



# วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

# JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

ปีที่ 11 เล่มที่ 1

มกราคม - มิถุนายน 2560

Volume 11 Number 1

January - June 2017

วารสารวิชาการเผยแพร่ความรู้

เทคโนโลยีและส่งเสริมกิจกรรมทางการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

ทั้งเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อม

จัดทำโดย

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง  
Journal of Fisheries Technology Research

ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2560  
ISSN 1905-7393

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงเป็นวารสารวิชาการและเป็นลิขสิทธิ์ของ  
คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

มีวัตถุประสงค์เพื่อ

- 1.เผยแพร่วิชาความรู้และผลงานวิชาการ โดยเน้นผลงานจากการวิจัยทางการประมง ทั้งเชิงเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม
- 2.เป็นสื่อกลางในการแลกเปลี่ยนความคิดเห็นทางวิชาการเชิงสร้างสรรค์
- 3.ส่งเสริมอาจารย์ นักวิชาการ นักวิจัย นักศึกษาและผู้ที่เกี่ยวข้องให้มีส่วนร่วมในการถ่ายทอดเทคโนโลยี เผยแพร่และบริการด้านวิชาการแก่สังคม

ข้อคิดเห็นที่ปรากฏและแสดงในเนื้อหาบทความต่างๆ ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง  
ถือเป็นความเห็นและความรับผิดชอบโดยตรงของผู้เขียนโดยเฉพาะ ไม่จำเป็นต้องสอดคล้อง  
กับทฤษฎีของคณะผู้จัดทำ และมีใช้ความรับผิดชอบของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ  
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ผู้ประสงค์จะนำข้อความใดๆ ไปพิมพ์เผยแพร่ต่อต้องได้รับอนุญาตจาก  
วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงและผู้เขียนตามกฎหมายว่าด้วยลิขสิทธิ์



## บทบรรณาธิการ

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง (ISSN 1905-7393) เป็นวารสารของคณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ (มกราคมและกรกฎาคม) ของทุกปี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสื่อกลางในการนำเสนอผลงานวิชาการให้กับนักวิจัย นักศึกษา บุคลากร เพื่อการเผยแพร่ข้อมูล นวัตกรรมและองค์ความรู้เชิงวิชาการระหว่างนักวิจัย นักวิชาการกับผู้ใช้ประโยชน์ ทุกภาคส่วน เช่น เกษตรกร ภาคเอกชนและผู้สนใจ

เนื้อหาในเล่มนี้ประกอบด้วยงานวิจัยที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของ ปลาชิว ไบโม่แม่แตง (*Devario maetaengensis* (Fang, 1997)) ในแม่น้ำแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อหา แนวทางในการเพาะเลี้ยง การศึกษาอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กึ่ง เช่น การใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับ แม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ การแสดงออกของ ยีน vitellogenin และยีน fatty acid binding protein ของกึ่งขาวเพศเมีย การทดแทนถั่วเหลืองป่นด้วยสาหร่ายไมโครสไปราในอาหารปลากะพงขาว ส่วนทางด้านโรคและภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาเพื่อใช้เชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติก ในปลานิล การสำรวจปรสิตที่ชี้เหงือกของปลากดหัวแข็ง (*Arius maculatus*) จากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา การเกิดขึ้นตามฤดูกาลของโคพีพอดที่เป็นปรสิตภายนอกของปลาตะกรับ (*Scatophagus argus* (Linnaeus 1766)) ในทะเลสาบสงขลาตอนล่างภาคใต้ งานด้านสิ่งแวดล้อมมีการนำเสนอการสะสม โลหะหนักในน้ำ ดินตะกอน และปลาในลำน้ำมูล ประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม จังหวัดสงขลา การจำแนกชนิดของขยะพลาสติกหน้าดินบริเวณปากแม่น้ำระยอง งานวิจัยเพื่อเปรียบเทียบการ พยากรณ์ราคาปลาที่บ่มที่ตลาดสี่มุมเมือง ด้วยวิธีบอกซ์-เจนกินส์และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลข ซึ่งกำลัง

ในนามคณะกรรมการกองบรรณาธิการฯ ต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อผู้เขียนผลงาน คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่พิจารณาผลงาน คณะกรรมการวิชาการของคณะฯ และผู้ประสานงาน ในนาม ตัวแทนกองบรรณาธิการและกรรมการท่านอื่น ๆ ที่ไม่สามารถเอ่ยนามได้หมด ตลอดจนผู้ให้การสนับสนุน จากหลายฝ่ายด้วยกัน ที่สามารถเป็นการส่งเสริมคุณภาพวารสารและดำเนินการจนทำให้วารสารวิจัย เทคโนโลยีการประมงฉบับนี้ เป็นวารสารวิชาการเข้าสู่ระบบฐานข้อมูลวารสารไทย ที่สามารถสืบค้นได้จาก หน้าเว็บไซต์วารสาร ที่ <http://www.fishtech.mju.ac.th> หรือเว็บไซต์ของศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย ที่ <http://tci/trf.or.th> นำไปสู่การส่งเสริมคุณภาพวารสารและเผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่ดีพิมพ์ในวารสาร ซึ่ง เป็นการเพิ่มคุณค่าต่อการนำประโยชน์ต่อการศึกษาด้านวิชาการและวงการวิชาชีพด้านการประมงและ ทรัพยากรทางน้ำได้อย่างมั่นคงต่อไป

กองบรรณาธิการ



## การใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* จากบ่อดิน

### Utilization of the earthworms for feeding the female domesticated giant tiger shrimp *Penaeus monodon* broodstock

วสิน ยวนะเตมีย<sup>1</sup> อูษา เชียงเหนือ<sup>1</sup> ถิรศักดิ์ สโมสร<sup>1</sup> และรชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ<sup>1\*</sup>

Vasin Yuvanatemiya<sup>1</sup>, Ausa Chiangnuea<sup>1</sup>, Teerasak Samosorn<sup>1</sup> and Rachanimuk Hiransuchalert<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี 22170

<sup>1</sup>Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus 22170

Corresponding author: rachanimuk@buu.ac.th

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองนำไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแรว (*Pheretima peguana*) มาใช้เป็นอาหารสด เพื่อกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดิน โดยทดสอบความสามารถในการทนความเค็มของไส้เดือนดินในระดับความเค็มของน้ำที่ 0, 20, 25, 30 และ 35 ส่วนในพันส่วน จากผลการทดลองพบว่า ไส้เดือนดินสามารถทนอยู่ได้ในช่วง 16-98 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 20 ส่วนในพันส่วน) 10-70 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 25 ส่วนในพันส่วน) 6-10 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน) และ 4-12 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 35 ส่วนในพันส่วน) และจากการศึกษาปริมาณไส้เดือนดินที่แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำกินเฉลี่ยต่อวันพบว่า กุ้งกุลาดำมีการกินอาหารเป็น  $0.84 \pm 0.49$  เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (กรัม) ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม (อาหารเม็ด) คือ  $0.16 \pm 0.05$  เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในการตรวจสอบการพัฒนารูปร่างของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำพบว่า รังไข่ของกุ้งกุลาดำเพศเมียที่กินไส้เดือนดินมีการพัฒนาจากระยะที่ I เป็นระยะที่ II ( $GSI = 0.87$ ) คิดเป็น 16.67 เปอร์เซ็นต์ของกุ้งที่ทำการทดลองทั้งหมด ในด้านการเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักลำตัวและความยาวลำตัว พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ระหว่างแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่กินไส้เดือนดินและอาหารเม็ดทั้งก่อนและหลังการทดลอง

**คำสำคัญ :** กุ้งกุลาดำ, ไส้เดือนดิน, รังไข่, การพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์, บ่อดิน

#### Abstract

This research aimed to use the earthworms (*Pheretima peguana*) as a fresh feed to induce the reproductive development of the female domesticated *Penaeus monodon* broodstock. The salinity tolerance of living earthworms were tested at 0, 20, 25, 30 and 35 part per thousand (ppt) of the water salinity. The result showed that the earthworms could be alive for 16-98 minutes at 20 ppt, 10-70 minutes at 25 ppt, 6-10 minutes at 30 ppt and 4-12 minutes at 35 ppt of the water salinity. In addition, the amounts of the earthworms that female broodstock-sized *P. monodon* consumed per day was  $0.84 \pm 0.49$  percent of body weight (g.). These proportions are significantly higher than those of control (pellets) which was  $0.16 \pm 0.05$  percent of body weight (g.) ( $p < 0.05$ ). The results showed

that 16.67 percent of *P. monodon* that ate the living earthworms developed ovaries from stage I to stage II (GSI = 0.87). For the control groups, the gonad development of *P. monodon* did not show significant difference among the experiments. However, for the growth rate of broodstock - sized *P. monodon* (in term of body weight and body length), there was not significant difference between the before and after the experiments ( $p > 0.05$ ).

**Keywords :** *Penaeus monodon*, Earthworm, ovaries, reproductive development, earthen pond

## บทนำ

การให้อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงอย่างเต็มที่และการให้ฮอร์โมน เป็นทางเลือกสำคัญที่ใช้ในการช่วยกระตุ้นการสมบูรณ์เพศของพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในโรงเรือนเพื่อทดแทนการตกกันตา ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพแต่เสี่ยงต่อการตายและการติดโรคของพ่อแม่พันธุ์ แม่เพรียงทรายหรือไส้เดือนทะเล (*Perinereis* sp.) เป็นที่ยอมรับจากเกษตรกรเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ว่าเป็นอาหารธรรมชาติที่ใช้เสริมให้แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำแล้วช่วยให้เกิดการสร้างไข่ที่ดีที่สุด (Wouters *et al.*, 2001; Meunpol *et al.*, 2007) ทั้งนี้เนื่องจากในแม่เพรียงทรายอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการสูง ทั้งคุณค่าของโปรตีน ไขมัน และแร่ธาตุต่างๆ รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ อีกทั้งประกอบด้วยฮอร์โมนบางชนิด เช่น โปรเจสเตอโรน โพรสตาแกลนดิน เมลิตฟารินิโซเอท ซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้มีรายงานว่าช่วยส่งเสริมการเจริญพันธุ์ในกุ้งกุลาดำ (Meunpol *et al.*, 2007) ดังนั้น ความต้องการแม่เพรียงทรายในปัจจุบันยังมีเพิ่มมากขึ้นเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของโรงเพาะพันธุ์กุ้งทะเล จนทำให้ประชากรแม่เพรียงทรายในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแม่เพรียงทรายยังมีต้นทุนสูง และเลี้ยงให้มีอัตรารอดสูงได้ยาก ส่งผลให้การผลิตลูกพันธุ์กุ้งมีต้นทุนมีราคาสูงตามไปด้วย (Meunpol *et al.*, 2007; Wouters *et al.*, 2001; Techaprempreecha *et al.*, 2011) มีการพัฒนาอาหารเม็ดสำหรับแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำโดยการผสมฮอร์โมน  $17\beta$ -estradiol ปริมาณ 10 mg ต่อกิโลกรัมของอาหารเม็ด พบว่ากุ้งกุลาดำมีการพัฒนาไข่ดีขึ้นและมีค่าดัชนีรังไข่สูงขึ้นเพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่อวัยวะสืบพันธุ์ยังไม่พัฒนาจนถึงระยะที่กุ้งวางไข่ได้ (Hiransuchalert *et al.*, 2013) การใช้อาหารสดจากแหล่งอื่นที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในต้นทุนต่ำและมีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับแม่เพรียงทราย อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีส่วนช่วยให้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลมีความยั่งยืน

ไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแว์ (*Pheretima peguana*) เป็นไส้เดือนดินสีแดงที่พบได้ทั่วไปในแถบเอเชียรวมทั้งประเทศไทย ลักษณะพิเศษของไส้เดือนสายพันธุ์นี้ คือมีความตื่นตัวสูงมากเมื่อถูกจับตัวจะดิ้นอย่างรุนแรงและเคลื่อนที่หนีเร็วมาก นอกจากนี้ ยังมีอัตราการแพร่ขยายพันธุ์ได้สูงมากด้วย เนื่องจากเหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยและหาได้ง่ายตามธรรมชาติ ในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงไส้เดือนดินอย่างแพร่หลายโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นอาหารสำหรับไส้เดือนดิน ทำให้ลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงได้ปริมาณผลผลิตมาก และยังสามารถนำมูลไส้เดือนดินไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์สำหรับเสริมแร่ธาตุในดินได้ (Tanco, 2007) ไส้เดือนดินเป็นสัตว์ที่มีประโยชน์มากต่อระบบนิเวศ ช่วยในการปรับปรุงโครงสร้างของดิน ทำให้ดินร่วนซุย ช่วยส่งเสริมการละลายธาตุอาหารพืชที่อยู่ในรูปอินทรีย์ที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ให้ใช้

ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ไส้เดือนดินยังเป็นสัตว์ที่มีโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูง (Abowei and Ekubo, 2011) จึงได้รับความนิยมในการนำมาเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ เช่น ปลา ไก่ นก เป็ด เป็นต้น ปัจจุบันมีการพัฒนารูปแบบของไส้เดือนดินทางการค้าที่มีความหลากหลาย เช่น ไส้เดือนที่มีชีวิต ไส้เดือนตากแห้ง ไส้เดือนบด ไส้เดือนอัดแท่ง ฯลฯ โดยไส้เดือนแห้งหนึ่งกิโลกรัมมีส่วนประกอบของโปรตีนที่มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ครบสมบูรณ์ประมาณ 62 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนประกอบของกรดไขมันที่จำเป็นประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (Tancho, 2007) ปัจจุบันมีการทดลองใช้ไส้เดือนดินเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์บกและสัตว์น้ำ (Hilton, 1983; Sogbesan, *et al.*, 2007; Monebi and Ugwumba, 2013; Dedeke *et al.*, 2013) เนื่องจากมีรายงานว่าไส้เดือนดินมีรูปแบบกรดอะมิโนที่จำเป็นคล้ายกับปลา (Dedeke *et al.*, 2010) นอกจากนี้ไส้เดือนดินมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และของเหลวในช่องว่างลำตัวของไส้เดือนดินบางชนิดยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Tancho, 2007) ซึ่งอาจส่งผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง โดยงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งและการศึกษาการรอดตายของไส้เดือนดินในสภาวะจำกัด เช่น ความเค็ม หรืออุณหภูมิ ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน โดยงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดินเพื่อลดต้นทุนการผลิตลูกพันธุ์กุ้งกุลาดำ

## วิธีการวิจัย

### การเตรียมไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่

นำไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มเลี้ยงไส้เดือนดิน จังหวัดปทุมธานี มาขยายพันธุ์ในกระบะสี่เหลี่ยมพลาสติกขนาด 20 ลิตร โดยใส่ดินร่วนและปุ๋ยมูลวัว ในอัตราส่วน ดินร่วน 3 ส่วนต่อมูลวัว 1 ส่วน ให้เศษผักและเปลือกไข่เป็นอาหารวันละ 1 ครั้งโดยใช้วิธีฝังกลบ ในระหว่างเลี้ยงพรมน้ำทุกวันให้มีความชื้น ปิดฝาภาชนะเลี้ยงไส้เดือนด้วยผ้าพลาสติกมีการเจาะรูเพื่อระบายอากาศด้านบนของภาชนะที่ใช้เลี้ยง และมีการเจาะรูระบายน้ำบริเวณด้านล่างเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำขัง โดยเลี้ยงในความหนาแน่นเริ่มต้น 100 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 2 เดือน เลือกไส้เดือนดินที่มีขนาดไม่น้อยกว่า 10 เซนติเมตร มีลักษณะสมบูรณ์และยังมีชีวิตมาใช้ในการทดลอง (Figure 1)



Figure 1 The earthworms (*Pheretima peguana*) used in this study



### การศึกษาอิทธิพลของความเค็มของน้ำต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีต้าแร่

ในการทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบระยะเวลาที่ไส้เดือนดินมีชีวิตอยู่ในน้ำทะเลได้ เนื่องจากขณะมีชีวิตเมื่ออยู่ในน้ำไส้เดือนดินจะเคลื่อนที่ไปมาเป็นการกระตุ้นให้กุ้งอยากกินอาหาร และเพื่อเป็นการจำลองสภาวะการให้ไส้เดือนดินที่ยังมีชีวิตแก่พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ เนื่องจากความเค็มของน้ำทะเลที่เหมาะสมในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเลเพื่อวางไข่ คือ 28-35 ส่วนในพันส่วน (Primavera, 1989) โดยนำไส้เดือนดินที่ผ่านการเพาะขยายมาทำการทดลองหาอัตราการรอดตาย โดยใช้โหลทดลองขนาดความจุ 1.5 ลิตร บรรจุน้ำที่ความเค็มของน้ำแตกต่างกัน ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 20, 25, 30 และ 35 ส่วนในพันส่วน เพื่อให้ระดับความเค็มของน้ำที่ศึกษาครอบคลุมช่วงความเค็มที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ โดยใช้ในปริมาณ 1 ลิตร จำนวน 15 โหล เริ่มการทดลองโดยใส่ไส้เดือนดินที่มีชีวิตจำนวน 5 ตัวต่อโหล ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replications) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design) และบันทึกอัตราการรอดตายของไส้เดือนดินทุก 2 นาที เป็นเวลา 120 นาที โดยสังเกตจากการเคลื่อนไหวในน้ำ การยืดหดของเพอริสโตเมียม (peristomium) บริเวณปล้องแรกของไส้เดือนดิน และการปล่อยของเหลวภายในลำตัวออกมาจากรูกลางหลัง (dorsal pores) เมื่อไส้เดือนดินเริ่มตาย (Charubhun and Charubhun, 2003) เพื่อกำหนดอัตราการรอดตาย ดังสมการที่ (1)

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนไส้เดือนดินที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนไส้เดือนดินเมื่อเริ่มการทดลอง}} \quad (1)$$

### การเตรียมแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ

ใช้แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจำนวน 14 ตัว โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เพิ่มจำนวนพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อดิน (Broodstock Multiplication Center) คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี โดยเป็นกุ้งกุลาดำที่เพาะพันธุ์จากกุ้งกุลาดำที่พัฒนาสายพันธุ์เพื่อการปราศจากโรคจากธรรมชาติแล้ว ด้วยวิธีการผสมเทียม จากศูนย์วิจัยและพัฒนาสายพันธุ์กุ้ง (ศวพก) จังหวัดสุราษฎร์ธานี แล้วนำมาเลี้ยงในบ่อดินที่ศูนย์เพิ่มจำนวนพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะโพสลาวา 15 จนมีอายุประมาณ 16 เดือน มีน้ำหนักลำตัวและความยาวลำตัวเฉลี่ย  $62.40 \pm 20.15$  กรัม และ  $19.04 \pm 3.16$  (N=14) เซนติเมตร ตามลำดับ จากนั้นนำมาเลี้ยงปรับสภาพเป็นเวลา 7 วัน ในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1000 ลิตร ความเค็มของน้ำประมาณ 25 ส่วนในพันส่วน ที่ฆ่าเชื้อด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) ความเข้มข้นประมาณ 30 ส่วนในล้านส่วน ทั้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์เพื่อให้สลายตัวหมด ก่อนเริ่มการทดลอง

### การศึกษาการใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดิน

เลี้ยงกุ้งกุลาดำในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1000 ลิตร ความเค็มของน้ำประมาณ 25-27 ส่วนในพันส่วน เป็นเวลา 30 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 7 วันของการทดลอง ตรวจสอบคุณภาพน้ำ (อุณหภูมิ, ความเค็ม, ความเป็นกรด-ด่าง และความเป็นด่าง) ทุกวันตลอดการทดลอง แบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง คือ กุ้งกุลาดำชุดควบคุม (ให้อาหารเม็ดสำหรับกุ้งใหญ่ ยี่ห้อสตาร์ฟีด ขนาด 5005 กุ้งใหญ่ ที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 35% ไขมันไม่น้อยกว่า 5% ความชื้นไม่มากกว่า 11% กากไม่มากกว่า 4%) จำนวน 8 ตัว และกุ้งกุลาดำที่กินไส้เดือนดิน

จำนวน 6 ตัว โดยชั่งน้ำหนักลำตัวและวัดความยาวลำตัวกึ่งกลางดำก่อนเริ่มการทดลอง ใช้ตาข่ายแข็งกันระหว่างกึ่งกลางดำแต่ละตัว (pseudoreplication; Hurlbert, 1984) เพื่อควบคุมปัจจัยและสภาวะการเลี้ยง และสามารถคำนวณปริมาณการกินอาหารของกึ่งกลางดำแต่ละตัวได้ ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 07.00 น. และ 19.00 น. โดยชั่งน้ำหนักอาหารที่ 5% ของน้ำหนักตัวต่อวัน และให้อาหารที่ล้นน้อยจนกึ่งแต่ละตัวไม่เข้ากินอาหาร การให้ไส้เดือนดินจะทำการแยกไส้เดือนดินออกจากดินที่เลี้ยงแล้วทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นอย่างรวดเร็ว และให้กึ่งกินขณะที่ยังมีชีวิต ชั่งน้ำหนักอาหารเม็ดและไส้เดือนดินที่เหลือในแต่ละวัน และคำนวณปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อวันของกึ่งแต่ละกลุ่มการทดลอง ดังสมการที่ (2)

$$\text{ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ย (\% ของน้ำหนักตัว)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยปริมาณการกินอาหารที่กินต่อวัน (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักลำตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)}} \quad (2)$$

ตรวจสอบการพัฒนารูปร่างของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กึ่งกลางดำก่อนและหลังสิ้นสุดการทดลอง โดยใช้ไฟฉายส่องที่ลำตัวกึ่งกลางดำเพศเมีย และดูแนวไข่ที่พาดตามแนวลำตัวของกึ่งกลางดำ ผ่าเอารังไข่ของกึ่งกลางดำมาชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณค่าดัชนีรังไข่ (Gonadosomatic index) ดังสมการที่ (3)

$$\text{ค่าดัชนีรังไข่ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักรังไข่ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักลำตัว (กรัม)}} \times 100 \quad (3)$$

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของแม่กึ่งกลางดำที่กินอาหารเม็ดและไส้เดือนดิน คำนวณน้ำหนักรังไข่ และค่าดัชนีรังไข่ของแม่กึ่งกลางดำที่กินอาหารเม็ดและไส้เดือนดิน ด้วยการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติแบบไร้พารามิเตอร์ (Nonparametric Statistics) เปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่มการทดลองโดยใช้สถิติแบบ The Kolmogorov-Smirnov Two-Sample Test ที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95%

### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

#### ระดับความเค็มของน้ำต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่

จากการทดลองระดับความเค็มต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ โดยทำการทดลองที่ระดับความเค็มต่างๆ คือ 0 (ชุดควบคุม), 20, 25, 30 และ 35 ส่วนในพันส่วน เป็นระยะเวลา 120 นาที พบว่าในระดับความเค็มที่ 0 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินมีอัตราการรอดตาย 100% ตลอดการทดลอง ในระดับความเค็มที่ 20 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 16 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 98 ในระดับความเค็มที่ 25 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 10 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 70 ในระดับความเค็มที่ 30 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 6 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 18 ในระดับความเค็มที่ 35 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 4 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 12 (Table 1) ความเค็มของน้ำมีผลต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ เนื่องจากไส้เดือนดินเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่ไม่มีระดับความเค็มที่สูงและอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นค่อนข้างสูง (70-90%) ความ

เป็นกรด-ด่างประมาณ 7.0-8.0 มีการระบายอากาศดี อุณหภูมิไม่แปรปรวนมาก ลักษณะดินที่เหมาะสมคือ เป็นดินร่วนผสมมูลวัว (Tancho, 2007) ส่วนในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กิ้งกูดดำที่พร้อมสำหรับการผลิตลูกกิ้งควรอยู่ในสภาวะที่มีความชื้นแสงไม่เกิน 100 ลักซ์ อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 7.5-8.5 และความเค็มของน้ำอยู่ระหว่าง 28-35 ส่วนในพันส่วน (Primavera, 1989) ซึ่งระดับความเค็มของน้ำในช่วงนี้ไส้เดือนดินยังมีชีวิตอยู่และมีการเคลื่อนไหวในน้ำได้เป็นเวลา 4-70 นาที โดยจากผลการทดลองพบว่า และกิ้งกูดดำขนาดพ่อแม่พันธุ์จากบ่อดินที่กินไส้เดือนดินนั้นจะใช้ระยะเวลาในการกินไส้เดือนดิน 1 ตัวประมาณ 3-5 นาที โดยพ่อแม่พันธุ์มีระดับความเค็ม 25-27 ส่วนในพันส่วน ดังนั้น ไส้เดือนดินที่ให้ เป็นอาหารสำหรับกิ้งกูดดำขนาดพ่อแม่พันธุ์จากบ่อดินจึงยังอยู่ในสภาพมีชีวิตและมีการเคลื่อนไหวในขณะที่กิ้งกูดดำกิน เป็นการช่วยดึงดูดให้กิ้งกูดดำกินอาหารมากขึ้นด้วย

#### ปริมาณไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ที่แม่พันธุ์กิ้งกูดดำจากบ่อดินกินเฉลี่ยต่อวัน

จากการหาปริมาณการกินไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ของแม่พันธุ์กิ้งกูดดำจากบ่อดิน โดยให้อาหารกิ้งกูดดำเป็นเวลา 30 วัน วันละ 2 ครั้ง โดยแม่พันธุ์กิ้งกูดดำมีขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย  $66.80 \pm 25.84$  กรัม (จำนวน 14 ตัว) พบว่ากิ้งกูดดำชุดการทดลองที่กินไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่มีการกินอาหารได้มากกว่าชุดควบคุม (อาหารเม็ด) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (Figure 2) โดยแม่พันธุ์กิ้งกูดดำกินไส้เดือนดินได้ตั้งแต่ 0.04 ถึง 1.31% ของน้ำหนักตัว (กรัม) มีค่าเฉลี่ยเป็น  $0.84 \pm 0.40\%$  ของน้ำหนักตัว (กรัม) ส่วนแม่พันธุ์กิ้งกูดดำชุดควบคุม (อาหารเม็ด) กินอาหารเม็ดได้ตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.15% ของน้ำหนักตัว (กรัม) มีค่าเฉลี่ยเป็น  $0.05 \pm 0.04\%$  ของน้ำหนักตัว (กรัม) เนื่องจากการทดลองนี้กิ้งกูดดำกินอาหารมากที่สุดเพียง 0.5% และ 1.31% ต่อกรัมของน้ำหนักตัวต่อวันของอาหารเม็ดและไส้เดือนดินตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าปริมาณอาหารต่อวันที่แนะนำให้ใช้สำหรับเป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์กิ้งกูดดำในโรงเพาะฟัก ซึ่งแบ่งให้อาหารเป็น 3-4 มื้อต่อวัน และควรมีปริมาณการให้อาหารเป็น 3.5% และ 10-30% ของน้ำหนักตัวต่อวัน ของอาหารเม็ดและอาหารสดตามลำดับ (Lumubol et al., 2003; Primavera, 1989) แสดงให้เห็นว่าปริมาณอาหารที่ได้รับไม่เพียงพอต่อความต้องการสำหรับการพัฒนาไข่ได้อย่างเต็มที่

Table 1 The survival rates of the earthworms (*Pheretima peguana*) in the different water salinity

| Time (minute) | The water salinity |                   |                   |                   |                   |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|               | 0 ppt              | 20 ppt            | 25 ppt            | 30 ppt            | 35 ppt            |
| 2             | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 |
| 4             | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 | 75.00 $\pm$ 30.05 |
| 6             | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 | 94.44 $\pm$ 9.62  | 38.89 $\pm$ 31.55 |
| 8             | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 100.00 $\pm$ 0.00 | 63.89 $\pm$ 33.68 | 25.00 $\pm$ 30.05 |
| 10            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 94.44 $\pm$ 9.62  | 58.33 $\pm$ 28.87 | 13.89 $\pm$ 24.06 |
| 12            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 91.67 $\pm$ 14.43 | 47.22 $\pm$ 19.25 | 0.00 $\pm$ 0.00   |
| 14            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 100.00 $\pm$ 0.00 | 91.67 $\pm$ 14.43 | 25.00 $\pm$ 8.33  |                   |

Table 1 . (continue)

| Time (minute) | The water salinity |                   |                   |                 |        |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|-----------------|--------|
|               | 0 ppt              | 20 ppt            | 25 ppt            | 30 ppt          | 35 ppt |
| 16            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 88.89 $\pm$ 19.25 | 83.33 $\pm$ 28.87 | 8.33 $\pm$ 8.33 |        |
| 18            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 88.89 $\pm$ 19.25 | 80.56 $\pm$ 33.68 | 0.00 $\pm$ 0.00 |        |
| 20            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 80.56 $\pm$ 26.79 | 80.56 $\pm$ 33.68 |                 |        |
| 22            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 77.78 $\pm$ 31.55 | 77.78 $\pm$ 31.55 |                 |        |
| 24            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 75.00 $\pm$ 30.05 | 75.00 $\pm$ 36.32 |                 |        |
| 26            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 75.00 $\pm$ 30.05 | 69.44 $\pm$ 31.55 |                 |        |
| 28            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 75.00 $\pm$ 30.05 | 63.89 $\pm$ 33.68 |                 |        |
| 30            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 69.44 $\pm$ 31.55 | 50.00 $\pm$ 25.00 |                 |        |
| 32            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 58.33 $\pm$ 33.33 | 41.67 $\pm$ 30.05 |                 |        |
| 34            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 58.33 $\pm$ 33.33 | 27.78 $\pm$ 17.35 |                 |        |
| 36            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 55.56 $\pm$ 37.58 | 25.00 $\pm$ 14.43 |                 |        |
| 38            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 52.78 $\pm$ 33.68 | 19.44 $\pm$ 12.73 |                 |        |
| 40            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 50.00 $\pm$ 30.05 | 16.67 $\pm$ 14.43 |                 |        |
| 42            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 41.67 $\pm$ 25.00 | 11.11 $\pm$ 12.73 |                 |        |
| 44            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 36.11 $\pm$ 25.46 | 11.11 $\pm$ 12.73 |                 |        |
| 46            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 36.11 $\pm$ 25.46 | 11.11 $\pm$ 12.73 |                 |        |
| 48            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 30.56 $\pm$ 26.79 | 11.11 $\pm$ 12.73 |                 |        |
| 50            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 30.56 $\pm$ 26.79 | 11.11 $\pm$ 12.73 |                 |        |
| 52            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 25.00 $\pm$ 22.05 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 54            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 25.00 $\pm$ 22.05 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 56            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 25.00 $\pm$ 22.05 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 58            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 19.44 $\pm$ 17.35 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 60            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 19.44 $\pm$ 17.35 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 62            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 16.67 $\pm$ 14.43 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 64            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 16.67 $\pm$ 14.43 | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 66            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 8.33 $\pm$ 8.33   | 8.33 $\pm$ 8.33   |                 |        |
| 68            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 8.33 $\pm$ 8.33   | 5.56 $\pm$ 9.62   |                 |        |
| 70            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 5.56 $\pm$ 4.81   | 0.00 $\pm$ 0.00   |                 |        |
| 80            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 2.78 $\pm$ 4.81   |                   |                 |        |
| 90            | 100.00 $\pm$ 0.00  | 2.78 $\pm$ 4.81   |                   |                 |        |

Table 1 . (continue)

| Time (minute) | The water salinity |                 |        |        |        |
|---------------|--------------------|-----------------|--------|--------|--------|
|               | 0 ppt              | 20 ppt          | 25 ppt | 30 ppt | 35 ppt |
| 100           | 100.00 $\pm$ 0.00  | 0.00 $\pm$ 0.00 |        |        |        |
| 110           | 100.00 $\pm$ 0.00  |                 |        |        |        |
| 120           | 100.00 $\pm$ 0.00  |                 |        |        |        |

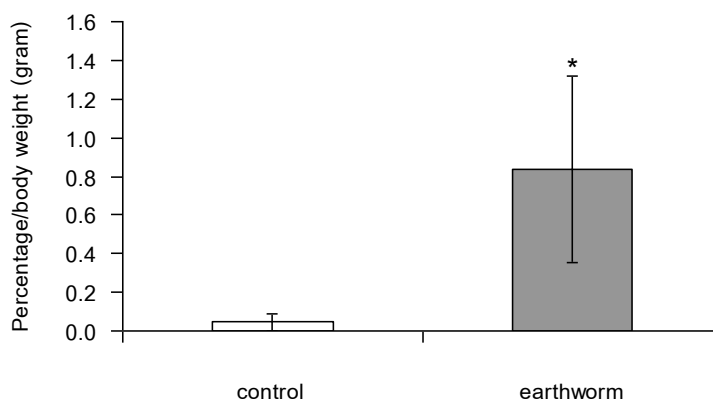


Figure 2 The average feed intake of the female *P. monodon* broodstock (Percentage/gram of body weight). Asterisk shows significantly difference ( $P < 0.05$ ) between group.

นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่า แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดินมีการตอบสนองต่อไส้เดือนดินซึ่งเป็นอาหารสดได้มากกว่าอาหารเม็ด เนื่องจากกุ้งกุลาดำมีพฤติกรรมการกินอาหารแบบล่าเหยื่อที่มีการเคลื่อนไหวช้าๆ มากกว่ากินซากเน่าเปื่อย โดยใช้ประสาทรับความรู้สึกและกลิ่นที่หนวดบริเวณปาก (Marte, 1980) อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ให้สมบูรณ์ และการผลิตลูกกุ้งที่มีคุณภาพ (Meunpol *et al.*, 2007; Xu *et al.* 1994; Cahu *et al.*, 1994, 1995) จากการศึกษาคูณค่าทางอาหารของไส้เดือนดินพบว่ามีโปรตีนรวมสูง (62-64%) มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ครบสมบูรณ์ และมีส่วนประกอบของกรดไขมันที่จำเป็นประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (Tancho, 2007) โดย Chakrabarty *et al.* (2010) รายงานว่าการทดลองใช้ไส้เดือนเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาเพื่อผสมในอาหาร ส่งผลให้การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของปลากะตักลาย (*Colisa fasciata*) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการใช้อาหารที่มีขายในท้องตลาด ( $P > 0.05$ ) อย่างไรก็ตาม การใช้อาหารสดเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งควรคำนึงถึงเรื่องการฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการเป็นพาหะของโรคจากอาหารสดสู่พ่อแม่พันธุ์กุ้งด้วย

### การพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กิ้งกูดดำ

ในการตรวจสอบพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กิ้งกูดดำก่อนเริ่มการทดลอง โดยใช้ไฟฉายส่องที่ลำตัวกิ้งกูดดำ และสังเกตแนวไข่ที่พาดตามแนวลำตัวของกิ้งกูดดำเพื่อสังเกตระยะของรังไข่ตามเอกสารของ Rao *et al.* (1995) พบว่ารังไข่ของกิ้งกูดดำที่กินไส้เดือนดินก่อนการทดลองทั้งหมด อยู่ในระยะที่ 1 และพบการพัฒนาการของรังไข่เพิ่มเป็นระยะที่ 2 หลังสิ้นสุดการทดลอง จำนวน 1 ตัว ส่วนระยะการพัฒนาการรังไข่ของแม่พันธุ์กิ้งกูดดำชุดควบคุม (อาหารเม็ด) พบว่า อยู่ในระยะที่ 1 ทั้งก่อนการทดลองและหลังสิ้นสุดการทดลอง (Table 2) จากการตรวจสอบระยะการพัฒนาของรังไข่หลังสิ้นสุดการทดลองโดยคำนวณค่าดัชนีรังไข่ (GSI) และแบ่งระยะของรังไข่เป็น 4 ระยะ คือ 프리ไวเทลโลเจนิค (previtellogenic; ระยะที่ 1, GSI < 1.5%), ไวเทลโลเจนิค (vitellogenic; ระยะที่ 2, GSI > 2-4%), ก้อนไข่สุก (early cortical rod; ระยะที่ 3, GSI > 4-6%) และไข่สุกเต็มที่ (mature; ระยะที่ 4, GSI > 6%) ตามลำดับ (Preechaphol *et al.*, 2007) โดยจากงานวิจัยนี้พบว่า รังไข่ของกิ้งกูดดำขนาดแม่พันธุ์ที่กินไส้เดือนดิน มีการพัฒนาเป็นระยะที่ 2 (vitellogenic) จำนวน 1 ตัว โดยมีค่า GSI เท่ากับ 1.87 ส่วนที่เหลือยังมีการพัฒนาเป็นระยะที่ 1 (previtellogenic) ส่วนแม่พันธุ์กิ้งกูดดำชุดควบคุม (อาหารเม็ด) หลังสิ้นสุดการทดลองมีระยะรังไข่เป็นระยะที่ 1 (previtellogenic) ทั้งหมด (Figure 3)

Table 2 Determination of maturation stages of the female *P. monodon* broodstock after the experiments

| Maturation stages     | Percentage  |             |
|-----------------------|-------------|-------------|
|                       | control     | Earth worm  |
| 1                     | 100.00      | 83.33       |
| 2                     | -           | 16.67       |
| 3                     | -           | -           |
| 4                     | -           | -           |
| Ovaries weight (gram) | 0.68 ± 0.16 | 0.96 ± 0.43 |
| GSI (%)               | 0.87 ± 0.12 | 1.21 ± 0.47 |

วิธีการพื้นฐานสำหรับการเพาะพันธุ์กิ้งกูดทะเลในโรงเพาะพัก คือการจับกิ้งกูดจากธรรมชาติและตัดก้านตา กุ้งเพื่อทำลายฮอร์โมนที่ยับยั้งกระบวนการไวเทลโลเจเนซิส (Hiransuchalert, 2013) และเมื่อมีการให้อาหารอย่างเพียงพอและอยู่ในสภาวะที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติ (Coman *et al.*, 2006) กุ้งจะมีการพัฒนารังไข่ให้เห็นได้ชัดเจนภายใน 3-5 วัน และวางไข่ได้ภายใน 7-10 วัน (Zacharia and Kakati, 2003) อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ส่งผลให้ไม่สามารถรักษาลักษณะพันธุกรรมที่ดีของกุ้งไว้ได้ เนื่องจากกุ้งจะอ่อนแอและตายในไม่ช้า ส่วนการใช้กุ้งที่โตจากบ่อดินเป็นพ่อแม่พันธุ์ควรคำนึงถึงความสมบูรณ์และความพร้อมของกุ้ง รวมถึงสภาวะและ

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพื่อให้กุ้งวางไข่ และการให้อาหารอย่างเพียงพอด้วย (Primavera, 1989; Coman *et al.*, 2005, 2006)

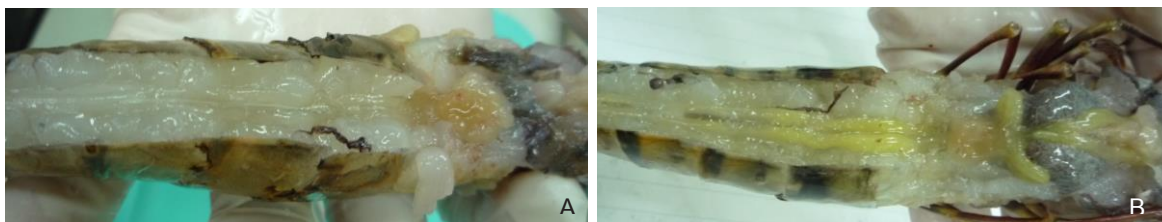


Figure 3 Ovarian developments of the female *P. monodon* broodstock for stage I (A) and II (B) in this experiment

### คุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการทดลอง

จากการตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกวันตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงกุลาดำขนาดพ่อแม่พันธุ์ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 24.0-27.5 องศาเซลเซียส ค่าความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 25-27 ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 8.72-9.00 และ ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) อยู่ในช่วง 85-136 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแคลเซียมคาร์บอเนต โดยคุณภาพน้ำที่ตรวจสอบ มีความเหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งทะเลในบ่อเลี้ยง (Marine Shrimp Culture Research and Development Institute, 2013) อย่างไรก็ตาม กุ้งกุลาดำขนาดพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ถูกเลี้ยงอยู่ในบ่อดินที่ความเค็มประมาณ 15-20 ส่วนในพันส่วน และนำจากบ่อดิน ขึ้นมายังโรงเรือนเพื่อปรับสภาพให้อยู่ในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่พร้อมสำหรับการผลิตลูกกุ้ง โดยใช้ น้ำทะเลธรรมชาติจากบริเวณหาดแหลมเสด็จ จังหวัดจันทบุรี ที่มีระดับความเค็มประมาณ 25-27 ส่วนในพันส่วน ซึ่งผู้วิจัยต้องการใช้น้ำทะเลจากธรรมชาติที่ไม่มีมีการปรับแต่งใดๆ เพื่อให้ผลการทดลองที่ได้มาจากปัจจัยที่ต้องการทดลองเพียงอย่างเดียว งานวิจัยนี้จึงใช้น้ำที่มีระดับความเค็มค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเค็มที่เหมาะสมในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเล ซึ่งควรอยู่ระหว่าง 28-35 ส่วนในพันส่วน และเป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจส่งผลให้กุ้งมีการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ได้น้อย (Primavera, 1989)

### สรุปผลการวิจัย

ไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแรว *Pheretima peguana* สามารถทนต่อระดับความเค็มที่ 25-35 ส่วนในพันส่วน ได้ตั้งแต่ 4-98 นาที่ ซึ่งในระดับความเค็มนี้เป็นระดับที่แนะนำให้ใช้ในระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำเพื่อการเพาะพันธุ์ลูกกุ้ง โดยแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดินในงานวิจัยนี้มีอัตราการบริโภคไส้เดือนดินซึ่งเป็นอาหารสดได้ดีกว่าอาหารเม็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และไส้เดือนดินส่งผลให้กุ้งกุลาดำมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ดีขึ้น แต่ยังไม่สามารถพัฒนาจนถึงระยะวางไข่ได้ (ระยะเวลาเลี้ยง 30 วัน)



### เอกสารอ้างอิง

- Abowei, J. F. N. and Ekubo, A. T. 2011. A Review of Conventional and Unconventional Feeds in Fish Nutrition. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2(4): 179-191.
- Cahu, C. L., Guillaume, J. C., Stéphan, G., and Chim, L. 1994. Influence of phospholipids and highly unsaturated fatty acids on spawning rate and egg tissue composition in *Penaeus vannamei* fed semi-purified diets. *Aquaculture*. 126: 159–170.
- Cahu, C. L., Cuzan, G., and Quazuguel, P. 1995. Effect of highly unsaturated fatty acids, alpha-tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 112: 417–424.
- Chakrabarty, D., Das, S. K., Das, M. K., and Bag, M. P. 2010. Low cost fish feed for aquarium fish: a test case using *Colisa fasciata*. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 8(2): 312-316.
- Charubhun, B. and Charubhun, N. 2003. Invertebrate II (Annelida through Protochordata). Rung Wattana printing, Bangkok. pp 698. [in Thai]
- Coman, G. J., Crocos, P. J., Arnold, S. J., Keys, S. J., Murphy, B., and Preston, N. P. 2005. Growth, survival and reproductive performance of domesticated Australian stocks of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, reared in tanks and raceways. *Journal of the World Aquaculture Society*. 36: 464–479.
- Coman, G. J., Arnold, S. J., Peixoto, S., Coman, F. E., Crocos, P. J., and Preston, N. P. 2006. Reproductive performance of reciprocally crossed wild-caught and tank reared *Penaeus monodon* broodstock. *Aquaculture*. 252: 372–384.
- Dedeke, G. A., Owa, S. O., and Olurin, K. B. 2010. Amino acid profile of four earthworm species from Nigeria. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1: 97-102.
- Dedeke, G. A., Owa, S. O., Olurin, K. B., Akinfe, A. O., and Awotedu O. O. 2013. Partial replacement of fish meal by earthworm meal (*Libyodrilus violaceus*) in diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*. 5(9): 229-233.
- Hilton, J. W. 1983. Potential of freeze dried worm as a replacement for fish meal in trout diet formulations. *Aquaculture*. 32(3-4): 277-283.
- Hiransuchalert, R. 2013. Vitellogenesis: Yolk Synthesis Process in the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *KKU science journal*. 41(2): 281-297. [in Thai]



- Hiransuchalert, R., Iertpattanapaiboon, T., Tippachararoach, P., Donnuea, S., and Piyateratitivorakul, S. 2013. Development of 17 $\beta$ -Estradiol hormone Mixed Diets for Ovarian Maturation of the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) Broodstock in Maturation Tank. Journal of Fisheries Technology Research. 7(2): 14-26. [in Thai]
- Hurlbert, S. H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. Ecological Monographs. 54: 187-211.
- Lumubol, P., Ingkaninun, P., Sanchu, K., Meunpol, O., Khuncharoen, S., Boonmeesuwan, S., Inkong, S., Sopon, A., Wongchinit, S., Thiammueang, D., and Viboonkit, K. 2003. Analysis and synthesizing of marine shrimp research in Thailand. Bangkok. pp 482. [in Thai]
- Marine Shrimp Culture Research and Development Institute. 2013. The guide book: shrimp farming for environmentally friendly. Department of Fisheries. pp 18. [in Thai]
- Marte, C. L. 1980. The food and feeding habit of *Penaeus monodon* Fabricius collected from Makato River, Aklan, Philippines (Decapoda: Natantia). Crustaceana. 38(3): 225-236.
- Meunpol, O., Iam-Pai, S., Suthikrai, W., and Piyatiratitivorakul, S. 2007. Identification of progesterone and 17 alpha hydroxyprogesterone in polychaetes (*Perinereis* sp.) and the effect of hormone extracts on penaeid oocyte development in vitro. Aquaculture. 270: 485-492.
- Monebi, C. O. and Ugwumba, A. A. A. 2013. Utilization of the earthworm *Eudrilus eugeniae* in the diet of heteroclaris fingerlings. Int. J. Fish. Aquaculture. 5(2): 19-25.
- Preechaphol, R., Leelatanawit, R., Sittikankeaw, K., Klinbunga, S., Khamnamtong, B., Puanglarp, N., and Menasveta, P. 2007. Expressed sequence tag analysis for isolation of sex-related transcripts in the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Journal of biochemistry and molecular biology. 40: 501-510.
- Primavera, J. H. 1989. Broodstock of sugpo, (*Penaeus monodon Fabricius*). 4<sup>th</sup> ed. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Dept., Southeast Asian Fisheries Development Center. 26 pp.
- Rao, L. H., Kathirvel, M., Ravichandran, P., and Sivagnanam, S. 1995. Development of broodstock of tiger prawn *Penaeus monodon* in captivity. CIBA Bulletin. 6: 1-10.
- Sogbesan, C. A., Ugwumba, A. A., Madu, C. T., Eze, S. S., and Isa, J. 2007. Culture and utilization of earthworms as animal protein supplement in the diet of *Heterobranchus longifillius* fingerlings. Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2(6): 375- 386.
- Tancho, A. 2007. Earthworms. 2<sup>nd</sup> ed. National Science and Technology Development Agency, Pathum Thani. pp 259. [in Thai]

- Techaprempreecha, S., Khongchareonporn, N., Chaicharoenpong, C., Aranyakananda, P., Chunhabundit, S., and Petsom, A. 2011. Nutritional composition of farmed and wild sandworms, *Perinereis nuntia*. *Animal Feed Science and Technology*. 169(3-4): 265-269.
- Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J., and Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp bloodstock nutrition: an updated review on research and development. *Aquaculture*. 202: 1–21.
- Xu, X. L., Ji, W. L., Castell, J. D., and O'Dor, R. K. 1994. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. *Aquaculture*. 19: 359–370.
- Zacharia, S. and Kakati, V. S. 2003. Effect of eyestalk ablation on ovarian maturation in the banana prawn, *Fenneropenaeus merguensis* de Man under different environmental conditions. *The Indian Journal of Fisheries*. 45(2): 111-114.

**พฤติกรรมการกินอาหารของปลาชีวใบไผ่แม่แตง**  
**(*Devario maetaengensis* (Fang, 1997)) ในแม่น้ำแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่**  
**Feed behavior of *Devario maetaengensis* (Fang, 1997) in Maetang River,**  
**Chiangmai Province**

ปียรรัฐ สุขทิพย์<sup>1</sup> จงกล พรหมยะ<sup>1</sup> บัญญัติ มณฑิยาราสัน<sup>1</sup> และอภิรักษ์ สุวรรณรักษ์<sup>1</sup>

Piyarat Suktip<sup>1</sup> Jongkon Promya<sup>1</sup> Bunyat Montien-Art<sup>1</sup> and Apinun Suvarnaraksha<sup>1</sup>

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University

### บทคัดย่อ

ปลาชีวใบไผ่แม่แตงเป็นปลาเฉพาะถิ่นของกลุ่มน้ำแม่แตง *Devario maetaengensis* (Fang, 1997) จังหวัดเชียงใหม่ ลักษณะปากปลาชีวใบไผ่แม่แตงเฉียงขึ้นด้านบน โดยที่ปลายของขากรรไกรบนมีลักษณะเป็นร่องเพื่อรองรับปลายของขากรรไกรล่างที่มีลักษณะเป็นตะขอ การที่มีครีบหูขนาดใหญ่เพื่อปรับตัวให้เหมาะสมกับการลอยตัวอยู่ที่ผิวน้ำ รวมถึงสีสันบนลำตัวที่คล้ายกับกิ่งไม้หรือใบไม้ที่อยู่อาศัย ด้วยลักษณะดังกล่าวข้างต้นจึงเป็นคุณสมบัติของปลาที่อาศัยอยู่บริเวณผิวน้ำในลำธารบริเวณป่าต้นน้ำ จึงเป็นผลให้ปลาชีวใบไผ่แม่แตงมีพฤติกรรมการกินอาหารที่ผิวน้ำ พบว่า ระบบทางเดินอาหารของปลาชีวใบไผ่แม่แตงมีอัตราส่วนความยาวลำตัวต่อความยาวทางเดินอาหารเท่ากับ 1: 2.24±0.67 ซึ่งสอดคล้องกันกับองค์ประกอบหลักที่พบในกระเพาะอาหารที่ประกอบด้วยชิ้นส่วนของแมลงบก ร้อยละ 57.41 มดแดงร้อยละ 41.67 ส่วนองค์ประกอบหลักของอาหารที่พบในลำไส้ประกอบด้วยชิ้นส่วนของแมลงร้อยละ 66.01 มดแดงร้อยละ 33.98 โดยเมื่อแยกขนาดปลาแล้ว พบว่าในระบบทางเดินอาหารของปลาชีวใบไผ่แม่แตงขนาดเล็กจะพบกลุ่มมดแดงในกระเพาะอาหารมากที่สุด ปลาขนาดกลางพบกลุ่มแมลงบกมากที่สุด ส่วนในปลาขนาดใหญ่พบมดแดงมากที่สุด แต่ในลำไส้พบเฉพาะกลุ่มของมดแดงและแมลงบก ในฤดูร้อนพบแมลงบกในทางเดินอาหารมากที่สุด ส่วนในฤดูหนาวพบมดแดงมากที่สุด ดังนั้นจึงจัดเป็นกลุ่มปลากินแมลง (insectivore) เป็นอาหาร

**คำสำคัญ :** พฤติกรรมการกินอาหาร องค์ประกอบอาหารในระบบทางเดินอาหาร ปลาชีวใบไผ่แม่แตง

### Abstract

*Devario maetaengensis* (Fang, 1997) is an endemic species of Maetang River basin, Chiangmai Province. Its mouth is obliquely because upper jaws have grooves supporting hook-like lower jaws. It has large pectoral fins in order to appropriately adapt to float on the water surface. The body colors are similar to leaf or limb in its surrounding environment. Its characteristics those mentioned suit fish living and finding foods on the water surface like *Devario maetaengensis* (Fang, 1997). The ratio of digestive tract: body length was 1:2.24±0.67 which is compatible with Stomach contents composing of Insect (57.41%), Red ant (41.67%). Parts of the food items found in intestine

were Insect (66.01%), Red ant (33.98). Caddis flies were dominant food items in young fish; Insects were dominant food items in middle-size fish; while parts of Red ant were dominant food items in adults. But only insects and Red ants were found in its intestines. In insects were dominant in intestine while in winter Red ants were dominant. The feeding habit of this species was an Insectivore.

**Key word:** Feeding, Stomach contents, *Devario maetaengensis*, Maetang River

## บทนำ

ปลาแต่ละชนิดมีพฤติกรรมการกินอาหารที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลา เช่น ตำแหน่งของปาก ความกว้างของปาก ลักษณะฟัน รูปร่างของกระเพาะอาหาร ความยาวของระบบทางเดินอาหาร ลักษณะความกว้างยาวของครีบก้นซึ่งช่วยในการว่ายน้ำและเคลื่อนไหว สิ่งเหล่านี้เป็นตัวกำหนดพฤติกรรมการกินอาหาร ซึ่งเป็นการคัดเลือกตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิต ทำให้ปลามีพฤติกรรมและนิสัยการกินอาหารที่แตกต่างกันและการเลือกชนิดอาหารก็แตกต่างกันไปด้วย นอกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงก็มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของปลา เนื่องจากฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อชนิด และปริมาณของอาหารในแหล่งน้ำที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ กลุ่มปลาส่วนใหญ่จะเปลี่ยนชนิดอาหารที่เคยกินอยู่เดิมเป็นอีกชนิดหนึ่งเกือบทั้งหมด ทั้งนี้สาเหตุเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงชนิดอาหาร ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้มากกว่าความชอบในอาหาร (Piet *et al.*, 1999)

การศึกษาข้อมูลองค์ประกอบชนิดอาหารของปลา มีวิธี เช่น วิธีการนับจำนวน (Number method) (Hyslop, 1980; Hynes, 1950) วิธีหาความถี่ของอาหารที่พบ (Occurrence method) (Williams, 1981) วิธีหาปริมาตรและน้ำหนัก (Volume and weight method) วิธีหาสัดส่วนของชนิดอาหารแต่ละชนิด (Point method) และวิธีหาปริมาตรอาหารทั้งหมด (Fullness method) Hynes, 1950 การศึกษาแต่ละวิธีขึ้นอยู่กับประเภทของอาหาร เช่น กลุ่มสัตว์กินพืช ใช้วิธีหาความถี่ของการพบอาหารที่พบแต่ละชนิด เช่น ปลาตะเพียนขาว (Ruangsomboon, 1998) ปลากินเนื้อ เช่น ปลาทู ปลากระบอกดำ จะใช้วิธีหาความถี่ร่วมกับวิธีการนับจำนวน และวิธีปริมาตรน้ำหนัก (Tanapong *et al.*, 1994) ปลากินทั้งพืชและสัตว์ใช้วิธีองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยวิธี subjective method ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Hyslop (1950) เพื่อดูสัดส่วนร้อยละของชนิดอาหารที่พบ

ปลาซิวใบไม้แม่แตง *Devario maetaengensis* (Fang, 1997) จัดเป็นปลาที่มีการศึกษาน้อยมาก เนื่องจากเป็นปลาชนิดใหม่ของโลกที่เพิ่งมีการค้นพบ โดยมีลักษณะดังนี้ รูปร่างส่วนหัวแหลมปลายปากเฉียงขึ้นด้านบนเส้นข้างลำตัวสมบูรณ์ มีจำนวนก้านครีบก้นที่แตกแขนง 7 – 8 ก้าน ก้านครีบก้นที่แตกแขนง 10 – 12 ก้าน มีแถบในแนวตั้ง 5 – 9 แถบและมีแถบเป็นเส้นตรงไปจนถึงครีบกหาง มีลักษณะลำตัวแบนข้างส่วนหางเรียว มีหนวดสั้นที่มุมปาก ช่วงฤดูผสมพันธุ์ตัวผู้จะมีสีส้มสดใส ท้องและครีบก้นมีสีแดงอมส้ม กินแมลงน้ำเป็นอาหาร ชอบอยู่รวมกันเป็นฝูงเล็กๆ บริเวณพื้นที่ตื้นน้ำที่กระแสน้ำไหลไม่แรง และต้องเป็นลำธารที่มี

ต้นไม้ปกคลุม เป็นปลาถิ่นเดียว พบการแพร่กระจายเฉพาะบริเวณลุ่มน้ำแม่แตงและรอบๆ ดอยหลวงเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ (Fang, 1997)

การศึกษาองค์ประกอบของอาหารในปลารวมชาติเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ได้เป็นข้อมูลเบื้องต้น หากต้องการนำปลาดังกล่าวมาเพาะและขยายพันธุ์ Chundum *et al.* (2009) ได้ศึกษาความหลากหลายและองค์ประกอบของอาหารในทางเดินอาหารของปลาชิวข้างขวานจากอำเภอขลุ้ง จังหวัดจันทบุรี โดยทำการศึกษาด้วยอย่างปลาชิวข้างขวานทั้งหมด 109 ตัว พบว่า ปลาชิวข้างขวานมีกระเพาะอาหารเป็นแบบตรง พบอาหาร 5 กลุ่ม โดยแบ่งเป็นแมลงน้ำ (92.63%) รองลงมาได้แก่ แพลงก์ตอนสัตว์ (75.83%) แพลงก์ตอนพืช (43.81%) ไล้เดือนน้ำ (25.26%) และสาหร่าย (2%) นอกจากนี้มีการศึกษานิเวศการกินอาหารของปลาพลวง *Neolissochilus stracheyi* (Day, 1871) ในแม่น้ำว้า จังหวัดน่าน พบว่าระบบทางเดินอาหารปลาพลวงมีอัตราส่วนความยาวลำตัวต่อความยาวทางเดินอาหารเท่ากับ  $1: 2.01 \pm 0.14$  ส่วนองค์ประกอบหลักที่พบในกระเพาะอาหารของปลาพลวง ประกอบด้วย ชิ้นส่วนของพืชร้อยละ 73.36 สาหร่ายร้อยละ 15.41 โปรตีนร้อยละ 5.94 และชิ้นส่วนแมลงร้อยละ 4.43 และองค์ประกอบหลักของอาหารที่พบในลำไส้ประกอบด้วยชิ้นส่วนของพืชร้อยละ 69.36 โปรตีนร้อยละ 12.90 สาหร่ายร้อยละ 10.09 และชิ้นส่วนแมลงร้อยละ 6.90 โดยเมื่อแยกขนาดปลาแล้ว พบว่า ในระบบทางเดินอาหารของปลาพลวงขนาดเล็กจะพบกลุ่มสาหร่ายมากที่สุด ปลาขนาดกลางพบกลุ่มแมลงมากที่สุด พบกลุ่มโปรตีนในปลาทุกขนาด โดยพบโปรตีนในลำไส้มากกว่ากระเพาะอาหาร ในฤดูกาลที่พบแมลงและสาหร่ายมากที่สุด คือ ฤดูหนาว ส่วนโปรตีนพบมากในฤดูฝน ปลาพลวงเป็นกลุ่มปลากินพืช (herbivorous) ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีนิเวศการกินอาหารที่ไม่แตกต่างกัน (Poldee *et al.* 2013) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kulabong *et al.* (2011) ที่ได้ศึกษาชนิดอาหารของปลาพลวงในเขตอุทยานน้ำตกเอราวัณ จังหวัดกาญจนบุรี แล้วพบว่า เป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์รวมทั้งอินทรีย์สารต่าง ๆ นอกจากนี้มีการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของปลาในหนอง ทะเลสองห้อง จังหวัดตรัง พบว่า กลุ่มปลาที่กินสัตว์และแมลงแมลงมีทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ ปลาสลัด ปลาชิวควายแถบดำ ปลาบ้า ปลาหัวตะกั่ว และปลาช่อน (Kitipan *et al.*, 2003)

ปัจจุบันยังไม่มีรายงานข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการกินอาหารของปลาชิวใบไม้แม่แตง รวมทั้งข้อมูลด้านชีววิทยาพื้นฐานของปลาชิวใบไม้แม่แตงเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อการจัดการด้านการเพาะเลี้ยง การจัดการทรัพยากรแหล่งน้ำอย่างยั่งยืน

### วิธีการศึกษา

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างปลาชิวใบไม้แม่แตงในแม่น้ำแม่แตง ตำบลเมืองคอง อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือน มิถุนายน 2556 ถึงเดือน พฤษภาคม 2557 โดยใช้ไฟฟ้ากระแสต่ำ เก็บตัวอย่างปลาทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน

2. ศึกษาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยวิธี subjective method ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hyslope (1950) โดยนำตัวอย่างปลาชิวใบไม้แม่แตงที่รวบรวมมาได้จำนวน 65 ตัวอย่าง บันทึกข้อมูลทาง

ชีววิทยาที่จำเป็นต่าง ๆ วัดความยาวเหยียด (เซนติเมตร) น้ำหนัก (กรัม) ทุกตัว ทำการผ่าท้อง ตรวจสอบเพศ ตัดส่วนทางเดินอาหารจากคอหอยจนถึงลำไส้ แยกส่วนกระเพาะอาหารและลำไส้ออกจากกัน ชั่งน้ำหนัก (กรัม) ผ่ากระเพาะอาหาร ลำไส้ เกลี่ยอาหารทั้งหมดลงในจานแก้ว เพื่อตรวจสอบชนิดและปริมาณ โดยแยกเป็นส่วนต่าง ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ คิดเป็นสัดส่วนร้อยละของอาหารที่พบในกระเพาะและลำไส้ สามารถแบ่งกลุ่มของอาหารที่พบ ดังนี้

1. แมลง หมายถึง แมลงบก แมลงน้ำทั้งตัว รวมไปถึงเศษ ไข่ ปีก หัว
2. มดแดง หมายถึง มดแดงทั้งตัว รวมถึงเศษขา ลำตัว หัว
3. ศึกษาอัตราส่วนระหว่างความยาวลำไส้ต่อความยาวทางเดินอาหาร หาจาก

$$\text{อัตราส่วนระหว่างความยาวลำไส้ต่อความยาวทางเดินอาหาร} = \frac{\text{ความยาวลำไส้}}{\text{ความยาวเหยียดของตัวปลา}}$$

4. วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ ด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อหาความสัมพันธ์ในส่วนของอาหารที่พบ กับขนาดและฤดูกาล

### ผลการศึกษา

จากการศึกษาอาหารธรรมชาติในระบบทางเดินอาหารของปลาชีวไบโอฟอสเฟต ในแม่น้ำแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ในรอบปี จากตัวอย่างจำนวน 65 ตัว พบว่า กระเพาะอาหารปลารูปปร่างตามยาว (I-shape) มีความยาวเหยียดเฉลี่ย  $4.42 \pm 0.86$  เซนติเมตร ความยาวลำไส้เฉลี่ย  $1.8 \pm 0.5$  เซนติเมตร มีอัตราความยาวเหยียดต่อความยาวลำไส้เท่ากับ 1:  $2.46 \pm 0.67$  องค์ประกอบและสัดส่วนของอาหารที่พบในกระเพาะอาหาร ประกอบด้วย ชิ้นส่วนแมลงร้อยละ 58 ชิ้นส่วนมดแดงร้อยละ 42 และสัดส่วนของอาหารที่พบในลำไส้ ประกอบด้วย ชิ้นส่วนแมลงร้อยละ 66 ชิ้นส่วนมดแดงร้อยละ 34 ซึ่งจากสัดส่วนร้อยละที่ได้ สามารถระบุได้ว่า ปลาชีวไบโอฟอสเฟตเป็นปลากินแมลง (insectivorous) (Fig. 1)

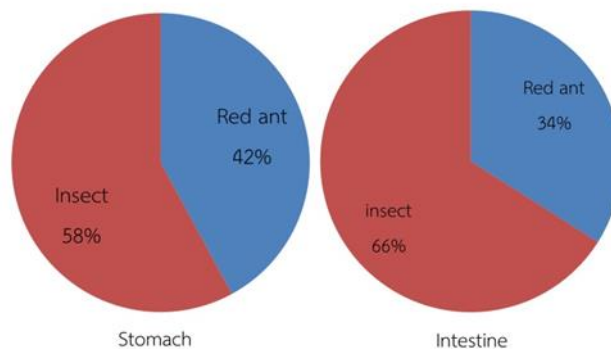


Figure 1 Food item composition in stomach and intestine of *D. maetaengensis*

การศึกษาได้แบ่งกลุ่มปลาออกเป็น 4 ขนาดตามความยาวดังนี้ ปลาขนาดเล็ก (S) ความยาว 2.5 - 3.0 เซนติเมตร ปลาขนาดปานกลาง (M) ความยาว 3.0 - 4.0 เซนติเมตร ปลาขนาดใหญ่ (L) ความยาว 4.0 - 5.0

เซนติเมตร และปลาขนาดใหญ่มาก (XL) ความยาวมากกว่า 5 เซนติเมตร ตามลำดับ พบว่าปลาทุกขนาดพบชิ้นส่วนของแมลงมากที่สุดและมีค่าใกล้เคียงกัน โดยในปลาขนาดใหญ่พบชิ้นส่วนแมลงมากที่สุดในลำไส้ และในปลาขนาดกลาง พบว่า มีชิ้นส่วนของแมลงมากที่สุดทั้งในกระเพาะอาหารและลำไส้ ในปลาขนาดเล็กพบว่าในกระเพาะอาหารและลำไส้พบชิ้นส่วนของมดแดงมากกว่าแมลง ในสัดส่วนของอาหารที่พบพบแมลงมากที่สุด ในปลาเกือบทุกขนาดและพบชิ้นส่วนของมดแดงน้อยที่สุดในปลาเกือบทุกขนาด (Fig. 2)

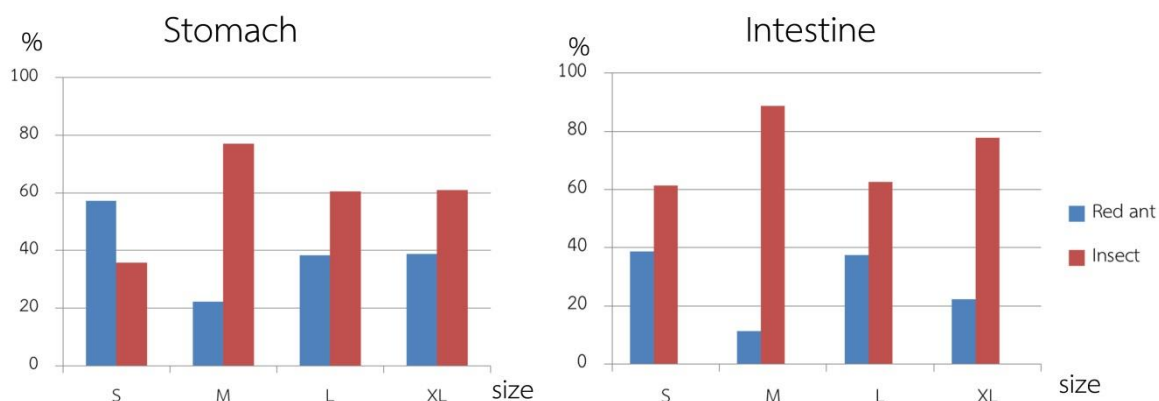


Figure 2 Food items in stomach and intestine of *D. maetaengensis* classified by total length range

องค์ประกอบและสัดส่วนของอาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้แบ่งตาม 3 ฤดู ได้แก่ ฤดูร้อนคือช่วงเดือนมีนาคมถึงมิถุนายน ฤดูฝนคือช่วงเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม และฤดูหนาวคือช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยทั้ง 3 ฤดูเมื่อดูสัดส่วนอาหารแล้วจะพบว่าในกระเพาะอาหารจะพบชิ้นส่วนแมลงมากที่สุด ส่วนมดแดงในฤดูร้อนและฤดูหนาวจะพบปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนการศึกษาอาหารในลำไส้พบชิ้นส่วนของแมลงมากที่สุด ในฤดูร้อน ส่วนในฤดูหนาวและฤดูฝนพบชิ้นส่วนของมดแดงมากกว่าแมลง (Fig. 3)

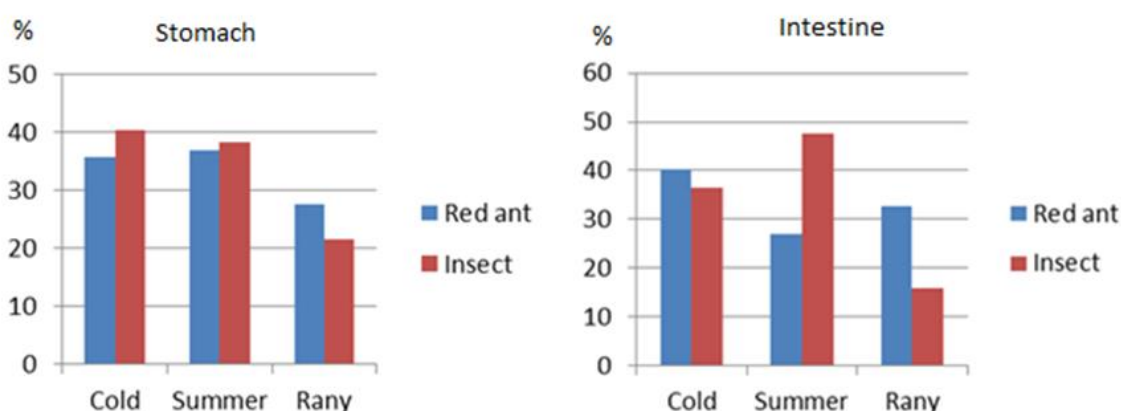
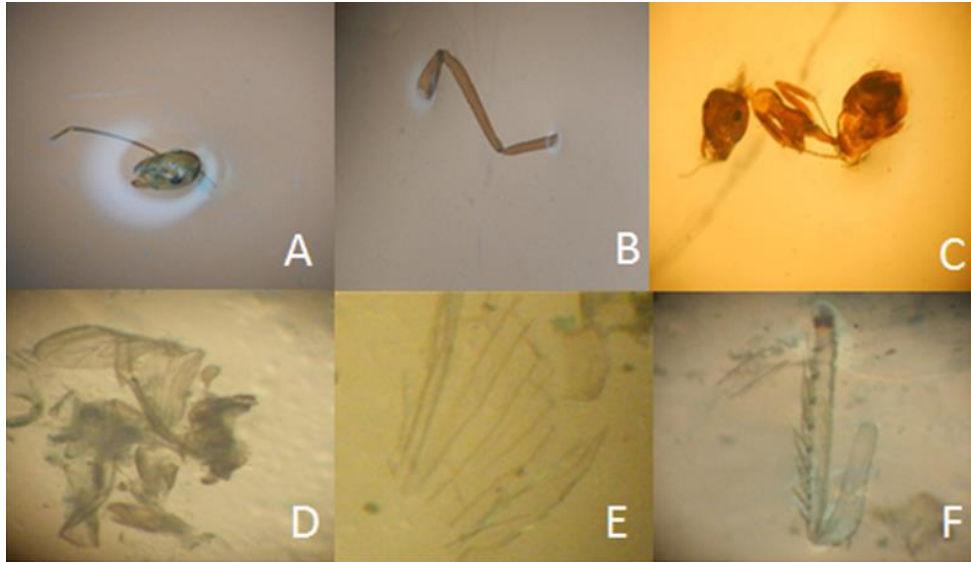


Figure 3 Seasonal variation of food items in stomach and intestine of *D. maetaengensis*



เมื่อวิเคราะห์หาค่าความสัมพันธ์ของชนิดอาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่า ปริมาณมดแดง และแมลงที่พบในกระเพาะและลำไส้ของปลาแต่ละขนาดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p>0.01$ ) แต่เมื่อแบ่งตามฤดูกาล พบว่า ปริมาณมดแดงที่พบในลำไส้มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p<0.01$ )



A-C. Red ant D-F Insect

Figure 4 Food items examples from digestive tract of *D. maetaengensis*



Figure 5 G – I The habitats of *D. maetaengensis*

### สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาองค์ประกอบและสัดส่วนอาหารในกระเพาะอาหารปลาชิวไบไฟแม่แตงในแม่น้ำแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า ปลาชิวไบไฟแม่แตงเป็นกลุ่มปลากินแมลงโดยสอดคล้องกับรายงานของ Vidthayanon (2004) ที่กล่าวว่า ปลาชิวไบไฟแม่แตงกินแมลงเป็นอาหาร โดยมีสัดส่วนของอาหารที่พบในกระเพาะอาหารและลำไส้ ได้แก่ แมลงร้อยละ 58 มดแดงร้อยละ 42 ตามลำดับ ส่วนในลำไส้พบแมลงร้อยละ 66 และมดแดงร้อยละ 34 เช่นเดียวกับ Unsrisong *et al.* (2001) ซึ่งรายงานว่า ปลาชิวไบไฟ *Danio albolineatus* กินไรแดง



และแมลงเป็นอาหาร และเช่นเดียวกับ Chundum *et al.* (2009) ที่ได้ศึกษาชีวประวัติบางประการของปลาชิวข้างขวานในจังหวัดจันทบุรี พบอาหาร 5 กลุ่มโดยแบ่งเป็น แมลงน้ำ แพลงตอนสัตว์ แพลงก์ตอนพืช ไล้เดือนน้ำ และสาหร่าย เปอร์เซ็นต์ความถี่ของกลุ่มอาหารที่พบบ่อยที่สุดคือ แมลงน้ำ (92.63%) รองลงมาได้แก่ แพลงตอนสัตว์ (75.83%) แพลงตอนพืช (43.81%) ไล้เดือนน้ำ (25.6%) และสาหร่าย (2%) ทั้งนี้ไปสอดคล้องกับ Moyle and Cech (2000) ที่กล่าวว่า นิสัยการกินอาหารของปลาสามารถจำแนกได้จากส่วนอาหารที่ปลากินเป็นอาหารหลักประกอบกับลักษณะของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการกินอาหาร นอกจากนี้ปลายังมีอัตราส่วนความยาวตัวต่อความยาวลำไส้เท่ากับ  $2.24 \pm 0.67$  ซึ่งสนับสนุนว่าปลาชิวไบ้แม่แดงเป็นปลากลุ่มกินแมลงเช่นเดียวกับ Bond (1996) ที่กล่าวว่า ความยาวของทางเดินอาหารจะมีความสัมพันธ์กับส่วนประกอบของอาหารที่ปลากินเข้าไป ปลากินเนื้อจะมีลำไส้สั้น ดังจะเห็นได้ว่าในกระเพาะอาหารของปลาชิวไบ้แม่แดงพบชิ้นส่วนของแมลงร้อยละ 58 และพบชิ้นส่วนมดแดงร้อยละ 42 ส่วนในลำไส้พบชิ้นส่วนแมลงร้อยละ 66 และชิ้นส่วนมดแดงร้อยละ 34 ตามลำดับ

องค์ประกอบและสัดส่วนอาหารที่พบในปลาชิวไบ้แม่แดง เมื่อแยกตามขนาดปลา คือ ขนาดเล็ก ขนาดปานกลาง ขนาดใหญ่ และขนาดใหญ่มาก พบว่าปลาทุกขนาดกินแมลงเป็นอาหารมากกว่ามดแดง ซึ่งสรุปได้ว่า ปลาชิวไบ้แม่แดงกินแมลงเป็นอาหาร ปลาแต่ละชนิดมีพฤติกรรมการกินอาหารที่แตกต่างกันอาจขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาแต่ละชนิด เช่น ตำแหน่งของปาก ความกว้างของช่องปาก ความกว้างยาวของซี่กรองเหงือก รูปร่างของกระเพาะอาหาร ความยาวของทางเดินอาหาร และลักษณะความกว้างยาวของครีบซึ่งช่วยในการว่ายน้ำและเคลื่อนไหว สิ่งเหล่านี้เป็นตัวกำหนดพฤติกรรมการกินอาหาร ซึ่งจัดเป็นการคัดเลือกตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิต ทำให้ปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารและนิสัยที่ต่างกันและการเลือกชนิดก็แตกต่างกันไปด้วย

องค์ประกอบและสัดส่วนอาหารที่พบในปลาชิวไบ้แม่แดงเมื่อแยกตามฤดูกาล พบว่า ในฤดูร้อนและฤดูฝนพบแมลงมากที่สุด แต่ในฤดูหนาวจะพบมดแดงมากที่สุด จากการศึกษาของ Xie *et al.* (2000) ศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลต่อนิเวศวิทยาการกินอาหารของปลาขนาดเล็กในทะเลสาบ Biandantang ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน รายงานว่า องค์ประกอบของอาหารในกระเพาะอาหารเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล โดยพบตัวอ่อนแมลงในช่วงฤดูฝนและฤดูใบไม้ผลิ และพบแพลงก์ตอนสัตว์ในฤดูใบไม้ร่วง อาจเนื่องจากการกินอาหารของปลามีความผันแปรตามรูปแบบที่อยู่อาศัยของปลาซึ่งสอดคล้องกับ Mookerji *et al.* (1998) ศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลต่อการเลือกกินอาหารของปลาในสกุล *Coregonus* sp. ในทะเลสาบ Lucerne ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ พบว่า ฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงไปจะมีผลต่อความผันแปรและชนิดของปริมาณอาหารที่สามารถใช้ประโยชน์ได้จากแหล่งอาศัย โดยปัจจัยสภาพแวดล้อม แสงและอุณหภูมิ จะมีผลต่อชนิดและปริมาณอาหารในธรรมชาติ รวมทั้งพฤติกรรมการล่า และการเลือกกินอาหารของปลา Pusey and Bradshaw (1996) ได้ศึกษาการกินอาหารและการขึ้นทับกันของแหล่งอาหารของปลาน้ำจืด 6 ชนิด ทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศออสเตรเลีย พบว่าปลาจะมีการเปลี่ยนอาหารที่กินอยู่เดิมมากินอาหารที่มีลักษณะจำเพาะขึ้น เป็นผล

เนื่องมาจากการแก่งแย่งอาหารและการช้อนทับกันของแหล่งอาหารทั้งนี้ฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงไปจะชักนำให้ปลาลดการแก่งแย่งอาหารกันของปลาแต่ละชนิด

ด้วยลักษณะถิ่นที่อยู่อาศัยของปลาชีวไบไฟแมงแดงที่เป็นลำห้วยที่มีต้นไม้ปกคลุมมีแสงแดดรำไรและมีกระแสน้ำที่ไหลไม่แรงมากนัก โดยพื้นที่ของน้ำที่ปลาชีวไบไฟแมงแดงอาศัยอยู่นั้นต้องมีกระแสน้ำไหลช้าๆ จึงมีความสัมพันธ์กับอาหารที่ปลาชีวไบไฟแมงแดงกินเข้าไปคือ แมลงชนิดต่างๆ และมดแดงโดยแมลงที่พบคือ จิ้งหรีดและแมลงเม่าโดยแมลงทั้งสองชนิดนี้จะชอบทำรังและวางไข่ในดินบริเวณที่ชุ่มชื้นใกล้แหล่งน้ำ ในส่วนของมดแดงที่มีความสัมพันธ์กับปลาชีวไบไฟแมงแดง กล่าวคือในฤดูหนาวจะพบมดแดงในกระเพาะอาหารมากที่สุดเนื่องมาจากวงจรชีวิตของมดแดงในฤดูร้อนมดแดงจะเร่งผสมพันธุ์วางไข่ในรัง ส่วนในฤดูฝนมดแดงจะอยู่ในรังเพื่อดูแลไข่และจะมีลูกออกมาหากินและแยกรังออกในช่วงฤดูหนาวและด้วยสภาพแวดล้อมของมดแดงที่ ชอบทำรังกับดินไม้ใหญ่ที่มีใบหนาเพื่อสะดวกในการสร้างรังซึ่งสอดคล้องกับลักษณะลำธารที่ปลาชีวไบไฟแมงแดงอาศัยอยู่คือมีต้นไม้น้ำปกคลุมหนาแน่นจึงเป็นผลให้อาหารที่ปลาชีวไบไฟแมงแดงกินเข้าไปคือกลุ่มของมดและแมลง สอดคล้องกับ Chundum *et al.* (2009) ทำการศึกษาชีวประวัติบางประการของปลาชีวข้างขวานในจังหวัดจันทบุรี พบอาหาร 5 กลุ่มโดยแบ่งเป็น แมลงน้ำ แพลงตอนสัตว์ แพลงก์ตอนพืช ไล้เดือนน้ำและสาหร่าย เพอร์เซ็นต์ความถี่ของกลุ่มอาหารที่พบว่าความถี่ที่พบบ่อยที่สุดคือ แมลงน้ำ Gysel *et al.* (1997) ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของแหล่งที่อยู่และอาหารของปลาน้ำจืด (*Xenotilapia* sp.) 4 ชนิดทางตอนเหนือของทะเลสาบ Tanganyika พบว่าปลาทั้ง 4 ชนิด มีการกินอาหารที่หลากหลายมีขอบเขตในการกินอาหารที่กว้างแต่สามารถอยู่รวมกันได้โดยปราศจากการแข่งขัน เนื่องจากอาศัยอยู่ในระดับความลึกที่แตกต่างกัน

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบของอาหารที่พบในทางเดินอาหารของปลาชีวไบไฟแมงแดงซึ่งยังมีผู้ศึกษาน้อยมาก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดการประมงอย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์ปลาชีวไบไฟแมงแดงและสามารถทราบถึงความเชื่อมโยงระหว่างปลาชีวไบไฟแมงแดงกับสภาพแวดล้อมในเรื่องของการพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันอันจะเป็นแนวความรู้ในการประยุกต์ใช้ข้อมูลเพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อมต่อไป

## References

- Bond, C. E. 1996. Biology of fishes (2<sup>nd</sup> ed). Saunders College Publishing. New York. 750 pp.
- Chundum, S., Ngamsanae, P., and Arthainsee, A., 2009. Study on some Biological Aspects of *Lambchop Rasbora (Trigonostigma espei)* in Chantaburi Province. Faculty of Fisheries Suksileung. S. 1999 Ichthyology. Bangkok. 568 pp. [in Thai]
- Day, F. 1871. Monograph of Indian Cyprinidae. Parts 1-3. J. Asiatic Soc. Bengal 95-142, 277-367, 377-367.

- Esteves, K.E. 1996. Feeding ecology of three *Astyanax* specie (Characidae, Tetragonnopterae) from a floodplain lake of Mogi-Guacu River, Parana River Basin, Brazil. *Env. Biol. Fish.* 46:83-101.
- Fang. 1997. *Danio maetaengensis*, a new cyprinid fish from northern Thailand. 8:41-48 Ferrareze, M. and Nogueira, M.G. 2007. Zooplankton feeding selective by fishes. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, 23a 28 de Setembro de 2007, Caxambu.
- Gysel, E., Janssens de.Bistrovent, L., Devos, L., and Ollever, F. 1997 Food and habited of four *Xenotilapia* species (Teleostei, chichlidie) in a sandy bay of Northern Lake Tanganyiga (Burundi) *J. fish Biol.* 50: 254-266.
- Hyslop, E.J. 1980. Stomach contents analysis: a review of methods and their application. *J. Fish Biol.* 17:411-429.
- Hynes, H.B.N. 1950. The food of freshwater stickleback (*Gasterosteus aculeatus* and *Pygo steus pungitius*) with review of methods used in studies of the food of fishes. *Journal of Animal Ecology* 19: 36-58.
- Kittipan, 2003. Feeding Ecology of Fishes in Nhog Thale Song Hong, Trang Province. Master Science Thesis in Zoology Prince of Songkla University. 130 pp. [in Thai]
- Kulabtong, s., Rowchai, S. and Wudtisn, I. 2011. Preliminary study of feeding habit of Mahseer, *Neolissochilus stracheyi* (Ddy, 1871) in Nationnal Park, Thailand. RGJ Seminar series LXXX-Advances in fish ecology study. [in Thai]
- Mookerji, N.,Heller , C., Meng, H.J., Burgi, H. R., and muller, R. 1998. Diel and seasonal patterns of food intake and prey selection by *Coregonus* sp. In reoligotrophicalted Lake Lucerne, Switzerland. *J. Fish Biol.* 52: 443-457.
- Moyle, P. B. and J.J, Cech. 2000. *Fishes: An Introduction to Ichthyology* (4ed). Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River. 612 pp.
- Piet G. J., Pet, J. S., Guruge, W. A. H. P, Vijvereberg, J. and Van Densan, W. L. T. 1999. Resource Partitioning along Three niche dimensions in a size-structure tropical fish assemblage. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56:1241-1254.
- Pusey, B. J., and Bradshaw, S. D. 1996. Diet and dietary overlap in fishes of temporary water of Southwestern Australia. *Ecol. Freshwater. Fish.* 5(4): 183-194.
- Unsrison, G., Pornsopin, P., Joradol , U., Pornsopin, S., and Kantiyawong, S., 2001. Rearing of pearl Danio *Brachydanio albolineatus* (Blyth,1860) for broodstocks with different foods. Central Government, Department of Fisheries. 38 pp. [in Thai]

- Rungsomboon, S. 1998. Species composition and abundance of plankton in nursing pond and digestive tract of Thai silver barb, *Barbodes gonionotus* (Bleeker, 1850). Master thesis of Kasetsart University, Bangkok. 190 pp. [in Thai]
- Tanapong, C., Phokhaphan, W. and Suchittosakun, R. 1994. Stomach contents of *Thunnus albacares* and *Katsuwons pelamis* caught in the Andaman sea and the eastern indian ocean. Department of Fisheries, Bangkok. 47(1) pp. 31-41. [in Thai]
- Vidthayanon, C., Termvidchakorn and Pe, M. 2004. Inland fishes of Myanmar. Bangkok: Southeast Asian Fisheries Development Center. 160 p.
- Williams, M.J. (1981). Methods for analysis of natural diet in portunid crabs (crustacea: Decapoda:portonidae). *J.exp. mar. Biol.* 52, 103-113.
- Xie, s., Cui, Y., Zhang, T. and Li, Z. 2000. Seasonal patterns in feeding ecology of tree small fish in the Biandantang Lake, China. *J. Fish. Biol.* 57: 867-880.

**การทดแทนถั่วเหลืองป่นด้วยสาหร่ายไมโครสปอราในอาหารปลากะพงขาว**  
**Replacement of Soybean meal by Macroalgae, *Microspora* sp. Thuret in Asian**  
**Seabass, *Lates calcarifer* (Bloch, 1970) Diet**

**วรวุฒิ เกิดปรำง\* และปรีดา ภูมิ**

**Worawut Koedprang and Preeda Phumee**

สาขาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Department of Fisheries Technology, Faculty of Science and Fisheries Technology,

Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus

\*Corresponding author E-mail: worawut2000@hotmail.com

**บทคัดย่อ**

สาหร่ายไมโครสปอราเป็นสาหร่ายสีเขียว พบทั่วไปตามแหล่งน้ำจืดและน้ำกร่อย รวมทั้งในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและต้องมีการกำจัดออกจากบ่ออยู่ตลอดเวลา แต่พบว่าสาหร่ายดังกล่าวมีปริมาณโปรตีน 26 เปอร์เซ็นต์ จึงมีความคิดที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารปลากะพงขาวเพื่อเพิ่มมูลค่าของสาหร่ายไมโครสปอรา โดยผลิตอาหารเม็ดชนิดจมน้ำปริมาณโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรตีนจากปลาป่น 36 เปอร์เซ็นต์ และถั่วเหลืองป่น 4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตรควบคุม (D1) และแทนที่โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากสาหร่ายป่น 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (D2-D5) เลี้ยงปลากะพงขาวในตู้กระจกปริมาณน้ำ 96 ลิตร จำนวนตู้ละ 10 ตัว ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ให้อาหารจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง อัตราการตาย และสัดส่วนที่บริโภคได้ของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ขณะที่พบความแตกต่างของน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้โปรตีนสุทธิ ค่าดัชนีตับ และต้นทุนการผลิต ระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) โดยพบว่าการแทนที่โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากสาหร่ายไมโครสปอรา สามารถทดแทนได้ในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ (D3) โดยไม่มีผลแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (D1) แต่มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่า

**คำสำคัญ :** สาหร่ายไมโครสปอรา ปลากะพงขาว การทดแทนถั่วเหลืองป่น

**Abstract**

*Microspora* sp. (Thuret) is green macroalgae in Division Chlorophyta. It can be found in freshwater and coastal environments, including aquaculture pond. It caused a problem on fish and culture activities. The farmer has to eradicate them as waste. While, it contains of 26 % of protein of dry weight and may be considered to be a potential dietary protein for fish. The utilization of *Microspora* sp. as protein replacement material in Asian seabass diet to value added of macroalgae waste was studied. Asian seabass sinking diets with 40% of protein were formulated. Sources of protein in diets were composed of 36% of protein from fish meal (FM) and 4% (10% of

total protein) of protein from soybean meal (SM) in control diet (D1). The SM was replaced by dried *Microspora* sp. (DA) at 25, 50, 75 and 100% of SM protein (D2-D5). The juvenile Asian seabass was stocked in 95 L container with 10 fish. Each diet was fed *ad libitum* to triplicate groups of fish twice a day for 12 weeks. The results presented that, the replacement of DA in the diets showed no significant difference ( $P>0.05$ ) on survival rate and carcass percentage while the difference ( $P<0.05$ ) found on growth performances; final weights and length, specific growth rate, feed intake, feed utilizations; feed conversion ratio, protein efficiency ratio and net protein utilization, hepatosomatic index and product cost of Asian seabass. The level of 50% of soybean meal protein can be replaced by dried *Microspora* sp. (D3) without performance differences to control (D1) while lowest product capital.

**Keywords:** *Microspora* sp. Thuret, Asian seabass, Soybean meal replacement

### คำนำ

ต้นทุนหลักในการผลิตอาหารสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับแหล่งและปริมาณโปรตีนในอาหาร ซึ่งปลากะพงขาวเป็นปลาที่ต้องการปริมาณโปรตีนในอาหารค่อนข้างสูง ประมาณ 40-45 เปอร์เซ็นต์ (Sermwatanakul *et al.*, 2005) และวัตถุดิบที่นิยมใช้เป็นแหล่งโปรตีนหลักในการผลิตอาหารปลากะพงขาวก็คือ ปลาป่น แต่ในปัจจุบันปลาป่นมีราคาค่อนข้างสูง ประมาณ 35-40 บาทต่อกิโลกรัม ขึ้นอยู่กับคุณภาพและปริมาณโปรตีนในปลาป่น ส่วนสาเหตุที่ปลาป่นมีราคาสูง เนื่องจากปริมาณความต้องการใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ ขณะที่กำลังในการผลิตปลาป่นลดลง จึงส่งผลต่อราคาของปลาป่นที่สูงขึ้น (Hardy, 2010) ส่งผลโดยตรงต่อราคาอาหารของปลากะพงขาว ดังนั้นการใช้วัตถุดิบอาหารโปรตีนที่มีราคาถูกทดแทนการใช้ปลาป่น จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนการผลิตอาหารปลากะพงขาวได้ และถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารปลากะพงขาว เนื่องจากมีโปรตีนสูงและราคาถูกกว่าปลาป่น (Bonaldo *et al.*, 2006; Carter and Hauler, 2000) แต่มีรายงานว่า การผสมกากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงมีผลต่อการกินอาหารและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ เนื่องจากกากถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนา (antinutritional factors; ANFs) และความไม่สมดุลของกรดอะมิโน (Deng *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006) การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในปลากะพงขาวพบว่าสามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองได้ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต หากผสมกากถั่วเหลืองมากกว่านี้ทำให้ปลาเกิดการเจริญเติบโตช้าลง (Tantikitti *et al.*, 2005) นอกจากกากถั่วเหลืองยังมีวัตถุดิบอาหารอีกหลายชนิดที่นำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น รวมถึงสาหร่ายก็สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์น้ำ เช่น สาหร่าย *Ulva intestinalis* ในอาหารปลาตะกรับ (Muangyao *et al.*, 2013) สาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Cladophora* sp. ในอาหารกบนา (Boonta *et al.*, 2012) ในปลานิลมีการใช้สาหร่าย *C. glomerata* (Appler and Jauncey, 1983) สาหร่าย *U. rigida* และ *Cystoseira barbata* (Kut Güroy *et al.*, 2007) การใช้สาหร่าย *Prophyra* sp. ในอาหารปลา Red sea bream (Kalla *et al.*, 2008) และสาหร่ายอื่น ๆ อีกหลายชนิด (Mohammad and Rina, 2009)

สาหร่ายไมโครสปอรา (*Microspora* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียว (Division Chlorophyta) ในครอบครัว (Family) Microspora มีรูปร่างเป็นเส้น (filamentous algae) เรียงกันเป็นสายเดี่ยวไม่แตกแขนง พบทั้งลอยน้ำอย่างอิสระ หรือเกาะกับวัตถุใต้น้ำ (Nualcharoen, 2004; Kinross, 2011) พบเจริญได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม แต่ส่วนมากจะพบในน้ำจืด (Guiry and Guiry, 2015) รวมทั้งในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและส่งผลกระทบต่อการใช้สัตว์น้ำ ก่อปัญหาการขาดออกซิเจนในบ่อ แย่งที่อยู่อาศัย ทำให้บ่อตื้นเขินและเกิดการเน่าเสียจากการตายทับถม รวมทั้งทำให้ยากต่อการจับสัตว์น้ำด้วยเครื่องมืออวนลาก จึงต้องมีการกำจัดออกจากบ่ออยู่ตลอดเวลา แต่จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสาหร่ายไมโครสปอร่าดังกล่าวมีปริมาณโปรตีนอยู่ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณโปรตีนในใบกระถินป่น และแหล่งโปรตีนจากพืชอื่น ๆ ดังนั้นจึงมีแนวความคิดที่ใช้สาหร่ายไมโครสปอร่าทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลือง เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตปลากะพงขาว อีกทั้งเป็นการนำวัสดุที่ไม่มีคุณค่าและประโยชน์มาพัฒนาให้สามารถนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ต่อไป

### อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตสาหร่ายไมโครสปอร่าป่น โดยเก็บสาหร่ายจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เลือเศษพืชและสัตว์ที่ติดมากับสาหร่าย ล้างทำความสะอาดและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง บดสาหร่ายให้เป็นผง เก็บรักษาในภาชนะปิดสนิทและแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายแห้ง และวัตถุดิบอาหารโปรตีนอื่น ๆ ได้แก่ ปลาป่นและถั่วเหลืองป่น ตามวิธีการของ AOAC (1990) เพื่อใช้สำหรับการคำนวณสูตรอาหารปลากะพงขาวต่อไป ซึ่งพบว่าสาหร่ายไมโครสปอร่าประกอบด้วยโปรตีน  $26.50 \pm 0.42$  เปอร์เซ็นต์ ไขมัน  $2.10 \pm 0.05$  เปอร์เซ็นต์ เกล็ด  $28.50 \pm 0.35$  เปอร์เซ็นต์

คำนวณสูตรและผลิตอาหารผสมที่มีปริมาณโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 9 เปอร์เซ็นต์โดยมีสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากปลาป่น (FM) 36 เปอร์เซ็นต์ และจากถั่วเหลืองป่น (SM) 4 เปอร์เซ็นต์ (10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวม) ในชุดควบคุม (D1) และใช้โปรตีนจากสาหร่ายไมโครสปอร่า (DA) ทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองป่น ที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร D2-D5 ตามลำดับ และวัตถุดิบอื่น ๆ ดังแสดงใน Table 1 ผสมวัตถุดิบให้เข้ากันดีและบดส่วนผสมให้ละเอียด อัดเม็ดผ่านเครื่องอัดเม็ดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร อบให้แห้งด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของอาหารแต่ละสูตร ตามวิธีการของ AOAC (1990)

ปลากะพงขาวขนาดความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เลี้ยงด้วยน้ำความเค็ม 15 ppt ในตู้กระจก กว้าง 0.4 เมตร ยาว 0.8 เมตร และสูง 0.5 เมตร ระดับน้ำ 0.3 เมตร ปริมาณน้ำเท่ากับ 96 ลิตร จำนวนตู้ละ 10 ตัว ชุดการทดลองละ 3 ตู้ ให้ปลากินอาหารจนอิ่ม วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น ดูดตะกอนก้นตู้ก่อนให้อาหารในมื้อเช้า และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ทุก 2 วัน เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักรวมทุก 2 สัปดาห์ และบันทึกปริมาณอาหารที่กิน เพื่อคำนวณ การเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; SGR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio; PER) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาก่อนและ



หลังการทดลองเพื่อคำนวณการใช้โปรตีนสุทธิ (net protein utilization; NPU) นับจำนวนปลาทุกครั้งที่ทำกรซังน้ำหนัก เพื่อคำนวณอัตราการกินอาหาร (feed intake; FI) อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) อัตรารอดตาย (survival rate; SR) และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลากะพงขาว (product capital) เก็บตัวอย่างปลาจำนวน 5 ตัว จากแต่ละหน่วยทดลอง เพื่อชั่งน้ำหนักของเนื้อปลาและตับ เปรียบเทียบกับน้ำหนักตัว เพื่อคำนวณค่าสัดส่วนที่บริโภคได้ (carcass) และค่าดัชนีตับ (hepatosomatic index; HSI) วิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวตามแผนการทดลองแบบ CRD (One-Way Analysis of Variance in Complete Randomize Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

**Table 1** Composition, proximate analysis and cost of the experimental Asian seabass diets

| Ingredients (%)                      | Experimental diets |        |        |        |         |
|--------------------------------------|--------------------|--------|--------|--------|---------|
|                                      | D1(0)              | D2(25) | D3(50) | D4(75) | D5(100) |
| FM (65% CP)                          | 55.39              | 55.39  | 55.39  | 55.39  | 55.39   |
| SM (43% CP)                          | 9.30               | 6.98   | 4.65   | 2.32   | 0       |
| DA (26% CP)                          | 0                  | 3.84   | 7.69   | 11.54  | 15.38   |
| Rice Bran                            | 12                 | 12     | 12     | 12     | 12      |
| Palm oil                             | 1.53               | 1.85   | 2.16   | 2.48   | 2.79    |
| Rice Starch                          | 10.78              | 8.94   | 7.11   | 5.27   | 3.44    |
| Vitamin Mix                          | 4                  | 4      | 4      | 4      | 4       |
| Mineral Mix                          | 2                  | 2      | 2      | 2      | 2       |
| CMC                                  | 5                  | 5      | 5      | 5      | 5       |
| Proximate composition (% dry matter) |                    |        |        |        |         |
| Protein                              | 40.34              | 40.42  | 40.32  | 40.30  | 40.26   |
| Lipid                                | 9.25               | 9.24   | 9.32   | 9.23   | 9.32    |
| Ash                                  | 20.68              | 21.60  | 23.06  | 24.28  | 25.47   |
| Moisture                             | 4.32               | 4.50   | 4.57   | 4.35   | 4.46    |
| Energy (MJ/Kg)                       | 16.87              | 16.67  | 16.78  | 16.60  | 16.59   |
| Diet Cost (Baht/kg)                  | 43.62              | 42.56  | 41.50  | 40.44  | 39.38   |

**Remark :** In 1 kg of Vitamin Mix consist of vitamin A 10,000,000 IU, D3 2,000,000 IU, E 1,500 IU, thiamine 2 gm, riboflavin 2.5 gm, pantothenic acid 14 gm, pyridoxine 2 gm, cyanocobalamin 10 mg, folic 0.5gm, niacin 12 gm, K<sub>2</sub> 2 gm and C 20 gm. In 1 kg of Mineral Mix consist of Ca 100,000 mg, P 80,000 mg, Cu 2,500 mg, Fe 1,200 mg, Mn 1,200 mg, Zn 1,540 mg, K 260 mg, I 740 mg, Mg 2,160 mg, Se 10 mg and Co 240 mg.



### ผลการวิจัย

ผลการเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารผสมที่ใช้สาหร่ายไมโครสปอราทดแทนถั่วเหลืองป่น 5 สูตร (D1-D5) พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าการเจริญเติบโตเฉลี่ย ประกอบด้วย น้ำหนักระหว่าง 23.89-43.12 กรัม (Table 2 and Figure 1) ความยาวระหว่าง 12.04-14.32 เซนติเมตร อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ระหว่าง 0.72-1.35 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย ประกอบด้วย อัตราการกินอาหาร (FI) ระหว่าง 37.39-69.03 กรัมต่อตัว อัตราแลกเนื้อ (FCR) ระหว่าง 2.00-3.70 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ระหว่าง 0.67-1.26 และการใช้โปรตีนสุทธิ (NPU) ระหว่าง 6.94-12.09 เปอร์เซ็นต์ และดัชนีตับ (HSI) ระหว่าง 1.23-1.54 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งพบว่าค่าเหล่านี้จากอาหารที่ผสมโปรตีนจากสาหร่าย 25 เปอร์เซ็นต์ (D2) และ 50 เปอร์เซ็นต์ (D3) ของโปรตีนจากถั่วเหลืองป่น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) จากกลุ่มควบคุม (D1) แต่อาหารที่ผสมโปรตีนจากสาหร่าย 75 (D4) และ 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) ของโปรตีนจากถั่วเหลืองป่น มีความแตกต่างสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (D1) ขณะที่อัตราการตาย (SR) ระหว่าง 90-96.67 เปอร์เซ็นต์ และสัดส่วนที่บริโภคได้ (carcass) ระหว่าง 48.14-49.23 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงใน Table 2 ส่วนต้นทุนค่าอาหาร (Diet cost) มีราคาระหว่าง 39.38-43.62 บาทต่อกิโลกรัม (Table 1) โดยราคาอาหารจะลดลงตามสัดส่วนการทดแทนด้วยโปรตีนจากสาหร่ายที่เพิ่มขึ้น และเมื่อคำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลากะพงขาว 1 กิโลกรัม (product capital) มีราคาระหว่าง 83.00-145.70 บาท โดยอาหารสูตร D3 มีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับอาหารสูตรอื่น ๆ ดังแสดงใน Table 2

**Table 2** Growth performance, survival rate, feed utilization, product capital of Asian seabass affected by proportion of soybean meal and dried *Microspora* sp. in the diets

| Performances                      | D1      | D2      | D3      | D4      | D5      |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Initial weight (g)                | 13.13a  | 13.86a  | 13.74a  | 13.09a  | 13.69a  |
| Final weight (g)                  | 39.44ab | 43.12a  | 36.70b  | 23.89c  | 27.91c  |
| Initial length (cm)               | 4.80a   | 4.85a   | 4.74a   | 4.73a   | 4.73a   |
| Final length (cm)                 | 13.95a  | 14.32a  | 13.73a  | 12.04b  | 12.76b  |
| SGR (%/day)                       | 1.30a   | 1.35a   | 1.17a   | 0.72b   | 0.845b  |
| SR (%)                            | 96.67a  | 90.00a  | 96.67a  | 96.67a  | 90.00a  |
| FI (g/fish)                       | 56.24ab | 69.03a  | 45.29bc | 37.93c  | 48.80bc |
| FCR                               | 2.16a   | 2.36a   | 2.00a   | 3.48b   | 3.70b   |
| PER                               | 1.15a   | 1.05a   | 1.260a  | 0.72ab  | 0.67b   |
| NPU (%)                           | 11.21a  | 10.22a  | 12.09a  | 7.09b   | 6.94b   |
| Carcass (%)                       | 48.26a  | 48.52a  | 49.23a  | 48.14a  | 48.79a  |
| HSI (%)                           | 1.54a   | 1.51a   | 1.43ab  | 1.23c   | 1.29bc  |
| Product capital (Baht/kg of fish) | 94.22a  | 100.44a | 83.00b  | 137.50c | 145.70c |

**Remark :** The difference alphabet in the same row indicated statistical significant difference ( $P<0.05$ ).

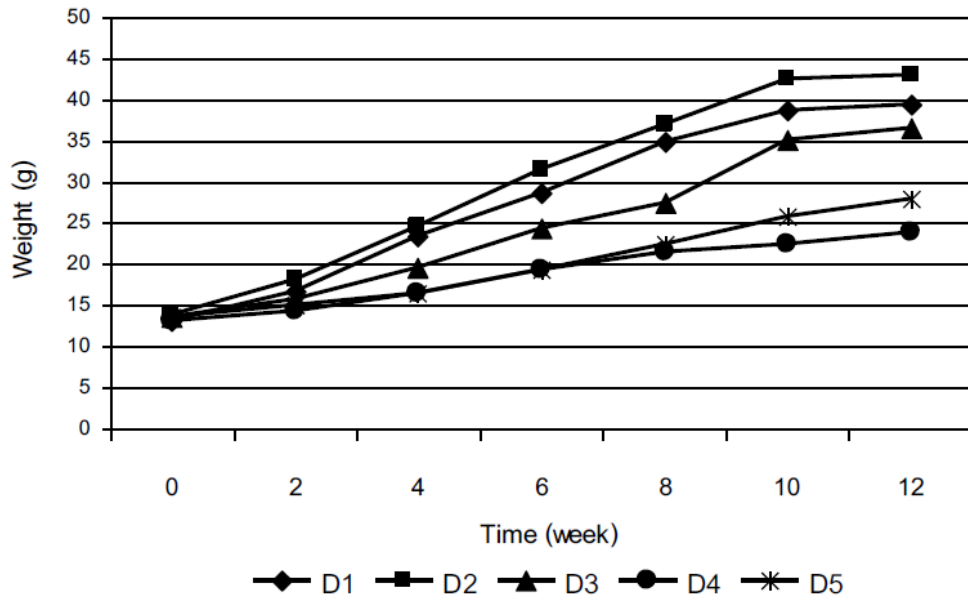


Figure 1 Average weight of Asian seabass from different diets groups within 12 weeks

### วิจารณ์ผล

การเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารผสมปริมาณโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้สาหร่ายไมโครสปอราทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองปน 0, 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการเจริญเติบโตการเจริญเติบโต น้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้โปรตีนสุทธิ และดัชนีตับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณการทดแทนเป็น 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากถั่วเหลือง พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ขณะที่อัตราการรอดตายและสัดส่วนที่บริโภคได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ในทุกชุดการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้สาหร่ายไมโครสปอราทดแทนถั่วเหลืองปนในอาหารปลากะพงขาวสามารถใช้ได้ในปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากถั่วเหลืองปน หรือเมื่อคิดเป็นปริมาณสาหร่ายที่ใช้ในสูตรอาหาร (D3) เท่ากับ 7.69 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้สาหร่ายเพิ่มขึ้นเป็น 11.54 และ 15.38 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร D4 และ D5 ตามลำดับ (Table 1) มีผลให้การเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักและความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้โปรตีนสุทธิ และดัชนีตับลดลง ส่วนอัตราแลกเนื้อเพิ่มสูงขึ้น (Table 2) ขณะที่ Mohammad และ Rina (2009) กล่าวว่า การใช้สาหร่ายเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำสามารถใช้ได้ในปริมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ หากใช้มากเกินไปจะมีผลให้การเจริญเติบโตของสัตว์น้ำลดลง ถึงแม้การศึกษาครั้งนี้พบว่าสาหร่ายไมโครสปอราประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 26.50 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.10 เปอร์เซ็นต์ เถ้า  $28.50 \pm 0.35$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับ Mohammad and Rina (2009) ที่รายงานองค์ประกอบทางโภชนาการของสาหร่าย โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนในสาหร่ายแห้ง พบว่าสาหร่าย *Cladophora glomerata* มีโปรตีน 31.60 เปอร์เซ็นต์ สาหร่าย *Hydrodictyon reticulatum* มีโปรตีน 27.70 เปอร์เซ็นต์ สาหร่าย *Ulva lactuca* มีโปรตีน 15-18 เปอร์เซ็นต์ และสาหร่าย *U. fascita* มีโปรตีน 13-16 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางโภชนาการส่วนใหญ่ของ

สาหร่ายเหล่านี้เป็นคาร์โบไฮเดรต จึงทำให้ปริมาณการใช้สาหร่ายในปริมาณไม่มาก ซึ่ง Appler (1985) ให้เหตุผลว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของพืชน้ำและสาหร่ายเป็นคาร์โบไฮเดรตประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ และมีเพียงเล็กน้อยที่อยู่ในรูปคาร์โบไฮเดรตขนาดเล็กจำพวกโมโนและไดแซคคาไรด์ ที่สัตว์น้ำสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่วนที่เหลือจะเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน จึงทำให้สัตว์น้ำย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง ทั้งนี้ความสามารถในการย่อยและการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายและสัตว์น้ำ รวมถึงขนาดของสัตว์น้ำเช่นกัน (Kut Güroy *et al.*, 2007) ดังเช่น Appler and Jauncey (1983) รายงานว่าสามารถใช้สาหร่าย *Cladophora glomerata* ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลานิล (*Tilapia niloticus*) ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Appler (1985) รายงานว่าสามารถใช้สาหร่าย *Hydrodictyon reticulatum* ในอาหารปลานิล *Oreochromis niloticus* และ *Tilapia zillii* ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อใช้ในปริมาณมากกว่านี้มีผลให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาลดลง ขณะที่ Kut Güroy *et al.* (2007) พบว่าสามารถใช้สาหร่าย *Ulva rigida* และ *Cystoseira barbata* เป็นส่วนผสมในอาหารปลานิล *O. niloticus* ได้ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในปลากระบอก Striped mullet (*Mugil cephalus*) สามารถผสมสาหร่าย *Ulva* sp. ในอาหารได้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ (Wassef *et al.*, 2001)

เมื่อคำนวณราคาอาหารต่อกิโลกรัม ราคาอาหารจะลดลงตามปริมาณการลดลงของถั่วเหลืองป่นในอาหารแต่ละสูตร (Table 1) และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม พบว่าอาหารที่ใช้สาหร่ายไมโครสปอราทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (D3) มีต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม เท่ากับ 83.00 บาท ซึ่งต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น ๆ (Table 2) ถึงแม้ว่าอาหารสูตร D3 ไม่ได้มีราคาค่าอาหารต่ำที่สุด แต่เมื่อคำนึงถึงอัตราการกินอาหาร อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้โปรตีนสุทธิของปลาที่ได้รับอาหารสูตรนี้ ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (D1) จึงทำให้ต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าอาหารสูตรอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งหากผลิตอาหารในปริมาณมากก็จะสามารถลดต้นทุนการผลิตปลากระพงขาวลงได้ ดังนั้นการใช้สาหร่ายไมโครสปอราทดแทนถั่วเหลืองป่นจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลากระพงขาวลดต้นทุนการผลิต และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าและใช้วัสดุเศษเหลือให้เกิดประโยชน์

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในการสนับสนุนงบประมาณการวิจัย รวมทั้งอุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ช่วยการวิจัยครั้งนี้จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จลุล่วง และขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำเพื่อความสมบูรณ์ของรายงานการวิจัยนี้

### เอกสารอ้างอิง

AOAC. 1990. Official Method of Analysis. 15<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC., USA.

- Appler, H.N. 1985. Evaluation of *Hydrodictyon reticulatum* as protein source in feeds for *Oreochromis (Tilapia) niloticus* and *Tilapia zillii*. J. Fish Biology. 27: 327-334.
- Appler, H.N., and Jauncey, K. 1983. The utilization of a filamentous green alga (*Cladophora glomerata* (L) Kutzin) as a protein source in pelleted feeds for *Sarotherodon* (Tilapia) *niloticus* fingerlings. Aquaculture. 30: 21-30.
- Bonaldo, A., Roem, A.J., Pecchini, A., Grilli, E., and Gatta, P.P. 2006. Influence of dietary soybean meal levels on growth, feed utilization and gut histology of Egyptian sole (*Solea aegyptiaca*) juveniles. Aquaculture. 261: 580-586.
- Boonta, T., Chitmanat, C, and Promya, J. 2012. Effects of *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp. and *Allium sativum* supplementary diets on growth performance, reproductive maturity, and phagocytic activity in common lowland frog (*Rana rugulosa*). J. Fish. Tech. Res. 6(1):23-35. [in Thai]
- Carter, C. G., and Hauler, R.C. 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture. 185: 299-311.
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W., and Liufu, Z. 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. 258: 503-513.
- Guiry, M.D., and Guiry, G.M. 2015. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway [Online]. Available from <http://www.algaebase.org> [2015, July 1].
- Hardy, R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. Aquaculture Research. 41: 770-776.
- Kalla, A., Yoshimatsu, T., Araki, T., Zhang, D., Yamamoto, T., and Sakamoto, S. 2008. Use of *Porphyra* spheroplasts as feed additive for red sea bream. Fish. Sci. 74: 104-108.
- Kinross, J. 2011. The genus *Microspora*. Algal Web [Online]. Available from <http://algalweb.net/microsp.htm> [2013, July 3].
- Kut Güroy, B., Cirik, Ş Cirik, Güroy, D., Sanver, F., and Tekinay, A. A. 2007. Effects of *Ulva rigida* and *Cystoseira barbata* meals as a feed additive on growth performance, feed utilization and body composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 31: 91-97.
- Mohammad, R.H., and Rina, C. 2009. Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture. FAO. Rome. 123 p.

- Muangyao, P., Pholrat, T., Chaimongkol, A., and Nooklum, W. 2013. Growth and survival rate of spotted scat (*Scatophagus argus* Linnaeus, 1766) raised on artificial diet supplemented with gutweed (*Ulva intensinalis* Linnaeus, 1753): Technical paper no. 13/2013. Coastal Fisheries Research and Development Bureau. National Institute of Coastal Aquaculture, Songkhla, Thailand. 18 p. [in Thai]
- Nualcharoen, M. 2004. Algae: Wonder in water resource. Phuket Rajabhat University. Phuket. 128 p. [in Thai]
- Sermwatanakul, A., Somsueb, P., Tongscri, N., and Wongsuwan, S. 2005. Feed and Aquatic Animals Feed Production. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand. 69 p. [in Thai]
- Tantikitti, C., Sangpong, W., and Chiavareesajja, S. 2005. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*). Aquaculture. 248: 41-50.
- Wang, Y., Kong, L. J., Li, C., and Bureau, D. P. 2006. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). Aquaculture. 261: 1307-1313.
- Wassef, E.A., El-Masry, M.H., and Mikhail F.R. 2001. Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, (*Mugil cephalus* L.) fingerlings by feeding algal meal-based diets. Aquaculture Res. 32: 315-322.

การแสดงออกของยีน vitellogenin และยีน fatty acid binding protein  
ของกุ้งขาวเพคเมีย (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)

ที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดต่าง ๆ

Expression of vitellogenin gene and fatty acid binding protein gene of female  
Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) fed different diets

ธนากรณ์ เมฆกลีน<sup>1</sup> นพวรรณ จิมสังข์<sup>1,\*</sup> สถาพร ดิเรกบุษราคัม<sup>1</sup> และสุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวิ<sup>1</sup>

Thanakorn Mekklin<sup>1</sup> Noppawan Chimsung<sup>1,\*</sup> Sataporn Direkbusarakom<sup>1</sup>

and Suwit Wuthisuthimethavee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศด้านกุ้ง สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80161

<sup>1</sup> Research Center of Excellence for Shrimp, School of Agricultural Technology, Walailak University,

Nakhon Si Thammarat 80161, Thailand

\*Corresponding author: [noppawan@wu.ac.th](mailto:noppawan@wu.ac.th)

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบผลของอาหารต่อการพัฒนารังไข่และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ในแม่พันธุ์กุ้งขาวแวนนาไม โดยขุนแม่พันธุ์กุ้งขาวที่มีน้ำหนักเริ่มต้น 28-41 กรัม ด้วยอาหารทดลอง 4 สูตร ซึ่งประกอบด้วยอาหารสูตรที่ 1 (อาหารสด ได้แก่ หมึกและหอยแครงในอัตราส่วน 2:1) อาหารสูตรที่ 2 (อาหารเม็ดสำเร็จรูปพัฒนาระบบสืบพันธุ์แม่กุ้ง ผลิตโดยศูนย์วิจัยความเป็นเลิศด้านกุ้ง มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์) อาหารสูตรที่ 3 (อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่นที่จำหน่ายตามท้องตลาด) และอาหารสูตรที่ 4 (อาหารสูตรที่ 3 เสริมสารสกัดหัวกุ้ง 55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร) จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่า อาหารสูตรที่ 2 มีค่าโปรตีน 52.37 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 12.17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งอยู่ในระดับสูงกว่าอาหารสูตรอื่น และในอาหารสูตรที่ 3 อาหารกุ้งระยะรุ่นมีค่าต่ำสุด โดยมีโปรตีน 43.68 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 6.72 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง จากการใช้อาหารทดลองเลี้ยงแม่กุ้งเป็นระยะเวลา 50 วัน พบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ (gonadosomatic index, GSI) ของแม่กุ้งขาวไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อวิเคราะห์การแสดงออกของยีน vitellogenin พบว่ามีการแสดงออกสูงสุดในแม่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ในขณะที่ยีน fatty acid binding protein (FABP) มีการแสดงออกสูงสุดในแม่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับแม่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ( $p < 0.05$ ) เมื่อวิเคราะห์หาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของค่าไขมันและโปรตีนในอาหารทดลองพบว่า มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีน FABP มากที่สุด การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่า การแสดงออกของยีนของแม่กุ้งขาวมีความสัมพันธ์กับคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ซึ่งการแสดงออกของยีน FABP มีความสัมพันธ์กับปริมาณของโปรตีนและไขมันในอาหารมากกว่ายีน vitellogenin

**คำสำคัญ :** แม่พันธุ์ขาว อาหารแม่พันธุ์ *Litopenaeus vannamei*, fatty acid binding protein gene, vitellogenin gene

## Abstract

The study on effect of diet on the reproductive development and gene expression of female pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) were performed. Female shrimps initial weight 28-41 g were fed with four different diets, consist of diet 1 (fresh feed; squid and mussels in a ratio of 2:1); Diet 2 (reproductive compound diet produced by Research Center of Excellence for Shrimp, Walailak University); Diet 3 (commercial compound diet for juvenile shrimp) and Diet 4 (Diet 3 supplemented with shrimp head extracted at 55%, w/w). The nutritional composition of diets indicated that diet 2 contained 52.37% protein and 12.17% lipid which was higher than other diets, while diet 3 contained lowest protein and lipid (43.68% and 6.72%, respectively). After 50 days of feeding trial, we found that Gonadosomatic index (GSI) was not significantly different among shrimp fed different diets. The expression of vitellogenin gene and fatty acid binding protein (FABP) gene were determined from ovary tissue using qRT-PCR. The gene expression results showed that vitellogenin gene was highest expressed in shrimp fed diet 1 whereas fatty acid binding protein (FABP) gene was highest expressed in shrimp which was fed with diet 2 ( $p < 0.05$ ). The correlation coefficient between gene expression and diet nutritional content indicated that the expression level of FABP gene was highly correlated to dietary lipid and protein level. In conclusion, molecular response in female reproductive system, either vitellogenin gene or FABP gene showed expression level related to nutrition of diet. However, expression of FABP gene was higher related to dietary protein and lipid level than that of vitellogenin gene.

**Keywords:** female pacific white shrimp broodstock, *Litopenaeus vannamei* diet, fatty acid binding protein gene, vitellogenin gene

## คำนำ

กระบวนการพัฒนารังไข่ของกุ้ง เรียกว่ากระบวนการไวเทลโลเจนีซิส (vitellogenesis) เป็นการนำสารอาหารกลุ่มโปรตีนจากแฮพพาโตเพนเครียส (hepatopancrease) ซึ่งเป็นอวัยวะสะสมสารอาหารในกุ้ง มาสะสมไว้ในเซลล์ไข่ รวมทั้งแคโรทีนอยด์ (carotenoids) แซคคาไรด์ (saccharide) และไขมัน โดยมีโปรตีน ไวเทลโลเจนินเป็นตัวพาสารอาหารผ่านทางเลือด (hemolymph) (Quackenbush, 2001) และมีโปรตีนที่ทำหน้าที่รับไวเทลโลเจนิน (vitellogenin receptor) จากเลือดเข้าสู่เซลล์ไข่ (Tiu *et al.*, 2008) กระบวนการนี้ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อ โดยปกติกุ้งจะมี vitellogenesis-inhibiting hormone (VIH/GIH) ที่หลั่งมาจากเซลล์ประสาทบริเวณก้านตากุ้ง ซึ่งมีทำหน้าที่ยับยั้งการผลิตไวเทลโลเจนินจากแฮพพาโตเพนเครียสเพื่อไม่ให้เกิดการพัฒนาของรังไข่ แต่หากกุ้งมีความสมบูรณ์ทั้งภายในตัวและสิ่งแวดล้อมจะมี vitellogenesis-stimulating hormone (VSH) ซึ่งเป็นฮอร์โมนจากระบบประสาทส่วนกลาง มีหน้าที่กระตุ้นการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ และการผลิตไวเทลโลเจนินจากแฮพพาโตเพนเครียส กระบวนการนี้ถูกควบคุมโดยยีนไวเทลโลเจนิน



ทั้งนี้การแสดงของยีนนี้ในระยะต่างๆ ของการพัฒนาของรังไข่ จะมีความแตกต่างกัน (Hiransuchalert, 2013) มีรายงานว่าในกุ้งครุมา (Marsupeneaus japonicas) ไข่ระยะพรีไวเทลโลเจนิค (previtellogenic stage) ไม่พบการแสดงออกแต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการพัฒนารังไข่ระยะไวเทลโลเจนิค (vitellogenin stage) (Tsutsui *et al.*, 2000) ซึ่งสารอาหารที่กุ้งได้รับส่งผลต่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของกุ้ง (Woulters *et al.*, 2001) ตัวอย่างเช่น ระดับและคุณภาพของไขมันในอาหาร มีผลต่อการพัฒนารังไข่และคุณภาพของไข่ เนื่องจากไขมันเป็นสารตั้งต้นของการสร้างฮอร์โมนพอสตาแกลนดิน ซึ่งมีหน้าที่ในการสะสมไข่แดง (Meunpol *et al.*, 2005) โดยมียีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของไขมัน คือ fatty acid synthase gene, fatty acid elongase gene และ fatty acid binding protein (FABP) gene (Soderhall *et al.*, 2006) ทั้งนี้มีรายงานว่า การแสดงออกของยีน FABP มีระดับที่แตกต่างกันในระยะต่างๆ ของการพัฒนาของรังไข่ โดยลักษณะจำเพาะของ FABP เป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กประมาณ 14-15 kDa อยู่ในไซโตพลาสซึม และโมเลกุลจะจับกับกรดไขมัน ซึ่งทำหน้าที่รับสัญญาณ ทำให้ยีน FABP ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของไขมัน (Cheng *et al.*, 2013) จากข้อมูลบ่งชี้ว่า สารอาหารมีความสำคัญต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ การทดลองประเมินคุณภาพอาหารจากการนับแม่กุ้งที่สร้างไข่หรือจำนวนไข่ อาจต้องใช้เวลานาน ในขณะที่การศึกษาการแสดงออกของยีนจะเป็นอีกวิธีการที่ให้ผลเร็วกว่า ซึ่งเหล่านี้จะนำมาสู่การเลือกใช้อาหารให้ตรงกับความต้องการของแม่กุ้งขาวต่อไป

การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาถึงโภชนาการของอาหารที่แม่กุ้งขาวได้รับ ต่อการแสดงออกของยีน vitellogenin และยีน fatty acid binding protein รวมทั้งค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของแม่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design, CRD) ให้แม่กุ้งขาวกินอาหารทดลอง 4 สูตร สูตรละ 3 ซ้ำ และใช้แม่กุ้งขาวจำนวน 3 ตัวต่อซ้ำ ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1 อาหารสด ได้แก่ หมึกกล้วย และ หอยแครง ในอัตราส่วน 2:1

อาหารสูตรที่ 2 อาหารเม็ดสำเร็จรูปพัฒนาระบบสืบพันธุ์ ผลิตโดยศูนย์วิจัยความเป็นเลิศด้านกุ้ง มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

อาหารสูตรที่ 3 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่นที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด

อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่ 3 เสริมสารสกัดหัวกุ้ง 55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร

### การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารสดเตรียมโดยนำหมึกกล้วยสดมาหั่นให้มีขนาดประมาณ 2x2 เซนติเมตร ส่วนหอยแครงแยกเอาเนื้อ จากนั้นเก็บในถุงพลาสติกแบบซีลล็อก คำนวณปริมาณตามความต้องการของแม่กุ้งในแต่ละมือ และเก็บไว้ในตู้แช่เยือกแข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส



อาหารสูตรที่ 3 เตรียมโดยนำอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกึ่งระยะรุ่น เบอร์ 3 ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด มาอัดเม็ดใหม่เพื่อให้ได้ขนาดที่เหมาะสมกับการจับกินของแม่กุ้ง เนื่องจากอาหารกึ่งระยะนี้มีขนาดเล็ก โดยนำอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกึ่งระยะรุ่นเบอร์ 3 มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดแฮมเมอร์มิลล์ จากนั้นนำไปผสมกับวิตามินพรีมิกซ์ ในปริมาณครึ่งหนึ่งของคำแนะนำข้างฉลาก อัดเม็ดผ่านเครื่องอัดเม็ดอาหารที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของหน้าแวน 4 มิลลิเมตร อบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

อาหารสูตรที่ 4 เตรียมสารสกัดจากหัวกุ้งตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Binson (2007) เสริมสารสกัดหัวกุ้งให้กับอาหารสูตรที่ 3 โดยนำเม็ดอาหาร 100 กรัม กับสารสกัดหัวกุ้ง 55 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันและนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทั้งนี้ระดับการเสริมสารสกัดหัวกุ้ง ได้คำนวณให้มีค่าของโปรตีน และไขมัน ในระดับที่ใกล้เคียงกับอาหารสูตรที่ 2 ทั้งนี้ต้นทุนค่าอาหารแต่ละสูตรมีความแตกต่างกัน โดยอาหารสูตรที่ 2 มีราคาสูงสุด การเสริมสารสกัดจากหัวกุ้งจะเพิ่มต้นทุนค่าอาหารให้สูงขึ้น จาก 44.08 บาท/กิโลกรัม เป็น 52.25 บาท/กิโลกรัม (Table 1)

**Table 1** Cost of experimental diet per kilogram (kg)

| Type of diet          | Cost (baht)/kg |
|-----------------------|----------------|
| Diet 1                | 125.00         |
| Diet 2                | 750.00         |
| Diet 3                | 44.08          |
| Diet 4                | 52.25          |
| Shrimp head extracted | 15.00          |

### การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

อาหารทดลองทุกสูตรวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้นและเถ้า ตามวิธี AOAC (1990) โปรตีน โดยเครื่อง C/N combustion รุ่น TRU SPEC® Combustion, USA ไขมัน ดัดแปลงจากวิธีการของ Bligh and Dyer (1959) แครอทินอยด์ ตามวิธีการของ Sachindra *et al.* (2006)

### การทดลองเลี้ยงแม่กุ้งขาว

เตรียมแม่กุ้งขาว ที่มาจากครอบครัวเดียวกัน ซึ่งมีน้ำหนักเริ่มต้น 28-41 กรัม จำนวน 36 ตัว มาปรับสภาพในถังทดลองขนาด 500 ลิตร ที่ติดตั้งระบบกรองและระบบน้ำหมุนเวียน เป็นระยะเวลา 7 วัน ให้อาหารทดลองแก่แม่กุ้งจนอิ่ม วันละ 4 มื้อ ในเวลา 7.00, 13.00, 17.00 และ 22.00 น. ดำเนินการทดลองเป็นระยะเวลา 50 วัน ในระหว่างการทดลองนับจำนวนแม่กุ้งที่สร้างไข่ รวมทั้งกำจัดตะกอนและของเสียต่างๆ ทุกวัน พร้อมกับการควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม รวมทั้งเก็บอาหารเหลือเพื่อหาค่าน้ำหนักอาหารที่แม่กุ้งกินจริง สิ้นสุดการทดลองนำแม่กุ้งมาหาค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ (GSI) ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Benfey and Sutterlin (1984) และเก็บเนื้อเยื่อรังไข่บริเวณส่วนท้าย (posterior lobe) ใน TriPure Isolation Reagent (Roche, USA) ในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์จากนั้นเก็บไว้ที่ -80 °C เพื่อใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีน

## การศึกษาการแสดงออกของยีน

### 1. ขั้นตอนการสกัด RNA การสังเคราะห์ cDNA และการตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ

เริ่มต้นด้วยการสกัด total RNA ตามวิธีการ TriPure Isolation Reagent protocol สิ้นสุดกระบวนการละลายตะกอน RNA ด้วย RNase-free water 40  $\mu$ l ผสมให้เข้ากันโดยใช้ปิเปต และนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 55 °C ประมาณ 15 นาที ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ RNA ด้วยเครื่อง NanoDrop® ND-2000c Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA) นำ RNA ที่มีค่าของปริมาณและคุณภาพที่ยอมรับได้ (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตรต่อค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร จะต้องมียุคอยู่ในช่วง 1.7-2.0) มาสังเคราะห์ cDNA ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยชุดสังเคราะห์ iScript™ cDNA Synthesis Kit (BIO-RAD, USA) โดยมีปฏิกิริยาและสภาวะของ PCR (Table 2) หลังจากนั้น นำ cDNA มาทดสอบคุณภาพ (Table 3)

**Table 2** The component to synthesize the cDNA

| Component                        | Volume ( $\mu$ l) |
|----------------------------------|-------------------|
| Nuclease-free water              | x                 |
| 5x iScript select reaction mix   | 4.00              |
| Random primer                    | 2.00              |
| RNA sample (1 $\mu$ g total RNA) | X                 |
| iScript reverse Transcriptase    | 1.00              |
| <b>Total volume</b>              | <b>20.00</b>      |

ผสมให้เข้ากันโดยใช้ปิเปต และนำเข้าเครื่อง PCR โดยกำหนดสภาวะ ดังนี้

|          |    |    |     |    |      |
|----------|----|----|-----|----|------|
| Incubate | 25 | °C | นาน | 5  | นาที |
| Incubate | 42 | °C | นาน | 30 | นาที |
| Incubate | 85 | °C | นาน | 5  | นาที |
| Soak     | 4  | °C |     |    |      |

หลังจากนั้น เก็บผลผลิต cDNA ที่อุณหภูมิ -20 °C ตรวจสอบคุณภาพโดยใช้ Elongation Factor 1 primers (EF) ในการทำ PCR โดยใช้ปริมาตรและสภาวะของปฏิกิริยาดังนี้

**Table 3** The component of PCR Master Mix for 1 reaction to test cDNA quality

| Solution                   | Volume (μl)  |
|----------------------------|--------------|
| 5x FIREPol® Master Mix     | 2.00         |
| EF1-Forward primer (10 μM) | 0.15         |
| EF1-Reverse primer (10 μM) | 0.15         |
| cDNA Template (10 ng/μl)   | 1.00         |
| Deionized H <sub>2</sub> O | 6.70         |
| <b>Total volume</b>        | <b>10.00</b> |

นำไปเข้าเครื่อง PCR โดยควบคุมสภาวะของปฏิกิริยา ดังนี้

|                      |       |           |        |
|----------------------|-------|-----------|--------|
| Initial denaturation | 95 °C | 3 นาที    | 1 รอบ  |
| Denaturation         | 95 °C | 30 วินาที | 35 รอบ |
| Annealing            | 60 °C | 30 วินาที |        |
| Elongation           | 72 °C | 30 วินาที |        |
| Final elongation     | 72 °C | 7 นาที    | 1 รอบ  |
| Soak                 | 4 °C  |           | α      |

ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ ด้วยวิธี Gel Electrophoresis ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยการผสม Novel Juice Supplied in 6X Loading Buffer (Gene Direx, USA) กับ PCR product ในอัตราส่วน 1:1 ให้ได้ปริมาตร 10 μl จากนั้นนำไปหยดลงบน Agarose gel และใช้ 100 bp DNA ladder marker เป็นแถบ DNA มาตรฐาน

## 2. การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real-time PCR

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน vitellogenin และยีน fatty acid binding protein ของกุ้งขาว จาก GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)) (โดยตรงกับ accession number AY321153.2 และ CK570804.1 ตามลำดับ) มาออกแบบไพรเมอร์ด้วยโปรแกรม Primer3plus ([www.bioinformatics.nl/primer3plus](http://www.bioinformatics.nl/primer3plus)) ให้มีความยาวประมาณ 18-23 คู่เบส หลังจากนั้นศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real-time PCR โดยใช้เครื่อง 7300 Real-time PCR system, USA และใช้ยีน Elongation Factor1 เป็นยีนอ้างอิง โดยใช้ปฏิกิริยาและสภาวะ PCR (Table 4)

**Table 4** The component in real-time PCR for 1 reaction

| Component                               | Volume (μl)  |
|-----------------------------------------|--------------|
| 5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus | 2.00         |
| Primer Forward (10 pmol/μl)             | 0.25         |
| Primer Reverse (10 pmol/μl)             | 0.25         |
| cDNA Template (10 ng/μl)                | 1.00         |
| H <sub>2</sub> O PCR grade              | 6.50         |
| <b>Total volume</b>                     | <b>10.00</b> |

นำไปเข้าเครื่อง PCR โดยควบคุมสภาวะของปฏิกิริยา ดังนี้

|                    |       |           |   |        |
|--------------------|-------|-----------|---|--------|
| Initial activation | 95 °C | 15 นาที   | } | 1 รอบ  |
| Denaturation       | 95 °C | 30 วินาที |   | 40 รอบ |
| Annealing          | 60 °C | 30 วินาที |   |        |
| Elongation         | 72 °C | 30 วินาที |   |        |
| Soak               | 4 °C  |           |   | α      |

วิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนด้วยวิธี  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak and Schmittgen, 2001) โดยคำนวณสัดส่วนระดับการแสดงออกของยีนจากสมการ ดังนี้

$$\Delta\Delta CT = (CT, \text{target} - CT, \text{control})_{\text{time X}} - (CT, \text{target} - CT, \text{control})_{\text{time 0}}$$

$$\text{สัดส่วนการแสดงออกของยีน} = 2^{-\Delta\Delta CT}$$

$$\text{เมื่อ; } CT, \text{target} = \text{ค่า CT ของยีนเป้าหมาย}$$

$$CT, \text{control} = \text{ค่า CT ของยีนอ้างอิง}$$

#### การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการอาหารทดลอง ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศและระดับการแสดงออกของยีน มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแบบ (One way analysis of variance : ANOVA ) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย (Duncan' s New Multiple Rang Test : DMRT) รวมทั้งวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างคุณค่าทางโภชนาการของอาหารและค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ (GSI) กับการแสดงออกของยีนโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS

## ผลการวิจัย

### คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง (Table 5) แสดงให้เห็นว่า อาหารแต่ละชนิด มีคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกัน อาหารสูตรพัฒนาระบบสืบพันธุ์ มีค่าโปรตีนและไขมันสูงสุด โดยมีค่า 52.37 และ 12.17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร ส่วนอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่น (Diet 3) มีค่าโปรตีน และไขมัน 43.68 และ 6.72 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร การเสริมสารสกัดหัวกุ้งในอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่น (Diet 4) ส่งผลให้ค่าโปรตีนและไขมันสูงขึ้น โดยมีค่า 46.48 และ 8.73 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร ตามลำดับ รวมทั้งมีระดับของแคโรทีนอยด์สูงกว่าอาหารสูตรอื่นๆ โดยมีค่า 48.78 ไมโครกรัมแอสต้าแซนทีน/กรัม ในขณะที่อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่น และอาหารเม็ดสำเร็จรูปสูตรพัฒนาระบบสืบพันธุ์ มีค่าแคโรทีนอยด์ 11.72 และ 31.94 ไมโครกรัมแอสต้าแซนทีน/กรัม ตามลำดับ ส่วนอาหารสด (Diet 1) มีระดับโปรตีนและไขมันใกล้เคียงอาหารสูตรพัฒนาระบบสืบพันธุ์ (Diet 2)

**Table 5** Proximate composition of experimental diets (dry weight)

| Experimental diet | protein <sup>1</sup> (%)  | Lipid <sup>1</sup> (%)    | Ash <sup>1</sup> (%)      | Carotenoids <sup>1</sup> (µg Ax <sup>2</sup> /g) |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------|
| Diet 1            | 50.07 ± 0.19 <sup>b</sup> | 10.88 ± 0.26 <sup>b</sup> | 8.12 ± 0.35 <sup>c</sup>  | 29.18 ± 1.33 <sup>c</sup>                        |
| Diet 2            | 52.37 ± 0.14 <sup>a</sup> | 12.17 ± 0.44 <sup>a</sup> | 11.35 ± 0.68 <sup>b</sup> | 31.94 ± 7.52 <sup>b</sup>                        |
| Diet 3            | 43.68 ± 0.09 <sup>d</sup> | 6.72 ± 0.14 <sup>d</sup>  | 15.45 ± 0.48 <sup>a</sup> | 11.72 ± 2.34 <sup>d</sup>                        |
| Diet 4            | 46.48 ± 1.08 <sup>c</sup> | 8.73 ± 0.42 <sup>c</sup>  | 15.83 ± 0.16 <sup>a</sup> | 48.78 ± 16.79 <sup>a</sup>                       |

<sup>1</sup>Values are means ± SD (n=3) with different superscript (a-d) differ significantly (p< 0.05) between treatment

<sup>2</sup> Ax แอสต้าแซนทีน (Astaxanthin)

Diet 1 Fresh feed, Diet 2 Reproductive compound diet, Diet 3 Commercial compound diet for juvenile shrimp, Diet 4 diet 3 supplemented with shrimp head extracted at 55 % (w/w)

### ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonadosomatic index)

ผลการหาค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของแม่กุ้งขาว (Table 6) พบว่า มีค่าสูงสุดในแม่กุ้งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่น (Diet 3) และน้อยสุดในชุดทดลองอาหารเม็ดสำเร็จรูปสูตรพัฒนาระบบสืบพันธุ์ (Diet 2) แต่ทั้งนี้ ค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศของแม่กุ้ง อยู่ในช่วง 0.60-1.21 ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) ในระหว่างการทดลอง พบแม่กุ้งวางไข่ในชุดการทดลองอาหารสด (Diet 1) และอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่น (Diet 3)

**Table 6** The number of spawners and Gonadosomatic index (GSI) of shrimp fed different diet for 50 days

| Treatment | Number of spawner | GSI (%) <sup>1</sup> |
|-----------|-------------------|----------------------|
| Diet 1    | 1                 | 1.10 ± 0.36          |
| Diet 2    | 0                 | 0.60 ± 0.29          |
| Diet 3    | 1                 | 1.21 ± 0.63          |
| Diet 4    | 0                 | 1.03 ± 0.26          |

<sup>1</sup>Values are means ± SD (n=3)

Diet 1 Fresh feed, Diet 2 Reproductive compound diet, Diet 3 Commercial compound diet for juvenile shrimp,

Diet 4 diet 3 supplemented with shrimp head extracted at 55 % (w/w)

### ผลการศึกษาการระดับการแสดงออกของยีน Vitellogenin (Vite) และยีน Fatty acid binding protein (FABP) ในแม่พันธุ์กุ้งขาว

จากการค้นหายีน Vite และยีน FABP ของกุ้งขาวในฐานข้อมูล Genbank ผลของการออกแบบไพรเมอร์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อใช้ในการศึกษาการระดับการแสดงออกของยีน (Table 7) ผลการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน Vite และยีน FABP พบว่า ระดับการแสดงออกของยีนทั้งสอง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (Table 8)

**Table 7** Selective primers for vitellogene (Vite) gene and Fatty acid binding protein (FABP) gene

| Primer  | Base sequence 5'-3'   | % G+C | Tm (°C) | Position of primer binding | Product size (bp) |
|---------|-----------------------|-------|---------|----------------------------|-------------------|
| Vite- F | CTGGAATTGGAGATCCCTGA  | 50    | 57.3    | 2,747-3,055                | 308               |
| Vite- R | TTCTTGATGGCAGCAGTCAC  | 50    | 57.3    | (started codon (AGT))      |                   |
| FABP- F | AGGAATTTGAAGAGACCACAG | 50    | 57.3    | 273-433                    | 160               |
| FABP-R  | CACTCCATTAGCATCTTGTC  | 50    | 57.3    | (started codon (GCC))      |                   |

**Table 8** Gene expression (fold changes) of Vite gene and FABP gene from ovary tissue of female pacific white shrimp fed different diet for 50 day

| Treatment | Vite gene <sup>1</sup>    | FABP gene <sup>1</sup>     |
|-----------|---------------------------|----------------------------|
| Diet 1    | 12.22 ± 0.66 <sup>d</sup> | 20.80 ± 14.05 <sup>b</sup> |
| Diet 2    | 1.71 ± 1.33 <sup>c</sup>  | 27.91 ± 11.35 <sup>a</sup> |
| Diet 3    | 1.00 ± 1.22 <sup>b</sup>  | 1.00 ± 3.01 <sup>d</sup>   |
| Diet 4    | 0.71 ± 0.14 <sup>a</sup>  | 6.83 ± 7.10 <sup>c</sup>   |

<sup>1</sup>Values are means ± SD from the number of surviving shrimp in each trial: values with different superscript (a-d) differ significantly ( $p < 0.05$ ) between treatment

Diet 1 Fresh feed, Diet 2 Reproductive compound diet, Diet 3 Commercial compound diet for juvenile shrimp,

Diet 4 diet 3 supplemented with shrimp head extracted at 55 % (w/w)

การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของข้อมูลแบบเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient,  $r$ ) ระหว่างคุณค่าทางโภชนาการของอาหารกับการแสดงออกของยีน และค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Table 9) พบว่า ค่าโปรตีนและไขมันในอาหารมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับระดับการแสดงออกของยีน FABP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) เท่ากับ 0.99 และ 0.99 ตามลำดับ

**Table 9** Pearson product-moment correlation coefficient between proximate composition of experimental diet and gonadosomatic index (GSI) with gene expression

| Parameter | Expression of genes/GSI | $r$   | sig.  |
|-----------|-------------------------|-------|-------|
| Protein   | Vite gene               | 0.39  | 0.61  |
| Protein   | FABP gene               | 0.99  | 0.01* |
| Protein   | GSI                     | -0.81 | 0.19  |
| Lipid     | Vite gene               | 0.40  | 0.60  |
| Lipid     | FABP gene               | 0.99  | 0.01* |
| Lipid     | GSI                     | -0.80 | 0.20  |
| GSI       | Vite gene               | 0.23  | 0.78  |
| GSI       | FABP gene               | -0.79 | 0.21  |

\* significant correlation at the 0.01 level (2-tailed)

<sup>1</sup>  $r$  Pearson Correlation Coefficient

<sup>2</sup> Sig differ significantly ( $p < 0.01$ ) between treatment

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษา พบว่าการแสดงออกของยีน vitellogenin สูงสุด ในกุ้งที่ได้รับอาหารสด (สูตรที่ 1) และต่ำสุดในกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดหัวกุ้ง (สูตรที่ 4) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้ ในระหว่างการทดลอง พบการพัฒนารังไข่ของแม่พันธุ์กุ้งที่ได้รับอาหารสดในช่วง 20 วันแรกของการทดลอง และกุ้งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกุ้งระยะรุ่น (สูตรที่ 3) ในช่วง 35 วันของการทดลอง ซึ่งจากการศึกษา บ่งชี้ว่าการแสดงออกของยีน vitellogenin มีค่าสูงสุดในชุดการทดลองอาหารสด ในขณะที่ GSI ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของแต่ละชุดการทดลอง โดยมีค่าระหว่าง 1.21- 0.60 แม้ว่าค่า 0.60 ก็พบการแสดงออกของยีน vitellogenin ซึ่งมีความแตกต่างกับการศึกษาของ Avarre *et al.*, 2003 ที่รายงานวาระยะการพัฒนารังไข่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการแสดงออกของยีน vitellogenin โดยยีน vitellin ในกุ้งกุลาลาย (*Penaeus semisulcatus*) นั้นจะเริ่มพบการแสดงออกเมื่อ GSI มีค่า 1.00 ขึ้นไป ซึ่งจัดอยู่ในระยะไวเทลอโลจีนิคตอนต้น (early vitellogenic stage) การพัฒนาของรังไข่จะเพิ่มขึ้นจนกระทั่ง GSI มีค่า 5.6 ซึ่งเป็นระยะไข่อสุก (mature stage) โดยจะพบโปรตีนไวเทลอโลจีนิคตั้งแต่ 0.25-2.65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Okumura *et al.*, 2004) ดังนั้นการศึกษาในระดับโมเลกุลหรือในระดับยีนเป็นอีกแนวทางเพื่อศึกษาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ การศึกษาค้นคว้านี้ แม่กุ้งได้รับอาหารทดลองที่มีคุณค่าทาง

โภชนาการแตกต่างกันแต่พบว่า ระดับการแสดงออกของยีน vitellogenin ไม่มีความสัมพันธ์กับค่าของโปรตีนและไขมันในอาหาร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาจมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง จากการรายงานของ Wouters *et al.* (2001) พบว่า แม่กุ้งที่ได้รับสารอาหารอย่างครบถ้วนจะนำมาสู่การพัฒนาระบบสืบพันธุ์ที่เร็วขึ้น นอกจากนี้คอเลสเตอรอลและกรดไขมัน ได้แก่ arachidonic (ARA), eicosapentaenoic (EPA) และ docosahexaenoic (DHA) จะเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารสเตอรอยด์ต่างๆ และฮอร์โมนพอสตาเกิลนดินซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันและการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของกุ้ง (Wimuttisuk *et al.*, 2013) จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ของสารอาหารกับการแสดงออกของยีน พบว่าสารอาหารบางกลุ่มส่งผลโดยตรงกับระดับการแสดงออกของยีน นั่นคือ การแสดงออกของยีน Fatty acid binding protein มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับค่าไขมันในอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Cheng *et al.* (2013) พบว่า ยีน Fatty acid binding protein มีความเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมัน กรดไขมันและการพหุโมเลกุลของสารที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เช่น เวกทินอล เกลื่อน้ำดี สารสี เข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ตลอดจนการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ กุ้งในแต่ละวัยจะมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน Boonyaratpalin (1996) รายงานว่า กุ้งที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จะมีความต้องการสารอาหารสูงกว่ากุ้งระยะอื่น เนื่องจากกุ้งวัยนี้ต้องใช้พลังงานที่เหลือจากการดำรงชีวิตและการเคลื่อนไหว เพื่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ Chamberlain *et al.* (1988) รายงานว่าแม่กุ้งขาวต้องการโปรตีน 42 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกับการรายงานของ Galgani *et al.* (1989) พบว่าแม่กุ้งขาวต้องการโปรตีน 49 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 8 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้อาหารสำหรับการขุนแม่พันธุ์กุ้งขาว โดยในระยะแรกสามารถขุนแม่กุ้งด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปกุ้งระยะรุ่นก่อนเพื่อให้แม่กุ้งมีการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ แล้วกระตุ้นให้แม่กุ้งพัฒนาไข่ที่สมบูรณ์ด้วยการใช้อาหารสด ทั้งนี้ จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระยะเวลาของการใช้อาหารแต่ละชนิด

### กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเครือข่ายการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานรากภาคใต้ตอนบน สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) และทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

### เอกสารอ้างอิง

- Avarre, J.C., Michelis, R., Tietz, A. and Lubzens, E. 2003. Relationship between Vitellogenin and Vitellin in a Marine Shrimp (*Penaeus semisulcatus*) and Molecular Characterization of Vitellogenin Complementary DNAs. *Biology of reproduction*. 69: 355–364.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists*. Association of Official Analytical Chemists Washington, DC.



- Benfey, T.J. and Sutterlin, A.M. 1984. Growth and gonad development in Triploid Landlocked Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Canada Journal fish. Aquaculture science. 41:1387 – 1392.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemical and Physiology. 37(8): 911-917.
- Binson, W. 2007. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cephalothorax. A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Food Technology. Prince of Songkla University. 113.
- Boonyaratpalin, M. 1996. Nutritional requirements of commercially important shrimps in the tropics. Fish nutrition and feeds'94 proceeding. SEAFDEC Aquaculture Department. Tigbauan. Iloilo. Philippines. 10-28.
- Chamberlain, G.W. 1988. Stepwise investigation of environmental and nutritional requirements for reproduction of penaeid shrimp. Ph.D. dissertation, Department of Wildlife and Fisheries Science, Texas A&M University, TX, USA. 6-11.
- Cheng, L., Jin, X.K., Li, W.W., Li, S., Guo, X.N., Wang, J., Gong, Y.N., He, L. and Wang, Q. 2013. fatty acid binding proteins FABP 9 and FABP 10 participate in antibacterial responses in chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. Journal pone. 8(1): 1-11.
- Galgani, M.L., Cuzon, G., Galgani, F. and Goguenheim, J. 1989. Influence du régime alimentaire sur la reproduction en captivité de *Penaeus indicus*. Aquaculture 81, 337–350.
- Genbank [Online] Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- Hiransuchalert, R. 2013. Vitellogenesis: Yolk synthesis process in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). KUU Science journal. 41(2): 281-297. [in thai]
- Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  method. elsevier science (USA) method. 25: 402-408.
- Meunpol, O., Meejing, P. and Piyatiratitivorakul, S. 2005. Maturation diet based on fatty acid content for male *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. Aquaculture Research. 36: 1216-1225.
- Okumura, T., Yoshida, K. and Nikaido, H. 2004. Ovarian development and hemolymph vitellogenin levels in laboratory-maintained protandric Shrimp, *Pandalus psinotus* measurement by a newly developed time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA). Zoological Science. 21(10):1037-1047.

- Primer3plus program [Online] Available from <http://www.bioinformatics.nl/primer3plus>
- Quackenbush, L.S. 2001. Yolk Synthesis in the Marine Shrimp, *Penaeus vannamei*. American Zoologist. 41:458-464.
- Sachindra, N.M. Bhaskar, N. and Mahendrakar, S.N. 2004. Carotenoids in different body components of Indian shrimp. Journal of Science of Food and Agriculture. 26: 167-172.
- Soderhall, I., Tangprasittipap, A., Liu, H., Sritunyalucksana, K., Prasertsan, P., Jiravanichpaisal, P. and Soderhall, K. 2006. Characterization of a haemocyte intracellular fatty acid binding protein from crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) and shrimp (*Penaeus monodon*). FEBS Journal. 273. (13): 2902–2912.
- Tiu, S.H.K., Hui, J.H., Mak, A.S., He, J.G. and Chan, S.M. 2008. From hepatopancreas to ovary: molecular characterization of a shrimp vitellogenin receptor involved in the processing of vitellogenin. Biology Reproduction. 79(1):66-74.
- Tsutsui, N., Kawazoe, I., Ohira, T., Jasmani, S., Yang, W. J., Wilder, M. N. and Aida, K. 2000. Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus*. Zoology Science 17: 651–660.
- Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J. and Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. Aquaculture 202:1-21.
- Wimuttisuk, W., Tobwor, P., Deenarn, P., Danwisetkanjana, K., Pinkaew, D., Kirtikara, K. and Vichai, V. 2013. Insights into the Prostanoid Pathway in the Ovary Development of the Penaeid Shrimp *Penaeus monodon*. Journal pone 8(10): 1-15.

การใช้เชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลือง  
เป็นโพรไบโอติกในปลานิล

The use of *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 and soy milk kefir  
as probiotics in Nile tilapia

เกศินี จันทรโสภณ\*, สัมฤทธิ์ ประวิทย์ธนา และเสรี จันทรโสภณ

Kesinee Chantharasophon, Sumrit Prawitthana and Seree Chantarasophon

สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34000

Department of Microbiology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani, 34000

\* Corresponding author: 045-352000, FAX 045-352070, E-mail: kesineechan@yahoo.co.th

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) แบ่งปลานิลขนาด 35±5 กรัม เป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่ม T1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่ม T2 ใช้เชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 ( $4.89 \pm 1.23 \times 10^8$  CFU/mL) ร้อยละ 6 และกลุ่ม T3 ใช้คีเฟอร์ ( $2.83 \pm 1.5 \times 10^8$  CFU/mL) ร้อยละ 6 เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 30 วัน พบว่า กลุ่ม T3 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่ม T2 และ T1 วัดได้  $1.09 \pm 0.09$ ,  $0.84 \pm 0.17$  และ  $0.80 \pm 0.06$  กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ส่วนค่าทางโลหิตวิทยา ไมโครนิวเคลียส และนิวเคลียสแอบนอร์มัลลิตีในเม็ดเลือดแดงของทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยการฉีดเข้าช่องท้อง พบว่าอัตราการรอดของกลุ่ม T3 สูงกว่ากลุ่ม T2 และ T1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) วัดได้ร้อยละ  $83.33 \pm 5.77$ ,  $70.0 \pm 0.0$  และ  $46.67 \pm 5.77$  ตามลำดับ ผลการใช้คีเฟอร์ที่ร้อยละ 3 และร้อยละ 6 เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลานิลมีอัตราการเจริญเติบโต  $1.31 \pm 0.07$  และ  $1.92 \pm 0.08$  กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ผลการวิจัยนี้บ่งชี้ว่าการใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลืองที่ระดับร้อยละ 6 เป็นทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับใช้เป็นโพรไบโอติกในปลานิล

คำสำคัญ : ปลานิล โพรไบโอติก ไมโครนิวเคลียส นิวเคลียสแอบนอร์มัลลิตี Challenge test

Abstract

The aim of this research was to study the use of *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 and soy milk kefir as probiotics in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Nile tilapia fish, 35±5 g were divided into 3 groups, T1 was control, T2 was 6% of *B. amyloliquefaciens* KJ720206 ( $4.89 \pm 1.23 \times 10^8$  CFU/mL) supplemented, and T3 was 6% of kefir ( $2.83 \pm 1.5 \times 10^8$  CFU/mL) supplemented. After 30 days of fish cultivation, the highest growth rate was found in T3 and the next were T2 and T1 which were  $1.09 \pm 0.09$ ,  $0.84 \pm 0.17$  and  $0.80 \pm 0.06$  g/fish/ days, respectively. Hematological parameters, micronucleus and nuclear abnormalities in erythrocytes of each groups were not significantly

( $P<0.05$ ) affected by all treatments. After challenge test with *Aeromonas hydrophila* by intraperitoneal injection, survival rate of T3 exhibited the highest in significance level ( $P<0.05$ ), consequently with T2, and T1, that were  $83.33\pm5.77\%$ ,  $70.0\pm0.0\%$ , and  $46.67\pm5.77\%$ , respectively. The supplementation of kefir, 3% and 6% in Nile tilapia feed was studied and after rearing for 60 days growth rate were significantly different ( $P<0.05$ ) which were  $2.65\pm0.09$  and  $2.78\pm0.21$  g/fish/day, respectively. These results indicated that dietary supplementation of 6% kefir is an alternative use as probiotics in Nile tilapia culture.

**Keywords:** Nile tilapia, Probiotics, Micronucleus, Nuclear abnormalities, Challenge test

## บทนำ

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่นิยมเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 เป็นต้นมา ประเทศไทยประสบปัญหาภัยแล้งและขาดแคลนน้ำอย่างต่อเนื่อง ผลผลิตปลานิลในปี พ.ศ. 2557 ได้เพียง 204,787 ตัน ซึ่งลดลงร้อยละ 3.7 และมีแนวโน้มลดลงร้อยละ 4 ในปีต่อไป (Noorrit, 2016) ปลานิลที่เลี้ยงอย่างหนาแน่นจะเกิดโรคความเครียดและติดเชื้อมากได้ง่าย เชื้อก่อโรคในปลานิลที่จัดเป็นเชื้อประจำถิ่นและก่อโรคได้รุนแรงคือแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* โดยเฉพาะเชื้อ *A. hydrophila* (Wangkahart and Rattanasena, 2012; Kamgar et al., 2013) การใช้โพรไบโอติกผสมในอาหารปลาเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคระบาดในปลาได้ มีรายงานที่ใช้เชื้อ *Bacillus* บางสายพันธุ์เป็นโพรไบโอติกที่  $10^7$ - $10^9$  CFU/g ในปลานิลและปลาชนิดอื่น พบว่าช่วยให้ปลามีภูมิคุ้มกันต้านต่อเชื้อก่อโรคและมีอัตราการรอดสูงขึ้น (Chantharasophon and Prawitthana, 2015; Das et al., 2013; Kamgar et al., 2013) เชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 เป็นเชื้อที่คัดแยกได้จากระบบทางเดินอาหารปลานิลในจังหวัดอุบลราชธานี (Chantharasophon, 2016) จึงเป็นเชื้อที่น่าสนใจนำมาทดลองใช้ควบคุมการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่พบได้ตลอดปีในการเลี้ยงปลานิล นอกจากนี้โพรไบโอติกที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งคือ คีเฟอร์ (Kefir) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักเปรี้ยวที่นิยมเรียกว่านมเปรี้ยวบัวหิมะทิเบต (Chantharasophon and Muthikul, 2014) ได้จากการใช้กล้าเชื้อผสมที่เรียกว่าคีเฟอร์เกรน (kefir grain) หมักกับนมจากสัตว์หรือพืชจนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสข้นหนืด มีรสเปรี้ยว มีฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ มีแอลกอฮอล์เล็กน้อยและมีสารที่ให้กลิ่นรสเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์ (Kesenkas et al., 2011) เชื้อ *Lactobacillus kefirifaciens* ในคีเฟอร์เป็นเชื้อที่ผลิตสาร exopolysaccharides เรียกว่า Kefiran ซึ่งมีสมบัติละลายได้ในน้ำ มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นสายโซ่ที่แตกเป็นกิ่งของ glucogalactan ที่ประกอบด้วย D-glucose และ D-galactose ที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ที่เป็นกล้าเชื้อในสัดส่วนที่เท่ากัน (Kesmen and Kacmaz, 2011) มีรายงานว่า kefir สามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ต่อต้านการอักเสบ และกระตุ้นให้ระดับสารที่เป็นภูมิคุ้มกันของร่างกายชนิด IgA ในเนื้อเยื่อผนังลำไส้เล็กของหนูทดลองที่ได้กิน kefir ให้เพิ่มสูงขึ้น จึงนิยมใช้ kefir ในงานทางเภสัชอุตสาหกรรม (Dailin et al., 2016; Prado et al., 2015) แต่ยังไม่เคยมีการทดลองใช้คีเฟอร์ในปลานิล การวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาการใช้โพรไบโอติก *B. amyloliquefaciens* และคีเฟอร์เพื่อยับยั้งการติดโรคระบาดจากเชื้อ *A. hydrophila* ในปลานิล

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์: *B. amyloliquefaciens* KJ720206, *A. hydrophila* และกล้าเชื้อผลิตคีเฟอร์ จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

### 2.2 การเตรียมเชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลือง

1) เพาะเชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 ในอาหารนมถั่วเหลืองยูเอชทีโดยใช้กล้าเชื้อจากอาหาร Nutrient broth อายุ 24 ชั่วโมงปริมาณร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสแบบเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเชื้อแบบ Total count ด้วยอาหาร Nutrient agar

2) ผลิตคีเฟอร์นมถั่วเหลือง โดยนำกล้าเชื้อผลิตคีเฟอร์ที่เก็บรักษาในนมโคยูเอชทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาหมักในนมถั่วเหลืองยูเอชทีโดยมีกล้าเชื้อร้อยละ 10 ในถุง HD ไส่อากาศออกจากถุงและพับเก็บปากถุงรัดยางแบบกึ่งปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแบบนิ่ง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเชื้อแบบ Total count ด้วยอาหาร De Man, Rogosa and Sharpe agar (Chantharasophon and Muthikul, 2014)

### 2.3 การใช้เชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกในปลานิล

นำปลานิลจากฟาร์มปลาของนายศักดิ์ดิโน นักรำ เลขที่ 5 หมู่ 3 ตำบลหนองไฮ อำเภอสำโรง จังหวัดอุบลราชธานี น้ำหนัก  $35 \pm 5$  กรัม จำนวน 400 ตัว ไปเลี้ยงในห้องทดลอง ณ สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี เพื่อให้ปลาปรับตัวในถังพลาสติกขนาด  $1 \times 1.2 \times 1.5$  เมตร<sup>3</sup> ระดับน้ำลึก 50 เซนติเมตร ให้อากาศในปริมาณที่มากพอ เปลี่ยนน้ำทุก 2 วัน ให้อาหารร้อยละ 3 ของน้ำหนักปลาเป็นเวลา 14 วัน แบ่งปลาที่แข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันเป็น 3 กลุ่มการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว ในถังเหล็กกล้าปลอดสนิมขนาด 250 ลิตร ระดับน้ำลึก 50 เซนติเมตร ให้อากาศในปริมาณที่มากพอ เปลี่ยนน้ำทุก 2 วัน ให้อาหารร้อยละ 3 ของน้ำหนักปลา เลี้ยงปลาให้ปรับตัวเป็นเวลา 14 วัน และให้โพรไบโอติก ดังนี้

กลุ่ม T1 อาหารปลาปกติ (กลุ่มควบคุม)

กลุ่ม T2 อาหารปลา + เชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 ที่เพาะเลี้ยงในนมถั่วเหลือง (6%)

กลุ่ม T3 อาหารปลา + คีเฟอร์นมถั่วเหลือง (6%)

ทดลองเลี้ยงปลาเป็นเวลา 30 วันและตรวจวัดอัตราการรอด อัตราการเจริญเติบโต อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ จำนวนเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง ค่าฮีมาโตคริต ค่าร้อยละของไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอร์มัลลิตีในเม็ดเลือดแดง และศึกษาการต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* โดยวิธี Challenge test ที่ฉีดเชื้อแบบ Intraperitoneal (ตามวิธีของ Boonta *et al.*, 2012; Chantharasophon and Prawitthana, 2015)

### 2.4 ศึกษาปริมาณคีเฟอร์นมถั่วเหลืองที่ใช้เป็นโพรไบโอติกเลี้ยงปลานิล

ใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกในปลานิลต่างกัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0 (K0) ร้อยละ 3 (K3) และร้อยละ 6 (K6) เลี้ยงปลาเป็นเวลา 60 วันและตรวจวัดเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.3

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ: วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างแบบ One-way analysis of variance เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่างแบบ Duncan's new multiple range test

### ผลการทดลอง

#### 3.1 ผลการนับจำนวนเชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลือง

จำนวนเชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 ในอาหารนมถั่วเหลือง และในคีเฟอร์นมถั่วเหลืองมีค่าเป็น  $4.89 \pm 1.23 \times 10^8$  และ  $2.83 \pm 1.5 \times 10^8$  CFU/mL ตามลำดับ

#### 3.2 ผลการใช้ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 และคีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิล

เมื่อใช้โพรไบโอติกในปลานิล 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม T1 กลุ่มควบคุม กลุ่ม T2 (*B. amyloliquefaciens* KJ720206) กลุ่ม T3 (คีเฟอร์นมถั่วเหลือง) เป็นเวลา 30 วัน พบว่า อัตราการรอดและอัตราการเจริญของกลุ่ม T3 มีค่าสูงกว่ากลุ่ม T2 และ T1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่าเป็นร้อยละ  $100 \pm 0.0$ ,  $93.33 \pm 6.67$  และ  $90.00 \pm 0$  และ  $1.09 \pm 0.09$ ,  $0.84 \pm 0.17$  และ  $0.80 \pm 0.06$  กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ (Table 1)

**Table 1.** Survival rate, ADG, FCR, haematological values, %micronuclei and %nuclear abnormalities in erythrocytes expression, antibody titer and survival rate after challenge test of Nile tilapia after rearing for 30 days with 0% probiotic (T1), 6% *B. amyloliquefaciens* KJ72020 (T2) and 6% soy milk kefir (T3) supplemented

| Treatments                                    | T1                    | T2                   | T3                   |
|-----------------------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Survival rate (%)                             | $90.0 \pm 0.0^a$      | $93.33 \pm 5.77^a$   | $100 \pm 0.0^b$      |
| ADG (g/f/d)                                   | $0.80 \pm 0.06^a$     | $0.84 \pm 0.17^a$    | $1.09 \pm 0.09^b$    |
| FCR                                           | $2.8 \pm 0.10^{ab}$   | $3.07 \pm 0.68^b$    | $2.2 \pm 0.10^a$     |
| WBC (K/Cu.mm)                                 | $859.67 \pm 116.41^a$ | $847.67 \pm 92.09^a$ | $724.67 \pm 17.95^a$ |
| RBC (M/ $\mu$ L)                              | $1.85 \pm 0.19^a$     | $1.97 \pm 0.52^a$    | $1.83 \pm 0.21^a$    |
| HCT (%)                                       | $30.07 \pm 1.91^a$    | $29.57 \pm 2.72^a$   | $29.43 \pm 5.55^a$   |
| Micronucleus (%)                              | $0.03 \pm 0.03^a$     | $0.03 \pm 0.03^a$    | $0.07 \pm 0.05^a$    |
| Nuclear abnormalities (%)                     | $0.40 \pm 0.10^a$     | $0.40 \pm 0.10^a$    | $0.18 \pm 0.02^b$    |
| Antibody titer<br>(day 7 post-challenged)     | >12                   | >12                  | $11.67 \pm 0.58$     |
| Survival rate (%)<br>(day 14 post-challenged) | $46.67 \pm 5.77^a$    | $70.0 \pm 10.0^{ab}$ | $83.33 \pm 5.77^b$   |

<sup>ab</sup> Mean( $\pm$ SD) in the same row with a different superscript letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อกลุ่ม T3 มีค่าน้อยกว่ากลุ่ม T1 และ T2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) วัดได้  $2.2 \pm 0.10$ ,  $2.8 \pm 0.10$  และ  $3.07 \pm 0.68$  ตามลำดับ สำหรับค่าทางโลหิตวิทยาและค่าร้อยละของไมโครนิวเคลียสของทุกกลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) มีเฉพาะค่านิวเคลียสที่ผิดปกติในเม็ดเลือดแดงของกลุ่ม T3 (ร้อยละ  $0.18 \pm 0.02$ ) ต่ำกว่ากลุ่ม T1 และ T2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

โดยกลุ่ม T2 กับ T1 มีค่าเท่ากันคือ ร้อยละ 0.4±0.1 หลังจาก Challenge test พบว่ากลุ่ม T1 และ T2 มีค่าแอนติบอดีไโตเตอร์มากกว่า 12 ส่วนกลุ่ม T3 มีค่าเป็น 11.67±0.58 อัตราการรอดของกลุ่ม T3 (83.33±5.77%) สูงกว่ากลุ่ม T1 (46.67±5.77%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) แต่ไม่ต่างจากกลุ่ม T2 (70.0±10.0%) (Table 1) จึงเลือกคีเฟอร์นมถั่วเหลืองไปศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการใช้เป็นโพรไบโอติกในปลานิลต่อไป

### 3.3 ผลการศึกษาปริมาณคีเฟอร์นมถั่วเหลืองที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในปลานิล

ผลการใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกในปลานิลต่างกัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0 (K0) ร้อยละ 3 (K3) และร้อยละ 6 (K6) พบว่าอัตราการเจริญของกลุ่ม K0, K3 และ K6 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) โดยมีค่าเป็น 0.87±0.04, 1.31±0.07 และ 1.92±0.08 กรัม/ตัว/วัน (Table 2)

**Table 2.** Survival rate, ADG, FCR, haematological values, %micronuclei and %nuclear abnormalities in erythrocytes expression, antibody titer and survival rate after challenge test of Nile tilapia after rearing for 60 days with 0% (K0), 3% (K3) and 6% (K6) soy milk kefir supplemented

| Treatments                                    | K0                        | K3                       | K6                        |
|-----------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Survival rate (%)                             | 96.67±2.89 <sup>a</sup>   | 96.67±2.89 <sup>a</sup>  | 100.0±0.0 <sup>a</sup>    |
| ADG (g/f/d)                                   | 0.87±0.04 <sup>a</sup>    | 1.31±0.07 <sup>b</sup>   | 1.92±0.08 <sup>c</sup>    |
| FCR                                           | 2.78±0.21 <sup>b</sup>    | 2.65±0.09 <sup>b</sup>   | 2.23±0.14 <sup>a</sup>    |
| WBC (K/Cu.mm)                                 | 858.1±100.31 <sup>b</sup> | 724.2±15.03 <sup>a</sup> | 726.13±16.85 <sup>a</sup> |
| RBC (M/ $\mu$ L)                              | 1.81±0.27 <sup>ab</sup>   | 2.03±0.06 <sup>b</sup>   | 1.58±0.06 <sup>a</sup>    |
| HCT (%)                                       | 28.83±3.19 <sup>a</sup>   | 35.5±2.88 <sup>b</sup>   | 24.6±1.45 <sup>a</sup>    |
| Micronucleus (%)                              | 0.02±0.02 <sup>a</sup>    | 0.08±0.03 <sup>b</sup>   | 0.12±0.03 <sup>b</sup>    |
| Nuclear abnormalities (%)                     | 0.31±0.10 <sup>a</sup>    | 0.46±0.07 <sup>a</sup>   | 0.46±0.05 <sup>a</sup>    |
| Antibody titer<br>(day 7 post-challenged)     | 11.0±0.0 <sup>a</sup>     | 11.0±0.0 <sup>a</sup>    | 11.67±0.58 <sup>a</sup>   |
| Survival Rate (%)<br>(day 14 post-challenged) | 55.0±8.66 <sup>a</sup>    | 93.33±2.87 <sup>b</sup>  | 98.33±2.87 <sup>b</sup>   |

<sup>abc</sup> Mean(±SD) in the same row with a different superscript letter are significantly different ( $P<0.05$ ).

อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อกลุ่ม K6 มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) กับกลุ่ม K0 และ K3 โดยวัดได้ 2.23±0.14, 2.78±0.21 และ 2.65±0.09 ตามลำดับ สำหรับค่าทางโลหิตวิทยา ไมโครนิวเคลียส และนิวเคลียสแอนโนมัลลิตีในเม็ดเลือดแดงของทุกกลุ่ม พบว่า มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) บ้าง หลังจาก Challenge test พบว่า ค่าแอนติบอดีไโตเตอร์ของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในขณะที่อัตราการรอดหลังของกลุ่ม K0, K3 และ K6 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) โดยวัดได้ร้อยละ 55.0±8.66, 93.33±2.87 และ 98.33±2.87 ตามลำดับ (Table 2)



### วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกในปลานิล พบว่าช่วยให้ปลานิลมีอัตราการเจริญสูงสุด ( $1.09 \pm 0.09$  กรัม/ตัว/วัน) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด ( $2.2 \pm 0.10$ ) และนอกจากนี้ยังพบว่าช่วยให้ปลานิลมีอัตราการรอดหลังทำ Challenge test สูงกว่าทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้เชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 ( $83.33 \pm 5.77$ ) โดยคาดว่าสารที่ออกฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญและการต่อต้านการเจริญของเชื้อก่อโรคในปลานิลนี้เป็นสารกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ที่เรียกว่าคีเฟอร์แรน ซึ่งสามารถกระตุ้นทั้งการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่นำมาทดลองได้พร้อมกัน จึงช่วยให้ปลานิลกลุ่มที่ใช้คีเฟอร์เป็นโพรไบโอติกเสริมในอาหารมีอัตราการเจริญและอัตราการรอดหลังทำ Challenge test สูงที่สุด ซึ่งยืนยันด้วยค่าของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่มีค่าต่ำที่สุด ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับรายงานว่า สารชนิดที่พบในคีเฟอร์มีฤทธิ์ทางเภสัชที่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันด้านทานของร่างกาย เพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นมิตรและลดจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ (Prado et al., 2015) อย่างไรก็ตามในการนำคีเฟอร์ไปใช้จริงควรมีการศึกษาต้นทุนกับความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ว่ามีความเป็นไปได้เพียงใด ที่สำคัญคือการเพาะเลี้ยงหรือการขยายเชื้อคีเฟอร์นั้นต้องบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

ผลการใช้เชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 เป็นโพรไบโอติกในปลานิลพบว่า ปลานิลมีอัตราการเจริญและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อใกล้เคียงกับปลานิลในกลุ่มควบคุม แต่มีอัตราการรอดหลังทำ Challenge test สูงกว่าคือร้อยละ  $70.0 \pm 10$  ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเป็นร้อยละ  $46.67 \pm 5.77$  แสดงว่าเชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 สามารถลดการติดเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* ในปลานิลได้ระดับหนึ่ง สาเหตุที่เป็นเช่นนี้คาดว่าเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สามารถผลิตสารคล้ายกลุ่มสารปฏิชีวนะได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่มีมาก่อนหน้านี้คือ เชื้อ *B. amyloliquefaciens* เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารคล้ายสารปฏิชีวนะได้ เช่น Difficidin และ Bacilysin สารดังกล่าวต่อต้านการเจริญของเชื้อ *Erwinia amylovora* ที่ก่อโรคในกล้วยไม้ (Chen et al., 2009) สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวจากเชื้อรา *Fusarium solani* และ *Ralstonia solanacearum* ในมะเขือเทศได้ (Ajilogba et al., 2012; Ji et al., 2013; Tan et al., 2013) แต่เมื่อนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในปลานิลยังให้ผลที่ไม่ดีเท่ากับการใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลือง ทั้งในด้านของอัตราการเจริญ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดหลังทำ Challenge test ผลการศึกษาที่ได้ใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Chantharasophon and Prawitthana (2015) ที่ใช้โพรไบโอติก *B. brevis* UBRU4 เพาะเลี้ยงปลานิลกระชัง และพบว่าโพรไบโอติกดังกล่าวไม่ช่วยส่งเสริมการเจริญของปลานิล แต่ผลการทดลองที่ได้แตกต่างจากของ Merrifield et al. (2009) ที่รายงานว่า การใช้โพรไบโอติก *B. subtilis* ผสมกับ *B. licheniformis* ในอาหารปลาเทราสายรุ้งนั้น ส่งเสริมให้อัตราการกินอาหาร อัตราการเจริญ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นในการใช้โพรไบโอติกบาซิลลัสเพาะเลี้ยงปลานิลจำเป็นต้องมีการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อไป

การที่ปลานิลกลุ่มควบคุมมีค่าทางโลหิตวิทยา ค่าไมโครนิวเคลียส และค่านิวเคลียสแอนโนมัลลิตี ในเม็ดเลือดแดง ส่วนมากไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ใช้โพรไบโอติก ซึ่งบ่งชี้ว่าการใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลืองและเชื้อ *B. amyloliquefaciens* KJ720206 เป็นโพรไบโอติกในปลานิลไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อค่า



เหล่านี้ ทั้งนี้คาดว่าสารคล้ายสารปฏิชีวนะและสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่โพรไบโอติกทั้งสองกลุ่มนี้ผลิต ไม่เหนียวนำไปเกิดการกลายพันธุ์ในปลาชนิดที่ศึกษา ผลที่ได้นี้แตกต่างจากการใช้เชื้อ *Bacillus* sp. UBRU1 เป็นโพรไบโอติกในปลาชนิด เนื่องจากพบว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาชนิดพบปริมาณไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดงมากกว่าปกติ ซึ่งบ่งชี้ว่าได้รับสารก่อกลายพันธุ์ที่เข้าไปทำลายโครโมโซม (Ali *et al.*, 2008; Abu Bakar *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตามผลการวิจัยที่ได้นี้สอดคล้องกับการรายงานของ Chantharasophon and Prawitthana (2015) ที่พบว่าการใช้เชื้อ *B. brevis* UBRU4 และ *S. cerevisiae* เป็นโพรไบโอติกในปลาชนิด ไม่ทำให้ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ใช้โพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

### สรุปผลการทดลอง

การใช้คีเฟอร์นมถั่วเหลืองเป็นโพรไบโอติกเสริมในปลาชนิดที่ระดับร้อยละ 6 ของอาหารปกติ ทำให้ปลาชนิดมีอัตราการเจริญสูงที่สุดวัดได้  $1.92 \pm 0.08$  กรัม/ตัว/วัน และอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต้ำที่สุดวัดได้  $2.23 \pm 0.14$  ที่สำคัญคือหลังทำ Challenge test ปลาชนิดมีอัตราการรอดสูงถึงร้อยละ  $98.33 \pm 2.87$  ซึ่งเป็นค่าที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นคีเฟอร์จึงเป็นโพรไบโอติกที่น่าสนใจในการนำมาใช้ควบคุมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในปลาชนิด โดยเฉพาะเชื้อ *A. hydrophila* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้ตลอดปีในการเลี้ยงปลาชนิดและสัตว์น้ำเศรษฐกิจชนิดอื่น แต่ควรมีการศึกษาในระดับภาคสนามก่อนนำไปใช้จริง

### เอกสารอ้างอิง

- Abu Bakar, S.N.N., Ashriya, A., Shuib, A.S., and Razak, S.A. 2014. Genotoxic effect of zinc and cadmium following single and binary mixture exposures in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) using micronucleus test. Sains Malaysiana. 43(7): 1053–1059.
- Ajilogba, C.F., Babalola, O.O., and Ahmad, F. 2013. Antagonistic Effects of Bacillus Species in Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt. Ethno Medicine. 7(3): 205-216.
- Ali, F.K., El-Shehawi, A.M., and Seehy, M.A. 2008. Micronucleus test in fish genome: A sensitivity monitor for aquatic pollution. African Journal of Biotechnology. 7(5): 606-612.
- Boonta, T., Chitmanat, C., and Promya, J. 2012. Effects of *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp. and *Allium sativum* supplementary diets on growth performance, reproductive maturity, and phagocytic activity in common lowland frog (*Rana rugulosa*). Journal of Fisheries Technology Research. 6(1): 23-35. [in Thai]
- Chantharasophon, K. 2016. Isolation of *Flavobacterium columnare* and *Bacillus* sp. from Nile tilapia and Catfish. Journal of Fisheries Technology Research. 10(1): [in press]
- Chantharasophon, K., and Muthikul, R. 2014. Fermented Milk Products: Kefir. Journal of Science and Technology. 27(27): 15-23. [in Thai]

- Chantharasophon, K., and Prawitthana, S. 2015. Effects of *Bacillus brevis* and *Saccharomyces cerevisiae* as probiotics on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and immune responses. *Journal of Fisheries Technology Research*. 6(1): 23-35. [in Thai]
- Chen, X.H., Scholz, R., Borriss, M., Junge, H., Mögel, G., Kunz, S., and Borriss, R. 2009. Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease. *Journal of Biotechnology*. 140(1-2): 38-44.
- Dailin, D.J., Elsayed, E.A., Othman, N.Z., Malek, R., Phin, H.S., Aziz, R., Wadaan, M., and Enshasy, H.A.E. 2016. Bioprocess development for kefir production by *Lactobacillus kefiranofaciens* in semi industrial scale bioreactor. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 23: 495–502.
- Das, A., Nakhro, K., Chowdhury, S., and Kamilya, D. 2013. Effects of potential probiotic *Bacillus amyloliquifaciens* FPTB16 on systemic and cutaneous mucosal immune responses and disease resistance of catla (*Catla catla*). *Fish & Shellfish Immunology*. 35(5): 1547-1553.
- Ji, SH., Paul, N.C., Deng, J.X., Kim, Y.S., Yun, B.S., and Yu, S.H. 2013. Biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. *Mycobiology*. 41(4): 234-242.
- Kamgar, M., Pourgholam, R., Ghiasi, M., and Ghane, M. 2013. Studies on *Bacillus subtilis*, as potential probiotics, on the biochemical parameters of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to challenge Infections. *Advanced Studies in Biology*. 5(1): 37-50.
- Kesmen, Z., and Kacmaz, N. 2011. Determination of Lactic Microflora of Kefir Grains and Kefir Beverage by Using Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *Journal of Food Science*. 76: M276–M283.
- Kesenas, H., Ddnkcd, N., Seckdn, K., Kinik, Ö., Gonc, S., Ergonul, P.G., and Kavas, G. 2011. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of Soymilk Kefir. *African Journal of Microbiology Research*. 5(22): 3737-3746.
- Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M., and Davies, S.J. 2009. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment. [Online]. Available from: <http://www.spc.int/aquaculture/site/pubbbications/documents/Tilapia.pdf> [2014 Jun, 5]
- Noorit, K. 2015. Situation of Nile tilapia on the production, trading and products of the year 2015 and trend of year 2016. [Online]. Available from: <http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Pdf> [2016, January 24]. [in Thai]

- Prado, M.R., Blandón, L.M., Vandenberghe, L.P.S., Rodrigues, C., Castro, G.R., Thomaz-Soccol, V., and Soccol, C.R. 2015. Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*. 6 (1177): 1-10.
- Tan, S., Jiang, Y., Song, S., Huang, J., Ling, N., and Xu, Y. 2013. Two *Bacillus amyloliquefaciens* strains isolated using the competitive tomato root enrichment method and their effects on suppressing *Ralstonia solanacearum* and promoting tomato plant growth. *Crop Protection*. 43: 134-140.
- Wangkahart, E., and Rattanasena, P. 2012. Efficacy of injectable formalin-killed *Aeromonas hydrophila* vaccine in hybrid Catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*). *Journal of Fishies Technology Research*. 6(1): 53-64. [in Thai]

การสำรวจปรสิตที่ซึ่เหงือกของปลากดหัวแข็ง (*Arius maculatus*)  
จากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา

A Survey of Gill Parasites of Spotted Catfish (*Arius maculatus*)  
in Bang Pakong River, Chachoengsao Province

พัชรีย์ ครุขยัน

Patcharee Khrukhayan

ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

\*Corresponding author: ffisprk@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาปรสิตที่ซึ่เหงือกในปลากดหัวแข็ง (*Arius maculatus*) จากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยการวางข่าย จำนวน 3 จุดสถานี ตั้งแต่เดือนเมษายน 2556 ถึงมีนาคม 2557 รวม 12 ครั้ง จากตัวอย่างปลาทั้งหมด 139 ตัว พบมีปรสิตคิดเป็นร้อยละ 74.1 ของจำนวนปลาทั้งหมด โดยพบตัวอย่างปรสิตทั้งหมด 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโมโนจีเนียน ทั้งหมด 2 สกุล 4 ชนิด ได้แก่ *Chauhanellus poculus*, *Hamatopeduncularia isosimplex*, *H. malayanus* และ *H. simplex* และกลุ่มโคพีพอด 1 ชนิด ได้แก่ *Hermilius pyriventris* โดยพบ *H. isosimplex* เป็นชนิดเด่นที่พบมากที่สุดและพบได้ตลอดทั้งปี โดยปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนมีค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตในฤดูฝนมีค่าสูงกว่าในฤดูแล้ง แต่ปรสิตกลุ่มโคพีพอดจะพบได้เฉพาะในฤดูแล้ง ในปลาขนาดมากกว่า 20.0 เซนติเมตรจะมีความชุกของปรสิตมากที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 79.2 และความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิต เท่ากับ 21.2 ตัว/ปลา ในขณะที่ปลาขนาดเล็กกว่า 15.0 เซนติเมตร มีค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตน้อยที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 51.4 และ 10.1 ตัว/ปลา ตามลำดับ

คำสำคัญ: ปรสิตที่ซึ่เหงือก, ปลากดหัวแข็ง, *Arius maculatus*, แม่น้ำบางปะกง

Abstract

This study was to investigate the gill parasites in spotted catfish (*Arius maculatus*) in Bang Pakong River, Chachoengsao Province. The fish were monthly collected using gill net from three stations during April, 2013 to March, 2014. About 71.4% (103 fish of 139 collected fish) was infected with parasites. Five parasites species were observed on gills of fish, there were four species of Monogenea; *Chauhanellus poculus*, *Hamatopeduncularia isosimplex*, *H. malayanus* and *H. simplex* and one species of Copepoda; *Hermilius pyriventris*. *H. isosimplex* was the dominant species which could be found throughout the collection period. The prevalence and mean intensity values of monogenean parasite showed a high level in the rainy season than the dry season, while copepod was only collected in dry season. Parasite prefers to infect large size of fish which evidence by greater

percentage of infection in terms of prevalence and mean intensity. Larger fish size (20 cm upward) was infected about 79.2% and mean intensity 21.2 ind/fish while smaller ones (smaller than 15 cm) was infected about 51.4% and mean intensity 10.1 ind/fish.

**Key words:** gill parasite, spotted catfish, *Arius maculatus*, Bang Pakong River

## คำนำ

แม่น้ำบางปะกง เป็นแม่น้ำสายสำคัญของภาคตะวันออก มีชื่อเรียกหลายชื่อตามบริเวณที่แม่น้ำไหลผ่าน โดยช่วงที่ไหลผ่านจังหวัดฉะเชิงเทรา เรียกว่า แม่น้ำบางปะกง มีคุณสมบัติของน้ำเป็นน้ำกร่อยที่มีความอุดมสมบูรณ์ของสิ่งมีชีวิตสูง วิธีของชุมชนในแถบลุ่มน้ำนี้จะใช้ประโยชน์จากแหล่งน้ำเป็นที่ทำมาหากินในการประกอบอาชีพทางการประมง ด้วยเครื่องมือทำการประมงเป็นแบบพื้นบ้าน เช่น การตกปลา วางข่าย รวมถึงการใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจ เช่น การเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง ซึ่งเป็นแหล่งผลิตปลากะพงขาวที่สำคัญของประเทศ นอกจากปลากะพงขาวที่เลี้ยงในเชิงการค้าแล้ว ปลากดหัวแข็งก็เป็นปลาอีกชนิดหนึ่งในชนิดที่พบในแม่น้ำบางปะกง (Thong-ngok *et al.*, 2013) มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า spotted catfish หรือ spotted sea catfish ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Arius maculatus* (Thunberg, 1792) จัดอยู่ในวงศ์ปลากดทะเล (Ariidae) เป็นปลาที่หากินตามพื้นท้องน้ำ โดยกินสัตว์น้ำและซากสัตว์เป็นอาหาร เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของชุมชนในแถบลุ่มแม่น้ำนี้ โดยเป็นอาหารที่สำคัญสำหรับประชาชนในท้องถิ่น

โรคจากปรสิตเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ประชากรของปลาลดจำนวนลง ซึ่งเมื่อมีปรสิตเข้าเกาะจะทำให้ปลาเกิดการระคายเคืองและการอักเสบในบริเวณที่มีปรสิต เช่นเดียวกับบริเวณเหงือก ซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญที่ใช้ในการแลกเปลี่ยนก๊าซของปลา และเป็นบริเวณที่สัมผัสกับน้ำภายนอกได้โดยตรง ปรสิตเหล่านี้จะเข้าไปขัดขวางการทางเดินของเส้นเลือดทำให้มีเลือดคั่ง บวม น้ำ บางบริเวณมีการตายของเซลล์ มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เป็นเหตุทำให้กิ่งเหงือกแต่ละกิ่งเชื่อมรวมกัน (Kaewviyudth *et al.*, 2001) ซึ่งมีผลต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซและสุขภาพของปลา ปลาเกิดความเครียด อ่อนแอ เป็นสาเหตุหนึ่งของการติดเชื้อโรคอื่นตามมา และปลาอาจตายได้ในที่สุด จากการศึกษาปรสิตภายนอกที่พบในวงศ์ปลากดทะเลที่ผ่านมาทั้งในและต่างประเทศ พบปรสิตในกลุ่มโมโนจีเนียสสกุล *Neotetraonchus*, *Neocalceostoma*, *Neocalceostomoides*, *Hamatopeduncularia*. และ *Chauhanellus* (Lim, 1996; Tavares and Luque, 2004; Violante-González *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2011; Siddiqui, 2014) ปรสิตกลุ่มมิโกโซสปอร์ *Myxobolus sciades* (Azevedo *et al.*, 2010) และปรสิตโคพีพอดสกุล *Ergasilus*, *Caligus* และ *Hermilius* (Tassamakorn and Angsupanich, 2014) แม้ว่าจะมีการศึกษาปรสิตกลุ่มโคพีพอดอยู่แต่เป็นพื้นที่ในเขตจังหวัดชลบุรีโดย Purivirojkul and Areechon (2008) แต่เป็นเพียงส่วนน้อย ซึ่งการศึกษาในแม่น้ำบางปะกงยังขาดข้อมูลด้านนี้ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้ทราบถึงการแพร่กระจายของปรสิตที่พบที่เหงือกในรอบปี ฤดูกาลมีผลต่อการระบาดของปรสิต และขนาดของปลามีผลต่อความชุกและความหนาแน่นของปรสิตที่พบ เพื่อเป็นแนวทางในการประเมินสุขภาพของปลากดหัวแข็งในแม่น้ำบางปะกง

## อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

### พื้นที่ศึกษา

รวบรวมตัวอย่างปลากดหัวแข็งจากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 3 จุดสถานี คือ สถานีที่ 1 บริเวณเลี้ยงปลาในกระชังข้างเกาะนก สถานีที่ 2 บริเวณหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาประมง อ.บางปะกง และสถานีที่ 3 บริเวณคลองอ้อมใหญ่ อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา (Figure 1) ซึ่งทั้ง 3 จุดสถานี เป็นบริเวณที่ได้รับอิทธิพลน้ำขึ้นลงจากทะเลอ่าวไทย ทำให้บริเวณดังกล่าวเป็นระบบนิเวศน้ำกร่อย มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มตามฤดูกาล คือ ความเค็มของน้ำในฤดูฝนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2-26.7 psu (practical salinity unit) และในฤดูแล้งมีค่าอยู่ระหว่าง 2.0-32.8 psu โดยในช่วงต้นฤดูฝนยังคงมีความเค็มของน้ำสูง และลดลงอย่างรวดเร็ว จนเกือบเป็นน้ำจืดในช่วงกลางฤดูฝนจนถึงต้นฤดูแล้ง จากนั้นความเค็มเพิ่มสูงขึ้นมากอีกครั้งในช่วงฤดูแล้ง (Khrukhayan, 2016)

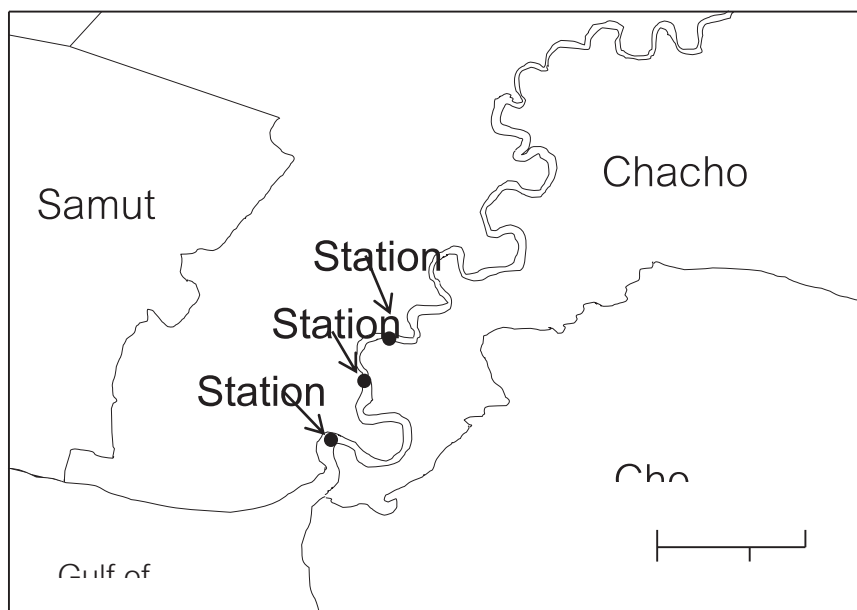


Figure 1 Fish sampling sites in Bang Pakong River, Chachoengsao Province.

### การเก็บตัวอย่างปลา

เก็บตัวอย่างปลากดหัวแข็ง ตั้งแต่เดือนเมษายน 2556 ถึงมีนาคม 2557 รวม 12 ครั้ง แบ่งเป็นฤดูฝน คือ ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม 2556 และฤดูแล้ง คือ เดือนเมษายน 2556 และระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2556 ถึงมีนาคม 2557 โดยการวางตาข่าย (gill net) ที่มีขนาดช่องตาตั้งแต่ 2 – 9 เซนติเมตร ในแม่น้ำบางปะกง รวบรวมและขนส่งโดยบรรจุปลาที่เก็บรวบรวมได้ใส่ถุงพลาสติกก่อนแช่ในน้ำแข็ง เพื่อให้ปลายังอยู่ในสภาพสด จากนั้นนำมาตรวจหาชนิดและปริมาณของปรสิตที่ซีเหงือกในห้องปฏิบัติการ ณ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

### การศึกษาปรสิตที่ซีเหือง

ตัวอย่างปลาที่ได้ทำการชั่งน้ำหนัก (body weight) และวัดความยาว (total length) จากนั้นตรวจหาปรสิตภายนอกที่บริเวณซีเหือง โดยตัดเหืองแบ่งเป็นซี่ๆ วางบน petri disc ที่มีน้ำสะอาด ตรวจหาปรสิตโดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังต่ำ (stereo microscope) ปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนจะใช้หลอดดูดขนาดเล็กดูดปรสิตขึ้นมาหยดลงบนแผ่นสไลด์ ปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ ตรึงทั้ง 4 มุมด้วยน้ำยาทาเล็บชนิดใส แล้วใช้น้ำยา ammonium-picratum glycerine เพื่อตรึงและรักษาสภาพของตัวอย่าง ทิ้งไว้ 1 วัน แล้วปิดทับทั้ง 4 ด้านของแผ่นกระจก ปรสิตกลุ่มโคฟีพอดจะเก็บรักษาไว้ในน้ำยา 70% alcohol with 5% glycerol ก่อนนำไปศึกษาชนิดของปรสิตที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x - 100x

### การจำแนกชนิดของปรสิต

ปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนใช้เอกสารของ Yamaguti (1963), Gussev (1976) และ Lim (1994, 1996) ปรสิตกลุ่มโคฟีพอดใช้เอกสารของ Hewitt (1971), Cressey (1974), Kabata (1979), Ho and Kim (2000), Lin and Ho (2000), Boxshall (2005) และ Purivirojkul and Areechon (2008)

### การวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินปริมาณของปรสิตที่ตรวจพบในปลาทุกตัวโดยหาค่าความชุก (prevalence) และความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิต (mean intensity) ในแต่ละเดือนตามวิธีการของ Bush *et al.* (1997) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ความชุกของปรสิต} &= \frac{\text{จำนวนของปลาที่ตรวจพบปรสิต}}{\text{จำนวนของปลาที่ทำการศึกษารวมทั้งหมด}} \times 100\% \\ (\%) & \\ \\ \text{ความหนาแน่นเฉลี่ย} &= \frac{\text{จำนวนของปรสิตที่ตรวจพบทั้งหมด}}{\text{จำนวนของปลาที่พบปรสิต}} \\ (\text{individual/fish: ind./fish}) & \end{aligned}$$

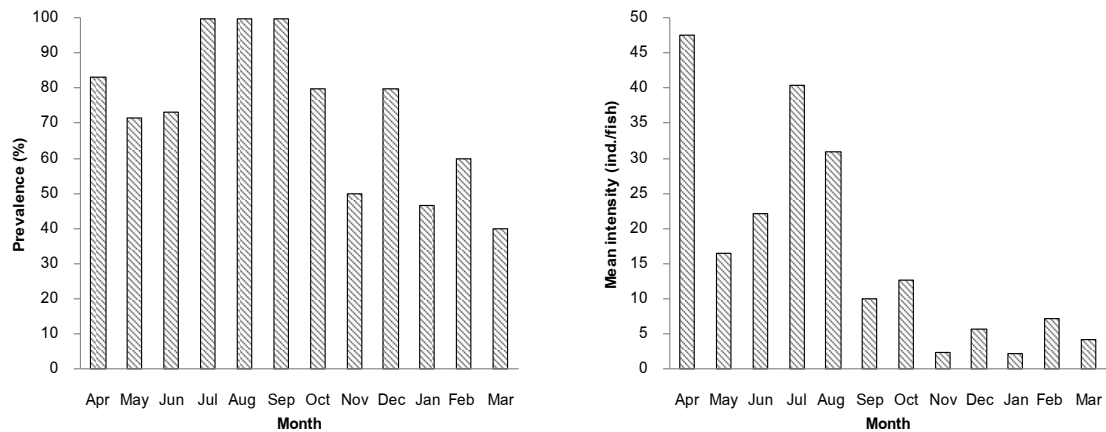
### ผลการศึกษา

การศึกษาปรสิตที่ตรวจพบจากซีเหืองของปลาทุกตัวในแม่น้ำบางปะกง ตั้งแต่เดือนเมษายน 2556 ถึงมีนาคม 2557 จำนวน 12 ครั้ง จากตัวอย่างปลาทุกตัวทั้งหมด 139 ตัว พบปลาที่ติดปรสิตจำนวน 103 ตัว คิดเป็นร้อยละ 74.1 ของจำนวนปลาทั้งหมด โดยปรสิตที่ตรวจพบ ได้แก่ กลุ่มโมโนจีเนียน 2 สกุล 4 ชนิด คือ *Chauhanellus poculus*, *Hamatopeduncularia isosimplex*, *H. malayanus* และ *H. simplex* และกลุ่มโคฟีพอด 1 ชนิด คือ *Hermilius pyrivertris* (Table 1)

**Table 1** Distribution and number of gill parasites of spotted catfish in Bang Pakong River, chachoengsao Province

| Parasite                             | Taxonomic group  | No. (%) fish infected | No. of parasites |
|--------------------------------------|------------------|-----------------------|------------------|
| Monogenea                            |                  |                       |                  |
| <i>Chauhanellus poculus</i>          | Ancyrocephalidae | 47 (33.8)             | 233              |
| <i>Hamatopeduncularia isosimplex</i> | Ancyrocephalidae | 91 (65.5)             | 975              |
| <i>H. malayanus</i>                  | Ancyrocephalidae | 56 (40.3)             | 340              |
| <i>H. simplex</i>                    | Ancyrocephalidae | 59 (42.4)             | 390              |
| Copepoda                             |                  |                       |                  |
| <i>Hermilius pyrivertris</i>         | Caligidae        | 8 (5.8)               | 28               |

ปรสิตในกลุ่มโมโนจีเนียน สามารถตรวจพบได้ในทุกเดือนตลอดทั้งปีที่ทำการศึกษา โดยมีค่าความชุกในช่วงฤดูฝน (ร้อยละ 87.9) มากกว่าในช่วงฤดูแล้ง (ร้อยละ 56.2) ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน 2556 พบว่า มีค่าความชุกเท่ากับ ร้อยละ 100 และมีค่าความชุกต่ำสุด เท่ากับ ร้อยละ 40 ในเดือนมีนาคม 2557 ส่วนของค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตในแต่ละเดือน พบว่าในช่วงฤดูฝน (26.5 ตัว/ปลา) มีค่าสูงกว่าในช่วงฤดูแล้ง (9.8 ตัว/ปลา) เช่นกัน โดยในเดือนเมษายน 2556 มีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 47.6 ตัว/ปลา และมีค่าต่ำสุดในเดือนมกราคม 2557 มีค่าเท่ากับ 2.1 ตัว/ปลา (Figure 2)

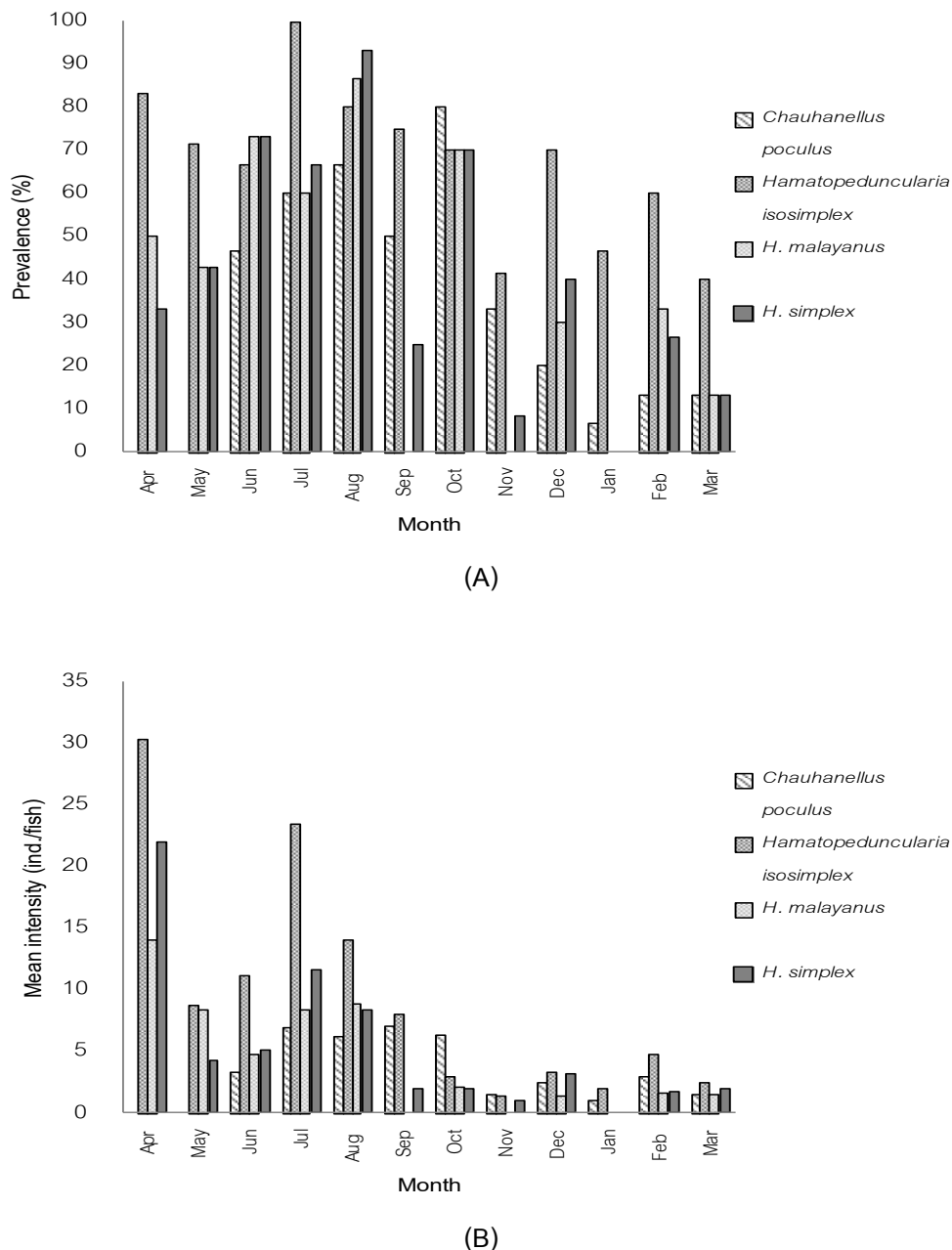


**Figure 2** The seasonal variation prevalence and mean intensity of monogenean parasites on spotted catfish

เมื่อพิจารณาในแต่ละชนิดของโมโนจีเนียน พบว่า *Hamatopeduncularia isosimplex* เป็นชนิดเด่น โดยพบได้มากที่สุดและตลอดทั้งปี คิดเป็นร้อยละ 49.6 ของปรสิตที่พบทั้งหมด มีค่าความชุกมากที่สุดในเดือนกรกฎาคม 2556 เท่ากับ ร้อยละ 100 และมีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยมากที่สุดในเดือนเมษายน 2556 เท่ากับ 30.4 ตัว/ปลา รองลงมาคือ *H. simplex* คิดเป็นร้อยละ 19.8 ของปรสิตที่พบทั้งหมด มีค่าความชุกมากที่สุดใน



เดือนสิงหาคม 2556 เท่ากับ ร้อยละ 93.3 และมีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยมากที่สุดในเดือนเมษายน 2556 เท่ากับ 22.0 ตัว/ปลาและชนิด *H. malayanus* คิดเป็นร้อยละ 17.3 ของปรสิตที่พบทั้งหมด มีค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 86.7 และ 14.0 ตัว/ปลา ในเดือนสิงหาคม และเมษายน 2556 ตามลำดับ และชนิด *Chauhanellus poculus* คิดเป็นร้อยละ 11.9 ของปรสิตที่พบทั้งหมด มีค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 80.0 และ 7.0 ตัว/ปลา ในเดือนตุลาคม และกันยายน 2556 ตามลำดับ ซึ่งทุกชนิดที่ตรวจพบมีค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยมีค่าสูงในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง (Figure 3)



**Figure 3** The seasonality of the prevalence (A) and mean intensity (B) of monogenean parasites on spotted catfish

ปรสิตกลุ่มโคพีพอดชนิด *Hermilius pyrivertris* นั้นพบเพียง 4 ครั้งในรอบปี คือในเดือนเมษายน พฤษภาคม ธันวาคม 2556 และมกราคม 2557 ซึ่งอยู่ในช่วงฤดูแล้ง คิดเป็นร้อยละ 1.3 ของปรสิตที่ตรวจพบทั้งหมด พบมีค่าความชุกมากที่สุดในเดือนพฤษภาคม 2556 เท่ากับ ร้อยละ 25 และในเดือนธันวาคม 2556 มีค่าความหนาแน่นของปรสิตสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 6.0 ตัว/ปลา และในเดือนเมษายน และพฤษภาคม 2556 มีค่าต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 2.0 ตัว/ปลา (Figure 4)

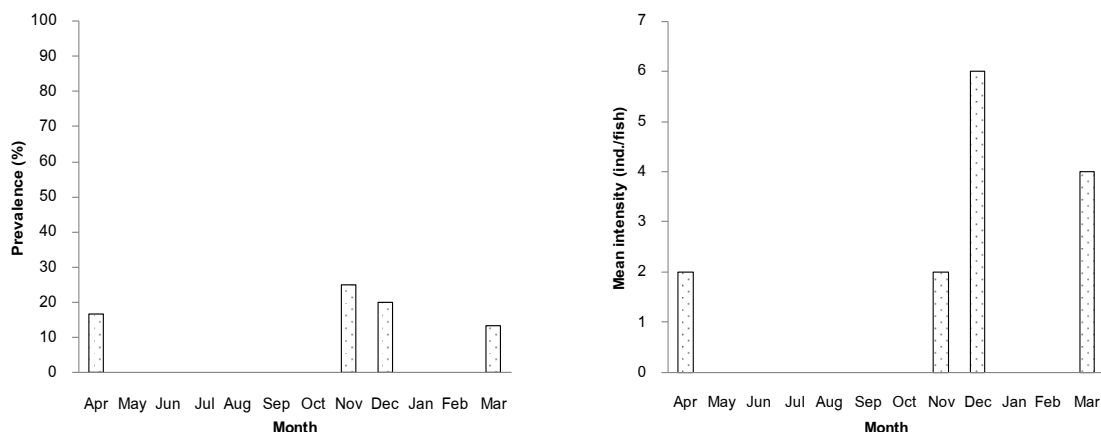


Figure 4 The seasonal variation prevalence and mean intensity of *Hermilius pyrivertris* on spotted catfish

เมื่อพิจารณาขนาดความยาวของปลากัดหัวแข็งกับความชุกและค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนซึ่งเป็นปรสิตกลุ่มหลักที่ตรวจพบ โดยจัดแบ่งกลุ่มความยาวของปลาเป็น 3 ขนาด คือ ปลาขนาดเล็กที่มีความยาวตั้งแต่ 1.0-15.0 เซนติเมตร จำนวน 35 ตัว ปลาขนาดกลางที่มีความยาวตั้งแต่ 15.1-20.0 เซนติเมตร จำนวน 80 ตัว และปลาขนาดใหญ่ที่มีความยาวมากกว่า 20.0 เซนติเมตรขึ้นไป จำนวน 24 ตัว พบว่าค่าความชุกของปรสิตมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับร้อยละ 51.4 ในปลาขนาดเล็ก และเมื่อปลามีความยาวเพิ่มขึ้น ค่าความชุกของปรสิตมีค่าเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน โดยมีค่ามากที่สุดในปลาขนาดใหญ่ (ร้อยละ 79.2) และรองลงมาในปลาขนาดกลาง (ร้อยละ 77.5) และค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตที่พบมีค่าต่ำสุดในปลาขนาดเล็กเช่นกัน คือมีค่าเท่ากับ 10.1 ตัว/ปลา พบมีค่ามากที่สุดในปลาขนาดกลางและรองลงมาในปลาขนาดใหญ่ มีค่าเท่ากับ 21.8 และ 21.2 ตัว/ปลา ตามลำดับ นั่นคือ ทั้งปลาขนาดกลางและขนาดใหญ่มีโอกาสติดเชื้อปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนได้สูงกว่าปลาขนาดเล็ก (Table 2) ในขณะที่ปรสิตกลุ่มโคพีพอดตรวจพบได้น้อย จึงไม่สามารถสรุปได้

**Table 2** Prevalence and mean intensity of monogenean parasites of spotted catfish collected in relation to their total length in Bang Pakong River, Chachoengsao Province

| Total length group<br>(cm) | No. fish infected/no. fish examined | Prevalence<br>(%) | Mean intensity<br>(ind./fish) |
|----------------------------|-------------------------------------|-------------------|-------------------------------|
| 1.0-15.0                   | 18/35                               | 51.4              | 10.1                          |
| 15.1-20.0                  | 62/80                               | 77.5              | 21.8                          |
| > 20.0                     | 19/24                               | 79.2              | 21.2                          |
| Total                      | 99/139                              | 71.2              | 19.6                          |

### วิจารณ์ผล

การศึกษาปรสิตที่ขึ้นเหงือกในปลากดหัวแข็ง (*Arius maculatus* (Thunberg, 1792)) จากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทราในครั้งนี้ ตรวจพบปรสิต จำนวน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโมโนจีเนียน พบ 2 สกุล 4 ชนิด ได้แก่ *Chauhanellus poculus*, *Hamatopeduncularia isosimplex*, *H. malayanus* และ *H. simplex* และกลุ่มโคพิพอด 1 ชนิด คือ *Hermilius pyrivertris* พบ *H. isosimplex* เป็นชนิดเด่น ที่มีการแพร่กระจายในทุกเดือนตลอดทั้งปี ซึ่งปรสิตสกุล *Chauhanellus* และ *Hamatopeduncularia* นี้ มีความจำเพาะต่อปลาในวงศ์ Ariidae โดยมีรายงานการพบ *Hamatopeduncularia arii*, *H. elegans*, *H. isosimplex*, *H. malaccensis*, *H. papernai*, *H. pulchra* และ *H. simplex* เป็นต้น ในปลาชนิดนี้ในประเทศมาเลเซีย จีน อินเดีย ออสเตรเลีย ไทย และเคนย่า (Bychowsky and Nagibina, 1969; Lim, 1996; Lim, 1998; Lim et al., 2001) และชนิด *Chauhanellus auriculatum*, *C. oculatus*, *C. poculus* และ *C. pulutanus* ในปลาชนิดนี้ในประเทศมาเลเซีย และจีน (Bychowsky and Nagibina, 1969; Lim, 1994) ซึ่งปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนที่พบในครั้งนี้มีค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาของ Siddiqui (2014) ที่พบ *Hamatopeduncularia indicus* ในฤดูร้อนมากกว่าในฤดูกาลอื่น ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับความเค็มของน้ำในแม่น้ำบางปะกง เนื่องจากความเค็มของน้ำในแม่น้ำบางปะกงตั้งแต่ปากแม่น้ำจนถึงบริเวณคลองอ้อมใหญ่มีความเค็มในฤดูแล้งสูงกว่าในฤดูฝน โดยพบมีค่ามากกว่า 30 psu โดยเฉพาะบริเวณใกล้กับปากแม่น้ำ ประกอบกับปลากดหัวแข็งมีการว่ายน้ำไปมา สืบเนื่องจากการที่สามารถเก็บตัวอย่างปลาได้ในทุกสถานี่ตลอดทั้งปี อาจเป็นไปได้ว่าความทนทานของปรสิตสกุล *Chauhanellus* และ *Hamatopeduncularia* ลดน้อยลงเมื่อความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้น จึงทำให้ความชุกและปริมาณของปรสิตโมโนจีเนียนตรวจพบได้เพิ่มมากขึ้นในฤดูฝน ดังการศึกษาของ Soleng and Bakke (2011) ที่รายงานการแพร่กระจายของปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนชนิด *Gyrodactylus salaris* ว่ามีปริมาณลดลงเมื่อน้ำมีความเค็มเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการแพร่กระจายของปรสิตสกุล *Hamatopeduncularia* มากกว่า *Chauhanellus* เช่นเดียวกับ Tapparuk et al. (2010) ที่ได้ทำการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนกับปลากดวงศ์ Ariidae ในทะเลสาบสงขลา เขตจังหวัดพัทลุง

ปรสิตกลุ่มโคพีพอดชนิด *Hermilius pyrivertris* เป็นที่รู้จักในชื่อ caligid copepod ซึ่งเป็นสกุลที่พบได้ในทะเลเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน (Ho and Kim, 2000) ซึ่งปรสิต *Hermilius* นี้เป็นปรสิตที่มีความจำเพาะกับปลาในวงศ์ปลากรด (Ariidae) (Lin and Ho, 2000) และ Hewitt (1971) ได้กล่าวถึงปรสิต *Caligus* ซึ่งจัดเป็นกลุ่ม caligid copepod เช่นเดียวกัน ว่าเป็นสาเหตุทำให้ปลามีสุขภาพเสื่อมโทรม และมีโอกาสติดเชื้อได้สูงในสภาวะที่มีอุณหภูมิของน้ำและความเค็มสูง นอกจากนี้ปรสิตกลุ่มนี้เป็นปรสิตที่ชอบอยู่ในน้ำกร่อยและน้ำเค็มสามารถพบได้ทั้งในปลารธรรมชาติและในกระชัง (Nagasawa, 2013) จึงสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ตรวจพบปรสิตชนิดนี้ได้เฉพาะในฤดูแล้ง ซึ่งความเค็มของน้ำในฤดูแล้งมีค่าสูงกว่าฤดูฝน จึงทำให้สามารถตรวจพบปรสิตกลุ่มนี้ได้มากเมื่อน้ำมีความเค็มสูงมากกว่าน้ำที่มีความเค็มต่ำ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tassamakorn and Angsupanich (2014) ที่ได้กล่าวถึงปรสิตปรสิตโคพีพอดภายนอกของปลากดบางชนิดในวงศ์ Ariidae บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่างว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความเค็มของน้ำอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จึงเป็นเหตุทำให้สามารถพบปรสิตชนิดนี้ได้มากในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของปลากับการติดปรสิต พบว่าค่าความชุกของปรสิตและค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนมีค่ามากที่สุดที่ปลาขนาดใหญ่ แต่จะมีค่าน้อยในปลาขนาดเล็กและขนาดกลาง สอดคล้องกับการศึกษาของ Mwita and Lamtane (2014) ที่รายงานถึงปรสิตที่พบในปลาจากทะเลสาบ Uba และ Ruwe ในแทนซาเนีย ซึ่งการติดปรสิตอาจเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการหากินของปลา โดยปลากดหัวแข็งเป็นปลาที่หากินตามพื้นน้ำ กินสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลังเป็นอาหารหลัก เช่น ไข่เดือนทะเล และปลาขนาดเล็กเป็นอาหาร (Fishbase, n.d: online) นอกจากนี้ปลากดหัวแข็งมีพฤติกรรมชอบหลบซ่อนตามก้อนหินในน้ำ และมักจะนอนนิ่งๆ อยู่ตามพื้นท้องน้ำ ประกอบกับในวงจรชีวิตของปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนและกลุ่มโคพีพอดเป็นแบบง่าย ๆ ต้องการเจ้าบ้านชนิดเดียว ดังนั้นเมื่อไข่ของปรสิตหลุดมาสู่แหล่งน้ำ จะฟักออกมาเป็นตัวว่ายน้ำเป็นอิสระ และจำเป็นต้องหาเจ้าบ้านเกาะ ทำให้โอกาสที่จะถูกปรสิตเข้าเกาะจึงมีมากขึ้น และตรวจพบปรสิตเพิ่มสูงขึ้น

การศึกษานี้ครั้งนี้แม้ว่าจะพบปรสิตเพียงแค่ 2 กลุ่ม 5 ชนิด แต่ผลการศึกษพบว่าปลามีโอกาสติดปรสิตค่อนข้างสูงโดยเฉพาะปรสิตกลุ่มโมโนจีเนียนมีการแพร่กระจายสูงไม่น้อยกว่า 8 เดือนในรอบปี มีค่าความชุกของปรสิตอยู่ที่ร้อยละ 70-100 และปริมาณที่พบมีมากถึง 30-50 ตัวต่อปลาเจ้าบ้าน 1 ตัว ซึ่งมีผลต่อระบบการหายใจของปลาเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้แม่น้ำบางปะกงเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติ จึงไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อม รวมถึงคุณภาพน้ำต่างๆ ได้ การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำอย่างรวดเร็ว เช่น ความเค็มของน้ำมีค่าต่ำในฤดูฝน และมีค่าสูงในฤดูแล้ง เป็นต้น ทำให้ปลาต้องใช้พลังงานสูงในการปรับตัวให้อยู่ในสภาวะสมดุลของร่างกาย ส่งผลให้สุขภาพของปลาอ่อนแอ และปลาตายได้ในที่สุด

### สรุปผล

การศึกษาปรสิตที่ขึ้นเหงือกของปลากดหัวแข็ง (*Arius maculatus* (Thunberg, 1792)) พบปรสิตทั้งหมด 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโมโนจีเนียนพบ 2 สกุล 4 ชนิด ได้แก่ *Chauhanellus poculus*, *Hamatopeduncularia isosimplex*, *H. malayanus* และ *H. simplex* โดยพบ *H. isosimplex* เป็นชนิดเด่นที่พบมีการแพร่กระจายในทุกเดือนตลอดปี มีค่าความชุกของปรสิตและค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตในปลาเจ้าบ้านมีค่ามากที่สุดในทุกเดือนตลอดปี มีค่าความชุกของปรสิตและค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตในปลาเจ้าบ้านมีค่ามากที่สุดในฤดูฝนและลดต่ำลงในฤดูแล้ง และกลุ่มโคพีพอด 1 ชนิด คือ *Hermilius pyriventris* ที่ตรวจพบได้ในฤดูแล้ง และการติดเชื้อของปรสิตในปลาขนาดใหญ่ (มากกว่า 20.0 เซนติเมตร) พบมีค่าความชุกของปรสิตมากที่สุด เท่ากับร้อยละ 79.2 ในขณะที่ปลาขนาดกลาง (15.1-20.0 เซนติเมตร) มีความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตมากที่สุด เท่ากับ 21.8 ตัว/ปลา แต่ในปลาขนาดเล็ก (น้อยกว่า 15.0 เซนติเมตร) พบค่าความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตน้อยที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 51.4 และ 10.1 ตัว/ปลา ตามลำดับ

### เอกสารอ้างอิง

- Azevedo, C., Casal, G., Mendonça, I., Carvalho, E., Matos, P. and Matos, E. 2010. Light and electron microscopy of *Myxobolus sciades* n. sp. (Myxozoa), a parasite of the gills of the Brazilian fish *Sciades herzbergii* (Block, 1794) (Teleostei: Ariidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 105(2): 203-207.
- Boxshall, G.A. 2005. Copepoda (Copepods). In Rohde K. (ed) Marine parasitology. CABI Publishing, Wallingford. pp. 123-138.
- Bush, A.O., Lafferty, K.H., Lotz, J.M. and Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. J. Parasitol. 83: 575-583.
- Bychowsky, B.E. and Nagibina, L.F. 1969. Ancyrocephalinae (Dactylogyridae, Monogenoidea) from fishes of the family Ariidae. Parazitologiya 3: 337-368. [in Russian].
- Cressey, R.F. 1974. A redescription of *Hermilius pyriventris* Heller (Copepoda: Caligoida) with the first description of the male. Proceedings of the Biological Society of Washington 87(22): 235-244.
- Fishbase.org. *Arius maculatus* (Thunberg, 1792) Spotted catfish. [Online] Available from <http://www.fishbase.org/summary/1280> [2016, July 26]
- Gushev, A. V. 1976. Freshwater Indian Monogenoidea. Principles of systematics, analysis of the world faunas and their evolution. Indian J. Helminthol. 25 & 26: 1-241.
- Hewitt, G.C. 1971. Two species of *Caligus* (Copepoda, Caligidae) from Australian Waters, with a description of some developmental stages. Pac. Sci. 25: 145-164.

- Ho, J.S. 2000. The major problem of cage aquaculture in Asia relating to sea lice. *In* Liao, I.C. and Lin, C.K. eds.: Cage aquaculture in Asia: Proceedings of the First International Symposium on Cage Culture in Asia. Asian Fisheries Society, Manila and World Aquaculture Society, Southeast Asian Chapter, Bangkok. pp. 13-19.
- Ho, J.S. and Kim, I.H. 2000. Copepods of the genus *Hermilius* (Galigidae) parasitic on marine catfish of Kuwait, with a key to the species of *Hermilius*. *Pak. J. Marine Sci.* 9(1&2): 79-90.
- Kabata, Z. 1979. Parasitic copepod of British fishes. The Ray Society, British Museum. London. 468 p.
- Kaewviyudth, S., Lauhachinda, N., Chinabut, S. and Sirikanchana, P. 2001. Proceedings of the 39<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference: Science. 5-7 February 2001. Bangkok. 103-109. [in Thai].
- Khrukhayan, P. 2016. Parasites and pathogenic bacteria causing diseases of cage - cultured Asian seabass in Bang Pakong River. Doctor of Philosophy (Fisheries Science) thesis. Kasetsart University. 146 p. [in Thai]
- Lim, L.H.S. 1994. *Chauhanellus* Bychowsky & Nagibina, 1969 (Monogenea) from ariid fishes (Siluriformes) of Peninsular Malaysia. *Sys. Parasitol.* 28(2): 99-124.
- Lim, L.H.S. 1996. Eight new species of *Hamatopeduncularia* Yamaguti, 1953 (Monogenea: Ancyrocephalidae) from Ariidae of Peninsular Malaysia. *Sys. Parasitol.* 33: 57-71.
- Lim, L.H.S. 1998. Diversity of monogeneans in Southeast Asia. *Inter. J. Parasitol.* 28: 1495-1515.
- Lim, L.H.S., Timofeeva, T.A. and Gibson, D.I. 2011. Dactylogyridean monogeneans of the siluriform fishes of the Old World. *Sys. Parasitol.* 50: 159-197.
- Lin, C.L. and Ho, J.S. 2000. Four species of unrecorded caligid copepods (Siphonostomatoida) parasitic on Marine Fishes of Taiwan. *J. Fish. Soc. Taiwan* 27(3): 201-224.
- Mwita, C. and Lamtane, H. 2014. Population biology of the metazoan parasites infecting fishes from Lakes Uba and Ruwe, lower Rufiji floodplain, Tanzania. *Nat. Sci.* 6: 700-708.
- Nagasawa, K. 2013. *Caligus epidermicus* (Copepoda: Caligidae), a pathogenic sea louse of wild and captive fish in Indo-West Pacific Region: a review. *Bulletin of the Hiroshima University Museum* 5: 71-86.
- Purivirojkul, W. and Areechon, N. 2008. A survey of parasitic copepods in marine fishes from the Gulf of Thailand, Chon Buri Province. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 42: 40-48.

- Siddiqui, A.A. 2014. Effects if seasons, host age, size and sex on monogenetic trematode, *Hamatopeduncularia indicus* of host fish, *Arius jella*. J. Chem. Bio. Phy. Sci. Sec.B. 4:1146-1151.
- Soleng, A. and Bakke, T.A. 2011. Salinity tolerance of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea): laboratory studies. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54(8): 1837-1864.
- Tapparuk, T., Thapanand-Chaidee, T. and Lerssutthichawal, T. 2010. Interaction between monogenean parasites and ariid catfish in Songkhla lake, Patalung area. Thai Fisheries Gazette 63(5): 410-421. [in Thai]
- Tassamakorn, A. and Angsupanich, S. 2014. Ectoparasitic copepods of some catfishes in Family Ariidae in the Lower Songkhla Lagoon. J. Fish. Tech. Res. 8(1): 44-59. [in Thai].
- Tavares, L.E.R. and Luque, J.L. 2004. Community ecology of the metazoan parasites of white sea catfish, *Netuma barba* (Osteichthyes: Ariidae), from the coastal zone of the State of Rio De Janeiro, Brazil. Braz. J. Biol. 64(1): 169-176.
- Thong-ngok, W., Karkkaew, M., Khwangkwang, U., Lempan, M. and Rungrangsri, A. 2013. Feeding habit of some fishes in the Bangpakong River and the Prachinburi River. Department of Fisheries Technical Paper 20/2013. 46 p. [in Thai]
- Violante-González, J., Aguirre-Macedo, ML., Rojas-Herrera, A. and Guerrero, S.G. 2009. Metazoan parasite community of blue sea catfish, *Sciades guatemalensis* (Ariidae), from Tres Palos Lagoon, Guerrero, Mexico. Parasitol. Res. 105: 997-1005.
- Yamaguti, S. 1963. Systema Helminthum, Vol. IV. Monogenea and Aspidocotylea. Interscience publishers, a division of John Wiley & Sons, New York and London. 699 p.

การเกิดขึ้นตามฤดูกาลของโคพีพอดที่เป็นปรสิตภายนอกของปลาตะกรับ  
(*Scatophagus argus* (Linnaeus 1766)) ในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง  
ภาคใต้ ประเทศไทย

Seasonal Occurrence of Ectoparasitic Copepods on Spotted Scat (*Scatophagus argus* (Linnaeus 1766)) in the Lower Songkhla Lagoon, Southern Thailand

อวิรุทธ์ ทศมากร และ เสาวภา อังสุพานิช

Awirut Tassamakorn\* and Saowapa Angsupanich

Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

Hat-Yai, Songkhla 90112, Thailand

\*Corresponding author: spore032@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาโคพีพอดที่เป็นปรสิตภายนอกของปลาตะกรับ (*Scatophagus argus* (Linnaeus 1766)) ในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย เก็บตัวอย่างปลาจำนวน 25 ตัว เป็นประจำทุกเดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2555 ถึงเดือนมกราคม 2556 พบโคพีพอด 3 สกุล 5 ชนิด คือ *Ergasilus* sp. A, *Ergasilus* sp.B, *Caligus epidemicus*, *Caligus rotundigenitalis* และ *Thysanote chalermwati* พบโคพีพอดสกุล *Ergasilus* บริเวณเหงือก 2 ชนิด *Ergasilus* sp.A มีค่า prevalence (52–96%) และค่า mean intensity (8.3–14.6 ind/fish) สูงในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนสิงหาคม 2555 ซึ่งน้ำมีความเค็มในช่วง 12.1–32.2 ppt *Ergasilus* sp.B พบเฉพาะในเดือนมกราคม 2556 มีค่า prevalence 44% ส่วนโคพีพอดสกุล *Caligus* พบ 2 ชนิด โดยพบ *C. epidemicus* บริเวณผิวหนังและครีบ ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน 2555 มีค่า prevalence และค่า mean intensity อยู่ในช่วง 36–100% และ 1.3–7.4 ตัว/ปลา ตามลำดับ ซึ่งน้ำมีความเค็มในช่วง 13.1–32.3 ppt ส่วน *C. rotundigenitalis* พบบริเวณเหงือกและผิวหนังด้านในของแผ่นปิดเหงือก โดยพบเด่นในช่วงเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน 2555 ซึ่งน้ำมีความเค็มในช่วง 17.7–32.3 ppt บริเวณเหงือกมีค่า prevalence และ mean intensity อยู่ในช่วง 48–100% และ 3.2–4.2 ตัว/ปลา ตามลำดับ และพบบริเวณผิวหนังด้านในของแผ่นปิดเหงือก มีค่า prevalence และ mean intensity อยู่ในช่วง 64–100% และ 3.4–5.3 ตัว/ปลา ตามลำดับ *T. chalermwati* พบในโพรงจมูกของปลา ในเดือนสิงหาคมและตุลาคม 2555 มีค่า prevalence 20 และ 8% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าความสัมพันธ์ของความเค็มและความชุกชุมของโคพีพอดสกุล *Caligus* และ *T. chalermwati* มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ  $p < 0.01$

คำสำคัญ: Ectoparasitic copepods, *Scatophagus argus*, ความเค็ม, ทะเลสาบสงขลา



### Abstract

Ectoparasitic copepods on spotted scat or *Scatophagus argus* (Linnaeus 1766) from the Lower Songkhla Lagoon, Songkhla province, Thailand, were examined. Twenty five fish were taken monthly during February 2012 to January 2013. Three genera and five species of copepods were found: *Ergasilus* sp. A and sp. B, *Caligus epidemicus*, *Caligus rotundigenitalis* and *Thysanote chalermwati*. Two species of *Ergasilus* were found on gill filaments. The prevalence (52–96%) and mean intensity (8.3–14.6 ind/fish) of *Ergasilus* sp. A were high during April to August 2012 when the salinity ranged from 12.1 to 32.2 ppt. *Ergasilus* sp. B was found only in January 2013 with a prevalence of 44%. Two *Caligus* species were also found, *C. epidemicus* was found on the skin surface and fins while *C. rotundigenitalis* was found on gill filaments and the inner surface of the operculum. The prevalence and mean intensity of *C. epidemicus* were 36–100% and 1.3–7.4 ind/fish, respectively, during June to November 2012 when the salinity ranged from 13.1 to 32.3 ppt. *C. rotundigenitalis* was dominant during September to November 2012 when the salinity ranged from 17.7 to 32.3 ppt with prevalence and mean intensity of 48–100% and 3.2–4.2 ind/fish on gill filaments and 64–100% and 3.4–5.3 ind/fish on the inner surface of the operculum. *T. chalermwati* was found in nasal cavity in August and October 2012 with prevalences of 20 and 8% respectively. In addition, the relationship between salinity and the abundance of *Caligus* group and *T. chalermwati* was positively significant at  $p < 0.01$ .

**Keywords:** Ectoparasitic copepods, *Scatophagus argus*, Salinity, Songkhla, Lagoon

### Introduction

Songkhla Lagoon, which has a water area of about 1,040 km<sup>2</sup>, is the largest lagoon in southern Thailand. It is divided into four parts: lower part, middle part, upper part and Thale Noi. The lower part of Songkhla Lagoon has an inlet that is connected with the lower Gulf of Thailand. The mean salinity in the lower part of Songkhla Lagoon is higher than in the upper part (Pornpinatepong, 2005; Angsupanich, 2012). The lagoon has been a highly productive area for brackish water plants and animals (Sirimontaporn *et al.*, 1995). The Lower Songkhla Lagoon is full of stow nets and shrimp traps (Angsupanich, 2012). Most of them belong to small-scale fishermen. The carrying capacity of the numerous fishing gears in the lagoon is not seriously controlled by the government. Moreover, the pollution caused by the discharge of factories, household and transportation has been continuously growing over the years, because there has been no serious enforcement of government regulations. These factors have lead to a current disrupted eco-system and a decreased number of aquatic animals (Angsupanich, 2012). Parasitic copepods are a common fish disease causing mortality in

marine cultured fishes (Johnson *et al.*, 2004). A recent review found that a pathogenic sea louse of wild and captive fish in the Indo-West Pacific region has been increasing (Nagasawa, 2013). However, most studies on parasitic copepods in Thai waters have been conducted on freshwater parasitic copepods (Purivirojkul and Sirikanchana, 2000; Lerssutthichawal and Supamattaya, 2005; Kaewviyudth and Prompiram, 2006; Purivirojkul and Areechon, 2008b). A few studies of copepods on marine fish have been carried out. Caligidae, Lernanthropidae and Ergasilidae were found dominantly in marine fishes collected from the Gulf of Thailand, Chonburi province (Purivirojkul and Areechon, 2008a) and a new finding of *Pseudocycnus appendiculatus* on *Thunnus albacores* in the Andaman Sea was recently reported (Purivirojkul *et al.*, 2011). Ectoparasitic copepods were first observed on some commercial catfish in Songkhla Lagoon (Tassamakorn and Angsupanich, 2014). This study found that *Hexanematchthys sagor* was highly attacked by *Ergasilus* during summer (March) to south-west monsoon (June) with prevalences of 83–100% and mean intensities of 105.7–282.8 ind/ fish, while *Arius maculatus* was attacked by *Hermilius pyriventris* during south-west monsoon (August) to north-east monsoon (November) with prevalences of 83–100% and mean intensities of 1.4–24.2 ind/fish. The spotted scat, *Scatophagus argus* (Linnaeus 1766), is another commercial fish in Songkhla Lagoon. Its abundance, however, has been drastically decreasing, for reasons which need to be clarified. Besides water pollution, the infestation of ectoparasitic copepods may be one of the factors reducing the spotted scat population in the area. Thus, the aim of this study was to determine the level of infestation of ectoparasitic copepods on *S. argus* in the Lower of Songkhla Lagoon.

## Materials and Methods

### Study area

The Lower Songkhla Lagoon (Figure 1), the lowermost part of Songkhla Lagoon, is connected with the open sea. The lower part has a water area of about 182 km<sup>2</sup>. It is located at Songkhla province. The water salinity ranges from 0 to 34 ppt depending on the season. It is affected by the SW monsoon during mid-May to mid-October which has light rainfall and thus allows high salinity close to sea levels, and then the NE monsoon during mid-October to mid-February which has heavy rainfall and thus low salinity (Angsupanich, 2012).

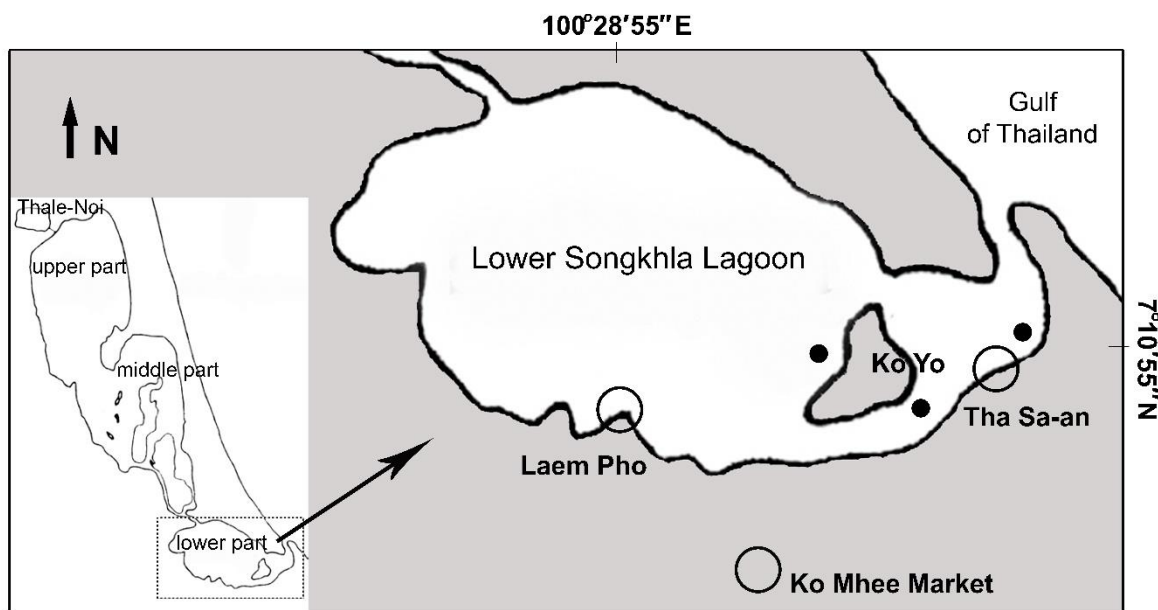


Figure 1 The Lower Songkhla Lagoon and sampling sites: (○) fish sampling and (●) water sampling

### Fish parasite samplings and analyses

Fish samples were collected monthly from February 2012 to January 2013 from local fishermen at two different sites in the Lower Songkhla Lagoon and one local fish market (Ko Mhee) near the lagoon. Pool samples of twenty five *S. argus* were kept in plastic bags and chilled in an ice box. In the laboratory, before examination of ectoparasites, fish body weight (BW) in grams (g) and total length (TL) in centimeters (cm) were measured. Each fish was first examined under a stereomicroscope, and the ectoparasitic copepods removed and preserved with 70% ethyl alcohol. After that the gills were dissected and fixed with 10% neutral formalin for re-examination. Copepods were cleared in 85% lactic acid based on the method of Nagasawa *et al.* (2008) for further identification. Pictures were taken with a Nikon DIGITAL SIGHT DS-Fi1 lens on a Nikon SMZ 1500 digital camera. The location of copepods on the fish gills was recorded from fish collected during July 2012 to January 2013. The presentation was modified from Austin and Avenant-Oldewage (2009). In about the same period as the fish samples were collected, the water salinity (ppt) was measured in triplicate at three sites by using U-50 Multiparameter Water Quality Meter (Horiba, Ltd. Tokyo Japan).

### Data analysis

Prevalence, intensity, mean intensity and abundance of each ectoparasitic species collected from fish were calculated based on Bush *et al.* (1997).

The correlation between the ectoparasitic copepod abundance and water salinity was analyzed with Spearman's correlation using R software version i386 3.0.2.

## Results

### Fish

*S. argus* was found in the Lower Songkhla Lagoon throughout the year. The mean fish body weight and total length ranged from 31.5 to 97.4 g and 9.4 to 14.5 cm, respectively (Table 1). The largest size was found in March 2012 and the smallest size was found in September 2012.

Table 1 Mean body weights (BW, g) and total lengths (TL, cm) of *Scatophagus argus* (N = 25 fish/month)

|      | 2012   |        |        |       |        |        |        |        |       |       |       | 2013   |
|------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|
|      | Feb    | Mar    | Apr    | May   | Jun    | Jul    | Aug    | Sep    | Oct   | Nov   | Dec   | Jan    |
| BW   | 41.2   | 97.4   | 56.8   | 40.3  | 67.5   | 66.2   | 90.4   | 31.5   | 52.8  | 62.0  | 62.0  | 48.0   |
| (SD) | (12.4) | (19.6) | (42.9) | (9.5) | (16.7) | (11.3) | (22.0) | (22.6) | (9.3) | (6.3) | (6.4) | (16.6) |
| TL   | 10.9   | 14.5   | 11.2   | 10.6  | 12.0   | 12.0   | 13.4   | 9.4    | 11.3  | 12.1  | 12.4  | 11.4   |
| (SD) | (1.1)  | (1.1)  | (3.3)  | (0.9) | (0.7)  | (0.9)  | (1.1)  | (1.4)  | (0.9) | (0.5) | (0.3) | (1.1)  |

### Water salinity

The water salinity ranged from 0.9 to 32.3 ppt (Table 2), which gradually increased from February 2012 (2.7) to October 2012 (32.2) and after that decreased to 0.9 in January 2013.

### Distribution of parasitic copepods

Three genera, five species of ectoparasitic copepods and chalimus stages were found on *S. argus*.

### *Ergasilus*

Two species of *Ergasilus*, *Ergasilus* sp.A and sp.B, were found on gill filaments. Both species were significantly negatively correlated with salinity ( $p < 0.01$ ,  $r = -0.36$  for sp.A,  $r = -0.30$  for sp.B). *Ergasilus* sp.A (Figure 2a–b) was found almost throughout the year with the trend of rapidly declining from September through November 2012 during the period of high salinity period (Table 2). *Ergasilus* sp. A occurred with prevalences of 4–96% and mean intensities of 1.0–14.6 ind/fish. Both prevalence and mean intensity tended to be high during February to August 2012 when salinity ranged from 2.7 to 32.2 ppt with the exception of March. In January 2013, the very low salinity month (0.9 ppt), *Ergasilus* sp.A had a low prevalence (36%) even though the mean intensity was high (25.9 ind/fish). In addition, *Ergasilus* sp.B (Figure 2c) was found only in January 2013 with prevalence of 44% and mean intensity of 9.9 ind/fish.

Table 2 Mean of salinity (ppt), prevalences (P, %), mean intensities (MI, ind/fish) with intensities in square brackets and mean abundances (A, ind/fish) with standard deviation in parentheses of *Ergasilus* spp., chalimus stages, *Caligus* spp. and *Thysanote chalmrwati* on *Scatophagus argus* between February 2012 and January 2013

|       |          | parasitic copepods    |         |        |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
|-------|----------|-----------------------|---------|--------|-----------------------|--------|-------|---------------------------|--------|-------|------------------------------|-----|-------|
|       |          | <i>Ergasilus</i> sp.A |         |        | <i>Ergasilus</i> sp.B |        |       | <i>Caligus epidemicus</i> |        |       | <i>Thysanote chalermwati</i> |     |       |
|       |          | gill                  |         |        | gill                  |        |       | skin                      |        |       | nostril                      |     |       |
| month | salinity | P                     | MI      | A      | P                     | MI     | A     | P                         | MI     | A     | P                            | MI  | A     |
| 2012  |          |                       |         |        |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| Feb   | 2.7      | 84                    | 13.2    | 11.1   | 0                     | 0      | 0     | 0                         | 0      | 0     | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [2–35]  | (11.1) |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| Mar   | 15.3     | 12                    | 2.0     | 0.2    | 0                     | 0      | 0     | 0                         | 0      | 0     | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [1–4]   | (0.8)  |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| Apr   | 12.1     | 88                    | 8.3     | 7.3    | 0                     | 0      | 0     | 0                         | 0      | 0     | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [1–40]  | (11.2) |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| May   | 21.2     | 56                    | 14.4    | 8.1    | 0                     | 0      | 0     | 0                         | 0      | 0     | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [2–29]  | (9.6)  |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| Jun   | 13.1     | 96                    | 14.6    | 14.0   | 0                     | 0      | 0     | 88                        | 6.0    | 5.2   | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [1–38]  | (10.3) |                       |        |       |                           | [1–13] | (3.9) |                              |     |       |
| Jul   | 29.8     | 68                    | 8.8     | 6.0    | 0                     | 0      | 0     | 100                       | 7.4    | 7.4   | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [1–46]  | (9.9)  |                       |        |       |                           | [3–13] | (2.7) |                              |     |       |
| Aug   | 32.2     | 52                    | 13.6    | 7.1    | 0                     | 0      | 0     | 52                        | 4.9    | 2.6   | 20                           | 1.0 | 0.2   |
|       |          |                       | [3–53]  | (11.4) |                       |        |       |                           | [1–12] | (3.7) |                              | [1] | (0.4) |
| Sep   | 32.3     | 4                     | 1.0     | 0.04   | 0                     | 0      | 0     | 92                        | 3.4    | 3.1   | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [1]     | (0.0)  |                       |        |       |                           | [1–20] | (4.4) |                              |     |       |
| Oct   | 32.2     | 0                     | 0       | 0      | 0                     | 0      | 0     | 36                        | 1.3    | 0.4   | 8                            | 1.0 | 0.1   |
|       |          |                       |         |        |                       |        |       |                           | [1–3]  | (0.8) |                              | [1] | (0.3) |
| Nov   | 17.7     | 0                     | 0       | 0      | 0                     | 0      | 0     | 80                        | 3.2    | 0.04  | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       |         |        |                       |        |       |                           | [1–8]  | (0.2) |                              |     |       |
| Dec   | 5.7      | 92                    | 3.6     | 3.3    | 0                     | 0      | 0     | 0                         | 0      | 0     | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [1–12]  | (2.8)  |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| 2013  |          |                       |         |        |                       |        |       |                           |        |       |                              |     |       |
| Jan   | 0.9      | 36                    | 25.9    | 9.3    | 44                    | 9.9    | 4.4   | 0                         | 0      | 0     | 0                            | 0   | 0     |
|       |          |                       | [8–117] | (23.6) |                       | [1–33] | (7.9) |                           |        |       |                              |     |       |

Table 2 (Continued)

|       |          | parasitic copepods              |        |       |                 |        |       |       |        |       |                 |        |       |
|-------|----------|---------------------------------|--------|-------|-----------------|--------|-------|-------|--------|-------|-----------------|--------|-------|
|       |          | <i>Caligus rotundigenitalis</i> |        |       |                 |        |       |       |        |       | chalimus stages |        |       |
|       |          | gill                            |        |       | inner operculum |        |       | total |        |       | gill            |        |       |
| month | salinity | P                               | MI     | A     | P               | MI     | A     | P     | MI     | A     | P               | MI     | A     |
| 2012  |          |                                 |        |       |                 |        |       |       |        |       |                 |        |       |
| Feb   | 2.7      | 20                              | 2.0    | 0.4   | 0               | 0      | 0     | 20    | 2.0    | 0.4   | 0               | 0      | 0     |
|       |          |                                 | [1–4]  | (1.0) |                 |        |       |       | [1–4]  | (1.0) |                 |        |       |
| Mar   | 15.3     | 36                              | 2.3    | 0.8   | 0               | 0      | 0     | 36    | 2.3    | 0.8   | 40              | 3.7    | 1.5   |
|       |          |                                 | [1–5]  | (1.5) |                 |        |       |       | [1–5]  | (1.5) |                 | [1–9]  | (2.5) |
| Apr   | 12.1     | 32                              | 11.9   | 3.8   | 0               | 0      | 0     | 32    | 11.9   | 3.8   | 28              | 6.4    | 1.8   |
|       |          |                                 | [1–26] | (7.6) |                 |        |       |       | [1–26] | (7.6) |                 | [1–15] | (3.7) |
| May   | 21.2     | 16                              | 2.0    | 0.3   | 0               | 0      | 0     | 16    | 2.0    | 0.3   | 20              | 3.6    | 0.7   |
|       |          |                                 | [1–3]  | (0.8) |                 |        |       |       | [1–3]  | (0.8) |                 | [1–6]  | (1.7) |
| Jun   | 13.1     | 20                              | 1.6    | 0.3   | 0               | 0      | 0     | 20    | 1.6    | 0.3   | 4               | 2.0    | 0.1   |
|       |          |                                 | [1–3]  | (0.7) |                 |        |       |       | [1–3]  | (0.7) |                 | [2]    | (0.4) |
| Jul   | 29.8     | 16                              | 1.8    | 0.3   | 0               | 0      | 0     | 16    | 1.8    | 0.3   | 0               | 0      | 0     |
|       |          |                                 | [1–3]  | (0.7) |                 |        |       |       | [1–3]  | (0.7) |                 |        |       |
| Aug   | 32.2     | 40                              | 5.3    | 2.1   | 0               | 0      | 0     | 40    | 5.3    | 2.1   | 24              | 4.7    | 1.1   |
|       |          |                                 | [1–10] | (3.2) |                 |        |       |       | [1–10] | (3.2) |                 | [2–8]  | (2.3) |
| Sep   | 32.3     | 100                             | 4.2    | 4.2   | 100             | 5.3    | 5.3   | 100   | 9.5    | 9.4   | 56              | 2.0    | 1.1   |
|       |          |                                 | [1–22] | (4.3) |                 | [1–17] | (3.4) |       | [1–34] | (7.4) |                 | [1–6]  | (1.4) |
| Oct   | 32.2     | 92                              | 3.2    | 3.0   | 72              | 3.4    | 2.6   | 100   | 6.6    | 5.5   | 60              | 1.9    | 1.1   |
|       |          |                                 | [1–8]  | (2.3) |                 | [1–8]  | (2.2) |       | [1–16] | (4.1) |                 | [1–5]  | (1.3) |
| Nov   | 17.7     | 48                              | 3.7    | 1.8   | 64              | 4.3    | 2.7   | 64    | 7.1    | 4.8   | 44              | 2.1    | 0.9   |
|       |          |                                 | [1–8]  | (2.5) |                 | [1–10] | (3.0) |       | [1–18] | (4.6) |                 | [1–5]  | (1.3) |
| Dec   | 5.7      | 0                               | 0      | 0     | 0               | 0      | 0     | 0     | 0      | 0     | 0               | 0      | 0     |
| 2013  |          |                                 |        |       |                 |        |       |       |        |       |                 |        |       |
| Jan   | 0.9      | 24                              | 1.8    | 0.4   | 0               | 0      | 0     | 24    | 1.8    | 0.4   | 4               | 1.0    | 0.04  |
|       |          |                                 | [1–6]  | (1.2) |                 |        |       |       | [1–6]  | (1.2) |                 | [1]    | (0.2) |



Figure 2 Parasitic copepods on *Scatophagus argus*. a, *Ergasilus* sp.A; b, *Ergasilus* sp.A attached on gill filaments; c, *Ergasilus* sp.B; d, *Caligus epidemicus*; e, *C. epidemicus* attached on body skin underneath pectoral fin; f, *Caligus rotundigenitalis*; g, chalimus stage; h, *Thysanote chalermwati*; i *T. chalermwati* in nasal cavity (arrow head)

Six hundred and forty three specimens of *Ergasilus* sp.A were found on the gill filaments of 63 fish. Most of them were attached at the proximal anterior of the gill filaments (52.4%), followed by the proximal posterior (23.8 %) and median part (21.6%) of gill filaments (Figure 3). Ninety five *Ergasilus* sp.B specimens were obtained from 11 fish. The highest distribution of *Ergasilus* sp.B was also found at the proximal anterior area of gill filaments (56.9%).



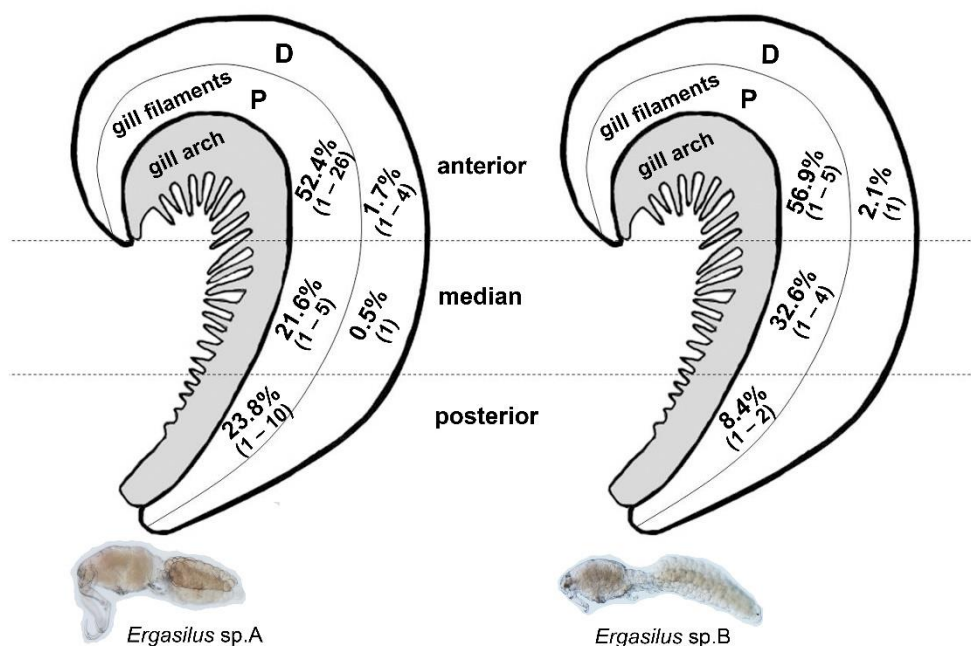


Figure 3 Percentages of *Ergasilus* sp.A (left) and *Ergasilus* sp.B (right) distributed on *Scatophagus argus* gill, intensity in parentheses (ind/gill), P, proximal; D, distal

### *Caligus*

Two species of *Caligus*, *Caligus epidemicus* and *Caligus rotundigenitalis*, were found on *S. argus*. Both species showed a significantly positive correlation with salinity at  $p < 0.01$  ( $r = 0.45$  for *C. epidemicus*,  $r = 0.49$  for *C. rotundigenitalis*). *C. epidemicus* (Figure 2d) was found on fins and body skin in the high salinity period during June to November with prevalences of 36–100% and mean intensities of 1.3–7.4 ind/fish (Table 2). The largest number of copepods occurred after the dry season during June to September with salinities of 13.1–32.3 ppt. Most were attached on the body skin underneath the pectoral fin (46.2%, Figure 2e) and other areas of body skin (42.9%). Only 10.9% of the ectoparasites were found on other fins. *C. rotundigenitalis* (Figure 2f) was found on gill filaments almost the year round with prevalences of 16–100% (Table 2) and mean intensities of 1.6–11.9 ind/fish. It was dominant in the continuous high salinity season (September to November), which was opposite to the occurrence of *Ergasilus* sp.A. In September, all fish samples were infested by *C. rotundigenitalis* both on gill filaments and inner surfaces of the opercula with mean intensities of 4.2 and 5.3 ind/fish, respectively. Chalimus stages (Figure 2g) were found on gill filaments mostly in the brackish to sea water period during March to November 2012. The prevalences of chalimus stages were 4–60% and mean intensities 1.0–6.4 ind/fish. Chalimus stages significantly positively correlated with salinity at  $p < 0.01$  ( $r = 0.32$ ).



### *Thysanote chalermwati*

*Thysanote chalermwati* (Figure 2h–i) was found in nasal cavities in August and October 2012 with salinity of 32.2 ppt (Table 2) at prevalences of 20 and 8%, respectively. The mean intensity in both months was 1.0 ind/fish. It also showed a significantly positive correlation with salinity at  $p < 0.01$  ( $r = 0.18$ ).

## Discussion

Songkhla Lagoon is a choked lagoon which connects to the sea through a single inlet (Kjerfve, 1994). The salinity of the Lower Songkhla Lagoon is generally brackish water almost all year long, with very low salinity for a few months during the heavy rainy season from December to February (Angsupanich and Rakkheaw, 1997; Angsupanich *et al.*, 2005; Angsupanich, 2012). The seasonal variations of water salinity in Songkhla Lagoon are influenced by tidal currents, land drainage and rainfall, which also affects the diversity of aquatic species (Angsupanich, 2012). However, none of these effects were obvious for *S. argus* in the Lower Songkhla Lagoon as it was found throughout the year, with the largest numbers during the increasing water salinity from March to August. It is a euryhaline fish which is distributed along the shores of the Indo-West Pacific Ocean (Kottelat, 2001; Wongchinawit and Paphavasit, 2009).

Five species of ectoparasitic copepods were found attached to *S. argus* in Songkhla Lagoon, two *Ergasilus*, two *Caligus* and one *Thysanote* species. These numbers are similar to the species found on *S. argus* in Segara Anakan Lagoon, Indonesia during August to November 2004 (Yuniar *et al.*, 2007). Two species of *Ergasilus* were found just on the gill filaments of *S. argus* in Songkhla Lagoon. Yuniar *et al.* (2007) also found two species of *Ergasilus* on the gill filaments, with one of them found on the inner operculum as well. Unfortunately, a comparative study could be carried out at the generic level only because morphological illustrations of *Ergasilus* found on *S. argus* in the paper of Yuniar *et al.* (2007) were not available. Although the distributions of *Ergasilus* in Segara Anakan Lagoon and Songkhla Lagoon occurred in a wide range of water salinity ranges, the higher prevalences and mean intensities of the dominant copepod, *Ergasilus* sp.A in the present study, were found in a wider salinity range (0.9–29.8 ppt) than that in Segara Anakan Lagoon (19–31 ppt). Both *Ergasilus* sp.A and *Ergasilus* sp.B were significantly negative correlated with salinity, but they tolerated different salinity ranges. The optimum salinity for *Ergasilus* sp.A was brackish water, which is normal the Songkhla Lagoon. Its prevalence and mean intensity decreased markedly as the salinity continuously increased to over 30 ppt for a few months, while *Ergasilus* sp.B was found only in January in moderate abundance when the water salinity was near to 0 ppt because of the heavy

rainfall during the previous weeks. Thus, *Ergasilus* sp.B is probably normally a freshwater species, and the short period of a very low salinity environment in the Songkhla Lagoon may limit the distribution of freshwater species. Recently, Tassamakorn and Angsupanich (2014) investigated ectoparasites on catfish, *H. sagor*, in the Lower Songkhla Lagoon. They found two species of *Ergasilus* which were different from those found on *S. argus*. The distribution of parasitic copepods such as Ergasilidae and Caligidae are occasionally related to water salinity levels (Noga, 2010).

In the present study, *Ergasilus* found on gill filaments were mostly congregated on the anterior area near to the median area. This was also noted in the attachment of *Ergasilus gibbus* in European eels, *Anguilla anguilla* (Soylu *et al.*, 2013) and *Ergasilus* spp. in Songkhla Lagoon *H. sagor* (Tassamakorn and Angsupanich, 2014). However, *E. gibbus* were found at a high density at the distal part of the gill filaments while *Ergasilus* spp. of Songkhla *H. sagor* (Tassamakorn and Angsupanich, 2014) and *S. argus* were at the proximal area.

*C. epidemicus* has been reported as a significant pathogenic parasite of wild and cultured fish in the Indo-West Pacific region (Nagasawa, 2013). This species can tolerate a wide range of salinities in the lower reaches of river and estuarine environments (Regidor and Arthur, 1986; Roubal, 1997; Nagasawa, 2013). *C. epidemicus* of the Songkhla *S. argus* also occur in a wide range of salinities, but tend to be more common in highly brackish water (13.1–32.3 ppt), which corresponds with the studies of Yuniar *et al.*, (2007) and Roubal (1997). The latter study reported that all *C. epidemicus* were active for at least 40 h in the 30 ppt salinity. The prevalence (4.3%), mean intensity (1.3 ind/fish) and attached location (skin) of *C. epidemicus* on *S. argus* in Segara Anakan Lagoon were less than in the present study. Songkhla *C. epidemicus* were found attached on both the body skin and fins with the highest density on the body skin under the pectoral fins. However, the chalimus stage on the gills of Segara Anakan *S. argus* was found in higher abundance than the Songkhla *S. argus*. Other reports of the chalimus and adult stages of *C. epidemicus* have said they were mainly found on the pectoral fins of *Acanthopagrus australis* (Roubal, 1994) and *Ambassis marinus* (Hallett and Roubal, 1995). In Songkhla catfish, a high prevalence of *C. epidemicus* was also found attached on *H. sagor* on the gill filaments (83%), although with a very low mean intensity (1.0 ind/fish) at a salinity of 17.7 ppt (Tassamakorn and Angsupanich, 2014). In addition, chalimus stages and adult of *Caligus* sp. were also found on gill lamella of *S. argus* in Tebrau Straits, Malaysia (Ihwan *et al.*, 2016).

Besides *C. epidemicus* on the skin of Songkhla *S. argus*, *C. rotundigenitalis* was also found on the gill filaments and inner operculum. Pillai (1985) also reported *C. rotundigenitalis* on *Lutianus malabaricus*, *Caranx speciosus* and *S. argus* in China and India. In Southeast Asia, Yuniar *et al.* (2007) found *C. rotundigenitalis* on the inner operculum of *Mugil cephalus* in Indonesia while Leaw

*et al.* (2012) found *C. rotundigenitalis* on the inner operculum and body skin of *Lutjanus erythropterus* in Malaysia. Although *C. rotundigenitalis* was observed throughout the present study, the highest intensity appeared in the high salinity season. Moreover, the occurrence of *C. rotundigenitalis* was higher than *C. epidemicus*. These results are rather different from a *Caligus* infestation in Malaysian sea bass culture (Muhd-Faizul *et al.*, 2012) which found heavy attachment by *C. epidemicus* within a wide range of salinities (5–28 ppt) and a relatively small number of *C. rotundigenitalis* within a narrow salinity range (25–28 ppt). Most unidentified chalimus stages of the present finding were supposed to be life stages of *C. rotundigenitalis* for the following reasons: 1) they occurred mostly in the same period of the adult *C. rotundigenitalis*; 2) fine structures of leg 4 resembled those of adults; and 3) morphological characteristics were different from the chalimus stage of *C. epidemicus*, as described by Lin *et al.* (1996), with at least 2 major differences, the abdomen and leg 4 of the Songkhla chalimus were markedly longer than those of *C. epidemicus*.

In addition, *S. argus* bearing *T. chalermwati* in the nasal cavity was found only in the high salinity season. This species has been described as a new species collected from the nasal cavity of *S. argus* in the Gulf of Thailand (Piasecki *et al.*, 2008). *Thysanote* sp. found on *S. argus* from Segara Anakan Lagoon (Yuniar *et al.*, 2007) was assumed to be *T. chalermwati* (Piasecki *et al.*, 2008).

### Conclusion

Five species of ectoparasitic copepods and chalimus stages were found on *S. argus* in the Lower Songkhla Lagoon. The occurrences of the ectoparasitic copepods were correlated to water salinity ranges. The abundances of *Ergasilus* sp.A and sp.B were significantly negatively correlated to salinity while those of the *Caligus* group and *T. chalermwati* were significantly positive. Although each copepod species could tolerate some different degrees of salinity, most were found in the SW monsoon season during June to September. Therefore, this overlapping occurrence of several copepod species may be the cause of the severe infestation in *S. argus* noted in recent years. Further monitoring of fish parasites in the whole area of Songkhla Lagoon should be a priority in order to find a way to control this dangerous parasite.

### Acknowledgments

The authors would like to thank Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University for providing us support during this research. This study was funded by the National Research Council of Thailand (Year 2013).

## References

- Angsupanich, S. 2012. Songkhla Lagoon Ecosystem. Office of the National Research Council of Thailand, Bangkok. 96 p. [in Thai]
- Angsupanich, S., and Rakkheaw, S. 1997. Seasonal variation of phytoplankton community in Thale Sap Songkhla, a lagoonal lake in southern Thailand. *Neth. J. Aquat. Ecol.* 30: 297 – 307.
- Angsupanich, S., Siripecth, A., and Charoenpornthip, M. 2005. Macrobenthic fauna community in the middle Songkhla lake, southern Thailand. *Songklanakarin. J. Sci. Technol.* 27: 365 – 390.
- Austin, A., and Avenant-Oldewage, A. 2009. Ecological parameters of *Lamproglana hoi* (Copepoda: Lernaecidae) infection on the Bushveld smallscale yellowfish, *Labeobarbus polylepis* (Boulenger, 1907). *Onderstepoort. J. Vet. Res.* 76: 227 – 234.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., and Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 83: 575 – 583.
- Hallett, S. L., and Roubal, F. R. 1995. Experiments on the infection dynamics of *Caligus epidemicus* (Copepoda: Caligidae) on the small marine fish, *Ambassis marianus* (Günther). *J. Fish. Dis.* 18: 59 – 66.
- Ihwan, M.Z., Wahidah, W., Marina, H., Shaharom - Harisson, F. Rabi-Atun, A.A., and Suhairi, M. 2016. A case study of fish distress: prevalence and mean intensity of parasites. *A. A. J.* 1: 56 – 60.
- Johnson, S.C., Treasurer, J.W., Bravo, S., Nagasawa, K., and Kabata, Z. 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zool. Stud.* 43: 229 – 243.
- Kaewwiyudth, S., and Prompiram, P. 2006. Parasites of scale fishes in the Mekong River. *Proceedings of the 44<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference: Science.* Bangkok, Thailand. January 30 – February 2, 2006. 195 – 199. [in Thai]
- Kjerfve, B. 1994. Comparative oceanography of coastal lagoons. In: *Estuarine Variability.* edited by Woflt, D.A. Academic Press, Florida. pp. 63 – 80.
- Kottelat, M. 2001. Scatophagidae. In: *FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes, The Living Marine Resources of the Western Central Pacific Vol 6.* edited by Carpenter, K.E. and Niem V.H. FAO, Rome. pp. 3623 – 3626.
- Leaw, Y.Y., Faizah, S., Anil, C., and Kua, B.C. 2012. Prevalence, mean intensity and site preference of *Caligus rotundigenitalis* Yü, 1933 (Copepoda: Caligidae) on cage cultured crimson snapper (*Lutjanus erythropterus* Bloch, 1790) from Bukit Tambun, Penang, Malaysia. *Vet. Parasitol.* 187: 505 – 510.

- Lerssutthichawal, T. , and Supamattaya, K. 2005. Diversity and distribution of parasites from potentially cultured freshwater fish in Nakhon Si Thammarat. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 27: 333 – 345. [in Thai]
- Lin, C.L. , Ho, J.S. , and Chen, S.N. 1996. Developmental stages of *Caligus epidemicus* Hewitt, a copepod parasite of tilapia cultured in brackish water. J. Nat. His. 30: 661 – 684.
- Muhd-Faizul, H.A.H., Kua, B.C., and Leaw, Y.Y. 2012. Caligidae infestation in Asian seabass, *Lates calcarifer*, Bloch 1790 cultured at different salinity in Malaysia. Vet. Parasitol. 184: 68 – 72.
- Nagasawa, K. 2013. *Caligus epidemicus* (Copepoda: Caligidae), a pathogenic sea louse of wild and captive fish in the Indo-West Pacific Region: a review. Bulletin of the Hiroshima University Museum 5: 71 – 86.
- Nagasawa, K., Umino, T., Uyeno, D., Ohtsuka, S., and Koizumi, H. 2008. Infection with the parasitic copepod *Clavella parva* (Lernaeopodidae) in gold-eye rockfish *Sebastes thompsoni* broodstock in Japan. Fish. Pathol. 43: 55 – 60.
- Noga, E.J. 2010. Fish Diseases : Diagnosis and Treatment. 2<sup>nd</sup> ed., Wiley-Blackwell, Ames, Iowa. 367 p.
- Piasecki, W., Ohtsuka, S., and Yoshizaki., R. 2008. A new species of *Thysanote* Kroyer, 1863 (Copepoda: Siphonostomatoida: Lernaeopodidae), a fish parasite from Thailand. Acta. Ichthyol. Piscat. 38: 29 – 35.
- Pillai, N.K. 1985. The fauna of India – parasitic copepods of marine fishes (Government of India, Calcutta). Zoological Survey of India, Calcutta. 900 p.
- Pornpinatepong, S. 2005. Salt transport in Songkhla lake. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 27: 889 – 900.
- Purivirojkul, W. , and Areechon, N. 2008a. A survey of parasitic copepods in marine fishes from the Gulf of Thailand, Chon Buri Province. Kasetsart. J. (Nat. Sci.) 42: 40 – 48.
- Purivirojkul, W., and Areechon, N. 2008b. Parasitic diversity of Siluriform fishes in the Mekong River, Chiang Rai province. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 42: 34 – 39.
- Purivirojkul, W. , and Sirikanchana, P. 2000. Parasites of pla soi khao *Cirrhinus jullieni* Sauvage from Suphan Buri River, changwat Suphan Buri. Proceedings of the 38<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference: Fisheries and Science, Bangkok, Thailand. February 1 – 4, 2000. 37 – 46. [in Thai]
- Purivirojkul, W. , Chaidee, P. , and Thaoanand-Chaidee, T. 2011. New record of *Pseudocycnus appendiculatus* Heller, 1886 parasites of Yellowfin Tuna *Thunnus albacores* (Bonnaterre, 1788) in the Andaman Sea, Thailand. Walailak. J. Sci. Tech. 8: 81 – 85.

- Regidor, S.E., and Arthur, J.R. 1986. Parasites of juvenile milkfish, *Chanos chanos*. Proceedings of the First Asian Fisheries Forum. Manila, Philippines, May 26 – 31, 1986. 261 – 264.
- Roubal, F.R. 1994. Histopathology caused by *Caligus epidemicus* Hewitt (Copepoda: Caligidae) on captive *Acanthopagrus australis* (Günther) (Pisces: Sparidae). J. Fish. Dis. 17: 631 – 640.
- Roubal, F.R. 1997. Survival and development of *Caligus epidemicus* Hewitt in sea water of different salinity. Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol. 17: 78 – 80.
- Sirimontaporn, P., Nitithamyong, C., and Angsupanich, S. 1995. The niche of fish and shellfish in Thale Sap Songkhla, southern Thailand. J. ISSAAS. 1: 40 – 55.
- Soylu, E., Colak, S.O., Erdogan, F., Erdogan, M., and Tektas, N. 2013. Microhabitat distribution of *Pseudodactylogyrus anguillae* (Monogenea), *Ergasilus gibbus* and *Ergasilus lizae* (Copepoda) on the gills of European eels (*Anguilla anguilla*, L.). Acta. Zool. Bulg. 65: 251 – 257.
- Tassamakorn, A., and Angsupanich, S. 2014. Ectoparasitic copepods of some catfishes in family Ariidae in the Lower Songkhla Lagoon. J. Fish. Tech. Res. 8: 44 – 59. [in Thai]
- Wongchinawit, S., and Paphavasit, N. 2009. Ontogenetic niche shift in the spotted scat, *Scatophagus argus*, in Pak Phanang estuary, Nakhon Si Thammarat province, Thailand. Nat. Hist. J. Chulalongkorn. Univ. 9: 143 – 169.
- Yuniar, A.T., Palm, H.W., and Walter, T. 2007. Crustacean fish parasites from Segara Anakan Lagoon, Java, Indonesia. Parasitol. Res. 100: 1193 – 1204.

## การสะสมโลหะหนักในน้ำ ดินตะกอน และปลา ในลำน้ำมูล

### Bioaccumulation of heavy metals in water, sediment and fish from Mun River

ธวัชชัย ธาณี<sup>1,2</sup> พนิดา พันธสมบัติ<sup>1</sup> อรุณรัตน์ จวีระราช<sup>2,3</sup> รุ่งลาวัลย์ สุดมูล<sup>2,3</sup> และสำเนาวิ เสาวกุล<sup>4,\*</sup>

Tawatthai Tanee<sup>1,2</sup>, Panida Punsombut<sup>1</sup>, Arunrat Chaveerach<sup>2,3</sup>, Runglawan Sudmoon<sup>2,3</sup>

and Samnao Saowakoon<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

<sup>2</sup>กลุ่มวิจัยพันธุศาสตร์และพิษวิทยาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup>ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>4</sup>คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

<sup>1</sup>Faculty of Environment and Resource Studies, Mahasarakham University

<sup>2</sup>Genetics and Environmental Toxicology (GET) Research Group, Khon Kaen University

<sup>3</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University

<sup>4</sup>Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin campus

\*Corresponding author: saowakoon@gmail.com

### บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของโลหะหนักในลำน้ำและสิ่งมีชีวิตในน้ำเป็นหนึ่งในปัญหาที่สำคัญซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพคน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสะสมโลหะหนักในตะกอนดิน น้ำ และปลาในลำน้ำมูล โดยเก็บตัวอย่างตะกอนดิน น้ำ และปลาในลำน้ำมูล วิเคราะห์ปริมาณ สังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่ว และคำนวณค่าการสะสมโลหะหนัก (bioconcentration factor, BCF) พบว่าสังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่ว ในตะกอนดินและน้ำมีปริมาณ 12.78-115.30, 8.12-25.63, 8.79-9.08 และ 47.38-111.82 mg/kg ตามลำดับ และ 13.39-16.35, 8.00-8.36, 4.35-6.59 และ 27.38-31.80 mg/L ตามลำดับ ปริมาณโลหะหนักทุกชนิดที่ตรวจพบในน้ำมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐาน ในขณะที่ในตะกอนดินมีเพียงปริมาณสังกะสีที่มีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐาน ในปลา 9 ชนิด มีปริมาณโลหะหนักในแต่ละอวัยวะเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ ทางเดินอาหาร > เหงือก > เนื้อ และมีค่า BCF เรียงจากมากไปน้อยคือ สังกะสี > ตะกั่ว > แคดเมียม > ทองแดง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณแคดเมียมและตะกั่วในเนื้อปลามีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานถึง >30 และ >100 เท่า

**คำสำคัญ:** การสะสมของโลหะหนัก ตะกอนดิน ปลา BCF ลำน้ำมูล

### Abstract

Contamination of heavy metals in river and organisms is one of the main problems that may affect on human health. This research aimed to study accumulation of heavy metals in soil sediment, water, and fish species in the Mun River. The soil sediment and water samples from three stations and fish samples were collected along the river. Concentrations of heavy metals including zinc (Zn), copper (Cu), cadmium (Cd), lead (Pb) were analyzed using atomic absorption spectroscopy (AAS) and these data were used for calculation of bioconcentration factor (BCF). The

concentrations of Zn, Cu, Cd, and Pb in soil sediment and water samples are 12.78-115.30, 8.12-25.63, 8.79-9.08 and 47.38-111.82 mg/kg, respectively and 13.39-16.35, 8.00-8.36, 4.35-6.59 and 27.38-31.80 mg/L, respectively. The concentrations of Zn in soil sediment and all heavy metals detected in the water samples exceed the standard levels. The accumulation of heavy metals in different fish organs (muscle, gill, stomach-intestine) of nine fish species was found in diminishing order of stomach-intestine > gill > muscle. The BCF values of the heavy metals were found in diminishing order of Zn > Pb > Cd > Cu. Unfortunately, concentrations of Cd and Pb detected in fish were >30 and >100 times higher than the standard levels.

**Keywords:** heavy metal accumulation, soil sediment, fish, BCF, Mun River

### คำนำ

น้ำเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ รวมทั้งจำเป็นสำหรับการพัฒนาเศรษฐกิจขั้นพื้นฐาน ตลอดจนการระบายของเสียจากชุมชน แหล่งน้ำจึงเป็นตัวที่รองรับมลพิษที่เกิดจากกิจกรรมที่แตกต่างกัน ก่อให้เกิดผลกระทบที่แตกต่างกัน ปัญหาภาวะทางน้ำในปัจจุบันคือการมีทั้งสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์รวมถึงโลหะหนักในปริมาณที่มากทำให้สิ่งมีชีวิตไม่สามารถปรับเปลี่ยนการดำรงชีวิตหรือใช้สารเคมีที่มีในแหล่งน้ำได้ทัน จึงมีการตกค้างและสะสมในน้ำ โดยเฉพาะโลหะหนักซึ่งไม่สามารถสลายตัวได้ด้วยกระบวนการในธรรมชาติ จึงตกตะกอนสะสมอยู่ทั้งในดิน ดินตะกอนที่อยู่ในน้ำ รวมถึงพืชน้ำและสัตว์น้ำ (Keepax *et al.*, 2011; Tanee *et al.*, 2013)

ปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักในแม่น้ำกลายเป็นปัญหาที่สำคัญในตลอดช่วงเวลาที่ผ่านมา เพราะไม่เพียงแต่จะมีปัญหาต่อการใช้น้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค แต่ยังต้องกังวลทั้งเรื่องความเป็นพิษ การไม่ย่อยสลาย รวมถึงการสะสมในสิ่งมีชีวิตและการสะสมในระบบห่วงโซ่อาหาร (Terra *et al.*, 2008) จึงอาจทำให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของผู้ที่บริโภคสัตว์น้ำเป็นอาหารด้วย โดยปลาเป็นอาหารที่สำคัญต่อผู้บริโภคและยังเป็นดัชนีชีวภาพที่ใช้บอกการปนเปื้อนของสารมลพิษได้อีกด้วย (Rashed, 2001) มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการสะสมโลหะหนักในปลามากมายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ที่รายงานการสะสมของโลหะหนักเช่น แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว สังกะสี และทองแดง เป็นต้น ในอวัยวะส่วนต่างๆ ของปลา ว่ามีการสะสมของโลหะหนักที่แตกต่างกันในแต่ละอวัยวะของปลา (Rashed, 2001; Chi *et al.*, 2007; Terra *et al.*, 2008; Tanee *et al.*, 2013) โลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำและตะกอนดินสามารถเข้าสู่ปลาและส่งต่อไปยังคนได้โดยตรงจากการบริโภคปลา ก่อให้เกิดโทษหรือความเป็นพิษต่อร่างกายหลายด้าน เช่น เป็นสาเหตุการเกิดมะเร็ง ทำลายระบบของกระดูกสันหลัง ทำให้ความดันโลหิตสูง ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และทำให้ดีเอ็นเอแตกหัก (Manahan, 2003) ดังนั้นจึงควรมีการเร่งศึกษาเกี่ยวกับปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนักเพื่อเผยแพร่ข้อมูลให้ประชาชนได้รับทราบและเฝ้าระวังความเป็นพิษของโลหะหนัก

แม่น้ำมูลเป็นแม่น้ำสายหลักที่สำคัญของภาคอีสานที่ใช้ในการอุปโภคบริโภคทั้งเป็นแหล่งรองรับน้ำทิ้งจากชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม จากการทำการเกษตรที่มีการใช้สารเคมี รวมถึงน้ำท่วมและตะกอนดินจาก



แหล่งอื่นที่มีการปนเปื้อนสารเคมี น้ำในแม่น้ำจึงมีโอกาสปนเปื้อนโลหะหนัก รวมทั้งมีการสะสมของโลหะหนักในสัตว์น้ำด้วย ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาปริมาณการสะสมของโลหะหนักสังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่วในน้ำ ตะกอนดิน และในปลา รวมถึงในอวัยวะต่างๆ ของปลา ได้แก่ เนื้อ ทางเดินอาหาร และเหงือก ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ต่อประชาชนทั้งในด้านสุขภาพอนามัยและเศรษฐกิจ รวมทั้งเพื่อหาแนวทางสำหรับการวางแผนป้องกัน แก้ไขปัญหา หรือการจัดการแหล่งน้ำต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. พื้นที่ศึกษาและจุดเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างตะกอนดิน น้ำ และปลา ในจุดเก็บตัวอย่างตามที่กำหนด จำนวน 3 สถานี (Table 1 and Figure 1) ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกนำไปศึกษาปริมาณการสะสมโลหะหนัก ได้แก่ สังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่ว

### 2. การเก็บตัวอย่าง

#### 2.1) การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำที่บริเวณกึ่งกลางของแม่น้ำโดยใช้เครื่องเก็บตัวอย่างน้ำหรือขวดเก็บตัวอย่างน้ำ (โพลีเอทิลีน) ที่ล้างด้วยน้ำตัวอย่างแล้ว 2-3 ครั้ง จุ่มลงไปใต้ผิวน้ำในระดับความลึก 50 ซม. อย่างรวดเร็ว เก็บน้ำให้เต็มจนไม่มีช่องว่างภายในภาชนะและปิดฝาให้แน่นโดยทันที เพื่อป้องกันน้ำตัวอย่างถูกอากาศออกซิไดซ์ ตามวิธีการของ Davies *et al.* (2006)

#### 2.2) การเก็บตัวอย่างตะกอนดิน

เก็บตัวอย่างดินตะกอนที่บริเวณกึ่งกลางและริมขอบของแม่น้ำ โดยใช้ Ekman's grab แล้วนำมาผสมในอัตราส่วน 1 : 1 ให้เข้ากัน เก็บตัวอย่างดินประมาณ 100 กรัม ใส่ถุงพลาสติกเกรดปากให้แน่น นำไปแช่เย็นในถังน้ำแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการคณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ต่อไป

#### 2.3) การเก็บตัวอย่างปลา

สุ่มตัวอย่างปลาจากทั้ง 3 สถานี ชนิดละ 3-5 ตัว ได้แก่ ได้แก่ กระจับปี่ (Trichogaster trichopterus) ช่อน (Channa striata) ชะโด (C. micropeltes) ปลา (Labiobarbus siamensis) ตะเพียนขาว (Barbonymus gonionotus) สร้อย ย น ก เข า (Osteochilus hasselti) สร้อย ย ปี่ แดง (Henicorhynchus ornatipinnis) หมอช้างเหี้ยบ (Pristolepis fasciatus) และหมอไทย (Anabas testudineus) นำปลาที่ได้มาล้างให้สะอาดแล้วแช่น้ำแข็ง และนำมาเก็บที่ตู้ 4°C ที่ห้องปฏิบัติการคณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ เพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

**Table 1** List of the three stations studied in the Mun River.

| station | reference site                                            | Location                 |
|---------|-----------------------------------------------------------|--------------------------|
| 1       | Namluek community, Satuek district, Buri Ram province     | 15° 17'53"N 103° 17'15"E |
| 2       | Ban Kutchap, Thatum district, Surin province              | 15° 21'11"N 103° 44'36"E |
| 3       | Mun river bridge, Rasi Salai district, Si Sa Ket province | 15° 20'24"N 104° 9'1"E   |



Figure 1 Location of the three stations studied in the Mun River.

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก

#### 3.1) การเตรียมตัวอย่างน้ำ

ใช้วิธีการตาม Tanee *et al.* (2013) ดังนี้ เขย่าน้ำตัวอย่างให้เข้ากัน เติมนิกเกิล 50 mL เติมส่วนผสมกรด (conc.  $\text{HNO}_3$ :  $\text{HClO}_4$ , 3:1) 12 mL ย่อยตัวอย่างด้วยความร้อนต่ำๆ รอจนน้ำเกือบแห้งและได้สารละลายใส จึงทิ้งไว้ให้เย็นและนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No. 4) แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water)

#### 3.2) การเตรียมตะกอนดิน

ใช้วิธีการตาม Pyle *et al.* (2005) โดยอบตะกอนดินที่อุณหภูมิ  $103-105^\circ\text{C}$  ใน hot air oven เป็นเวลา 48 h แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ซึ่งมา 1 g ใส่ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำ 12 mL ย่อยตัวอย่างที่  $100^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 30 min ทิ้งให้เย็นและกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน

#### 3.3) การเตรียมตัวอย่างปลา

ล้างตัวอย่างปลาให้สะอาดและผ่าแยกส่วนอวัยวะ ได้แก่ ทางเดินอาหาร เหงือก และเนื้อ อบตัวอย่างแต่ละส่วนที่อุณหภูมิ  $103-105^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48 h ซึ่งตัวอย่างที่อบแล้ว 1 g ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำ 12 mL ย่อยตัวอย่างที่ความร้อนต่ำๆ กระทั่งได้สารละลายใสจึงทิ้งไว้ให้เย็นและกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน

#### 3.4) การวัดปริมาณโลหะหนัก

วัดปริมาณโลหะหนัก ได้แก่ สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) แคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ในตัวอย่างน้ำ ตะกอนดิน และอวัยวะของปลาที่เตรียมไว้ ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) รุ่น AA 6200 (Shimadzu, Japan)

### 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำ ตะกอนดิน และปลา และทดสอบความแตกต่างของปริมาณการสะสมของโลหะหนักด้วยวิธี One-Way ANOVA ใน SPSS for Windows โดยกำหนดให้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ  $p < 0.05$  และคำนวณค่าการสะสมทางชีวภาพ

(Bioconcentration Factor, BCF) ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของโลหะหนักในตัวอย่าง (mg/kg) ต่อความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำ (mg/L) ตามวิธีของ Crookes and Brooke (2011)

### ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

#### 1. ปริมาณโลหะหนักในตะกอนดินและน้ำจากแม่น้ำมูล

ปริมาณสังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่ว ในตัวอย่างตะกอนดินและน้ำจากทั้ง 3 สถานี ได้ผลดังแสดงใน Table 2 และ Table 3 โดยโลหะหนักแต่ละชนิดในตะกอนดินมีปริมาณ 12.78-115.30, 8.12-25.63, 8.79-9.08 และ 47.38-111.82 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน (Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand, 2004) ส่วนในน้ำมีปริมาณ 13.39-16.35, 8.00-8.36, 4.35-6.59 และ 27.38-31.80 mg/L ตามลำดับ ปริมาณโลหะหนักทั้ง 4 ชนิดที่พบในน้ำมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐานน้ำผิวดิน (Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand, 1994) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโลหะหนักในดินแต่ละสถานีพบว่าทุกสถานีมีปริมาณทองแดงและตะกั่วแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ส่วนในน้ำพบเพียงแคดเมียมที่มีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกสถานี ( $p > 0.05$ ) ซึ่งความแตกต่างของปริมาณโลหะหนักในแต่ละสถานีนั้นอาจมาจากหลายปัจจัย เช่น สมบัติดิน การปล่อยน้ำเสียจากชุมชน ของเสียจากกิจกรรมต่างๆในชุมชนเมือง และการทำเกษตรกรรมที่มีการใช้สารเคมีและปุ๋ยเคมีซึ่งมีโลหะหนักปนเปื้อน (Modaihsh *et al.*, 2004; Keepax *et al.*, 2011) โลหะหนักเป็นสารที่คงตัวคือไม่สลายตัวด้วยกระบวนการในธรรมชาติ การสะสมของโลหะหนักปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำและตะกอนดินส่งผลให้สิ่งมีชีวิตหน้าดินและสัตว์ที่หากินบริเวณหน้าดินในแหล่งน้ำมีโอกาสได้รับโลหะหนักไปสะสมอยู่ในร่างกาย และสามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร มาถึงมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคลำดับสุดท้าย ก่อให้เกิดโทษหรือความเป็นพิษต่อร่างกายหลายๆ ด้าน เช่น เป็นสาเหตุการเกิดมะเร็ง ทำลายระบบของกระดูกสันหลัง ทำให้ความดันโลหิตสูงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และทำให้ดีเอ็นเอเสียหาย (Manahan, 2003)

**Table 2** Concentrations of Zn, Cu, Cd and Pb in the sediment and water samples from the three stations on the Mun River.

| St | Concentration (mean±SD, mg/kg for sediment and mg/L for water) |                         |                         |                        |                        |                        |                          |                         |
|----|----------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
|    | Zn                                                             |                         | Cu                      |                        | Cd                     |                        | Pb                       |                         |
|    | sediment                                                       | water                   | sediment                | water                  | sediment               | water                  | sediment                 | water                   |
| 1  | 14.32±0.68 <sup>a</sup>                                        | 13.39±2.01 <sup>a</sup> | 8.86±0.25 <sup>a</sup>  | 8.00±0.14 <sup>a</sup> | 9.08±0.12 <sup>a</sup> | 6.59±0.75 <sup>a</sup> | 54.18±1.23 <sup>a</sup>  | 31.80±2.08 <sup>a</sup> |
| 2  | 12.78±1.15 <sup>a</sup>                                        | 16.35±2.69 <sup>a</sup> | 8.12±0.13 <sup>b</sup>  | 8.31±0.11 <sup>b</sup> | 8.79±0.03 <sup>a</sup> | 5.49±0.22 <sup>b</sup> | 47.38±0.57 <sup>b</sup>  | 27.38±0.86 <sup>b</sup> |
| 3  | 115.30±1.67 <sup>b</sup>                                       | 15.81±3.45 <sup>a</sup> | 25.63±0.51 <sup>c</sup> | 8.36±0.15 <sup>b</sup> | 8.92±0.55 <sup>a</sup> | 4.35±0.19 <sup>c</sup> | 111.82±2.89 <sup>c</sup> | 27.91±0.94 <sup>b</sup> |
| A  | ND                                                             |                         | ND                      |                        | 37                     |                        | 400                      |                         |
| B  | 1.0                                                            |                         | 0.1                     |                        | 0.005-0.05             |                        | 0.05                     |                         |

A: Standard level on soil quality (Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand, 2004), ND = no data

B: Standard level on water surface quality (Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand, 1994)

<sup>a,b,c</sup> Show differences among seasons ( $p < 0.05$ )

## 2. ปริมาณโลหะหนักและ BCF ในปลาแต่ละชนิดจากแต่ละสถานี

ในเนื้อ เหงือก และทางเดินอาหาร ของตัวอย่างปลา 9 ชนิด จากแม่น้ำมูล ได้แก่ กระดี่หม้อ ช่อน ชะโด ช่า ตะเพียนขาว สร้อยนกเขา สร้อยปีแดง หมอช้างเหี้ยบ และหมอไทย มีปริมาณสังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่วดังแสดงใน Table 3 โดยมีปริมาณ 40.28-464.30, 9.40-68.48, 3.87-55.50 และ 70.89-839.27 mg/kg ตามลำดับ

ปริมาณสังกะสีที่สะสมในอวัยวะต่างๆ ของปลา ในเนื้อมามีค่า 10.34 (*T. trichopterus*, station 1) – 131.48 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) ในเหงือกมีค่า 18.42 (*O. hasselti*, station 1) – 265.36 mg/kg (*A. testudineus*, station 2) และในทางเดินอาหารมีค่า 8.91 (*B. gonionotus*, station 1) – 151.52 mg/kg (*L. siamensis*, station 2) เรียงลำดับปริมาณการสะสมในอวัยวะต่างๆ จากมากไปน้อย ได้ดังนี้คือ เหงือก > ทางเดินอาหาร > เนื้อ โดยปริมาณสังกะสีในเหงือกมีค่าแตกต่างจากทางเดินอาหารและเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ปริมาณทองแดงในเนื้อมามีค่า 2.71 (*H. ormatipinnis*, station 2) – 10.14 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) ในเหงือกมีค่า 0.68 (*L. siamensis*, station 2) – 36.57 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) และในทางเดินอาหารมีค่า 0.63 (*P. fasciatus*, station 2) – 21.77 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) เรียงลำดับปริมาณการสะสมในอวัยวะต่างๆ จากมากไปน้อย ได้ดังนี้คือ เหงือก > ทางเดินอาหาร > เนื้อ โดยปริมาณทองแดงในทั้ง 3 อวัยวะ มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ปริมาณแคดเมียมในเนื้อมามีค่า 1.87 (*B. gonionotus*, station 2) – 12.13 mg/kg (*H. ormatipinnis*, station 2) ในเหงือกมีค่า 0.58 (*P. fasciatus*, สถานีที่ 2) – 34.50 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) และในทางเดินอาหารมีค่า 1.28 (*P. fasciatus*, station 2) – 19.88 mg/kg (*C. micropeltes*, station 2) เรียงลำดับปริมาณการสะสมในอวัยวะต่างๆ จากมากไปน้อย ได้ดังนี้คือ เหงือก > ทางเดินอาหาร > เนื้อ โดยปริมาณแคดเมียมในเหงือกมีค่าแตกต่างจากทางเดินอาหารและเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ปริมาณตะกั่วในเนื้อมามีค่า 13.90 (*L. siamensis*, station 2) – 121.20 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) ในเหงือกมีค่า 16.45 (*L. siamensis*, station 2) – 505.86 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) และในทางเดินอาหารมีค่า 19.10 (*C. micropeltes*, station 2) – 212.40 mg/kg (*T. trichopterus*, station 3) เรียงลำดับปริมาณการสะสมในอวัยวะต่างๆ จากมากไปน้อย ได้ดังนี้คือ เหงือก > ทางเดินอาหาร > เนื้อ โดยปริมาณตะกั่วในเหงือกมีค่าแตกต่างจากทางเดินอาหารและเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ปลานอกจากจะถูกนำมาบริโภคเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมอย่างมากแล้ว ยังเป็นดัชนีชีวภาพในแหล่งน้ำได้เป็นอย่างดี (Rashed, 2001) ปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มแรกๆ ที่จะได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อนของสารพิษโดยเฉพาะอย่างยิ่งโลหะหนัก เมื่อแหล่งน้ำมีการปนเปื้อนของโลหะหนักจากนั้นก็จะมีสารสะสมโดยตรงในปลา แล้วสะสมต่อในคนผ่านการบริโภคปลาเป็นอาหาร ทั้งปลากินพืชและปลากินสัตว์ที่พบในแหล่งน้ำมีพฤติกรรมการกินอาหารที่ต่างกันอาจมีการสะสมโลหะหนักที่ต่างกันได้ มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการสะสมโลหะหนักในปลามากมายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ (Rashed, 2001; Chi *et al.*, 2007; Terra *et al.*, 2008; Tanee *et al.*, 2013)

จากการเปรียบเทียบปริมาณการสะสมโลหะหนักในปลาที่พบในแม่น้ำมูล พบว่า ปลากระดีหม้อมีปริมาณการสะสมโลหะหนักทั้ง 4 ชนิด ในทุกอวัยวะ มีค่าการสะสมสูงที่สุด การสะสมโลหะหนักที่แตกต่างกันในปลาแต่ละชนิดอาจขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างเช่นประเภทของปลา พฤติกรรมการกิน ขนาด อายุ และเพศ (Dural *et al.*, 2007; Yousafzai *et al.*, 2010) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการสะสมโลหะหนักในอวัยวะต่างๆ ของปลาพบว่าเนื้อปลามีปริมาณการสะสมของโลหะหนักทั้ง 4 ชนิด ต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ทางเดินอาหารมีปริมาณการสะสมโลหะหนักทั้ง 4 ชนิด สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากทางเดินอาหารเป็นอวัยวะแหล่งหนึ่งรองจากตับที่ทำหน้าที่กำจัดของเสียออกจากร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยมีเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดสารมลพิษต่างๆ จำนวนมากและส่งออกจากร่างกายทางอุจจาระและปัสสาวะต่อไป ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่าทางเดินอาหารมีการสะสมโลหะหนักมากกว่าเหงือกและเนื้อ โดยพบว่าเนื้อปลาเป็นส่วนที่มีการสะสมโลหะหนักทุกชนิดต่ำสุด (Tanee *et al.*, 2013) สิ่งที่น่ากังวลคือจากงานวิจัยครั้งนี้พบปริมาณการสะสมของแคดเมียมและตะกั่วในเนื้อปลาซึ่งเป็นส่วนที่คนบริโภค และอวัยวะต่างๆ ของปลา สูงเกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนดของกระทรวงสาธารณสุข (Thailand Ministry of Public Health, 1986) และของสหภาพยุโรป (Official Journal of the European Union, 2006) ที่กำหนดให้มีปริมาณโลหะหนักในเนื้อปลาไม่เกิน 0.05 mg/kg (แคดเมียม) และ 0.2-0.3 mg/kg (ตะกั่ว) ปริมาณโลหะหนักที่มีการสะสมในเนื้อปลามากอาจส่งผลกระทบต่อระบบห่วงโซ่อาหารและอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ถึงแม้ว่าในระบบร่างกายของมนุษย์จะมีกระบวนการที่สามารถกำจัดสารมลพิษเหล่านี้จากร่างกายได้ก็ตาม หากได้รับอย่างต่อเนื่องก็อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ได้เช่นกัน ซึ่งโลหะหนักมีความเป็นพิษต่อดับ ไต และสมอง โดยไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเมตาบอลิซึม และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ และมะเร็ง เป็นต้น (Manahan, 1992) อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลหรืองานวิจัยที่ศึกษาโดยตรงถึงผลกระทบของโลหะหนักที่สะสมในปลาต่อผู้บริโภคปลา รวมถึงแหล่งที่มาของโลหะหนักในแม่น้ำมูล ซึ่งอาจมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ผลการวิเคราะห์ค่า BCF ในเนื้อปลาซึ่งเป็นค่าที่ใช้ในการอธิบายการสะสมของสารเคมีในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีการปนเปื้อนสารเคมี โดยเป็นอัตราความเข้มข้นของสารเคมีในสิ่งมีชีวิตต่อความเข้มข้นของสารเคมีในน้ำ เกิดจากการที่สิ่งมีชีวิตได้รับสารเคมีที่ปนเปื้อนในน้ำผ่านทางเหงือกแล้วมีการสะสมในร่างกายหรือเนื้อของปลา จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่า BCF ของสังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่วมีค่าตั้งแต่ 0.70 (*B. gonionotus*, station 1) ถึง 8.31 (*T. trichopterus*, station 3), 0.33 (*H. ornatipinnis*, station 2) ถึง 1.23 (*B. gonionotus*, station 1), 0.34 (*O. hasselti*, station 2) ถึง 1.79 (*T. trichopterus*, station 3) และ 0.51 (*L. siamensis*, station 2) ถึง 4.34 (*T. trichopterus*, station 3) ตามลำดับดัง Table 3 ค่า BCF ของโลหะหนักทั้ง 4 ชนิด สามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ สังกะสี > ตะกั่ว > แคดเมียม > ทองแดง ค่า BCF สูงแสดงให้เห็นว่าปลาสามารถรับโลหะหนักจากสิ่งแวดล้อมได้ในอัตราที่มาก โดยอัตราการสะสมมีความแตกต่างกันตามชนิดและพฤติกรรมการกินอาหารของปลาชนิดนั้น และอาจขึ้นกับขนาดของปลาด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกณฑ์มาตรฐานที่แน่ชัดของค่า BCF จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นอาจเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกและระมัดระวังเมื่อบริโภคปลาต่อไป

**Table 3** Concentrations of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of fish species

| St | Heavy metal     | Fish species           | Concentration in each organ (mg/kg)* |             |             |               | BCF of muscle |
|----|-----------------|------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|---------------|---------------|
|    |                 |                        | muscle                               | gill        | intestine   | total         |               |
| 1  | Zn              | <i>T. trichopterus</i> | 10.34±0.33                           | 27.46±0.00  | 18.74±0.00  | 56.53±8.59    | 0.77          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 9.35±0.94                            | 22.53±1.20  | 8.91±0.58   | 40.79±7.74    | 0.70          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 11.22±2.37                           | 18.42±0.00  | 10.65±1.43  | 40.28±4.33    | 0.84          |
| 2  |                 | <i>C. striata</i>      | 47.11±0.49                           | 102.22±0.78 | 78.31±8.55  | 227.64±27.64  | 2.88          |
|    |                 | <i>C. micropeltes</i>  | 45.00±2.60                           | 75.80±0.00  | 88.73±2.59  | 209.54±22.46  | 2.75          |
|    |                 | <i>L. siamensis</i>    | 73.10±2.57                           | 239.68±0.00 | 151.52±1.95 | 464.30±83.34  | 4.47          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 91.10±8.21                           | 94.19±0.00  | 85.02±16.51 | 270.31±4.66   | 5.57          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 83.57±4.40                           | 218.69±0.00 | 96.07±3.79  | 398.32±74.66  | 5.11          |
|    |                 | <i>H. ormatipinnis</i> | 98.01±1.49                           | 172.80±0.00 | 22.35±0.60  | 293.15±75.22  | 5.99          |
|    |                 | <i>P. fasciatus</i>    | 95.88±1.08                           | 188.12±0.00 | 74.67±0.00  | 358.67±60.32  | 5.86          |
|    |                 | <i>A. testudineus</i>  | 90.57±8.36                           | 265.36±0.00 | 77.78±0.00  | 433.72±104.80 | 5.54          |
|    |                 |                        |                                      |             |             |               |               |
| 3  |                 | <i>T. trichopterus</i> | 131.48±0.00                          | 145.79±0.00 | 108.97±0.00 | 386.24±18.56  | 8.31          |
|    |                 | <i>L. siamensis</i>    | 62.06±2.04                           | 159.77±0.00 | 74.93±5.37  | 296.76±53.08  | 3.92          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 45.64±3.63                           | 122.15±0.13 | 43.01±5.80  | 210.80±44.95  | 2.88          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 52.49±0.33                           | 146.94±0.00 | 52.01±0.76  | 251.44±54.67  | 3.32          |
| 1  | Cu              | <i>T. trichopterus</i> | 6.05±0.16                            | 16.65±0.00  | 14.28±0.00  | 36.98±5.56    | 0.76          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 9.87±0.22                            | 14.87±0.69  | 14.61±0.29  | 39.35±2.82    | 1.23          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 6.28±0.17                            | 11.28±0.00  | 10.97±0.24  | 28.53±2.80    | 0.79          |
| 2  |                 | <i>C. striata</i>      | 3.05±0.34                            | 2.82±0.99   | 4.58±0.44   | 10.45±0.95    | 0.37          |
|    |                 | <i>C. micropeltes</i>  | 4.10±0.78                            | 2.16±0.00   | 4.68±0.39   | 10.94±1.32    | 0.49          |
|    |                 | <i>L. siamensis</i>    | 8.81±1.66                            | 0.68±0.00   | 17.33±0.33  | 26.81±8.32    | 1.06          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 9.15±0.31                            | 3.75±0.00   | 17.40±0.63  | 30.29±6.88    | 1.10          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 3.52±0.11                            | 2.69±0.00   | 7.25±0.82   | 13.46±2.43    | 0.42          |
|    |                 | <i>H. ormatipinnis</i> | 2.71±0.22                            | 2.18±0.00   | 14.41±0.13  | 19.30±6.91    | 0.33          |
|    |                 | <i>P. fasciatus</i>    | 5.01±0.08                            | 3.76±0.00   | 0.63±0.00   | 9.40±2.26     | 0.60          |
|    |                 | <i>A. testudineus</i>  | 7.36±0.07                            | 8.73±0.00   | 4.78±0.00   | 20.87±2.00    | 0.89          |
|    |                 |                        |                                      |             |             |               |               |
| 3  |                 | <i>T. trichopterus</i> | 10.14±0.00                           | 36.57±0.00  | 21.77±0.00  | 68.48±13.25   | 1.21          |
|    |                 | <i>L. siamensis</i>    | 6.61±0.28                            | 21.70±0.00  | 16.84±0.50  | 45.15±7.70    | 0.79          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 6.20±0.09                            | 13.74±0.99  | 11.50±1.74  | 31.44±3.87    | 0.74          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 5.57±0.17                            | 14.62±0.00  | 10.20±0.19  | 30.39±4.53    | 0.67          |
| 1  | Cd <sup>A</sup> | <i>T. trichopterus</i> | 5.25±0.01                            | 13.30±0.00  | 8.90±0.00   | 27.44±4.03    | 0.80          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 6.06±0.76                            | 10.75±1.03  | 5.36±0.65   | 22.17±2.93    | 0.92          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 5.13±0.13                            | 8.28±0.00   | 5.26±0.05   | 18.67±1.78    | 0.78          |
| 2  |                 | <i>C. striata</i>      | 5.85±1.27                            | 8.90±1.28   | 6.65±0.02   | 21.39±1.58    | 1.07          |
|    |                 | <i>C. micropeltes</i>  | 7.06±4.06                            | 6.42±0.00   | 19.88±10.02 | 33.37±7.59    | 1.29          |
|    |                 | <i>L. siamensis</i>    | 3.36±0.39                            | 14.84±0.00  | 6.73±0.26   | 24.92±5.90    | 0.61          |
|    |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 1.87±1.60                            | nd.         | 8.92±0.00   | 10.79±4.99    | 0.34          |
|    |                 | <i>O. hasselti</i>     | 1.89±0.36                            | 7.23±0.00   | 6.91±3.61   | 16.03±2.99    | 0.34          |



|   |                 |                        |             |             |             |               |      |
|---|-----------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|------|
|   |                 | <i>H. ornatipinnis</i> | 12.13±6.05  | 18.93±0.00  | 1.87±0.78   | 32.93±8.59    | 2.21 |
|   |                 | <i>P. fasciatus</i>    | 2.01±0.79   | 0.58±0.00   | 1.28±1.18   | 3.87±0.72     | 0.37 |
|   |                 | <i>A. testudineus</i>  | 8.37±0.70   | 31.64±0.00  | nd.         | 40.01±16.39   | 1.52 |
| 3 |                 | <i>T. trichopterus</i> | 7.80±0.00   | 34.50±0.00  | 13.20±0.00  | 55.50±14.11   | 1.79 |
|   |                 | <i>L. siamensis</i>    | 4.73±0.45   | 19.47±0.00  | 8.76±0.20   | 32.96±7.61    | 1.09 |
|   |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 4.94±0.37   | 11.02±0.23  | 4.39±0.58   | 20.35±3.68    | 1.14 |
|   |                 | <i>O. hasselti</i>     | 4.99±0.37   | 11.52±0.00  | 4.98±0.24   | 21.49±3.77    | 1.15 |
| 1 | Pb <sup>B</sup> | <i>T. trichopterus</i> | 78.43±2.23  | 216.14±0.00 | 169.36±0.00 | 463.93±70.02  | 2.47 |
|   |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 78.29±0.96  | 166.20±1.30 | 86.14±2.35  | 330.63±48.65  | 2.46 |
|   |                 | <i>O. hasselti</i>     | 78.25±0.94  | 127.64±0.00 | 81.86±1.65  | 287.75±27.53  | 2.46 |
| 2 |                 | <i>C. striata</i>      | 18.52±1.55  | 43.27±0.61  | 23.76±3.60  | 85.55±13.04   | 0.68 |
|   |                 | <i>C. micropeltes</i>  | 18.05±1.35  | 35.85±0.00  | 19.10±1.60  | 73.00±9.99    | 0.66 |
|   |                 | <i>L. siamensis</i>    | 13.90±1.41  | 16.45±0.00  | 40.54±5.88  | 70.89±14.70   | 0.51 |
|   |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 25.07±2.15  | 27.69±0.00  | 25.23±2.44  | 77.99±1.47    | 0.92 |
|   |                 | <i>O. hasselti</i>     | 21.52±1.13  | 59.66±0.00  | 24.71±0.98  | 105.89±21.16  | 0.79 |
|   |                 | <i>H. ornatipinnis</i> | 28.20±1.76  | 54.07±0.00  | 25.87±0.40  | 108.14±15.65  | 1.03 |
|   |                 | <i>P. fasciatus</i>    | 29.65±2.39  | 66.67±0.00  | 47.04±0.00  | 143.48±18.58  | 1.08 |
|   |                 | <i>A. testudineus</i>  | 32.85±1.14  | 152.82±0.00 | 50.53±0.00  | 236.20±64.77  | 1.20 |
| 3 |                 | <i>T. trichopterus</i> | 121.20±0.00 | 505.86±0.00 | 212.40±0.00 | 839.27±201.07 | 4.34 |
|   |                 | <i>L. siamensis</i>    | 65.19±1.82  | 241.13±0.00 | 145.37±3.37 | 451.70±88.08  | 2.34 |
|   |                 | <i>B. gonionotus</i>   | 72.75±1.48  | 150.48±0.06 | 69.15±0.59  | 292.38±45.95  | 2.61 |
|   |                 | <i>O. hasselti</i>     | 72.75±1.14  | 160.82±0.00 | 73.02±0.86  | 306.59±50.77  | 2.61 |

\*nd. = not detected; <sup>A</sup>Standard levels on contaminants in meat of fish are 0.05 and 0.2-0.3 mg/kg for Cd and Pb (Thailand Ministry of Public Health, 1986; Official Journal of the European Union, 2006)

## สรุป

การปนเปื้อนโลหะหนักในแหล่งน้ำมีผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำโดยเฉพาะปลา ซึ่งโลหะหนักที่สะสมในปลาสามารถส่งต่อไปยังผู้บริโภคได้โดยผ่านทางห่วงโซ่อาหาร จากผลการศึกษาการปนเปื้อนโลหะหนักสังกะสี ทองแดง แคดเมียม และตะกั่ว ในน้ำ ตะกอนดิน และอวัยวะต่างๆ ของปลา 9 ชนิด พบว่าปริมาณโลหะหนักทั้ง 4 ชนิดในน้ำและปริมาณสังกะสีในตะกอนดินมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ส่วนการปนเปื้อนของโลหะหนักในปลาพบว่าปริมาณโลหะหนักทั้ง 4 ชนิด ที่พบในแต่ละอวัยวะมีปริมาณเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ ทางเดินอาหาร > เหงือก > เนื้อ และพบค่า BCF เรียงจากมากไปน้อยคือ สังกะสี > ตะกั่ว > แคดเมียม > ทองแดง หากพิจารณาเฉพาะอวัยวะส่วนเนื้อที่นิยมบริโภคพบว่าในเนื้อของปลาทุกชนิดมีปริมาณการสะสมของแคดเมียมและตะกั่วเกินเกณฑ์มาตรฐานถึง >30 และ >100 เท่า ซึ่งแสดงว่าอยู่ในระดับที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค จากผลการศึกษานี้ควรมีการเผยแพร่ข้อมูลสู่สาธารณะเพื่อใช้ประกอบการพิจารณาตัดสินใจเลือกซื้ออาหารเพื่อการบริโภค รวมทั้งสร้างความตระหนักทั้งในเรื่องการจัดการปัญหาสิ่งแวดล้อมและการดูแลสุขภาพของประชาชนและยังเป็นแนวทางในการส่งเสริมให้เกษตรกรตระหนัก

และลดการใช้สารเคมี เช่น ยากำจัดวัชพืชและศัตรูพืช ปุ๋ยเคมี เป็นต้น หรือควรมีการตรวจติดตามการปนเปื้อนของสารเคมีอย่างสม่ำเสมอ เพื่อหาแนวทางป้องกันและจัดการต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

- Chi, Q., Zhu, G. and Langdon, A. 2007. Bioaccumulation of heavy metals in fishes from Taihu Lake, China. *Journal of Environmental Sciences*. 19(12): 1500-1504.
- Crookes, M. and Brooke, B. 2011. Estimation of fish bioconcentration factor (BCF) from depuration data. UK, Environment Agency. 227 p. [Online]. Available from [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/291527/scho0811buce-e-e.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/291527/scho0811buce-e-e.pdf) [2013, May 24]
- Davies, O.A., Allison, M.E. and Uyi, H.S. 2006. Bioaccumulation of heavy metals in water, sediment and periwinkle (*Tympanotonus fuscatus* var *radula*) from the Elechi Creek, Niger Delta. *African Journal of Biotechnology*. 5(10): 968-973.
- Dural, M., Goksu, M.Z.L. and Ozak, A.A. 2007. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chemistry*. 102(1), 415-421.
- Keepax, R.E., Moyes, L.N. and Livens, F.R. 2011. Speciation of heavy metals and radioisotopes. In: *Environmental and Ecological Chemistry vol II. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)* [Online]. Available from <http://www.eolss.net/sample-chapters/c06/e6-13-03-05.pdf> [2016, May 24]
- Manahan, S.E. 1992. *Toxicological chemistry*. 2nd ed. USA, Lewis Publishers, INC. 449 p.
- Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand. (1994). Announcement of National Environment Committee No. 8. Standard level on water surface quality. [in Thai]
- Ministry of Natural Resources and Environment, Thailand. (2004). Announcement of National Environment Committee No. 25. Standard level on soil quality. [in Thai]
- Ministry of Public Health, Thailand. (1986). Announcement of Ministry of Public Health No. 98. Standard Level on Contaminants in Foods. [in Thai]
- Modaihsh, A.S., Al-Swailem, M.S. and Mahjoub, M.O. 2004. Heavy metals content of commercial inorganic fertilizers used in the Kingdom of Saudi Arabia. *Agricultural and Marine Sciences*. 9(1): 21-25.
- Official Journal of the European Union (EU). 2006. Commission Regulation (EC) No 881/2006 of 19 December 2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. L 364, 5-24.
- Pyle, G.G., Rajotte, J.W. and Couture, P. 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 61(3): 287-312.



- Rashed, M.N. 2001. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International*. 27(1): 27-33.
- Tanee, T., Chaveerach, A., Narong, C., Pimjai, M., Punsombut, P. and Sudmoon, R. 2013. Bioaccumulation of heavy metals in fish from the Chi River, Maha Sarakham Province, Thailand. *International Journal of Biosciences*. 3(8): 159-167.
- Terra, B.F., Araújo, F.G., Calza, C.F., Lopes, R.T. and Teixeira, T.P. 2008. Heavy metal in tissues of three fish species from different trophic levels in a tropical Brazilian river. *Water, Air, and Soil Pollution*. 187(1): 275-284.
- Yousafzai, A.M., Chivers, D.P., Khan, A.R., Ahmad, I. and Siraj, M. 2010. Comparison of heavy metals burden in two freshwater fishes *Wallago attu* and *Labeo dyocheilus* with regard to their feeding habits in natural ecosystem. *Pakistan Journal of Zoology*. 42(5): 537-544.

## ประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม จังหวัดสงขลา

### Meiofauna Community at Sakom beach, Songkhla Province

วาริก เสินนาฮู อัครเดช แหลมกา และสุธินี หิมยิ\*

Varig Sennahu, Akaradech Leamka and Sutinee Himyi

โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

Program of Biology and Applied Biology, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University

\*Corresponding author e-mail: sutineeh@gmail.com

### บทคัดย่อ

การศึกษาประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา ได้ดำเนินการเก็บตัวอย่าง 5 สถานี จำนวน 3 ครั้ง ในเดือนเมษายน เดือนมิถุนายน และเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2556 พบสัตว์หน้าดินขนาดกลางทั้งหมด 14 กลุ่ม รวมทั้งตัวอ่อนของโคพีพอดและตัวอ่อนโพลิชีต ความชุกชุมรวมเฉลี่ยในแต่ละสถานีตลอดการศึกษาอยู่ในช่วง 163 – 2,995 ตัว/10 ตร.ซม. สถานีที่ 3 พบมากที่สุดและน้อยที่สุดในสถานีที่ 1 ได้เดือนตัวกลมทะเลเป็นกลุ่มเด่นซึ่งมีความชุกชุมมากที่สุด (32 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือหมึกน้ำ (30 เปอร์เซ็นต์) ฟอแรมมินิเฟอรา (19 เปอร์เซ็นต์) และโพลิชีต (5 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ การวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของสัตว์หน้าดินขนาดกลางพบว่าทุกสถานีในเดือนสิงหาคมมีความคล้ายคลึงกับเดือนอื่นๆ น้อยที่สุด (70 เปอร์เซ็นต์) ส่วนการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสัตว์หน้าดินขนาดกลางกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมพบว่า เปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุ และเปอร์เซ็นต์ทรายหยาบมาก เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการแพร่กระจายของสัตว์หน้าดินขนาดกลางในบริเวณนี้มากที่สุด

**คำสำคัญ:** สัตว์พื้นท้องน้ำขนาดกลาง ปัจจัยสิ่งแวดล้อม อ่าวไทยตอนล่าง

### Abstract

The meiofauna communities at Sakom beach, Thepha District of Songkhla province were collected at the 5 stations for 3 times during April, June and August 2013. The results showed 14 meiofaunal taxa including copepod nauplii and polychaete larvae. The average densities in each station ranged from 151 – 2,995 ind/10 cm<sup>2</sup>. The station 3 had the highest density, whereas the lowest density found in station 1. Nematoda was the dominant group showing the most abundant (32%) followed by Tardigrada (30%), Sarcomastigophora (19%) and Polychaeta (5%) respectively. Cluster analysis revealed that the meiofauna communities at all stations in August were the least similarity to other months. In addition, the canonical correspondence analysis showed that the percentages of organic matter and very coarse sand of sediment type were closely related to the habitat of meiofauna occurring in this area.

**Keywords:** meiofauna, environmental factor, lower gulf of Thailand

## คำนำ

สัตว์หน้าดินขนาดกลาง (meiofauna หรือ meiobenthos) เป็นกลุ่มสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีขนาดตั้งแต่ 63 – 1,000 ไมครอน (Giere, 1993) ส่วนใหญ่อาศัยแทรกตัวอยู่ระหว่างเม็ดดินรวมถึงซากเปลือกหอยและซากปะการัง ซึ่งสามารถพบได้ในเกือบทุกแหล่งที่อยู่อาศัย ทั้งในสภาพที่เป็นดินโคลนและดินทราย เช่น ไส้เดือนตัวกลมทะเล (nematode) หมี่น้ำ (tardigrade) โคพีพอดพื้นทะเล (harpacticoid copepod) ไคโนรินช์ (kinorhynch) ฟอแรมมินิเฟอร่า (foraminiferan) แก๊สโตรทริชส์ (gastrotrich) เป็นต้น (Higgins and Thiel, 1988) สัตว์หน้าดินกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อระบบนิเวศ ซึ่งนอกจากจะเป็นอาหารสำคัญสำหรับสัตว์น้ำ (Schuckel *et al.*, 2013) แล้ว ยังสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของสิ่งแวดล้อมได้โดยเฉพาะไส้เดือนตัวกลมทะเล (Monthum, 2003) โดยการใช้สัดส่วนความหนาแน่นของไส้เดือนตัวกลมทะเลกับโคพีพอด (N:C) ซึ่งพบว่าบริเวณที่สภาพแวดล้อมยังไม่เสื่อมโทรมสัดส่วนดังกล่าวมีค่าน้อย เนื่องจากความหนาแน่นของไส้เดือนตัวกลมทะเลมีค่าใกล้เคียงกับโคพีพอด แต่ในบริเวณที่สภาพแวดล้อมมีความเสื่อมโทรมมักพบไส้เดือนตัวกลมทะเลมากกว่าโคพีพอด (Warwick, 1981 cited in Vincx and Heip, 1987) ยิ่งไปกว่านั้นการที่พบจำนวนชนิดสัตว์ลดน้อยลง ในขณะที่บางชนิดที่ทนทานสูงจะเพิ่มจำนวนขึ้นมาก เป็นสัญญาณที่บ่งบอกถึง สภาพแวดล้อมที่กำลังเสื่อมโทรม (Word *et al.*, 1977)

หาดสะกอมเป็นชายฝั่งทะเลที่ตั้งอยู่ในอำเภอเทพา จังหวัดสงขลา มีความยาวเป็นระยะทางประมาณ 12 กิโลเมตร จากบ้านปากบางสะกอม ตำบลสะกอมจนถึงตำบลเกาะสะบ้า (Sakom Subdistrict Administration Organization, 2013: online) ปัจจุบันพื้นที่บางแห่งของหาดสะกอมมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างชายฝั่งทะเลเนื่องมาจากการกัดเซาะโดยกระบวนการทางธรรมชาติ โดยเฉพาะคลื่นและลมที่ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และการกัดเซาะจากการพัฒนาพื้นที่ชายฝั่งเป็นแหล่งท่องเที่ยว เช่น การสร้างโรงแรม ที่พัก และถนนเลียบริบชายฝั่ง เป็นต้น (Kingkaew, 2012: online) การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมจากสาเหตุดังกล่าวนี้ เป็นการกวนตะกอนซึ่งมีผลโดยตรงต่อปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Hall, 1994) และอาจจะส่งผลกระทบต่อประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณชายหาดสะกอม จากการศึกษาของ Grémare *et al.* (2003) พบว่าการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้มีผลกระทบต่อประชาคมสิ่งมีชีวิต ทำให้มีความซุกซมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สัตว์กลุ่มนี้จึงถูกนำมาใช้ในการติดตามตรวจสอบสภาพแวดล้อม โดยดูจากประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางประกอบกับลักษณะของตะกอนดินซึ่งเป็นปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญต่อการแพร่กระจาย (Grzelak *et al.*, 2009) เพื่อนำมาใช้เป็นดัชนีชี้วัดสภาพแวดล้อมบริเวณชายฝั่ง (Bagrades *et al.*, 2015)

ดังนั้นการศึกษาสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม จังหวัดสงขลา ควบคู่กับการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อม นอกจากจะนำมาใช้ในการประเมินความอุดมสมบูรณ์และความหลากหลายของสัตว์หน้าดินขนาดกลางแล้วยังสามารถนำมาใช้ประเมินคุณภาพสิ่งแวดล้อมบริเวณชายฝั่งของหาดสะกอม อำเภอเทพา จังหวัดสงขลาได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม จังหวัดสงขลา (Figure 1) จำนวน 3 ครั้ง ในเดือนเมษายน มิถุนายน และสิงหาคม พ.ศ. 2556 สุ่มเก็บตัวอย่างในเขตนํ้าขึ้นนํ้าลงทั้งหมด 5 สถานี แต่ละสถานีห่างกันประมาณ 2 กิโลเมตร บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์และที่ตั้งของสถานีเก็บตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือบอกตำแหน่งบนผิวโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS) เก็บตัวอย่างโดยใช้กระบอกลวดพลาสติกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กดลึกลงไปดิน 5 เซนติเมตร สถานีละ 3 ซ้ำ รักษาตัวอย่างด้วยฟอร์มาลดีไฮด์เป็นกลาง 4 เปอร์เซ็นต์ นำตัวอย่างตะกอนดินที่ได้มากรองด้วยถุงกรองขนาดตา 42 ไมโครเมตร เพื่อแยกสัตว์หน้าดินขนาดกลางออกจากตะกอนดิน (Pfannkuche and Thiel, 1988) จากนั้นนำมารักษาสภาพด้วยแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปจำแนกและนับจำนวน ส่วนปัจจัยสิ่งแวดล้อมตรวจวัดปัจจัยทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ความเค็มน้ำโดยใช้แฮนด์รีแฟรกโตมิเตอร์ ของ ATAGO พีเอชน้ำโดยใช้พีเอชมิเตอร์ อุณหภูมิและดินโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ รวมทั้งเก็บตัวอย่างตะกอนดินทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างสัตว์หน้าดินขนาดกลางโดยใช้กระบอกลวดพลาสติกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร กดลึกลงไปดิน 5 เซนติเมตร ใส่ถุงพลาสติกเก็บในที่เย็นเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินตามวิธีของ Wakley and Black ที่ดัดแปลงแล้ว (Nelson and Sommers, 1982) และขนาดอนุภาคดิน โดยใช้วิธีร่อนดินที่อบแห้งแล้วผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร 0.5 มิลลิเมตร และ 0.063 มิลลิเมตร ตามลำดับ แล้วชั่งน้ำหนักของดินที่เหลืออยู่บนตะแกรงร่อนแต่ละขนาด จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์นำมาเทียบกับตารางของ Wentworth (Kenny and Sotheran, 2013)

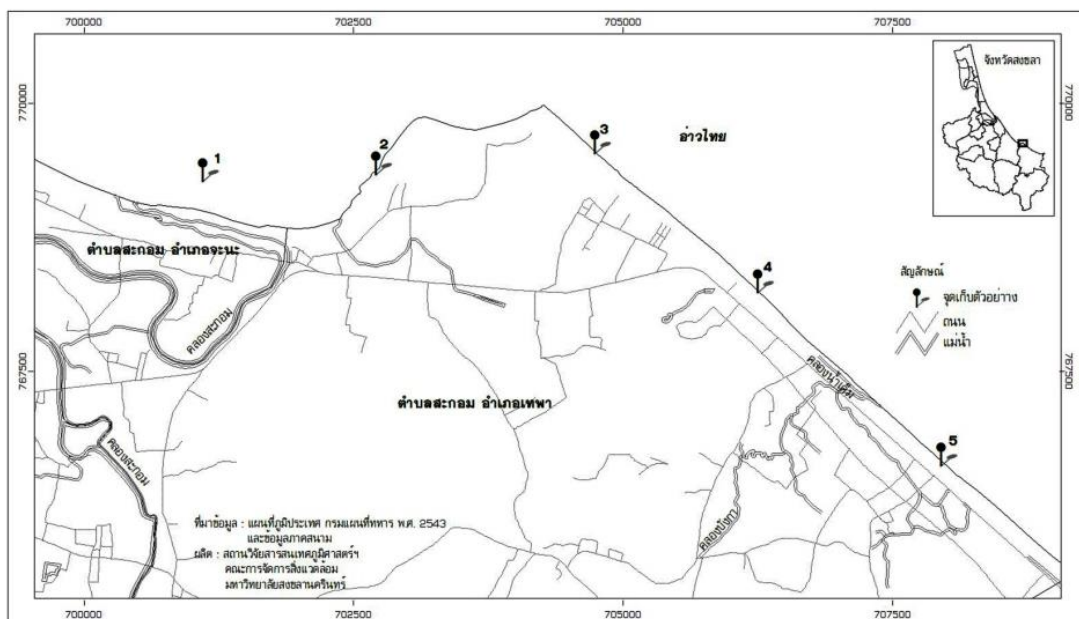


Figure 1 Location of the sampling stations at Sakom beach, Songkhla Province ( GEO-Informatics Research Center for Natural Resource and Environmental, 2014)

## 2. การวิเคราะห์ทางสถิติ

2.1 การวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลาง (ชนิดและความชุกชุม) ระหว่างสถานีและในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง ด้วยการวิเคราะห์ Cluster analysis (CA) โดยใช้วิธีการจัดกลุ่ม UPGMA (Unweight pair group average method) และดัดแปลงข้อมูลเป็น  $\log(x+1)$

2.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางในแต่ละสถานี ด้วยการวิเคราะห์ Canonical correspondences analysis (CCA) โดยข้อมูลที่น่ามาวิเคราะห์ได้คัดเลือกเฉพาะชนิดที่มีความชุกชุมสัมพัทธ์ตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และดัดแปลงข้อมูลเป็น  $\log(x+1)$

## ผลการวิจัย

### 1. ความหลากหลายและความชุกชุมของสัตว์หน้าดินขนาดกลาง

จากการศึกษาสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม จังหวัดสงขลา ในเดือนเมษายน มิถุนายน และสิงหาคม พ.ศ. 2556 พบสัตว์หน้าดินขนาดกลางทั้งหมด 14 กลุ่ม ซึ่งจัดอยู่ใน 11 ไฟลัม (Table 1) ได้แก่ Sarcomastigophora, Ciliophora, Gnathostomulida, Nematoda, Gastrotricha, Rotifera, Kinorhyncha, Annelida, Tardigrada, Arthropoda และ Acari พบตัวอ่อน 2 กลุ่มคือ ตัวอ่อนของโพลิชีต และตัวอ่อนระยะนอเพรียสของโคพีพอด ความชุกชุมรวมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางที่พบทั้งหมดในแต่ละสถานีตลอดการศึกษาอยู่ในช่วง 163 – 2,995 ตัว/10 ตร.ซม. เมื่อพิจารณาในแต่ละสถานี พบว่าจุดที่ 3 มีความชุกชุมเฉลี่ยสูงสุด ( $1,228 \pm 42$  ตัว/10 ตร.ซม.) โดยเฉพาะเดือนมิถุนายน ซึ่งพบมากถึง 2,990 ตัว/10 ตร.ซม. (Figure 2A) และมีได้เดือนตุลาคมทะเล หมีน้ำเป็นกลุ่มเด่นที่พบมากที่สุด ในขณะที่จุดอื่นๆ มีความชุกชุมอยู่ในช่วง 163 – 783 ตัว/10 ตร.ซม. ส่วนความหลากหลายในแต่ละสถานีพบว่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยพบความหลากหลายอยู่ในช่วง 12 – 14 กลุ่ม (Table 1)

ไส้เดือนตัวกลมทะเลเป็นกลุ่มที่มีความชุกชุมมากที่สุด อยู่ในช่วง 88 – 1,326 ตัว/10 ตร.ซม. และพบหลากหลายสกุล (Figure 3) โดยเฉพาะ *Metepsilonema* ซึ่งเป็นสกุลเด่นที่พบมากที่สุด กลุ่มที่พบรองลงมาคือ หมีน้ำ แม้มีความหลากหลายในระดับสกุลน้อย (3 สกุล) แต่กลับพบชุกชุมมากอยู่ในช่วง 11 – 1,100 ตัว/10 ตร.ซม. โดยเฉพาะสกุล *Batillipes* ในขณะที่ฟอแรมมินิเฟอร่า (Sarcomastigophora) แม้มีความชุกชุมน้อยกว่า (อยู่ในช่วง 100 – 373 ตัว/10 ตร.ซม.) แต่กลับพบหลากหลายสกุล (7 สกุล) ส่วนโพลิชีตพบมากในสถานีที่ 4 (233 ตัว/10 ตร.ซม.) รองลงมาจากไส้เดือนตัวกลมทะเล

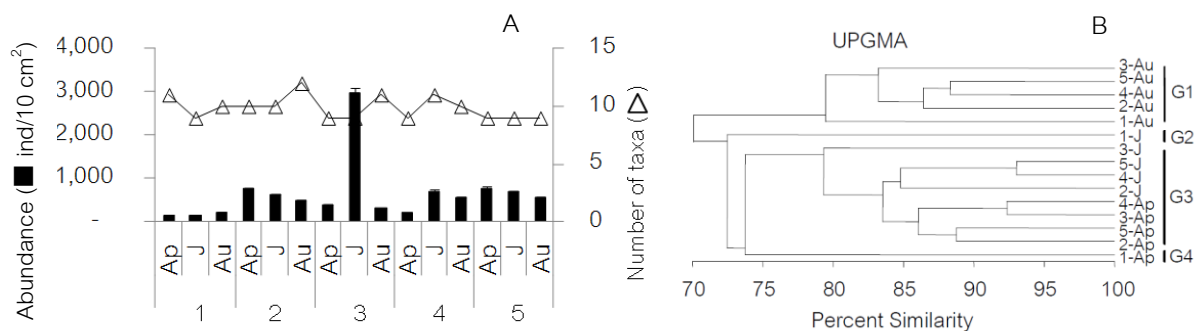
ในเชิงเวลาพบว่า เดือนมิถุนายนมีความชุกชุมเฉลี่ยสูงสุด (1,042 ตัว/10 ตร.ซม.) รองลงมาคือ เดือนเมษายน (467 ตัว/10 ตร.ซม.) และสิงหาคม (440 ตัว/10 ตร.ซม.) ตามลำดับ ส่วนความหลากหลายของสัตว์หน้าดินขนาดกลางพบว่า เดือนสิงหาคมมีความหลากหลายมากที่สุด (15 กลุ่ม) ส่วนเดือนมิถุนายนและเดือนเมษายนมีความหลากหลายเท่ากันคือ 10 กลุ่ม

**Table 1** List of meiofaunal taxa found by sampling stations and months. Figures in parenthesis indicate maximum density (ind/10 cm<sup>2</sup>), Ap, April; J, June; Au, August. Under lines indicate month of maximum density.

| Taxa                            | Abbre | Station                |                         |                           |                         |                         |
|---------------------------------|-------|------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                 |       | 1                      | 2                       | 3                         | 4                       | 5                       |
| Sarcomastigophora               | Sar   | Ap, J, <u>Au</u> (100) | Ap, J, <u>Au</u> (167)  | Ap, <u>J</u> , Au (373)   | Ap, J, <u>Au</u> (156)  | Ap, J, <u>Au</u> (189)  |
| Ciliophora                      | Cil   | <u>Ap</u> , J, Au (12) | Ap, J, Au (2)           | Ap, Au (1)                | Ap, <u>J</u> (3)        | Ap, J (2)               |
| Gnathostomulida                 | Gna   | Au (10)                | Au (21)                 | J, <u>Au</u> (10)         | J, <u>Au</u> (10)       | J, <u>Au</u> (11)       |
| Nematoda                        | Nem   | Ap, <u>J</u> , Au (88) | Ap, <u>J</u> , Au (117) | Ap, <u>J</u> , Au (1,326) | Ap, <u>J</u> , Au (378) | Ap, <u>J</u> , Au (297) |
| Gastrotricha                    | Gas   | <u>Ap</u> , J, Au (26) | <u>Ap</u> , J, Au (25)  | Ap, <u>J</u> , Au (36)    | Ap, J, <u>Au</u> (37)   | <u>Ap</u> , J, Au (27)  |
| Rotifera                        | Rot   | -                      | Au (1)                  | -                         | Au (2)                  | -                       |
| Kinorhyncha                     | Kin   | Ap (1)                 | Ap (1)                  | Au (1)                    | -                       | -                       |
| Polychaeta                      | Pol   | Ap, J, <u>Au</u> (16)  | Ap, J, <u>Au</u> (63)   | Ap, J, <u>Au</u> (73)     | Ap, J, <u>Au</u> (233)  | Ap, J, <u>Au</u> (43)   |
| Polychaeta larva                | Poll  | Au (4)                 | Au (3)                  | Au (2)                    | J, <u>Au</u> (3)        | J, <u>Au</u> (5)        |
| Tardigrada                      | Tar   | <u>Ap</u> , J, Au (11) | <u>Ap</u> , J, Au (442) | Ap, <u>J</u> , Au (1,100) | Ap, <u>J</u> , Au (143) | <u>Ap</u> , J, Au (545) |
| Ostracoda                       | Ost   | Ap, J, <u>Au</u> (6)   | Ap, <u>J</u> , Au (3)   | Ap, <u>J</u> , Au (17)    | <u>Ap</u> , J, Au (3)   | <u>Ap</u> , J, Au (27)  |
| Copepoda                        | Cop   | Ap, <u>J</u> , Au (12) | Ap, <u>J</u> , Au (168) | Ap, <u>J</u> , Au (24)    | Ap, J, <u>Au</u> (13)   | Ap, J, <u>Au</u> (102)  |
| Nauplius Copepod                | Nau   | Ap, J, <u>Au</u> (8)   | Ap, <u>J</u> , Au (108) | Ap, <u>J</u> , Au (102)   | Ap, J, <u>Au</u> (15)   | <u>Ap</u> , J, Au (26)  |
| Acari                           | Aca   | -                      | -                       | -                         | Au (2)                  | Au (2)                  |
| Unknown                         | -     | Au (2)                 | Au (1)                  | -                         | -                       | -                       |
| Number of taxa                  |       | 12                     | 14                      | 13                        | 13                      | 12                      |
| Total Abundance (Mean $\pm$ SE) |       | 178.5 $\pm$ 5.8        | 628.5 $\pm$ 15.1        | 1,227.6 $\pm$ 41.9        | 501.0 $\pm$ 13.7        | 682.8 $\pm$ 20.4        |

## 2. ความคล้ายคลึงของสัตว์หน้าดินขนาดกลาง

การวิเคราะห์ความคล้ายคลึงกันของสัตว์หน้าดินขนาดกลางในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง (Figure 2B) เดือนเมษายน มิถุนายน และสิงหาคม พ.ศ. 2556 ทั้ง 5 สถานี พบว่าเมื่อพิจารณาที่ระดับความคล้ายคลึง 73.7 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งกลุ่มสัตว์หน้าดินขนาดกลางออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 (G1) ประกอบด้วยทุกสถานีในเดือนสิงหาคมซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ มากที่สุด ส่วนกลุ่มที่ 2 (G2) คือสถานี 1 เดือนมิถุนายน มีความคล้ายคลึงกับกลุ่มที่ 3 (G3) และ 4 (G4) ประมาณ 72.5 เปอร์เซ็นต์



**Figure 2** Abundance (ind/10cm<sup>2</sup>; averaged across three samples per stations; bar are  $\pm$  SE) and number of taxa of meiofauna (A) Cluster analysis of meiofauna (B) at Sakom beach, Songkhla Province in April – August 2013, Ap, April; J, June; Au, August

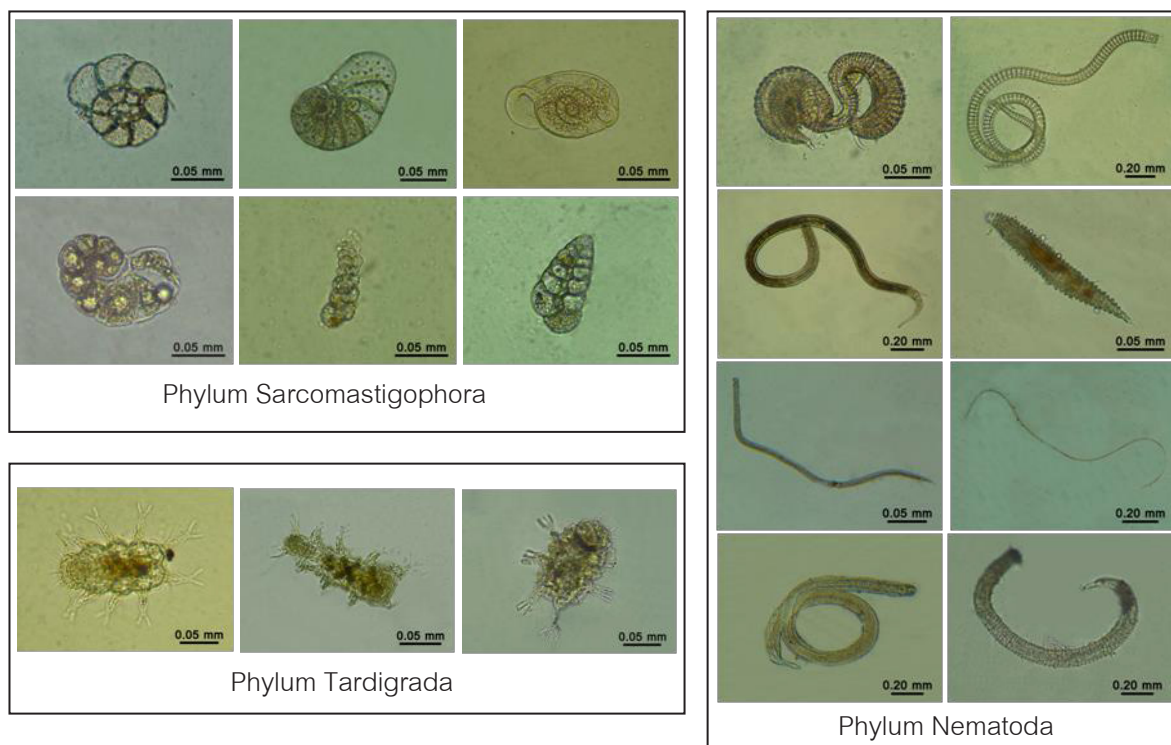


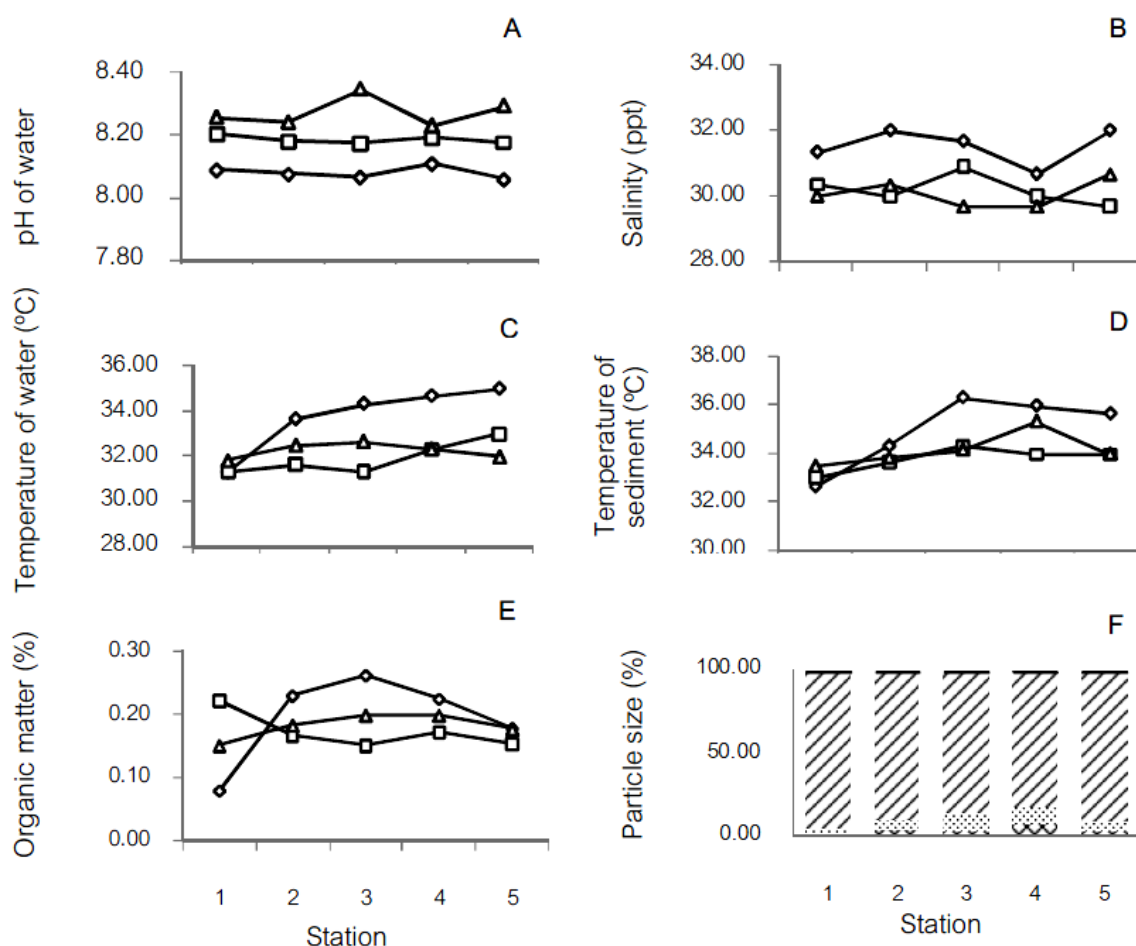
Figure 3 Dominant meiofauna found at Sakom beach, Songkhla Province in April – August 2013

### 3. ปัจจัยสิ่งแวดล้อม

จากการศึกษาพบว่า พีเอชของน้ำ (Figure 4A) ในทุกสถานที่มีค่าอยู่ในช่วง 8.0 – 8.4 เดือนเมษายน มีค่าพีเอชเฉลี่ยต่ำสุดและสูงสุดในเดือนสิงหาคม ในขณะที่ความเค็มน้ำ (Figure 4B) มีค่าอยู่ในช่วง 29 – 32 พีพีที และมีค่าเฉลี่ยต่ำสุดในเดือนสิงหาคมและสูงสุดในเดือนเมษายน โดยสถานที่ที่ 4 มีความเค็มเฉลี่ยต่ำสุด ส่วนอุณหภูมิน้ำ (Figure 4C) พบว่ามีค่าต่ำกว่าอุณหภูมิดิน (Figure 4D) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 32 – 37 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามพบว่าส่วนใหญ่มีค่าสูงในเดือนเมษายน

ปริมาณอินทรีย์วัตถุในตะกอนดิน (Figure 4E) มีค่าอยู่ในช่วง 0.08 – 0.26 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนใหญ่มีค่าต่ำในเดือนมิถุนายนและมีค่าสูงสุดในเดือนเมษายน ยกเว้นจุดที่ 1 ที่พบว่ามีค่าต่ำสุดในเดือนเมษายน (0.08 เปอร์เซ็นต์) และสูงสุดในเดือนมิถุนายน (0.22 เปอร์เซ็นต์) ส่วนขนาดอนุภาคดิน (Figure 4F) ในทุกสถาน พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นตะกอนดินแบบทรายละเอียด (Fine sand) ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 0.063 – 0.5 มิลลิเมตร คิดเป็น 82.32 – 95.05 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตะกอนดินที่เหลือเป็นตะกอนดินแบบทรายหยาบ (Coarse sand) มีขนาดตั้งแต่ 0.5 – 1 มิลลิเมตร คิดเป็น 3.94 – 10.80 เปอร์เซ็นต์ ตะกอนดินแบบทรายหยาบมาก (Very coarse sand) มีขนาดตั้งแต่ 1 – 2 มิลลิเมตร คิดเป็น 0.78 – 6.74 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตะกอนดินแบบทรายแป้งและอนุภาคดินเหนียว (Silt-Clay) มีขนาดน้อยกว่า 0.063 มิลลิเมตร คิดเป็น 0.07 – 0.23 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าสถานที่ที่ 1 มีปริมาณตะกอนดินทรายละเอียดสูงที่สุด และสถานที่ที่ 3 มีปริมาณทรายหยาบมาก





**Figure 4** pH of water (A), Salinity (B), Temperature of water (C), Temperature of sediment (D), Organic matter (E) and Particle size (F) at Sakom beach, Songkhla province in April – August 2013  
 April (◇), June (□), August (△), Very coarse sand (▨), coarse sand (▤), Fine sand (▧)  
 Silt-Clay (■)

#### 4. ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับสัตว์หน้าดินขนาดกลาง

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมและสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอมในแต่ละสถานีพบว่า ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีความสัมพันธ์กับสัตว์หน้าดินขนาดกลาง ได้แก่ ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM) เปอร์เซ็นต์ทรายหยาบมาก (Very coarse sand) พีเอชของน้ำ (pH) และความเค็มของน้ำ (Sal) โดยปริมาณอินทรีย์วัตถุเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความชุกชุมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางมากที่สุด รองลงมาคือเปอร์เซ็นต์ทรายหยาบมาก อย่างไรก็ตามพบว่าสัตว์หน้าดินขนาดกลางแต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมแตกต่างกันออกไป เช่น โคพีพอด (Cop) และหมีน้ำ (Tar) พบชุกชุมมากบริเวณที่มีอินทรีย์วัตถุและเปอร์เซ็นต์ทรายหยาบมากค่อนข้างสูง ในขณะที่ไส้เดือนตัวกลมทะเล (Nem) ฟอรัมมินิเฟอรา (Sar) และแก๊สโทรทริซส์ (Gas) พบมากในบริเวณที่มีอินทรีย์วัตถุและเปอร์เซ็นต์ทรายหยาบมากค่อนข้างต่ำ (Figure 5)



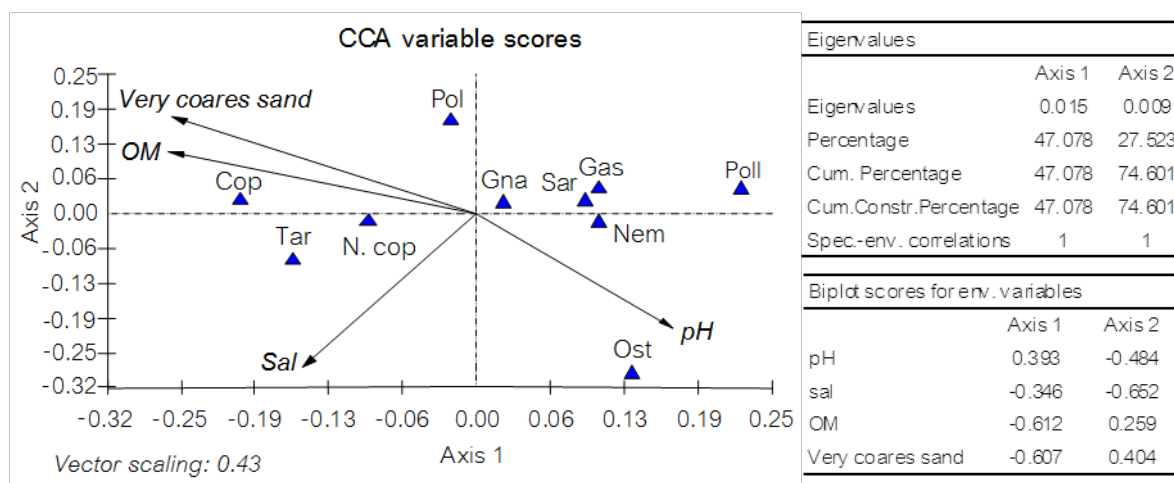


Figure 5 Canonical correspondences analysis indicates that the environmental variable related to meiofauna community at Sakom beach, Songkhla Province in April – August 2013

### วิจารณ์ผล

คุณภาพน้ำ เช่น ความเค็มและอุณหภูมิบริเวณหาดสะกอมมีค่าสูงในเดือนเมษายนและมีแนวโน้มลดลงในเดือนมิถุนายนและสิงหาคม พ.ศ. 2556 เนื่องจากเดือนมิถุนายนและสิงหาคมเป็นช่วงที่เข้าสู่ฤดูฝนซึ่งได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ มีฝนตกมากทำให้ความเค็มและอุณหภูมิของน้ำทะเลลดลง ประกอบกับบางบริเวณที่ทำการศึกษายู่ใกล้ปากน้ำเทพาและปากคลองสะกอมตลอดจนลำน้ำสาขาต่างๆ ในพื้นที่ แตกต่างจากค่าพีเอชที่พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่าง โดยมีค่าเป็นด่างเล็กน้อย ซึ่งยังคงมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่ง (Pollution Control Department, 2014)

การศึกษาคูณภาพดินพบว่า ลักษณะตะกอนดินบริเวณหาดสะกอมทุกสถานที่มีลักษณะเป็นตะกอนดินทรายละเอียด โดยเฉพาะจุดที่ 1 ที่มีเปอร์เซ็นต์ตะกอนดินทรายละเอียดสูงที่สุด อาจเนื่องมาจากสถานี่ที่ 1 เป็นบริเวณที่อยู่ใกล้ปากคลองสะกอมทำให้กระแสน้ำพัดพาตะกอนดินลงมายังชายฝั่ง ซึ่งในช่วงฤดูมรสุมตะกอนดินจะถูกพัดพาเป็นปริมาณมากออกสู่ทะเล และเกิดการสะสมของกรวดและทรายบริเวณปากแม่น้ำ ส่วนตะกอนดินแบบทรายแป้งและดินเหนียวซึ่งมีน้ำหนักเบาจึงถูกพัดพาโดยคลื่นออกจากฝั่ง สามารถเคลื่อนย้ายไปตามกระแสน้ำและตกในบริเวณที่ได้รับการรบกวนจากกระแสน้ำน้อยกว่า (Tanyaros, 2007) สำหรับอินทรีย์วัตถุเฉลี่ยบริเวณหาดสะกอมมีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของอินทรีย์วัตถุบริเวณชายฝั่งทั่วโลกซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.05 – 3.00 เปอร์เซ็นต์ (Hyland *et al.*, 2000)

ความชุกชุมรวมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางที่พบทั้งหมดในแต่ละสถานี่ตลอดการศึกษาพบว่า สถานี่ที่ 3 มีความชุกชุมเฉลี่ยสูงสุดโดยเฉพาะในเดือนมิถุนายน อาจเนื่องมาจากสถานี่ที่ 3 เป็นสถานี่ที่อยู่ห่างจากปากคลองสะกอม ทำให้พบสัตว์หน้าดินขนาดกลางมากกว่าบริเวณอื่นๆ สอดคล้องกับการศึกษาของ Monthum (2002) ที่พบว่าบริเวณที่อยู่ห่างจากปากคลองแต่ละระดับออกไปพบได้เดือนตัวกลมทะเลมากกว่าบริเวณที่อยู่ใกล้ปากคลอง อาจเนื่องมาจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการ เช่น ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และลักษณะตะกอน

ดินที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์เหล่านี้ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สถานที่ 3 มีค่าเฉลี่ยของอินทรีย์วัตถุในตะกอนดินสูงกว่าจุดอื่นๆ จึงอาจเป็นแหล่งอาหารให้กับสัตว์หน้าดินขนาดกลาง โดยเฉพาะกลุ่มไส้เดือนตัวกลมทะเลและหมีน้ำที่พบว่ามีความชุกชุมมากกว่ากลุ่มอื่นอย่างชัดเจนในสถานที่นี้ ในขณะที่สถานที่ 1 พบสัตว์หน้าดินขนาดกลางน้อยที่สุด อาจเนื่องมาจากบริเวณนี้มีเปอร์เซ็นต์ทรายละเอียดสูงแต่มีทรายหยาบน้อยกว่าสถานที่อื่นๆ ประกอบกับบริเวณนี้อยู่ใกล้กับปากคลองซึ่งอาจได้รับอิทธิพลจากน้ำจืดที่ไหลมาจากคลองสะกอม จึงอาจส่งผลให้สัตว์มีความชุกชุมน้อยกว่าสถานที่อื่นๆ ส่วนความหลากหลายในแต่ละสถานที่แม้ว่ามีค่าใกล้เคียงกัน (12 – 14 กลุ่ม) แต่พบว่าสถานที่ 2 มีความหลากหลายมากที่สุด อาจเนื่องมาจากบริเวณนี้อยู่ห่างออกไปจากปากคลองสะกอมและแหล่งชุมชน จึงถูกรบกวนน้อยทำให้พบสัตว์หลากหลายกลุ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Riera *et al.* (2012) ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำจืดที่ไหลมาจากแม่น้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณอ่าวลอสคริสเตียนอสประเทศสเปน โดยพบความหลากหลายและความชุกชุมต่ำในช่วงที่ได้รับอิทธิพลจากน้ำจืด

การศึกษาครั้งนี้พบไส้เดือนตัวกลมทะเลเป็นกลุ่มเด่นที่มีความชุกชุมมากที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาในหลายพื้นที่ทั้งแหล่งหญ้าทะเล ทะเลสาบสงขลาและหาดทราย (Angsupanich *et al.*, 1996; Angsupanich *et al.*, 1997; Monthum, 2003; Monthum, 2008; Pleumarom, 2010; Harguinteguy *et al.*, 2012) กลุ่มเด่นที่พบรองลงมาคือหมีน้ำ เช่นเดียวกับบริเวณหาดทรายของชายฝั่งทางตะวันออกเฉียงใต้ของเมืองริโอเดอจาเนโร ประเทศบราซิล ที่พบหมีน้ำมีความชุกชุมมาก (1,556 – 13,125 ตัว/10 ตร.ซม.) โดยพบว่าหมีน้ำและไส้เดือนตัวกลมทะเลเป็นกลุ่มเด่นคิดเป็นร้อยละ 92 ของกลุ่มสัตว์ที่พบทั้งหมด เนื่องมาจากการเปลี่ยนตามฤดูกาลและลักษณะของตะกอนดิน โดยบริเวณดังกล่าวมีตะกอนดินเป็นแบบทรายละเอียดซึ่งมีผลต่อช่องว่างระหว่างเม็ดดิน จึงทำให้พบกลุ่มสัตว์เหล่านี้มีชุกชุมมาก (Albuquerque *et al.*, 2007) แตกต่างจาก Coull (1988) ที่รายงานไว้ว่า โคพีพอดพื้นทะเล มักเป็นกลุ่มเด่นพบรองลงมาจากไส้เดือนตัวกลมทะเลโดยเฉพาะบริเวณที่มีลักษณะตะกอนดินเป็นแบบทรายหยาบ แต่บริเวณหาดสะกอมมีลักษณะตะกอนดินส่วนใหญ่เป็นแบบทรายละเอียดมากกว่าทรายหยาบ จึงอาจส่งผลให้บริเวณนี้พบไส้เดือนทะเลและหมีน้ำเป็นกลุ่มเด่น

ในเชิงเวลา พบว่าสัตว์หน้าดินขนาดกลางส่วนใหญ่มีความชุกชุมมากในเดือนมิถุนายน โดยเฉพาะสถานที่ 3 ซึ่งพบไส้เดือนตัวกลมทะเลและหมีน้ำชุกชุมมาก (1,326 และ 1,100 ตัว/10 ตร.ซม. ตามลำดับ) อาจเนื่องมาจากกลุ่มสัตว์เหล่านี้สามารถพบได้ในเกือบทุกแหล่งที่อยู่อาศัย (Higgins and Thiel, 1988) และสามารถปรับตัวได้ดีต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ส่งผลให้มีความชุกชุมมากบริเวณชายฝั่ง (Monthum, 2002) อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงสภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมระหว่างฤดูกาลส่งผลต่อการแพร่กระจายของหมีน้ำและไส้เดือนตัวกลมทะเลในแต่ละพื้นที่ (Albuquerque *et al.*, 2007; Sawangarreruks *et al.*, 2010) ทำให้พบสัตว์เหล่านี้เพิ่มขึ้นเมื่อสภาพแวดล้อมอยู่ในภาวะที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต ในขณะที่เดือนสิงหาคมแม้พบความชุกชุมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางน้อยที่สุด แต่พบว่ามีความหลากหลายมากที่สุด เช่นเดียวกับ Angsupanich *et al.* (1996) ที่พบสัตว์หน้าดินขนาดกลางมีความหลากหลายมากในเดือนสิงหาคมเช่นเดียวกัน อาจเนื่องมาจากเดือนสิงหาคมอยู่ในช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ซึ่งมีฝนตกลงมาบ้าง ส่งผลให้ความเค็มและอุณหภูมิของน้ำมีค่าลดลง

ประกอบกับน้ำฝนที่ตกลงมาชะล้างธาตุอาหารต่างๆ ลงสู่ทะเลและเป็นอาหารให้กับสัตว์หน้าดินขนาดกลาง ส่งผลให้พบความหลากหลายเพิ่มขึ้น

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมและสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอมในแต่ละสถานี่พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุและเปอร์เซ็นต์ทรายหยาบมีความสัมพันธ์กับความชุกชุมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางมากที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสัตว์หน้าดินขนาดกลางใช้เป็นแหล่งอาหารในการดำรงชีวิต จากการศึกษาของ Angsupanich *et al.* (1997) พบว่าบริเวณที่อยู่ใกล้กับแหล่งปล่อยอินทรีย์วัตถุพบความชุกชุมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางมากที่สุด ซึ่งอินทรีย์วัตถุมีผลต่อความหนาแน่นของสัตว์หน้าดินขนาดกลางทำให้ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น และลดลงตามปริมาณของอินทรีย์วัตถุ (Monthum, 2003) ส่วนเปอร์เซ็นต์ทรายมีผลต่อช่องว่างระหว่างเม็ดดินซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ให้กับสัตว์เหล่านี้ จึงพบสัตว์มากขึ้นด้วย (Albuquerque *et al.*, 2007) Giere (1993) กล่าวว่าลักษณะตะกอนดินและช่องว่างระหว่างเม็ดดินเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความหลากหลายและความชุกชุมของหมี่น้ำ

เมื่อพิจารณาสัดส่วนความหนาแน่นของไส้เดือนตัวกลมทะเลกับโคพีพอดพบว่ามีค่ามากที่สุดในสถานี่ที่ 3 คือ 35 ในขณะที่สถานี่อื่นๆมีค่าอยู่ในช่วง 1– 10 จากรายงานของ Warwick (1981 cited in Vincx and Heip, 1987) พบว่าบริเวณที่สภาพแวดล้อมยังไม่เสื่อมโทรม สัดส่วนควรมีค่าน้อยกว่า 40 สำหรับบริเวณที่เป็นตะกอนดินโคลน และน้อยกว่า 10 สำหรับบริเวณที่มีลักษณะตะกอนดินทราย ซึ่งบริเวณหาดสะกอมมีลักษณะตะกอนดินเป็นดินทราย จึงอาจสรุปได้ว่าคุณภาพสิ่งแวดล้อมบริเวณหาดสะกอมจังหวัดสงขลาส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ดี ยกเว้นสถานี่ที่ 3 ที่บ่งบอกว่าสภาพแวดล้อมมีความเสื่อมโทรม สอดคล้องกับการศึกษาบริเวณชายฝั่งประเทศฟิลิปปินส์ที่พบว่าบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากภาวะมลพิษน้อยมีค่าสัดส่วนน้อยกว่า 10 แต่ในบริเวณที่ที่ได้รับผลกระทบสัดส่วนมีค่าอยู่ในช่วง 30 - 39 (Bagares *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาเพียงช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นเพื่อให้ข้อมูลมีความสมบูรณ์มากขึ้นจึงควรศึกษาให้ครอบคลุมในทุกฤดูกาลรวมถึงปัจจัยทางกายภาพอื่นๆ ที่อาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสัตว์หน้าดินขนาดกลาง

## สรุป

การศึกษานี้พบสัตว์หน้าดินขนาดกลางทั้งหมด 14 กลุ่ม 11 ไฟลัม ได้แก่ Nematoda เป็นกลุ่มเด่นที่มีความชุกชุมมากที่สุด รองลงมาคือ Tardigrada, Sarcomastigophora, Arthropoda, Annelida, Gastrotricha, Gnathostomulida, Ciliophora, Acari, Rotifera และ Kinorhyncha ตามลำดับ เดือนสิงหาคมมีความหลากหลายมากที่สุด ในขณะที่เดือนมิถุนายนมีความชุกชุมของสัตว์หน้าดินขนาดกลางสูงสุด ส่วนปัจจัยสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะความเค็มของน้ำส่วนใหญ่มีค่าสูงในเดือนเมษายน สำหรับลักษณะตะกอนดินส่วนใหญ่พบว่าเป็นตะกอนดินทรายละเอียด มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในตะกอนดินค่อนข้างน้อย (0.08 – 0.26 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามพบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุและลักษณะตะกอนดินมีความสัมพันธ์กับการแพร่กระจายของสัตว์หน้าดินขนาดกลางในแต่ละแหล่งที่อยู่อาศัย

### คำขอบคุณ

ขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่างที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือ GPS ในการเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ที่สนับสนุนการทำวิจัยและอำนวยความสะดวก ขอขอบคุณโปรแกรมวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือร่อนดินใช้สำหรับวิเคราะห์ดินในการทำวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- Angsupanich, S., Phromthong, I. and Srichuer, K. 1997. Meiofauna in Thale Sap Songkhla, a lagoonal lake in southern Thailand. *Journal of the Science Society of Thailand* 23: 347 – 358.
- Angsupanich, S., Ruchirayanyong, J. and Tochua, S. 1996. Distribution and abundance of meiofauna in the sandy beaches of Nakorn Si Thammarat and Songkhla provinces. *Thai Fisheries Gazette* 49(5): 425 – 435. [in Thai]
- Albuquerque, E.F., Brandão Pinto, A.P., d'Alcântara de Queiroz, A. and Veloso, V.G. 2007. Spatial and temporal changes in interstitial meiofauna on a sandy ocean beach of South America. *Brazilian Journal of Oceanography* 55(2): 121 – 131.
- Bagares, J.C., Oco, A.B., Genardino, R.P. and Vedra, S.A. 2015. Potential use of nematode-copepod index in assessing pollution thresholds in selected coastal areas of Northern Mindanao, Philippines. *International Journal of Research in Biosciences* 4 (3): 37 – 41.
- Coull, B.C. 1988. Ecology of the marine meiofauna. In: *Introduction to the Study of Meiofauna*. edited by Higgins, R.P. and Thiel, H. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. pp. 18 – 38.
- GEO-Informatics Research Center for Natural Resource and Environmental. 2014. Location of the sampling sites at Sakom beach, Songkhla Province. Faculty of Environmental Management, Prince of Songkla, Songkhla.
- Giere, O. 1993. *Meiobenthology: The Microscopic Fauna in Aquatic Sediments*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin. 328 p.
- Grémare, A., Amouroux, J.M., Cauwet, G., Charles, F., Courties, C., DeBovee, F., Dinét, A., Devenon, J.L., Durrieu de Madron, X., Ferre, B., Fraunie, P., Joux, F., Lantoine, F., Lebaron, P., Naudin, J.J., Pujo-Pay, M. and Zudaire, L. 2003. The effects of a strong winter storm on physical and biological variables at a shelf site in the Mediterranean. *Oceanologica Acta* 26: 407 – 419.

- Grzelak, K., Kotwicki, L., and Szczucinski, W. 2009. Monitoring of sandy beach meiofaunal assemblages and sediments after the 2004 tsunami in Thailand. *Polish Journal of Environmental Studies* 18(1): 43 – 51.
- Hall, S.J. 1994. Physical disturbance and marine benthic communities: life in unconsolidated sediments. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 32: 179 – 239.
- Harguinteguy, C.A., Cofré, M.N. and Pastor de Ward, C.T. 2012. Change in the meiofauna community structure of sandy beaches of the Nuevo Gulf (Chubut, Argentina). *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)* 52(34): 411 – 422.
- Higgins, R.P. and Thiel, H. 1988. *Introduction to the Study of Meiofauna*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 488 p.
- Hyland, J., Karakassis, I., Magni, P., Petrov, A. and Shine, J. 2000. Summary Report: Results of initial planning meeting of the United Nations Educational. Scientific and Cultural organization (UNESCO), Benthic Indicator Group. 70 p.
- Kenny, A.J. and Sotheran, I. 2013. Characterising the physical properties of seabed habitats. In: *Methods for the Study of Marine Benthos*. 4<sup>th</sup> ed., edited by Eleftheriou, A. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester. pp. 47 – 96.
- Kingkaew, K. 2012. Coastal erosion and Geographic Information Systems. Water Quality Management Bureau Pollution Control Department. [online] Available from <http://wqm.pcd.go.th/water/images/stories/agriculture/journal/2555/geocoastalerosion.pdf> [2013, January 21]
- Monthum, Y. 2002. Free-living Marine Nematodes Community at the Mouths of the Canals around Khung Krabaen Bay, Chanthaburi Province. Master Thesis of Science (Marine Science). Kasetsart University. Bangkok. 158 pp. [in Thai]
- Monthum, Y. 2003. Meiofauna communities of the seagrass bed at Ao Tha len, Krabi Province. Proceedings of 41<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference: Fisheries. Bangkok. February 3 – 7, 2003. pp. 61 – 68. [in Thai]
- Monthum, Y. 2008. Ecology of free-living Marine Nematodes in Tha Len Bay Seagrass Bed, Krabi Province. Doctor of Philosophy (Marine Science). Kasetsart University. Bangkok. 213 pp. [in Thai]
- Nelson, D.W. and Sommers, L.E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In *Method of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2<sup>nd</sup> ed., edited by Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin. pp. 539 – 579.

- Pfannkuche, O. and Thiel, H. 1988. Sample processing. In *Introduction to the Study of Meiofauna*. edited by Higgins, R.P. and Thiel, H. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C. pp. 134 – 145.
- Pleumarom, S. 2010. Free-living Marine Nematodes community on Seagress Blades at Tha Len Bay, Krabi Province. Master Thesis of Science (Marine Science). Kasetsart University. Bangkok. 189 pp. [in Thai]
- Pollution Control Department. 2014. Marine Water Quality Standard. Pollution Control Department. Bangkok. 7 pp.
- Riera, R., Núñez, J., and Brito, M.C. 2012. Influence of a freshwater runoff on temporal variations of an intertidal meiofaun assemblage. *Vie Et Milieu-Life And Environment* 62(3): 105 – 114.
- Sakom Subdistrict Administration Organization. 2013. Location Sakom Beach. In tourist attraction syn. [online] Available from <http://www.sakomthepha.go.th/index.php?options=travel&mode=detail&id=617> [2013, January 22]
- Sawangarreruks, S., Yaowasooth, P. and Prempre, T. 2010. Nematode diversity at Thachin River mouth, Samut Sakhon Province. *Journal of Fisheries Technology Research* 4(1): 92 – 106. [in Thai]
- Schuckel, S., Sell A.F., Kihara, T.C., Koeppen. A., Kroncke, I. and Reiss, H. 2013. Meiofauna as food source for small-sized demersal fish in the southern North Sea. *Helgoland Marine Research* 67(2): 203 – 218.
- Tanyaros, S. 2007. *Introduction to Marine Science*. Odian Store. Bangkok. 280 pp. [in Thai]
- Vincx, M. and Heip, C. 1987. The use of meiobenthos in pollution monitoring studies: A review. ICES, C.M. E33: 1 – 18.
- Word, J.Q. Myers, B.L. Mearns, A.J. 1977. Animals that are indicators of marine pollution. In: *Coastal Water Research Project Annual Report, 1977*. El Segundo, CA. pp. 199 – 206.

**เปรียบเทียบการพยากรณ์ราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมือง  
ด้วยวิธีบ็อกซ์-เจนกินส์และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลัง**

**Comparison of Forecasting Methods for the Prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang  
Market between Box-Jenkins Method and Exponential Smoothing Method**

**วารงคณา เรียนสุทธิ์<sup>1\*</sup>**

**Warangkhana Riansut<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> สาขาวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

<sup>1</sup> Department of Mathematics and Statistics, Faculty of Science, Thaksin University

\*Corresponding author. E-mail: warang27@gmail.com

**บทคัดย่อ**

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การสร้างตัวแบบพยากรณ์ที่เหมาะสมกับอนุกรมเวลาราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมือง โดยใช้อนุกรมเวลาราคาปลาทับทิมเฉลี่ยต่อเดือน จากเว็บไซต์ของตลาดสี่มุมเมือง ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 83 ค่า ซึ่งข้อมูลถูกแบ่งออกเป็น 2 ชุด ข้อมูลชุดที่ 1 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤษภาคม 2558 จำนวน 77 ค่า สำหรับการสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วยวิธีบ็อกซ์-เจนกินส์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแดม ข้อมูลชุดที่ 2 ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 6 ค่า สำหรับการคัดเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสม โดยใช้เกณฑ์เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ย และเกณฑ์รากที่สองของความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุด ผลการวิจัยพบว่า วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์มีความเหมาะสมมากที่สุด

**คำสำคัญ:** ปลาทับทิม ตลาดสี่มุมเมือง บ็อกซ์-เจนกินส์ การปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลัง

**Abstract**

The objective of this study was to construct the appropriate forecasting model for the prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang market. These mean prices per month gathered from the website of Si-Mum-Muang market during January, 2009 to November, 2015 of 83 values were used and divided into 2 sets. The first set had 77 values from January, 2009 to May, 2015 for constructing the forecasting models by Box-Jenkins method, Holt's exponential smoothing method, Brown's exponential smoothing method, and damped trend exponential smoothing method. The second set had 6 values from June to November, 2015 for finding the most suitable forecasting method via the criteria of the lowest mean absolute percentage error and root mean squared error. Research findings indicated that, Brown's exponential smoothing method was most appropriate.

**Keywords:** Red Tilapia, Si-Mum-Muang Market, Box-Jenkins, Exponential Smoothing



## คำนำ

ตลาดสี่มุมเมืองมีขายสินค้าหลากหลายชนิด (Si-Mum-Muang Market, 2015, November 4: online) โดยสินค้าที่ผู้วิจัยให้ความสนใจในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คือ “ปลาทับทิม” หรือ “ปลานิลแดง” (*Oreochromis niloticus*, Linn) เนื่องจากปลาเป็นอาหารที่มีความนิยมบริโภค ทำให้มีการจับปลาจากธรรมชาติเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ปริมาณปลาที่มีอยู่ในธรรมชาติลดน้อยลง ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นการศึกษาดังกล่าวถึงวิธีการเพาะเลี้ยงรูปแบบการเลี้ยง และการปรับปรุงพันธุ์ จึงมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มปริมาณปลาให้มากขึ้น และทำให้ปลามีสายพันธุ์ที่ดี มีคุณภาพ ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค (Phinrub *et al.*, 2009) อีกทั้งปลาทับทิมยังเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากมีรสชาติดี เนื้อขาวสะอาด สามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิด เลี้ยงง่าย มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อโรค จึงได้รับความนิยมเลี้ยงเป็นอย่างมาก เพราะสามารถเลี้ยงได้ทั้งในบ่อดินและกระชัง รวมถึงยังสามารถเลี้ยงได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อยที่มีความเค็มในช่วง 15-25 ส่วนในพันส่วน (Champasri, 2013) การได้ทราบถึงราคาขายปลาทับทิมในอนาคตจากการพยากรณ์ทางสถิติ นับเป็นอีกหนึ่งมาตรการที่จะช่วยเหลือเกษตรกรในการใช้ผลการพยากรณ์ราคาขายเป็นจุดเริ่มต้นของการวางแผนการเลี้ยงปลา และเป็นแนวทางที่ช่วยคาดการณ์ความผันผวนของราคาได้ ซึ่งส่งผลดีต่อการตัดสินใจ การบริหารจัดการด้านความเสี่ยงต่างๆ ด้วยเหตุผลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมืองในอดีตมาสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วยวิธีการทางสถิติ 4 วิธี ได้แก่ วิธีบอกซ์-เจนกินส์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแฉก จากนั้นจึงคัดเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสมที่สุด 1 วิธี โดยใช้เกณฑ์เปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ย (Mean Absolute Percentage Error: MAPE) และเกณฑ์รากที่สองของความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (Root Mean Squared Error: RMSE) ที่ต่ำที่สุด เพื่อใช้พยากรณ์ราคาปลาทับทิมในอนาคตต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วยโปรแกรม SPSS รุ่น 17 โดยใช้ข้อมูลรวมเวลาราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมือง (บาท/กิโลกรัม) ซึ่งได้มาจากเว็บไซต์ของตลาดสี่มุมเมือง (Si-Mum-Muang Market, 2015, November 3: online) เป็นราคาปลาทับทิมเฉลี่ยต่อเดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 83 ค่า ผู้วิจัยได้แบ่งข้อมูลออกเป็น 2 ชุด ข้อมูลชุดที่ 1 คือ ราคาปลาทับทิม ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤษภาคม 2558 จำนวน 77 ค่า สำหรับการสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วยวิธีการทางสถิติ 4 วิธี ได้แก่ วิธีบอกซ์-เจนกินส์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแฉก เนื่องจากอนุกรมเวลาชุดนี้ มีส่วนประกอบของแนวโน้มอย่างชัดเจน อีกทั้งวิธีการพยากรณ์เหล่านี้มีค่า MAPE และ RMSE ของข้อมูลชุดที่ 1 ต่ำกว่าวิธีการพยากรณ์อื่นๆ ข้อมูลชุดที่ 2 คือ ราคาปลาทับทิม ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 6 ค่า

สำหรับการคัดเลือกวิธีการพยากรณ์ โดยใช้เกณฑ์ MAPE และ RMSE ที่ต่ำที่สุด วิธีการสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วยวิธีการทางสถิติทั้ง 4 วิธี แสดงรายละเอียดดังนี้

### 1. การพยากรณ์โดยวิธีบ็อกซ์-เจนกินส์ (Box-Jenkins Method)

วิธีบ็อกซ์-เจนกินส์ เป็นวิธีการพยากรณ์ที่มีความยุ่งยากและซับซ้อนมากที่สุดในบรรดาวิธีการพยากรณ์ด้วยกัน อีกทั้งยังต้องใช้จำนวนข้อมูลค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้เป็นวิธีการพยากรณ์ที่มีความถูกต้องสูงเนื่องจากได้กำหนดตัวแบบโดยการตรวจสอบคุณสมบัติของฟังก์ชันสหสัมพันธ์ในตัวเอง (Autocorrelation Function: ACF) และฟังก์ชันสหสัมพันธ์ในตัวเองบางส่วน (Partial Autocorrelation Function: PACF) ซึ่งพิจารณาภายใต้อนุกรมเวลาที่คงที่ (Stationary) หรืออนุกรมเวลาที่มีค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนคงที่ (Tasombut, 1996) โดยมีตัวแบบทั่วไป คือ Seasonal Autoregressive Integrated Moving Average: SARIMA(p, d, q)(P, D, Q)<sub>s</sub> แสดงดังสมการที่ (1) (Bowerman and O'Connell, 1993; Box et al., 1994) ขั้นตอนการสร้างตัวแบบพยากรณ์แสดงรายละเอียดใน Keerativibool (2014)

$$\phi_p(B)\Phi_p(B^s)(1-B)^d(1-B^s)^D Y_t = \delta + \theta_q(B)\Theta_Q(B^s)\varepsilon_t \quad (1)$$

เมื่อ  $Y_t$  แทนอนุกรมเวลา ณ เวลา  $t$

$\varepsilon_t$  แทนอนุกรมเวลาของความคลาดเคลื่อน

$\delta = \mu\phi_p(B)\Phi_p(B^s)$  แทนค่าคงที่ โดยที่  $\mu$  แทนค่าเฉลี่ยของอนุกรมเวลาที่คงที่

$\phi_p(B) = 1 - \phi_1 B - \phi_2 B^2 - \dots - \phi_p B^p$  แทนตัวดำเนินการสหสัมพันธ์ในตัวเองแบบไม่มีฤดูกาลอันดับที่  $p$  (Non-Seasonal Autoregressive Operator of Order  $p$ : AR( $p$ ))

$\Phi_p(B^s) = 1 - \Phi_1 B^s - \Phi_2 B^{2s} - \dots - \Phi_p B^{ps}$  แทนตัวดำเนินการสหสัมพันธ์ในตัวเองแบบมีฤดูกาลอันดับที่  $P$  (Seasonal Autoregressive Operator of Order  $P$ : SAR( $P$ ))

$\theta_q(B) = 1 - \theta_1 B - \theta_2 B^2 - \dots - \theta_q B^q$  แทนตัวดำเนินการเฉลี่ยเคลื่อนที่แบบไม่มีฤดูกาลอันดับที่  $q$  (Non-Seasonal Moving Average Operator of Order  $q$ : MA( $q$ ))

$\Theta_Q(B^s) = 1 - \Theta_1 B^s - \Theta_2 B^{2s} - \dots - \Theta_Q B^{Qs}$  แทนตัวดำเนินการเฉลี่ยเคลื่อนที่แบบมีฤดูกาลอันดับที่  $Q$  (Seasonal Moving Average Operator of Order  $Q$ : SMA( $Q$ ))

$t$  แทนช่วงเวลา ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 1 ถึง  $n_t$  โดยที่  $n_t$  แทนจำนวนข้อมูลในอนุกรมเวลาชุดที่ 1

$s$  แทนจำนวนฤดูกาล

$d$  และ  $D$  แทนลำดับที่ของการหาผลต่างและผลต่างฤดูกาล ตามลำดับ

$B$  แทนตัวดำเนินการถอยหลัง (Backward Operator) โดยที่  $B^s Y_t = Y_{t-s}$

## 2. การพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบ (Smoothing Method)

การพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบ (Smoothing Method) คือ การพยากรณ์โดยใช้ค่าสังเกตจากอดีตส่วนหนึ่งหรือทั้งหมดในการสร้างสมการพยากรณ์ ซึ่งน้ำหนักที่ให้กับค่าสังเกตแต่ละค่าจะแตกต่างกัน เหตุผลสำคัญที่ใช้วิธีการปรับเรียบ เนื่องจากอนุกรมเวลาอาจเกิดความผันแปรจากเหตุการณ์ที่ผิดปกติ ทำให้ไม่เห็นส่วนประกอบของอนุกรมเวลาอื่นๆ ซึ่งวิธีการปรับเรียบจะช่วยลดอิทธิพลของความผันแปรดังกล่าวได้ ดังนั้นส่วนประกอบของอนุกรมเวลาแต่ละส่วนจึงปรากฏชัดเจนขึ้น ทำให้สามารถพยากรณ์ค่าของอนุกรมเวลาในอนาคตได้ วิธีการปรับเรียบมีหลายวิธี และการใช้งานจะขึ้นอยู่กับลักษณะของอนุกรมเวลา (Keerativibool, 2014) สำหรับอนุกรมเวลาราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมืองของข้อมูลชุดที่ 1 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤษภาคม 2558 ดังภาพที่ 1 ประกอบด้วยส่วนประกอบของแนวโน้มอย่างชัดเจน โดยแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเพิ่มขึ้น ขณะที่ส่วนประกอบของฤดูกาลอาจปรากฏไม่ชัดเจนนัก ด้วยเหตุผลของลักษณะอนุกรมเวลาที่มีเฉพาะส่วนประกอบของแนวโน้ม การวิจัยครั้งนี้จึงใช้วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังทั้งหมด 3 วิธี ได้แก่ การปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ การปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ และการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแฉก รายละเอียดของแต่ละวิธีการและสัญลักษณ์ที่ใช้แสดงดังนี้

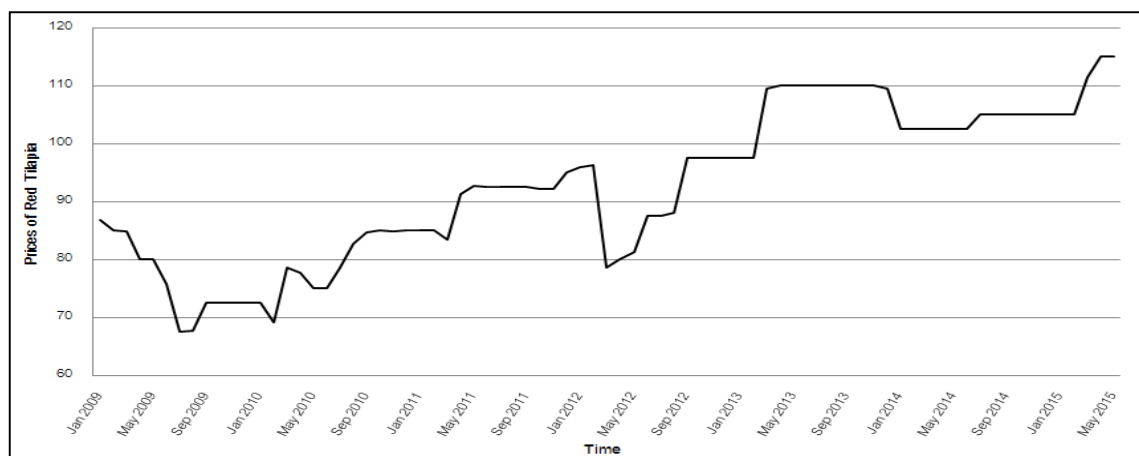


Figure 1 Run plot for the prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang market during January, 2009 to May, 2015

กำหนดให้  $\hat{Y}_{t+m}$  แทนค่าพยากรณ์ ณ เวลา  $t + m$  โดยที่  $m$  แทนจำนวนช่วงเวลาที่ต้องการพยากรณ์ไปข้างหน้า  
 $a_t$  และ  $b_t$  แทนค่าประมาณ ณ เวลา  $t$  แสดงระยะตัดแกน  $Y$  และความชันของแนวโน้ม ตามลำดับ  
 $\alpha$ ,  $\gamma$  และ  $\phi$  แทนค่าคงที่การปรับเรียบ โดยที่  $0 < \alpha < 1$ ,  $0 < \gamma < 1$  และ  $0 < \phi < 1$   
 $t$  แทนช่วงเวลา ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 1 ถึง  $n_t$  โดยที่  $n_t$  แทนจำนวนข้อมูลในอนุกรมเวลาชุดที่ 1

## 2.1 การพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ (Holt's Exponential Smoothing Method)

การปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ มีความเหมาะสมกับอนุกรมเวลาที่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรงและไม่มีส่วนประกอบของฤดูกาล มีค่าคงที่การปรับเรียบ 2 ตัว คือ ค่าคงที่การปรับเรียบของค่าระดับ (Level:  $\alpha$ ) และค่าคงที่การปรับเรียบของค่าความชัน (Trend:  $\gamma$ ) ตัวแบบพยากรณ์แสดงดังสมการที่ (2) (Ket-iam, 2005)

$$\hat{Y}_{t+m} = a_t + b_t(m) \quad (2)$$

เมื่อ  $a_t = \alpha Y_t + (1-\alpha)(a_{t-1} + b_{t-1})$  และ  $b_t = \gamma(a_t - a_{t-1}) + (1-\gamma)b_{t-1}$

## 2.2 การพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ (Brown's Exponential Smoothing Method)

การปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ มีความเหมาะสมกับอนุกรมเวลาที่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรงและไม่มีส่วนประกอบของฤดูกาลเช่นเดียวกับการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ แต่มีการกำหนดให้ค่าคงที่การปรับเรียบของค่าระดับและค่าคงที่การปรับเรียบของค่าความชันเท่ากัน ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ เป็นกรณีพิเศษของการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ ตัวแบบพยากรณ์แสดงดังสมการที่ (3) (IBM Corporation, 2015)

$$\hat{Y}_{t+m} = a_t + b_t[(m-1) + 1/\alpha] \quad (3)$$

เมื่อ  $a_t = \alpha Y_t + (1-\alpha)a_{t-1}$  และ  $b_t = \alpha(a_t - a_{t-1}) + (1-\alpha)b_{t-1}$

## 2.3 การพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบดัมป์ (Damped Trend Exponential Smoothing Method)

การปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบดัมป์ มีความเหมาะสมกับอนุกรมเวลาที่มีแนวโน้มเป็นเส้นตรงและไม่มีส่วนประกอบของฤดูกาลเช่นเดียวกับการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ และของบราวน์ แต่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะเพิ่มขึ้นหรือลดลงช้ากว่าการเปลี่ยนแปลงของแนวโน้มที่เป็นเส้นตรง มีค่าคงที่การปรับเรียบ 3 ตัว คือ ค่าคงที่การปรับเรียบของค่าระดับ ( $\alpha$ ) ค่าคงที่การปรับเรียบของค่าความชัน ( $\gamma$ ) และค่าคงที่การปรับเรียบของค่าความชันแบบดัมป์ (Damped Trend) ( $\phi$ ) (Manmin, 2006) ตัวแบบพยากรณ์แสดงดังสมการที่ (4) (IBM Corporation, 2015)

$$\hat{Y}_{t+m} = a_t + b_t \sum_{i=1}^m \phi^i \quad (4)$$

เมื่อ  $a_t = \alpha Y_t + (1-\alpha)(a_{t-1} + \phi b_{t-1})$  และ  $b_t = \gamma(a_t - a_{t-1}) + (1-\gamma)\phi b_{t-1}$

## 3. การคัดเลือกวิธีการพยากรณ์

การวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสมกับอนุกรมเวลาราคาปลาตบทิพย์ที่ตลาดสี่มุมเมือง โดยการเปรียบเทียบราคาปลาตบทิพย์ของข้อมูลชุดที่ 2 ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 กับค่าพยากรณ์จากวิธีการทางสถิติทั้ง 4 วิธี เพื่อคำนวณค่า MAPE และ RMSE โดยตัวแบบพยากรณ์ที่ให้ค่า MAPE และ

RMSE ต่ำที่สุด จัดเป็นตัวแทนที่มีความเหมาะสมกับอนุกรมเวลาชุดนี้มากที่สุด เนื่องจากให้ค่าพยากรณ์ที่มีความแตกต่างกับข้อมูลจริงน้อยที่สุด เกณฑ์ MAPE และ RMSE แสดงดังสมการที่ (5) (Ket-iam, 2005) จากนั้นผู้วิจัยจะใช้ตัวแทนพยากรณ์ที่เหมาะสมที่สุดในการพยากรณ์ราคาปลาตบพิม ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2558 ถึงเดือนธันวาคม 2559 ต่อไป

$$MAPE = \frac{100}{n_2} \sum_{t=1}^{n_2} \left| \frac{e_t}{Y_t} \right| \text{ และ } RMSE = \sqrt{\frac{1}{n_2} \sum_{t=1}^{n_2} e_t^2} \quad (5)$$

เมื่อ  $e_t = Y_t - \hat{Y}_t$  แทนความคลาดเคลื่อนจากการพยากรณ์ ณ เวลา  $t$

$Y_t$  และ  $\hat{Y}_t$  แทนอนุกรมเวลา และค่าพยากรณ์ ณ เวลา  $t$  ตามลำดับ

$t$  แทนช่วงเวลา ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 1 ถึง  $n_2$  โดยที่  $n_2$  แทนจำนวนข้อมูลในอนุกรมเวลาชุดที่ 2

### ผลการวิจัย

จากการพิจารณาลักษณะการเคลื่อนไหวของอนุกรมเวลาชุดที่ 1 ซึ่งคือ ราคาปลาตบพิมที่ตลาดสี่มุมเมือง ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤษภาคม 2558 จำนวน 77 ค่า ดังภาพที่ 1 พบว่า ราคาปลาตบพิมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ส่วนประกอบของฤดูกาลอาจปรากฏไม่ชัดเจนนัก

#### 1. ผลการพยากรณ์โดยวิธีบอกซ์-เจนกินส์

จากกราฟ ACF และ PACF ดังภาพที่ 2 พบว่า อนุกรมเวลายังไม่คงที่ เนื่องจากมีส่วนประกอบของแนวโน้ม ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในตัวเองค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ (Die Down) ดังภาพที่ 2 ในกราฟ ACF ด้านซ้าย ดังนั้นผู้วิจัยจึงแปลงข้อมูลด้วยการหาผลต่างลำดับที่ 1 ( $d = 1$ ) ได้กราฟ ACF และ PACF ของอนุกรมเวลาที่แปลงข้อมูลแล้ว แสดงดังภาพที่ 3 ซึ่งพบว่า อนุกรมเวลามีลักษณะคงที่ จึงกำหนดตัวแทนพยากรณ์ที่เป็นไปได้ เริ่มต้น คือ SARIMA(0, 1, 0)(0, 0, 1)<sub>12</sub> พร้อมกับประมาณค่าพารามิเตอร์ โดยตัวแทนพยากรณ์ที่มีพารามิเตอร์ทุกตัวมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 มีค่า BIC ต่ำที่สุด ( $BIC = 2.632$ ) และมีค่าสถิติ Ljung-Box Q ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 (Ljung-Box Q ณ lag 18 = 5.779, p-value = 0.995) คือ ตัวแบบ SARIMA(0, 1, 0)(0, 0, 1)<sub>12</sub> ไม่มีพจน์ค่าคงที่ ซึ่งจากสมการที่ (1) สามารถเขียนตัวแทนได้ดังนี้

$$(1-B)Y_t = (1-\Theta_1 B^{12})\varepsilon_t$$

$$Y_t = Y_{t-1} + \varepsilon_t - \Theta_1 \varepsilon_{t-12}$$

จากการแทนค่าประมาณพารามิเตอร์ จะได้ตัวแทนพยากรณ์ดังนี้

$$\hat{Y}_t = Y_{t-1} - 0.31549e_{t-12} \quad (6)$$

เมื่อ  $\hat{Y}_t$  แทนค่าพยากรณ์ ณ เวลา  $t$

$Y_{t-1}$  แทนอนุกรมเวลา ณ เวลา  $t-1$

$e_{t-12}$  แทนความคลาดเคลื่อนจากการพยากรณ์ ณ เวลา  $t-12$

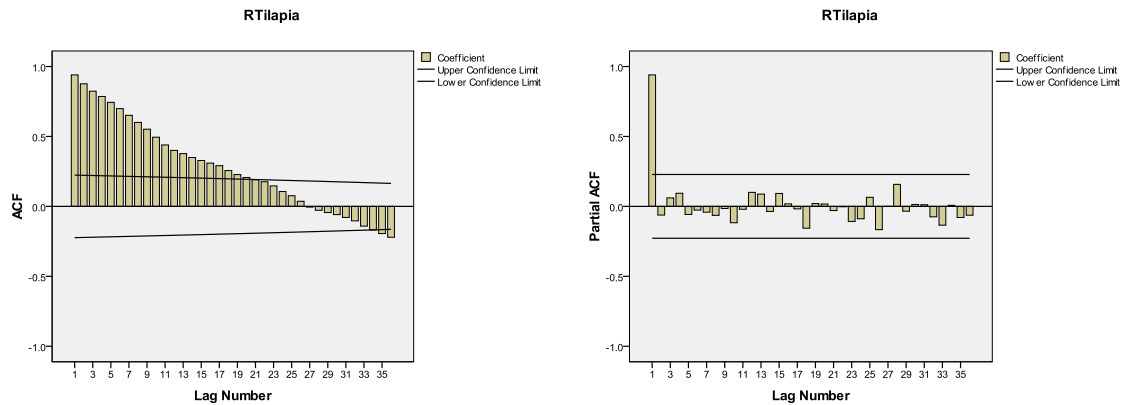


Figure 2 ACF and PACF of the prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang market

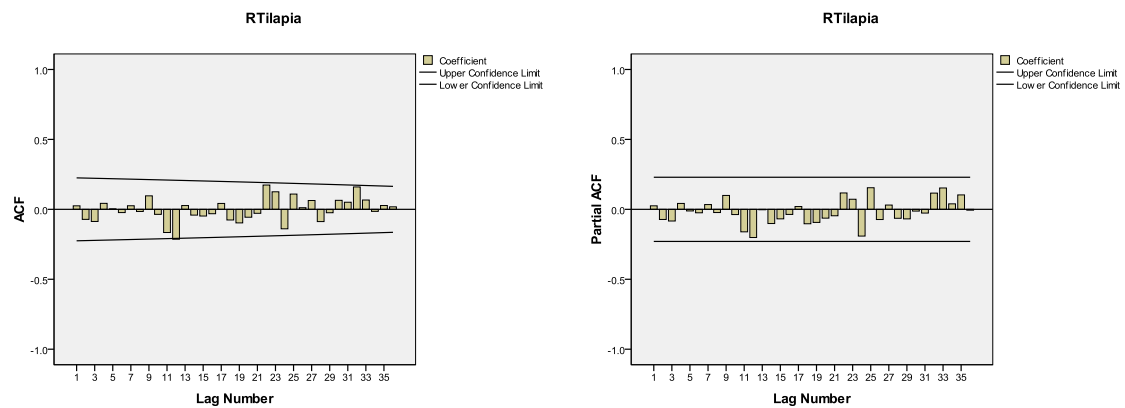


Figure 3 ACF and PACF of the first difference,  $d = 1$ , of the prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang market

## 2. ผลการพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบ

### 2.1 ผลการพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์

จากการสร้างตัวแบบพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ พบว่า BIC มีค่าเท่ากับ 2.747 และมีค่าสถิติ Ljung-Box Q ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 (Ljung-Box Q ณ lag 18 = 10.452,  $p\text{-value} = 0.842$ ) ตัวแบบพยากรณ์แสดงดังนี้

$$\hat{Y}_{t+m} = 115 + 0.5049(m) \quad (7)$$

เมื่อ  $\hat{Y}_{t+m}$  แทนค่าพยากรณ์ ณ เวลา  $t + m$  โดยที่  $m = 1$  ถึง 6 (เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558)

## 2.2 ผลการพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์

จากการสร้างตัวแบบพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ พบว่า BIC มีค่าเท่ากับ 2.879 และมีค่าสถิติ Ljung-Box Q ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 (Ljung-Box Q ณ lag 18 = 21.397, p-value = 0.209) ตัวแบบพยากรณ์แสดงดังนี้

$$\hat{Y}_{t+m} = 113.30668 + 2.10519 [(m-1) + 1/0.50049] \quad (8)$$

เมื่อ  $\hat{Y}_{t+m}$  แทนค่าพยากรณ์ ณ เวลา  $t + m$  โดยที่  $m = 1$  ถึง 6 (เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558)

## 2.3 ผลการพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแตร

จากการสร้างตัวแบบพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแตร พบว่า BIC มีค่าเท่ากับ 2.815 และมีค่าสถิติ Ljung-Box Q ไม่มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 (Ljung-Box Q ณ lag 18 = 10.426, p-value = 0.792) ตัวแบบพยากรณ์แสดงดังนี้

$$\hat{Y}_{t+m} = 115.00001 + 0.43578 \sum_{i=1}^m (0.99884)^i \quad (9)$$

เมื่อ  $\hat{Y}_{t+m}$  แทนค่าพยากรณ์ ณ เวลา  $t + m$  โดยที่  $m = 1$  ถึง 6 (เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558)

## 3. ผลการคัดเลือกวิธีการพยากรณ์

จากการใช้ตัวแบบพยากรณ์ของวิธีบ็อกซ์-เจนกินส์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแตร ในสมการที่ (6) ถึง (9) ตามลำดับ ได้ค่าพยากรณ์ราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมืองของข้อมูลชุดที่ 2 ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 แสดงดังตารางที่ 1

**Table 1** Prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang market and its forecasts (Baht/Kilogram), during June to November, 2015

| Time      | Prices of Red Tilapia | Prices of Red Tilapia from Four Statistical Forecasting Methods |        |               |        |
|-----------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------|--------|---------------|--------|
|           |                       | Box-Jenkins                                                     | Holt   | Brown         | Damped |
| Jun, 2015 | 115.00                | 114.81                                                          | 115.50 | 117.51        | 115.44 |
| Jul, 2015 | 125.00                | 114.02                                                          | 116.01 | 119.62        | 115.87 |
| Aug, 2015 | 125.00                | 113.99                                                          | 116.51 | 121.72        | 116.30 |
| Sep, 2015 | 125.00                | 113.68                                                          | 117.02 | 123.83        | 116.74 |
| Oct, 2015 | 125.00                | 113.68                                                          | 117.52 | 125.93        | 117.17 |
| Nov, 2015 | 125.00                | 113.68                                                          | 118.03 | 128.04        | 117.60 |
| MAPE      |                       | 7.4875                                                          | 5.3938 | <u>2.2038</u> | 5.5731 |
| RMSE      |                       | 10.2164                                                         | 7.3185 | <u>3.0951</u> | 7.5668 |



จากตารางที่ 1 พบว่า วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์เป็นวิธีที่มีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากให้ค่าพยากรณ์ที่มีความแตกต่างกับข้อมูลจริงน้อยที่สุด หรือให้ค่า MAPE และ RMSE ต่ำที่สุด ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีการดังกล่าวในการพยากรณ์ราคาปลาทับทิม ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2558 ถึงเดือนธันวาคม 2559 รายละเอียดแสดงดังภาพที่ 4

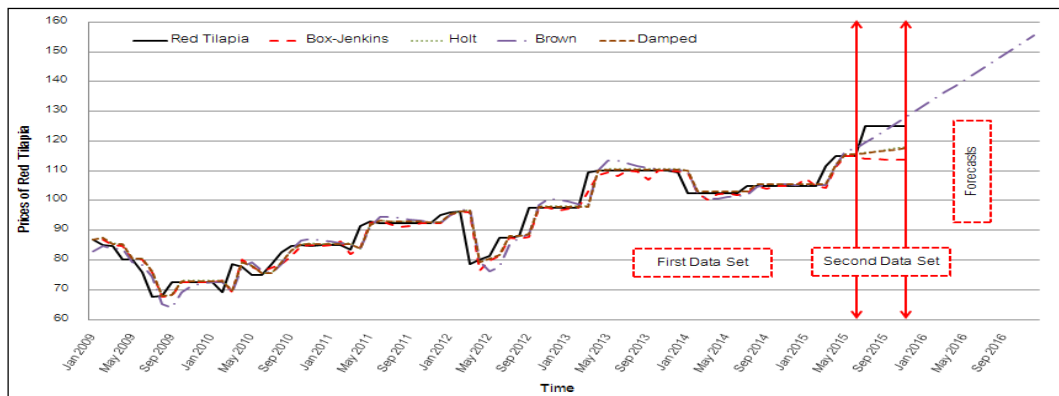


Figure 4 Comparison the prices of Red Tilapia at Si-Mum-Muang market and its forecasts

### สรุปและวิจารณ์ผล

การวิจัยครั้งนี้ได้นำเสนอวิธีการสร้างและคัดเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสมกับอนุกรมเวลาราคาปลาทับทิมที่ตลาดสี่มุมเมือง โดยใช้ข้อมูลจากเว็บไซต์ของตลาดสี่มุมเมือง ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 83 ค่า ผู้วิจัยได้แบ่งข้อมูลออกเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 คือข้อมูลตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 ถึงเดือนพฤษภาคม 2558 จำนวน 77 ค่า สำหรับการสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วยวิธีบ็อกซ์-เจนกินส์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแฉก ชุดที่ 2 คือข้อมูลตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 จำนวน 6 ค่า สำหรับการคัดเลือกวิธีการพยากรณ์ที่เหมาะสม โดยใช้เกณฑ์ MAPE และ RMSE ที่ต่ำที่สุด ผลการวิจัยพบว่า จากวิธีการพยากรณ์ทั้งหมดที่ได้ศึกษา วิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์เป็นวิธีที่มีความเหมาะสมมากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Keerativibool (2013) โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของโฮลต์ และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังที่มีแนวโน้มแบบแฉก ให้ค่าพยากรณ์ข้อมูลชุดที่ 2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p\text{-value} = 0.8402$ ) และวิธีบ็อกซ์-เจนกินส์ ให้ค่าพยากรณ์ที่มีความคลาดเคลื่อนมากที่สุด อย่างไรก็ตาม ผลการใช้ตัวแบบพยากรณ์โดยวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลังของบราวน์ ในการพยากรณ์ราคาปลาทับทิม ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2558 ถึงเดือนธันวาคม 2559 พบว่า ราคาปลาทับทิม มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นมาก ซึ่งในความเป็นจริง ราคาอาจไม่เพิ่มมากเช่นนั้น ดังนั้นการศึกษาค้างต่อไป ผู้วิจัยควรพิจารณาปัจจัยอื่นๆ ในการสร้างตัวแบบพยากรณ์ด้วย เช่น สภาวะเศรษฐกิจ รวมถึงควรพิจารณาวิธีการพยากรณ์อื่นๆ เช่น วิธีโครงข่าย

ประสาทเทียม (Artificial Neural Networks หรือ ANN) อีกทั้งเมื่อมีราคาปลาทบิมที่เป็นปัจจุบันมากขึ้น ผู้วิจัยควรนำมาปรับปรุงตัวแบบ เพื่อให้ตัวแบบพยากรณ์ที่ได้มีความเหมาะสมสำหรับการพยากรณ์ค่าในอนาคตต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

- Bowerman, B.L. and O'Connell, R.T. 1993. Forecasting and Time Series: An Applied Approach. 3<sup>rd</sup> ed. Duxbury Press. California.
- Box, G.E.P., Jenkins, G.M. and Reinsel, G.C. 1994. Time Series Analysis: Forecasting and Control. 3<sup>rd</sup> ed. Prentice Hall. New Jersey.
- Champasri, S. 2013. Supplementation of bread by-product to Red Tilapia cage culture. Journal of Fisheries Technology Research 7(1): 1-8. [in Thai].
- IBM Corporation. IBM SPSS Statistics Information Center. [Online] Available from: <http://publib.boulder.ibm.com/infocenter/spsstat/v20r0m0/index.jsp?> [2015, November 4].
- Keerativibool, W. 2013. Forecasting model for the retail prices of gasohol 95 in Bangkok and peripheral areas. KMUTT Research and Development Journal 36(4): 423-438. [in Thai].
- Keerativibool, W. 2014. Forecasting the export quantity of rubber compound. Srinakharinwirot Science Journal 30(2): 41-56. [in Thai].
- Ket-iam, S. 2005. Forecasting Technique. 2<sup>nd</sup> ed. Thaksin University. Songkhla. [In Thai].
- Manmin, M. 2006. Time Series and Forecasting. Fore Printing. Bangkok. [In Thai].
- Phinrub, W., Lohaluksanadech, D., Jintananuch, N. and Worrasutpisal, P. 2009. Comparison on nursing of tabtim fish using different salinity. Journal of Fisheries Technology Research 3(2): 9-14. [in Thai].
- Si-Mum-Muang Market. Prices of Red Tilapia. [Online] Available from <http://www.taladsimummuang.com/dmma/Portals/pricelistitem.aspx?id=070302120> [2015, November 3]. [in Thai].
- Si-Mum-Muang Market. History. [Online] Available from <http://www.taladsimummuang.com/dmma/Portals/About.aspx> [2015, November 4]. [in Thai].
- Taesombut, S. 1996. Quantitative Forecasting Techniques. Physic Center. Bangkok. [In Thai].

# การจำแนกชนิดของขยะพลาสติกหน้าดินบริเวณปากแม่น้ำระยอง

## Characterization of Plastic Benthic Litter in Rayong River Mouth, Rayong Province, THAILAND

นภาพร เลียดประถม<sup>1\*</sup>, พงศธร ใจรัศมี<sup>1</sup>, สุหทัย ไพรสานท์กุล<sup>2</sup>, ธชณัฐ ภัทรสถาพรกุล<sup>1</sup>,  
พิมพ์ทอง ทองนพคุณ<sup>3</sup>

Napaporn Leadprathom<sup>1</sup>, Pongsathon Jairusamee<sup>1</sup>, Suhatai Praisankul<sup>2</sup>, Tachanat Bhatrasataponkul<sup>1</sup> and  
Pimthong Thongnopkun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพาวิทยาเขตจันทบุรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี 22170

<sup>2</sup>กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรุงเทพฯ 10210

<sup>3</sup>คณะอัญมณี มหาวิทยาลัยบูรพาวิทยาเขตจันทบุรี อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี 22170

<sup>1</sup>Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus Ta-mai Chanthaburi 22170

<sup>2</sup>Department of Marine and Coastal Resources, Bangkok 10210

<sup>3</sup>Faculty of Gems, Burapha University, Chanthaburi Campus Ta-mai Chanthaburi 22170

\*corresponding author: napapork@go.buu.ac.th

### บทคัดย่อ

ขยะพลาสติกเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญโดยเฉพาะในพื้นที่ทางทะเลและเอสทูรีที่มีรายงานว่าพลาสติกเป็นชนิดขยะที่พบมากที่สุด ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ทำการสำรวจขยะหน้าดินบริเวณปากแม่น้ำระยองซึ่งเก็บตัวอย่างโดยวนลากทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน ในปีพ.ศ. 2554 ผลการศึกษาพบว่าในฤดูแล้งพบขยะเฉลี่ย  $4.5 \pm 0.2$  ชิ้นต่อ 100 ตรม. ซึ่ง 80.7% เป็นขยะพลาสติก ในขณะที่ฤดูแล้งพบขยะเฉลี่ย  $9.0 \pm 4.8$  ชิ้นต่อ 100 ตรม. และ 82.4% เป็นขยะพลาสติก โดยการจำแนกขยะพลาสติกตามการใช้งานพบขยะพลาสติกทั้งหมด 14 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุดคือชิ้นส่วนที่แตกหัก รองลงมาคือภาชนะใส่อาหารและถุงพลาสติกตามลำดับ จากการวิเคราะห์ชนิดของพลาสติกตามโครงสร้างทางเคมีพบพลาสติกทั้งหมด 13 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุดคือ โพลีโพรไพลีน 35% รองลงมาคือโพลีเอททีลีน 32% โพลีไวนิลคลอไรด์ 9% และ โพลีเอททีลีน เทเรพลาทาเลต 8% ตามลำดับ

คำสำคัญ: ขยะหน้าดิน; พลาสติก; FTIR; ปากแม่น้ำ; ระยอง; ประเทศไทย

### Abstract

Plastic litter is an ongoing problem everywhere and reported as the predominant type of litter in marine and estuary environments in many surveys. Therefore benthic litter samples were collected in 2011 and examined from the Rayong River estuary in dry and rainy seasons by trawling. Average density of benthic litter in the dry season was  $4.5 \pm 0.2$  items/100 m<sup>2</sup> and 80.7% was plastic material. Whereas in the rainy season was  $9.0 \pm 4.8$  items/100 m<sup>2</sup> and 82.4% was plastic as well. Fourteen types of plastic litter was inspected according to usage category. The dominant type was plastic fragments followed by food packages and carry bags. Meanwhile, there were 13 types of plastic according to

chemical structures. The most dominant was Polypropylene (PP) (35%), followed by Polyethylene (PE) (32%), Polyvinylchloride (PVC) (9%), and Polyethylene terephthalate (8%).

**Keywords:** Benthic Litter; Plastic; FTIR; Estuary; Rayong; Thailand

## Introduction

Marine litter is a global widespread pollution problem. Several studies indicated that plastic is the most common type of material in both beach-stranded litter and benthic litter (Guven *et al.*, 2013; Koutsodendris *et al.*, 2008; Morishige *et al.*; 2007; Santos *et al.*; 2003). Plastic litter generates adverse impacts on environments and ecosystems, such as gastro-intestinal blockage and entanglement of marine mammals and marine birds (Votier *et al.*, 2011; Williams, *et al.* 2011). Meanwhile, the accumulation of benthic litter may affect the habitats of benthic biota. One reason that plastics are so harmful to ecosystems is releasing of toxic chemicals. Plastitizers that disrupt the endocrine systems of marine animals is one example. Moreover plastic litter can contaminate marine environments by accumulating other pollutants (e.g., DDT and PCBs) on their surface (Van *et al.*, 2012). Different types of plastic present different degrees of pollutant adsorption. Therefore, type of plastic litter must be investigated to assess the risk of plastic waste to marine environment. Unfortunately, surveys of benthic litter in Thailand are very rare. In addition, beach-stranded litter is a definite problem, and plastic bags is the most commonly found litter on beaches (DMRC, 2013). Therefore, this preliminary study is a survey of marine benthic litter in Thailand's coastal areas. The selected site is the Rayong River mouth area, which affected by both urban and industrial waste. Some areas along Rayong River were designated as a pollution control zone in 2009. This study aimed to survey benthic litter in the river mouth in order to keep the aquatic ecosystem clean and healthy.

## Materials and methods

### Study area and sampling methods

The benthic litter sampling area is located at the mouth of the Rayong River ( $12^{\circ}40'32''$ N and  $101^{\circ}16'42''$ E), Muang district of Rayong province, in the east of Thailand. Benthic litter was collected twice per season in the dry (April and May) and rainy (July and September) seasons in 2011 by the trawling method. The size of the bottom trawling net was 2x4x20 m and its mesh size was 2 cm. The sampling area covered 300x250 meters in the area. There were three hauls per sampling time.

All litter samples were cleaned and then counted and weighed on an analytical balance. Collected objects were categorized by material type, such as plastic, metal, and glass, and by using

purpose, such as bags, food containers, and fragments. Plastic benthic litter was separated and then further analyzed the infrared spectra by Fourier transform spectroscopy (FTIR).

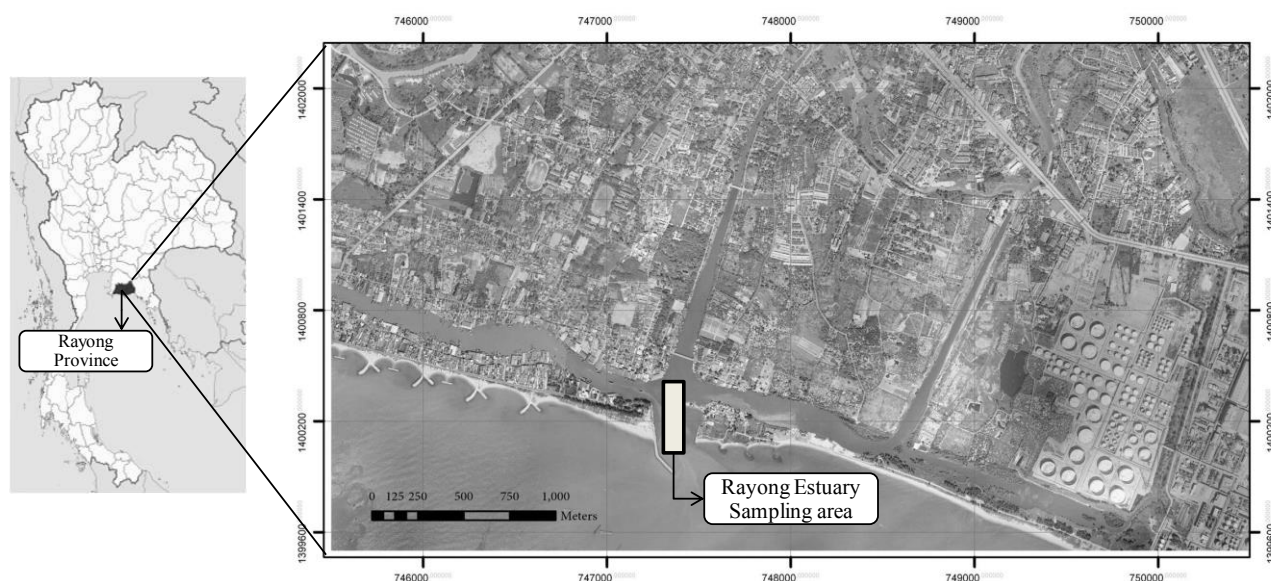


Figure 1 Benthic litter sampling area, Rayong Estuary, Thailand

### Plastic characterization by FTIR

Plastic benthic litter samples were cleaned by washing in a sonicator ultrasonic cleaner with de-ionized water for 5 minutes and then air dried at room temperature. The infrared spectra measurements were performed by absorption-reflection technique using a Nicolet iN10 Infrared Microscope. Spectra were recorded in the mid infrared region with 64 scans at a resolution of  $4\text{ cm}^{-1}$ .

## Results and discussion

### General information about benthic litter

A total of 962 items of benthic litter were reported in this study at Rayong Estuary by trawling. There was an average of  $7.0 \pm 0.5$  items/ $100\text{ m}^2$  and density of litter in the dry season ( $4.5 \pm 0.2$  items/ $100\text{ m}^2$ ) was higher than in the rainy season ( $9.5 \pm 2.0$  items/ $100\text{ m}^2$ ). In Thailand, the monsoon period is from May to October. Therefore, causing high runoff volume in that period and may influence litter loading into the river. (Hydrology and Water Management Center for Eastern Region, 2011).

### Materials of litter

Nine types of litter material were categorized from the collected samples. The most common material was plastic litter (83.9%), followed by fabric (4.7%), wood (4.4%), paper (2.2%), metal (1.8%), rubber (0.8%), styrofoam (0.3%), ceramic (0.3%), and other (0.1%). Consistency with the

other studies, the most significant problem in all areas was plastic. The percentage of plastic litter in this study was higher than other studies (Table 1). Even the annual consumption of plastic in Thailand per capita (40 kg) was still lower than in many countries such as France (92 kg) and Japan (82 kg). However, the percentage of plastic litter which recycled was only 14% (PCD, 2011). Therefore there is no doubt that this study shows a high proportion of plastic litter. In addition the depth of area in this study is less than other studies (Table 1) meanwhile the density of litter was the highest. The topographic of the study area may cause the high accumulate of benthic litter at bottom of estuary

**Table 1:** Comparison of plastic litters in different region

| Location                   | Material |       |       |       |                | Density<br>(Item/km <sup>2</sup> ) | Depth<br>(m) | Reference                             |
|----------------------------|----------|-------|-------|-------|----------------|------------------------------------|--------------|---------------------------------------|
|                            | Plastic  | Metal | Glass | Paper | Other          |                                    |              |                                       |
| Greece Coast               | 56       | 17    | 11    | -     | -              | 165                                | 15-350       | Koutsodendris<br><i>et al.</i> (2008) |
| Antalya Bay Turkey         | 81.1     | 2.2   | 73.9  | -     | Other<br>12.8% | 115-2,762                          | 200-800      | Guyen <i>et al.</i> (2001)            |
| U.S. west coast            | 24.1     | 36.7  | 13.4  | -     | -              | 67                                 | 55-1280      | Keller <i>et al.</i><br>(2011)        |
| Belgium coast              | 95       | 3.4   | -     | 0.9   | -              | 1,250-11,527                       | -            | Canwenberg<br><i>et al.</i> (2013)    |
| Northern<br>Mediterranean  | 48       | 1     | 8     | 28    | Other<br>12%   | 0-45,000                           | 40-80        | Sanchez <i>et al.</i> (2013)          |
| Rayong Estuary<br>Thailand | 86.27    | 1.6   | 0.3   | 2     | -              | 70,000                             | 4-20         | This study                            |

### Weight of Benthic Litter

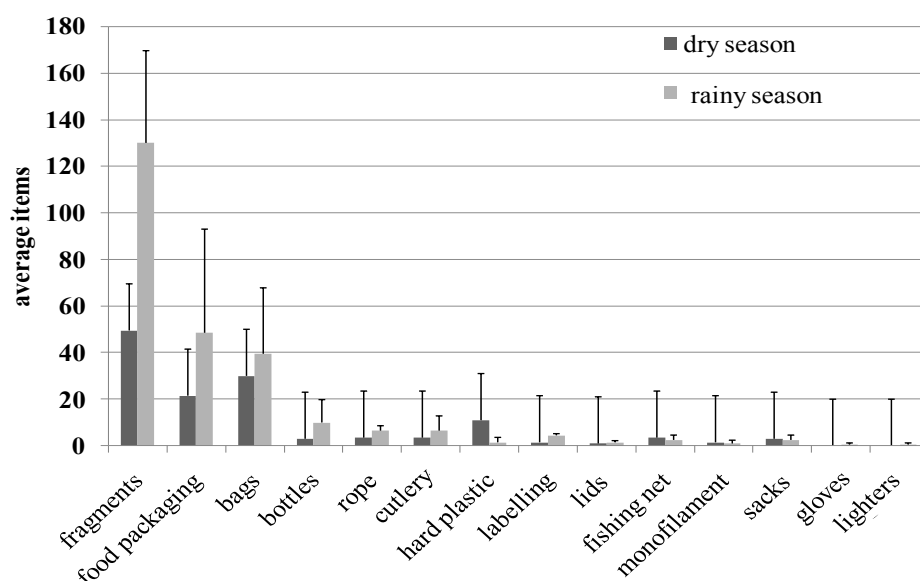
Total weight litter from 12 hauls was 57 kg classifying, 7 kg from the dry season and 50 kg from the wet season. Wood benthic litter was 23 kg, followed by rubber 22.4 kg, plastic 5.8 kg, and metal 4.3 kg (Table 2). Similar to the abundance of litter items, the loading of litter in the wet season was tremendously higher than in the dry season. If focusing only on the plastic weight, was between 0.03-2100 g in range.

**Table 2** Weight of Benthic Litter

| Type of litter material | Total weight (kg) | Range of Weight (g) |
|-------------------------|-------------------|---------------------|
| Wood                    | 23.0              | 0.91-2,700          |
| Rubber                  | 22.4              | 1.06-14,400         |
| Plastic                 | 5.8               | 0.03-2,100          |
| Metal                   | 4.3               | 0.53-4,000          |
| Fabric                  | 1.1               | 0.02-264            |
| Paper                   | 0.3               | 0.02-59             |
| Glass and ceramic       | 0.2               | 7-147               |
| Styrofoam               | 0.01              | 0.12-12             |
| Other                   | 0.2               | 1.3-86              |

### Types of plastic benthic litter

There were 15 types of plastic litter analyzed by categories of use. The highest frequency litter was plastic fragments, followed by plastic bags and bottles. The sequencing of categories of use was similar in both the dry and wet seasons. The sources of litter were both marine (fishing nets and monofilament line) and land-based (food containers, bottle caps, and lids). However, most of the benthic litter may originated from land-based sources which indicate that the management of solid waste from the area near the river is not effective. This is similar to sources of marine litter from the Mediterranean Sea, where studies show that 80% of litter is from land-based sources (CUG, HELMEPA and MIO-ECSDE, 2007).

**Figure 2** Type of benthic litter by categories of use

### Spectra of plastic litter

There were 13 plastics according to spectra of litter. FTIR analysis of 804 plastic samples showed that 280 samples were polypropylene (PP), 269 samples were polyethylene (PE), 71 samples were polyvinyl chloride (PVC), and 66 samples were polyethylene terephthalate (PET). Spectra from polyethylene samples peaked around 2916, 2849, 1471, and 718  $\text{cm}^{-1}$ , which are characteristic of this material (Figure 3). Polypropylene samples also produced characteristic peaks between 2723 and 2952  $\text{cm}^{-1}$ . However, there were some highly degraded plastic litter samples (28 items) were not able to identify specific type of plastic by FTIR (table3).

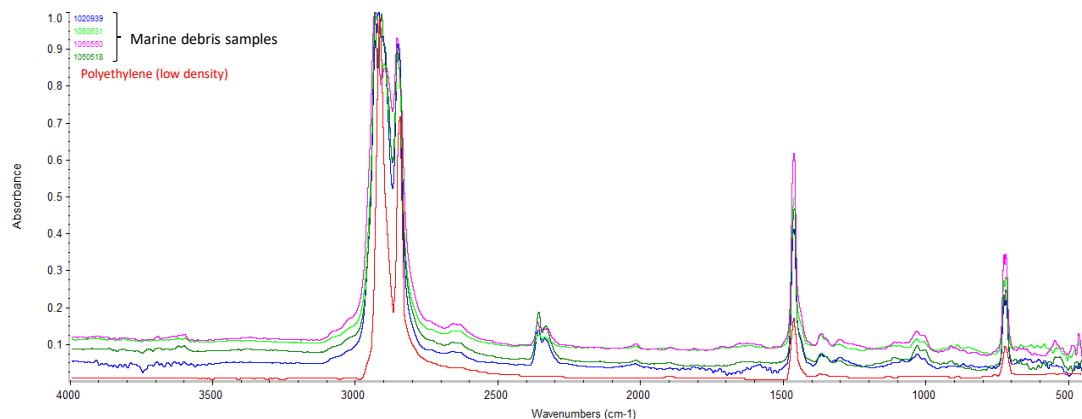


Figure 3: FTIR Spectra of PE benthic litter

Table 3 Classification of type and amount of plastic benthic litter

| Type of plastic            | Items | Percent |
|----------------------------|-------|---------|
| Polypropylene (PP)         | 280   | 34.8    |
| Polyethylene (PE)          | 269   | 32.2    |
| Polyvinyl chloride         | 75    | 9.3     |
| Polyethylene terephthalate | 70    | 8.7     |
| Polystyrene                | 23    | 2.9     |
| Poly butyl terephthalate   | 22    | 2.7     |
| Ethylene/maleic            | 8     | 1.0     |
| Polyvinyl stearate         | 9     | 1.1     |
| Nylon                      | 8     | 1.0     |
| Poly methylphenylsiloxane  | 7     | 0.9     |
| Poly acrylonitrile         | 6     | 0.7     |
| Poly caprolactone          | 5     | 0.6     |
| Poly methyl methacrylate   | 4     | 0.5     |
| Unidentified               | 28    | 3.5     |



Based on FTIR analysis for characterize plastic debris type, polypropylene (PP) and polyethylene (PE) were the dominant plastic types (Claessens *et al.*; 2011; Moret Feguson, *et al.*; 2010). Since these two types of plastic are used to make several types of products that are used in daily life. Meanwhile the high polymer consumption in Thailand included PE, PP and PVC (PTIT, 2010) which consistent to the high plastic litter types in this study. Most of the plastics in this study were thermoplastics such as PP, PE, and PET, which can be recycled. Therefore waste minimization management, particularly in terms of recycling technology, including preventing flow of garbage with run off in rainy season, should be a major concern in this area.

### Conclusion

This study was preliminary survey of benthic litter in an estuary in Thailand. Not surprisingly, the survey shows that plastic is the dominant litter material. Moreover the percentage of plastic presented higher than in other studies. Runoff is the factor that might account for high loading of litter in the rainy season. We suggest that benthic litter should be continuously monitored in other areas in Thailand. Solid waste management mitigation measures, particularly to address the increasing percentage of recyclable plastic litter, are urgently needed.

### Acknowledgements

This research was supported by Department of Marine and Coastal Resources Thailand.

### Reference

- Claessens, M., Meester, S.D., Landuyt, L.V., Clerck, K.D., Janssen, C.R. 2011. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin*, (62) 2199–2204.
- Cauwenberghe, L. V., Claessens, M., Vandegehuchte, M.B., Mees, J., Janssen, C.R. 2013. Assessment of marine debris on the Belgian Continental Shelf. *Marine Pollution Bulletin*, (73) 161–169.
- CLEAN UP GREECE, HELMEPA and MIO-ECSDE. 2007 Public awareness for the management of marine litter in the Mediterranean. Athens. p 9.
- DMRC (Department of Marine and Coastal Resources Thailand). 2013. Database on beach debris in Thailand. [Online] Available from <http://61.19.55.253/Thailandcoastalcleanup/datalist.php> [2013, October 7] [in Thai]

- Güven, O., Gülyavuz, H., Deval, M.C. 2013. Benthic debris accumulation in Bathyal Grounds in the Antalya Bay, Eastern Mediterranean. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, (13)43-49.
- Hydrology and Water Management Center for Eastern Region, 2011. Monthly runoff at Tubma Canal, Rayong Province. [Online] Available from <http://water.rid.go.th/hydro6/mainframe.htm> [2011, September 20] [in Thai]
- Keller, A.A., Fruh, E.L., Johnson, M.M., Simon, V., McGourty, C. 2010. Distribution and abundance of anthropogenic marine debris along the shelf and slope of the US West Coast. *Marine Pollution Bulletin*, (60)692–700.
- Koutsodendris, A., Papatheodorou, G., Kougliourouki, O., Georgiadis, M. 2008. Benthic marine litter in four Gulfs in Greece, Eastern Mediterranean; abundance, composition and source identification. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. (77)501-512.
- Morét-Ferguson, S., Law, K.L., Proskurowski, G., Murphy, E.K., Peacock, E.E., Reddy, C.M. 2010. The size, mass, and composition of plastic debris in the western North Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, (60)1873–1878.
- Morishige, C., Donohue, M.J., Flint, E., Swenson, C.; Woolaway, C. 2007. Factors affecting marine debris deposition at French Frigate Shoals, Northwestern Hawaiian Islands Marine National Monument, 1990–2006. *Marine Pollution Bulletin*. (54)1162–1169.
- Petroleum Institute of Thailand. (PTIT). 2011. PTITS Petrochemical Product Classification 2011. [Online] Available from [http://www.ptit.org/ptit\\_medias/arlcatt\\_155db32f924ec30fee98a53e76a306e4.pdf](http://www.ptit.org/ptit_medias/arlcatt_155db32f924ec30fee98a53e76a306e4.pdf) [2012, December 2] [in Thai]
- Pollution Control Department. (PCD). 2011. Summary of Pollution Situation in Thailand 2011. Bangkok: BTS Press. [in Thai]
- Sanchez, P., Maso, M., Saez, R., Juan, S., Muntasas, A., Demestre, M. 2013. Baseline study of the distribution of marine debris on soft-bottom habitats associated with trawling grounds in the northern Mediterranean. *Scientia Marina*, (77)247-255.
- Santos, I.R., Friedrich, A.C., Barretto, F.P. 2005. Overseas garbage pollution on beaches of northeast Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. (50)778–786.
- Votier, S.C., Archibald, K., Morgan, G., Morgan, L. 2011. The use of plastic debris as nesting material by a colonial seabird and associated entanglement mortality. *Marine Pollution Bulletin*. 62:168–172.

- Williams, R., Ashe, E., O'Hara, P.D. 2011. Marine mammals and debris in coastal waters of British Columbia, Canada. *Marine Pollution Bulletin*. (62)1303–1316.
- Van, A., Rochman, C.M., Flores, E.M., Hill, K.L., Vargas, E., Vargas, S.A., Hoh, E. 2012. Persistent organic pollutants in plastic marine debris found on beaches in San Diego, California. *Chemosphere*. (86)258–263.

## การเตรียมต้นฉบับ เรื่องเต็มวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

1. **ต้นฉบับ** พิมพ์ด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรมไมโครซอฟเวิร์ด (Microsoft word) และส่งต้นฉบับ พร้อมสำเนา 2 ชุด และแผ่นบันทึกข้อมูล(CD) มาที่บรรณาธิการวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

1.1 **บทคัดย่อ** มีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 1 หน้ากระดาษ A4 หรือไม่เกิน 250 คำ

1.2 **เรื่องเต็ม** ความยาวไม่เกิน 10 หน้ากระดาษ A4 (รวมบทคัดย่อภาษาไทย ภาษาอังกฤษ รูปภาพ ตารางและอื่น ๆ)

### 2. รูปแบบ

2.1 **ตัวอักษร** ใช้ตัวอักษร Cordia New

2.2 **ชื่อเรื่อง** มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พิมพ์ตัวหนาขนาด 18 pt จัดให้อยู่กึ่งกลางหน้า

2.3 **ชื่อผู้วิจัยและผู้ร่วมวิจัย** มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พิมพ์ตัวอักษรหนาขนาด 14 pt จัดให้อยู่กึ่งกลางหน้า

2.4 **หมายเหตุข้างท้าย** (footnote) ใช้ตัวอักษรขนาด 12 pt

2.5 **หัวข้อเรื่อง** (บทคัดย่อ Abstract คำนำ อุปกรณ์ และวิธีการ ฯลฯ) ใช้ตัวอักษรหนาขนาด 16pt จัดให้อยู่กึ่งกลางหน้า

2.6 **เนื้อหาในบทคัดย่อและเรื่องเต็ม** ให้ใช้ตัวอักษรขนาด 15 pt

2.7 **เนื้อหาในเรื่องเต็ม**

- ชื่อเรื่อง ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ
- ชื่อ – ที่อยู่ ผู้วิจัยและผู้ร่วมวิจัย ให้บอกรายละเอียด (footnote) โดยใช้หมายเลขกำกับ
- บทคัดย่อ เป็นการเขียนสรุปสาระสำคัญของเรื่อง โดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการและผลการวิจัย
- คำนำ อธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์ของการวิจัย ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ โดยรวมการตรวจเอกสาร (Literature review) ถึงผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องผู้อื่นได้ทำไว้ด้วย
- อุปกรณ์และวิธีการ ควรจะประกอบด้วยคำอธิบายเกี่ยวกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง และคำอธิบายถึงขอบเขตของการวิจัย วิธีการที่ใช้ในการทดลอง แต่ไม่จำเป็นต้องอธิบายวิธีการที่เป็นแบบฉบับซึ่งเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป

- ผลการวิจัย ควรเขียนให้กระชับและเป็นขั้นตอนที่เหมาะสม ถ้าเป็นไปได้ควรเสนอในรูปแบบของ ตาราง กราฟ หรือรูปภาพ

- **กราฟ รูปภาพและตาราง ให้เขียนคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด**

- วิจัยกรณีผล ควรประกอบด้วยหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลองที่อาจสนับสนุนหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน ควรเน้นถึงปัญหาหรือโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่วิจัยตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์

- สรุปผล อาจรวมกับวิจารณ์ผล โดยสรุปสาระสำคัญของเนื้อหาเพียงสั้น ๆ

- คำขอบคุณ/กิตติกรรมประกาศ อาจมีหรือไม่ก็ได้

- เอกสารอ้างอิง: วิธีเขียนดูตามตัวอย่าง 2.9

**2.8 การตั้งค่าขอบกระดาษ** ขอบบน (top) 3.0 ซม. ขอบล่าง (bottom) 3.5 ซม. ขอบซ้าย (left) 3.0 ซม. ขอบขวา (right) 2.5 ซม.

**2.9 เอกสารอ้างอิง** ซึ่งได้อ้างอิงในเนื้อเรื่องและบรรณานุกรม ให้เขียนเป็น**ภาษาอังกฤษทั้งหมด**ดังนี้

2.9.1 **การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง** ใช้ระบบ ชื่อสกุลเป็นภาษาอังกฤษ และตามด้วยปี ค.ศ. เช่น Chitmanat (2010) รายงานว่า.....หรือ (Thomas and James, 1999) ในกรณีที่มีผู้วิจัยตั้งแต่สามคนขึ้นไปให้ใช้ *et al.* ต่อท้ายผู้แต่งคนแรก แต่ในบรรณานุกรมให้ใส่ชื่อหมดทุกคน

- **การอ้างอิงเอกสารที่อ้างอิงถึงในเอกสารอื่น** ระบุนามผู้แต่งและปีพิมพ์ของเอกสารแรก ตามด้วย “cited in” และนามผู้แต่งและปีพิมพ์ของเอกสารอันดับรอง เช่น (Choi *et al.*, 2004 cited in Kaewipitoon *et al.*, 2008)

- **ระบบออนไลน์** เช่น (Singh, 2002: online)

2.9.2 **การอ้างอิงในบรรณานุกรม**

- **ไม่ต้องใส่เลขที่ หากเป็นเอกสารภาษาไทยให้พิมพ์คำว่า [in Thai] ต่อท้าย**

Peerapornpisal, Y. 2008. Edible freshwater Macroalgae in Northern Thailand. Journal of Fisheries Technology Research (2)178 – 189. [in Thai]

- เรียงลำดับตัวอักษรและสระ ตามด้วยจำนวนผู้วิจัย/ผู้เขียน กรณีเป็นคนเดียวกันให้เรียงตามปี

- วารสาร (Journal) ควรเรียงลำดับดังนี้ ชื่อ-สกุล ผู้เขียน. ปี. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร. ปีที่.(ฉบับที่):หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

- ตำรา (text books) หรือหนังสือที่ออกไม่เป็นวารสาร ควรเรียงลำดับดังนี้ ชื่อ-สกุล ผู้เขียน. ปี. ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์หรือหน่วยงานที่พิมพ์. เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้า.

- เอกสารวิชาการอื่น ๆ ชื่อ-สกุล ผู้เขียน. ปี. ชื่อหนังสือหรือชื่อเรื่อง. ประเภทของเอกสาร. หน่วยงานหรือสถาบันที่จัดพิมพ์. เมืองที่พิมพ์. หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

- ปัญหาพิเศษ/วิทยานิพนธ์ ชื่อ-สกุล ผู้เขียน. ปี. ชื่อเรื่อง. ปัญหาพิเศษ/วิทยานิพนธ์ (ตรี, โท, เอก) ชื่อมหาวิทยาลัย เมืองที่มหาวิทยาลัยตั้งอยู่. จำนวนหน้า.

- เอกสารที่อ้างถึงในเอกสารอื่น ให้ระบุข้อมูลของเอกสารทั้ง 2 รายการ โดยระบุข้อมูลของเอกสารอันดับแรก ตามด้วยคำว่า “cited in” แล้วระบุข้อมูลของเอกสารอันดับรอง เช่น

Wallis, O.A. 1997. Introduction to Aquaculture. Berfley, Calif.: Adam Osborne&Assoc.

198 p. cited in Morris, M. 1991. Aquaculture in Asian. White Plains, NY: Lndustry Publications.

144 p.

- สื่ออิเล็กทรอนิกส์ ชื่อผู้รับผิดชอบหลัก. ชื่อแฟ้มข้อมูล. [Online] ปีที่จัดทำ (ถ้ามี). แหล่งที่มา: ชื่อของแหล่งที่มา [ปี, วัน เดือน ที่เข้าถึงข้อมูล]. เช่น Bangkokhealth.com. Omega-3 in freshwater fish. [Online] Available from <http://www.oknation.net/blog/print.php?id=278133> [2011, February 28]

## 2.10 **ต้นฉบับที่ไม่ได้จัดเตรียมตามคำแนะนำจะถูกส่งคืนกลับเพื่อให้แก้ไขทันที**

3. งานเขียนที่จะได้รับการตีพิมพ์ต้องผ่านการกลั่นกรองและประเมินคุณภาพจากกองบรรณาธิการและผู้ทรงคุณวุฒิ

4. งานเขียนที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ต้องไม่อยู่ในระหว่างการเสนอเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่น หรือตีพิมพ์ที่ใดมาก่อนแล้ว

## Guide for Authors

The Journal of Fisheries Technology Research (J. Fish. Tech. Res.) welcomes the submission of manuscripts that meet the general criteria of significance and scientific excellence.

### Preparation and Submission of Manuscripts

Authors submitting manuscripts for publication must follow the following guidelines.

1. Manuscript texts must be written using high-quality language in Microsoft Word. The cover letter and two copies of manuscript with CD will be sent to the editorial office, The Journal of Fisheries Technology Research, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiangmai, 50290 THAILAND

1.1 The Title should be a brief phrase describing the contents of the paper. The Title Page should include the author(s)'s full names and affiliations, the name of the corresponding author along with phone, fax and e-mail information. Present address of authors should appear as a footnote.

1.2 Abstracts should not exceed than 250 words. The Abstract should be informative and completely self-explanatory, briefly state the scope of the experiments, indicate significant data, and point out major findings and conclusions. No literature should be cited. About 5 keywords should also be provided.

1.3 Manuscript texts should not exceed than 10 pages including abstract, figures, and tables.

### 2. Format

2.1 Cordia New font must be applied.

18 pt Cordia New Bold fonts must be used for title and set in the middle of the page.

14 pt Cordia New Bold fonts must be used for authors and set in the middle of the page.

16 pt Cordia New Bold fonts must be used for all headings including Abstract, Introduction, Materials and Methods, etc.

15 pt Cordia New fonts should be used throughout manuscript and all pages numbered consecutively.

12 pt Cordia New Bold fonts must be used for footnote.

2.2 Manuscript texts should be prepared single column, with margins (right = 2.5 cm; left = 3.0 cm; top = 3.0 cm; bottom = 3.5 cm).

2.3 The Introduction should provide a clear statement of the problem, the relevant literature on the subject, and the proposed approach or solution. It should be understandable to colleagues from a broad range of scientific disciplines.

2.4 Materials and Methods should be complete enough to allow experiments to be reproduced. However, only new procedures should be described in detail; previously published procedures should be cited, and important modifications of published procedures should be mentioned briefly. Capitalize trade names and include the manufacturer's name and address. Subheadings should be used. Methods in general use need not be described in detail.

2.5 Results should be presented with clarity and precision. The results should be written in the past tense when describing findings. Results should be explained, but largely without referring to the literature. Discussion, speculation and detailed interpretation of data should not be included in the results but should be put into the discussion section.

2.6 The Discussion should interpret the findings in view of the results obtained in this and in past studies on this topic. State the conclusions in a few sentences at the end of the paper.

2.7 Acknowledgment is optional and should be as brief as possible.

2.8 Tables, figures, and references must be written in English.

2.9 Citations of published literature in the text and at the end of the manuscript must be written in English.

2.9.1 **Citations in the text** should be given in the form of author and year in parentheses; (James *et al.*, 2011), or, if the name forms part of a sentence, it should be followed by the year in parenthesis; Tomas and James (2010).

Citing two or more documents by multiple authors; List authors' names by alphabetical order, followed by year of publication, link each document with “;”(Keiser and Utzinger, 2005; McCarthy and Moore, 2000; Nawa, *et al.*, 2005)

Citing documents cited in other documents; Put author's name and year of original document's publication, followed by “cited in” and secondary document's author's name and year of publication; (Choi *et al.*, 2004 cited in Kaewipitoon *et al.*, 2008)



Online materials; (Yu and Mott, 1994: online)

#### 2.9.2 Citation in reference list;

All references mentioned in the reference list must be cited in the text, and vice versa. The references section at the end of the manuscript should list all. For papers printed in a language other than English, indicate the language in parentheses at the end of that reference. The following are examples of reference writing.

##### Reference to a journal article:

Khuantrairong, T., and Traichaiyaporn, S. 2010. Efficiency of carotenoid and nutritional values of an alga Kai (*Cladophora* sp.) for economic utilization. J. Fish. Tech. Res. 4: 54 – 64. [in Thai]

##### Reference to article or abstract in conference proceedings:

Cliche, G., Hébert, D., and Bourgeois, M. 2007. Evaluation of different parameters to optimize the collection strategy of the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) in commercial operations. Proceedings of the 16<sup>th</sup> International Scallop Aquaculture Workshop. Canada, May 11 – 18, 2007. 24 – 28.

##### Reference to a book:

Boyd, C.E., and Tucker, C.S. 1998. Pond aquaculture water quality management. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts. USA. 700 p.

##### Reference to an edited book:

Shotts, E.B. 1994. Flow chart for the presumptive identification of selected bacteria from fish. In: Bacterial Diseases of Fish. 4<sup>th</sup> ed., edited by Thoesen, J.C. Chapman & Hall, London. pp.131 -135 .

##### Reference to an electronic data source):

Yi, Y., Yang, Z., and Zhang, S. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. Environmental Pollution [Online]. Available from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026974911100337X> [2011, December 12].

2.10 Manuscript must be followed the guidelines of manuscript preparation, otherwise they will be sent back or even rejected.

3. All manuscripts considered for publication will be peer-reviewed by qualified editors and independent referees.

4. The submitted manuscripts are not already published or are not currently under consideration for publication elsewhere. Manuscripts, parts of which have been previously published in conference proceedings, may be accepted if they contain additional material not previously published.

# ใบสมัครสมาชิกวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

(ใช้เอกสารสำเนาได้)

\*\*\*\*\*

ข้อมูลสมาชิก ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....  
ตำแหน่งทางวิชาการ/บริหาร.....

- ☐ ขอสมัครเป็นสมาชิกวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง  
☐ ขอต่ออายุสมาชิกวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

ตั้งแต่ ปีที่ ..... ฉบับที่ ..... พ.ศ. .... ถึง  
ปีที่ ..... ฉบับที่ ..... พ.ศ. ....

พร้อมนี้ข้าพเจ้าได้ชำระค่าสมาชิกวารสาร ด้วย

- ☐ เงินสด  
☐ ตั๋วแลกเงินไปรษณีย์ เลขที่ ..... จำนวนเงิน ..... บาท  
☐ ธนาณัติ เลขที่ ..... จำนวนเงิน ..... บาท  
☐ ธนาคารกรุงไทย สาขาแม่โจ้ เลขที่บัญชี 375-0-06600-0  
ชื่อบัญชี “คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” จำนวนเงิน ..... บาท

การออกใบเสร็จรับเงิน ในนาม

- ☐ ข้าพเจ้า  
☐ หน่วยงานราชการ/นิติบุคคล ชื่อ .....

ที่อยู่ .....

โทรศัพท์ ..... โทรสาร ..... E-mail .....

การจัดส่งวารสารในนาม .....

ที่อยู่ .....

โทรศัพท์ ..... โทรสาร ..... E-mail .....

ลงชื่อ ..... ผู้สมัคร  
( ..... )  
...../...../.....

อัตราค่าสมาชิก 1 ปี (2 ฉบับ) เป็นจำนวนเงิน 240.00 บาท

การชำระค่าสมาชิก

- ธนาณัติสั่งจ่าย คุณน้ำเพชร ประกอบศิลป์ ปณ. แม่โจ้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290  
➤ โอนเข้าบัญชีธนาคารกรุงไทยสาขาแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ เลขที่ 375-0-06600-0 ชื่อบัญชี “คณะเทคโนโลยีการประมงฯ” ในกรณีโอนเงิน ให้ส่งสำเนาใบโอน  
มาที่ เบอร์โทรสาร 0 5387 5103 หรือแนบมาพร้อมใบสมัครสมาชิก/ต่ออายุสมาชิก



ประกาศมหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิเพื่ออ่านผลงานทางวิชาการ

-----

อนุสนธิตามประกาศมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ลงวันที่ ๔ กันยายน พ.ศ. ๒๕๕๘ ได้แต่งตั้ง  
คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิเพื่ออ่านผลงานทางวิชาการ ไปแล้ว นั้น

เพื่อให้การตีพิมพ์ผลงานทางวิชาการสำหรับตีพิมพ์ลงในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง  
เป็นไปด้วยความเรียบร้อย จึงให้ยกเลิกประกาศมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ลงวันที่ ๔ กันยายน พ.ศ. ๒๕๕๘  
และแต่งตั้งคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิเพื่ออ่านผลงานทางวิชาการ ดังต่อไปนี้

๑. ศาสตราจารย์ ดร.ทวนทอง จุฑาเกต
๒. ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต
๓. ศาสตราจารย์ ดร.สุทนต์วัฒน์ เบญจกุล
๔. ศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี จุลละสร
๕. ศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภานิช
๖. ศาสตราจารย์ ดร.สายสมร ล้ายอง
๗. ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร
๘. รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน
๙. รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์
๑๐. รองศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร บุญมาก
๑๑. รองศาสตราจารย์ ดร.จารุมาศ เมฆสัมพันธ์
๑๒. รองศาสตราจารย์ ดร.ชโลบล วงศ์สวัสดิ์
๑๓. รองศาสตราจารย์ ธิญฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์
๑๔. รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรพงศ์ อมรสกุล
๑๕. รองศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐา ทรรพนันท์ ใจดี
๑๖. รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ
๑๗. รองศาสตราจารย์ ดร.นิรุฒิ หวังชัย
๑๘. รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณีต งามเสน่ห์

๑๙. รองศาสตราจารย์ ดร.เผติมศักดิ์ จารยะพันธุ์
๒๐. รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเดี่ยว
๒๑. รองศาสตราจารย์ ดร.พรศิลป์ ผลพันธุ์หิน
๒๒. รองศาสตราจารย์ ดร.มารีสา จาตุพรพัฒน์
๒๓. รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พิรพรพิศาล
๒๔. รองศาสตราจารย์ ดร.วิภูษิต มั่นทะจิตร
๒๕. รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง
๒๖. รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก
๒๗. รองศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ หวังเจริญ
๒๘. รองศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย ชูโชติ
๒๙. รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภมิตร เมฆฉาย
๓๐. รองศาสตราจารย์ ดร.สมพงษ์ ดุลจินดาชาพร
๓๑. รองศาสตราจารย์ ดร.อัษฎาภรณ์ เปี่ยมสมบุญ
๓๒. รองศาสตราจารย์ ดร.อลงกลด แทนอมทอง
๓๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา พยู่หะ
๓๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญญาณัฐ สุนทรประสิทธิ์
๓๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลยา ลีมรุ่งเรืองรัตน์
๓๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ครศรี ศรีกุลนาถ
๓๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรหมยะ
๓๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราพร ไรจน์ทินกร
๓๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรพงษ์ สุขเกื้อ
๔๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตชล ผลารักษ์
๔๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนกันต์ จิตมนัส
๔๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชยากร ภูมาศ
๔๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไชยยง รุจจนเวท
๔๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์
๔๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล
๔๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์
๔๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรวุฒิ เลิศสุทธิขวาล
๔๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ ช้วนผูก

๔๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ มนเทียรอาสน์
๕๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ
๕๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุ
๕๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีญา ทวีกิจการ
๕๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ศักดิ์ เหล่าดี
๕๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เมธี แก้วเนิน
๕๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.รัชต์ ชัดติยะ
๕๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล
๕๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันชัย วรวัฒนเมธีกุล
๕๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศราวุธ เจ๊ะโละ
๕๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิจ
๖๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันธิวัฒน์ พิทักษ์พล
๖๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี
๖๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา เดวิดสัน
๖๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สถาพร ดิเรกบุษราคม
๖๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สำเนา เสาวกุล
๖๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัมพันธ์ จันทรด
๖๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภินันท์ สุวรรณรักษ์
๖๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สงรักษ์
๖๘. ดร.พุทธ ส่องแสงจินดา
๖๙. ดร.ทัตพร คุณประดิษฐ์
๗๐. ดร.สุดาพร ตงศิริ
๗๑. ดร.อุดมลักษณ์ สมพงษ์

ประกาศ ณ วันที่ ๗ มีนาคม พ.ศ. ๒๕๖๐

  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเียร ยศราช)  
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้





# วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

## JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

ปีที่ 11 เล่มที่ 1

มกราคม - มิถุนายน 2560

Volume 11 Number 1

January - June 2017

สารบัญวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน พ.ศ. 2560

### สารบัญ

#### บรรณาธิการ

#### บทความวิจัย

|                                                                                                                                                                                                                                            |        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| การใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ <i>Penaeus monodon</i> จากบ่อดิน<br>วศิน ยูวนะเตมีย์, อุษา เจียงเหนือ, ชีรศักดิ์ สโมสร์ และระชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ                                                                     | หน้า 1 |
| พฤติกรรมการกินอาหารของปลาชิวไบไฟ้แม่แดง ( <i>Devario maetaengensis</i> (Fang, 1997)) ในแม่น้ำแม่แดง จังหวัดเชียงใหม่<br>ปิยรัฐ สุขทิพย์, จงกล พรหมยะ, บัญญัติ มณฑียรอาสน์ และอภิรักษ์ สุวรรณรักษ์                                          | 14     |
| การทดแทนถั่วเหลืองปนด้วยสาหร่ายไมโครสไปราในอาหารปลากะพงขาว<br>วรวิมล เกิดปราง และปรีดา ภูมิ                                                                                                                                                | 24     |
| การแสดงออกของยีน vitellogenin และยีน fatty acid binding protein ของกุ้งขาวเพดเมีย ( <i>Litopenaeus vannamei</i> Boone, 1931) ที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดต่างๆ<br>ธนาภรณ์ เมฆกลิน, นพวรรณ จิมสังข์, สถาพร ตีระกษุราคม และสุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี | 33     |
| การใช้เชื้อ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> KJ720206 และคีเฟอรินมถั่วเหลือง เป็นโปรไบโอติกในปลานิล<br>เกศินี จันทโรโสภณ, สัมฤทธิ์ ประวิทย์ธนา และเสรี จันทโรโสภณ                                                                         | 46     |
| การสำรวจปรสิตที่เหงือกของปลากดหัวแข็ง ( <i>Arius maculatus</i> ) จากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา<br>พัชรี คุรุขันธ์                                                                                                                     | 55     |
| การเกิดขึ้นตามฤดูกาลของโคพีพอดที่เป็นปรสิตภายนอกของปลาตะกรับ ( <i>Scatophagus argus</i> (Linnaeus 1766)) ในทะเลสาบสงขลาตอนล่างภาคใต้ ประเทศไทย<br>อวิรุทธ์ ทศมากร และ เสาวภา อังสุพานิช                                                    | 67     |
| การสะสมโลหะหนักในน้ำ ดินตะกอน และปลา ในลำน้ำมูล<br>ธวัชชัย ธาณี, พนิดา พันธสมบัติ, อรุณรัตน์ จิวราช, รุ่งลาวัลย์ สุดมูล และसानาวี เสาวกุล                                                                                                  | 82     |
| ประชาคมสัตว์หน้าดินขนาดกลางบริเวณหาดสะกอม จังหวัดสงขลา<br>วาริก เส้นนาฮู, อัครเดช แหลมกา และสุธินี หิมิย                                                                                                                                   | 93     |
| เปรียบเทียบการพยากรณ์ราคาปลาหับทิมที่ตลาดสี่มุมเมืองด้วยวิธีบอซซ์-เจนกินส์และวิธีการปรับเรียบด้วยเส้นโค้งเลขชี้กำลัง<br>วรางคณา เรียนสุทธิ                                                                                                 | 106    |
| การจำแนกชนิดของขยะพลาสติกหน้าดินบริเวณปากแม่น้ำระยอง<br>นภาพร เลียดประดม, พงศธร ใจรัศมี, สุหทัย ไพโรสานท์กุล, ธณัฐ ภัทรสถาพรกุล, พิมพ์ทอง ทองนพคุณ                                                                                         | 116    |