

ผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่มีต่ออัตราการฟักของไข่กุ้งขาว
(*Litopenaeus vannamei*)

รัชณี รัตนภูเพ็ชร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มิถุนายน 2554
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ ราชันี รัตนภูเพ็ชร ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....
..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ วุดิพันธุ์ชัย)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิมรัตน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)
..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงษ์ วุดิพันธุ์ชัย)
..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิมรัตน์)
..... กรรมการ
(ดร.วันสุกร์ เสนานาญ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษาวดี ดันติวรานุกษ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2554

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เพราะได้รับความช่วยเหลือจากรองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ รองอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ ประธานกรรมการสอบ อาจารย์ ดร.วันสุกร์ เสนานาญ กรรมการสอบ ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำ ตรวจสอบ ปรับปรุง แก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้อง สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พืชวิทยา และการบริหารจัดการสารเคมี (ETM) และฟาร์มโกลด์เบส คอพอเรชั่น (ชลบุรี) ที่สนับสนุนช่วยเหลือในการทำวิจัย งานงานวิจัยนี้สำเร็จเสร็จสิ้นไปด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ นิสิตมหาวิทยาลัยบูรพาทุกคนที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ และผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ให้การช่วยเหลือเกื้อกูล คอยให้กำลังใจเป็นอย่างดีมาตลอด

ขอขอบคุณ นางสาวสุภาณี นิลวงศ์ ที่เสียสละเวลา来帮助ทำการทดลองงานวิจัย

ขอขอบคุณบุคคลในครอบครัวรัตนภูเพ็ชร ที่เป็นแรงสนับสนุน ให้การช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในการศึกษาจนสำเร็จด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ อย่างหาที่เปรียบมิได้ ที่ได้ให้กำเนิดและส่งลูกสาวคนนี้เรียนจนจบปริญญาโท และต้องอดหลับอดนอนคอยมารับ – ส่งในขณะที่ทำการวิจัย “รักคุณพ่อ คุณแม่นะค่ะ” แม้จะไม่เคยบอกด้วยคำพูด แต่ขอจารึกเป็นลายลักษณ์อักษรลงในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ซึ่งมีความคงทน และหนักแน่นกว่าคำพูด

คุณค่าและประโยชน์ จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบบูชาพระคุณบิดา คุณมารดา คุณครูบาอาจารย์ ผู้มีพระคุณทุกท่าน

รัชณี รัตนภูเพ็ชร

50911405: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม; วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

คำสำคัญ: สารไครโอโพรเทคแทนท์/ ไข่/ กุ้งขาว/ อัตราการฟัก/ อุณหภูมิ

รชนี รัตนภูเพ็ชร: ผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่มีต่ออัตราการฟักของไข่กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) (EFFECT OF CRYOPROTECTANT ON THE HATCHING RATE IN EMBRYO OF PACIFIC WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D., สุบัณฑิต นิมรัตน์, Ph.D. 57 หน้า. ปี พ.ศ. 2554.

การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการฟักของไข่กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ทำโดยนำไข่กุ้งขาวที่ได้รับการปฏิสนธิ 3 ระยะของช่วงการพัฒนา (ระยะ 2-3 ชั่วโมงหรือระยะคลีเวจ, 6-7 ชั่วโมง หรือระยะบลาสตูลา และ 10-11 ชั่วโมงหรือระยะแกสตรูลาหลังการวางไข่) มาแช่ในน้ำทะเลที่ไว้ที่อุณหภูมิ 5 ระดับ (6, 12, 18, 24 และ 30 องศาเซลเซียส) ที่เวลาต่าง ๆ กัน (30, 60, 90, 120 และ 150 นาที) พบว่า อัตราการฟักมีค่าเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่เพิ่มมากขึ้น โดยมีอัตราการฟักสูงที่สุดในไข่ระยะที่ 3 ของช่วงการพัฒนา (10-11 ชั่วโมงหลังการวางไข่ หรือระยะแกสตรูลา) การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์จำนวน 9 ชนิด (DMSO, methanol, propylene glycol, acetamide, formamide, sucrose, glycerol, ethanol และ ethylene glycol) ที่มีต่อไข่กุ้งขาวทั้ง 3 ระยะของช่วงการพัฒนา ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ (5%, 10%, 15% และ 20%) นำไข่กุ้งมาแช่ในระยะเวลา 10 และ 20 นาที พบว่าไข่กุ้งขาวทั้ง 3 ระยะมีความทนต่อสารได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 5% ในเวลา 10 นาที เมื่อใช้สาร ethylene glycol, methanol, DMSO และ acetamide เนื่องจากค่าอัตราการฟักสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารไครโอโพรเทคแทนท์ชนิดอื่น

50911405: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE; M.Sc. (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

KEYWORDS: CRYOPROTECTANT/EMBRYO/WHITE SHRIMP/HATCH/ TEMPERATURE
RATCHANEE RATTANAPHUPET EFFECT OF CRYOPROTECTANT ON
THE HATCHING RATE IN EMBRYO OF PACIFIC WHITE SHRIMP (*Litopenaeus
vannamei*). ADVISORY COMMITTEE: VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D.,
SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D, 57 P. 2011.

The objective of this study was to evaluate the effect of temperature and cryoprotectants on hatching success of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) embryos. Three stages of embryonic development (2-3, 6-7 and 10-11 hours after spawning corresponding cleavage stage, blastula and gastrula respectively) were exposed to seawater at different temperatures (6, 12, 18, 24 and 30°C) and intervals (30, 60, 90, 120 and 150 minutes). Results showed that hatching success positively correlated with increased water temperature. The second experiment evaluated the effect of different cryoprotectants (DMSO, methanol, propylene glycol, acetamide, formamide, sucrose, glycerol, ethanol and ethylene glycol) on the hatching success of three stages embryos using four concentrations levels (5%, 10%, 15% and 20%) for 10 or 20 minutes. Results showed that three stage embryos were tolerant to 5% of ethylene glycol, methanol, DMSO or acetamide after exposure for 10 minutes due to the presence of high hatching rates compared to those of other cryoprotectants.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ค
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมุติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ลักษณะอนุกรมวิธาน.....	6
โครงสร้างและส่วนประกอบของอวัยวะ.....	6
ลักษณะทางกายภาพ.....	7
ลักษณะอุปนิสัย.....	7
การสืบพันธุ์.....	8
พัฒนาการของตัวอ่อน (Larval development)	9
การพัฒนาของไข่.....	10
ลักษณะความแตกต่างระหว่างเพศของกิ้ง.....	11
วิธีการนับไข่.....	12
ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการฟัก.....	12
วิธีการแช่แข็ง.....	14
ไครโอโพรเทคแทนท์ (cryoprotectant)	15
กลไกการออกฤทธิ์ของสารไครโอโพรเทคแทนท์.....	18

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 วิธีการดำเนินการทดลอง.....	20
สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย.....	20
ตัวอย่างทดลอง.....	20
อุปกรณ์และสารเคมี.....	20
วิธีดำเนินการทดลอง.....	21
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	23
4 ผลการวิจัย.....	25
ผลการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการฟักไข่กุ้งขาวในแต่ละระยะ ในเวลาที่แตกต่างกัน.....	25
การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่มีต่ออัตราการฟักไข่กุ้งขาว ในแต่ละระยะ ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาแตกต่างกัน.....	30
5 อภิปรายและสรุปผล.....	40
ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการฟักไข่กุ้งขาว.....	40
อัตราการฟักไข่กุ้งขาวในชุดควบคุม.....	40
อัตราการฟักไข่กุ้งขาวในแต่ละระยะการพัฒนาของไข่.....	40
ผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์ต่ออัตราการฟัก.....	43
สรุปผล.....	45
ข้อเสนอแนะ.....	46
บรรณานุกรม.....	47
ภาคผนวก.....	51
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	55

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่กุ้งขาวระยะแรกหรือระยะคลีเวจที่อุณหภูมิ และระยะเวลาแตกต่างกัน	26
2 เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่กุ้งขาวระยะกลางหรือระยะบลาสตูลาที่อุณหภูมิ และระยะเวลาแตกต่างกัน	28
3 เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่กุ้งขาวระยะสุดท้ายหรือระยะแกสตรูลาที่อุณหภูมิ และระยะเวลาแตกต่างกัน	30
4 เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่กุ้งขาวในระยะแรก หรือระยะคลีเวจต่อผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์แต่ละชนิด	33
5 เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่กุ้งขาวในระยะกลาง หรือระยะบลาสตูลาต่อผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์แต่ละชนิด	36
6 เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่กุ้งขาวในระยะสุดท้าย หรือระยะแกสตรูลาต่อผลของสารไครโอโพรเทคแทนท์แต่ละชนิด	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะของกุ้งขาว.....	5
2 ระยะคลีเวลหรือ 2-3 ชั่วโมงหลังการวางไข่ในน้ำทะเลอุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส.....	10
3 ระยะบลาสตูลา หรือ 6-7 ชั่วโมงหลังการวางไข่ในน้ำทะเลอุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส.....	10
4 ระยะแกสตรูลาหรือ 10-11 ชั่วโมงหลังการวางไข่ในน้ำทะเลอุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส.....	10