 : 389 - 391) ทำการสกัดฮอร์โมนลอกกราบจากคักแค้ไหม (Bombyx pupa) สารละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ methanol butanol sulphuric acid sodium carbonate น้ำ diethyl ether และ ethyl acetate ผลการทดลองปรากฏว่า จากคักแค้ไหม 500 กิโลกรัม จะได้ผลิตภัณฑ์ของ แอลฟา-เอคโคโน เท่ากับ 25 มิลลิกรัม ซึ่งสกัดได้โดยตรงจากสารละลาย butanol : cyclohexane : น้ำ (4:6:1 V/V) นอกจากนี้ยังได้เบตา-เอคโคโน ซึ่งการทดลองนี้ทำให้ยากกว่าการสกัดแอลฟา-เอคโคโน เนื่องจากปริมาณที่ได้



แผนภาพ 1 แสดงขั้นตอนการสกัดฮอร์โมนลอกกราบจากตัวไหม

น้อยมาก คือได้เพียง 2.5 มิลลิกรัม ของผลึกที่ยังไม่บริสุทธิ์ (crude crystal)
เมื่อตกผลึกซ้ำจะได้ผลึกเบตา-เอคไดโคนที่บริสุทธิ์ประมาณ 0.33 มิลลิกรัม และเมื่อนำ
สารทั้งสองชนิดมาทดสอบแอกติวิตี โดยใช้วิธี Calliphora test พบว่า สาร
ทั้งสองชนิดมีแอกติวิตีของฮอร์โมนลอกคราบ

จากการศึกษาทางกายภาพ และทางเคมีพบว่า แอลฟา-เอคไดโคนที่ มีจุด
หลอมเหลวเท่ากับ 235-237 °C เป็นสาร optically active มีค่า $[\alpha]_D =$
+58.5 ละลายได้ดีใน methanol ethanol และ dioxane ละลายได้
เล็กน้อยใน acetone ที่อุณหภูมิปกติสารละลายอิ่มตัวของ แอลฟา-เอคไดโคนที่
น้ำประกอบควย 0.45 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร ในทางตรงข้ามเบตา-เอคไดโคนที่ละลาย
ได้ดีในน้ำ และไม่ตกผลึกจาก aqueous solvent ละลายใน ethylacetate
และ ether ได้เล็กน้อย และเมื่อนำเอคไดโคนที่มาทำการแยกให้บริสุทธิ์ โดยใช้
เทคนิคของ paper chromatography โดยมี cyclohexane - butanol
(6:4 v/v) เป็นตัวชะ พบว่า แอลฟาและเบตา-เอคไดโคนที่ มีค่า Rf เท่ากับ
0.81 และ 0.57 ตามลำดับ

โอนิชิ และคนอื่น ๆ (Ohnishi and others, 1977 : 66 - 67)
ทำการทดลองแยกฮอร์โมนลอกคราบจากรังไข่ (ovarian tissues) ของตัวเต็มวัย
และจากตัวอ่อนในระยะพักตัว (diapausing embryos) ของตัวไหม พบสาร
สองชนิด คือ 2- deoxy - α - ecdysone และสารอีกชนิดเป็นคอนจูเกต
(conjugate) ของ 2- deoxy - α - ecdysone

ผลของฮอร์โมนลอกคราบต่อแมลงและสัตว์พวกครัสเตเชียน

ฮอร์น และคนอื่น ๆ (Horn and others, 1968 : 399 - 406)
สามารถสกัดฮอร์โมนลอกคราบ คือครัสเตคไดโคนที่ (crustecdysone) หรือ

20R-hydroxyecdysone จากกุ้งน้ำจืดชนิด Jasus lalandei โดยสกัด
จากส่วนของ ventral thorax ของกุ้งชนิดนี้หนัก 1 ตัน จะได้ฮอร์โมน

2.3 มิลลิกรัม จากการทดลองพบว่า การทดลองแยกคริสเอคโคไธนด้วยวิธี
chromatography โดยใช้ CM - Sephadex เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด
คาร์ลสัน (Karlson, 1956) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่ได้จากกุ้ง

(Crangon vulgaris) มีผลต่อการลอกคราบในแมลงโดยใช้วิธี Calliphora
test แต่จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมนจะมีปริมาณน้อยมากใน
ระยะที่กุ้งอยู่ในระหว่างการลอกคราบ ต่อมาในปี ค.ศ. 1959 ได้มีผู้ทำการทดลอง
สกัดฮอร์โมนลอกคราบจาก 3 ตัน ของกุ้งชนิดเดียวกันนี้ แต่ไม่เป็นผลสำเร็จ

ในปี ค.ศ. 1960 คาร์ลสัน และสกินเนอร์ (Karlson and Skinner,
1960 : 543 - 544) ทดลองสกัดฮอร์โมนจาก วาย-ออร์แกน (Y - organs)
ของปู Carcinus maenas พบว่า มีปริมาณของฮอร์โมนลอกคราบน้อยมาก ซึ่ง
แสดงให้เห็นว่าไม่มีการสะสมของฮอร์โมนในบริเวณที่มีการสังเคราะห์ ถึงแม้ว่าฮอร์โมน
ลอกคราบนี้จะถูกสังเคราะห์มาจาก วาย-ออร์แกนเองก็ตาม

กาโกเรียน และบรูบอนนีเยอร์ (Gagosian and Bourbonnier, 1976 :
155 - 161) ทำการสกัดฮอร์โมนลอกคราบจากกุ้งล็อบสเตอร์ (Homarus
americanus) เพศเมีย ที่เพิ่งลอกคราบ (ประมาณ 6 - 24 ชั่วโมง) ผลการ
ทดลองสามารถสกัดฮอร์โมนลอกคราบคือ เอคโคสเทอโรนได้ปริมาณ 30 ไมโครกรัม
หรือ 6 ไมโครกรัม ต่อกิโลกรัม ของน้ำหนักกุ้ง และมีรายงานว่าเมื่อทดลองฉีด
เอคโคสเทอโรนเข้ายังกุ้งล็อบสเตอร์ ซึ่งอยู่ในระหว่างการลอกคราบ (intermolt)
ทั้งกุ้งปกติและกุ้งที่ถูกดึงเอากันตาออก พบว่า กุ้งสามารถลอกคราบได้เร็วขึ้นกว่าปกติ
(Rao and others, 1973 : 1105 - 1120) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่
กล่าวไว้ว่า เอคโคสเทอโรน โดยตัวมันเองหรือการรวมกับเอคโคไธนอื่น สามารถทำ
หน้าที่สำคัญในขบวนการลอกคราบของกุ้งล็อบสเตอร์ได้ (Gagosian and others,
1974 : 723 - 724)

ครีษนาคุมาราน และชไนเตอร์แมน (Krishnakumaran and Schneiderman. 1968 : 601 - 603) ศึกษาถึงการควบคุมการลอกคราบในสัตว์พวกอาร์โทพอด โดยเลือกกุ้งน้ำจืด (Procambarus sp.) แทนสัตว์พวก เทราพอด เอกโคโซนที่ใช้ในการทดลองคือ เอกโคสเทอโรนที่สกัดได้จากพืช และสารสังเคราะห์แอลฟา-เอกโคโซน อีโนโคสเทอโรน และโพเนสเทอโรน เอ นำฮอร์โมนเหล่านี้มาละลายในสารละลายริงเกอร์ (Ringer solution) หรือในสารละลายเอทานอล ส่วนปริมาณที่ใช้ฉีดนั้นเปรียบเทียบจากปริมาณของสัตว์ (1 - 5%) ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า เอกโคสเทอโรนจะชักนำให้เกิดการลอกคราบในสัตว์พวกอาร์โทพอด โดยขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ฉีด กุ้งส่วนใหญ่เมื่อฉีดด้วยเอกโคสเทอโรน ซึ่งมีปริมาณ 6 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักแห้งของกุ้งเป็นกรัม จะลอกคราบภายใน 7 - 10 วัน หลังจากทดลอง แต่ถาฉีดด้วยปริมาณ 3 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง กุ้งส่วนใหญ่จะลอกคราบในเวลา 10 - 14 วัน หลังจากทำการฉีดในครั้งแรก ถ้าเพิ่มปริมาณที่ฉีดเป็น 6 - 12 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง กุ้งจะลอกคราบภายใน 7 - 10 วัน แต่ถาฉีดสารในปริมาณที่สูงเกินไป พบว่า กุ้งจะตายเนื่องจากไม่สามารถสลัดคราบเกาออกได้อย่างสมบูรณ์ในขณะลอกคราบ จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่า เอกโคโซน หรือฮอร์โมนลอกคราบชนิดต่าง ๆ สามารถกระตุ้นให้เกิดการลอกคราบในสัตว์จำพวกอาร์โทพอดได้ โดยอาจไปกระตุ้นต่อมเอกโคเดียน (ecdysial glands) โดยตรง หรือโดยทางอ้อม ให้สังเคราะห์ฮอร์โมนลอกคราบขึ้น

ผลของการฉีดแอลฟา และเบตา-เอกโคโซน ในช่วงการลอกคราบของกุ้งน้ำจืด (Orconectes obscurus) เพศผู้ ในฤดูต่าง ๆ โดยฉีดสารปริมาณ 0.0214 และ 2.14 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง พบว่า ปริมาณ 0.0214 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง ของฮอร์โมนทั้งสองชนิดไม่มีผลต่อการลอกคราบ ส่วนปริมาณ 2.14 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง มีผลทำให้เกิดการลอกคราบเร็วขึ้น พอ ๆ กัน แต่ปริมาณ 0.214 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง จะแสดงผลในฤดูร้อนเท่านั้น ส่วนปริมาณ 2.14 ไมโครกรัม ต่อกุ้ง จะทำให้งุ้งลอกคราบได้เร็วขึ้นในทุกฤดู แต่มีผลน้อยในฤดูหนาว (Warner. 1971)

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่านอกจากปริมาณของฮอร์โมนที่ใช้ทดสอบแล้ว การกระตุ้นของเอคไคโชนยังขึ้นอยู่กับฤดูกาลอีกด้วย

กิลแกน และเบิร์นส์ (Gilgan and Burns. 1979 : 125 - 131)

ทำการทดลองโดยนำกุ้งลอกสเตอร์ (Homarus americanus) มาทดลองโดยการฉีดเอคไคสเทอโรนในสารละลาย ethanol (95%) ซึ่งให้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับ การฉีดด้วยเอคไคสเทอโรนอะซีเตท (ecdysterone acetate) และเอคไคสเทอโรนไตรอะซีเตท (ecdysterone triacetate) พบว่า เอคไคสเทอโรนไตรอะซีเตทสามารถเร่งการลอกคราบให้เกิดเร็วขึ้นได้ และมีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการลอกคราบสูงกว่าเอคไคสเทอโรน

จากการศึกษาดังกล่าว แสดงว่าเอคไคสเทอโรนเป็นฮอร์โมนที่สำคัญในการควบคุมการลอกคราบในสัตว์จำพวกครัสเตเชียน (Dall and Barclay. 1977 : 323) การฉีดเอคไคสเทอโรนเข้ายังสัตว์จำพวกอาร์โทพอด เช่น ปู เพรียง แมลงป่อง และแมงมุม ฯลฯ จะเร่งให้เกิดขบวนการลอกคราบขึ้นได้ และยังสามารถสกัดฮอร์โมนลอกคราบได้จากแมลง และสัตว์จำพวกครัสเตเชียน (พวกกุ้งและปูต่าง ๆ) จึงเป็นการยืนยันข้อสันนิษฐานที่ว่าเอคไคสเทอโรนเป็นฮอร์โมนลอกคราบของสัตว์จำพวกอาร์โทพอด (Gagosian and others. 1974 : 723 - 724)

ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม

กุ้งก้ามกราม กุ้งหลวง กุ้งนาง หรือกุ้งก้ามกราม เป็นกุ้งชนิดเดียวกัน มีชื่อสามัญว่า "Giant freshwater prawn" มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Macrobrachium rosenbergii de Man (เชิดชาย อมาตย์กุล และธีรพันธ์ ภาณุวรรค์ 2517 : 1) อยู่ใน แฟมิลี พาเลมอนนิดี (Family Palaemonidae) สามารถเติบโตได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อย พบมากในประเทศแถบอินโดแปซิฟิก

(Indopacific) ลูกกุ้งขนาดใหญ่มีลำตัวสีน้ำตาลอ่อน และเมื่อโตขึ้นถึงขั้นตัวเต็มวัย (adult) จะมีสีน้ำเงินแกมเขียว (บุญช่วย ชาวปากน้ำ 2509 : 365)

อุปนิสัยและการกินอาหาร

กุ้งก้ามกรามมักอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดตามบริเวณหน้าดินของแม่น้ำลำคลอง ซึ่งน้ำมีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ มีความต้องการออกซิเจนสูง จึงมักจะพบกุ้งก้ามกรามในที่ที่มีน้ำไหล และใสสะอาด มีนิสัยชอบเกาะซุกซ่อนตัวอยู่ตามรากไม้และเสา มีความไวต่อแสง ตามปกติมักออกหากินในเวลากลางคืน (ไพโรจน์ พรหมานนท์ และทรงชัย สหวัชรินทร์ 2517 : 82) ชอบแสงสลัว ๆ มากกว่าแสงจ้า (สุจิตต์ ภิญโญยิ่ง และประสิทธิ์ เอกอรุ 2505 : 115 - 121) ฉะนั้นในช่วงเวลากลางวันจึงมักพบว่ากุ้งจะเกาะกับที่ อย่างสงบเสงี่ยม โดยไม่เคลื่อนที่ไปมา และถ้ามีแสงสว่างมาก ๆ ไปกระทบลูกก็จะพยายามหนี (Ling and Merican, 1961 : 55 - 60)

กุ้งก้ามกรามมีนิสัยร้ายชอบการต่อสู้ กินอาหารได้ทุกประเภท ทั้งอาหารที่มีชีวิต และซากที่เน่าสลายแล้วทั้งของพืชและสัตว์ ดังนั้นจึงจัดว่าเป็นพวกโอมนิโวร่า (Omnivorous) (Ling, 1969 : 589 - 606) นอกจากนี้ยังต่อสู้ทำลายและกินกันเอง (cannibalism) ในเวลาที่หิวมาก ๆ และไม่สามารถหาอาหารอื่นกินได้ และโดยเฉพาะในระยะที่กำลังลอกคราบ กุ้งที่อ่อนแอกว่าจะถูกตัวร้าย และเป็นเหยื่อของตัวที่แข็งแรงกว่า นอกจากนี้ยังพบแพลงตอนที่เป็นอาหารของกุ้งก้ามกรามหลายชนิด คือ หนอนธนู (arrow worm) ตัวอ่อนของกุ้งพาเลมอน (palaemon larvae) ตัวอ่อนของปูในระยะเมกาโลป (megalopa) แอมฟิพอด (amphipod) กุ้งผี (lucifer) ยูฟอสิด (euphausid)

และโคพีพอด (copepod) ซึ่งโคพีพอดนี้เป็นอาหารหลักของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (ไพโรจน์ พรหมานนท์ และทรงชัย สหวัชรินทร์ 2513 : 1 - 9)

มอลเลอร์ (Moller. 1978 : 251 - 258) รายงานว่า ลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนหลังจากที่ฟักออกจากไข่ 24 ชั่วโมงแรก จะไม่กินอาหารเลย แต่จะใช้อาหารจากโวลล์ (yolk) ที่ติดตัวมา หลังจากนั้นจะลอกคราบสู่การเจริญเติบโตขั้นที่สอง และจะเริ่มหาอาหารจากที่อื่นต่อไป

ลี รูค (Le Roux. 1971 : 141 - 149) รายงานว่า ขบวนการกินอาหารของลูกกุ้งก้ามกรามมีลักษณะเหมือนกับตัวอ่อนของเตคาพอด (decapod larvae) ทั่วไป ลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเมื่อเจริญถึงระยะขั้นตอนการเจริญเติบโตที่ 4 จะสามารถกินอาหารได้ด้วยความเร็ว 0.65 ตัว ของตัวอ่อนอาร์ทีเมียต่อชั่วโมง แต่ถาปปล่อยให้มันหิวมันจะกินเร็วขึ้นเป็น 12 เท่า คือประมาณ 7.8 ตัว ต่อชั่วโมง

มอลเลอร์ (Moller. 1978) ได้ทำการทดลองปฏิกิริยาตอบสนองของลูกกุ้งก้ามกรามต่อชิ้นส่วนของอาหารที่เป็นเนื้อปลา ไข่ เลือด คาเซอิน และอาร์ทีเมียทั้งที่เป็นและตาย ได้ผลการตอบสนองเป็นบวก ส่วนอาหารที่มีลักษณะเป็นกรด จะให้ผลของการตอบสนองเป็นลบ สาเหตุของการเกิดการกินกันเองในลูกกุ้งวัยอ่อนนั้น มอลเลอร์อธิบายว่าเป็นเพราะมีการตอบสนองต่อจุด (point source) ในสิ่งแวดล้อมที่อยู่ใกล้ใกล้กว่าชิ้นอาหารที่อยู่ห่างออกไป

ขบวนการกินอาหารของกุ้งเป็นขบวนการที่มีการสูญเสียมาก ทั้งนี้เพราะต้องใช้เวลามากในการหาอาหารและเคี้ยว จากการศึกษาดูโดยใช้อาหารผสมพบวาอนุภาคของอาหารผสมจะสูญเสียไปในระหว่างขบวนการเคี้ยว โดยกระจัดกระจายออกไป เพราะกระแสน้ำที่เกิดจากการหายใจของมัน ฉะนั้นการประเมินผลเกี่ยวกับอาหารกุ้งจึงต้องคำนึงถึงลักษณะของการกินและการบดเคี้ยวอาหารให้มีขนาดเล็ก นอกจากนั้นความเร็วของการเคลื่อนที่ของอาหารจาก โปรเวนทริคิวลัส

(proventriculus) ไปสู่ เฮปาโตเพนครีล (hepatopancreas) ความเร็วของการบดอาหาร และปริมาณน้ำย่อยอาหารที่ขับออกมาเนื่องจากการกระตุ้นของอาหาร

ก็จะมีผลต่อการกินอาหารของกิ้งก่าวิทยอ่อนด้วย (Dall. 1968 : 251 - 258)

ซิกก์ และบีคตี (Sick and Beatty. 1975) ศึกษาการหายใจและกินอาหารของกิ้งก่ามกรามวิทยอ่อน เพื่อหาปริมาณอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตแต่ละขั้น (stage) โดยทดลองเลี้ยงด้วยอาหารผสมหลายชนิด พบว่า อาหารประเภทหนึ่งประกอบด้วย 20% algenate และอาหารแช่แข็ง (freeze-dried diet) เป็นอาหารที่กิ้งชอบ แต่อาหารที่เต็มอาร์ที่เมียนเป็นอาหารที่ถูกกิ้งชอบมากที่สุด กิ้งวิทยอ่อนชั้น 7 - 8 จะมีอัตราการกินอาหารสูงสุด เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารพวกแช่แข็งที่มีส่วนผสมของอาร์ที่เมียน 5%

การลอกคราบและการเจริญเติบโต

กิ้งก่ามกรามเจริญเติบโต (น้ำหนักเพิ่มและความยาวเพิ่ม) โดยการลอกคราบ การลอกคราบของกิ้งก่ามกรามจะใช้เวลาประมาณ 10 นาที เริ่มโดยกิ้งก่ามกรามจะงอตัว และเบ่งอย่างแรง เพื่อเพิ่มความดันภายใน แล้วคันคราบส่วนหัวออกมา ก่อนคราบของส่วนหางจะหลุดออกมาภายหลัง คราบใหม่จะเกิดขึ้นทันที แต่จะมีความอ่อนตัวไปสักระยะหนึ่งแล้วจึงค่อย ๆ แข็งขึ้นเท่าเดิม ในระยะที่คราบใหม่เกิดขึ้นนี้เป็นระยะที่อาจถูกกิ้งด้วยกินเอง หรือศัตรูกินได้ ความถี่ในการลอกคราบขึ้นอยู่กับอายุและปริมาณอาหารที่กิ้งก่ามกรามกินเข้าไป ตามปกติกิ้งก่ามกรามที่มีอายุน้อยจะลอกคราบดีกว่ากิ้งก่ามกรามที่มีอายุมาก และกิ้งก่ามกรามที่กินอาหารมากก็จะลอกคราบได้มากกว่าพวกที่กินอาหารน้อย การลอกคราบบ่อยครั้งแสดงว่ามีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็ว โดยปกติอัตราการเจริญเติบโตของกิ้งก่ามกรามค่อนข้างรวดเร็ว ในระยะแรกกิ้งตัวเมียนและตัวผู้จะมีอัตราการเจริญเติบโตที่เท่ากัน แต่พอมาถึงระยะหนึ่งคือ เมื่อมีความยาวได้ 12 เซนติเมตร และหนักประมาณ 20 กรัม กิ้งตัวผู้จะเจริญเติบโตต่อไป แต่ตัวเมียจะมีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าตัวผู้มากในระยะนี้ (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต และสมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิรกุล 2524 : 2 - 3)

การผสมพันธุ์และการวางไข่

กิ้งก่ามสามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะในฤดูฝน โดยกิ้งก่าเพศผู้สามารถที่จะเข้าผสมได้ตลอดเวลา แต่กิ้งก่าเพศเมียนั้นจะต้องมีการลอกคราบ และมีไข่สุกในรังไข่เท่านั้น ซึ่งการลอกคราบก่อนที่จะผสมพันธุ์ที่เกิดขึ้นนี้เรียก "pre-mating moult" เมื่อคราบแข็งตัว กิ้งก่าเพศเมียสามารถที่จะเคลื่อนไหวได้แล้ว กิ้งก่าเพศผู้จะเข้ามาทำการผสมพันธุ์หลังจากการลอกคราบของกิ้งก่าเพศเมียประมาณ 3—6 ชั่วโมง การวางไข่จะเกิดขึ้นประมาณ 6—20 ชั่วโมง หลังการผสม ส่วนกิ้งก่าเพศเมียที่ไม่ได้ถูกผสมก็จะวางไข่เหมือนกัน แต่ไข่จะผ่อไปภายใน 2—3 วัน โดยจะวางไข่ในบริเวณหน้าท้อง (brood chamber) ไข่ของกิ้งก่ามการมีรูปร่างค่อนข้างกลมรี มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 0.57 x 0.55 มิลลิเมตร มีสีส้มอ่อน ๆ หมดวับเยื่อบาง ๆ และเกาะติดกันเป็นพวงคล้ายพวงอุ้งน้ (ไฟโรจน์ พรหมานนท์ และทรงชัย สหวัชรินทร์ 2517 : 80—110)

กิ้งก่ามการจะใช้เวลาฟักไข่ (incubation) ประมาณ 19 วัน ที่อุณหภูมิ 26—28 °C. โดยกิ้งก่าตัวเมียจะคอยบอกข่าวว่าไข่ไปมาเพื่อทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนออกซิเจนแก่ไข่ ขณะเดียวกันก็จะใช้ก้ามของขาเดินคู่ที่ 1 คัดเอาไข่ที่ตายและสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ ออก ตลอดเวลาที่ฟักไข่นั้น ไข่ของกิ้งก่ามการจะมีการพัฒนาอยู่เรื่อย ๆ และเราอาจสังเกตการเปลี่ยนแปลงนี้ได้จากสีของไข่ ซึ่งจะค่อย ๆ เปลี่ยนไปเรื่อย ๆ ดังนี้ สีส้มอ่อนหรือเหลืองส้ม → สีส้ม → สีนํ้าตาล → สีเทาอ่อน → สีเทาแก่ (ดำ) → ฟักเป็นตัวอ่อน การเปลี่ยนสีก็เนื่องจากการที่ตัวอ่อนโตขึ้น และไข่ไข่แดงหมดไปนั่นเอง ตอนที่ไข่มีสีคํานี้ก็จะอยู่ในระยะ 17—19 วัน หลังการวางไข่ ตัวอ่อนในไข่เมื่อเจริญเต็มที่พร้อมที่จะฟักออกมาเป็นตัวได้จะยึดตัว และในที่สุดเปลือกไข่ก็จะฉีกขาดออก แล้วตัวอ่อนก็จะว่ายน้ำออกมา กิ้งก่าที่ฟักออกเป็นตัวใหม่ ๆ นี้อยู่ในระยะ "กิ้งก่าวัยอ่อน" เป็นพวกที่ชอบแสงมาก ว่ายน้ำไปข้างหลังในท่าคล้ายปลาฉลามน้ำจืด (Ling. 1969 : 589—606)

วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม

กุ้งก้ามกรามเป็นกุ้งที่มีวงจรชีวิต (life cycle) 2 ช่วงน้ำ กล่าวคือ ระยะที่เป็นตัวอ่อนต้องอาศัยอยู่ในน้ำกร่อยที่มีความเค็ม 5 - 25 ส่วนในพันส่วน และเมื่อพ้นจากกุ้งวัยอ่อนก็จะอพยพเข้าไปอาศัยอยู่ในบริเวณน้ำจืด วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกรามสรุปได้ดัง แผนภาพ 2

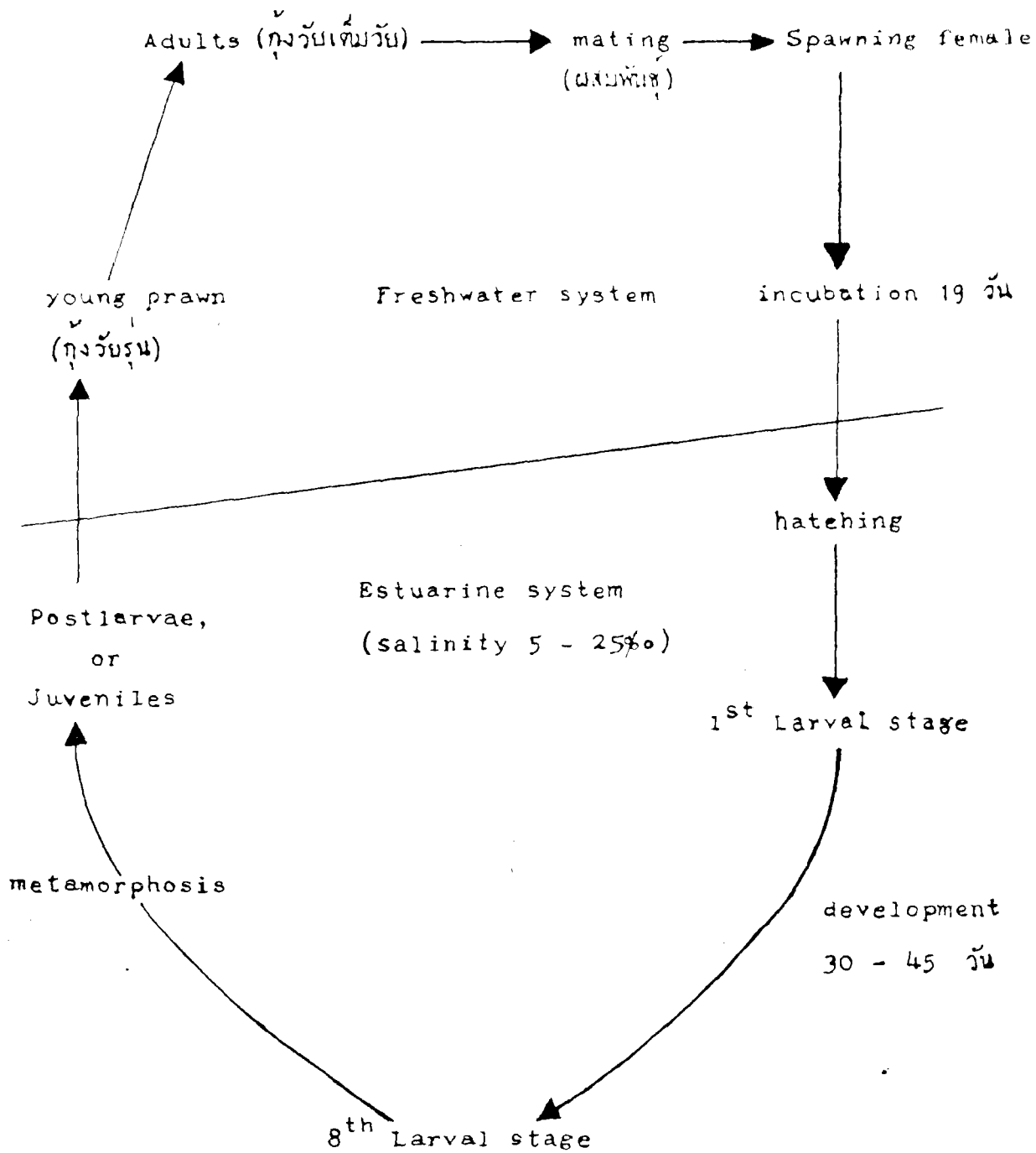
การพัฒนาของลูกกุ้งวัยอ่อน

กุ้งก้ามกรามวัยอ่อนทุกชั้นมีลักษณะเป็น active planktonic swimmers และมีนิสัยชอบเคลื่อนที่เข้าหาแสง (positive photo - attractive movement) อย่างไรก็ตามแสงสว่างเกินไป เช่น แสงโดยตรงจากดวงอาทิตย์ มันก็จะเคลื่อนที่หนีแสง (negative photo-attractive) การเคลื่อนที่ของกุ้งวัยอ่อน ปกติจะว่ายน้ำเคลื่อนไปทางส่วนหางและหายใจช่องขึ้นข้างบน ตัวอยู่ต่ำกว่าหางเป็นมุมเฉียง (Ling, 1969)

ลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะแรกจะว่ายน้ำรวมกันเป็นกลุ่มจนกระทั่งมีอายุได้ 10 วัน ก็จะเห็นได้ว่าการรวมกลุ่มจะค่อย ๆ หายไป ทั้งนี้อาจเนื่องจากการหลีกเลี่ยงการกินกันเองในขณะลอกคราบ ลูกกุ้งวัยอ่อนจะต้องอยู่ในน้ำที่มีความเค็มประมาณ 10 - 15 ส่วนในพัน ซึ่งลิงก์และเมอร์แคน (Ling and Merican, 1961 : 55 - 60) พบว่า ลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่ฟักเป็นตัวในน้ำจืดสนิทจะตายภายใน 4 - 5 วันเท่านั้น เนื่องจากลูกกุ้งไม่สามารถลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนขั้นต่อไปได้

ลูกกุ้งวัยอ่อนจะกินตลอดเวลา อาหารได้แก่ สัตว์เล็ก ๆ ที่มีอยู่ในน้ำ เช่น ไรแดง เป็นต้น นอกจากนี้ยังกินซากพืชและสัตว์ที่มีขนาดเล็กได้อีกด้วย

ลูกกุ้งวัยอ่อนจะยังมีรูปร่างไม่เหมือนพ่อแม่เลยทีเดียว ไพโรจน์ พรหมานนท์ และอำพล พงศ์สุวรรณ (ไพโรจน์ พรหมานนท์ และอำพล พงศ์สุวรรณ 2510 :



แผนภาพ 2 แสดงวงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม

174 - 188) ศึกษาพัฒนาการของกุ้งวัยอ่อน พบว่า กุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่จะเจริญไปเป็นกุ้งวัยรุ่นขนาดเล็ก (post larvae) นั้น จะมีการลอกคราบในระยะตัวอ่อน (larval stages) 12 ชั้น และใช้เวลาในการเจริญเติบโตเป็นกุ้งวัยรุ่นขนาดเล็กประมาณ 45 - 55 วัน แต่ลิงก์ (Ling. 1969) กล่าวว่า ลูกกุ้งวัยอ่อนจะต้องมีการลอกคราบ 11 ครั้ง จึงจะเจริญไปถึงขั้นวัยรุ่นซึ่งจะมีรูปร่างและอุปนิสัยในการว่ายน้ำเหมือนพ่อแม่ (ชาวบ้านเรียกขั้นนี้ว่า "กุ้งคว่ำ") อย่างไรก็ตามการลอกคราบทั้ง 11 ครั้งนี้จะมีเพียง 8 ครั้งเท่านั้นที่เราสามารถสังเกตเห็นข้อแตกต่างของรูปร่างได้ชัดเจน

อาหารของกุ้ง

นักเพาะเลี้ยงกุ้งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการเลี้ยงให้ดีขึ้นได้โดยการเพิ่มอัตราการรอด และลดช่วงเวลาที่ใช้ในการคว่ำด้วยวิธีการให้อาหารที่มีคุณภาพที่เหมาะสม

ซอร์เกิลูส และเพอร์ซูนี (Sorgeloose and Persoone. 1975 : 303 - 317) กล่าวว่า ปกติการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของสัตว์น้ำด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมียเป็นอาหารที่สำคัญที่สุด และประมาณว่าผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 99% จะต้องใช้อาหารชนิดนี้ จากการประมาณพบว่าปีหนึ่ง ๆ งานเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต้องใช้ไข่ของอาร์ทีเมียถึง 25 ตัน

สเติร์น และคนอื่น ๆ (Stern and others. 1976 : 91 - 100) ได้ทดลองให้อาหารที่ทำจากพืชล้วนเปรียบเทียบกับอาหารที่มีส่วนประกอบของพืชและสัตว์เลี้ยงกุ้ง พบว่า อาหารชนิดหลังให้ผลดีกว่าอาหารจากพืชอย่างเดียว

บัลเลซ และคนอื่น ๆ (Balazes and others. 1974 : 1 - 14) จากการศึกษาพบว่า อาหารสำเร็จจากโปรตีนพืชและสัตว์ใช้เลี้ยงกุ้งได้ผลดี

จากการศึกษาเกี่ยวกับไขมันในอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งของ ชิคุโน และคนอื่น ๆ (Shigueno and others. 1972 : 129 - 137) รายงานว่าไขมัน 8.8% ในอาหารกุ้งไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง อย่างไรก็ตาม นิว (New. 1976 : 101 - 144) สรุปว่า กุ้งมีความต้องการไขมันจากอาหารไม่มากนัก และระดับไขมันที่

เหมาะสมในอาหารกุ้งควรอยู่ในระดับ 5 - 10% โดยน้ำหนัก

คานาซาวา และคนอื่น ๆ (Kanazawa and others. 1976 : 205 - 208) ทำการทดลองฉีด ^{14}C -B-sitosterol เข้ากุ้ง Penacus japonicus Bate ในชั้นต่าง ๆ ของวงจรการลอกคราบ ติดตามการสะสมของสารที่ฉีดในอวัยวะต่าง ๆ ซึ่งแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของสเตอรอลและการสร้าง exoskeleton เขาสันนิษฐานว่าคริสเตสเตียนเปลี่ยน exogenous B-sitosterol เป็นโคเลสเตอรอล ต่อจากนั้นก็เปลี่ยนโคเลสเตอรอลเป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมน

คานาซาวา ทานากะ และคาสึวาคา (Kanazawa, Tanaka and Kashiwada. 1972 : 1067 - 1071) กล่าวว่า โคเลสเตอรอลปกติเป็น precursor ของสเตอรอยด์และฮอร์โมนที่ใช้ในการลอกคราบ กุ้งดูดซึมโคเลสเตอรอลเข้าไปได้ในลักษณะเดียวกับอาหาร อาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วยโคเลสเตอรอล 0.5% เมื่อเสริมด้วย inokosterone, cyasterone หรือ ecdysone ที่กลั่นจากพืชจะมีผลทำให้เพิ่มความเร็วของการลอกคราบและการเพิ่ม cyasterone 2.5 มิลลิกรัม/อาหาร 100 กรัม ทำให้ความเร็วการลอกคราบเพิ่มมากที่สุด พบว่าอาหารทุกชนิดที่มี ecdysone น้อย ทำให้อัตราการเจริญของกุ้งต่ำ เนื่องจากกุ้งไม่สามารถสังเคราะห์สเตอรอลจากอะซีเตท (acetate)

ในการทดลองเกี่ยวกับกุ้งก้ามกราม แบลเลต โรส และบรูคส์ (Balazs, Ross and Brooks. 1973 : 369 - 377) รายงานว่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมมีค่าประมาณ 35% และพบว่า แหล่งโปรตีนผสมระหว่างถั่วเหลือง ปลาป่น และกุ้งป่นจะให้ผลดีกว่าแหล่งโปรตีนจากถั่วเหลืองอย่างเดียว หรือถั่วเหลืองและปลาป่นผสมกัน อย่างไรก็ตามก็ แบลเลต และคนอื่น ๆ (Balazs and others. 1974 : 1 - 14) ได้ทำการศึกษาในเรื่องเดียวกันนี้อีก และพบว่าโปรตีนจากถั่วเหลือง ปลาป่น และกุ้งป่น ผสมอาจใช้เพียง 15% ก็ทำให้การเจริญเติบโตของกุ้งมีค่าสูงสุด และให้ผลใกล้เคียงกับอาหารหมู (ที่มีปริมาณโปรตีน 24%)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

การดำเนินงานในการวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ

1. การทดลองวัดแอกติวิตี และปริมาณของฮอร์โมนลอกคราบ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เบตา-เอคโดโซน
2. การสกัดฮอร์โมนลอกคราบจากดักแด้ไหม
3. การทดลองและศึกษาเปรียบเทียบ ผลของการเลี้ยงดักแด้กิ้งก่ามกราบ รัชอนควัยดักแด้ไหม และอาหารผสมดักแด้ไหม

1. การทดลองวัดแอกติวิตีและปริมาณของฮอร์โมนลอกคราบ

วิธีที่ใช้ในการทดลอง ดัดแปลงมาจาก housefly bioassay ของ คาพลานีส์ และคนอื่น ๆ (Kaplanis and others. 1977 : 625 - 631) โดยใช้หนอนแมลงวันบ้านเป็นกลุ่มตัวอย่าง

1.1 การเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้าน

ในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้าน อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้รับความอนุเคราะห์จาก กองกีฏวิทยาทางแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เริ่มด้วยการนำดักแด้ (pupa) ของแมลงวันบ้านมาใส่ไว้ในกรงสำหรับเพาะเลี้ยง ประมาณ 3 - 5 วัน ดักแด้จะกลายเป็นตัวเต็มวัย (adult) แล้วเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วยอาหารที่เป็นส่วนผสมระหว่าง นมผงและน้ำตาลทราย ในอัตราส่วน 3 : 1 โดยปริมาตร (นมผงที่ใช้เป็นชนิดที่มีโปรตีนสูงและมีไขมันต่ำ) พร้อมกับมีน้ำชุมสำลี กระดาษทิชชูหรือฟองน้ำไว้ด้วย หลังจากแมลงวันออกจากดักแด้ประมาณ 3 วันก็จะเริ่มวางไข่ให้แมลงวันวางไข่บนเนื้อสัตว์ ซึ่งมีกระดาษทิชชูที่ชุ่มน้ำรองรับอยู่ เพื่อป้องกันไม่ให้เนื้อสัตว์แห้ง ไข่จะฟักออกเป็นตัวหนอนใช้เวลาประมาณ 18 - 20 ชั่วโมง นำหนอนมาเลี้ยงในอาหารซึ่งมีส่วนผสมดังนี้คือ

น้ำ	400	มิลลิลิตร
ยีสต์ (baker's yeast)	20	กรัม
รำปน	10	กรัม
แกลบ	180	กรัม

(สูตรอาหารนี้ใช้เลี้ยงหนอนได้ประมาณ 300 - 400 ตัว)

หมายเหตุ การเตรียมอาหารเลี้ยงหนอน เริ่มด้วยการหมักยีสต์ รำปน และน้ำให้ขึ้นประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง แล้วจึงนำแกลบใส่ลงในภาชนะที่ใช้เลี้ยง นำหนอนที่ได้ใส่ลงไป ควรใช้ผ้าตาถี่ปิดปากภาชนะที่ใช้เลี้ยงเพื่อป้องกันแมลงหวี่ที่เป็นตัวการแย่งอาหารที่สำคัญที่สุด

1.2 การเตรียมหนอนเพื่อใช้ในการทดลอง

เมื่อเลี้ยงหนอนจนได้อายุประมาณ 4 - 5 วัน คัดเฉพาะหนอนซึ่งมีขนาดใหญ่มาใช้ในการทดลอง โดยใช้ค้าย (ทำด้วยผ้า 100%) ผูกระหว่างปล้องที่ 6 - 7 แบบเงื่อนตาย อย่าให้แน่นหรือหลวมเกินไป หนอนที่ผ่านการผูกแล้วนำมาวางใน เพทรี ดิช (petri dish) ซึ่งรองรับด้วยกระดาษหิซซู่ที่หั่นด้วยน้ำคั่งทิ้งไว้หนึ่งคืน เช้าวันรุ่งขึ้น คัดเลือกหนอนที่เข้าคักแก่เฉพาะส่วนหัว ทิ้งไว้ประมาณ 5 - 6 ช.ม. ก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลองวัดแอกติวิตีต่อไป

1.3 การทดลองวัดแอกติวิตี ของฮอร์โมนลอกกราบ

1.3.1 การเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการทดลอง

นำสารที่ต้องการทดลองวัด แอกติวิตี มาละลายในน้ำกลั่น เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นเป็นไมโครกรัม/3ไมโครลิตร ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$) ฉีดสารละลายเข้าที่ส่วนท้ายของหนอนที่เตรียมได้จากข้อ 1.2 ปริมาตรของสารละลายที่ฉีดคือ 3 ไมโครลิตรสำหรับหนอนแต่ละตัว ในการทดลองจะใช้หนอนครั้งละ 10 - 15 ตัว ทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลองสำหรับสารแต่ละชนิด

1.3.2 การสังเกตผลและการคำนวณหาแอกติวิตีที่ได้

ในการทดลองนี้จะใช้วิธีการสังเกตผลและคำนวณหาแอกติวิตีตามวิธีของ คาร์ลสัน (Karlson. 1956 : 241 - 263)

หลังจากนำสารละลายที่ต้องการทดสอบมาฉีดหนอนตามวิธีในข้อ

1.3.1 แล้ว จะทำการสังเกตผลในเช้าวันรุ่งขึ้น โดยสังเกตการเข้าดักแด้ทางส่วนท้าย ภายกลองจุลทรรศน์นิกส์สองตา ซึ่งผลที่ได้จะแบ่งลักษณะของการเข้าดักแด้ดังนี้คือ เข้าดักแด้แบบสมบูรณ์ (complete) บางส่วน (marked) หรือเล็กน้อย (slight) คะแนนที่กำหนดให้สำหรับการเข้าดักแด้แต่ละแบบคือ 1 สำหรับแบบสมบูรณ์ 0.75 สำหรับแบบบางส่วน และ 0.5 สำหรับแบบเล็กน้อย ให้หาแอดคิวิตีที่วัดได้ อยู่ในรูปของ % effectiveness โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์ของหนอนที่มีชีวิต

ตัวอย่างการคำนวณหา แอดคิวิตี

นำหนอนที่เข้าดักแด้เฉพาะส่วนหัวมาทำการฉีดสารที่ต้องการทดสอบ (ปริมาณที่ฉีดเป็น $\mu\text{g}/3\mu\text{l}$) โดยฉีดเข้าทางส่วนท้ายของหนอน 15 ตัว หลังจากฉีดแล้ว มีหนอนที่เข้าดักแด้ (number pupated) 8 ตัว โดยเข้าดักแด้แบบสมบูรณ์ 4 ตัว บางส่วน 2 ตัว และเล็กน้อย 2 ตัว มีหนอนที่ไม่เข้าดักแด้ (number not pupated) 6 ตัว และตาย (number dead) 1 ตัว ดังนั้นหนอนที่มีชีวิต (number surviving) จะเท่ากับ 14 ตัว คิดคะแนนที่ได้จากลักษณะการเข้าดักแด้ส่วนท้ายแต่ละแบบคือ

$$\text{คะแนนที่ได้จากการเข้าดักแด้แบบสมบูรณ์} = 1 \times 4 = 4$$

$$\text{คะแนนที่ได้จากการเข้าดักแด้แบบบางส่วน} = 0.75 \times 2 = 1.5$$

$$\text{คะแนนที่ได้จากการเข้าดักแด้แบบเล็กน้อย} = 0.5 \times 2 = 1$$

นำคะแนนที่ได้มารวมกัน (number of positives) จะเท่ากับ 6.5 แล้วคำนวณหา ค่า % effectiveness ดังนี้

$$\% \text{ effectiveness} = \frac{\text{number of positives}}{\text{number surviving}} \times 100$$

$$\text{จากตัวอย่างข้างต้น } \% \text{ effectiveness} = \frac{6.5}{14} \times 100$$

$$= 46$$

1.3.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของเบตา-เอคโดโซน

นำสารมาตรฐาน β -ecdysone มาเตรียมเป็นสารละลายและนำมาทดสอบหาค่า % effectiveness ด้วยวิธีการในข้อ 1.3.1 และ 1.3.2 ความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 0.002 0.003 0.004 0.005 0.006 0.007 0.008 และ 0.012 $\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ ตามลำดับ โดยแต่ละความเข้มข้นจะทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลอง สร้างกราฟมาตรฐานของเบตา-เอคโดโซน โดย plot ระหว่างค่า % effectiveness กับความเข้มข้น กราฟมาตรฐานที่ได้จะนำไปใช้คำนวณเพื่อวัดปริมาณฮอร์โมนลอกคราบที่มีอยู่ในสารสกัดจากคักแค้ใหม่ต่อไป

3.4 การคำนวณหาปริมาณของฮอร์โมนลอกคราบในสารสกัดที่ได้

นำสารสกัดที่ได้จากคักแค้ใหม่ ที่รู้น้ำหนักแน่นอนมาทดสอบหาแอกติวิตีตามวิธีข้างต้น เพื่อหาค่า % effectiveness แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณฮอร์โมนลอกคราบจากกราฟมาตรฐานของเบตา-เอคโดโซน

2. การสกัดฮอร์โมนลอกคราบจากคักแค้ใหม่

ตัวอย่างคักแค้ใหม่ที่ใช้ในการวิจัย ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยและอบรมไหมนครราชสีมา

2.1 ขั้นตอนการสกัดคักแค้ใหม่มีดังนี้คือ

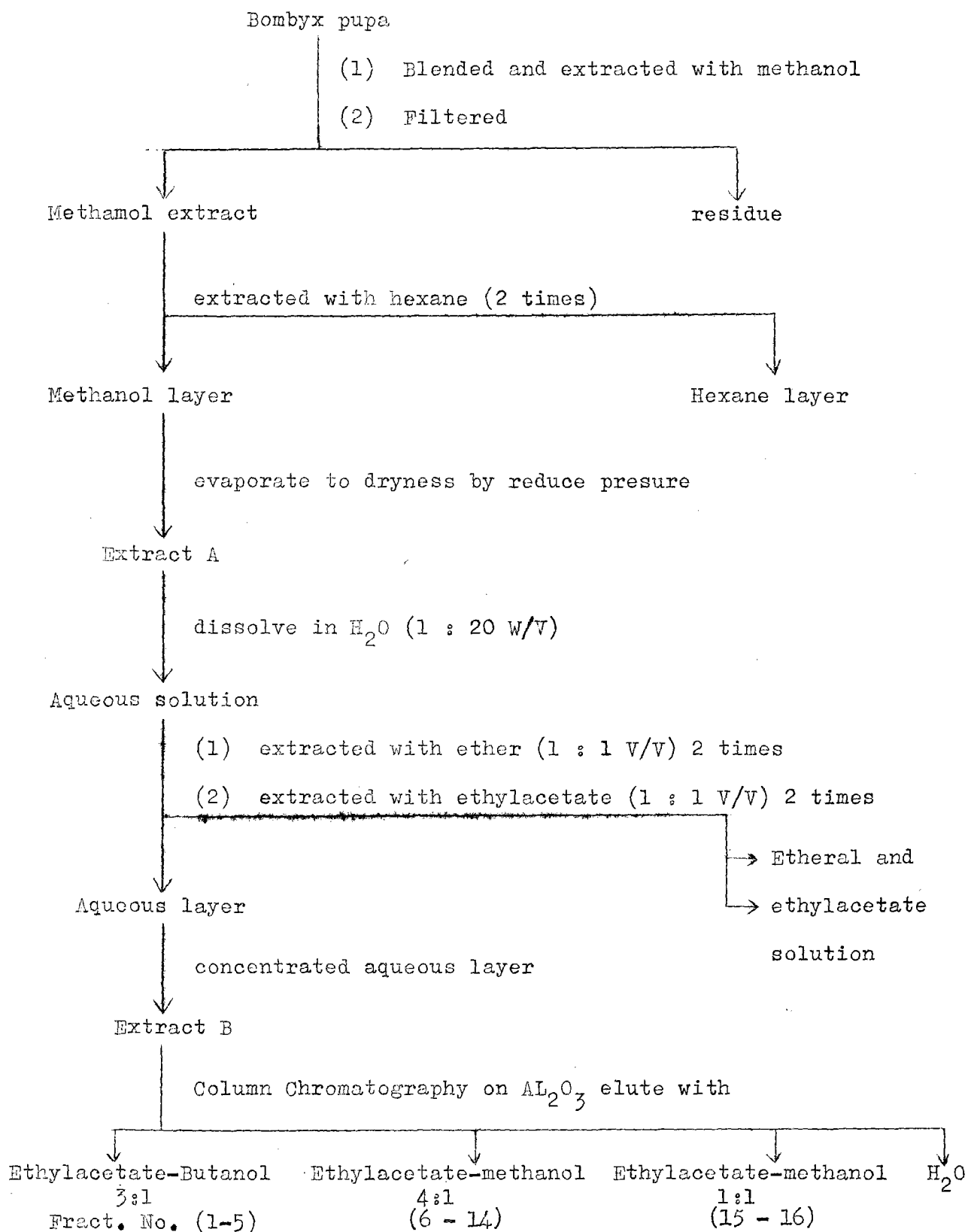
- 2.1.1 นำคักแค้ใหม่ผ่านการสาวไหมออกแล้วอบให้แห้งด้วยไอน้ำมาแกะเอาเศษรังไหมออกโดยใช้กรรไกรตัดแยกเอาคักแค้ใหม่ออกมา
- 2.1.2 นำคักแค้ใหม่มาสกัดด้วย methanol โดยการปั่นคักแค้ใหม่ด้วย methanol เมื่อปั่นแล้วทิ้งเอาไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ กรองสารละลายที่ได้จากการสกัดด้วย methanol ด้วยกระดาษกรอง
- 2.1.3 นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วย hexane ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร (v/v) 2 ครั้ง นำชั้นของ methanol (methanol layer) มาระเหย

โดยวิธีลดความดันที่อุณหภูมิ 65 °C จนกระทั่งแห้ง เรียกสารที่ได้ว่า สารสกัด A (extract A)

2.1.4 นำสารสกัด A มาละลายในน้ำ อัตราส่วน 1 : 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) คนให้เข้ากัน จากนั้นนำมาสกัดด้วย diethyl ether และ ethylacetate ตามลำดับ ด้วยอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตรโดยทำการสกัด 2 ครั้ง นำชั้นของน้ำ (aqueous layer) ที่ได้นำมาทำให้เข้มข้นโดยกลั่นแบบลดความดันจะได้สารสกัด B (extract B)

2.1.5 สารสกัด B ที่ได้นำมาทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยใช้เทคนิคของคอลัมน์โครมาโตกราฟี (column chromatography)

2.2 การทดลองแยกสารสกัด B ด้วยเทคนิคของ column chromatography นำคอลัมน์ซึ่งมีขนาด 2.2 x 60 เซนติเมตร ใช้สำลีหรือใยแก้ว เล็กน้อยอุดที่ด้านที่บนของคอลัมน์ วัสดุละลายผสมระหว่าง ethylacetate กับ butanol (3 : 1 โดยปริมาตร) ลงในคอลัมน์ จนถึงความสูงพอเหมาะ ปล่อยให้สารละลายหยดลงมาช้า ๆ แล้วใส่ผงอะลูมินา (alumina, Al_2O_3) ลงไปที่ระดับน้อยอย่างช้า ๆ เคาะคอลัมน์เบา ๆ เพื่อให้อะลูมินาเรียงตัวกันอย่างสม่ำเสมอ เติมสารละลายลงในคอลัมน์จนเกือบเต็มคอลัมน์ถึงข้างขึ้นไว้หนึ่งคืน เมื่อได้คอลัมน์ของอะลูมินาที่แน่นสม่ำเสมอทั้งที่แล้ว ปล่อยให้สารละลายหยดลงมาทางด้านล่าง รอให้ระดับของสารละลายลดลงเกือบจะแห้ง ใช้ปิเปตสำหรับหยด หยดสารสกัด B ที่ละลายใน ethylacetate : butanol (3 : 1 โดยปริมาตร) ลงไปบนคอลัมน์ของอะลูมินา หักเอาไว้ประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง จากนั้นจึงชะ (elute) ด้วยสารละลาย ethylacetate : butanol (3 : 1 โดยปริมาตร) ethylacetate : methanol (4 : 1 โดยปริมาตร) และ ethylacetate : methanol (1 : 1 โดยปริมาตร) เป็นตัวชะ (eluent) ตามลำดับ เก็บสารละลายที่ผ่านคอลัมน์โดยเก็บประมาณ แฟรกชัน (fraction) ละ 25 - 30 มิลลิลิตร แล้วจึงใช้น้ำประมาณ 200 มิลลิลิตรชะเป็นครั้งสุดท้าย นำสารละลายในแต่ละ fraction ไประเหยให้แห้ง และชั่งน้ำหนัก คั่งแสดงไว้ในแผนภาพ 3



แผนภาพ 3 แสดงขั้นตอนการสกัดด้ไทม์

สารสกัดที่ได้ในแกละแฟรกชัน รวมทั้งสารสกัดที่ได้จากการชะด้วยน้ำ และสารสกัด B จะถูกนำไปทดสอบวัด แอคติวิตี และปริมาณของฮอร์โมนลอกคราบตามวิธีในข้อ 1

3. การทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

สถานที่ใช้ในการศึกษา ใช้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชา-
วิทยาศาสตร์ทางทะเล และห้องปฏิบัติการชีวเคมีภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1 พ่อแม่พันธุ์และแม่พันธุ์ (brood stock)

ในการศึกษารังไข่ใช้พ่อแม่พันธุ์จากบ่อเลี้ยงของฟาร์มบริษัทกุ้งก้ามกรามทองจำกัด ในบริเวณคลองระบายน้ำที่ 8 ตำบลบึงบอน อำเภอนongเลื้อ จังหวัดปทุมธานี ขนาดของแม่กุ้งก้ามกรามที่ใช้มีความยาวเฉลี่ย 14.82 ± 0.91 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ย 34.92 ± 8.27 กรัม เป็นกุ้งที่ใช้ได้รับการผสมแล้วภายในบ่อเลี้ยงและอายุของไข่ประมาณ 10 - 15 วัน หลังผสม (สีไข่เป็นสีส้มปนเทา)

การขนส่งแม่พันธุ์จากบ่อเลี้ยงมายังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงส่วนมากใช้ถังพลาสติกขนาด 40 ลิตร ใส่น้ำประมาณ 15 ลิตรเติมฟองอากาศ แล้วคัดพ่อแม่พันธุ์ที่แข็งแรงใส่ลงในภาชนะประมาณ 6 - 10 ตัว/ถัง ใช้เวลาเดินทางจากบ่อเลี้ยงถึงห้องปฏิบัติการประมาณ 30 นาที หลังจากปรับอุณหภูมิภายในถังและบ่อพักพ่อแม่พันธุ์ให้เท่ากันแล้ว จึงแยกพ่อแม่พันธุ์ลงในบ่อพักกุ้ง

3.2 การเตรียมกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเพื่อใช้ทดลอง

เมื่อแม่พันธุ์มีไข่แก่อายุประมาณ 17 - 18 วัน (สีไข่เป็นสีน้ำตาลปนเทา) จึงแยกแม่กุ้งออกจากบ่อพักมาเลี้ยงในตู้กระจก (aquarium) เป็นแก้วใสขนาดบรรจุน้ำ 40 ลิตร ความเค็มของน้ำ 4 - 6 ส่วนในพันส่วน เมื่อลูกกุ้งฟักออกเป็นตัวหมดจึงแยกแม่กุ้งออกแล้วนับจำนวนลูกกุ้งโดยวิธีสุ่ม (uniformly randomized sampling) ด้วยการใช้อากาศพ่นให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำภายในบ่อพัก และทำให้ลูกกุ้งกระจายตัวออก

เท่า ๆ กัน หลังจากนั้นจึงสุ่มตัวอย่างน้ำประมาณ 10% ของปริมาตรทั้งหมดมานับจำนวน และคำนวณหาจำนวนของลูกกุ้งวัยอ่อน โดยใช้สูตร

$$P = V \cdot \frac{n}{v}$$

P = จำนวนลูกกุ้งวัยอ่อนทั้งหมด

V = ปริมาตรของน้ำในบ่อพักลูกกุ้ง

n = จำนวนลูกกุ้งวัยอ่อนจากการสุ่มตัวอย่าง

และ v = ปริมาตรของน้ำที่สุ่มตัวอย่าง

เมื่อได้จำนวนลูกกุ้งในบ่อพักแล้ว จึงค่อย ๆ แยกลูกกุ้งลงในบ่อทดลองต่อไป โดยใช้ความหนาแน่นของลูกกุ้งเท่ากับ 20 ตัว/ลิตร หรือปล่อยลูกกุ้ง 10,000 ตัว/บ่อทดลอง (ซึ่งมีขนาดความจุ 500 ลิตร)

3.3 น้ำสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

เป็นส่วนผสมของน้ำจืด (น้ำประปาที่ผ่านการไล่คลอรีนออกแล้ว) กับน้ำทะเล ที่ปล่อยให้ตกตะกอนและผ่านการกรองแล้ว ความเค็มควบคุมที่ 12 ส่วนในพันส่วนตลอดการทดลอง

การผสมน้ำจืดกับน้ำทะเล เพื่อให้ได้ความเค็มตามต้องการนี้กระทำได้โดย

การคำนวณจากสูตรคำนวณสารละลาย

$$\text{ตามสมการ } N_1 V_1 = N_2 V_2$$

เมื่อ N_1 คือ ค่าความเค็มของน้ำทะเล

N_2 คือ ค่าความเค็มของน้ำที่ต้องการ

V_1 คือ ปริมาตรของน้ำทะเล

V_2 คือ ปริมาตรของน้ำที่ผสมแล้ว

3.4 ระบบและวิธีการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

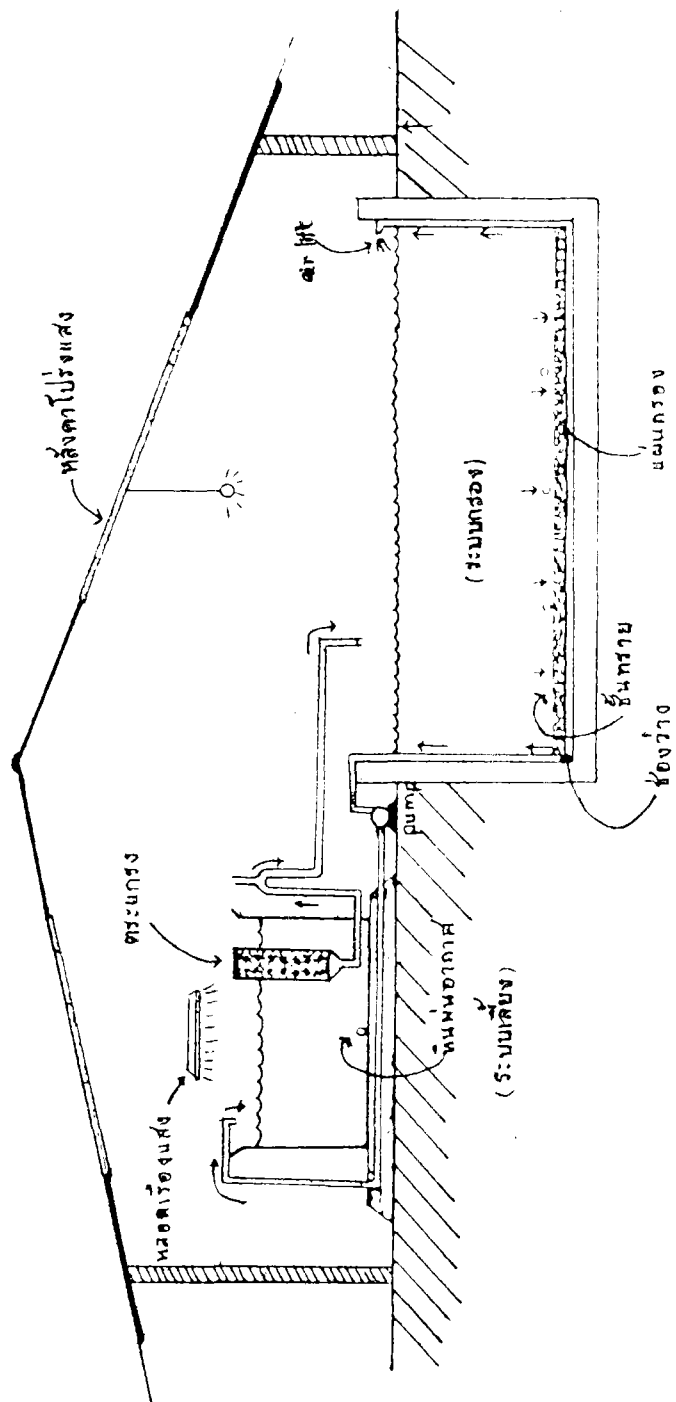
การศึกษครั้งนี้ใช้ระบบการเพาะเลี้ยงแบบระบบน้ำหมุนเวียนปิด ตามวิธี

การของ เพียรศิริ ปิยะธีรศิริวรกุล (เพียรศิริ ปิยะธีรศิริวรกุล 2524 : 129)

โดยใช้บิลซีเมนต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5 เมตร x ความสูง 1.20 เมตร จำนวน 1 บ่อ เป็นบ่อกรองน้ำ (ควยระบบ subsand filter) บ่อนี้ตั้งอยู่ใต้ดิน 80 เซนติเมตร และขอบบ่อสูงจากพื้นดิน 40 เซนติเมตร สามารถรับน้ำได้ประมาณ 7,500 ลิตร ซึ่งมากกว่า ปริมาตรของน้ำในบ่อเลี้ยงทั้งหมดรวมกัน

ระบบทั้งหมดนี้ติดตั้งอยู่กลางแจ้ง โดยบ่อกรองมีหลังคาโปร่งใสคลุมตลอด บ่อ เพื่อกันน้ำฝนตกลงในบ่อ เหนือบ่อ 50 เซนติเมตร ติดไฟเรืองแสง 40 วัตต์ 1 หลอด เพื่อช่วยให้แสงตอนกลางคืน ภายในบ่อจัดระบบกรองควยทรายและเปลือกหอยนางรม มีไม้เนื้อแข็งหนา 1 นิ้วเป็นแผ่นกรอง (filter plate) ใต้แผ่นกรองมีท่อ พี วี ซี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว เป็นแผ่นกรอง แบบใยแมงมุม และเปิดปลายท่อออกสู่ผิวหน้าจำนวน 4 ท่อ โดย 3 ท่อจะทำหน้าที่คูกน้ำจากใต้แผ่นกรองขึ้นข้างบนควยวิธีการใช้อากาศยกน้ำขึ้น เพื่อแก้ออกซิเจนการเกิดสภาวะขาดออกซิเจน (anaerobic condition) ในทราย ท่อที่เหลืออีก 1 ท่อ จะต่อเข้ากับเครื่องสูบน้ำที่มีอัตราการสูบประมาณ 22 ลิตร/นาที เพื่อสูบน้ำส่งไปยังบ่อเลี้ยงทั้ง 12 บ่อ ควยอัตราการเร็วเท่า ๆ กันทุกบ่อ คือประมาณ 1.50 ลิตร/นาที/บ่อ หรือประมาณ 90 ลิตร/ชั่วโมง/บ่อ ภายในบ่อกรองนี้จะให้อากาศตลอดเวลา เพื่อเพิ่มออกซิเจน

บ่อเลี้ยงคลุมด้วยหลังคาทึบแสง ด้านข้างทั้งหมดโค้งเพื่อให้แสงสว่างจากบริเวณรอบ ๆ สะท้อนเข้ามาบ่อเลี้ยง การจัดบ่อเลี้ยงในลักษณะนี้เพื่อป้องกันแสงแดดส่องลง ในบ่อเลี้ยงโดยตรง ทำให้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของสาหร่าย จำพวกสีน้ำเงิน แกรมเขียวบางชนิดที่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งวัยอ่อนได้ เหนือบ่อเลี้ยง 1.5 เมตรติดไฟเรืองแสงขนาด 40 วัตต์ 3 บ่อ/หลอด เพื่อเปิดให้แสงตอนกลางคืน ภายในบ่อเลี้ยงทุกบ่อมีท่อกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 นิ้ว 1 ท่อวางในแนวตั้งฉากกับพื้นบ่อ เพื่อทำหน้าที่กรองน้ำที่ใช้แล้วจากบ่อเลี้ยงส่งไปสู่บ่อกรอง ท่อนี้จะเป็นรูปท่อนขนาด 0.5 เซนติเมตร แล้วบุควยผ้ากรองขนาด 100 ไมครอน ปลายท่อนล่างลงต่อกับท่อขนาด 1 นิ้ว ซึ่งต่อโค้งสูงขึ้นภายนอกบ่อ เพื่อใช้ควบคุมความลึกของน้ำภายในบ่อเลี้ยงให้ไ้ระดับความลึก 45 เซนติเมตร และจากท่อนี้จะต่อเข้ากับท่อน้ำทิ้งรวมไปสู่บ่อกรอง เหนือบ่อเลี้ยงเป็นท่อขนาด 6/8 นิ้ว



ภาพประกอบ 4 แสดงระบบการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามด้วยอเนกแบบน้ำพูนเวียนปิด

ซึ่งตรงกับปริมาณน้ำที่สูบน้ำจากไคทราของบ่อกรองทำหน้าที่ส่งน้ำที่ผ่านการกรองแล้วมายังบ่อเลี้ยง ภายในบ่อเลี้ยงจะให้อากาศตลอดเวลาที่ทดลอง

ก่อนเริ่มการทดลองครั้งแรกบ่อเลี้ยงทุกบ่อจะถูกล้างให้สะอาด และฆ่าเชื้อโรคที่เกาะอยู่ริมบ่อด้วยการตากแดดไว้ 1 วัน หลังจากนั้นจึงเริ่มเตรียมน้ำกรวยความเค็ม 12 ส่วนในพันส่วน ลงในบ่อกรองและบ่อเลี้ยงและเดินเครื่องเป่าอากาศ และเครื่องสูบน้ำให้ระบบทำงานประมาณ 7 วัน จึงจะเริ่มปล่อยลูกกุ้งลงบ่อเลี้ยงเพื่อทำการทดลองต่อไป

ตลอดการทดลองน้ำที่ใช้จะไม่มีการเตรียมขึ้นใหม่ นอกจากการเติมน้ำจืดลงในระบบเป็นครั้งคราว เพื่อควบคุมความเค็มของน้ำให้เท่ากับ 12 ส่วนในพันส่วนเท่านั้น

3.5 ชนิดของอาหาร

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกกุ้งวัยอ่อนในการทดลองนี้ ได้ดัดแปลงมาจากอาหารผสม สูตร Mp (p.o.) ของ เพียร์ลิวี บียะธีระธิตีวรกุล

อาหารที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

1. อาหารที่มีชีวิต ได้แก่ อาร์ทีเมีย ซาไลน่า ที่ฟักออกจากไข่แล้ว

24 - 48 ชั่วโมง

2. อาหารผสม (Compound diets) ที่เตรียมขึ้นเองได้แก่

- 2.1 อาหารผสมเตรียมจากกากแค้ใหม่และตัวยึดอาหาร (binder),

สูตร Bmp

- 2.2 อาหารผสมเตรียมจากกากแค้ใหม่และตัวยึดอาหาร เต็มคาเซอีน

(Casein), สูตร Bmp (C.)

- 2.3 อาหารผสม สูตร Mp (L.o.)

3.6 การเตรียมอาหาร

- 3.6.1 การเตรียมตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย

ไข่อาร์ทีเมียที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นของ San Francisco Bay (California, U.S.A.) การเตรียมตัวอ่อนทำได้โดยเพาะไข่อาร์ทีเมียในน้ำทะเล หรือน้ำเกลือที่มีความเค็ม 28 - 30 ส่วนในพันส่วน ในอัตราส่วนไข่อาร์ทีเมีย

ตาราง 1 วิตามินรวม (Vitamins mix)

รายชื่อสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
Thiamine : HCL	5
Riboflavin	20
Pyridoxine : HCL	5
Choline chloride	500
Nicotinic acid	75
Ca-Pantothenate	50
Inositol	200
Biotin	0.5
Folic acid	1.5
L-Ascorbic acid	100
Vitamin B ₁₂	0.01
Menadione (K)	4
Alpha - tocopherol acetate (E)	40

ตาราง 2 แร่ธาตุรวม (Mineral mix)

รายชื่อสาร	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
<u>USP XII 2 plus :</u>	
(in 100 gm. of salt mixture)	
AlCl_3	5.9
ZnSO_4	119.3
CuCl	3.9
MnSO_4	31.8
Ki	5.9
CoCl_3	39.7
<u>USP XII 2</u>	
Sodium Chloride	17.3
Magnesium sulfate	54.5
Sodium biphosphate	34.7
Potassium phosphate	95.4
Calcium biphosphate	54.0
Calcium carbonate	130.0

10 กรัม/น้ำทะเล 10 ลิตร และขณะเพาะต้องใช้อากาศเป่าลงไปแรง ๆ เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของอากาศในอ่างเพาะ ไข่จะฟักออกเป็นตัวอ่อนภายใน 24 - 33 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26 - 28 °C เวลาจะนำมาเลี้ยงลูกกุ้งต้องแยกเอาตัวอ่อนของอาร์ทีเมียและเปลือกไข่ออกจากกัน แล้วล้างให้สะอาดจึงนำไปเลี้ยงโดยใช้ความหนาแน่นของอาหาร 5 - 10 ตัว/น้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3.6.2 การเตรียมอาหารผสม (Compound diets)

กรรมวิธีในการเตรียมอาหารผสมสูตรต่าง ๆ ทำตามขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมส่วนผสมอาหารต่าง ๆ ให้พร้อมตามที่ระบุใน

ตาราง 3

2. ละลายวุ้น (agar) ด้วยน้ำปริมาตรตามที่กำหนดใน

อาหารแต่ละสูตรที่อุณหภูมิประมาณ 90 °C

3. เติมส่วนผสมของอาหารต่าง ๆ ตามลำดับ คือ คัสเคอไมน์

คาเซอีน (casein) carboxy methyl cellulose เกลือแร่รวม (mineral mix) cod liver oil คนส่วนผสมของอาหารต่าง ๆ เหล่านี้อย่างรวดเร็วและแรง เพื่อให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน ปล่อยให้หุ้ณหภูมิลดลงจนเหลือประมาณ 40 °C จึงเติมวิตามินรวมลงไป แล้วคนเพื่อให้วิตามินเข้ากับส่วนผสมอาหารต่าง ๆ จนเป็นเนื้อเดียวกัน

4. นำส่วนผสมของอาหารที่ผสมเสร็จแล้วเทลงบนแผ่นอลูมิเนียมเนียม (aluminium foil) ใช้ช้อนเกลี่ยอาหารออกเป็นชั้นบาง ๆ นำเข้าแช่ในตู้เย็นจนวุ้นจับตัวแข็ง จึงแกะอาหารออกบรรจุในภาชนะสะอาด ปิดฝาให้สนิท แล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิ 0 °C

3.7 การดำเนินงานเกี่ยวกับการทดลอง

การทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนด้วยอาหารแต่ละสูตรกระทำซ้ำ

3 การทดลอง แต่ละการทดลองใช้ความหนาแน่นของลูกกุ้งเริ่มแรก 20 ตัว/ลิตร ในถัง

ตาราง 3 ส่วนประกอบของอาหารผสมสำหรับเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

ส่วนประกอบอาหาร (กรัม)	อาหารสูตร		
	Bmp	Bmp (C.)	Mp (L.o.)
ดักแด้ไหม	88	35	-
Casein	-	35	60
Agar	35	30	-
Feed Mixed	-	-	20
Cod liver oil	-	-	10
Polyvinyl Alclolohol	4	4	4
Carboxy Methyl Cellulose	2	2	2
Vitamins mix	-	2	2
Mineral mix	-	16	16
Water	300	250	186
Net weight	429	374	300

ไฟเบอร์กลาสขนาดความจุน้ำและรูปร่างเหมือนกัน คือเป็นถึงรูปทรงกระบอกมีความจุ 500 ลิตร

3.7.1 การให้อาหาร

ในการทดลองครั้งนี้ การให้อาหารลูกกุ้งจะเริ่มครั้งแรกเมื่อลูกกุ้งมีอายุหลังฟักเป็นตัวแล้ว 48 ชั่วโมง หรือ 2 วัน ด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย ซาไลโนอา อายุ 24 ชั่วโมง ทั้งเช้าและเย็น จนลูกกุ้งมีอายุได้ 8 วัน จึงเริ่มเปลี่ยนการให้อาหาร คือ ให้อาหารผสมสูตรต่าง ๆ สลับกับการให้อาหารที่เมีย โดยจะให้อาหารผสมตอนช่วงกลางวัน (12 ชั่วโมง) โดยเริ่มให้อาหารมื้อแรกตอน 08.00 น. จนถึง 17.00 น. ให้อาหารแต่ละมื้อห่างกัน 3 ชั่วโมง หรือ 4 ครั้งต่อวัน ส่วนตอนกลางคืนหลังจากทำความสะอาดแล้วจะเริ่มให้อาหารที่เมียอายุ 48 ชั่วโมงแทน โดยใช้ความหนาแน่นตามที่กล่าวมาแล้วคือ 5 – 10 ตัว/1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

การทดลองให้อาหารผสมจะใช้เวลาเลี้ยงต่อจากลูกกุ้งอายุ 8 วันต่อไปอีกประมาณ 29 วัน

3.7.2 การทำความสะอาดและดูแลกุ้ง

ทุกการทดลองการทำความสะอาดจะเริ่มครั้งแรกหลังจากเลี้ยงลูกกุ้งได้ 6 วัน การทำความสะอาดทุกครั้งจะเริ่มหลังจากการให้อาหารครั้งสุดท้ายแล้วประมาณ 30 นาที โดยใช้สายยางดูดเอาตะกอนและเศษอาหารในบ่อเลี้ยงออกด้วยวิธีกาดักน้ำ ปลายที่ปล่อยน้ำออกจะรองด้วยกระชอนตาถี่เหนือบ่อกรอง เพื่อป้องกันการสูญเสียลูกกุ้งลงบ่อกรอง และหลังจากทำความสะอาดบ่อเลี้ยงเรียบร้อยแล้วลูกกุ้งเหล่านี้จะถูกคัดกลับลงสู่อบเลี้ยงเดิม เมื่อดูดตะกอนออกเรียบร้อยแล้วจะเช็ดขอบบ่อเลี้ยงให้สะอาดด้วยฟองน้ำ เพื่อกำจัดเปลือกไข่ของอาร์ทีเมียและเศษอาหารหรือไขมันที่เกาะออก

สำหรับบ่อกรองการทำความสะอาดส่วนใหญ่จะใช้กระชอนตาถี่ ขอนเอาเศษใบไม้ ใบหญ้า และตะไคร่น้ำออกเท่านั้น

3.7.3 การตรวจสอบคุณภาพของน้ำ

การตรวจสอบทางสภาวะได้แก่ อุณหภูมิ และความเค็ม ตรวจสอบทุกวันด้วย เทอร์โมมิเตอร์ และรีเฟล็กทีฟ ซาลิโนมิเตอร์ (reflective salinometer) ตามลำดับ

3.7.4 การวิเคราะห์คุณภาพอาหาร

การวิเคราะห์ไขมัน

นำตัวอย่างของอาหารผสมสูตรต่าง ๆ มาวิเคราะห์ปริมาณไขมัน โดยใช้ตัวอย่างอาหารหนัก 10 กรัม ปั่นให้ละเอียดกับคลอโรฟอร์ม 20 มิลลิลิตร และ เมทานอล 40 มิลลิลิตร ในเครื่องปั่นไฟฟ้านาน 2 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 20 มิลลิลิตร ปั่นต่อ 30 วินาที เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ปั่นต่อไปอีก 30 วินาที จึงนำไปกรองโดย Büchner funnel ผ่านกระดาษกรอง (Whatman No. 1, Coors No.3) ได้ สารละลายที่กรองได้ในภาชนะแก้ว ส่วนกากและกระดาษกรองนำไปปั่นกับคลอโรฟอร์ม อีกครั้งตามวิธีข้างต้น ทำการกรองอีกที ได้สารละลายครั้งที่สองรวมกับสารละลายครั้งแรก ทั้งให้คลอโรฟอร์ม ระเหยไปจนหมด จึงทำการวัดหาปริมาณและน้ำหนักของไขมันที่ได้ (Bligh and Dyer. 1959 : 911 - 917)

การวิเคราะห์โปรตีน

ตัวอย่างอาหารสูตรต่าง ๆ จะถูกส่งไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ที่ห้องวิเคราะห์คุณภาพอาหารของโรงงานกรุงเทพฯ อาหารสัตว์

การหาความชื้น

ใช้ตัวอย่างอาหารหนัก 5 กรัม อบที่อุณหภูมิ 60°C จนแห้งสนิท โดยนำไปชั่งน้ำหนัก ทดสอบให้น้ำหนักอาหารคงที่จึงทำการเก็บข้อมูล

การหาเถ้า

ใช้ตัวอย่างอาหารหนัก 2 กรัม อบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550°C ในเวลาประมาณ 4 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นใน desicator ภายใต้ภาวะสุญญากาศ

3.7.5 การเก็บข้อมูล

1. ทำการสุ่มตัวอย่างลูกกึ่งที่เลี้ยงกัวอาหารชนิดต่าง ๆ ทุก ๆ 2 วัน เป็นเวลา 37 วัน โดยสุ่มตัวอย่างลูกกึ่งวัยอ่อน ครั้งละ 45 ตัวต่ออาหาร 1 ชนิด

หรือ 15 ตัวต่อบ่อเลี้ยง 1 บ่อ ทำการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อหาขั้นตอนการเจริญเติบโต (stages of development) ตามวิธีการของ ลิงค์ (Ling. 1969 : 589 - 606) และวัดความยาวของลูกกุ้งวัยอ่อนจาก กรี (rostrum) ถึงปลายหาง (telson)

2. เมื่อทำการทดลองครบ 37 วัน จะนับจำนวนลูกกุ้งทุกตัว เพื่อหาอัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์การรอด) ของลูกกุ้ง และหาสัดส่วนของกุ้งที่โตกว่าหรือไม่กว่า

3.7.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. หากความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูล 2 สิ่ง ที่ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร คือ ระหว่างอายุ (วัน) กับ ขั้นตอนของการเจริญเติบโต (stages) อายุ กับความยาว (มิลลิเมตร) และความยาวกับ ขั้นตอนการเจริญเติบโตของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน โดยใช้ Linear regression analysis

2. วิเคราะห์หาความแตกต่างของขั้นตอนการเจริญ ของความยาว และของเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน สำหรับอาหาร 4 ชนิด โดยใช้ One - way analysis of variance

3. วิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างขั้นตอนการเจริญและ ความยาว ซึ่งมีค่าผันแปรไปตามชนิดของอาหารที่เลี้ยงโดยใช้ Analysis of covariance

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ในการวิจัยนี้ ผลการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ตอน คือ

1. การทดสอบวัดแอกติวิตีของสารมาตรฐานเบตา-เอคโดโน
 2. การสกัดฮอร์โมนลอกกราบจากคักแค้ใหม่ การทดสอบวัดแอกติวิตีและปริมาณของฮอร์โมนลอกกราบโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเบตา-เอคโดโน
 3. ผลของอาหารผสมคักแค้ใหม่ที่มีต่อขั้นตอนของการเจริญ (stages) และการรอกของกิ้งก่ามกรามวัยอ่อน
- ซึ่งผลการทดลองเป็นดังนี้

1. ผลการทดลองวัดแอกติวิตีของสารมาตรฐานเบตา-เอคโดโน

ทำการวัดแอกติวิตีเป็นค่าของ % effectiveness โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเบตา-เอคโดโน ที่ความเข้มข้น 0.002 0.003 0.004 0.005 0.006 0.007 0.008 และ 0.012 $\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ ตามลำดับ แล้วนำไปทดสอบกับหนอนแมลงวันบ้าน ผลการทดลองจึงแสดงไว้ในตาราง 4 สร้างกราฟมาตรฐานของเบตา-เอคโดโน โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของฮอร์โมนที่ฉีด กับค่าของ % effectiveness ที่วัดได้ ซึ่งความสัมพันธ์สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$Y = 6233.3333 X - 2.86; \quad r = 0.93$$

เมื่อ Y คือ ค่า % effectiveness

X คือ ปริมาณของฮอร์โมนที่ฉีด ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$)

กราฟมาตรฐานของเบตา-เอคโดโนที่ได้แสดงไว้ในภาพประกอบ 5

ตาราง 4 แสดงผลการทดลองวัคซีนค็อกซ์ซาคีของสารมาตรฐาน เบตา-เอคโคโน

Dose ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$)	% Effective- ness	Number pupated			Number not pupated	Number dead	Number surviv ing	**** Number of posi- tives
		*Com- plete	** Marked	*** Slight				
0.002	-	-	-	-	10	-	10	-
	-	-	-	-	8	2	8	-
	-	-	-	-	9	1	9	-
0.003	10.00	1	-	-	9	-	10	1.00
	25.00	1	1	2	7	1	11	2.75
	27.27	-	2	3	6	1	11	3.00
0.004	21.87	1	1	-	6	2	8	1.75
	20.83	-	1	1	4	5	6	1.25
	30.55	1	1	2	5	1	9	2.75
0.005	25.00	-	1	2	4	4	7	1.75
	31.82	1	-	5	5	1	11	3.50
	33.33	2	2	1	7	1	12	4.00
0.006	39.58	2	3	1	6	-	12	4.75
	42.85	1	-	4	2	5	7	3.00
	43.18	2	1	4	4	2	11	4.75

ตาราง 4 (ต่อ)

Dose ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$)	% Effective- ness	Number pupated			Number not pupated	Number dead	Number surviv- ing	**** Number of posi- tives
		*Com- plete	** Marked	*** Slight				
0.007	40.38	1	3	4	5	-	13	5.25
	27.27	1	-	4	6	2	11	3.00
	46.43	1	1	3	2	4	7	3.25
0.008	40.91	3	-	3	5	1	11	4.50
	43.75	2	-	3	3	3	8	3.50
	59.09	1	4	5	1	1	11	6.50
0.012	72.22	3	2	4	-	2	9	6.50
	68.18	4	2	4	1	1	11	7.50
	64.58	4	3	3	2	1	12	7.75

* Complete หมายถึง ลักษณะการเข้าคักแด้แบบสมบูรณ์

** marked หมายถึง ลักษณะการเข้าคักแด้บางส่วน

*** slight หมายถึง ลักษณะการเข้าคักแด้เล็กน้อย

**** Number of positive = (complete x 1) + (marked x 0.75) +
(slight x 0.50)

ตาราง 5 แสดงแอกติวิตีของสารมาตรฐาน เบตา-เอคโตโน

Dose ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$)	% effectiveness (average)
0.002	-
0.003	20.76 ± 9.38
0.004	24.42 ± 5.34
0.005	30.05 ± 4.44
0.006	41.87 ± 1.91
0.007	38.02 ± 9.79
0.008	47.92 ± 9.78
0.012	68.33 ± 3.82

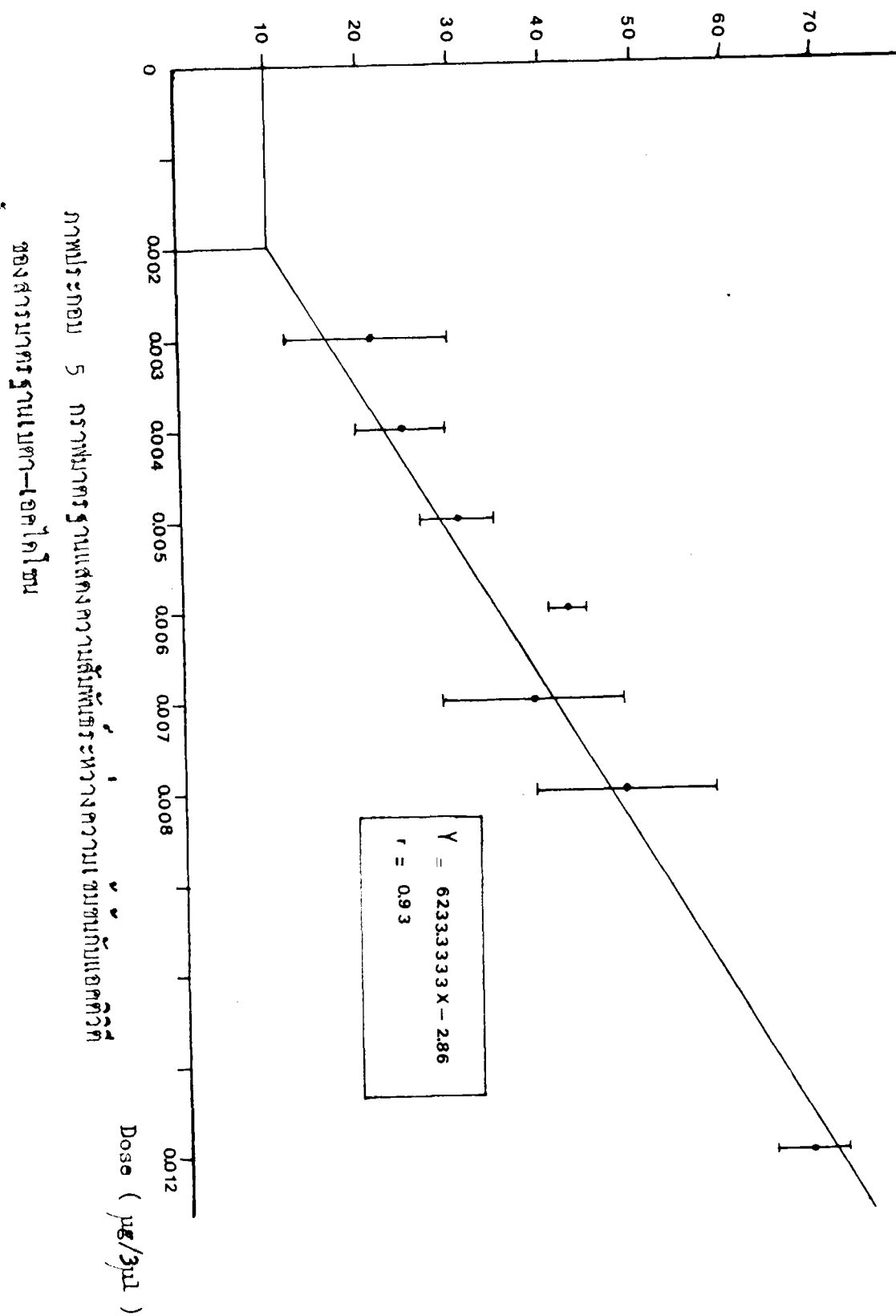
2. ผลการสกัด การทดลองวัดแอกติวิตี และปริมาณของฮอร์โมนลอกกราบจากคักแค้ใหม่

ผลการทดลองสกัดฮอร์โมนลอกกราบจากคักแค้ใหม่ โดยใช้สารละลาย ตามวิธีการ
ในข้อ 2.1 - 2.2 ได้ผลดังนี้

ขั้นที่ 1 การสกัดเริ่มจากคักแค้ใหม่บดละเอียด ซึ่งเป็นสารตั้งต้นหนัก
2,000 กรัม นำมาสกัดด้วย methanol และ hexane ตามลำดับ เมื่อนำไป
ระเหยให้แห้งโดยวิธีลดความดันที่อุณหภูมิ ประมาณ 65°C ได้สารที่ละลายในส่วนของ
methanol หรือสารสกัด A หนัก 232.10 กรัม คิดเป็นร้อยละ 11.61 โดยน้ำหนัก
ของสารตั้งต้น

ขั้นที่ 2 นำสารสกัด A มาละลายในน้ำ (1 : 20 w/v) และสกัดด้วย
ether และ ethylacetate ตามลำดับ เมื่อระเหยให้แห้งที่ 95°C จะได้
สารที่ละลายในส่วนของน้ำ หรือสารสกัด B หนัก 57.33 กรัม คิดเป็นร้อยละ 2.87
โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น

% Effectiveness



ขั้นที่ 3 นำสารสกัด B มาทำให้บริสุทธิ์เพื่อแยกสารโมโนลอคกราบ ด้วยวิธี column chromatography นำสารสกัด B หนัก 2 กรัม โดยมี alumina เป็นตัวดูดซับ แล้วละลายสารละลาย ethylacetate : butanol (3 : 1 V/V) ethylacetate : methanol (4 : 1 V/V) และ ethylacetate : methanol (1:1 V/V) ตามลำดับ เก็บสารละลายที่แยกออกมาตาม fraction ละ 25 มิลลิลิตร แล้วจึงใช้น้ำประมาณ 200 มิลลิลิตรชะเป็นครั้งสุดท้าย

สารสกัด B สารที่ได้ในแต่ละ fraction และสารที่ได้จากการชะด้วยน้ำ นำมาทดสอบเพื่อวัดแอกติวิตีตามวิธีในข้อ 1.3 คำนวณหาปริมาณของสารโมโนลอคกราบ โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ เมตา-เอคโคโทน (ภาพประกอบ 5)

$$\text{ปริมาณเอคโคโทน / fraction} = \frac{\text{wt. of sample (mg.)} \times \text{dose of std. } (\mu\text{g}/3\mu\text{l})}{\text{dose of sample } (\mu\text{g}/3\mu\text{l})} \times 1000$$

(μg/ Fract.)

เมื่อ wt. of sample แทน น้ำหนักเป็นมิลลิกรัมของสารทั้งหมด

dose of std. แทน ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน เมตา-เอคโคโทน

จากกราฟมาตรฐาน โดยเทียบจากค่า

% effectiveness ของสารที่วัดได้

dose of sample แทน ปริมาณ (μg / 3μl) ของสารที่ใช้ทดสอบ

ผลการทดลองวัดแอกติวิตี และการคำนวณหาปริมาณสารโมโนลอคกราบ โดยเทียบค่า % effectiveness ของสารที่ได้จากกราฟมาตรฐาน แสดงไว้ในตาราง 6 พบว่า fraction ที่ 1 - 5 ซึ่งเป็น fraction ที่ใช้สารละลาย ethylacetate : butanol (3 : 1 V/V) เป็นตัวชะ และ fraction 6 - 10 เมื่อใช้สารละลาย ethylacetate : methanol (4 : 1 V/V) เป็นตัวชะ มีแอกติวิตีของสารโมโนลอคกราบ และปริมาณของสารโมโนลอคกราบที่คำนวณได้มีค่าระหว่าง 0.467 - 3.567 ไมโครกรัม ดังแสดงไว้ในภาพประกอบ 6

ตาราง 6 แสดงแอลคาลอยด์และปริมาณของสารสกัดของตั๊กแตนหมี่

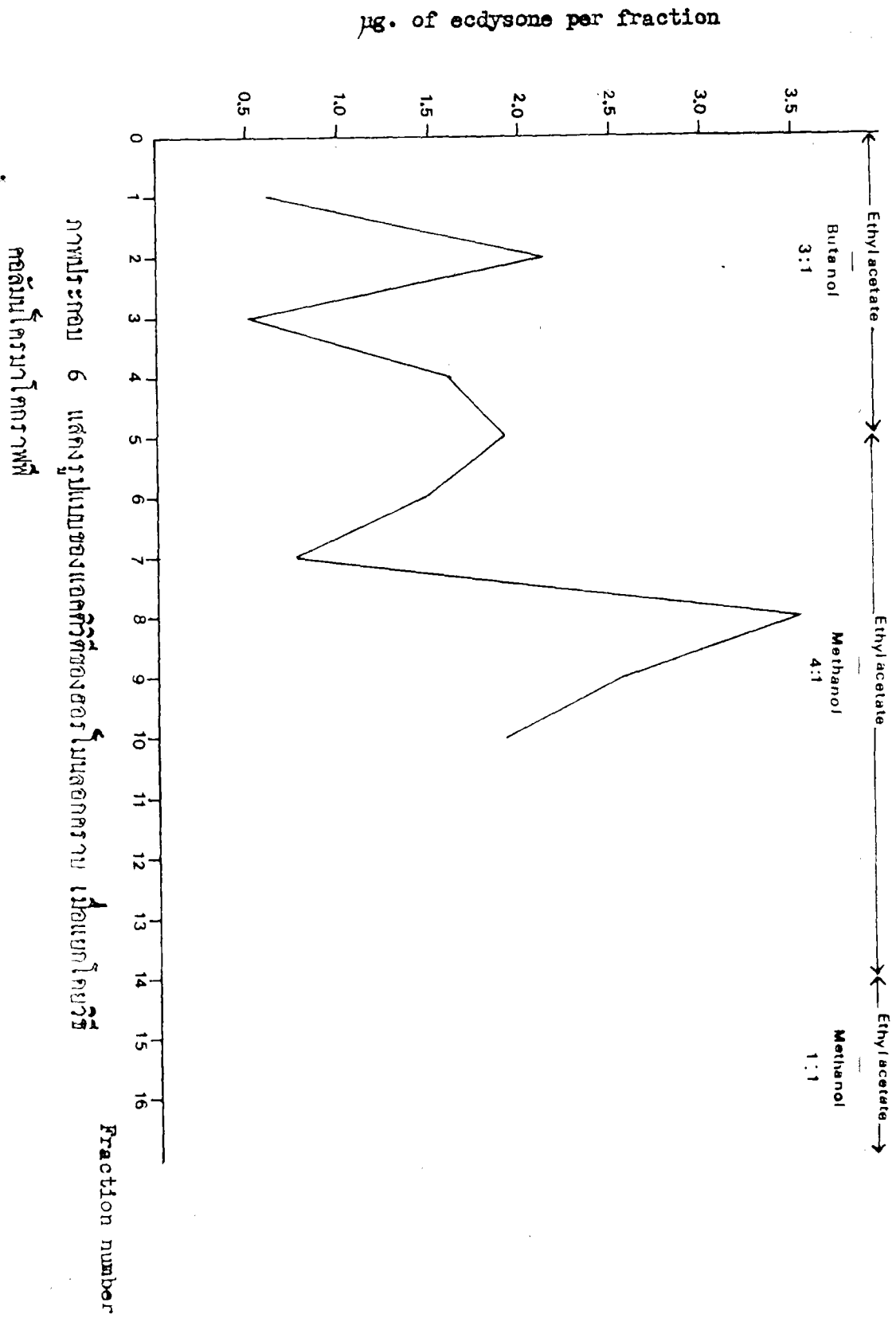
Solvent System	Fraction number	Wt. of Sample (mg.)	Volume (ml.)	Dose of Sample ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$)	% Effectiveness (average)	Dose of Std. P-ecdysone ($\mu\text{g}/3\mu\text{l}$)	Total ecdysone ($\mu\text{g}/\text{fract.}$)	$\mu\text{g. ecdysones per mg. of Sample}$	% Recovery
-	extract ₃	2000	12.28	488.40	74.17	0.0123	50.37	0.025	-
Ethylacetate - Butanol (3 : 1V/V)	1	2.60	0.5	15.60	21.88	0.0039	0.650	0.25	1.19
	2	16.20	0.5	97.20	75.98	0.0127	2.117	0.131	4.20
	3	52.3	0.5	313.8	15.0	0.0028	0.467	0.009	0.83
	4	44.0	0.5	264.0	56.67	0.0095	1.583	0.036	3.08
	5	65.8	0.5	394.8	68.75	0.0115	1.917	0.029	3.74
Ethylacetate	6	80.3	1	240.9	25.00	0.0044	1.466	0.018	2.78
	7	61.4	0.5	368.4	25.59	0.0045	0.750	0.012	1.42
	8	232.4	1	697.2	63.54	0.0107	3.567	0.015	6.95
	9	191.4	1	574.2	45.00	0.0077	2.567	0.013	4.96
	10	184.6	1	553.8	33.78	0.0058	1.933	0.010	3.64
Methanol (4 : 1V/V)	11	151.3	1	453.9	-	-	-	-	-
	12	100.5	1	301.5	-	-	-	-	-
	13	100.8	1	302.4	-	-	-	-	-
	14	80.6	1	241.8	-	-	-	-	-

ตาราง 6 (ต่อ)

Solvent System	Fraction number	Wt. of Sample (mg.)	Volume (ml.)	Dose of Sample (pg/3µl)	% Effectiveness (average)	Dose of Std. Ecdysone (pg/3µl)	Total ecdysone (pg/Fract.)	µg. ecdysones per mg. of Sample	% Recovery
Ethyl-acetate - Methanol (1 : 1V/V)				1	1				
	15	150.9	1	452.7	-	-	-	-	-
	15	143.2	1	429.6	-	-	-	-	-
H ₂ O	H ₂ O	1488.8	1	469.8	38.89	0.0067	21.232	0.014	40.89
Total							38.249		75.94

3. ผลของอาหารผสมที่เติมฮอร์โมนและการเจริญและการรอกของแมลงวันวัยอ่อน

อาหารผสมที่เติมฮอร์โมนถูกใช้ในการวิจัยอาหารผสม Bmp. Bmp (C.) และ Mp (I.O.) ซึ่งเตรียมไปตามตาราง 3 และอาหารผสมที่เติมฮอร์โมนของอาหารผสม (Ar.) อายุ 24 - 48 ชั่วโมง



3.1 การวิเคราะห์คุณค่าอาหาร

ผลการวิเคราะห์คุณค่าของอาหารสูตร 3 ชนิด ดังแสดงใน

ตาราง 7

ความชื้น พบว่า อาหารสูตรทั้ง 3 ชนิดมีความชื้นสูงกว่า 50% ของน้ำหนักอาหาร อาหารสูตร Bmp. มีความชื้นสูงที่สุด 71.43% ส่วนอาหารสูตร Bmp.(C.) และ Mp.(L.o.) มีความชื้น 64.43 และ 55.80% ตามลำดับ

โปรตีน พบว่า อาหารสูตร Mp.(L.o.) มีระดับโปรตีนสูงที่สุด 20.70% รองลงมาคือ อาหารสูตร Bmp (C.) 17.50% และอาหารสูตร Bmp. มีระดับโปรตีนต่ำที่สุด 14.35%

ไขมัน กรดไขมันอิสระ พบว่า มีรูปแบบคล้ายกับโปรตีน คือ มีปริมาณสูงที่สุดในอาหารสูตร Mp(L.o.) และต่ำที่สุดในอาหารสูตร Bmp ซึ่งตรงข้ามกับความชื้น

พบว่า ระดับความชื้น โปรตีน และไขมันในอาหารสูตร Bmp (C.) มีค่าใกล้เคียงกับระดับความชื้น โปรตีน และไขมัน เฉลี่ยระหว่างอาหารสูตร Bmp. กับ Mp(L.o.) ซึ่งเท่ากับ 63.62 17.53 และ 9.47% ตามลำดับ

ตาราง 7 แสดงผลการวิเคราะห์คุณค่าอาหารสำหรับเลี้ยงกิ้งก่ามกรามวัยอ่อน (ปริมาณคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก)

ชนิดของอาหาร	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	กรดไขมันอิสระ	คาร์โบไฮเดรต
Bmp.	71.43	14.35	7.96	0.97	5.29
Bmp.(C.)	64.43	17.50	10.67	3.59	3.81
Mp.(L.o.)	55.80	20.70	10.97	9.34	5.4

3.2 ผลของอาหารสูตร และตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย ต่อขั้นตอนการเจริญของ กุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

การทดลองนี้ใช้อาหารสูตร Bmp Bmp (C.) และ Mp.(L.o.) เลี้ยง สลับกับตัวอ่อนอาร์ทีเมียอย่างละ 12 ชั่วโมง กับการเลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย (Ar.) อย่างเดียวตลอด 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงไว้ในตาราง 8 และ ภาพประกอบ 7 พบว่า การเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (ตามขั้นตอนการพัฒนาของ Ling. 1969) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp (L.o.) มีการเจริญดีที่สุด ส่วนอาหารสูตร Bmp มีการเจริญช้าที่สุด

ดูทั้งนี้และการทดลองมีการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ ซึ่งเขียนเป็นสมการ ได้ดังนี้

$$\text{อาร์ทีเมีย Ar,} \quad Y = 4.3737 + 0.1129X ; \quad r = 0.84$$

$$\text{อาหารสูตร Bmp.,} \quad Y = 4.8341 + 0.0627X ; \quad r = 0.75$$

$$\text{อาหารสูตร Bmp.(C.)} Y = 3.8794 + 0.1263X ; \quad r = 0.98$$

$$\text{อาหารสูตร Mp.(L.o.)} Y = 4.1162 + 0.1273X ; \quad r = 0.89$$

เมื่อ Y แทน การเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามตามขั้นตอนของการพัฒนา
หรือ stage of development

X แทน อายุของกุ้งเป็นวัน

ตาราง 8 ขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เมียบ (Ar) และ
อาหารสูตร Mp.(L.o.), Bmp., Bmp.(C.)

อายุ หลังฟัก (วัน)	ขั้นตอน* (Stages)	ชนิดอาหาร		อายุ หลังฟัก (วัน)	ขั้นตอน* (Stages)	ชนิดอาหาร	
		Ar	Mp.(L.o.)			Bmp.	Bmp.(C.)
วันแรก	I	100	100	วันแรก	I	100	100
8	III	-	20	9	IV	-	60
	IV	100	80		V	100	40
10	IV	-	4	11	V	47	62
	V	60	96		VI	53	38
	VI	40	-				
12	V	13	-	13	V	4	7
	VI	87	100		VI	96	93
14	VI	97	100	15	V	-	-
	VII	3	-		VI	100	100
					VII	-	-
16	VI	80	100	17	V	3	-
					VI	97	98
	VII	20	-		VII	-	2

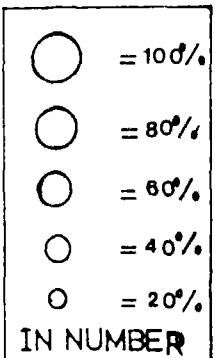
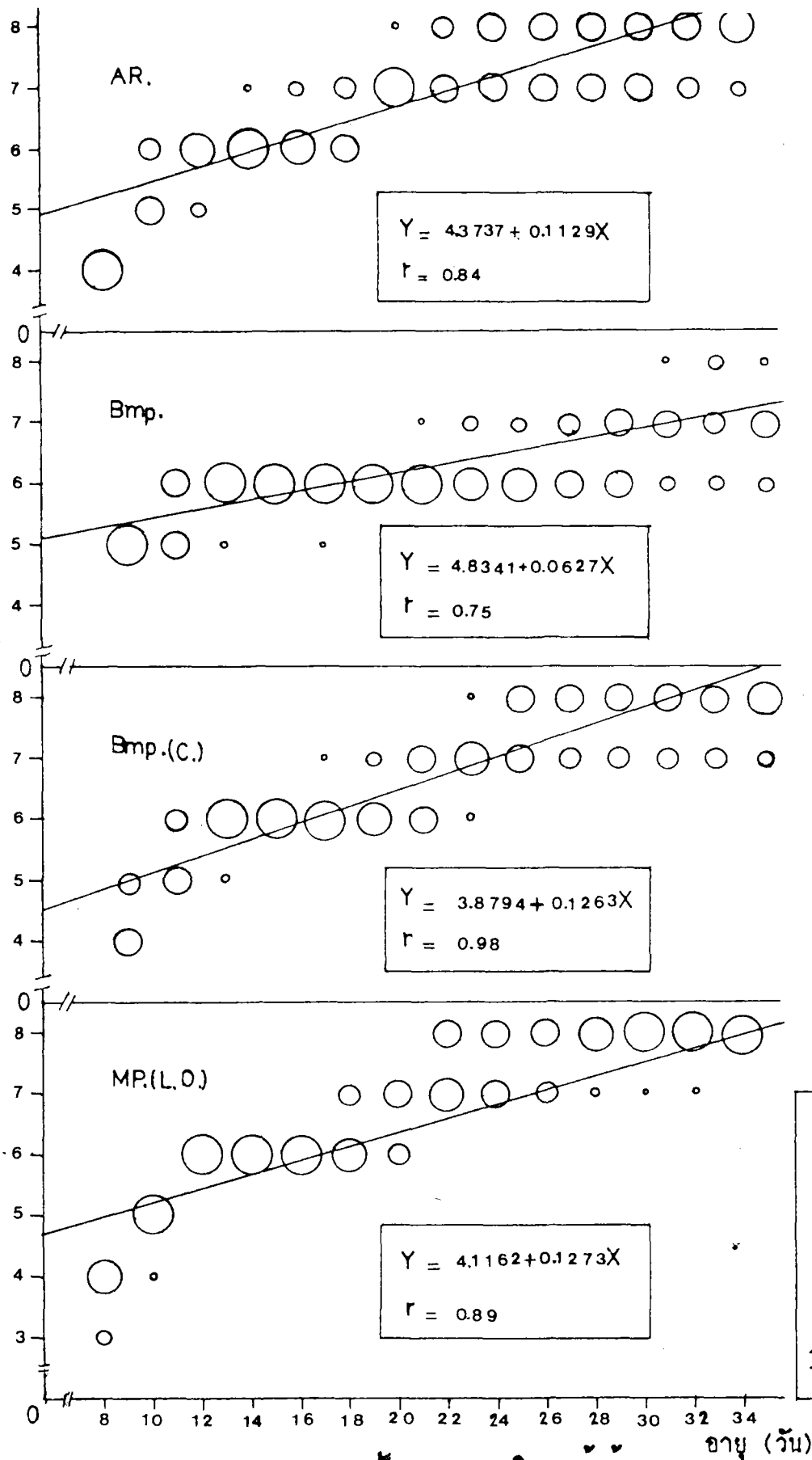
ตาราง 8 (ต่อ)

อายุ หลังปัก (วัน)	๕ ขั้นตอน* (stages)	ชนิดอาหาร		อายุ หลังปัก (วัน)	๕ ขั้นตอน* (stages)	ชนิดอาหาร	
		Ar	Mp.(L.o.)			Bmp.	Bmp.(C.)
18	VI	63	71	19	VI	100	78
	VII	37	29		VII	-	22
20	VI	-	36	21	VI	97	51
	VII	90	64		VII	3	49
	VIII	10	-				
22	VII	60	71	23	VI	71	11
					VII	29	80
	VIII	40	29		VIII	-	9
24	VII	50	47	25	VI	78	-
	VIII	50	53		VII	22	47
					VIII	-	53
26	VII	50	36	27	VI	62	-
					VII	38	31
	VIII	50	64		VIII	-	69

ตาราง 8 (ต่อ)

อายุ หลังฝึก (วัน)	ขั้นตอน* (stages)	ชนิดอาหาร		อายุ หลังฝึก (วัน)	ขั้นตอน* (stages)	ชนิดอาหาร	
		Ar	Mp. (L.o.)			Bmp.	Bmp. (C.)
28	VII	47	11	29	VI	53	-
	VIII	53	89		VII	46	31
					VIII	-	69
30	VII	57	4	31	VI	22	-
	VIII	43	96		VII	65	29
					VIII	13	71
32	VII	30	4	33	VI	22	-
	VIII	70	96		VII	53	31
					VIII	24	69
34	VII	21	-	35	VI	20	-
	VIII	79	100		VII	62	20
					VIII	18	80

ขั้นตอนการเจริญของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน (Stages)



ภาพประกอบ 7 แสดงขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกราม

วัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เมื่อย และอาหารสูตร

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติของการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ (อัตราการเปลี่ยน stages ต่อเวลา (วัน)) พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp.(L.o.) มีสมบัติของการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญสูงที่สุดคือ 0.1273 และอาหารสูตร Bmp. มีสมบัติของการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญต่ำที่สุดคือ 0.0627

การวิเคราะห์ผลของอาหารทั้งหมดต่อขั้นตอนการเจริญด้วย analysis of variance พบว่า อัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($F < 0.01$) ดังผลในตาราง 9. และจากการวิเคราะห์เพื่อหาความแตกต่างของขั้นตอนการเจริญของกุ้งวัยอ่อนสำหรับอาหารแต่ละคู่ด้วยการเปรียบเทียบค่า $F - test$ ของความแปรปรวน ดังตาราง 10 พบว่า ขั้นตอนการเจริญของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp. มีความแตกต่างกับอาหารชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

อาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย มีขั้นตอนการเจริญแตกต่างกับอาหารสูตร Mp. (L.o.) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับอาหารสูตร Bmp. (C.) ส่วนอาหารสูตร Mp. (L.o.) มีขั้นตอนการเจริญแตกต่างกับอาหารสูตร Bmp. (C.) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตาราง 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน สำหรับอาหารแต่ละชนิด

Source of Variation	d.f.	S.S.	M.S.	F
Between gr.	3	188.0680	62.6893	** 72.4229
Within gr.	2124	1838.6020	0.8656	(df.=3,2124)
Total	2127	2026.6700		

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

ตาราง 10 การเปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของขั้นตอนการ
เจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย Artemia และอาหารสูตร

สูตรอาหาร	Ar.	Bmp.	Bmp.(C.)	Mp.(L.o.)
Ar.				
Bmp.	** 129.07			
Bmp.(C.)	0.25	** 135.01		
Mp.(L.o.)	* 4.60	** 216.99	** 7.86	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

3.3 ผลการศึกษาเปลี่ยนแปลงความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย ตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย และอาหารสูตร

สำหรับอาหารแต่ละชนิด เมื่อกุ้งมีอายุมากขึ้น ความยาวจะเพิ่มมากขึ้น
ซึ่งผลการทดลองแสดงไว้ในตาราง 11 และภาพประกอบ 8 พบว่า กุ้งแต่ละการทดลอง
มีการเปลี่ยนความยาวหรือขนาดเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

อาร์ทีเมีย Ar, $Y = 2.3839 + 0.2013X$; $r = 0.87$

อาหารสูตร Bmp., $Y = 2.7066 + 0.1033X$; $r = 0.90$

อาหารสูตร Bmp.(C.), $Y = 2.6279 + 0.1678X$; $r = 0.85$

อาหารสูตร Mp.(L.o.), $Y = 1.9909 + 0.2287X$; $r = 0.93$

เมื่อ Y แทน ความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเป็นมิลลิเมตร

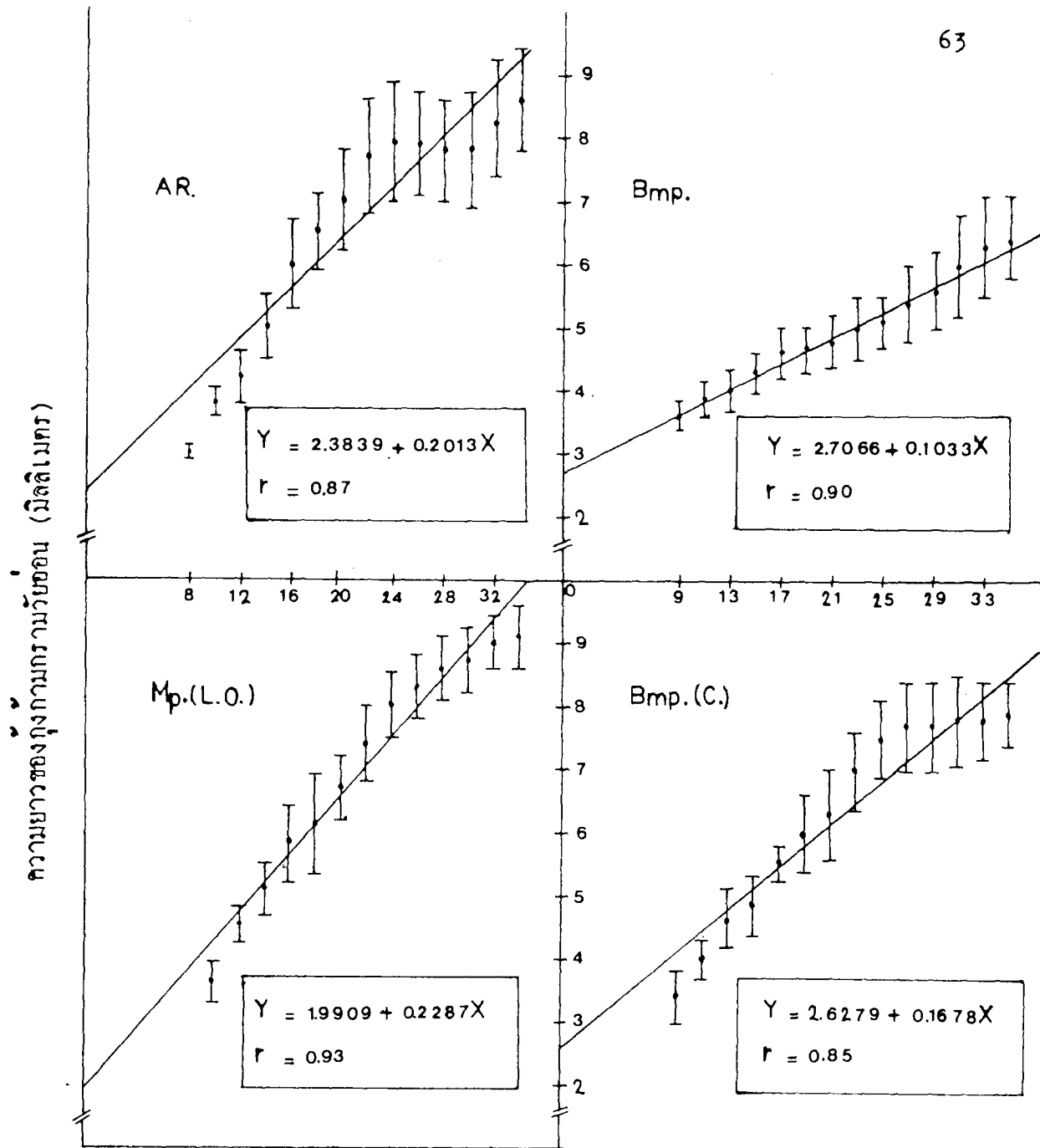
X แทน อายุของกุ้งก้ามกรามเป็นวัน

ตาราง 11 แสดงความยาวเป็นมิลลิเมตรของกิ่งวัยอ่อนพืชเลี้ยงวัย การพัฒนา (Ar) และอาหารสูตร

อายุ (วัน)	Ar.		M.p. (I.O.)		อายุ (วัน)	I.p.		D.p. (C.)	
	$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range		$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range
8	3.09 $\pm$ 0.11	2.87 - 3.25	—	—	9	3.62 $\pm$ 0.24	3.25 - 4.05	3.427 $\pm$ 0.35	2.95 - 3.90
10	3.82 $\pm$ 0.22	3.40 - 4.20	3.63 $\pm$ 0.27	2.75 - 4.00	11	3.93 $\pm$ 0.24	3.30 - 4.45	3.98 $\pm$ 0.27	3.45 - 4.50
12	4.23 $\pm$ 0.36	3.25 - 4.75	4.45 $\pm$ 0.30	4.10 - 5.00	13	3.98 $\pm$ 0.26	3.20 - 4.75	4.64 $\pm$ 0.40	3.85 - 5.2
14	4.99 $\pm$ 0.48	4.00 - 6.00	5.10 $\pm$ 0.37	4.30 - 5.80	15	4.35 $\pm$ 0.25	3.80 - 4.80	4.85 $\pm$ 0.42	4.00 - 5.8
16	6.173 $\pm$ 0.66	5.10 - 7.80	5.75 $\pm$ 0.56	3.75 - 6.70	17	4.59 $\pm$ 0.41	3.65 - 5.50	5.53 $\pm$ 0.20	4.25 - 6.8
18	6.503 $\pm$ 0.62	5.10 - 7.40	6.15 $\pm$ 0.76	4.50 - 7.60	19	4.69 $\pm$ 0.33	4.15 - 5.50	5.99 $\pm$ 0.65	4.00 - 7.5
20	7.06 $\pm$ 0.78	5.70 - 8.40	6.66 $\pm$ 0.48	5.70 - 7.70	21	4.79 $\pm$ 0.4	4.15 - 5.50	6.33 $\pm$ 0.69	4.05 - 7.80
22	7.71 $\pm$ 0.94	6.10 - 9.20	7.46 $\pm$ 0.66	5.70 - 8.4	23	5.06 $\pm$ 0.47	4.15 - 6.00	6.95 $\pm$ 0.64	5.40 - 8.60
24	7.93 $\pm$ 0.923	6.70 - 9.60	8.05 $\pm$ 0.53	6.80 - 9.20	25	5.11 $\pm$ 0.41	4.30 - 6.20	7.49 $\pm$ 0.62	6.30 - 8.50
26	7.86 $\pm$ 0.80	6.30 - 9.10	8.30 $\pm$ 0.53	6.60 - 9.10	27	5.4 $\pm$ 0.59	4.30 - 7.30	7.65 $\pm$ 0.67	6.00 - 8.90

Table 11 (10)

Order (No.)	Ar.		M.p. (L.O.)		Order (No.)	Emp.		Emp. (C.)	
	$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range		$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range
28	7.83 $\pm$ 0.83	6.50 - 9.10	8.64 $\pm$ 0.47	7.50 - 9.90	29	5.58 $\pm$ 0.62	4.75 - 7.50	7.65 $\pm$ 0.72	6.40 - 9.30
30	7.83 $\pm$ 0.94	6.30 - 9.60	8.69 $\pm$ 0.46	7.80 - 9.90	31	6.02 $\pm$ 0.77	4.60 - 7.90	7.77 $\pm$ 0.69	6.20 - 9.00
32	8.28 $\pm$ 0.86	6.60 - 10.00	9.082 $\pm$ 0.43	8.10 - 9.80	33	6.25 $\pm$ 0.84	5.00 - 8.60	7.82 $\pm$ 0.65	6.50 - 9.10
34	8.67 $\pm$ 0.79	7.30 - 10.30	9.122 $\pm$ 0.48	8.00 - 10.00	35	6.37 $\pm$ 0.67	5.30 - 8.10	7.87 $\pm$ 0.49	6.60 - 9.00



ภาพประกอบ 8 แสดงความยาวของกระดูกยาววัยอ่อน
ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เมื่อย และอาหารสูตร

ผลการทดลองเหมือนกับการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ คือ กุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย
อาหารสูตร Mp. (L.o.) มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวสูงที่สุดคือ 0.2287
และอาหารสูตร Bmp. ค่าที่สุดคือ 0.1033

การวิเคราะห์ผลของอาหารทั้งหมดต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวด้วยการวิเคราะห์
ความแปรปรวน พบว่า อัตราการเปลี่ยนความยาวของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด
มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังผลในตาราง 12 และเมื่อ
เปรียบเทียบค่า $F - test$ เพื่อหาความแตกต่างของความยาวที่เปลี่ยนแปลงของกุ้ง
วัยอ่อนของอาหารแต่ละคู่ ดังตาราง 13 พบว่า ความยาวของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย
อาหารแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตาราง 12. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด

Source of Variation	d.f.	S.S.	M.S.	F
Between group	3	1485.8070	495.2690	** 216.8523 (d.f.=3,2124)
Within group	2124	4851.1030	2.2839	
Total	2127	6336.91		

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

ตาราง 13. การเปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด

ชนิดอาหาร	(Ar) Artemia	Bmp. คักแค้ใหม่	Bmp.(C.) คักแค้ + Casein	Mp. (L.o.)
(Ar) Artemia				
Bmp คักแค้ใหม่	** 419.63			
Bmp.(C.) คักแค้ + Casein	** 9.8322	** 389.412		
Mp.(L.o.)	** 8.6711	** 635.66	** 47.57	

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

เมื่อเปรียบเทียบความยาวของลูกกุ้งก้ามกราม ที่เพิ่มขึ้นคิดเป็นมิลลิเมตรกับ
ระยะเวลาของการเจริญ โดยติดตามวัดความยาวทุกระยะ 2 วัน ผลการทดลอง
แสดงไว้ในตาราง 14 และภาพประกอบ 9

ตาราง 14 แสดงความยาวที่เพิ่มขึ้นเป็นมิลลิเมตร ทุก ๆ 2 วัน ของกุ้งวัยอ่อนที่ได้เลี้ยง
ด้วยอาหาร 4 ชนิด

อายุ (วัน)	Artemia (Ar.)	อาหารสูตร Mp.(L.o.)	อายุ (วัน)	อาหารสูตร Bmp.	อาหารสูตร Bmp.(C.)
10	0.73	—	11	0.32	0.55
12	0.41	0.82	13	0.05	0.66
14	0.76	0.65	15	0.37	0.21
16	1.183	0.65	17	0.24	0.68
18	0.33	0.40	19	0.10	0.46
20	0.56	0.51	21	0.10	0.34
22	0.65	0.80	23	0.27	0.62
24	0.22	0.59	25	0.05	0.54
26	-0.076	0.26	27	0.29	0.16

ตาราง 14 (ต่อ)

อายุ (วัน)	Artemia Ar.)	อาหารสูตร Mp.(L.o.)	อายุ (วัน)	อาหารสูตร Bmp.	อาหารสูตร Emp.(C.)
28	-0.027	0.34	29	0.18	-
30	0	0.05	31	0.44	0.12
32	0.45	0.39	33	0.23	0.05
34	0.39	0.04	35	0.12	0.05

3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความยาว และขั้นตอนการเจริญของ
กุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย และอาหารสูตร

สำหรับอาหารแต่ละชนิด เมื่อกุ้งวัยอ่อนมีการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญไป ความยาวของกุ้งก็จะมีเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ผลการทดลองแสดงไว้ในตาราง 15 และ ภาพประกอบ 10 ซึ่งสามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\text{อาร์ทีเมีย Ar,} \quad Y = 1.5987X - 4.1519 ; r = 0.93$$

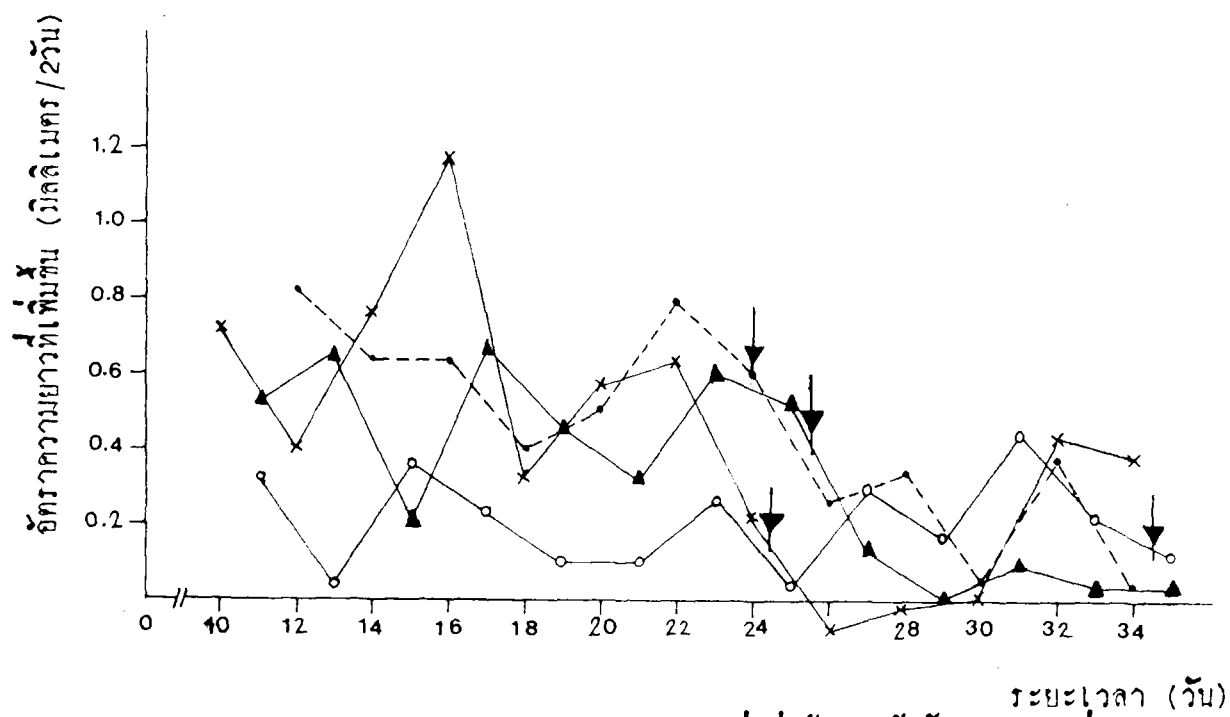
$$\text{อาหารสูตร Bmp.,} \quad Y = 1.2585X - 2.8294 ; r = 0.87$$

$$\text{อาหารสูตร Bmp.(C.)} \quad Y = 1.2672X - 2.1618 ; r = 0.85$$

$$\text{อาหารสูตร Mp.(L.o.)} \quad Y = 1.6166X - 4.1473 ; r = 0.93$$

เมื่อ Y แทน ความยาวของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเป็นมิลลิเมตร

X แทน ขั้นตอนการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน



ภาพประกอบ 9 แสดงอัตราความยาวที่เพิ่มขึ้นของกระดูกามกรามวัยอ่อน
ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เมื่อย และอาหารสูตร

x — x AR.

o — o Bmp.

▲ — ▲ Bmp.(C.)

● — ● Mp.(L.O.)

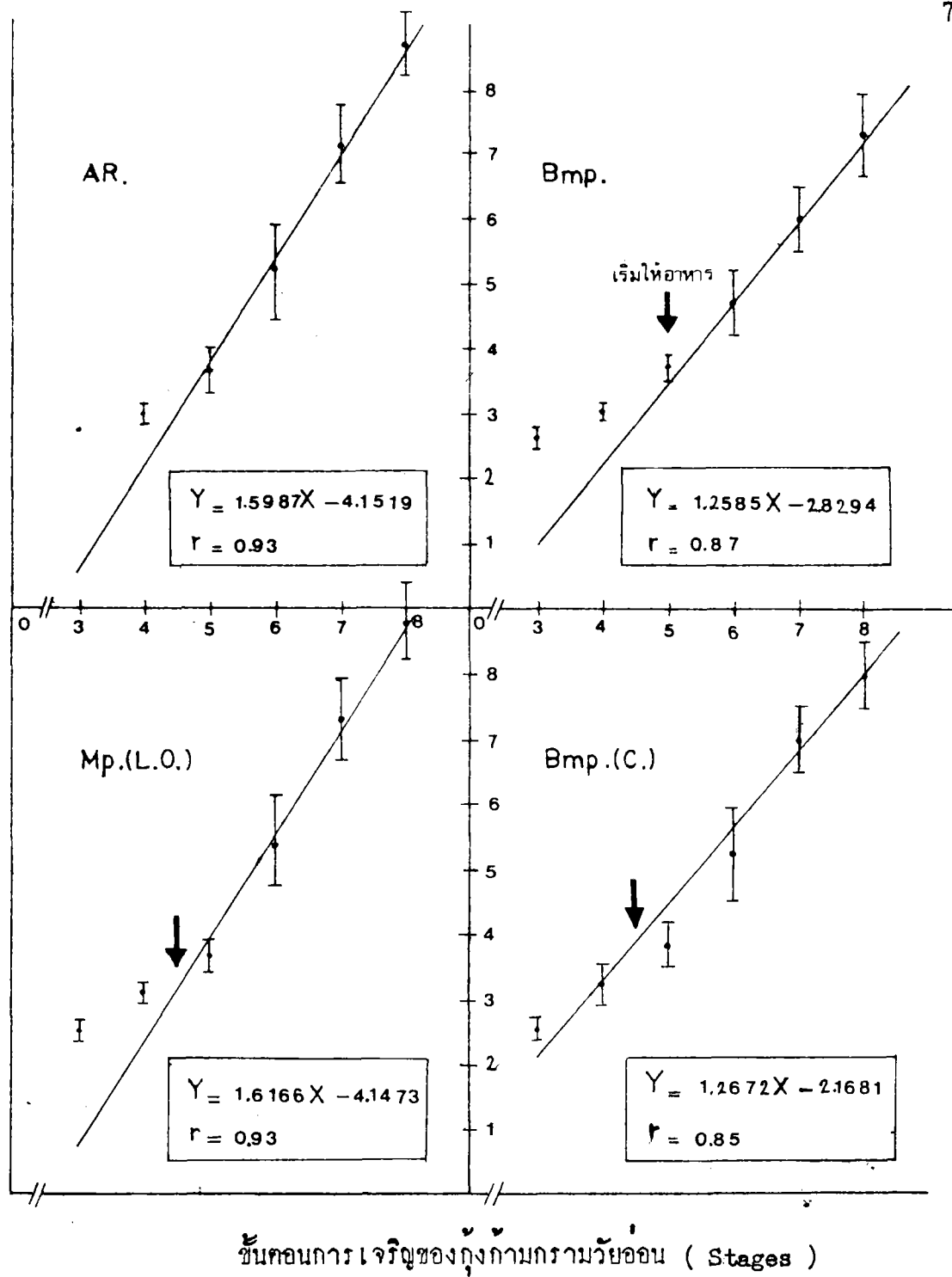


หมายถึง ระยะเวลาที่กึ่งวัยอ่อนเริ่มคว่ำ

ตาราง 15 แสดงความยาวใบมีดใบแรกที่เปลี่ยนไปเป็นเศษขั้นตอนการเจริญของงูกามราที่วัยอ่อนที่เลี้ยงถวายอาหาร 4 ชนิด

ขั้นตอนการเจริญ (stages)	Ar.		Bmp.		Bmp.(C.)		Mp.(L.o.o.)	
	$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range	$\bar{X} \pm S.D.$	Range
II	2.17 ⁺ -0.05	2.07-2.25	2.23 ⁺ -0.04	2.15-2.67	2.19 ⁺ -0.04	2.13-2.25	2.19 ⁺ -0.07	2.05-2.33
III	2.7 ⁺ -0	2.70-2.70	2.57 ⁺ -0.07	2.37-2.70	2.53 ⁺ -0.09	2.37-2.67	2.54 ⁺ -0.09	2.23-2.71
IV	3.09 ⁺ -0.09	3.00-3.25	3.00 ⁺ -0.08	2.65-3.25	3.2 ⁺ -0.25	2.95-3.75	3.10 ⁺ -0.14	2.75-3.30
V	3.67 ⁺ -0.26	3.25-4.00	3.66 ⁺ -0.20	3.20-4.05	3.85 ⁺ -0.31	3.45-4.15	3.67 ⁺ -0.22	3.15-4.00
VI	5.18 ⁺ -0.86	3.90-7.00	4.67 ⁺ -0.49	3.65-6.00	5.21 ⁺ -0.68	3.95-6.50	5.40 ⁺ -0.72	3.75-6.70
VII	7.11 ⁺ -0.47	5.70-8.40	6.02 ⁺ -0.49	5.10-7.50	7.05 ⁺ -0.45	6.2-8.50	7.3 ⁺ -0.57	5.70-8.40
VIII	8.69 ⁺ -0.55	7.30-10.30	7.34 ⁺ -0.55	6.00-8.60	8.03 ⁺ -0.54	6.00-9.30	8.79 ⁺ -0.57	7.70-10.00

ความยาวของกิ้งก่ามกราคมวัยอ่อน (มิลลิเมตร)



ภาพประกอบ 10 แสดงความยาวที่เปลี่ยนแปลงไปตามขั้นตอนการเจริญของกิ้งก่ามกราคมวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เมื่อย และอาหารสูตร

แสดงให้เห็นว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp.(L.o.) มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวสูงที่สุดคือ 1.6166 และอาหารสูตร Bmp. มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวต่ำที่สุด คือ 1.2585

การวิเคราะห์ผลของอาหารทั้งหมดต่อขั้นตอนการเจริญ และความยาวด้วย analysis of covariance พบว่า อัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ และความยาวของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงอาหารทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังผลในการาง 16 แสดงให้เห็นว่า กุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด เมื่อเจริญเติบโตถึง stage เดียวกัน แต่ความยาวของกุ้งวัยอ่อนจะแตกต่างกัน โดยกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp.(L.o.) จะมีขนาดยาวมากที่สุด และกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp. จะมีขนาดสั้นที่สุด

ตาราง 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมระหว่างความยาวและขั้นตอนการเจริญ
ของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เปียก และอาหารสูตร Bmp. Bmp.(C.)
และ Mp. (L.o.)

Treatment (อาหาร)	Reg.	Deviation from regression		
	Coef.	d.f.	S.S.	M.S.
Artemia	1.5987	386	161.3869	0.4181
Bmp.	1.2585	598	137.0249	0.2291
Bmp.(C.)	1.2672	583	368.0430	0.6313
Mp.(L.o.)	1.6166	553	227.4131	0.4112
		2120	893.8679	0.4216
Pooled	5.7410	2123	948.8943	0.4469
difference between slopes		3	55.0264	18.3421

$$\begin{aligned} \text{Comparison of slopes : } F &= 18.3421/0.4216 \\ &= 43.5059 \text{ (d.f. 3, 2120)} \\ &\quad ** \end{aligned}$$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

3.5 ผลของอาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมียและอาหารสัตว์ต่อเปอร์เซ็นต์การรอด ของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

เปอร์เซ็นต์การรอดของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (37 วัน) ดังแสดงในตาราง 17 พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Bmp.(C.) มีเปอร์เซ็นต์การรอด สูงที่สุดคือ 23.02% กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Mp.(L.o.) มีเปอร์เซ็นต์การรอดรองลงมาคือ 14.02% กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Bmp. และตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย อายุ 24 - 28 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การรอด 13.23 และ 6.67% ตามลำดับ

ขั้นตอนการเจริญถึงขั้นกว่าเป็นกุ้งวัยรุ่น (juveniles or postlarvae) ของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Mp.(L.o.) และตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย มีช่วงเวลาของการคว่ำสั้นกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Bmp. และ Bmp.(C.) คือคว่ำเมื่อมีอายุประมาณ 24 วัน หลังฟักเป็นตัว และกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Bmp. มีความสามารถในการคว่ำช้าที่สุด คือ คว่ำเมื่อมีอายุประมาณ 35 วัน หลังฟักเป็นตัว

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังแสดงในตาราง 18 พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) และจากการวิเคราะห์เปรียบเทียบ ค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอาหารแต่ละตัว ดังตาราง 19 แสดงให้เห็นว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย และอาหารสัตว์ Bmp.(C.) มีเปอร์เซ็นต์การรอดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์ Mp.(L.o.) และ Bmp. ส่วนอาหารสัตว์ Mp.(L.o.) กับ Bmp. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตาราง 17 เปอร์เซ็นต์การรอดของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนหลังจากเลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด
เป็นเวลา 37 วัน (ค่าเฉลี่ย)

ชนิดของอาหาร	ผลผลิต (ตัว)		กุ้งกว่า (%)	การรอด		สัดส่วน กุ้งกว่า/ ไม่กว่า	กุ้งกว่า ตัวแรก อายุ(วัน)
	จำนวน กว่า	จำนวน ไม่กว่า		ทั้งหมด	%		
<u>Artemia</u> <u>Salina</u>	448.5	218.5	55.36	667	6.67	422.06	24.5
Bmp.	14.33	1308.67	1.16	1323	13.23	0.014	34.67
Bmp.(C.)	949.33	1352.33	46.50	2301.67	23.02	6.09	25.67
Mp.(L.o.)	1361	41.67	97.19	1402	14.02	107.14	24

ตาราง 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การรอดของกุ้งก้ามกราม
วัยอ่อน

Source of Variation	d.f.	S.S.	M.S.	F
Between group	3	343.7913	114.5971	14.7909** (d.f.=3,7)
Within group	7	54.2351	7.7478	
Total	10	398.0264		

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.01)

ตาราง 19 การเปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การรอดของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร 4 ชนิด

สูตรอาหาร	Ar.	Bmp.	Bmp.(C.)	Mp.(L.o.)
Ar.				
Bmp.	* 12.56			
Bmp.(C.)	* 21.87	* 13.07		
Mp.(L.o.)	* 18.93	0.37	* 11.67	

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุป และอภิปรายผลการทดลอง

1. ผลการทดลองวัคซีนแอกติวิตีของสารมาตรฐาน เบตา-เอคโคไคโน

เมื่อใช้ความเข้มข้น 0.002 0.003 0.004 0.005 0.006 0.007 0.008 และ 0.012 $\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ ตามลำดับ จะได้ค่า % effectiveness เพิ่มขึ้น ดังนี้คือ 0 20.76 24.42 30.05 41.87 38.02 47.92 และ 68.33% ตามลำดับ และเมื่อ plot กราฟระหว่างความเข้มข้นกับ % effectiveness จะได้กราฟมาตรฐานของ เบตา-เอคโคไคโน ดังแสดงไว้ในภาพประกอบ 5

ในการทดลองวัคซีนแอกติวิตีของสารมาตรฐานเบตา-เอคโคไคโนจะพบว่า ค่า % effectiveness ที่ได้จะแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของ สารมาตรฐานที่ฉีด เช่น สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.003 $\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ จะให้ค่า % effectiveness เท่ากับ 10.00 25.00 และ 27.27% หรือที่ความเข้มข้น 0.007 $\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ จะให้ค่า % effectiveness เท่ากับ 40.38 27.27 และ 46.43% ซึ่งแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากการวัดค่า % effectiveness นี้คำนวณได้จากหนอนที่หลังจากฉีดสารมาตรฐาน เบตา-เอคโคไคโนแล้วจะเข้าตุ๊กแต ส่วนท้ายซึ่งแบ่งเป็น 3 ลักษณะ คำนวณออกมาเป็นค่าของ number of positives ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการสังเกต ความคลาดเคลื่อนอาจเกิดจากสาเหตุนี้ นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับหนอนที่ใช้ทดลองด้วย เพราะในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้านนี้ไม่สามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมให้คงที่ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิทำให้หนอนที่ใช้ ในการทดลองแต่ละครั้งมีความสมบูรณ์ไม่เท่ากัน ซึ่งจะมีผลต่อค่าของ number surviving ที่จะนำมาคำนวณเพื่อหาค่า % effectiveness และในการทดลองพบว่า สารละลายของเบตา-เอคโคไคโน จะมีแอกติวิตีลดลงเมื่อเก็บเอาไว้นาน

ถึงแม้ว่าจะเก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำก็ตาม (ตัวอย่างเช่น เบตา-เอคโตโซนที่ความเข้มข้น $0.007 \mu\text{g}/3\mu\text{l}$ เมื่อละลายน้ำหึ่งไว้นาน 6 วัน จะมีค่า % effectiveness เปลี่ยนแปลงจาก 40.38 ไปเป็น 27.27 แต่ถ้าเก็บไว้ในภาวะของแข็งจะมีการสูญเสียแอกติวิตีเพียงเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้ที่ -4°C

2. ผลการสกัดสารโสมนลอกคราบจากตักแค้ใหม่

ตักแค้ใหม่ 2,000 กรัม เมื่อนำมาสกัดด้วย methanol และ hexane จะได้สารสกัด A ซึ่งเป็นสารละลายใน methanol หนัก 232.10 กรัม หรือเท่ากับ 11.61% โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น และเมื่อนำสารสกัด A มาละลายในน้ำและสกัดด้วย diethyl ether และ ethylacetate จะได้สารสกัด B ซึ่งเป็นสารที่ละลายในส่วนของน้ำ หนัก 57.33 กรัม หรือ 2.87% โดยน้ำหนักของสารตั้งต้น

นำสารสกัด B หนัก 2 กรัม มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี column chromatography ที่มี Al_2O_3 เป็นตัวดูดซับ จะด้วยสารละลาย ethylacetate : butanol (3 : 1 V/V) ethylacetate : methanol (4 : 1 V/V) ethylacetate : methanol (1 : 1 V/V) และน้ำตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัด B และ fractions ที่ได้จากการผ่าน รวมทั้งสารสกัดที่ได้จากชั้นน้ำมาทดสอบกับหนอนแมลงวันบ้าน พบว่า มีแอกติวิตีของสารโสมนลอกคราบ ผลการทดลองแสดงไว้ในตาราง 6 และภาพประกอบ 6

จากการทดลอง พบว่า สารสกัด B หนัก 2 gm. มีปริมาณของสารโสมนลอกคราบ (ecdysones) เท่ากับ $50.37 \mu\text{g}$ และเมื่อผ่าน column chromatography ปริมาณของสารโสมนลอกคราบในแต่ละ fractions รวมกันจะเท่ากับ $38.249 \mu\text{g}$ ซึ่งคิดเป็น % recovery เท่ากับ 75.94% หรือตักแค้ใหม่จะมีปริมาณของสารโสมนลอกคราบเท่ากับ 0.7219 มิลลิกรัม ต่อ 1 กิโลกรัม ของตักแค้ใหม่น้ำหนักแห้ง ซึ่งปริมาณของสารโสมนลอกคราบที่หายไป อาจเนื่องมาจากมันมี polarity สูง และถูกดูดซับเอาไว้ด้วยอะลูมินา และจากผลการทดลองทั้ง

แสดงไว้ในภาพประกอบ 6 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดที่ได้จากคักแค้ใหม่อาจมีฮอร์โมน
 ลอกกรามากกว่าหนึ่งชนิด เนื่องจากการทดลองแยกสารสกัดด้วย column
 chromatography พบว่า เมื่อเปลี่ยนสารละลายที่ใช้เป็นตัวชะซึ่งมี
 polarity สูงขึ้น peak ที่ได้ก็จะสูงขึ้น แล้วจะค่อย ๆ ลดลงอีก ตั้งแต่
 fraction ที่ 11 - 16 จะไม่มีแอกติวิตีของฮอร์โมนลอกกรามาก แต่พอเปลี่ยน
 เป็นชะคายนํ้า ซึ่งมี polarity สูงขึ้น พบว่า สารสกัดที่ได้มีแอกติวิตีของ
 ฮอร์โมนลอกกรามากอีก จึงน่าสนใจที่จะได้ศึกษาถึงฮอร์โมนลอกกรามาก ซึ่งจะต้องมีมาก
 กว่าหนึ่งชนิดนี้ด้วย

3. ผลของอาหารผสมคักแค้ใหม่ที่มีต่อการรอด และขั้นตอนของการเจริญ ของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

3.1 การเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารตัวอ่อน อารที่เมีย และอาหารสูตร

การศึกษาการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนด้วยอาหารตัวอ่อนของ
 อารที่เมีย และอาหารสูตร 3 ชนิด คือ Bmp Bmp (C.) และ Mp. (L.o.)
 ดังผลในตาราง 8 9 และ 10 พบว่า กุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร
 Mp. (L.o.) มีขั้นตอนการเจริญดีที่สุด และสามารถเจริญเติบโตถึงขั้นสุดท้าย
 (stage 8) หมกภายใน 34 วัน มีอัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ (stages
 of development) ต่อวัน (b) เท่ากับ 0.1273 ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วย
 ตัวอ่อนของอารที่เมีย อาหารสูตร Bmp. และ Bmp. (C.) มีอัตราการเปลี่ยน
 ขั้นตอนการเจริญต่อวัน เท่ากับ 0.1129 0.0627 และ 0.1263 ตามลำดับ
 และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า อัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญของ
 กุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
 ($P < 0.01$) และเมื่อเปรียบเทียบค่า F ของความแปรปรวนพบว่า อัตรา
 การเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญของกุ้งวัยอ่อนด้วยอาหารแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่าง
 มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ยกเว้นอาหารตัวอ่อน
 ของอารที่เมีย และอาหารสูตร Bmp.(C.) ที่มีการเปลี่ยนแปลงขั้นตอนการเจริญ

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3.2 การเปลี่ยนแปลงความยาวของกล้ามเนื้อกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร ตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และอาหารสูตร

ค่าในตาราง 11 12 13 และภาพประกอบ 8 ให้ผลเหมือนกับการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ คือ อาหารสูตร Mp. (L.o.) มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาว สูงที่สุดคือ 0.2287 และอาหารสูตร Bmp. ต่ำที่สุด คือ 0.1033 สำหรับอาหารสูตร Bmp.(C.) และตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวเท่ากับ 0.1678 และ 0.2013 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่า F ด้วยการใช้วิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า อัตราการเปลี่ยนความยาวของกล้ามเนื้อกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

3.3 ความสัมพันธ์ของความยาว และขั้นตอนการเจริญของกล้ามเนื้อกราม วัยอ่อน

จากผลในตาราง 15 และภาพประกอบ 10 แสดงให้เห็นว่ากล้ามเนื้อกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp. (L.o.) มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวสูงที่สุดคือ 1.6166 และอาหารสูตร Bmp. มีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวต่ำที่สุดคือ 1.2585 ส่วนอาหารสูตร Bmp.(C.) และอาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมียมีสัมประสิทธิ์ของการเปลี่ยนความยาวเท่ากับ 1.2672 และ 1.5987 ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์ผลของอาหารทั้ง 4 ชนิด ต่อขั้นตอนการเจริญ และความยาวด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งถึงผลในตาราง 16

จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้ว พบว่า กล้ามเนื้อวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp. (L.o.) จะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุดทั้งอัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญ และอัตราการเปลี่ยนแปลงความยาว ส่วนอาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย กับอาหารสูตร Bmp. (C.) มีการเจริญพอ ๆ กัน คืออัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่อัตราการเปลี่ยนแปลงความยาวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) สำหรับกล้ามเนื้อกรามวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp.

จะมีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด ทั้งอัตราการเปลี่ยนขั้นตอนการเจริญและอัตราการเปลี่ยนแปลงความยาว และเมื่อพิจารณาจากคุณค่าของอาหาร ดังตาราง ๗ พบว่ามีโปรตีนเพียง 14.35% ไขมัน 7.96% และความชื้น 71.43% ซึ่งถือว่าเป็นอาหารที่มีคุณค่าต่ำที่สุด ส่วนอาหารสูตร Mp.(L.o.) มีระดับโปรตีน 20.70% ไขมัน 10.97% และความชื้น 55.80% ซึ่งเป็นอาหารที่มีคุณค่าสูงที่สุดในอาหารสูตรทั้ง 3 ชนิด

การที่อาหารสูตร Bmp. ซึ่งเป็นอาหารผสมระหว่างคักแค้ใหม่กับตัวยัดอาหาร (binder) มีคุณค่าต่ำ ก็เนื่องจากปัญหาในการยัดอาหารของ binder เพราะปรากฏว่า อาหารที่ทำจากคักแค้ใหม่จะร่วนและหนอยู่ในน้ำได้ไม่ดี จึงต้องเพิ่มตัวยัดอาหาร (ในการทดลองนี้ใช้ขี้วัวเป็นตัวยัดอาหาร) และน้ำ เพื่อให้อาหารสูตรนี้หนอยู่ในน้ำได้ดีขึ้น ดังนั้นอาหารสูตร Bmp. จึงมีองค์ประกอบของ binder และน้ำเป็นส่วนใหญ่ จึงทำให้อาหารที่ใช้เลี้ยงกึ่งมีปริมาณโปรตีน และไขมันต่ำกว่าอาหารสูตรอื่น เพราะต้องลดส่วนที่เป็นคักแค้ใหม่ที่เป็นแหล่งของโปรตีนและไขมันเพียงอย่างเดียวในอาหารสูตร Bmp. นี้ลง และสาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้กึ่งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรนี้มีการเจริญเติบโตต่ำ คือขนาดและน้ำหนักของอาหาร อาจเนื่องจากว่าอาหารสูตร Bmp. นี้หยาบและร่วน เมื่อเพิ่มขี้วัวและน้ำลงไปเพื่อให้แข็งตัวขึ้น ดังนั้นเวลาผ่านไปนาน อาหารที่โตจะมีขนาดใหญ่ และมีน้ำหนักมาก ทำให้จมลงก้นบ่อเร็วขึ้น ทำให้ลูกกึ่งจับอาหารได้ไม่ดีเท่าที่ควร

จากการศึกษาของ คอลล์ (Dall. 1968 : 251 - 258) พบว่าเมื่อกึ่งกลืนอาหารลงสู่ proventriculus จะต้องผ่านอวัยวะกรองอาหารใน posterior chamber ที่ยอมให้อาหารที่มีขนาดเล็กผ่านเท่านั้น ความแข็งแรงในการบดอาหารให้มีขนาดเล็กลง และการส่งผ่าน pyloric filter จะทำให้ proventriculus ยังคงมีอาหารอยู่เต็ม และไม่สามารถรับได้อีก ซึ่งเป็นผลให้การกินอาหารของกึ่งลดลง

คอนเดรย์ และคนอื่น ๆ (Condrey and others. 1972 : 1281 - 1292) รายงานว่า อัตราการกินอาหารของกึ่งขึ้นอยู่กับอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการบดอาหาร

อัตราการกินอาหารจะลดลงเมื่อใช้เวลาในการกินมากขึ้น

นอกจากองค์ประกอบและคุณค่าของอาหารสูตร Bmp. แล้ว อาจกล่าวได้ว่าสาเหตุอีกประการที่ทำให้อาหารสูตร Bmp. มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งวัยอ่อน ซากว่าอาหารสูตรอื่น ๆ ก็เพราะว่าอาหารสูตร Bmp. ซากวิตามินและเกลือแร่ที่สำคัญเพราะไม่ได้มีการเติมจากภายนอกเข้าไปเลย ในขณะที่อาหารสูตร Bmp.(C.) และ Mp.(L.O.) มีการเติมวิตามินรวมและเกลือแร่รวม

ฟิชเชอร์ (Fisher. 1960 : 259 - 289) กล่าวว่า วิตามินทุกตัวเป็นอาหารที่มีความสำคัญต่อ crustacean ปกติวิตามินเอไม่จำเป็นต้องเติมลงในอาหารกุ้ง แต่จำเป็นต้องเติม precursor คือ B - carotene ซึ่งโดยปกติ crustacean ได้จากการกินอาหารพวกแพลงตอน ฟืช หรือสิ่งเน่าเปื่อยอื่น ๆ และจากการทดลองของ คิตาบายาชิ และคนอื่น ๆ (Kitabayashi and others. 1971 : 91 - 107) พบว่า การเติมวิตามินรวมลงในอาหารที่ประกอบด้วยปลาหมึกป่นเป็นหลัก สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้ง Penaeus japonicus ได้ อัตราการเติมวิตามินมากเกินไป อาจทำให้กุ้งหยุดการเจริญเติบโต เช่น การเติมวิตามินซี เกินปริมาณ 0.22% ลงในอาหารจะยับยั้งการเจริญเติบโตของกุ้งได้

การทดลองนี้ พบว่า กุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp. จะมี pigment ข้างลำตัวเป็นสีน้ำเงินและดำเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจากการศึกษาของ คินน์ (Kinne. 1977 : 1293) พบว่า กุ้งที่ได้รับอาหารไม่เพียงพอจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีตัวไปจากธรรมชาติ โดยจะมีสีน้ำเงินมากขึ้น

จากการศึกษาของ เพียร์ลีย์ บียะธีรชิตีวรกุล (เพียร์ลีย์ บียะธีรชิตีวรกุล 2524 : 86 - 87) พบว่า อาหารที่ไขมันของการเจริญเติบโตต่ำกว่าปกติซึ่งมีโปรตีนเพียง 10.43% ไขมัน 1.58% (โคเลสเตอรอล 0.06%) และน้ำ 76.68% ซึ่งถือว่าเป็นอาหารที่มีคุณค่าต่ำ แต่ถ้ามีการเพิ่มโคเลสเตอรอลให้สูงขึ้นอีก 1.00% พบว่า กุ้งก้ามกรามวัยอ่อนมีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น และเท่า ๆ กับอาหารที่มีโปรตีนสูงกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโคเลสเตอรอลน่าจะมีส่วนช่วยเร่งการเจริญเติบโตของกุ้งได้ และอาจทดแทนกันได้

ดังนั้น ถ้าจะปรับปรุงนำคักแค้ใหม่มาคักแปลงทำอาหารกุ้งวัยอ่อน ควรจะคำนึงถึงเรื่องของตัวบีกอาหาร และการเติมโคเลสเตอรอลเพื่อช่วยให้การเจริญเติบโตของกุ้งสมบูรณ์ขึ้น นอกจากนี้ก็ควรที่จะเพิ่มวิตามินรวมและเกลือแร่รวมด้วย ก็อาจจะทำให้กุ้งวัยอ่อนมีการเจริญเติบโตดีขึ้น เพราะตามปกติคักแค้ใหม่เป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงอยู่แล้ว

จากผลการทดลองในตาราง 14 และภาพประกอบ 9 ซึ่งแสดงความยาวที่เพิ่มขึ้นเป็นมิลลิเมตร ทุก 2 วัน ของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 ชนิด พบว่า อัตราการเพิ่มของความยาวของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp. ต่ำที่สุด ส่วนกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมียจะเพิ่มขึ้นสูงสุด แต่อาหารทุกชนิดจะมีแนวโน้มเหมือนกัน คือในช่วงแรกก่อนที่กุ้งวัยอ่อนจะเริ่มคว่ำ อัตราการเพิ่มของความยาวจะมีค่าสูง และจะลดลงในช่วงที่กุ้งวัยอ่อนใกล้คว่ำ โดยเฉพาะกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย อัตราการเพิ่มของความยาวจะลดลงต่ำสุด เมื่อมีอายุ 26 วัน (กุ้งเริ่มคว่ำมีอายุประมาณ 24 วัน)

ผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าเมื่อกุ้งมีอายุมากขึ้นอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ การเพิ่มของความยาวจะมีค่าน้อยลง และอัตราการเพิ่มของความยาวจะลดลงต่ำสุด หลังจากกุ้งเริ่มคว่ำแล้ว ซึ่งผลของการทดลองนี้ได้วัดความยาวของกุ้งต่อไปหลังจากมีกุ้งส่วนหนึ่งคว่ำแล้ว ซึ่งพบว่าจะมีอัตราการเพิ่มความยาวต่ำลงเรื่อย ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความคลาดเคลื่อนในการสุ่มลูกกุ้งวัยอ่อนมาวัดความยาว ซึ่งจะใช้เฉพาะกุ้งที่ยังไม่คว่ำ ซึ่งอาจเป็นได้ค่อนข้างแน่นอนว่า ลูกกุ้งที่มีขนาดใหญ่ก็จะคว่ำไปก่อน เหลือแต่ลูกกุ้งที่ยังไม่คว่ำซึ่งมีขนาดเล็ก จึงทำให้ความยาวที่วัดได้ไม่เพิ่มขึ้น หรือลดลงจากความยาวเดิมที่วัดได้

3.4 ผลของอาหารค่อเปอร์เซ็นต์การรอกของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp. (C.) มีเปอร์เซ็นต์การรอกสูงที่สุดคือ 23.02% ส่วนอาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมียให้เปอร์เซ็นต์การรอกต่ำที่สุดคือ 6.67% สำหรับอาหารสูตร Bmp. และ Mp. (L.o.) ให้เปอร์เซ็นต์การรอกใกล้เคียงกัน คือ 13.23 และ 14.02% ตามลำดับ จากการวิเคราะห์

เปรียบเทียบค่า F จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอาหารแต่ละคู่ ดังแสดงไว้ในตาราง 19 พบว่า อาหารทุกชนิดมีเปอร์เซ็นต์การรอดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ยกเว้นอาหารสูตร Mp.(L.o.) กับ Bmp. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

สาเหตุที่ทำให้อาหารสูตร Mp.(L.o.) มีผลให้อัตราการรอดของลูกกุ้งวัยอ่อนต่ำกว่าปกติ อาจเนื่องมาจากมีปริมาณไขมันสูงกว่าอาหารสูตรอื่น ๆ คือ มีปริมาณไขมันเท่ากับ 10.97% และในการทดลองพบว่า อาหารสูตร Mp.(L.o.) นี้ทำให้น้ำในบ่อเพาะเลี้ยงเสียได้ง่ายกว่าอาหารชนิดอื่น ๆ และพบว่า กุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp.(L.o.) จะเกิดการตายอย่างมากในช่วงหลังของการเลี้ยงคือ ในช่วงที่กุ้งเริ่มคว่ำมากกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดอื่น ถึงอย่างไรก็ตาม อาหารสูตร Mp.(L.o.) ก็เป็นอาหารสูตรที่ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ทั้งนี้ นอกเหนือจากอาหารสูตร Mp.(L.o.) จะมีปริมาณโปรตีน และไขมันสูงกว่าอาหารชนิดอื่นแล้ว ยังมีน้ำมันตับปลา (Liver oil) เป็นองค์ประกอบอีกด้วย

จากการศึกษาของ คานาซาวา และคนอื่น ๆ (Kanazana and others. 1971 : 494 - 954) เสนอแนะว่า อาหารสำเร็จหรืออาหารผสมสามารถใช้เลี้ยงกุ้งได้ดี และได้รับปรุงสูตรอาหารของเขาใหม่โดยเติมส่วนผสมของอาหารหลายอย่าง พบว่า อาหารที่เติมน้ำมันตับปลา หรือน้ำมันหอย ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ซิคก์ และบีคีย์ (Sick and Beaty. 1975) โดยเขาทดลองเติมอาหารเสริมที่ประกอบด้วยส่วนผสมของน้ำมันตับปลา และน้ำมันถั่วเหลืองลงในอาหารกุ้ง พบว่า กุ้ง *Penaeus duorarum* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นเขายังทดลองสกัดไขมันจากอาร์ทีเมีย และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ผสมลงในอาหารกุ้ง และได้ผลทำให้อัตราการกินอาหารของกุ้งเพิ่มขึ้น เขาจึงสรุปว่าไขมันมีคุณสมบัติเป็นตัวดึงดูดให้ลูกกุ้งชอบกินอาหารอีกด้วย

ชิคุโน และคนอื่น ๆ (Shigueno and others. 1972 : 129 - 137) รายงานว่า ไขมัน 8.8% ในอาหารกึ่งไม่เพียงพอกับการเจริญเติบโตของกึ่ง อย่างไรก็ตาม นิว (New. 1976 : 101 - 144) สรุปว่า กึ่งมีความต้องการไขมันจากอาหารไม่มากนัก และระดับไขมันที่เหมาะสมในอาหารกึ่งควรอยู่ในระดับ 5 - 10% โดยน้ำหนัก ส่วน ฮีสมีทส์ และคนอื่น ๆ (Hysmith and others. 1972 : 365 - 368) รายงานว่า อาหารที่มีโปรตีนต่ำ พลังงานสูง กับอาหารที่มีโปรตีนสูง พลังงานต่ำสามารถใช้เลี้ยงกึ่งให้มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูงกว่าอาหารที่มีโปรตีนต่ำ พลังงานต่ำ หรือโปรตีนสูง พลังงานสูง ซึ่งเป็นข้อสันนิษฐานว่า ทำไมเปอร์เซ็นต์การรอดของลูกกึ่งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Bmp. (C.) มีค่าสูงสุด (23.02%) ส่วนอาหารสูตร Mp. (L.o.) กับ Bmp. มีค่าต่ำกว่า (14.02% และ 13.23%) โดยเฉพาะอาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมียให้เปอร์เซ็นต์การรอดต่ำที่สุด (6.67%) เพราะถ้าเปรียบเทียบระหว่างอาหารทั้ง 4 ชนิด (ตาราง 7) อาหารสูตร Bmp.(C.) จะจัดอยู่ในพวกอาหารที่มีโปรตีนต่ำ พลังงานสูง ส่วนอาหารสูตร Mp.(L.o.) และ Bmp. จะจัดอยู่ในพวกอาหารที่มีโปรตีนสูง พลังงานสูง และโปรตีนต่ำ พลังงานต่ำ ส่วนอาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย คิวทริก (Dutrieu. 1960 : 134) รายงานว่า มีโปรตีน 50.60% ไขมัน 23.2% คาร์โบไฮเดรต 6.0% และเถ้า 14.7% ซึ่งมีองค์ประกอบของอาหารสูงกว่าอาหารสูตรทั้ง 3 ชนิด และจัดอยู่ในพวกอาหารที่มีโปรตีนสูง พลังงานสูง

นอกจากนี้ จากการศึกษาของ เพียร์ลีย์ บียะธีร์ชิตีวรกุล (เพียร์ลีย์ บียะธีร์ชิตีวรกุล 2524 : 90) พบว่า การเลี้ยงกึ่งวัยตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย แม้จะให้อาหารรอดดีที่สุดในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดเดียว 24 ชั่วโมง แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกึ่งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรสลับตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย พบว่า มีอัตราการรอดต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ ที่เป็นเช่นนั้นเนื่องจากการเลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอาร์ทีเมียอย่างเดียวเป็น single component diets และคินน์

(Kinne. 1977 : 1293) สรุปว่า สัตว์ทะเลหลายชนิดมีความยุ่งยากในการย่อย เนื่องจากอวัยวะที่มีโครงสร้างภายนอกค่อนข้างแข็งแรง และสามารถทน digestive enzyme ได้ ทำให้การย่อยและการดูดซึมต้องเสียเวลามาก นอกจากนั้น อวัยวะที่ย่อยยังทำให้ระบบเลี้ยงมีแอมโมเนียเพิ่มขึ้นถึง 46% ของแอมโมเนียทั้งหมด ทั้งนี้ นิโคล (Nicol. 1967) อธิบายว่า ขบวนการถ่ายของเสียของมันจะมี แอมโมเนียประมาณ 20 - 80% ของของเสียที่ปล่อยออกมา

จากการศึกษาของ มอลเลอร์ (Moller. 1978 : 251 - 258) เขาได้อธิบายว่า สาเหตุของการเกิดการกินกันเองในลูกกุ้งวัยอ่อนนั้น เป็นเพราะว่ามันมีการตอบสนองต่อจุด (point source) ในสิ่งแวดล้อมที่อยู่ใกล้ได้ดีกว่าอื่น อาหารที่อยู่ห่างออกไป ดังนั้นการที่กุ้งวัยอ่อนจะปะทะกับอวัยวะที่เมียบ ซึ่งมีขนาดเล็ก และกระจัดกระจายอยู่ห่างออกไป ย่อมมีน้อยกว่าการปะทะกับกุ้งวัยอ่อนด้วยกันเอง อย่างแน่นอน ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ทำไมอัตราการรอดของกุ้งวัยอ่อนจึงต่ำที่สุด

นอกจากเหตุผลทั้งที่กล่าวมาแล้ว ในการทดลองนี้พบว่า อัตราการไหลเวียนของน้ำในบ่อที่เพาะเลี้ยงกุ้งวัยอ่อนของอวัยวะที่เมียบเปรียบเทียบกับบ่อเพาะเลี้ยงอื่น โดยเฉลี่ย ช้ามากกว่าบ่อเพาะเลี้ยงอื่น ๆ เนื่องจากเป็นบ่อทดลองที่อยู่ทางปลายสุดของท่อส่งน้ำ ซึ่งจะส่งน้ำจากบ่อกรองมายังบ่อเพาะเลี้ยง ดังนั้นในการใช้อวัยวะที่เมียบเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนจึงควรให้ความสนใจเป็นพิเศษ

การเปรียบเทียบจำนวนกุ้งที่คว่ำและไม่คว่ำ (ในตาราง 17) พบว่า สัดส่วนของกุ้งคว่ำต่อไม่คว่ำ ที่เลี้ยงด้วยตัวอ่อนของอวัยวะที่เมียบ Mp. (L.o.) Bmp. (C.) และ Bmp. มีค่าเท่ากับ 422.06 107.14 6.09 และ 0.014 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารตัวอ่อนของอวัยวะที่เมียบสามารถเจริญเติบโตเป็นกุ้งวัยรุ่นได้มากที่สุด อาหารที่ทำให้การเจริญเติบโตเป็นกุ้งวัยรุ่นได้น้อยที่สุดคือ อาหารสูตร Bmp. และเมื่อเปรียบเทียบคุณค่าอาหารทั้งที่กล่าวมาแล้ว พบว่า คุณค่าอาหารของตัวอ่อนของอวัยวะที่เมียบมีค่าสูงสุด และอาหารสูตร Bmp. มีค่าต่ำสุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ ไม่พบโรคที่ทำให้เกิดการตายของลูกกุ้ง แต่พบว่า เมื่อเลี้ยงกุ้งจนถึง stage ที่ 8 ลูกกุ้งจะมีการตายเกิดขึ้นในบางบ่อที่ทดลอง ซึ่งสาเหตุการตายของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร Mp. (L.o.) คือ เกิดจากสภาพ น้ำในบ่อเลี้ยงอันเป็นผลมาจากอาหารเอง ส่วนการตายของกุ้งในบ่ออื่น ๆ ส่วนใหญ่ เกิดจากการกินกันเอง และการที่กุ้งวัยอ่อนเริ่มจะถือว่าเป็นกุ้งวัยรุ่น แล้วก็กัดตัวเอง เพื่อจะลอกคราบ มาคึกที่ขอบบ่อ สำหรับอนุกรมวิธานการทดลองเฉลี่ยเท่ากับ 26.5°C และความเค็มคงที่ที่ 12 ส่วนในพันส่วนตลอดการทดลอง

จากการศึกษานี้ พบว่า ถึงแม้ว่าคักแค้ใหม่จะเป็นวัสดุที่มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูง มีแอสคิวติของฮอโมนลอกคราบ แต่พบว่ามีปริมาณน้อยมาก (0.7219 มิลลิกรัม ต่อกลิลิตรของน้ำหนักคักแค้ใหม่แห้ง) ซึ่งไม่น่าจะมีผลกระทบบต่อการเจริญเติบโตและการลอกของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน ดังนั้นถ้าจะนำคักแค้ใหม่มา คักแปลงทำอาหารเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน ควรจะคำนึงถึงคุณค่าของอาหารที่ได้ วัสดุที่ใช้เป็นตัวยึดอาหารและสารที่จำเป็นบางอย่าง เช่น วิตามิน เกลือแร่ โคเลสเตอรอล ฯลฯ ซึ่งจะทำให้สูตรอาหารคักแค้ใหม่ที่ได้มีคุณค่าสูงพอเพียงที่จะ ใช้เลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนได้ขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันบ้าน เพื่อนำมาเป็นกลุ่มตัวอย่างในการวัดแอสคิวติของฮอโมนลอกคราบนั้น ควรจะทำการทดลองในห้องที่สามารถควบคุมภาวะแวดล้อมและอุณหภูมิให้คงที่ เพราะสิ่งเหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันบ้านโดยตรง

2. ปัญหาในการทดสอบแอสคิวติของสารสกัดที่ได้จากคักแค้ใหม่ คือ ไม่สามารถที่จะทดสอบแอสคิวติของสารสกัดในทันทีที่เก็บสารมาได้จาก column chromatography ซึ่งการทิ้งสารสกัดที่ได้เอาไว้เวลานานอาจจะทำให้แอสคิวติของฮอโมนลอกคราบในสารสกัดนั้นลดลงได้

3. ควรจะปรับปรุงสารละลายที่ใช้เป็นตัวชะในการแยกฮอร์โมนลอกกราบจากสารสกัดที่ได้จากผักเค็มให้เหมาะสมยิ่งขึ้น

4. ควรจะศึกษาวิธีการทำให้สารสกัดที่ได้บริสุทธิ์มากขึ้น แล้วจึงศึกษาเพื่อหาโครงสร้าง และคุณสมบัติทางเคมี-สภาวะภาพ ต่อไป

5. วิสคุณธรรมชาติ เช่น ผักเค็ม สามารถใช้ผสมเป็นอาหารเลี้ยงกิ้งก่ามกรามวัยอ่อนได้ แต่ควรเติมแร่ธาตุและวิตามินครบถ้วน และควบคุมคุณภาพอาหารให้มีโปรตีนและไขมันสูง

6. วิสคุณช่วยยึดอาหาร (binder) สำหรับอาหารกิ้งก่ามกรามวัยอ่อนมีความสำคัญเนื่องจากนิสัยการกินอาหารค่อนข้างช้า ฉะนั้นอาหารที่ใช้จึงควรทนอยู่ในน้ำได้นาน

7. น่าจะได้คิดแปลงนำผักเค็มมาผสมอาหารเลี้ยงกิ้งก่ามกรามวัยอ่อน เพราะมีปริมาณโปรตีนสูง ซึ่งสามารถใช้แทนอาหารพวกปลาบ่น และเปลือกกุ้งบ่นได้เป็นอย่างดี

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กรมส่งเสริมการเกษตร การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม คำแนะนำที่ 2 พิมพ์ครั้งที่ 2
โรงพิมพ์การศาสนา 2522, 24 หน้า
- เชิดชาย อมาตยกุล และธีรพันธ์ ภูคาสวรรค์ รายงานการสำรวจก้นกวมกรมในประเทศไทย กองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง ฉบับที่ 13 พฤศจิกายน 2517,
24 หน้า
- ทรงชัย สหวัชรินทร์ และไพโรจน์ พรหมานนท์ "ผลการเพาะพันธุ์ก้นกวมกรมวัยอ่อน
โดยการเปรียบเทียบความเค็มและอาหาร" ใน รายงานประจำปี 2513 สถานีประมง
ทะเลสงขลา กรมประมง กรุงเทพมหานคร 2513, 35 - 44 หน้า
- นิพนธ์ เหมะประสิทธิ์ ผลของอาหารผสมซึ่งมีโปรตีนระดับต่าง ๆ ที่มีต่อการเจริญเติบโต
ของกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon Fabricius.) วิทยานิพนธ์ วท.ม. แผนกวิชา
วิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2515, 87 หน้า
อัครสำเนา
- บุญช่วย ชวาลปากน้ำ "การทดลองเลี้ยงก้นกวมกรมในบ่อ" วารสารการประมง 19(3)
กรกฎาคม 2509
- ประจวบ สุขเจริญ "เรื่องของก้น" กลีกร 43(6) : 469 - 373 พฤศจิกายน 2513
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต และสมเกียรติ ปิยะธีรธิตีวรกุล "การเพาะเลี้ยงก้นกวมกรม"
เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตรพิเศษ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 23 - 27 มีนาคม 2524, 15 หน้า
- พุดพิงศ์ วรวิฑู, ม.ร.ว. "ฮอโรโมนของแมลง" วิทยาศาสตร์ 26(1) : 17 - 24
มกราคม 2515
- เพียรศิริ ปิยะธีรธิตีวรกุล ผลของอาหารผสมชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อการรอดและขั้นตอนของ
การเจริญเติบโตของก้นกวมกรมวัยอ่อน วิทยานิพนธ์ วท.ม. แผนกวิชาวิทยาศาสตร์
ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2524, 129 หน้า อัครสำเนา

ไพโรจน์ พรหมานนท์ "การทดลองเพาะพันธุ์กุ้งก้ามกรามในบ่อระบบน้ำหมุนเวียน"

วารสารการประมง 29(3) : 273 - 286 กรกฎาคม 2519

ไพโรจน์ พรหมานนท์ และทรงชัย สวัสดิ์รินทร์ "ผลการทดลองเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม
วัยอ่อนที่สถานีประมงทะเลสงขลา" เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 2 กองสำรวจและค้นคว้า
กรมประมง 2513, 9 หน้า

"การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม" อนุสรณ์ในงานฌาปนกิจศพ นางทองคำ
สุวรรณกิตติ 26 พฤศจิกายน 2517 อักษรเจริญทัศน์ 2517, 178 หน้า

ไพโรจน์ พรหมานนท์ และอำพล พงศ์สุวรรณ "การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับวิวัฒนาการ
ของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน" ในรายงานประจำปี 2509 - 2510 สถานีประมง
ทะเลสงขลา กรมประมง กรุงเทพมหานคร 2510, 174 - 188 หน้า

เลาจนา ชีรภัทรสกุล "ชีพจักรและการเลี้ยงแมลงวันในห้องปฏิบัติการ" วารสารของ
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 21(4) : 251 - 255, 2522

สมเกียรติ ปิยะศิริชิตีวรกุล การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการบางอย่างในการเพาะเลี้ยง
กุ้งก้ามกราม วิทยานิพนธ์ วท.ม. แผนกวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2522, 165 หน้า อัดสำเนา

สมบูรณ์ อนันต์ลาโภชัย ผลของความหนาแน่นของลูกกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในบ่อดินแบบพื้นบ้าน
ต่อการเติบโตและผลผลิต วิทยานิพนธ์ วท.ม. แผนกวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2523, 145 หน้า อัดสำเนา

สมศักดิ์ สิงห์ลกะ "การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม" วิทยาศาสตร์ 28(12) : 1 - 6
ธันวาคม 2517

สุจิต ภูมัญญะ และประสิทธิ์ เอกอรุ "ข้อสังเกตชีวิตประวัติของกุ้งก้ามกราม" วารสาร
การประมง 15(2) : 119 - 121, 2505

สุรเชษฐ์ จามรมาน "ฮอโมนของแมลง" เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องฮอโมน :
สัญญาณชีวเคมี สมาคมวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 1 - 15
พฤษภาคม 2524, 6 หน้า

อรุโไว้ (นามแฝง) คู่มือการเลี้ยงไหมและปลูกหม่อน แพรวพิทยา 2514, 260 หน้า

Balazs, G.H., E. Ross and C.C. Brooks. "Preliminary Studies on the Preparation and Feeding of Crustacean Diets," Aquaculture. 2 : 369 - 377, 1973.

Balazs, G.H. and others. "Effect of Protein Source and Level on Growth of the Captive Freshwater Prawn, Macrobrachium rosenbergii," Proc. World Maricult. Soc. 5 : 1 - 14, 1974.

Bligh, E.G. and W.J. Dyer. "A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification," Can. J. Biochem. Physiol. 37 : 911 - 917, 1959.

Burdette, W.J. Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophily, New York, Springer-Verlag, 1974, 437 p.

Burns, B.G. and M.W. Gilgan. "The Isolation and Identification of Makisterone A from the Yew, Taxus cuspidata," Can. J. Chem. 55 : 1129 - 1134, 1976.

Butenandt, A. and P. Karlson. Z. Natureforsch. 96 : 389 - 391, 1954.

Condrey, R.E. and others. "Comparison of the Assimilation of Different Diets by Penaeus setiferus and P. aztecus," Fish. Bull. 70 : 1281 - 1292, 1972.

Dall, W. "Food and Feeding of Some Australian Penaeid Shrimp," FAO Fish. Rep. 57(2) : 251 - 258, 1968.

Dall, W. and M.O. Barclay. "Induction of Viable Ecdysis in the Western Rock Lobster by 20 - Hydroxyecdysone," General and Comparative Endocrinology. 31 : 323 - 334, 1977.

Dutrieu, J. "Observations Biochimiques et Physiologiques sur le Developpement d' Artemia salina," Leach. Arch. Zool. Exp. Gen. 99 : 134 p., 1960.

Fisher, L.R. "Vitamins," in Physiology of Crustacea. Vol. 1, p. 259 - 289, ed. T.H. Waterman. New York, Academic Press, 1960.

Gabe, M. C.R. Acad. Sci. Paris, 237 : 1111, 1953.

Gagosian, R.B. and others. "Lobster Molting Hormones : Isolation and Biosynthesis of Ecdysterone," Experientia. 30(7) : 723 - 724, 1974.

Gagosian, R.B. and R.A. Bourbonniet. "Isolation and Purification of the Molting Hormones from the American Lobster (Homarus americanus)," Comp. Biochem. Physiol. 53B : 155 - 161, 1976.

- Galbraith, M.N. and D.H.S. Horn. "Insect Moulting Hormones Crustecdysone (20 - Hydroxyecdysone) from Podocarpus elatus," Aust. J. Chem. 22 : 1045 - 1057, 1969.
- Gilgan, M.W. and B.G. Burns. "Ecdysterone Triacetate Induced Molting in the American Lobster (Homarus americanus)," Comp. Biochem. Physiol. 64A : 125 - 131, 1979.
- Hikino, H. and T. Takemoto. "Ecdysones of Plant Origin," in Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly, p. 185 - 203, ed. Walter J. Burdette. New York, Springer Verlag, 1974.
- Horn, D.H.S. and others. "Isolation of Crustecdysone (20R-Hydroxyecdysone) from a Crayfish (Jasus lalandei H. Milne-Edwards)," Biochem. J. 109 : 399 - 406, 1968.
- Hysmith, B.T. and others. "A Study of the Effect of Feeding Synthetic Diets to Brown Shrimp (Penaeus aztecus)," Proc. World Maricult. Soc. 3 : 365 - 388, 1972.
- Imai, S. and others. "Isolation of Cyasterone and Ecdysterone from Plant Materials," Chem. Pharm. Bull. 17 : 335 - 342, 1969.
- Judy, K.J. "Hormonal Control of Insect Development," in Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly. p. 7 - 23, ed. Walter J. Burdette. New York, Springer - Verlag, 1974.
- Kanazawa, A., B.G. Jean-Claude and J.C. Hubert. "Metabolism of (C^{14}) B-Sitosterol Injected at Various Stages of the Molting Cycle in Prawn, Peneaus japonicus Bate," Comp. Biochem. Physiol. 54 B : 205 - 208, 1976.
- Kanazawa, A. and others. "Nutrition Requirements of Prawn-II : Requirement for Sterols," Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 36 : 494 - 954, 1971.
- Kanazawa, A., N. Tanaka and K. Kashiwada, "Nutrition Requirements of Prawn-IV : the Dietary Effect of Ecdysones," Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 38 : 1067 - 1071, 1972.
- Kaplanis, J.N. and others. "Ecdysones from the Pupa of the Tobacco Hornworm, Manduca sexta (Johannson)," Steroids. 8 : 605 - 623, 1966.
- _____. "Assay for Ecdysone (Molting Hormone) Activity Using the House Fly, Musca domestica L.," Steroids. 625 - 631, 1966.
- Karlson, P. and G. Hanser. Z. Naturforsch. 7b : 80 - 83, 1952.

- Karlson, P. "Biochemical Studies on Insect Hormones," Vitamins and Hormones. 14 : 228 - 265, 1956.
- Karlson, P. and D.M. Skinner. "Attempted Extration of Crustacean Moulting Hormone from Isolated Y-Organs," Nature. 185 : 543 - 544, 1960.
- King, D.S. and J.B. Siddal. Biosynthesis and Inactivation of Ecdysone," in Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophylly. p. 185 - 203, ed. W.J. Burdette. New York, Springer-Verlag, 1974.
- Kinne, O. Marine Ecology. Vol. 3(2), p. 1293, New York, John Wiley and Sons, 1977.
- Kitabayashi, K. and others. "Studies on Formula Feed for Kuruma prawn I: On the Relationship among Glucosamine, Phosphorus and Calcium," Bull Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 65 : 91 - 107, 1971.
- Krishnakumaran, A. and H.A. Schneiderman. "Chemical Control of Moulting in Arthropods," Nature. 220 : 601 - 603, 1968.
- Le Roux, A.A. "Etude anatomique et Fonctionnelle du Proventricule des Larves et des Juvenile du Premier Stade de Palaemonetes varians (Leach) (Decapode Natantia) - II : Les Phenomones Mechaniques de la Digestion," Bull. Soc. Zool. Fr. T. 96(2) : 141 - 149, 1971.
- Ling, S.W. "The General Biology and Development of Macrobrachium rosenbergii (de Man)," Proc. World Scient. Conf. on the Biol. and Cult. of Shrimps and Prawns, FAO Fish. Rep 3(57) : 589 - 606, 1969.
- Ling, S.W. and A.B. O. Merican. "Note on the Life and Habits of the Adults and Larval Stages of Macrobrachium rosenbergii (de Man)," Proc. Indo - Pacific Fish. Coun. 9 : 55 - 61, 1961.
- Lowe, M. E., D.H.S. Horn and M.N. Galbraith. "The Role of Crustecdysone in the Molting Crayfish," Experientia. 15 : 513 - 519, 1968.
- Moller, T.H. "Feeding Behavior of Larvae and Post Larvae of Macrobrachium rosenbergii (de Man) (Crustaceae : Palaemonidae)," J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 35 : 251 - 258, 1978.
- Nakanishi, K. "The Ecdysones," J. Pure and Applied Chemistry. 25 : 167 - 175, 1971.
- Nakanishi, K. and others. "Insect Hormones. I. the Structure of Ponasterone A, and Insect Molting Hormone from the Leaves of Podocarpus nakaii Hay.," Chem. Commun. p. 915 - 917, 1966.
- New, M.B. "A Review of Dietary Studies with Shrimps and Prawns," Aquaculture. 9 : 101 - 144, 1976.

- Nicol, J.A.C. Biology of Marine Animals. Pitman, London, 1967.
- Ohnishi, E. and others. "2 - De - Oxy - α - Ecdysone from Ovaries and Eggs of the Silkworm, Bombyx mori," Science. 197 : 66 - 67, 1977.
- Roa, K.R.S. and others. "Effects of Exogenous Ecdysones on the Molt Cycles of Fourth and Fifth Stage of American Lobster, Homarus americanus," Comp. Biochem. Physiol. 44A : 1105 - 1120, 1973.
- Shigueno, K. and others. "Studies on Formula Feed for Kuruma Prawn-IV : On the Growth Promoting Effect of Both squid Liver Oil and Cholesterol," Bull Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 65 : 129 - 137, 1972.
- Sick, L.V. and Beaty. "Development of Formula Food Designed for Macrobrachium rosenbergii Larval and Juvenile Shrimp," 1975.
- Sorgeloose, P. and G. Persoone. "Technological Improvement for the Cultivation of Invertebrates and Food for Fishes and Crustaceans II : Hatching and Culturing of the Brine Shrimp, Artemia salina," Aquaculture. 6 : 303 - 317, 1975.
- Stern, H. and others. "Survival and Growth of Juveniles of the Giant Malaysian Prawn, Macrobrachium rosenbergii Fed Natural Plant Diets," Proc. World Maricult. Soc. 1 : 91 - 100, 1976.
- Thompson, M.J. and others. "20, 26 - Dihydroxyecdysone, a New Steroid with Molting Hormone Activity from the Tobacco Hornworm, Manduca sexta (Johannson)," Chem. Commun. 650 - 653, 1967.
- Turner, C.D. General Endocrinology. 4 th, Philadelphia, W.B. Saunders, 1966. 579 p.
- Warner, A.C. "The Effects of Ecdysones on the Molt Cycle of Orconectes obscurus," Dissertation Abstracts International. Vol. 32 No. 1 July, 1971.

ภาคผนวก

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ค่ากลางเลขคณิต (mean value, $\bar{x}$)

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

เมื่อ n แทน จำนวนตัวอย่าง

x_n แทน ตัวข้อมูลที่ผันแปร

2. ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่าง (sample standard deviation, s)

$$s = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

3. ความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูล 2 สิ่ง

- 3.1 ความสัมพันธ์ของข้อมูลแบบเส้นตรง (linear regression)

มีสมการทั่วไปคือ

$$Y = a + bX$$

เมื่อ Y แทน สักส่วนที่แปรผันกับ X

a แทน interception ของ Y

b แทน regression coefficient หรือ slope

และ X คือ ข้อมูลที่ผันแปร

การหาค่า a และ b หาได้จากสมการความสัมพันธ์ดังนี้

$$b = \frac{\sum xy}{\sum x^2}$$

$$\text{เมื่อ } \sum xy = \sum XY - \frac{1}{n} \sum X \sum Y$$

$$\sum x^2 = \sum X^2 - \frac{1}{n} (\sum X)^2$$

$$\sum y^2 = \sum Y^2 - \frac{1}{n} (\sum Y)^2$$

$$a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

เมื่อ $\bar{Y}$ และ $\bar{X}$ คือค่าตัวกลางเลขคณิตของ Y และ X ตามลำดับ

3.2 การหานัยสำคัญของสมการเส้นตรง

3.2.1 linear correlation coefficient (r) มีสมการ

ทั่วไปคือ

$$r = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \cdot \sum y^2}}$$

4. การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) วิธีการ
วิเคราะห์ความแปรปรวน สรุปได้ดังตัวอย่างต่อไปนี้

ตาราง 20 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวน

Treatment	A_1	A_2	A_p	
	x_{11}	x_{12}	x_{1p}	
	x_{21}	x_{22}	x_{2p}	
	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	
	x_{n1}	x_{n2}	x_{np}	
Total	T_1	T_2	T_p	คะแนนรวมทั้งหมด
คะแนนเฉลี่ยแต่ละกลุ่ม	$\bar{x}_1 = \frac{T_1}{n_1}$	$\bar{x}_2 = \frac{T_2}{n_2}$	$\bar{x}_p = \frac{T_p}{n_p}$	T

เมื่อ x_{ip} แทน ค่าสังเกตที่ i ใน treatment ที่ P
 $i = 1, 2, \dots, n; P = 1, 2, \dots, P$

P แทน จำนวน treatment

n_j แทน จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม

N แทน $n_1 + n_2 + \dots + n_p$

T_j แทน ผลรวมของแต่ละกลุ่ม

$\bar{X}_j$ แทน คะแนนเฉลี่ยของแต่ละกลุ่ม

การคำนวณ

1. SS_t = Total sum of square

$$= \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k x_{ij}^2 - \frac{T^2}{N}$$

2. SS_b = Between group or treatment SS.

$$= \sum_{j=1}^k \frac{T_j^2}{n_j} - \frac{T^2}{N}$$

3. SS_w = Within - group

$$= SS_t - SS_b$$

4. MS_b = ความแปรปรวนของแต่ละกลุ่ม

$$= SS_b / df_b \quad (df_b = p - 1)$$

5. MS_w = ความแปรปรวนภายในกลุ่ม

$$= SS_w / df_w \quad (df_w = N - P)$$

6. F = MS_b / MS_w

หลังการคำนวณค่าความแปรปรวนแต่ละแบบแล้ว จึงนำตัวเลขมาบรรจุลงในตาราง
ดังนี้

ตาราง 21 แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทิศทางเดียว

แหล่งของตัวแปร	SS	df	MS	F
ระหว่างกลุ่ม	SS_b	$P - 1$	MS_b	MS_b / MS_w
ภายในกลุ่ม	SS_w	$N - P$	MS_w	
ทั้งหมด	SS_t	$N - 1$		

5. การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of covariance)

เป็นวิธีทางสถิติที่ขยายมาจากวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนและเกี่ยวข้องกับข้อมูลตัวแปรอย่างน้อย 2 ตัว และในการศึกษาครั้งนี้ข้อมูลตัวแปรทั้ง 2 ตัว คือ
ขั้นตอนการเจริญ (stages) และความยาว ซึ่งมีค่าผันแปรไปตามชนิดของอาหารที่เลี้ยง

ตาราง 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม

Treatment	d.f.	$\sum x^2$	$\sum xy$	$\sum y^2$	b	Deviation from Regression		
						d.f.	SS	MS
1	a-1	.	.	.	b_1	a-2	SS_1	$SS_1/a-2$
2	b-1	.	.	.	b_2	b-2	SS_2	$SS_2/b-2$
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
10	j-1	.	.	.	b_{10}	j-2	SS_{10}	$SS_{10}/j-2$
						n-20	$\sum SS$	$\sum SS/n-20$
pooled	n-10	$\sum \sum x^2$	$\sum \sum xy$	$\sum \sum y^2$	b_p	n-11	SS_p	$SS_p/n-11$
						9	$SS_p - \sum SS$	$(SS_p - \sum SS)/9$

Comparison of slopes $F = \frac{(SS_p - \sum SS)/9}{\sum SS/n-20}$

(d.f. = 9, n - 20)

เมื่อ $a, b, \dots, j$ เป็นจำนวนตัวอย่างของแต่ละ treatment

$$n = a + b + \dots + j$$

SS = Sum of square of deviation

$$= \sum y^2 - \frac{(\sum xy)^2}{\sum x^2}$$

MS = mean square of deviation

$$= SS/d.f.$$

การศึกษาอัตราไนโตรเจนที่สกัดจากคักแค้ใหม่ และผลของอาหารผสมคักแค้ใหม่
ที่มีต่อการรอดและขั้นตอนของการเจริญของกุ้งก้ามกรามวัยอ่อน

บทคัดย่อ

ของ

নারীবিলাস গির্জা

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

ตุลาคม 2525

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาวิธีสกัด และวัดปริมาณฮอร์โมนลอกคราบ จากคักแค้ใหม่ โดยการฉีดฮอร์โมนเข้าในหนอนแมลงวันบ้าน แล้วติดตามวัดปริมาณของ หนอนที่เข้าคักแค้หลังจากเริ่มหatching ประมาณ 24 ชั่วโมง พบว่า คักแค้ใหม่ที่อบแห้งแล้ว จะมีปริมาณของฮอร์โมนลอกคราบอยู่ประมาณ 0.7219 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัมของคักแค้ใหม่ น้ำหนักแห้ง หรือ $7.219 \times 10^{-7} \%$ โดยน้ำหนัก

เมื่อนำเอาคักแค้ใหม่มาเป็นอาหารเลี้ยงลูกกึ่งกามแกรมวัยอ่อน พบว่าอาหารซึ่ง ประกอบด้วยคักแค้ใหม่เพียงอย่างเดียว จะให้ผลในการกระตุ้นการเจริญของลูกกึ่งกามแกรมวัยอ่อน ทั้งขั้นตอนการเจริญและความยาวต่ำกว่าอาหารซึ่งประกอบด้วยคักแค้ใหม่ ผสมคาเซอีน เกลือแร่รวม และวิตามินรวม สูตร Bmp.(C.) และต่ำกว่าอาหารสูตร Mp.(L.o.) อาหารตัวอ่อนของอาร์ทีเมียซึ่งใช้เป็นตัวมาตรฐานเปรียบเทียบ จากผลการวิเคราะห์คุณค่าอาหาร แสดงให้เห็นว่า อาหารซึ่งประกอบด้วยคักแค้ใหม่เพียงอย่างเดียว จะมีปริมาณโปรตีนต่ำเพียง 14.35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกกึ่งกามแกรมวัยอ่อนโดยทั่วไป

A STUDY OF MOLTING HORMONE FROM SILKWORM PUPA AND THE EFFECTS
OF SILKWORM PUPA COMPOUND DIETS ON THE SURVIVAL AND THE
DEVELOPMENTAL STAGES OF GIANT FRESHWATER PRAWN LARVAE
(MACROBRACHIUM ROSENBERGII DE MAN)

AN ABSTRACT

BY

NAREEVILASS KITVITEE

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Education degree
at Srinakharinwirot University

October 1982

This research project was designed to study the method of extraction and determination of molting hormone in Bombyx mori pupa. The injection of molting hormone into the house fly larvae and observed the frequency of pupate after 24 hours indicated the level of hormone about 0.7219 milligrams per kilogram dry weight or $7.219 \times 10^{-7}\%$ by weight.

The giant freshwater prawn larvae fed with Bombyx mori showed significantly slower in growth development and the inversed of body length than the larvae fed with Bombyx mori plus casein mineral mixed and vitamin mixed.

The results also indicated the lower growth and survival when compare to the standard compound diets and Artemia salina.

The nutrition value of diets were analyzed and found that the level of protein in the Bombyx mori food was rather low about 14.35% which is lower than the minimum requirement for optimum growth of larvae.