



วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

ปีที่ 11 เล่มที่ 2

กรกฎาคม - ธันวาคม 2560

Volume 11 Number 2

July - December 2017

วารสารวิชาการเผยแพร่ความรู้

เทคโนโลยีและส่งเสริมกิจกรรมทางการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
ทั้งเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อม

จัดทำโดย

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง
Journal of Fisheries Technology Research

ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2560

ISSN 1905-7393

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงเป็นวารสารวิชาการและเป็นลิขสิทธิ์ของ
คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

มีวัตถุประสงค์เพื่อ

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

ข้อคิดเห็นที่ปรากฏและแสดงในเนื้อหาบทความต่างๆ ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง
ถือเป็นความเห็นและความรับผิดชอบโดยตรงของผู้เขียนโดยเฉพาะ ไม่จำเป็นต้องสอดคล้อง
กับทัศนคติของคณะผู้จัดทำ 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 โดยเฉพาะการพัฒนาอาหารปลาเพื่อลดต้นทุน การผลิต เพิ่มการเจริญเติบโตและอัตราการรอด เช่น การใช้สาหร่ายสไปรูลิน่า การใช้หญ้าหมักจากกระเพาะวัว การใช้อร่าหมักถั่วเหลือง แหนเบ็ด สูตรอาหารเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปปรับสูตรอาหารสัตว์น้ำ นอกจากนี้มีการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบเอนไซม์กลูตาไธโอนในปลากะพงขาว อันเป็นแนวทางที่จะใช้เป็นเครื่องหมายทางชีวภาพในการตรวจสอบมลพิษในแหล่งน้ำ ส่วนทางเลือกในการลดการใช้ ยาและสารเคมีได้มีการนำเสนอวิธีการคัดแยกและใช้แบคทีเรียโอเฟจยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลานิล ส่วนทรัพยากรประมงมีการศึกษาชีววิทยาของปูแสม การกินอาหารธรรมชาติของปลากดหัวมิ่ง โครงสร้างพันธุศาสตร์ของปลากะบอก ปิดท้ายด้วยการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำไส้เดือนน้ำจืดมากำจัด ของเสียที่พื้กันบ่อเลี้ยงปลา

ในนามคณะกรรมการกองบรรณาธิการฯ ตีอกขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อผู้เขียนผลงาน คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่พิจารณาผลงาน คณะกรรมการวิชาการของคณะฯ และผู้ประสานงาน ในนาม ตัวแทนกองบรรณาธิการและกรรมการท่านอื่น ๆ ที่ไม่สามารถเอ่ยนามได้หมด ตลอดจนผู้ให้การสนับสนุน จากหลายฝ่ายด้วยกัน ที่สามารถเป็นการส่งเสริมคุณภาพวารสารและดำเนินการจนทำให้วารสารวิจัย เทคโนโลยีการประมงฉบับนี้ เป็นวารสารวิชาการเข้าสู่ระบบฐานข้อมูลวารสารไทย ที่สามารถสืบค้นได้จากหน้า เว็บไซต์วารสาร ที่ http://www.fishtech.mju.ac.th/FishNew1/Journal_FT หรือเว็บไซต์ของศูนย์ดัชนีการ อ้างอิงวารสารไทย ที่ <http://tci/trf.or.th> นำไปสู่การส่งเสริมคุณภาพวารสารและเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ ที่ตีพิมพ์ในวารสาร ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าต่อการนำประโยชน์ต่อการศึกษาด้านวิชาการและวง การวิชาชีพ ด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำได้อย่างมั่นคงต่อไป

กองบรรณาธิการ

ผลของการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง

Effects of *Spirulina platensis* Supplemented Diets on Growth of Green Catfish

(*Hemibagrus filamentus* Fang & Chau, 1949)

นพรัตน์ พัชณีย์¹ และทรงทรัพย์ อรุณกมล¹

Nopparat Patchanee¹ and Songsub Arunkamol¹

¹คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ต.ธาตุเชิงชุม อ.เมือง จ.สกลนคร 47000

¹Faculty of Agricultural Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University, Tambon That Choeng Chum, Amphoe Mueang, Sakon Nakhon, 47000

*Corresponding author : e-mail; nopparat.p@snru.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด Fresh *Spirulina platensis* (FS) ในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง ทดลองแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ให้อาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด 4 ระดับ คือ 0, 5, 15 และ 30% โดยใช้ปลากดเหลืองน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 4.76 ± 0.02 กรัม ปล่อยปลากดเหลืองที่ระดับความหนาแน่น 40 ตัวต่อบ่อ ปล่อยเลี้ยงในบ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร ความจุน้ำ 200 ลิตร ระยะเวลาของการทดลอง 56 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด 0, 5, 15 และ 30% มีน้ำหนักเฉลี่ย 9.44 ± 0.24 , 9.93 ± 0.15 , 10.32 ± 0.12 และ 11.76 ± 0.16 กรัม ตามลำดับ มีความยาวเฉลี่ย 10.91 ± 0.29 , 11.20 ± 0.26 , 11.34 ± 0.17 และ 11.66 ± 0.19 เซนติเมตร ตามลำดับ มีอัตราการรอดตายร้อยละ 86.66 ± 1.44 , 88.33 ± 1.44 , 88.33 ± 1.44 และ 88.33 ± 1.44 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของปลากดเหลืองมีค่าเท่ากับ 0.083 ± 0.01 , 0.092 ± 0.01 , 0.099 ± 0.01 และ 0.125 ± 0.01 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

คำสำคัญ : ปลากดเหลือง สาหร่ายสไปรูลิน่า อัตราการเจริญเติบโต

Abstract

The effects of fresh *Spirulina platensis* (FS) supplemented diets on growth of green catfish (*Hemibagrus filamentus*) was evaluated using a completely randomized design with 4 treatments and 3 replicates. The green catfish were fed with experimental diets containing with 0, 5, 15 and 30% of fresh *Spirulina platensis*. The green catfish with initial average weight of 4.76 ± 0.02 g. were raised in a circular concrete tank of 80 cm diameter at a stock density of 40 fish per tank (200L/circular concrete tank). After 56 days of rearing, the average body weights of green catfish fed with experimental diets containing with 0, 5, 15 and 30% of fresh *Spirulina platensis* were 9.44 ± 0.24 ,

9.93±0.15, 10.32 ±0.12, and 11.76±0.16g., respectively. The average body lengths were 10.91±0.29, 11.20±0.26, 11.34±0.17 and 11.66±0.32 cm., respectively and survival rates were 86.66±1.44, 88.33±1.44, 88.33±1.44 and 88.33±1.44%, respectively. However, the results showed that the average body weights, average body lengths and survival rates were not statistically significant differences ($p>0.05$). The growth rates of green catfish were 0.083±0.01, 0.092±0.01, 0.099±0.01, and 0.125±0.01 g/fish/day, respectively which were statistically significant differences ($P<0.05$).

Key word: Green Catfish, *Spirulina platensis*, Growth rate

คำนำ

ปลากดเหลือง (*Hemibagrus filamentus* Fang & Chau, 1949) เป็นปลาน้ำจืดอยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาทราย ปลาเทโพ ปลาบึก จัดอยู่ในกลุ่มปลาหนัง พบแพร่กระจายในแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั่วทุกภาคของประเทศ และสามารถอาศัยได้ในที่มีความเค็มสูงถึง 12 พีพีที (Kasisuwan *et al.*, 2000) ปริมาณปลากดเหลืองในแหล่งน้ำธรรมชาติลดน้อยลงมาก เนื่องจากความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ ทำให้ไม่เหมาะแก่การดำรงชีวิตและการแพร่ขยายพันธุ์ปลา ในส่วนของการอนุบาลยังมีปัญหา เนื่องจากมีอัตราการรอดตายต่ำ โดยเฉพาะในช่วง 1-7 วันแรก เมื่อถูกอาหาร (yolk sac) ยุบเป็นช่วงระยะวิกฤต ทั้งนี้เนื่องจากมีปัจจัยหลายๆอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ชนิดอาหารที่เหมาะสมในการอนุบาล (Gasamawut, 1998) ทำให้การใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าในการเสริมในอาหารสำหรับการเลี้ยงปลากดเหลืองน่าจะช่วยให้เพิ่มการเจริญเติบโตได้ Promya *et al.*, (2012) กล่าวว่า สไปรูลิน่าได้ใช้ประโยชน์เป็นอาหารเสริมหรือผสมในอาหารสำเร็จรูป เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเช่น ปลานิลแดง ปลาแฟนซีคาร์ฟ ปลากะพงขาว ปลาทราย ปลาตุ๊ก และกุ้งก้ามกราม เป็นต้น เนื่องจากมีโปรตีนสูงถึง 50-70% ของน้ำหนักแห้ง และมีสาร Phycocyanin, Allophycocyanin, Beta-carotene, Chlorophyll-a และกรดไขมันจำเป็นไม่อิ่มตัว เป็นต้น จากการศึกษาของ Promya *et al.* (2012) ที่ได้ใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าสดอนุบาลและเลี้ยงปลานิลแดงจนถึงระยะวางไข่ พบว่าปลานิลแดงมีอัตราการผสมพันธุ์ อัตราการฟักออกเป็นตัวและอัตราการรอดของลูกปลาส่งกว่าการใช้อาหารปลาทั่วไป สาหร่ายสไปรูลิน่าสดทำให้เนื้อปลามีกรดไขมันจำพวก Linoleic acid, Gamma-linolenic acid สูงกว่าเนื้อปลาที่เลี้ยงในอาหารทั่วไป การเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาหารสำเร็จรูปจะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและเพิ่มอัตราการรอด การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาระดับของสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เสริมในอาหารที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในการเลี้ยงปลากดเหลือง เนื่องจากปลากดเหลืองเป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตช้า และสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นแหล่งโปรตีนสูงจึงนำมาเสริมในอาหารเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองเลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าในระดับที่ต่างกัน 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ เตรียมอาหารทดลองมีระดับโปรตีน 32% เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด *Fresh Spirulina platensis* (FS) 0, 5, 15 และ 30%

2. การเตรียมปลาทดลอง

นำปลากัดเหลืองมาปรับสภาพก่อนการทดลอง 14 วัน โดยฝึกให้กินอาหารที่ใช้ทดลอง เพื่อให้มีความเคยชินกับอาหารและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่จะทำการทดลอง จากนั้นคัดปลาขนาดใกล้เคียงกัน ประมาณ 4.76 ± 0.02 กรัม ชั่งน้ำหนักเฉลี่ยของปลาแต่ละซ้ำ ปล่อยลูกปลาจำนวน 40 ตัวต่อบ่อ เลี้ยงในบ่อปูนซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร ความจุน้ำ 200 ลิตร เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 7 วัน ครึ่งละ 30% ของปริมาณน้ำ

3. การเตรียมสาหร่ายสไปรูลิน่า

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในตู้กระจก วัดค่าความหนาแน่นของสาหร่าย Optical density (OD) เริ่มต้นที่ 0.30 ความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตร โดยวัดจากเครื่อง Spectrophotometer รุ่น Spectro SC ใช้เวลาเพาะเลี้ยง 10 วัน วัดค่า OD เท่ากับ 0.8-1 ตามวิธีของ Promya *et al.* (2012)

4. การเตรียมอาหารทดลองและการให้อาหาร

นำอาหารเม็ดสำเร็จรูป โปรตีน 32% โดย ผสมกับสาหร่ายสไปรูลิน่าสด ที่ 0, 5, 15 และ 30% นำอาหารที่ผสมเสร็จ ผึ่งลมให้แห้งก่อนนำไปให้อาหารปลาวันละ 3 ครั้ง เวลา 8.00 น. 12.00 น. และ 16.00 น. ให้อาหาร 4%/น้ำหนักตัว/วัน บันทึกปริมาณอาหารทุกสัปดาห์ ระยะเวลาการเลี้ยง 56 วัน

5. การศึกษาคุณสมบัติของน้ำ

ตรวจคุณภาพน้ำทุก 14 วัน ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) และค่าออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ($\text{PO}_4\text{-P}$) เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา ตามวิธีของ (Boyd and Tucker, 1992)

6. การเก็บรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 14 วัน โดยการสุ่มชั่งน้ำหนักปลา เก็บข้อมูล และนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละค่าเพื่อใช้ในการคำนวณ ดังนี้

$$1.1 \text{ น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)} = \frac{\text{น้ำหนักปลารวม}}{\text{จำนวนปลาที่เหลือทั้งหมด}}$$

$$1.2 \text{ ความยาวเฉลี่ย (ซม./ตัว)} = \frac{\text{ความยาวปลารวม}}{\text{จำนวนปลาที่เหลือทั้งหมด}}$$

1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักของปลากัดเหลืองโดยใช้การวิเคราะห์ความถดถอย (Regression Analysis)

1.4 อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG) กรัม/ตัว/วัน

$$ADG = \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มทดลอง}}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

1.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) %/วัน

$$SGR = \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มทดลอง})}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}} \times 100$$

1.6 อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion rate; FCR) =

$$\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้ (g)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}$$

1.7 อัตราการรอดตาย (Survival rate) = $\frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$

วิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้วิธี วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS

ผลของการทดลอง

1. ผลการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง

จากการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 5, 15, และ 30% พบว่า

1.1 **น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)** เมื่อเริ่มต้นทดลองปลากดเหลืองมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น เท่ากับ 4.75 ± 0.04 , 4.78 ± 0.01 , 4.76 ± 0.02 และ 4.72 ± 0.04 กรัม ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำหนักปลากดเหลืองสุดท้ายเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 9.44 ± 0.24 , 9.93 ± 0.15 , 10.32 ± 0.12 และ 11.76 ± 0.16 กรัม ตามลำดับ (Fig. 1) ซึ่งพบว่าน้ำหนักปลาสุดท้ายมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 1)

1.2 **ความยาวเฉลี่ย (ซม./ตัว)** ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดมีความยาวสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 10.91 ± 0.29 , 11.20 ± 0.26 , 11.34 ± 0.17 และ 11.66 ± 0.19 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าความยาวเฉลี่ยสุดท้ายมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 1)

1.3 **ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักของปลากดเหลือง** ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดมีความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักเท่ากับ 0.979 ± 0.014 , 0.971 ± 0.019 , 0.976 ± 0.009 , และ 0.977 ± 0.013 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 1)

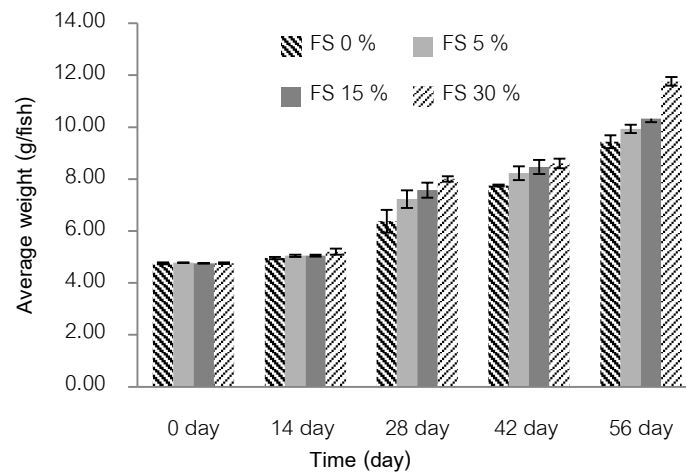


Figure 1 Average body weight (g/fish) of *Hemibagrus filamentus* during 56 days experimental period

Table 1 Average body weight, Average body length and Length- Weight relationships of *Hemibagrus filamentus* fed with different concentrations of fresh *Spirulina platensis* in pellet feed

Treatment	Average body weight (g/fish)	Average body length (cm/fish)	Length-Weight relationships (R^2)
FS 0 %	9.44 ± 0.24 ^d	10.91 ± 0.29 ^b	0.979 ± 0.01 ^a
FS 5 %	9.93 ± 0.15 ^c	11.20 ± 0.26 ^{ab}	0.971 ± 0.02 ^a
FS 15 %	10.32 ± 0.12 ^b	11.34 ± 0.17 ^{ab}	0.976 ± 0.01 ^a
FS 30 %	11.76 ± 0.16 ^a	11.66 ± 0.19 ^a	0.977 ± 0.01 ^a

Note: Different letters (a,b,c,d) show statistically significant differences ($p < 0.05$), Mean ± SD.

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักของปลากดเหลืองโดยใช้การวิเคราะห์ความถดถอย (Regression Analysis) พบว่า $y = 0.5851x + 5.1894$ มีค่า $R^2 = 0.9967$ ดังนั้นความยาวของปลากดเหลืองจะเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักของปลากดเหลือง Fig. 2 แสดงให้เห็นว่าปลากดเหลืองมีการเจริญเติบโตในทิศทางเดียวกัน

1.4 อัตราการเจริญเติบโต Average daily growth; ADG (กรัม/ตัว/วัน) ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดพบว่าปลากดเหลืองมีน้ำหนักเพิ่มต่อตัวต่อวันมีค่าเท่ากับ 0.083 ± 0.01 , 0.092 ± 0.01 , 0.099 ± 0.01 และ 0.125 ± 0.01 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 2)

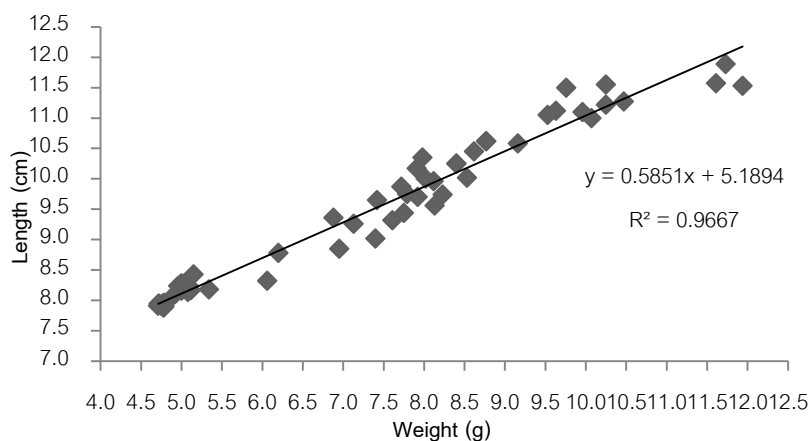


Figure 2 Length-Weight relationships (n=60)

1.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ Specific growth rate; SGR (%/วัน) ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด มีเท่ากับ 1.22 ± 0.03 , 1.31 ± 0.02 , 1.38 ± 0.03 และ 1.62 ± 0.02 %/วัน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 2)

1.6 อัตราการแลกเนื้อ Feed conversion ratio; FCR ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด พบว่ามีอัตราการแลกเนื้อ เท่ากับ 2.59 ± 0.16 , 2.53 ± 0.09 , 2.38 ± 0.08 และ 1.95 ± 0.06 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าอัตราการแลกเนื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 2)

1.7 อัตราการรอดตายของปลากดเหลือง Survival rate (%) ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด พบว่ามีอัตราการรอดตายเท่ากับ ร้อยละ 86.66 ± 1.44 , 88.33 ± 1.44 , 88.33 ± 1.44 และ 88.33 ± 1.44 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 2)

Table 2 Average Daily Gain, Specific growth rate, Feed conversion ratio and Survival rate of *Hemibagrus filamentus* fed with different concentrations of fresh *Spirulina platensis* in pellet feed

Treatment	Average daily growth (g/fish/day)	Specific growth rate (%/day)	Feed Conversion Ratio	Survival Rate (%)
FS 0 %	0.083 ± 0.01^d	1.22 ± 0.03^d	2.59 ± 0.16^a	86.66 ± 1.44^a
FS 5 %	0.092 ± 0.01^c	1.31 ± 0.02^c	2.53 ± 0.09^{ab}	88.33 ± 1.44^a
FS 15 %	0.099 ± 0.01^b	1.38 ± 0.03^b	2.38 ± 0.08^{ab}	88.33 ± 1.44^a
FS 30 %	0.125 ± 0.01^a	1.62 ± 0.02^a	1.95 ± 0.06^c	88.33 ± 1.44^a

Note: Different letters (a,b,c,d) show statistically significant differences ($p < 0.05$), Mean \pm SD.

2. ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

จากการตรวจสอบคุณภาพน้ำของการเลี้ยงปลากดเหลืองโดยเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 5, 15, และ 30% ตามลำดับ พบว่า

2.1 อุณหภูมิ มีค่าเท่ากับ 27.77 ± 0.12 , 27.62 ± 0.21 , 27.53 ± 0.12 และ 27.62 ± 0.26 องศาเซลเซียสตามลำดับ ซึ่งค่าอุณหภูมิไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 3)

2.2 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) มีค่า 7.59 ± 0.04 , 7.80 ± 0.08 , 7.64 ± 0.01 และ 7.67 ± 0.15 ตามลำดับ ชุดการทดลองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 0% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5% (Table 3)

2.3 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) มีค่าเท่ากับ 7.02 ± 0.16 , 7.04 ± 0.07 , 6.82 ± 0.11 และ 6.62 ± 0.24 mg/l ตามลำดับ ชุดการทดลองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 30% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 0 และ 5% (Table 3)

2.4 ปริมาณแอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$) ทุกชุดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 0.05 ± 0.01 mg/l (Table 3)

2.5 ปริมาณออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัส ($\text{PO}_4\text{-P}$) มีค่า 0.12 ± 0.03 , 0.11 ± 0.02 , 0.16 ± 0.02 และ 0.14 ± 0.01 mg/l ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 15% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 0 และ 5% (Table 3)

ซึ่งคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงปลากดเหลืองอยู่ในระดับที่เหมาะสม ไม่มีผลกระทบต่อการเลี้ยงปลากดเหลือง

Table 3 Water quality parameters in rearing *Hemibagrus filamentus* fed with different concentrations of fresh *Spirulina platensis* in pellet feed

Parameter of water quality	Treatment			
	FS 0 %	FS 5 %	FS 15 %	FS 30 %
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	27.77 ± 0.12^a	27.62 ± 0.21^a	27.53 ± 0.12^a	27.62 ± 0.26^a
pH	7.59 ± 0.04^b	7.80 ± 0.08^a	7.64 ± 0.01^{ab}	7.67 ± 0.15^{ab}
DO (mg/l)	7.02 ± 0.16^a	7.04 ± 0.07^a	6.82 ± 0.11^{ab}	6.62 ± 0.24^b
$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/l)	0.05 ± 0.01^a	0.05 ± 0.01^a	0.05 ± 0.01^a	0.05 ± 0.01^a
$\text{PO}_4\text{-P}$ (mg/l)	0.12 ± 0.03^b	0.11 ± 0.02^b	0.16 ± 0.02^a	0.14 ± 0.01^{ab}

Note : Different letters (a,b,c,d) show statistically significant differences ($p < 0.05$), Mean \pm SD.

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเลี้ยงปลากดเหลืองโดยเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ชุดการทดลอง คือ 0, 5, 15, และ 30% ตามลำดับ พบว่า ปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด 30% ส่งผลให้ปลากดเหลือง น้ำหนักเฉลี่ย ความยาวเฉลี่ย มีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อและอัตราการรอดตาย ดีกว่าการเลี้ยงปลากดเหลืองที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด 15, 5 และ 0% ตามลำดับ สอดคล้องกับ Promya *et al.* (2012) กล่าวว่า น้ำหนักของปลาแพนซีคาร์ฟเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงและปลาที่ได้รับอาหารปลาผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด 21% มีน้ำหนักเฉลี่ยมากกว่าปลาที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสมด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่า ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) Promya and Chitmanat (2011) รายงานว่า ปลาดุกที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5% มีค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันมากกว่าปลาที่กินอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 3% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยครั้งนี้ว่า ปลากดเหลืองที่กินสาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีเปอร์เซ็นต์มากกว่าจะมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันมากกว่า ซึ่งต่างจากงานวิจัยของ Mengumphan *et al.* (2011) รายงานว่าผลของการศึกษาการเจริญเติบโตของพ่อแม่พันธุ์ปลาเผาะและปลาสวาย พบว่า ค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน และ น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบว่าการเลี้ยงปลาเผาะด้วยอาหารผสมสาหร่าย 3% มีแนวโน้มเติบโตเจริญเติบโตดีที่สุด จากงานวิจัยของ Promya *et al.* (2012) ทำการศึกษาผลของอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาแพนซีคาร์ฟ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทั่วไปโปรตีน 30% ผสมด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าสด มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มากกว่าปลาที่กินอาหารทั่วไปโปรตีน 30% ที่ไม่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด สอดคล้องกับงานวิจัยครั้งนี้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Mengumphan and Saengkrachang (2008) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของปลาบึกอายุ 5 ปี โดยให้อาหารโปรตีน 30% ผสมสาหร่าย สไปรูลิน่าสด 0%, 5% และ 10% พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าสูตรอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่า สูตรอาหารที่ไม่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าสด อย่างไรก็ตาม การใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าก็ไม่สามารถใช้กับปลาทุกชนิด จากรายงานของ Teimouri *et al.* (2013) พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการแลกเนื้อของปลาเรนโบว์ เทราต์ (Rainbow Trout) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในส่วนอัตราการแลกเนื้อพบว่า ปลากดเหลืองที่กินอาหารที่เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่ามีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่าปลากดเหลืองที่กินอาหารไม่ได้เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า สอดคล้องกับงานวิจัยของ Limhang *et al.*, (2016) รายงานว่า ปลาอีกรกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่ามีค่าอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่า ปลาอีกรกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ผสมสาหร่าย สไปรูลิน่า ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และ Promya *et al.*, (2012) รายงานว่า ลูกปลาที่อนุบาลด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่า 100% มีอัตราการรอดและภูมิคุ้มกันสูงกว่าปลาที่อนุบาลด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่า 80%, 60% และ 10% PE (Powder Feed; PE อาหารผง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่

ระดับความเชื่อมั่น 95% การใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าสดเป็นอาหารอนุบาลลูกปลาชนิดแดงมีผลทำให้อัตราการรอด ภูมิคุ้มกัน จำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น สรุปได้ว่าปลาที่กินอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดมี อัตราการรอดมากกว่าปลาที่กินอาหารไม่ได้เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ibrahim *et al.* (2013) ; Mengumphan *et al.* (2011); Promya and Chitmanat (2011)

สรุปผลการทดลอง

ปลากัดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า มีน้ำหนักเฉลี่ย ความยาวเฉลี่ย อัตราการรอด อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแลกเนื้อ ดีกว่าปลากัดเหลืองที่เลี้ยง ด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า ส่วนผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับน้ำหนักของ ปลากัดเหลืองพบว่า ความยาวของปลากัดเหลืองจะเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักของปลากัดเหลือง แสดงให้เห็นว่าปลากัดเหลืองมีการเจริญเติบโตในทิศทางเดียวกัน ในส่วนคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงปลากัดเหลืองอยู่ใน ระดับที่เหมาะสม ไม่มีผลกระทบต่อการเลี้ยงปลากัดเหลือง

คำขอบคุณ

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนครที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Boyd, C. E. and Tucker, C. S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analysis for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama. 183 p.
- Gasamawut, H.1998. Study on stomach development and nursing of yellow mystus (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). Master degree thesis, Kasetsart University, Bangkok. 67 p. [in Thai]
- Ibrahim, M.D., Mohamed F. M., and Ibrahim, M.A. 2013. The Role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) in Growth and Immunity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Its Resistance to Bacterial Infection. Journal of Agricultural Science. 5(6): 109-117.
- Kasisuwan, S., Ruangkul, J. and Chesoh. S. 2000. Effect of salinity level on growth and survival rate of yellow catfish, *Mystus filamentus*, juvenile during nursing period. Extension paper. Pattani Inland Fisheries Development Center. Pattani. 1-16. [in Thai]
- Limhang, K., Lounsiri, B., Horsiwalai, P., Wuttiwichayanan, W. and Silarudee, K. 2016. Effect of *Spirulina platensis* on growth performance and survival rates of long-whiskered catfish (*Mystus gulio*). KHON KAEN AGR. J. 44 (1): 656-661. [in Thai]

- Mengumphan, K. and Saengkkrachang, J. 2008. Production of Generation 2 Mekong Giant Catfish (*Pangasinodon gigas*) Cultured with *Spirulina* sp. Maejo Int. J. Sci. Tech. 2(3): 559-567
- Mengumphan, K., Sontako, C. and Amornlerdpison, D. 2011. Effect of Spirulina supplement on the growth and maturation of Pangasius Catfish brood stock and the nursery performance of four species of their fingerlings. Journal of Fisheries Technology Research. 5(2): 12-26. [in Thai]
- Promya, J. , Ungsethaphand, T. and Srinounsam, K. 2007. Effect of raw Spirulina on growth Performance, nutrition valued and carotenoid in red Tilapia (*Oreochromis* sp.). Journal of Fisheries Technology Research. 1(1): 30-41. [in Thai]
- Promya, J. and Chitmanat, C. 2011. The effects of *Spirulina platensis* and Cladophora Algae on the Growth Performance, Meat Quality and Immunity Stimulating Capacity of the African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). Int. J. Agric. Biol. 13(1): 77-82.
- Promya, J., Traichayaporn, S. and Chitmanat, C. 2012. Effect of Raw *Spirulina platensis* on Growth Performance and Immunity Stimulating Capacity in Nursing Red Tilapia (*Oreochromis* sp.). KKU Science Journal. 40(1): 218-227. [in Thai]
- Promya, J., Thongmee, B., and Srinuansom, K. 2012. The effects of *Spirulina Platensis* feeding on growth performance, gonadosomatic index and immunity stimulating Capacity in fancy carps (*Cyprinus carpio* Linnaeus). Journal of Fisheries Technology Research. 1(1): 11-22. [in Thai]
- Teimouri, M. , Keramat, A. and Yeganeh, S. 2013. Effect of *Spirulina platensis* Meal as a Feed Supplement on Growth Performance and Pigmentation of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). World Journal of Fish and Marine Sciences. 5(2): 194-202.

การเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักจากกระเพาะวัว

Growth performances of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with diet containing fermented grass from cow stomach

วรวิทย์ ชูขวัญนวล สายสุนีย์ จิตมโนวรรณ และสุดาพร ตงศิริ*

Worawit chukwannuan Saisunee Jitmanowan and SudapornTongsiri*

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารผสมหญ้าหมักจากกระเพาะวัว มี 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของหญ้าหมัก ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ความชื้น และคาร์โบไฮเดรต และการทดลองที่ 2 การผลิตอาหารผสมหญ้าหมัก 4 สูตร คือ 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลเป็นเวลา 90 วัน ผลการศึกษา การทดลองที่ 1 พบว่าคุณค่าทางโภชนาการของหญ้าหมักมีโปรตีน 16.90 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.14 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 0.33 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 17.27 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 13.25 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 52.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดลองที่ 2 เมื่อนำอาหารผสมหญ้าหมัก 4 สูตร มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ มาเลี้ยงปลานิล 90 วัน พบว่าน้ำหนักปลาสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลต่อวันที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าสูตรอาหารอื่นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล คืออาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : ปลานิล การเจริญเติบโต อาหารปลา หญ้าหมักจากกระเพาะวัว

Abstract

The study on Nile Tilapia fed with the grass fermentation in cow stomach diet consisted of 2 parts. The first trial, the proximate compositions of grass fermentation in cow stomach such as protein, lipid, fibre, ash, moisture and carbohydrate were determined. The second trial, Preparing the diet mixed with 0 (control), 5(GF5), 10(GF10) and 15(GF15) percentage of fermented grass from cow stomach for growth performance investigation of Nile Tilapia for 90 days. The first trial result, proximate compositions of grass fermentation in cow stomach including protein, lipid, fibre, ash, moisture and carbohydrate were 16.90, 0.14, 0.33, 17.27, 13.25, and 52.10 %, respectively. The second trial, diets containing different levels of fermented grass from cow stomach with equal 30 percentage of protein were fed on Nile Tilapia for 90 days; final weight, the average increased weights and average daily weight gain of fish in treatment GF10 were highest and significantly

different ($P < 0.05$). Therefore, it can be concluded that Nile Tilapia fed with GF10 was suitable for Nile Tilapia culture.

Key words: Nile Tilapia, growth, fish feed, the grass fermentation in cow stomach

บทนำ

ปลานิล เป็นปลาที่รู้จักและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศไทย เนื่องจากเป็นปลาที่มีรสชาติดี เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ในขณะที่ผลผลิตของปลานิลส่วนใหญ่ได้มาจากการเลี้ยงของเกษตรกรและผลพลอยได้จากการวิดปล่อยปลาชนิดต่าง ๆ (Department of fisheries, 2010) อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันมีเกษตรกรเลี้ยงปลานิลเป็นอาชีพกันมากขึ้น ทั้งที่เป็นการเลี้ยงในบ่อดินและในกระชัง สามารถผลิตปลานิลเพื่อการค้าให้มีขนาดใหญ่ตามความต้องการของตลาดได้ นับว่าเป็นความสำเร็จของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล จากผลผลิตปลานิลที่ผลิตได้ ในปี 2558 พบว่ามีปริมาณ 179,620 ตัน มีผลผลิตลดลงจากปี 2557 ถึง 4.9 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสภาวะแล้งค่อนข้างรุนแรง พื้นที่ฝนตกได้เขื่อนไม่สามารถเก็บกักปริมาณน้ำฝนได้มากเท่าที่ควร รวมทั้งภาวะโลกร้อน (Kaewalin, 2015) นอกจากผลกระทบต่อด้านสภาวะอากาศแล้ว ข้อจำกัดในเรื่องต้นทุนอาหารที่มีราคาเพิ่มขึ้นก็ส่งผลด้านการผลิตด้วยเช่นกัน ทำให้มีการหาวัตถุดิบอาหารมาทดแทนเพื่อลดต้นทุนการผลิต

แนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตอาหารได้ คือ การใช้หญ้าหมักจากกระเพาะวัว (หญ้าหมัก) ที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ซึ่งเป็นส่วนที่ทิ้งและไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์อย่างอื่นอีก กระบวนการย่อยในกระเพาะวัวมีการทำงานดังนี้ กระเพาะรังผึ้งจะทำหน้าที่ร่วมกับกระเพาะรูเมนในการหมักอาหาร และการย่อยอาหารเพื่อนำขึ้นอาหารที่มีขนาดใหญ่กลับเข้าหลอดอาหารเพื่อเข้าไปเคี้ยวเอื้องในปาก แล้วอาหารจะถูกส่งต่อไปยังกระเพาะสามลิบกลับ ส่วนของน้ำที่ปนมากับอาหารจะถูกบีบออกมาจากอาหาร และถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะไปใช้ประโยชน์ ส่วนกากอาหารถูกส่งมายัง กระเพาะแท้ ในกระเพาะนี้จะถูกกรดเกลือ ทำให้มีสภาพเป็นกรด เอนไซม์เปปซินจะย่อยโปรตีนในอาหารที่พันธะเปปไทด์ ได้เป็นสารเปปโตน และโพลีเปปไทด์ แล้วส่งไปย่อยในลำไส้เล็กต่อไป (Visitiporn, 2003) ในขณะที่หญ้าที่วัวกินเข้าไปส่วนใหญ่เป็นหญ้าเนเปียร์ ที่มีโปรตีน 11 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อผ่านกระบวนการหมักย่อยในกระเพาะอาหารวัว ร่วมกับมีการให้อาหารขึ้นเพิ่มเติมในการเลี้ยงด้วย จึงส่งผลให้ หญ้าหมักในกระเพาะวัวมีโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นเป็น 19 เปอร์เซ็นต์ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำหญ้าหมักมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสูตรอาหารสำหรับปลากินพืช วัดค่าการเจริญเติบโตของปลานิล เพื่อเป็นแนวทางในการนำหญ้าหมักจากกระเพาะวัวมาใช้ในการเลี้ยงปลานิลเพื่อเป็นแนวทางที่จะช่วยลดปริมาณของเสียเหลือทิ้งจากโรงฆ่าสัตว์ เพิ่มมูลค่าของหญ้าหมักจากกระเพาะวัวอีกทางหนึ่งด้วย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญของหญ้าหมักจากกระเพาะวัวและการเจริญเติบโตของปลานิลที่ให้อาหารผสมหญ้าหมักที่สัดส่วนต่างกัน เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการผลิตอาหารจากเศษเหลือทิ้งให้มีประโยชน์ต่อไปในอนาคต และนำไปสู่การส่งเสริมให้เกษตรกรสามารถเศษเหลือไปใช้ในการเลี้ยงปลาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมหญ้าหมักจากกระเพาะวัว

นำหญ้าหมักจากกระเพาะวัว (หญ้าหมัก) มาผึ่งลมให้แห้ง นำมาบดย่อยให้มีขนาดเล็กและนำไปศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน, ไขมัน, ความชื้น, เถ้า และเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2000) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต (NFE) คำนวณจาก 100 - (โปรตีน+ไขมัน+ความชื้น+เถ้า+เยื่อใย) ตามวิธี NRC (1993)

การเตรียมหน่วยทดลอง

เตรียมบ่อดิน ขนาด 1,000 ตร.ม. จำนวน 1 บ่อ ใช้กระชังในลอนขนาด 1×1×1 เมตร (กว้าง×ยาว×ลึก) จำนวน 12 กระชัง ซึ่งด้วยไม้ไผ่ ให้ขอบกระชังอยู่เหนือระดับผิวน้ำอย่างน้อย 10 เซนติเมตรและรักษาระดับขอบกระชังไว้ตลอดการทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ลูกปลานิลขนาด 2 กรัม ที่ซื้อจากฟาร์ม นำลูกปลามาพักและอนุบาลในกระชังขนาด 2x4 เมตร ให้อาหารชุดควบคุม ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว จนน้ำหนักปลาได้เท่ากับ 22.4 กรัม (Initial weight) จึงเริ่มต้นการทดลอง

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design: CRD) แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำคือ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารควบคุม (Control)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสมหญ้าหมัก 5 เปอร์เซ็นต์ (GF5)

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ (GF10)

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารผสมหญ้าหมัก 15 เปอร์เซ็นต์ (GF15)

สูตรอาหารในการทดลองเป็นอาหารที่ผลิตเอง มีวัตถุดิบที่สำคัญ คือ ปลาป่น กากถั่วเหลือง รำละเอียด ปลาขี้ขาว หญ้าหมัก น้ำมันพืชและฟอสฟอรัส โดยควบคุมระดับโปรตีนในอาหารทดลอง เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ ปล่อยในกระชังขนาด 1×1×1 เมตร อัตราการปล่อย 20 ตัวต่อกระชัง ให้อาหารปลากินจนอิ่ม วันละ 2 ครั้ง คือ 09.00 และ 17.00 น. เป็นเวลา 90 วัน (เดือนพฤศจิกายน 2558 – มกราคม 2559) วัดการเจริญเติบโต และวัดคุณภาพน้ำทุกเดือน ตลอดระยะเวลาการทดลอง วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง ดังนี้ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า เยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2000) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (NFE) คำนวณจาก 100 - (โปรตีน+ไขมัน+ความชื้น+เถ้า+เยื่อใย) ตามวิธี NRC (1993)

Table 1 Formulation and proximate composition of experimental diets (% dry weight)

	Feed formula (%Protein)			
	Control (30%)	GF5 (30%)	GF10 (30%)	GF15 (30%)
Ingredients(% as fed)				
Fish meal (51%)	15.00	15.00	15.00	15.00
Soybean meal (44%)	33.00	35.00	35.00	35.00
Rice bran (14%)	30.00	16.00	18.00	8.00
Broken rice (13%)	21.00	25.00	16.00	18.00
Grass fermentation (16.9%)	-	5.00	10.00	15.00
Vegetable oil	-	3.00	5.00	8.00
Premix	1.00	1.00	1.00	1.00
Total (Kg.)	100	100	100	100
Gross energy (kcal/100g.)	403	398	395	391
Proximate Composition (% dry weight)				
Protein	30.73 ± 2.82 ^a	28.74 ± 3.29 ^a	30.71 ± 5.96 ^a	28.56 ± 1.20 ^a
Lipids	12.11 ± 0.69 ^b	5.56 ± 1.29 ^a	5.49 ± 0.96 ^a	3.39 ± 1.10 ^a
Fiber	5.22 ± 0.63 ^a	9.06 ± 0.73 ^b	8.27 ± 0.89 ^b	10.44 ± 1.86 ^b
Ash	8.24 ± 0.51 ^a	8.25 ± 0.26 ^a	8.65 ± 0.42 ^a	8.58 ± 0.32 ^a
Moisture	10.59 ± 0.28 ^b	9.05 ± 0.30 ^a	9.07 ± 0.22 ^a	9.00 ± 0.26 ^a
NFE	33.11 ± 2.93 ^a	39.33 ± 2.50 ^a	37.81 ± 6.30 ^a	40.03 ± 3.07 ^a

Values are mean ± SE. Values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

การเก็บข้อมูล

ตรวจวัดการเจริญเติบโตทุกเดือน โดยการนำข้อมูลมาคำนวณค่าต่างๆดังนี้

1. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain; กรัม/ตัว)

$$WG = \text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}$$

2. อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average daily growth; กรัม/ตัว/วัน)

$$ADG = (\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มทดลอง}) / \text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง}$$

3. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate; หน่วย)

$$FCR = \text{น้ำหนักอาหารที่ให้} / \text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}$$

4. อัตราการรอดตาย (Survival Rate: เปอร์เซ็นต์)

$$SR = (\text{จำนวนปลาที่เหลือ} / \text{จำนวนปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละชุดการทดลองจากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองโดยวิธี Tukey's test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows version 17.0

ผลการทดลอง

จากการศึกษา หญ้าหมักในกระเพาะวัว(หญ้าหมัก) ที่นำมาฝังลมให้แห้ง และบดให้ละเอียด นำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ความชื้น แล้ว พบโปรตีน 16.90 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.14 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 0.33 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 17.27 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 13.25 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 52.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2) ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่าในหญ้าหมักมีโปรตีนถึง 16.90 เปอร์เซ็นต์ สามารถนำมาใช้ทดแทนวัตถุดิบอาหารบางส่วน

Table2 The proximate composition of grass fermentation (% dry weight)

Proximate Composition	(% dry weight)
Protein	16.90±1.85
Lipids	0.14±0.06
Fibre	0.33±0.09
Ash	17.27±1.81
Moisture	13.25±0.67
NFE	52.10±1.34

ผลการนำหญ้าหมักมาทดแทนบางส่วนในสูตรอาหาร ในสัดส่วน 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยสร้างสูตรอาหารที่มีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนของวัตถุดิบอาหาร แสดงใน Table 1 เมื่อนำสูตรอาหารที่มาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละสูตร พบว่ามีโปรตีนอยู่ระหว่าง 30.73 ± 2.82 , 28.72 ± 3.29 , 30.71 ± 5.96 และ 28.56 ± 1.20 เปอร์เซ็นต์ และถ้ามีค่า 8.24 ± 0.51 , 8.25 ± 0.26 , 8.65 ± 0.42 และ 8.58 ± 0.32 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในส่วนของเปอร์เซ็นต์ไขมัน พบว่ามีค่าเท่ากับ 12.11 ± 0.69 , 5.56 ± 1.29 , 5.49 ± 0.96 และ 3.39 ± 1.10 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยมีค่า 5.22 ± 0.63 , 9.06 ± 0.73 , 8.27 ± 0.89 และ 10.44 ± 1.86 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นมีค่า 10.59 ± 0.28 , 9.05 ± 0.30 , 9.07 ± 0.22 และ 9.00 ± 0.26 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณคาร์โบไฮเดรต มีค่า 33.11 ± 2.93 , 39.33 ± 2.50 , 37.81 ± 6.30 และ 40.03 ± 3.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table1)

ผลการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำหนักปลาสุดท้าย และ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักปลาสุดท้าย สูงสุด เท่ากับ 44.71 ± 1.34 กรัม และมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 22.28 ± 1.33 กรัม

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม และอาหารผสมหญ้าหมัก 5 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลที่ให้อาหารผสมหญ้าหมัก 0, 5 และ 15 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 14.25 ± 0.56 , 16.80 ± 0.74 และ 19.06 ± 1.51 กรัม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 3)

อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักที่ระดับต่างกัน มีอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 0.14 ± 0.00 กรัมต่อตัวต่อวัน และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักสูตรอื่น ๆ ในขณะที่ ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 0, 5 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน เท่ากับ 0.09 ± 0.00 , 0.11 ± 0.00 , และ 0.12 ± 0.01 กรัมต่อตัวต่อ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 3)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักที่ระดับต่างกัน พบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 0, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 4.31 ± 0.03 , 4.08 ± 0.09 และ 4.05 ± 0.04 ตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับอาหารผสมหญ้าหมัก 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.43 ± 0.03 (Table 3)

อัตราการรอดตายของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักที่ระดับต่างกัน พบว่าอัตราการรอดตายของปลานิลมีค่าเท่ากับ 66.67 ± 2.58 , 61.67 ± 2.58 , 60.00 ± 4.47 และ 61.6 ± 2.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Initial weight, Final weight, Weight gain, Average daily gain, feed conversion rate and survival rate of Nile tilapia fed with experimental diets for 90 days

Parameter	Feed formula			
	control	GF5	GF10	GF15
Initial weight (g)	22.4 ± 0.00^a	22.4 ± 0.00^a	22.4 ± 0.00^a	22.4 ± 0.00^a
Final weight (g)	36.68 ± 0.57^a	39.23 ± 0.75^{ab}	44.71 ± 1.34^c	41.48 ± 1.5^{bc}
Weight gain (g)	14.25 ± 0.56^a	16.80 ± 0.74^a	22.28 ± 1.33^b	19.06 ± 1.51^{ab}
Average daily gain (g/fish/day)	0.09 ± 0.00^a	0.11 ± 0.00^a	0.14 ± 0.00^b	0.12 ± 0.01^{ab}
Feed Conversion Rate	4.31 ± 0.03^{ab}	4.43 ± 0.03^b	4.08 ± 0.09^a	4.05 ± 0.04^a
Survival Rate (%)	66.67 ± 2.58^a	61.67 ± 2.58^a	60.00 ± 4.47^a	61.6 ± 2.58^a

Values are mean \pm SE. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

วิจารณ์ผลการทดลอง

หญ้าหมักจากกระเพาะวัว เมื่อนำอบแห้งและบดให้ละเอียดแล้ว มีปริมาณโปรตีน 16.90±1.85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับวัตถุดิบอาหารจากพืช เช่น กากมะพร้าวอัด ใบกระถิน ใบหม่อนสี ที่มีปริมาณโปรตีน 20, 24 และ 22 เปอร์เซ็นต์ (Department of fisheries, 2004) เช่นเดียวกับ กากเนื้อเมล็ดในปาล์มที่มีปริมาณโปรตีน 15.5 เปอร์เซ็นต์ (Pimpa *et al.*, 2009) ที่มีการนำมาใช้ในการเลี้ยงปลานิล (Thongprajukaew *et al.*, 2015) ในขณะที่ Pandit *et al.*, (2004) ศึกษาการนำหญ้าเนเปียร์สด เป็นอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงปลากินพืช และปลานิลในสัดส่วนต่าง ๆ กัน โดยพบว่าหญ้าเนเปียร์ที่ใช้มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 9.2 เปอร์เซ็นต์ และสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงปลา คือปลากินพืชต่อปลานิลในสัดส่วน 1:1 จากงานวิจัยทั้งหมดเป็นแนวทางที่สามารถนำหญ้าหมักจึงมาใช้ในการเลี้ยงปลานิลได้และหญ้าหมักที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์เป็นส่วนที่ทิ้งและไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์อย่างอื่น จึงเป็นวัตถุดิบที่ต้นทุนต่ำ

จากการเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารผสมหญ้าหมัก จำนวน 4 สูตร คือ 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของสูตรอาหารทั้งหมด พบว่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของอาหารทั้ง 4 สูตร มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 28.56 - 30.73 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hassaan *et al.* (2014) ได้ศึกษาผลของการเพาะเลี้ยงปลานิลด้วยการเสริม *Bacillus licheniformis* และยีสต์ ด้วยการสร้างสูตรอาหารจำนวน 12 สูตร โดยควบคุมปริมาณโปรตีนของสูตรอาหารทั้ง 12 สูตร เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Saiyasaeng *et al.*, (2009) ศึกษาการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในปลานิลรุ่นและให้อาหารที่มีปริมาณโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ ทุกสูตรการทดลอง

ผลการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักที่ระดับแตกต่างกัน พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงปลากินพืชร่วมกับปลานิลด้วยหญ้าเนเปียร์แห้ง ที่มีปริมาณโปรตีน 9.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเพาะเลี้ยงปลากินพืช ร่วมกับปลานิลตัวเต็มวัย มีค่าการเจริญเติบโตดีที่สุด และมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด (Pandit *et al.*, 2004) การเลี้ยงปลานิลด้วยกากปาล์มน้ำมันที่ผ่านกระบวนการแตกต่างกัน พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกากปาล์มน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักที่ระดับแตกต่างกัน พบว่ามีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pandit *et al.*, (2004) ศึกษาการเลี้ยงปลากินพืชร่วมกับปลานิลที่ระยะการเจริญเติบโตต่างกัน ซึ่งพบว่าการเลี้ยงปลากินพืชร่วมกับปลานิลเต็มวัยที่ให้อาหารเป็นหญ้าเนเปียร์แห้งให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุดและควรเลือกใช้ในการเพาะเลี้ยงปลาทั้งสองชนิดร่วมกัน ในขณะที่ Pandit and Nakamura (2010) ศึกษาการเพาะเลี้ยงปลานิลที่อุณหภูมิต่างกัน คือ 27, 32, 35 และ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้อาหารสำเร็จรูปชนิด

เดียวกันซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 27- 32 องศาเซลเซียสเจริญเติบโตของปลานิลที่สูงสุด และพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าต่ำที่สุด

อัตราการรอดตายของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักที่ระดับต่างๆ กัน พบว่าอัตราการรอดตายของปลานิลทุกชุดการทดลอง เท่ากับ 60 – 66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการต่ำกว่าการเลี้ยงปลานิลโดยการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในปลานิลรุ่น พบว่ามีอัตราการรอดตาย 86-97.5 เปอร์เซ็นต์ (Saiyasaeng *et al.*, 2009) สอดคล้องกับ Pandit *et al.*, (2004) ศึกษาการเลี้ยงปลาอินทรีร่วมกับปลานิลโดยใช้หญ้าเนเปียร์ พบว่า ปลาอินทรีที่มีอัตราการรอดตาย 80-91 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลานิลมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองที่ได้ค่าอัตราการรอดตายต่ำ อาจเนื่องมาจากการทดลองครั้งนี้อยู่ในช่วงที่มีอากาศเย็น อุณหภูมิลดต่ำลง จึงทำให้มีอัตราการรอดตายต่ำ สอดคล้อง Piz (2004) ศึกษาการเจริญของปลานิลที่อุณหภูมิต่ำ พบว่า ที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 13 องศาเซลเซียส มีอัตราการรอดตาย ต่ำกว่า 17 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงปลานิลด้วยหญ้าหมักจากกระเพาะวัวที่มีปริมาณโปรตีน 16.90 เปอร์เซ็นต์ ผสมในสูตรอาหาร 4 สูตร คือ อาหารผสมหญ้าหมัก 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลที่ผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าสูตรอาหารอื่นและแตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้ สรุปได้ว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล คือ อาหารผสมหญ้าหมัก 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. Methods of Analysis of the Association of the Official Analysis Chemists. 17th edition. Association of Official Analysis Chemist, Inc., Arlington, Virginia.
- Department of fisheries. 2010. Nile Tilapia Culture. Inland Fisheries Research and Development Bureau, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 64p. [in Thai]
- Department of fisheries. 2004. Materials used in aquaculture feed products. [online]. Available http://www.fisheries.go.th/if-inland_feed/distribute/rawmat.htm. 10 Dec 2016. [in Thai]
- Hassaan, M.S., Soltan, M.A. and Ghonemy, M.M.R. 2014. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Egyptian Journal of Aquatic Research 40:199-208.
- Kaewalin N. 2015. Products of Nile Tilapia. online Available http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Monthly%20report/tilapia/Monthly%20Tilapia-_Dec2015.pdf [in Thai]

- Kongtaratana, S., Ampolsak, K. and Chienmuek, T. 2004. Nile Tilapia Culture. Training farmers in Pathumthani province to disseminate knowledge on aquaculture and aquatic plants on breeding. 28p. [in Thai]
- NRC. 1993. Nutrient requirement of warm water fish. National Academy Press. Washington, D.C.
- Pandit, N.P. and Nakamura M. 2010. Effect of High Temperature on Survival, Growth and Feed Conversion Ratio of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Our Nature 8:219-224.
- Pandit, N.P., Shrestha, M. K., Yi, Y. and Diana, J.S. 2004. Polyculture of grass carp and Nile tilapia with napier grass as the sole nutrient input in the subtropical climate of Nepal.
- Pimpa, B., Mueangsuwan, S. and Pimpa, O. 2009. Physical and chemical by-product of palm oil mills feed for a ruminant. Agricultural seminar for year 2009. Faculty of Agriculture, Khon Kaen University. 221-223. [in Thai]
- Piz, P.E. 2004. Evaluation of growth, production, and cold tolerance of four varieties of tilapia.
- Saiyasaeng, S., Yuangsoi, B. and Wongmaneeprateep, S. 2013. Dietary supplementation with *Schizochytrium* sp. on growth performance and survival rate of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. Khon Kaen Agr. J. 41(1):129-134. [in Thai]
- Thongprajukaewa, K., Rodjaroen, S., Yoonrama, K., Sornthong,P., Hutcha, N., Tantikitti, C. and Kovitvadhi, U. 2015. Effects of dietary modified palm kernel meal on growth, feed utilization, radical scavenging activity, carcass composition and muscle quality in sex reversed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 439: 45-52.
- Visitiporn S. 2003. Ruminant Nutrition. Teaching. Technology of Animal Production. Institute of Agricultural Technology. Suranaree University of Technology. Nakhon Ratchasima. 97. [in Thai]

ประสิทธิภาพของถั่วเหลืองป่นหมักเชื้อราท้องถิ่น *Aspergillus niger*
ในอาหารผสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดง
Efficiency of Fermented Soybean meal by Indigenous Fungi *Aspergillus niger*
In Formulated Diets on Growth Performances in Red Tilapia
(*Oreochromis niloticus mossambicus*)

วรวุฒิ เกิดปราง* 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

เชื้อรา *Aspergillus niger* เป็นราที่พบได้โดยทั่วไปในสภาพแวดล้อม และมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเชื้อรา *A. oryzae* ซึ่งสามารถทำลายสารต้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำได้ จึงมีแนวความคิดที่จะนำเชื้อรา *A. niger* ท้องถิ่นที่รวบรวมได้จากพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมาใช้ในการหมักถั่วเหลืองป่นเพื่อลดปริมาณสารต้านโภชนะและผสมในอาหารปลานิลแดง โดยผลิตอาหารเม็ดชนิดจมน้ำปริมาณโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรตีนจากปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ และถั่วเหลืองป่น 15 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตรควบคุม (D1) และแทนที่โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (D2-D5) เลี้ยงปลานิลแดงขนาดเริ่มต้น 12.33-12.45 กรัม ในถังทรงกลมปริมาณน้ำ 350 ลิตร จำนวนถังละ 10 ตัว ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ให้อาหารจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน สัดส่วนที่บริโภคได้ ดัชนีตับ และต้นทุนการผลิตปลาต่อกิโลกรัม ของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่พบความแตกต่างของอัตราการกินอาหาร และการใช้โปรตีนสุทธิ ระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่าอาหารที่ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำที่สุดถึงแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นการใช้ถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อรา *A. niger* สามารถทดแทนถั่วเหลืองป่นในอาหารปลานิลแดงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลานิลแดง แต่ส่งผลให้ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตปลา 1 กิโลกรัมลดลง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแดงลดต้นทุนการผลิตปลาได้

คำสำคัญ : เชื้อราท้องถิ่น ถั่วเหลืองป่นหมัก ปลานิลแดง

Abstract

Aspergillus niger is a fungus and commonly found in environment. Its property is similar to *A. oryzae*, which can reduce antinutritional substances. The utilization of indigenous *A. niger* from aquaculture area to improve the quality of soybean meal by fermentation and replacement in Red tilapia diet was studied. Tilapia sinking diets with 35% of protein were formulated. Sources of protein in diets were composed of 20% of protein from fish meal (FM) and 15% of protein from soybean meal (SM) in control diet (D1). The SM was replaced by fermented soybean meal (FSM) at 25, 50, 75 and 100% of SM protein (D2-D5). An initial weight of juvenile Red tilapia was 12.33-12.45 g. The 10 fish were stocked in 350 L cylinder container with triplicate groups. Each diet was fed *ad libitum* twice a day for 8 weeks. The results presented that, the final weight, total length, specific growth rate, survival rate, feed conversion ratio, protein efficiency ratio, carcass percentage, hepatosomatic index and product capital showed no significant differences ($P>0.05$) while the significant differences ($P<0.05$) were found on feed intake and net protein utilization of Red tilapia. The level of 100% of fermented soybean meal protein replacement performed the lowest product capital, although it was not statistically significant difference. Therefore, 100% of *A. niger* fermented soybean meal can replace soybean meal in Red tilapia diet without reduction of growth and survival rates while product capital (baht/kg of fish) was reduced. The *A. niger* fermented soybean meal is alternative protein source for cost reduction of Red tilapia farmer.

Keywords: Indigenous *Aspergillus niger*, Fermented soybean meal, Red tilapia

คำนำ

ปลานิลเป็นปลาเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมของผู้บริโภคและได้มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย ผลผลิตจากการเลี้ยงปลานิลซึ่งรวมถึงปลานิลแดง ในปี 2557 มีปริมาณ 189,900 ตัน คิดเป็น 45.70 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตสัตว์น้ำจืดของประเทศไทย (DOF, 2016) โดยปัจจัยที่สำคัญในการเลี้ยงปลานิลแดงประการหนึ่งคืออาหาร คิดเป็นต้นทุนประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ของทุนการผลิต ซึ่งมีการใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหาร สภาวะปัจจุบันปริมาณการผลิตปลาป่นมีไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ปลาป่นในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่งผลให้ปลาป่นขาดแคลนและทำให้ราคาของปลาป่นเพิ่มสูงขึ้นตามความต้องการของตลาด อาหารสัตว์น้ำจึงมีราคาสูงขึ้นตามไปด้วย (Hardy, 2010) กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมนำมาใช้ทดแทนการใช้ปลาป่นอย่างกว้างขวาง แต่เนื่องจากกากถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนะ (antinutritional factors; ANFs) หลายชนิด ได้แก่ trypsin inhibitors, lectins, phytic acid, saponins, phytoestrogens, antivitamin, allergens (Francis *et al.*, 2001) และสาร oligosaccharides ที่มีผลต่อการลดอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้สารอาหารในสัตว์

(Anderson *et al.*, 1979) ทำให้ใช้กากถั่วเหลืองในอาหารสัตว์ได้ในปริมาณจำกัด ดังเช่นการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ Wee and Shu (1989) ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอัตรา 55 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลาชนิด มีผลให้การเจริญเติบโตลดลง Reigh and Ellis (1992) ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายทดแทนปลาป่น 53 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา Red drum มีผลให้อัตรากារกินอาหารและการเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายสูงขึ้น ขณะที่ Romarheim *et al.* (2008) และ Merrifield *et al.* (2009) รายงานการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ (Rainbow trout) มีผลให้สัดส่วนวิทยาของลำไส้เปลี่ยนแปลงไป เช่นเดียวกับที่ Bakke-McKellep *et al.* (2007) รายงานการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของลำไส้ในปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon)

การกำจัดสารต่อต้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การให้ความร้อน (Barrows *et al.*, 2007) การให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดัน 15-30 นาที สามารถลดปริมาณของ trypsin inhibitors ในกากถั่วเหลืองให้ต่ำกว่าระดับวิกฤตได้ (Norton, 1991) การให้ความร้อนร่วมกับตัวทำละลายเพื่อสกัดเฉพาะโปรตีนชั้นจากถั่วเหลือง (Cheeke and Shull, 1985) การใช้รังสีอินฟราเรด (Gomes *et al.*, 1995) แต่ Francis *et al.* (2001) กล่าวว่าการใช้ความร้อนควรกระทำอย่างระมัดระวัง เนื่องจากความร้อนนอกจากจะทำลายสารต้านโภชนะต่าง ๆ แล้ว ยังมีผลต่อคุณภาพของสารอาหารในวัตถุดิบอาหารด้วย เช่น การทำให้โปรตีนเสียสภาพและการเสื่อมสภาพของกรดอะมิโนไลซีนส่งผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้ลดลง นอกจากการกำจัดสารต้านโภชนะด้วยวิธีที่กล่าวข้างต้นแล้ว การหมักด้วยจุลินทรีย์ (fermentation) เป็นอีกวิธีที่สามารถลดปริมาณสารต้านโภชนะกากถั่วเหลืองได้ (Francis *et al.*, 2001) แบคทีเรียจะใช้น้ำตาลจากพืชโดยการย่อยเซลลูโลสและคาร์โบไฮเดรตให้มีโมเลกุลเล็กลงเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและสร้าง volatile fatty acids (VFAs) เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดโปรปิโอนิก เป็นต้น (Moran, 2005; Chiba *et al.*, 2005) โปรตีนจะถูกย่อยกลายเป็นกรดอะมิโน (Allagheny *et al.*, 1996) และช่วยลดสารต้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารจากผลของกรดแลคติก (Cruz *et al.*, 2011: online) การศึกษาของ Hong *et al.* (2004) พบว่าการใช้เชื้อรา *Aspegillus oryzae* หมักถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองทำให้ขนาดโมเลกุลเปปไทด์ (peptide) มีขนาดเล็กลง ส่งผลทำให้มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถกำจัดสาร trypsin inhibitors และทำให้ขนาดของเปปไทด์ที่น้อยกว่า 20 kDa มีปริมาณมากขึ้น และลดปริมาณเปปไทด์ขนาดมากกว่า 60 kDa นอกจากนี้เชื้อรา *A. oryzae* สามารถใช้ในการหมักกากถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำแล้ว เชื้อรา *A. niger* เป็นเชื้อราอีกชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ *A. oryzae* ดังรายงานคุณสมบัติในการสร้างสารต่าง ๆ ของ *A. niger* ได้แก่ protease (Yang and Lin, 1998; Couri *et al.*, 2000) cellulase (Couri *et al.*, 2000; Kang *et al.*, 2004) hemicellulases (Kang *et al.*, 2004) lipase (Mahadik *et al.*, 2002) phytase (Ahmad *et al.*, 2000; Mandviwala and Khire, 2000; Casey and Walsh, 2003) และ tannase (Aguilar *et al.*, 2001) เป็นต้น และเชื้อรา *A. niger* ยังเป็นเชื้อราที่มีความปลอดภัย มีการนำมาใช้ในการผลิต extracellular เอนไซม์ และกรดซิตริก เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Schuster *et al.*, 2002)

ขณะที่พื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมงมีการสำรวจชนิดของจุลินทรีย์ท้องถิ่น เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตรธรรมชาติซึ่งยึดหลักการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรในท้องถิ่น ลดการนำเข้าวัตถุดิบในการผลิตจากภายนอก รวมถึงการใช้จุลินทรีย์ที่พบในพื้นที่เพื่อประโยชน์ที่ยั่งยืน ป้องกันการปนเปื้อนหรือการรุกรานจากจุลินทรีย์ต่างถิ่น พบเชื้อรา *A. niger* กระจายอยู่ในบริเวณพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Koedprang and Chalad, 2015) จากคุณสมบัติของเชื้อรา *A. niger* ที่กล่าวข้างต้น จึงได้ศึกษาการนำเชื้อรา *A. niger* ท้องถิ่นในการหมักถั่วเหลืองสำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารศึกษาการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลแดง เพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบอาหารให้มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของปลานิลแดง และส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตปลานิลแดง อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์น้ำอื่น ๆ ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมถั่วเหลืองป่นหมักโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่เก็บได้จากพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง จังหวัดตรัง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้เส้นใยเจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อและการสร้างสปอร์เพียงพอสำหรับการหมักถั่วเหลือง จากนั้นผลิตหัวเชื้อถั่วเหลืองป่นหมัก โดยดัดแปลงวิธีการหมักของ Yamamoto *et al.* (2010) และ Kim *et al.* (2009) โดยบดถั่วเหลืองให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก เพื่อเพิ่มความชื้นในถั่วเหลืองป่น ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที หนึ่งชั่วโมงด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ทิ้งให้เย็นและเติมเชื้อรา *A. niger* บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยเจริญเต็ม นำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับหมักถั่วเหลืองป่นต่อไป การหมักถั่วเหลืองป่นเพื่อใช้ในการผลิตอาหารปลานิลแดง โดยใช้หัวเชื้อต่อถั่วเหลืองป่นในอัตรา 1:9 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หยุดกิจกรรมของเชื้อราโดยการนำถั่วเหลืองป่นหมักแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองป่นหมักและไม่หมักได้แก่ ปริมาณโปรตีน ด้วยวิธี Kjeldahl ไนมัน ด้วยวิธี Soxhlet ความชื้น และเถ้า (AOAC, 1990) คำนวณสูตรและผลิตอาหารผสมชนิดจมน้ำที่มีปริมาณโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ ใช้โปรตีนจากปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ และถั่วเหลืองป่นที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมัน 15 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารควบคุม (D1) และทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก ที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร D2-D5 (Table 1) อาหารที่ผลิตได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของอาหารแต่ละสูตรตามวิธีการของ AOAC (1990)

ทดสอบประสิทธิภาพของอาหารโดยเลี้ยงปลานิลแดงในถังทรงกลม ปริมาตรน้ำ 350 ลิตร และให้อากาศตลอดเวลา คัดเลือกปลานิลแดงขนาดประมาณ 8 เซนติเมตร จำนวนหน่วยการทดลองละ 10 ตัว ซึ่งน้ำหนักของปลาแต่ละหน่วยการทดลอง โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ตัว ให้อาหารวันละ 2 เวลาเช้าและเย็น โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่มและเหลือเศษอาหารน้อยที่สุด งดตะกอนก้นถังก่อนให้อาหารมื้อเช้าและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 2 วัน เพื่อควบคุมการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ และบันทึกปริมาณอาหารที่ปลากิน เพื่อใช้คำนวณการเจริญเติบโตจำเพาะ

(specific growth rate; SGR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio; PER) และคำนวณอัตราการกินอาหาร (feed intake; FI) และอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) ตรวจนับจำนวนปลาเพื่อหาอัตราการรอดตาย (survival rate; SR) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาก่อนและหลังการทดลองเพื่อคำนวณการใช้โปรตีนสุทธิ (net protein utilization; NPU) เก็บตัวอย่างปลาจำนวน 5 ตัว จากแต่ละหน่วยทดลอง เพื่อชั่งน้ำหนักของเนื้อปลาและตับเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัว เพื่อคำนวณค่าสัดส่วนที่บริโภคได้ (carcass percentage) และค่าดัชนีตับ (hepatosomatic index; HSI) นำตัวอย่างเนื้อปลามาเพาะเชื้อบนอาหาร PDA เพื่อดูปริมาณเชื้อราในเนื้อปลา ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 1 ปัจจัย ตามแผนการทดลอง แบบ CRD (One-way Analysis of Variance in Complete Randomize Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Table 1 Composition, proximate analysis and cost of the experimental Red tilapia diets

Ingredients (%)	Experimental diets				
	D1(0)	D2(25)	D3(50)	D4(75)	D5(100)
FM (73% CP)	27.40	27.40	27.40	27.40	27.40
SM (50% CP)	30	22.50	15.00	7.50	0.00
FSM (45% CP)	0	8.33	16.67	25.00	33.33
Rice Bran	12	12	12	12	12
Palm oil	4	4	4	4	4
Rice Starch	22.60	21.77	20.93	20.10	19.27
Vitamin Mix	1	1	1	1	1
Mineral Mix	1	1	1	1	1
CMC	2	2	2	2	2
Proximate composition (% dry matter)					
Protein	35.51	35.53	35.59	35.56	35.52
Lipid	13.36	13.22	13.35	13.22	13.23
Ash	12.66	12.68	12.73	12.73	12.71
Moisture	6.58	6.53	6.60	6.68	6.58
Energy (MJ/Kg)	18.43	18.49	18.40	18.43	18.59
Diet Cost (Baht/kg)	29.69	29.32	28.95	28.58	28.21

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, K₃ 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

ผลการเลี้ยงปลานิลแดงด้วยอาหารผสมที่ใช้ถั่วเหลืองป่นหมักแทนถั่วเหลืองป่นปกติ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงระยะเวลา 8 สัปดาห์ ค่าการเจริญเติบโตเฉลี่ย ประกอบด้วย น้ำหนักระหว่าง 59.57-60.80 กรัม (Table 2) ความยาวระหว่าง 14.70-15.27 เซนติเมตร และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ระหว่าง 2.80-2.82 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน (Table 2) และค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย ประกอบด้วย อัตราการกินอาหาร (FI) ระหว่าง 68.03-76.11 กรัมต่อตัว อัตราแลกเนื้อ (FCR) ระหว่าง 1.42-1.61 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ระหว่าง 1.74-1.97 และการใช้โปรตีนสุทธิ (NPU) ระหว่าง 28.43-31.31 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา เฉลี่ยระหว่าง 94.16-94.42 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ค่าสัดส่วนที่บริโภคได้ (carcass) เฉลี่ยระหว่าง 35.19-35.99 เปอร์เซ็นต์ และดัชนีตับ (HSI) เฉลี่ยระหว่าง 2.00-2.08 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ซึ่งพบว่าน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการอดตาย อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน สัดส่วนที่บริโภคได้ และดัชนีตับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในทุกสูตรอาหาร แต่พบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมักในสูตรอาหาร 50-100 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นปกติ (D3-D5) มีอัตราการกินอาหาร (FI) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ผสมด้วยถั่วเหลืองป่นหมัก (D1) และทดแทนถั่วเหลืองป่นหมัก 25 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากถั่วเหลืองปกติ (D2) และค่าการใช้โปรตีนสุทธิ (NPU) ของปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ทดแทนด้วยถั่วเหลืองมีหมัก 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น (Table 2) เมื่อคำนวณราคาอาหาร (diet cost) มีราคาระหว่าง 28.21-30.05 บาทต่อกิโลกรัม โดยราคาอาหารลดลงตามสัดส่วนการทดแทนด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมักที่เพิ่มขึ้น และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลานิลแดง 1 กิโลกรัม (product capital) มีราคาระหว่าง 40.13-47.80 บาท โดยต้นทุนค่าอาหารลดลงตามสัดส่วนการทดแทนด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมักที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตปลานิลแดง 1 กิโลกรัมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 2 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. niger* ในเนื้อปลานิลแดงที่ได้เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมัก

Table 2 Growth performance, survival rate, feed utilization, product capital (\pm SE) of Red tilapia affected by proportion of fermented soybean meal in the diets at 8th week

Performances	D1	D2	D3	D4	D5
Initial weight (g)	12.45 \pm 0.01a	12.34 \pm 0.02a	12.42 \pm 0.04a	12.37 \pm 0.03a	12.38 \pm 0.06a
Final weight (g)	60.80 \pm 2.48a	59.57 \pm 3.06a	60.34 \pm 1.61a	59.90 \pm 1.37a	60.03 \pm 2.38a
Initial length (cm)	8.97 \pm 0.07a	8.88 \pm 0.08a	8.97 \pm 0.10a	8.89 \pm 0.09a	8.76 \pm 0.08a
Final length (cm)	15.16 \pm 0.16a	15.27 \pm 0.39a	14.81 \pm 0.23a	14.70 \pm 0.27a	14.95 \pm 0.18a
SGR (%/day)	2.80 \pm 0.05a	2.81 \pm 0.09a	2.82 \pm 0.04a	2.81 \pm 0.04a	2.82 \pm 0.06a
SR (%)	100	100	100	100	100
FI (g/fish)	76.11 \pm 0.44a	70.53 \pm 0.42a	68.23 \pm 1.12b	68.03 \pm 0.52b	67.49 \pm 0.68b
FCR	1.61 \pm 0.04a	1.50 \pm 0.09a	1.42 \pm 0.06a	1.43 \pm 0.04a	1.42 \pm 0.07a
PER	1.74 \pm 0.05a	1.86 \pm 0.11a	1.96 \pm 0.07a	1.96 \pm 0.05a	1.97 \pm 0.09a
NPU (%)	28.43 \pm 0.17a	30.85 \pm 0.19a	31.17 \pm 0.52a	30.87 \pm 0.23a	31.31 \pm 0.31b
Fish meat protein (%dry weight)	94.42 \pm 0.02a	94.39 \pm 0.15a	94.26 \pm 0.06a	94.16 \pm 0.36a	94.26 \pm 0.62a
Carcass (%)	35.79 \pm 0.51a	35.99 \pm 0.20a	35.95 \pm 0.34a	35.21 \pm 0.14a	35.19 \pm 0.43a
HSI (%)	2.08 \pm 0.03a	2.00 \pm 0.12a	2.03 \pm 0.07a	2.05 \pm 0.09a	2.02 \pm 0.11a
Product capital (Baht/kg of	47.80 \pm 1.27a	44.14 \pm 2.78a	41.29 \pm 1.82a	40.96 \pm 1.06a	40.13 \pm 1.92a

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

วิจารณ์ผล

จากผลการทดลองพบว่า การเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย สัดส่วนที่บริโภคได้ และค่าดัชนีตัวของปลานิลแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองปนด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองปนหมัก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับอาหารสูตรควบคุมที่ใช้ถั่วเหลืองปนปกติ ขณะที่อัตราการกินอาหารของปลานิลแดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองปน ตั้งแต่ 50-100 เปอร์เซ็นต์ และอัตราแลกเปลี่ยนของปลามีแนวโน้มลดลง ส่วนประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามลำดับ ถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ใช้โปรตีนสุทธิของปลานิลแดงเพิ่มขึ้นตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อใช้ถั่วเหลืองปนหมักในอาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Cruz *et al.* (2011: online) ให้เหตุผลว่าการใช้แบคทีเรียในการหมักวัตถุดิบอาหารในสภาวะที่เหมาะสม นอกจากช่วยลดสารต้านโภชนะ (antinutritional substances) แล้วยังช่วยเพิ่มความอยากอาหารและเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารให้แก่สัตว์ เช่นเดียวกับการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ผสมในอาหารเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่น ในปลา rainbow trout (Yamamoto *et al.*, 2010) ปลา red sea bream, *Pagrus major* (Kader *et al.*, 2011) และการใช้อาหารผสมกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* และอาหารผสมเชื้อราโดยตรงในปลานกแก้ว, *Oplegnathus fasciatus* (Kim *et al.*, 2009) และ ปลา flounder, *Paralichthys olivaceus* (Kim *et al.*, 2010) มีผลทำให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อรา *A. niger* หมักถั่วเหลืองปนในครั้งนี้น่าจะเพิ่ม

ประสิทธิภาพของถั่วเหลืองป่นได้ โดยดูได้จากอัตราการกินอาหารที่ลดลงในขณะที่การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างจากอาหารสูตรควบคุม และการใช้โปรตีนสุทธิของปลานิลแดงเพิ่มสูงขึ้น

เมื่อคำนวณราคาอาหารปลานิลแดงต่อกิโลกรัม พบว่าราคาอาหารจะลดลงตามปริมาณการเพิ่มขึ้นของถั่วเหลืองป่นหมักในอาหารแต่ละสูตร (Table 1) ถึงแม้ว่าจะใช้ปริมาณถั่วเหลืองป่นหมักในปริมาณที่มากกว่าถั่วเหลืองปกติ เนื่องจากปริมาณความชื้นในถั่วเหลืองป่นหมักมีสูงกว่าถั่วเหลืองปกติ ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักที่ต้องเพิ่มความชื้นในถั่วเหลืองป่นก่อนการหมัก และอาจรวมถึงการลดลงของปริมาณโปรตีนจากการย่อยสลายของเชื้อรา เปอร์เซ็นต์โปรตีนในถั่วเหลืองป่นหมักจึงมีน้อยกว่าถั่วเหลืองปกติ (Table 1) ทำให้ต้องใช้ถั่วเหลืองป่นหมักในปริมาณที่มากกว่าเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณราคาถั่วเหลืองป่นหมักซึ่งมีความชื้นสูงกว่า โดยใช้ราคาของถั่วเหลืองปกติ ถั่วเหลืองป่นหมักจะมีราคาต่อกิโลกรัมที่ถูกกว่า และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาปลานิลแดง 1 กิโลกรัม พบว่าอาหารที่ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) มีต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม เท่ากับ 40.13 บาท ซึ่งต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น (Table 2) ถึงแม้ว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น โดยเฉพาะสูตรควบคุม (D1) ที่มีต้นทุนต่างกันประมาณกิโลกรัมละ 7.50 บาท เนื่องมาจากอัตราการกินอาหารและอัตราแลกเนื้อของปลานิลแดงที่ลดลงเมื่อใช้ถั่วเหลืองป่นหมักในอาหาร และเมื่อนำเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักมาเพาะเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อก็ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการลดต้นทุนการผลิตปลานิลแดง และความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นการใช้ถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อรา *A. niger* สามารถทดแทนถั่วเหลืองป่นในอาหารปลานิลแดงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลานิลแดง แต่มีผลให้ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตปลาลดลง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแดงลดต้นทุนการผลิตปลาได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในการสนับสนุนงบประมาณการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเจ้าหน้าที่ ที่ช่วยการวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี และขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำเพื่อความสมบูรณ์ของรายงานการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Aguilar, C. N., Augur, C., Favela-Torres, E., and Viniegra-González, G. 2001. Production of tannase by *Aspergillus niger* Aa-20. In submerged and solid-state fermentation: influence of glucose and tannic acid. J. Industrial Microbiology and Biotechnol. 26: 296-302.
- Ahmad, T., Rasool, S., Sarwar, M., Haq, A., and Hasan, Z. 2000. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. Animal Feed Sci. and Technol. 83: 103-114.
- Allagheny, N., Obanu, Z. A., Campbell-Platt, G., and Owens, J.D. 1996. Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation of legume. Food Microbiol. 29 : 321-333.
- Anderson, R. L., Rackis, J. J., and Tallent, W. H. 1979. Biologically active substances in soy products. In: Wilcke H. L., Hopkins, D. T., and Waggle, D. H. (Eds.). Soy Protein and Human Nutrition. Academic Press New York. pp. 209-133.
- AOAC. 1990. Official Method of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC., USA.
- Bakke-McKellep, A. M., Penn, M. H., Salas, P. M., Refstie, S., Sperstad, S., Landsverk, T., Ringo, E., and Krogdahl, Å. 2007. Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). British J. of Nutrition. 97: 699-713.
- Barrows, F. T., Stone, D. A. J., and Hardy, R. W. 2007. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture . 265: 244-252.
- Casey, A. , and Walsh, G. 2003. Purification and characterization of extracellular phytase from *Asperillus niger* ATCC 9142. Bioresource Technol. 86: 183-188.
- Cheeke, P. R. , and Shull, L. R. 1985. Natural Toxicants in Feeds and Poisonous Plants. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Chiba, S. , Chiba, H. , and Yagi, M. 2005. A Guide for Silage Making and Utilization in the Tropical Regions. Japan Livestock Technology Association. Japan. 29 p.
- Couri, S., Terzi, S. C., Pinto, G. S., Freitas, S. P., and Costa, A. C. A. 2000. Hydrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. Process Biochemistry. 36: 255–261.

- Cruz, Y., Kijora, C., Wedler, E., Danier, J., and Schulz, C. 2011. Fermentation properties and nutritional quality of selected aquatic macrophytes as alternative fish feed in rural areas of the Neotropics. *Livestock Research for Rural Development*. 23: Article No. 239. [Online] Available from <http://www.lrrd.org/lrrd23/11/cruz23239.htm> [2016, November 22].
- DOF. 2016. Fisheries Statistics of Thailand 2014. Information and Communication Technology Center, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Report No. 11. 87 p. [in Thai]
- Francis, G., Makkar, H. P. S., and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199: 197-227.
- Gomes, E. F., Rema, P., and Kaushik, S. J. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture*. 130: 177-186.
- Hardy, R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*. 41: 770-776.
- Hong, K. J., Lee, C. H., and Kim, S. W. 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *J. Medicinal Food*. 7: 403-435.
- Kader, M. A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Honda, Y., Mamauag, R. E., and Laining, A. 2011. Growth, nutrient utilization, oxidative condition, and element composition of juvenile red sea bream *Pagrus major* fed with fermented soybean meal and scallop byproduct blend as fishmeal replacement. *Fisheries Science*. 77: 119-128.
- Kang, S. W., Park, Y. S., Lee, J. S., Hong, S. I., and Kim, S. W. 2004. Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocelulosic biomass. *Bioresource Technology*. 91: 153-156.
- Kim, S. S., Galaz, G. B., Pham, M. A., Jang, J. W., Oh, D. H., Yeo, I. K., and Lee, K. J. 2009. Effects of dietary supplementation of meju, fermented soybean meal, and *Aspergillus oryzae* for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian Australian Journal of Animal Sciences*. 22: 849-856.
- Kim, S. S., Pham, M. A., Kim, K. W., Son, M. H., and Lee, K. J. 2010. Effects of microbial fermentation of soybean on growth performances, phosphorous availability, and antioxidant activity in diets for juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Food Science and Biotechnology*. 19:1605-1610.

- Koedprang, W., and Chalad, C. 2015. Indigenous microorganism in aquaculture area based on natural farming principles, Case study: Freshwater aquaculture farm, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang campus. Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal. 8(1): 52-57. [in Thai]
- Mahadik, N. D., Puntambekar, U. S., Bastawde, K. B., Khire, J. M., and Gokhale, D. V. 2002. Production of acidic lipase by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. Process Biochemistry. 38: 715-721.
- Mandviwala, T. N., and Khire, J. M. 2000. Production of high activity thermostable phytase from thermotolerant *Aspergillus niger* in solid state fermentation. J. Industrial Microbiology and Biotechnol. 24: 237-243.
- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Bradley, G., Baker, R. T. M., and Davies, S. J.. 2009. Soybean meal alters autochthonous microbial populations, microvilli morphology and compromises intestinal enterocyte integrity of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Diseases. 32:755-766.
- Moran, J. 2005. Topical Dairy Farming: Feeding management for small dairy farmers in the humid tropics. Landlinks Press. 312 p.
- Norton, G., 1991. Proteinase inhibitors. In: D'Mello, F. J. P., Duffus, C. M., and Duffus, J. H. (Eds.). Toxic Substances in Crop Plants. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge CB4 4WF, Cambridge. pp. 68–106.
- Reigh, R. C., and Ellis, S. C. 1992. Effects of dietary soybean and fish-protein ratios on growth and body composition of red drum *Sciaenops ocellatus* fed isonitrogenous diets. Aquaculture. 104: 279–292.
- Romarheim, O. H., Skrede, A., Gao, Y., Krogdahl, Å., Denstadli, V., Lilleeng, E., and Storebakken, T. 2008. Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 256: 354-364.
- Schuster, E., Dunn-Coleman, N., and Frisvad, J. C. 2002. On the safety of *Aspergillus niger*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59: 426-435.
- Wee, K. L., and Shu, S. W. 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. Aquaculture. 81: 303–314.

- Yamamoto, T., Iwashita, Y., Matsunari, H., Sugita, T., Furuita, H., Akimoto, A., Okamoto, K., and Suzuki, N. 2010. Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 309: 173-180.
- Yang, F. C., and Lin, I. H. 1998. Production of acid protease using thin stillage from a rice spirit distillery by *Aspergillus niger*. *Enz. Microbial Technol.* 23: 397-402.

**ผลของแหวนเปิดสดต่อการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการ
และต้นทุนการผลิตปลาตุกรัสเซียในระบบน้ำหมุนเวียน**

The effects of fresh duckweed for growth nutrition and production cost of African
sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) in recirculating systems

ภาณุมาศ อัมพรสวัสดิ์¹, จงกล พรหมยะ¹, บัญญัติ มนทีธรอาสน์¹และชนกันต์ จิตมนัส¹

Phanumas Ampornsawas¹ Jongkon Promya¹ Banyad Montienart¹ and Chanagun Chitmanat¹

¹คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

¹Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiangmai

* Corresponding author E-mail: Phanu61@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้แหวนเปิดสดกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณที่แตกต่างกัน เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการ สารสีของเนื้อปลา และต้นทุนการผลิตปลาตุกรัสเซีย โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้ T₁) อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25% ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ T₂) อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหวนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ และ T₃) อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหวนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหารในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์/น้ำหนักตัว/วัน น้ำหนักปลาเริ่มต้นเท่ากับ 55.00±5.00 กรัม/ตัว ความยาว 17.5±0.5 เซนติเมตร อัตราการปล่อย 80 ตัว/ตารางเมตร ในบ่อซีเมนต์กลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร มีระบบน้ำหมุนเวียน และเก็บข้อมูลทุกๆ 15 วัน เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า T₃ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 1.43±0.57 ดีกว่า T₂ และ T₁ (มีค่า 1.70±0.76 และ 1.82±0.35) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และคุณค่าทางโภชนาการของเนื้อปลา ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยสารสีแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ T₂ และ T₃ มีค่า 27.12±0.21 และ 26.91±1.75 ไมโครกรัม/กรัม มากกว่า T₁ (มีค่า 7.35±0.56 ไมโครกรัม/กรัม) และต้นทุนการผลิตใน T₃ มีค่า 37.96±1.20 บาท/กิโลกรัม ดีกว่า T₂ และ T₁ (41.37±1.09 และ 43.45±0.69 บาท/กิโลกรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คุณภาพน้ำแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สรุปได้ว่าการใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ กับแหวนเปิดสด (T₂ และ T₃) ในการผลิตปลาตุกรัสเซียทำให้ปลา มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ สารสีแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา และต้นทุนการผลิตดีกว่าใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ (T₁)

คำสำคัญ : ปลาตุกรัสเซีย อาหารปลา แหวนเปิด การเจริญเติบโต และต้นทุนการผลิต

Abstract

The effects of a combination of duckweed and commercial pellets as feed for African sharptooth catfish were investigated. The growth performances, nutrition value, carotene pigments in fish flesh, water quality, and production costs were compared. The experiment was divided into 3 treatments, 3 replications each as follow: T₁) 25 percent protein pellet and feeding 100 percent; T₂) 25 percent protein pellet and feeding 90 percent with 10 percent fresh duckweed; and T₃) 25 percent protein pellet and feeding 70 percent with 30 percent fresh duckweed. Feeding was at 3 percent /body weight/day. At the beginning, fish weight was 55.00±5.00 grams/fish; length was 17.5 ± 0.5 cm. The releasing rate was 80 fishes/square meter in a circle cement pond with 80 centimeter in diameter and water circulation system. Data was collected every 15 days for 60 days. It was found that T₃ had feed conversion ratio at 1.43±0.57 which was better than T₂ and T₁ (1.70±0.76 and 1.82±0.35, respectively) at a statistical significance ($p<0.05$). However, there was no statistical difference in terms of growth rate, specific growth rate, survival rate, efficiency in protein using and nutrition value of fish meat. Meanwhile, carotene pigments in fish meat T₂ and T₃ were 27.12±0.21 and 26.91±1.75 microgram/gram which were more than that of T₁ (7.35±0.56 microgram/gram). Production costs of T₃ was 37.96±1.20 Baht/kilogram which was better than that of T₂ and T₁(41.37±1.09 and 43.45±0.69 Baht /kilogram)at a statistical significance ($p<0.05$). Water quality of each experiment had no statistical difference. It could be concluded that using 25 percent protein pellet with fresh duckweed (T₂ and T₃) for African sharptooth catfish production could make feed conversion ratio, carotene pigment in fish meat, and production cost which were better than using 25 percent pellet and feeding 100 percent (T₁).

Keywords: *Clarias gariepinus*, Pellet feed, Duckweed, growth, fish production cost

บทนำ

ปลาดุกกรัสน้ำจืด African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) ที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา เป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีความต้านทานโรคและทนต่อการเปลี่ยนแปลงต่อสภาพแวดล้อมสูง ปลาดุกกรัสน้ำจืดกินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous) สามารถกินอาหารได้หลายชนิด (FAO, 2014) ทั้งอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด และอาหารผสมที่เกษตรกรผลิตขึ้นเอง เพราะปลาดุกกรัสน้ำจืดเลี้ยงง่าย ทนทานต่อโรค และมีการเจริญเติบโตเร็วใช้เวลาเลี้ยงเพียง 2-3 เดือนจะได้ขนาดที่ตลาดต้องการ (Department of Fisheries, n.d.) ปลาดุกกรัสน้ำจืดเป็นปลาเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งที่ตลาดต้องการสูงของเนื้อปลาดุกสีเหลือง จึงจะนำมารับประทาน จึงมีนักวิจัยคิดค้นคว้า พืช และ สาหร่ายเร่งสีปลาก่อนจำหน่ายสู่ตลาด เช่น สาหร่าย *Spirulina platensis* และ สาหร่าย *Cladophora* sp. โดยพบว่า แคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาดุกกรัสน้ำจืด ที่เลี้ยงในสูตรอาหารผสมสาหร่าย

Cladophora 5 เปอร์เซ็นต์มีค่ามากกว่า อาหารผสมสาหร่าย *S. platensis* 10 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่าย *S. platensis* 5 เปอร์เซ็นต์และอาหารผสมสาหร่าย 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Promya et al., 2011)

ค่าอาหารเป็นต้นทุนหลักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของเกษตรกรซึ่งคิดเป็นต้นทุนมากกว่า 40% ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด (Bhujel, 2011) ฉะนั้นหากผู้เลี้ยงไม่ให้ความสำคัญต่อการให้อาหารสัตว์น้ำ โอกาสที่จะเกิดความล้มเหลวในการเลี้ยงก็จะสูงตามลำดับ อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ วัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมมีราคาแพงสูงขึ้นทุกวัน การเลี้ยงปลาโดยใช้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัทผู้ผลิตซึ่งมีโปรตีน 25-32 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อประมาณ 1.3-1.5 หรืออาจมากกว่าซึ่งเป็นต้นทุนที่ค่อนข้างสูง ทำให้เกษตรกรได้กำไรน้อย จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการลดต้นทุนการผลิตในเรื่องอาหาร ซึ่งเป็นต้นทุนส่วนใหญ่ของการเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยมีการประยุกต์ใช้วัตถุดิบจากพืชชนิดต่าง ๆ ที่มีในท้องถิ่นเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารปลา

แหนเบ็ด จัดเป็นพืชน้ำที่เจริญขึ้นเองตามธรรมชาติที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง Rusoff et al. (1980) รายงานว่า แหนเบ็ดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีองค์ประกอบของโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นสูง มีปริมาณโปรตีนประมาณ 20 – 40 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยประมาณ 4 – 6 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระอยู่อย่างสมบูรณ์ (William et al., 1978) แหนเบ็ดนิยมนำไปตากแห้งทำเป็นปุ๋ย เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์หรือผสมในอาหารของสัตว์ โดยพบว่าผสมแหนเบ็ด 200 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมในอาหารของไก่ไข่ช่วยให้ไข่ไก่มีสีแดงมากขึ้น (Nolan et al., 1997) ซึ่ง William et al. (2009) รายงานการใช้แหนเบ็ดสดกับอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด ที่อัตราส่วน 50 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงปลานิล พบว่าการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกับการให้อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดอย่างเดียว และ Fasakin et al. (1999) พบว่าแหนเบ็ดป่น (*Spirodela polyrrhiza*) สามารถใช้ทดแทนอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารทั้งหมดที่ใช้เลี้ยงปลานิล La-ongpant and Klaykaew (2014) ศึกษาประสิทธิภาพในการใช้บำบัดน้ำเสีย พบว่าในระยะเวลา 100 วัน แหนเบ็ดเล็กสามารถดูดซับค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) ได้สูงสุดถึง 49.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแหนเบ็ดใหญ่และใช้น้ำมีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ (เปอร์เซ็นต์) ของค่าปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) สูงสุดคือ 88.46 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันที่ระยะเวลา 21 วัน และแหนเบ็ดใหญ่มีประสิทธิภาพในการนำไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์) ขึ้นไปใช้ในต้นพืช (uptake) สูงสุดคือ 99.17 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 7 วัน

ปัจจุบันรัฐบาลได้มีนโยบายว่าน้ำจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ต้องมีการบำบัดอย่างง่าย ๆ เช่น การพักน้ำในบ่อเพื่อกำจัดธาตุอาหาร และ ของเสียที่มีในน้ำก่อนปล่อยน้ำทิ้งไป เพื่อลดการก่อปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการเลี้ยงโดยมีการนำน้ำจากบ่อเลี้ยงมาบำบัดหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ (Recirculation aquaculture system, RAS) โดยนำน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาผ่านระบบกรองโดยใช้พืชน้ำ กรองน้ำเสียจากปลาเป็นวิธีการที่อาศัยธรรมชาติให้ช่วยเหลือธรรมชาติด้วยตัวเอง โดยการอาศัยพืชช่วยในการกรองหรือฟอกน้ำให้สะอาดขึ้น โดยพืชจะดูดซับธาตุอาหารที่มีอยู่ในน้ำเสียนำไปใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้การใช้พืชกรองน้ำเสียประเภทหญ้าเลี้ยงสัตว์ยังจะได้รับผลประโยชน์ในการนำไปใช้ให้เป็นอาหารปลาเพื่อลดต้นทุนได้อีกทางหนึ่ง

ดังนั้น การวิจัยผลของการใช้แหวนเปิดสดเสริมกับอาหารสำเร็จรูปในปริมาณที่แตกต่างกันเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์ คุณค่าทางโภชนาการ และต้นทุนการผลิตของปลาดุกรัสเซีย เพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตปลาดุกรัสเซียให้กับเกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การวางแผนการทดลอง

วางแผนทดลองแบบสุ่มตลอดอย่างสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาหารชุดควบคุม (อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหวนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหวนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์

ปล่อยปลาดุกรัสเซียในบ่อทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร จำนวน 9 บ่อ อัตราการปล่อย 80 ตัว/ตารางเมตร โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 55 ± 5 กรัม/ตัว ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง คือเวลา 9.00 น. และ 17.00 น. และให้อาหารปลา 3 เปอร์เซ็นต์/น้ำหนักตัวปลา/วัน บันทึกปริมาณอาหารที่ปลากินทุกวัน ตลอดการทดลอง และตรวจคุณภาพน้ำทุก 15 วัน เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเติบโตของปลา ตามวิธีของ Boyd and Tucker (1992) ได้แก่อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen; DO) ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ค่าไนเตรท-ไนโตรเจน ($\text{NO}_3\text{-N}$) และออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ($\text{PO}_4\text{-P}$)

การเตรียมอุปกรณ์

การเตรียมบ่อเลี้ยงปลา โดยจัดเตรียมบ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร พื้นที่ 0.5 ตารางเมตร จำนวน 9 บ่อ โดยภายในบ่อทดลองจะเติมน้ำสูง 40 เซนติเมตร ส่วนด้านบนปากบ่อใช้ตาข่ายพลาสติกปิดเพื่อป้องกันไม่ให้ปลาดุกรัสเซียกระโดดออกจากบ่อ และมีอุปกรณ์ให้อากาศ ตลอดการทดลอง

การเตรียมบ่อกรองด้วยพืชน้ำ จัดเตรียมบ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร จำนวน 18 บ่อ โดยแต่ละการทดลองมีบ่อกรอง 2 บ่อมีทั้งหมด 9 ชุดการทดลองภายในบ่อจะเติมน้ำสูง 40 เซนติเมตรและใส่แหวนเปิดสด 100 กรัมต่อบ่อ

การเตรียมบ่อกรองชีวภาพ จัดเตรียมถังพลาสติก 100 ลิตร ภายในบรรจุใยกรอง ไบโอบอลและหินพัมมิส เพื่อกรองตะกอนหยาบและกำจัดแอมโมเนียก่อนปล่อยน้ำลงสู่บ่อเลี้ยงด้วยปั้มน้ำขนาด 9 วัตต์

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลาตุกรัสเซียจากฟาร์มเลี้ยงในอำเภอเมือง จังหวัดแพร่ จำนวน 360 ตัว มีขนาดน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 50 ± 5 กรัม นำมาพักเพื่อให้ปรับตัวในบ่อทดลองด้วยความหนาแน่น 80 ตัว/ตารางเมตร หรือ 40 ตัว/บ่อ ปรับสภาพลูกปลาตุกรัสเซียให้คุ้นเคยกับสภาพอาหารที่ใช้ทดลองโดยให้ลูกปลาตุกรัสเซียกินอาหารปลาทั่วไปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหาร 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง คือเวลา 9.00 น. และ 17.00 น. จนลูกปลาตุกรัสเซียทดลองคุ้นเคยและยอมรับอาหารแล้ว จึงสูมน้ำและซังวัดน้ำหนักลูกปลาตุกรัสเซียเริ่มต้นการทดลอง จากนั้นนำลูกปลาตุกรัสเซียลงบ่อทดลองตามอัตราที่กำหนด และเริ่มการทดลองต่อไป

การเตรียมแหนเป็ด

นำแหนเป็ดเพาะเลี้ยงขยายในบ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 เซนติเมตร จำนวน 10 บ่อ โดยใช้ปุ๋ยมูลไก่ไข่ 9 กิโลกรัมละลายในน้ำ 300 ลิตรนาน 7 วัน ก่อนนำมาเติมในบ่อเลี้ยง โดยเติมน้ำปุ๋ย 7 ลิตร/วัน ใส่แหนเป็ดเริ่มต้น 30 เปอร์เซ็นต์ รอคจนแหนเป็ดขยายเต็มบ่อภายใน 3-5 วัน (Buranarom, 2000) เก็บเกี่ยวผลผลิตของแหนเป็ดในรูปสดทุกๆ วัน นำไปเป็นอาหารปลาและนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารปลาสำเร็จรูปชนิดเม็ดที่มีระดับโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหาร 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 9.00 น. และ 17.00 น. โดยทำการปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก ๆ 15 วัน ในแต่ละบ่อของแต่ละชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดลอง 60 วัน

นำอาหารปลาและแหนเป็ดมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย ใย ความชื้น และ คาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ (AOAC, 1990) ดังแสดงใน (Table 1)

Table 1 Proximate compositions (% dry weights) of commercial diet and fresh duckweed

Parameters	commercial diet	fresh duckweed
Fat (%)	7.67 \pm 0.23	5.17 \pm 0.38
Fiber (%)	6.82 \pm 0.88	5.50 \pm 1.64
Protein (%)	24.56 \pm 1.97	24.30 \pm 1.22
Ash (%)	12.35 \pm 0.08	18.05 \pm 0.40
Moisture (%)	8.32 \pm 0.03	10.14 \pm 0.02
Carbohydrate (%)	40.28 \pm 1.71	36.84 \pm 0.89

การเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาการเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 15 วัน เพื่อทราบน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น โดยการสุ่มปลา 30 เปอร์เซนต์ หรือ 12 ตัว/บ่อ แล้วหาค่าเฉลี่ย เก็บข้อมูลนำไปปรับปริมาณอาหารที่ให้ เพื่อให้สอดคล้องกับน้ำหนักปลาทดลองที่เพิ่มขึ้น ประเมินค่าอัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG) น้ำหนักเพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; SGR) อัตราการรอด (survival rate) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio; PER) และต้นทุนการผลิตปลาดูกรัสเซีย นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละค่าเพื่อใช้ในการคำนวณ ดังนี้

$$1. \text{ อัตราน้ำหนักเพิ่มขึ้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น})}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

$$2. \text{ ความยาวที่เพิ่มขึ้น (\%)} = \frac{(\text{ความยาวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{ความยาวปลาเริ่มต้น})}{\text{ความยาวปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

$$3. \text{ อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG; กรัม/ตัว/วัน)}$$

$$\text{ADG} = \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มทดลอง}}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง}}$$

$$4. \text{ อัตราเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate, SGR ;เปอร์เซนต์/วัน)}$$

$$\text{SGR} = \frac{\ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาเลี้ยง(วัน)}} \times 100$$

$$5. \text{ อัตราการรอดตาย (Survival Rate; \%)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่สิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาที่เริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

$$6. \text{ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Food Conversion Ratio, FCR)}$$

$$\text{FCR} = \frac{\text{จำนวนน้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$7. \text{ ประสิทธิภาพในการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Rate; หน่วย)}$$

$$\text{PER} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กิน}}$$

$$8. \text{ ต้นทุนการผลิตปลาดูกรัสเซีย} = \frac{\text{ค่าอาหาร} + \text{ค่าพันธุ์ปลา} + \text{ค่าไฟฟ้า}}{\text{น้ำหนักรวมปลา}}$$

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลาและแคโรทีนอยด์ในตัวปลา

สุ่มตัวอย่างอาหารปลาไปผ่านกระบวนการทำแห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ความชื้น คาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1990) และปริมาณแคโรทีนอยด์ตามวิธีของ (Foss *et al.* 1984) ดังแสดงใน (Table 3)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลของการใช้แทนเปิดสดต่ออัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราการรอดตาย ต้นทุนในการผลิตปลา ปริมาณแคโรทีนอยด์ องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร และคุณภาพน้ำ แต่ละหน่วยทดลองโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองโดยวิธี Turkey's-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโต แคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา และต้นทุนการผลิตปลา

1.1 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) เมื่อเริ่มต้นทดลองน้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกรัสเซียอยู่ระหว่าง 55 ± 5 กรัม/ตัว โดยปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแทนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยดีกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแทนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Fig.1)

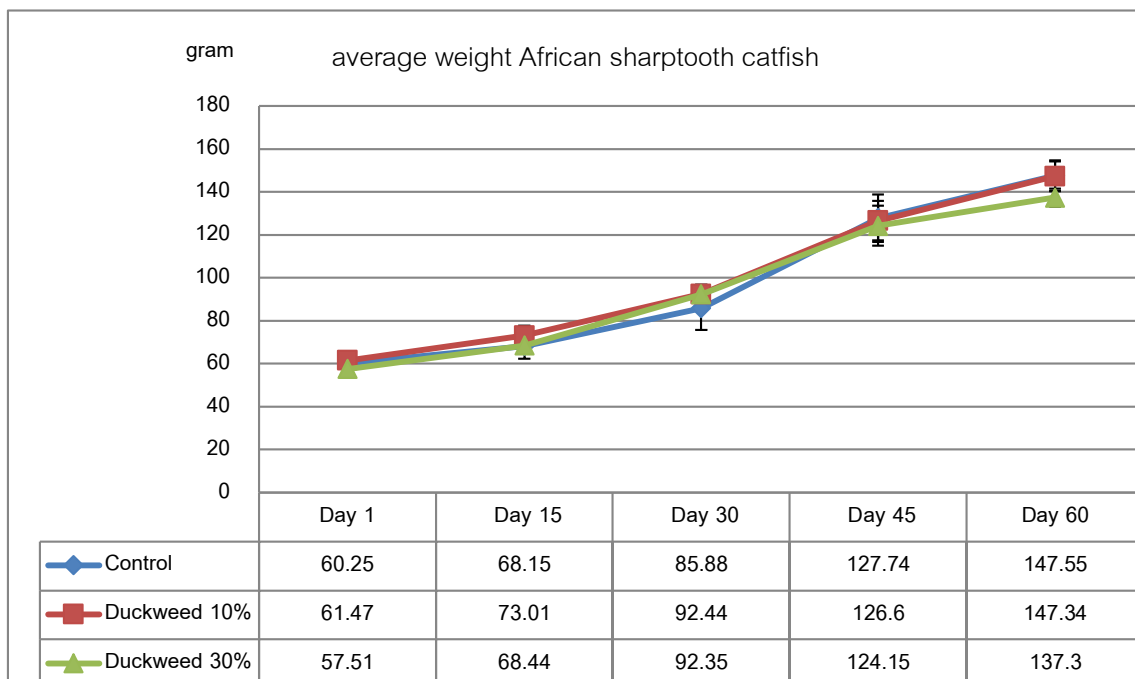


Figure 1 Average weight (g/fish) of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) experimental period for 60 days

1.2 อัตราการแลกเนื้อ (Feed Conversion Rate ;Units) อัตราการแลกเนื้อของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.43 ± 0.57 ดีกว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 2)

1.3 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio; Units) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ และปลาดุกรัสเซียที่กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 2.05 ± 0.19 , 2.19 ± 0.21 และ 2.34 ± 0.12 หน่วยตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

1.4 อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG; กรัม/ตัว/วัน) อัตราการเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.57 ± 0.12 และ 1.56 ± 0.11 (กรัม/ตัว/วัน) ตามลำดับ ดีกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 1.41 ± 0.08 (กรัม/ตัว/วัน) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

1.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; เปอร์เซ็นต์/วัน) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25% ให้ปลากิน 90% กับแหนเปิดสด 10% มีค่าเท่ากับ 157.49 ± 11.46 เปอร์เซ็นต์/วันและ 155.76 ± 11.52 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ มีค่ามากกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 140.99 ± 7.11 เปอร์เซ็นต์/วัน และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

1.6 อัตราการรอดตาย (Survival Rate; เปอร์เซ็นต์) อัตราการรอดตายของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทั้ง 3 สูตร มีค่าอยู่ระหว่าง 98.33 ± 2.89 – 100 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

1.7 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain; เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 173.46 ± 14.55 เปอร์เซ็นต์ และ 171.33 ± 17.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีค่ามากกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 160.62 ± 9.93 เปอร์เซ็นต์และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

1.8 ความยาวที่เพิ่มขึ้น (Length; เปอร์เซ็นต์) ความยาวที่เพิ่มขึ้นของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้

ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 41.52 ± 3.51 เปอร์เซ็นต์ และ 40.05 ± 1.28 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีค่ามากกว่าปลาตุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 37.22 ± 0.16 เปอร์เซ็นต์และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2)

1.9 ต้นทุนการผลิตปลา (Production variable costs; บาท/กก.) ต้นทุนการผลิตปลาของปลาตุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 37.96 ± 1.20 บาท/กก. ซึ่งดีกว่า ปลาตุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์และปลาตุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 41.37 ± 1.09 และ 43.45 ± 0.69 บาท/กก. ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 2)

Table 2 Growth performance and Production variable costs of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) experimental period for 60 days

Parameters	Control	Duckweed 10%	Duckweed 30%
Feed Conversion Rate (Units)	1.82 ± 0.35^a	1.70 ± 0.76^a	1.43 ± 0.57^b
Protein Efficiency Ratio (Units)	2.05 ± 0.19^{ns}	2.19 ± 0.21^{ns}	2.34 ± 0.12^{ns}
Average Daily Growth (g/fish/day)	1.57 ± 0.12^{ns}	1.56 ± 0.11^{ns}	1.41 ± 0.08^{ns}
Specific Growth Rate (%/day)	157.49 ± 11.46^{ns}	155.76 ± 11.52^{ns}	140.99 ± 7.11^{ns}
Survival Rate (%)	98.33 ± 2.89^{ns}	99.17 ± 1.44^{ns}	100.00 ± 0.00^{ns}
Weight gain (%)	173.46 ± 14.55^{ns}	171.33 ± 17.15^{ns}	160.62 ± 9.93^{ns}
Length (%)	41.52 ± 3.51^{ns}	40.05 ± 1.28^{ns}	37.22 ± 0.16^{ns}
Production variable costs	43.45 ± 0.69^a	41.37 ± 1.09^a	37.96 ± 1.20^b

Mean \pm S.D. in the same row carrying different superscripts were significantly different ($P < 0.05$).

1.10 คุณค่าทางโภชนาการ ของเนื้อปลาตุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3)

Table 3 Proximate analysis and carotenoids of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) experimental period for 60 days

Parameters	Control	Duckweed 10%	Duckweed 30%
Fat (%)	5.69±0.43 ^{ns}	5.89±0.28 ^{ns}	5.18±0.14 ^{ns}
Fiber (%)	5.17±0.22 ^{ns}	5.50±0.37 ^{ns}	5.63±0.34 ^{ns}
Protein (%)	32.01±0.26 ^{ns}	31.63±0.59 ^{ns}	31.40±0.39 ^{ns}
Ash (%)	17.89±0.20 ^{ns}	18.22±0.22 ^{ns}	18.41±0.43 ^{ns}
Moisture (%)	6.57±0.40 ^{ns}	6.69±0.60 ^{ns}	7.34±0.12 ^{ns}
Carbohydrate (%)	24.18±1.89 ^{ns}	24.25±1.52 ^{ns}	23.19±1.55 ^{ns}
Carotenoids (mg/g fish)	7.35±0.56 ^a	27.11±0.21 ^b	26.90±1.75 ^b

Mean ± S.D. in the same row carrying different superscripts were significantly different ($P < 0.05$).

1.11 **แคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา** (mg/g fish) ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 90 เปอร์เซ็นต์กับแหนเบ็ดสด 10 เปอร์เซ็นต์และ อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ให้ปลากิน 70 เปอร์เซ็นต์กับแหนเบ็ดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 27.11±0.21 และ 26.90±1.75 mg/g fish มากกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 7.35±0.56 mg/g fish และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 3)

2. **คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี** อุณหภูมิของน้ำ มีค่าตั้งแต่ 27.02±0.67 ถึง 27.20±0.77 °C ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าตั้งแต่ 7.37±0.15 ถึง 7.46±0.40 ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen) มีค่าตั้งแต่ 5.88±0.36 ถึง 6.06±0.53 mg/L แอมโมเนีย (ammonia; $\text{NH}_3\text{-N}$) มีค่าตั้งแต่ 0.33±0.01 ถึง 0.47±0.01 mg/L ไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-nitrogen; $\text{NO}_3\text{-N}$) มีค่าตั้งแต่ 0.13±0.02 ถึง 0.15±0.01 mg/L และออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (Orthophosphates-phosphorus) มีค่าตั้งแต่ 2.21±0.35 ถึง 2.36±0.42 mg/L ทั้ง 3 ชุด การทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองผลของการใช้แหนเบ็ดสดกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณแตกต่างกัน พบว่าอัตราการแลกเนื้อของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเบ็ดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.43±0.57 ดีกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์กับแหนเบ็ดสด 10 เปอร์เซ็นต์ และอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์(ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 1.70±0.76 และ 1.82±0.35 และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) แตกต่างจากงานของ Nandini and Patra (2012) ที่เลี้ยงปลาดุกด้วยอาหารผสมแหนเบ็ดปนทดแทนปลาป่นที่ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้แหนเบ็ดเล็กทดแทนปลาป่นที่ 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกเนื้อไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ซึ่ง Al-Asgah *et al.* (2015) ได้ใช้สาหร่ายผสมนาง

ทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลาตุกรัสเซีย ที่ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยการใส่สาหร่ายผสมนางทดแทนปลาป่นที่ 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกเนื้อของปลาตุกรัสเซียไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) และ Abdel-Warith *et al.* (2015) ที่ใช้ผักกาดทะเลทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลาตุกรัสเซีย ที่ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยการใส่ผักกาดทะเลทดแทนปลาป่นที่ 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกเนื้อของปลาตุกรัสเซียไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) อาจเป็นเพราะการผสมสาหร่ายในอาหาร ซึ่งการทดลองนี้เป็นการเสริมร่วมกับอาหารเพื่อให้นำไปใช้ได้ง่ายและช่วยลดของเสียในน้ำเลี้ยงปลาตุกรัสเซียได้อีกทางหนึ่งด้วย

ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาสดเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 60 วัน พบว่าปลาตุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 27.11 ± 0.21 ไมโครกรัม/กรัม รองลงมาได้แก่ปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 26.90 ± 1.75 ไมโครกรัม/กรัม และ ปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ (ชุดควบคุม) มีค่า 7.35 ± 0.56 ไมโครกรัม/กรัม ผลการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาตุกรัสเซียที่ทดลอง กล่าวคือ ปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ (ชุดควบคุม) มีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาแตกต่างกับปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ และปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 10 เปอร์เซ็นต์ และปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเปิดสด 30 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับงานของ Promya *et al.* (2011) ที่ปรับปรุงคุณภาพเนื้อปลาตุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายสไปรูลิना และสาหร่ายไก่อ นำสาหร่ายมาผสมในอาหาร 4 สูตรดังนี้ อาหารผสมสาหร่าย 0 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่าย *Spirulina platensis* 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่าย *S. platensis* 10 เปอร์เซ็นต์ และ อาหารผสมสาหร่าย *Cladophora* sp. 5 เปอร์เซ็นต์ นำอาหารผสมเลี้ยงปลาตุกรัสเซียในบ่อดิน ขนาดพื้นที่บ่อ 30 ตารางเมตร/บ่อ จำนวน 12 บ่อ อัตราการปล่อย 10 ตัว/ตารางเมตร ระยะเวลาในการเลี้ยง 60 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า แคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาตุกรัสเซีย ที่เลี้ยงใน สูตรอาหารผสมสาหร่าย *Cladophora* 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากกว่า อาหารผสมสาหร่าย *S. platensis* 10 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่าย *S. platensis* 5 เปอร์เซ็นต์ และ อาหารผสมสาหร่าย 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีการทดลองใช้สไปรูลิनाสดเลี้ยงปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ที่มีอัตราการผสมแตกต่างกันพบว่า ในหน่วยทดลองที่ได้รับส่วนผสมของสไปรูลิनाสด มีอัตราการรอดตายและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิनाสดทำให้คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณแคโรทีนอยด์ (Total carotenoid) ในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นตามลำดับของสาหร่ายสไปรูลิनाสดที่ผสมในอาหาร (Promya *et al.*, 2006) เช่นเดียวกับการทดลองใช้แคโรทีนอยด์เสริมใน

อาหารต่อคุณภาพเนื้อของปลาตกคอกอเมริกัน พบว่าชุดที่เสริมแคลโรทีนอยด์ในอาหารมีสีเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม (Menghe *et al.*, 2009)

ต้นทุนการผลิตปลาของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 70 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเบ็ดสด 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 37.96 ± 1.20 บาท/กิโลกรัมซึ่งดีกว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเบ็ดสด 10 เปอร์เซ็นต์ และปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ (ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 41.37 ± 1.09 และ 43.45 ± 0.69 บาท/กิโลกรัมตามลำดับและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวที่เพิ่มขึ้นของปลาดุกรัสเซีย ที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน 90 เปอร์เซ็นต์ กับแหนเบ็ดสด 10 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับชุดควบคุมและ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) คล้ายกับการศึกษาของ Buranarom (2000) ทดลองใช้อาหารผสมสาหร่ายไค 0, 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 4 สูตรเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไค 3 เปอร์เซ็นต์ มีต้นทุนการผลิตต่ำสุดคือ 40.38 ± 1.75 บาท/กิโลกรัม รองลงมาได้แก่ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไค 0, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีต้นทุนการผลิตเท่ากับ 40.43 ± 3.72 , 42.65 ± 5.61 และ 53.31 ± 7.41 บาท/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่ง Nandini and Patra (2012) พบว่าแหนเบ็ดซึ่งผลิตได้เองหรือหาได้จากธรรมชาติ สามารถนำมาทดแทนอาหารปลาบางส่วนจะช่วยลดต้นทุนการผลิตได้

คุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมด้วยแหนเบ็ดสด และอาหารปลาทั่วไป (ชุดควบคุม) ซึ่งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5-9 ค่า DO ไม่ต่ำกว่า 5 mg/l มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Boyd and Tucker, 1992) $\text{NH}_3\text{-N}$ ไม่เกิน 3 mg/l. $\text{NO}_3\text{-N}$ มีค่าไม่เกิน 1 mg/l. (FAO, 2015) และ $\text{PO}_4\text{-P}$ มีค่า 1.89-2.68 mg/l. มากกว่าค่ามาตรฐาน หากแหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงเกินกว่า 0.01 mg/L จัดว่าแหล่งน้ำนั้นมีอาหารธรรมชาติมากเกินไป และแหล่งน้ำที่มีปัญหาหมอกภาวะจะมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงกว่า 0.6 mg/L อย่างไรก็ตามปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำไม่ได้เป็นมลพิษที่จะทำอันตรายต่อสัตว์น้ำ เพียงแต่เป็นตัวการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแหล่งน้ำ เนื่องจากการเจริญเติบโตของพืชน้ำ และเป็นเครื่องแสดงให้เห็นถึงความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารในแหล่งน้ำนั้น ในการควบคุมและป้องกันปัญหาเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำจึงได้กำหนดมาตรฐานไว้โดยไม่ควรมีปริมาณฟอสฟอรัสเกิน 0.03 mg/L (Mangumphan, 2014: online)

สรุปผล

การทดลองในครั้งนี้สรุปได้ว่าการใช้แหนเบ็ดสดเสริมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 25% ที่ปริมาณ 10% และ 30% ในการผลิตปลาดุกรัสเซียทำให้ปลามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับการใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปอย่างเดียว โดยมีอัตราการแลกเนื้อ สารสีแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา ดีกว่าการใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป ให้ปลาดุก

ร้สเขียกินเพียงอย่างเดียวและต้นทุนการผลิต ต่ำกว่าการใช้อาหารอาหารเม็ดสำเร็จรูปให้ปลาตุกรร้สเขียกินเพียง
 อย่งเดียว อย่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สภาวิจัยแห่งชาติ (สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้) และ
 คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ที่ให้ทุนสนับสนุน และสถานที่
 ทำการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Warith, A.-W.A., Younis, E.M. and Al-Asgah, N.A. Potential use of green macroalgae *Ulva lactuca* as a feed supplement in diets on growth performance, feed utilization and body composition of the African catfish, *Clarias gariepinus*. Saudi Journal of Biological Sciences (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.11.010>
- Al-Asgah, N.A., Younis, E.M., Abdel-Wahab A., Abdel-Warith. and Shamlol, F.S. 2015. Evaluation of red seaweed *Gracilaria arcuata* as dietary ingredient in African catfish, *Clarias ariepinus*. Saudi Journal of Biological Sciences. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.11.006>
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington DC.
- Bhujel, R.C. 2011. Tilapia farming faces expansion issue in Thailand. Global Aquaculture Advocate: 16-18 (May/June).
- Boyd, C.E. and Tucker, C.S. 1992. Water quality and pond soil analysis for aquaculture. Alabama: Auburn University.
- Buranarom, K. 2000. Education and duckweed to improve the nutritional quality of the food in small pigs. Theses. Khonkaen University.
- Department of Fisheries (n.d.). Aquaculture Hybrid Catfish (*C. macrocephalus* x *C. gariepinus*). [Online] Available from www.fisheries.go.th/if-ubon/web2/images/download/pladook.pdf (2013, October 4)
- E.A. Fasakin. 1999. Nutrient quality of leaf protein concentrates produced from waterfern (*Azolla africana* Desv) and duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L.Schleiden). Bioresource Technology 69, Pages 185-187
- FAO-FIES, 2014. Aquaculture resources State of world aquaculture. Retrieved from http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Clarias_gariepinus/en

- Foss, P.T. Storebakken, K. Schiedt, S. Liaaen-Jensen, E Austreng and K. Streiff. 1984. Carotenoid in diets for salmois I: Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture* 41: 213-226.
- Mangumphan, K. Subjects of Aquaculture. [Online] Available from <http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning47/section2/fa301/Lession/lesson10.htm> [2014, January 9]
- Menghe H.L., Robinson E.H., Tucker C.S., Manning B.B., Khoo L. 2009. Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 292: 232–236.
- Nandini. P. and Patra. A.K. 2012. Partial Replacement of Fishmeal With *Lemna Minor* Leaf Meal On The Growth Performance of *Clarias Batrachus*. *International Journal of Sustainable Development and Green Economics (IJSDEG)*, ISSN. No. 2315-4721, Vol-1 Iss-1
- Nolan. J. V., Bell. R. E., Thomson. E., Bremner. D. and Ball. W. 1997. Duckweed (*Spirodela punctate*) as a protein and pigment source in diets for layers. Department of Animals Science, University of New England, Armidale. NSW.2351.
- La-ongpant N. and Klaykaew A. The use of floating plants to improve water quality. Office of Research and Development. [Online] Available from <http://www2.rid.go.th/research/vijais/index.php?option=comcontent&view=article&id=263:2013-02-19-00-47-13&catid=41:science&Itemid=167> [2014, April 25]
- Promya, J. Ungsethaphand T., and Saton K., 2011. The effects of *Spirulina platensis* fresh growth. nutrition and carotenoids. of red tilapia (*Oreochromis sp.*). Fisheries Conferences 1st Chaingmai. Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University. 110.
- Promya, J. and Chitmanat C, 2011. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). *Int. J. Agric. Biol.*, 13: 77–82
- Rusoff, L. L., E. W. Blakney and D. D. Culley. 1980. Duckweeds (Lemnaceae Family): A Potential Source of Protein and Amino Acids. *J. Agric. Food Chem.* 28:848-50.
- William Brewer, Christine Brittain, Anna Carroll, Christopher Dorsa, Anneke Heher, Sarah Kistner, Connor Ventling. 2009. Alternative Feeds for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in an Aquaponics System. [Online] Available from <http://www.fishconserve.org/arcel/admin/uploads/FPLP109.pdf> [2013, October 10]
- William S., Hillman., Culley Jr. and Dudley D. 1978. The use of duckweed. *Am. Sci.* 66, 442-451.

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ
ระบบเอนไซม์กลูต้าไธโอนในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

Partial nucleotide sequences and expression of genes involving to glutathione
enzyme system in the Asian sea bass (*Lates calcarifer*)

รชานิมุข หิรัญสัจจาเลิศ¹ ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาม² ศรีภาพรรณ ธาระนารถ¹ ชลมาท โอฬารวนิช¹
และกุลจิรา ญานวัฒน์¹

Rachanimuk Hiransuchaler¹ Narongsak Puanglarp² Sripapan Tharanat¹ Chonlamard Olanvanitch¹
and Kuljira Yanwatthana¹

¹คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22170

²ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

¹Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus, Chanthaburi 22170

²Center of Excellence for Marine Biotechnology, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

*Corresponding author: rachanimuk@buu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์และการแสดงออกของยีน *glutathione-S-transferase (GST1)* *glutathione peroxidases (GPX1)* *glutathione reductase (GSRX2 และ GSRX3)* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ด้วยเทคนิค RT-PCR และการโคลนยีน และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับข้อมูลในหิ้งสมุดยีนโดยการ BlastX พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GST1* ที่มีระดับการแสดงออกในเหงือก มีขนาด 312 คู่เบส คล้ายกับยีน *GST1* ในปลา Japanese seabream (*Pagrus major*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GPX1* ที่มีระดับการแสดงออกในกระเพาะอาหารและไต มีขนาด 327 คู่เบส คล้ายกับยีน *GPX1* ในปลา Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GSRX2* ที่มีระดับการแสดงออกในเลือด กระเพาะอาหาร ไต และหัวใจ มีขนาด 498 คู่เบส คล้ายกับยีน *GSRX2* ในปลา Bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) และลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GSRX3* ที่มีระดับการแสดงออกในกระเพาะอาหาร ไต หัวใจ และเหงือก มีขนาด 624 คู่เบส คล้ายกับยีน *GSRX3* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) การศึกษาการแสดงออกของยีนใน 9 อวัยวะ (เลือด ตับ ไต หัวใจ เหงือก ผิวหนัง กล้ามเนื้อ กระเพาะอาหาร และลำไส้) ของปลากะพงขาว พบการแสดงออกของยีน *GST1* สูงมากในตับและมีการแสดงออกในกล้ามเนื้อในระดับต่ำมาก ส่วนยีน *GPX1* และยีน *GSRX2* พบการแสดงออกในทุกอวัยวะ โดยมีระดับการแสดงออกสูงที่สุดในกระเพาะอาหาร และเหงือก ตามลำดับ ขณะที่ยีน *GSRX3* มีระดับการแสดงออกของยีนเฉพาะในไตและกระเพาะอาหารในระดับต่ำ

คำสำคัญ : กลูต้าไธโอนเอสทรานสเฟอเรส กลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส กลูต้าไธโอนรีดักเตส ยีน ปลากะพงขาว

Abstract

This study was intended to identify nucleotide sequences and relative expression patterns of gene *glutathione-S-transferase (GST1)* *Glutathione peroxidases (GPX1)* *glutathione reductase (GSRX2 and GSRX3)* in the Asian Sea Bass (*Lates calcarifer*) by using RT-PCR technique and cloning of the PCR product and comparing each sequence with the sequences in the GenBank using the BLASTX program. Partial nucleotide sequences of *GST1*, derived from gills, had 312 base pairs similar to *GST1* in Japanese seabream (*Pagrus major*). *GPX1*, derived from stomach and kidney had 327 base pairs similar to *GPX1* in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*). *GSRX2*, derived from blood, stomach, kidney and heart had 498 base pairs similar to *GSRX2* in Bicolor damselfish (*Stegastes partitus*). *GSRX3*, derived from stomach, kidney, heart and gill had 624 base pairs similar to *GSRX3* in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). According to the identification of gene expression in the different organs of *L. calcarifer* (i.e., blood, liver, kidney, heart, gill, epidermis, muscle, stomach and intestine), the gene expression of *GST1* was highest in the liver and expressed in muscle at the low level. *GPX1* and *GSRX2* expression was found in all organs. In addition, the highest expression level of *GPX1* was found in the stomach, while the highest expression level of *GSRX2* was found in gills. In contrast, the expression level of *GSRX3* was only found in the kidney and stomach at the low level.

Keywords: Glutathione-s-transferases, Glutathione peroxidase, Glutathione reductase, Gene, *Lates calcarifer*

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการส่งออกผลไม้อยู่ในระดับต้นๆ ของโลก โดยปี พ.ศ. 2558 การเกษตรสาขาพืชได้ขยายตัวเพิ่มมากขึ้น 2.2 – 3.2% เมื่อเปรียบเทียบกับเทียบจากปี พ.ศ. 2557 (Office of Agricultural Economics, 2014) และการเพิ่มการผลิตนี้ส่งผลให้มีการใช้สารเคมีและสารกำจัดศัตรูพืชมากขึ้นเช่นกัน การใช้สารเคมีที่มากขึ้นจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมในบริเวณนั้นด้วย ดังนั้น การใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) หรือสิ่งที่เป็นสัญญาณของสิ่งที่จะเกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต หรือตรวจสอบจากร่างกายของสิ่งมีชีวิต เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อน โดยการใช้เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อสารนั้นเป็นเครื่องมือในการติดตามและตรวจวัด เนื่องจากเป็นวิธีการที่สะดวก รวดเร็ว และให้ผลไว ทันทต่อการแก้ไขหรือป้องกัน ดังนั้น biomarker จึงเป็นวิธีที่ดีในการตรวจสอบผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หรือการปนเปื้อน โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidases, GPX1) กลูต้าไธโอน เรดักเตส (glutathione reductase, GSRX2) และกลูต้าไธโอน เอสทรานส์เฟอเรส (glutathione-S-transferase, GST1) เป็นต้น (Carvalho and Abreu,

2013) กลูต้าไธโอน (glutathione) เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่ปกป้องเนื้อเยื่อของอวัยวะทุกส่วนโดยการต่อต้านอนุมูลอิสระ (free radical) ที่สะสมอยู่ตามส่วนต่าง ๆ และกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย ที่สำคัญยังช่วยดับในการทำลายและขจัดสารพิษออกจากร่างกาย เช่น ตัวยาหรือสารพิษที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อรวมตัวกับกลูต้าไธโอนจะช่วยให้ละลายน้ำได้และถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ในที่สุด สารพิษจำพวกโลหะหนักหรือสารกำจัดแมลงสามารถถูกขจัดออกจากร่างกายได้โดยการทำงานของกลูต้าไธโอนร่วมกับตับ นอกจากนี้ กลูต้าไธโอนยังมีหน้าที่สำคัญอีกมากมายในร่างกาย เช่น สังเคราะห์โปรตีน ช่วยให้เม็ดเลือดแดงมีความแข็งแรง ช่วยเร่งการซึมผ่านของสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ช่วยปกป้องดีเอ็นเอของเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดมะเร็ง เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน เสริมสร้างการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ โดย กลูต้าไธโอนเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ 3 ชนิดใหญ่ ๆ คือ GST, GPX และ GSR (Anderson and Davis, 2004) เอนไซม์ GST ทำงานเกี่ยวกับการล้างสารพิษในแหล่งนั้น ๆ เช่น สารก่อมะเร็ง มลพิษสิ่งแวดล้อม และเนื้อร้าย (Hayes and Pulford, 1995) โดยกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาของการเผาผลาญบริเวณเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และเป็นสารที่สำคัญในการกำจัดสารพิษ ส่วน GPX เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเผาผลาญ ไขมัน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถพบได้ในบริเวณที่แตกต่างกันในส่วนของเซลล์และเนื้อเยื่อของร่างกาย โดยการเพิ่มขึ้นของออกซิเจนที่มาจากอนุมูลอิสระ ส่งผลให้เกิดการลดลงของกิจกรรม เอนไซม์ GPX ทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น ซึ่งนำไปสู่การเสียหายของเนื้อเยื่อโดยตรง (Arthur, 2000) ในขณะที่เอนไซม์ GSR มีคุณสมบัติเป็นตัวช่วยในการรีดิวซ์อิเล็กตรอนกลับมาเมื่อมีการถูกออกซิไดซ์ของเอนไซม์ กลูต้าไธโอน ซึ่งการรีดิวซ์ต่อกลูต้าไธโอนในรูปแบบของการออกซิไดซ์นั้นเป็นผลที่ใช้ในการวัดความเป็นพิษได้ (Mandal *et al.*, 2015)

เอนไซม์ GST มีความสามารถในการทำลายสารพิษโดยการเร่งปฏิกิริยาการรวมกันของหมู่ sulfhydryl ของกลูต้าไธโอนกับสารประกอบหลายชนิด มีลักษณะเฉพาะเป็นของเหลวภายในเซลล์ และละลายน้ำได้ กลูต้าไธโอนภายในเซลล์ มากกว่า 98% จะอยู่ในรูปไทออลอิสระ (GSH) และส่วนที่เหลืออยู่ในรูปกลูต้าไธโอนไดซัลไฟด์ (GSSG) และกลูต้าไธโอนเอสคอนจูเกต ในการกำจัดสารพิษที่ผ่านเข้าสู่ร่างกาย เมื่อมีสารเคมี สารพิษ หรือสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายกลูต้าไธโอนจะเข้าจับกับสารพิษ จากนั้น เอนไซม์ GST จะช่วยเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนสารพิษที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ ก่อนที่จะขับออกจากร่างกาย (Tatjana *et al.*, 2009) ส่วนการกำจัดสารอนุมูลอิสระจะมีเอนไซม์ในกลุ่มกลูต้าไธโอน 3 ตัวเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ เอนไซม์ GPX, เอนไซม์ GSR และ GSSG เริ่มต้นจากเอนไซม์ซูเปอร์ไดมิวเตส (Superoxide dismutase) เข้าจับกับอนุมูลอิสระ และเปลี่ยนอนุมูลอิสระไปเป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ จากนั้นเอนไซม์ GPX จะเปลี่ยนไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นน้ำโดยใช้ กลูต้าไธโอนเป็นซับสเตรท (substrate) ซึ่งในขั้นตอนนี้กลูต้าไธโอนจะเปลี่ยนรูปไปเป็น GSSG จากนั้นเอนไซม์ GSR จะรีดิวซ์ GSSG ให้กลับมาอยู่ในรูปของกลูต้าไธโอนอีกครั้ง (de Haan, *et al.*, 1996)

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนและการแสดงออกของยีนกลูต้าไธโอน เอสทรานส์เฟอเรส (*glutathione-S-transferase 1, GST1*) ยีนกลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (*glutathione*

peroxidases 1, GPX1) และยีนกลูตาไธโอนรีดักเตส (glutathione reductase, GSR) ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เพื่อให้เข้าใจโครงสร้างของยีน *GST1, GPX1, GSRX2* และ *GSRX3* ในปลากะพงขาว และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการทำเป็น biomarker เพื่อตรวจสอบการเกิดอนุมูลอิสระจากมลภาวะได้โดยง่ายในอนาคต

วิธีการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างและการสังเคราะห์สารพันธุกรรม

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อของปลากะพงขาว อายุ 4 เดือน น้ำหนัก 0.7 กรัม ที่ปล่อยตามธรรมชาติจากบ่อเก็บน้ำกร่อยธรรมชาติและให้อาหารเม็ดปลาทะเล 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ภายในศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จำนวน 9 อวัยวะ ได้แก่ เลือด ลำไส้ ผิวหนัง กล้ามเนื้อ กระเพาะอาหาร ตับ ไต หัวใจ และเหงือก นำตัวอย่างเนื้อเยื่อทั้ง 9 อวัยวะ น้ำหนักประมาณ 0.1 กรัม มาสกัดอาร์เอ็นเอทั้งหมดโดยใช้ TRI REAGENT® (Molecular Research Center, USA) และ สังเคราะห์ที่ซิงดีเอ็นเอ (first strand cDNA) จากตัวอย่างอาร์เอ็นเอทั้งหมด 1.5 µg โดยใช้ชุด Improm II™ Reversetranscription System (Promega, USA)

2. การออกแบบไพรเมอร์

2.1 ดีเจเนอเรตไพรเมอร์

ออกแบบดีเจเนอเรตไพรเมอร์ในยีน *GST1, GPX1, GSRX2* และ *GSRX3* โดยการค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์จากห้องสมุดยีน (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ซึ่งไม่พบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GST1, GPX1, GSRX2* และ *GSRX3* ในปลากะพงขาว (2 มิถุนายน พ.ศ. 2558 จึงได้ค้นหาในสิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้เคียงกับสิ่งมีชีวิตเป้าหมายและออกแบบดีเจเนอเรตไพรเมอร์จากบริเวณที่มีความเป็น conserved region (Table 1)

2.2 ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปลากะพงขาว

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการโคลนซิงดีเอ็นเอของยีน *GST1, GPX1, GSRX2* และ *GSRX3* จาก การเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ในข้อ 2.1 มาออกแบบไพรเมอร์ของยีน *GST1, GPX1, GSRX2* และ *GSRX3* ที่จำเพาะกับปลากะพงขาว ซึ่งได้ขนาดที่คาดหวังเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเล็กน้อย (Table 2)

Table 1 Degenerate primer sequences of *GST1*, *GPX1*, *GSRX2* and *GSRX3* genes and the expected size of the PCR products.

Primer pairs	Primer names	Sequences (5' → 3')	Estimate product size (bp.)	Closest species	Accession number
1	GST1 F:	ATGGCNAARGAYATGAC	315	<i>Oplegnathus fasciatus</i>	GU938678
		R:		TCRAACATNCKYTGR TACA	<i>Pagrus major</i>
				<i>Siniperca chuatsi</i>	EU719618
				<i>Epinephelus coioides</i>	EU727092
2	GPX1 F:	ATGAACGAGCTCCAYGAGCG	325	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	AY622862.1
		R:		AGRAACTTCTCRAAGTTC CAGG	<i>Fundulus heteroclitus</i>
				<i>Siniperca chuatsi</i>	KJ578922.1
				<i>Sparus aurata</i>	KC201353.1
3	GSRX2 F:	GTKGGWGCWGGHTATATTGC	502	<i>Larimichthys crocea</i>	XM010742105.1
		R:		CACMGACTGTTTGARGGMA	<i>Stegastes partitus</i>
				<i>Oreochromis niloticus</i>	XM0054673 48.1
				<i>Danio rerio</i>	XM005169594.2
4	GSRX3 F:	CGACARACAGGGGKTTG	622	<i>Fundulus heteroclitus</i>	XM_012880012.1
		R:		TGCATCATGAAGMTGGTGT	<i>Poecilia reticulata</i>
				<i>Poecilia formosa</i>	XM007568814.1
				<i>Esox lucius</i>	XM010902607.1

Footnote: .A = Adenine, C = Cytosine, G = Guanine, T = Thymine, R = A or G, Y = C or T, S = G or C, W = A or T, K = G or T, M = A or C, B = C or G or T, D = A or G or T, H = A or C or T, V = A or C or G and N = any base

Table 2 Specific primer sequences of *GST1*, *GPX1*, *GSRX2*, *GSRX3* and *EF-1 α* genes and the size of the PCR products for analysis of the Asian sea bass (*Lates calcarifer*)

Primer names	Sequences (5' → 3')		Exact product size (bp.)
	Forward	Reverse	
<i>GST1</i>	ATGGCCAAAGATATGAC	TTCAGGCATTCTTTGGTACA	312
<i>GPX1</i>	ATGAACGAGCTCCATGAGCG	GAAACTTCTCAAAGTTC CAGG	327
<i>GSRX2</i>	GTTGGAGCTGGTTATATTGC	CACAAACTGTTTGAGAGCA	498
<i>GSRX3</i>	CGACAGACAGGGGTTTTG	TGCATCCTGAAGCTGGTGT	624
<i>EF-1α</i>	ATTGGCGGTATTGGAACGTTT	TTGGGTGGGTCATTCTTGCT	239

Footnote: EF-1 α primers were designed from the nucleotide sequence of *Lates calcarifer* (Accession Number = GQ507427)

3. การโคลนชิ้นดีเอ็นเอจากเทคนิค RT-PCR และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

นำชิ้นดีเอ็นเอจากเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จาก Table 2 และสถานะของปฏิกิริยาถูกโซไฟลิเมอเรส ดัง Table 3 โดยยีน *GST1* ใช้ชิ้นดีเอ็นเอจากเหงือก ยีน *GPX1* ใช้ชิ้นดีเอ็นเอจากกระเพาะอาหารและไต ยีน *GSRX2* ใช้ชิ้นดีเอ็นเอจากเลือด กระเพาะอาหาร ไต และหัวใจ ในขณะที่ยีน *GSRX3* ใช้ชิ้นดีเอ็นเอจากกระเพาะอาหาร ไต หัวใจ และเหงือก แยกชิ้นดีเอ็นเอด้วยชุด Gel and PCR Clean up (MACHERY-NAGEL Germany) หลังจากนั้นนำผลผลิตที่ได้ไปเชื่อมกับดีเอ็นเอพาหะ ด้วยชุด pGEM[®] - T-easy vector (Promega, USA) และนำเข้าสู่แบคทีเรีย *Escherichia coli* สายพันธุ์ JM109 ตามวิธีการมาตรฐาน (Sambrook and Russel, 2001) คัดเลือกแบคทีเรียที่มีดีเอ็นเอสายผสมโดยวิธี white/blue colony และ colony PCR สกัดพลาสมิดดีเอ็นเอด้วยชุด Plasmid Mini Kit I (MACHERY-NAGEL, Germany) ส่งพลาสมิดดีเอ็นเอเพื่อวิเคราะห์ลำดับเบส ณ ห้องปฏิบัติการบริษัท AIT BIOTECH ประเทศสิงคโปร์ และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม BlastX (<http://www.ncbi.nih.gov>)

4. การตรวจสอบระดับการแสดงออกของยีนด้วยวิธี semi-quantitative RT-PCR

ตรวจสอบความจำเพาะเบื้องต้นของไพรเมอร์กับซีดีเอ็นเอ และศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนที่สนใจในอวัยวะของปลากระพงทั้ง 9 อวัยวะ ด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ยีน *elongation factor 1-alpha (EF-1 α)* เป็นยีนควบคุม (internal control) ทำปฏิกิริยาโดยมี first strand cDNA เป็นดีเอ็นเอต้นแบบด้วยชุด OnePCR[™] Plus (Genedirex, Taiwan) โดยมีสถานะของปฏิกิริยาถูกโซไฟลิเมอเรส ดัง Table 3 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีน *GST1*, *GPX1*, *GSRX2* และ *GSRX3* กับยีน *EF-1 α* ด้วยความเข้มของแถบดีเอ็นเอ (band intensity) โดยใช้โปรแกรม Image Lab[™] Software (BIORAD, USA) ในการคำนวณการแสดงออกของยีนเป้าหมาย

$$\text{การแสดงออกของยีนเป้าหมาย} = \frac{\text{ความเข้มแถบดีเอ็นเอของยีนเป้าหมาย}}{\text{ความเข้มแถบดีเอ็นเอของ } EF-1\alpha}$$

Table 3 The thermal profile for semi-quantitative RT-PCR

	<i>EF-1α</i>	<i>GST1</i>	<i>GPX1</i>	<i>GSRX2</i>	<i>GSRX3</i>
Initial denaturation	94°C, 5 min	94°C, 5 min	94°C, 5 min	94°C, 5 min	94°C, 5 min
Denaturation	94°C, 30 sec	94°C, 30 sec	94°C, 30 sec	94°C, 30 sec	94°C, 30 sec
Primer annealing	50°C, 45 sec	48°C, 45 sec	55°C, 45 sec	50°C, 45 sec	50°C, 45 sec
Extension	72°C, 1 min	72°C, 1 min	72°C, 1 min	72°C, 45 min	72°C, 45 min
	25 cycles	35 cycles	25 cycles	30 cycles	30 cycles
Final extension	72°C, 7 min	72°C, 7 min	72°C, 7 min	72°C, 7 min	72°C, 7 min

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนเป้าหมายด้วยดีเจเนอเรตไพรเมอร์

ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GST1*, *GPX1*, *GSRX2* และ *GSRX3* ในปลากะพงขาว ด้วยดีเจเนอเรตไพรเมอร์ โดยเทคนิค RT-PCR และการโคลนยีน พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GST1* มีดีเอ็นเอที่คาดหวังขนาด 315 คู่เบส และมีดีเอ็นเอที่ได้ขนาด 312 คู่เบส (Figure 1) เป็นกรดอะมิโนจำนวน 104 ตัว และมีความคล้ายกับยีน *GST1* ในปลา Japanese seabream (*P. major*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GPX1* มีดีเอ็นเอที่คาดหวังขนาด 325 คู่เบส และมีดีเอ็นเอที่ได้ขนาด 327 คู่เบส (Figure 2) เป็นกรดอะมิโนจำนวน 109 ตัว มีความคล้ายกับยีน *GPX1* ในปลา Chinese perch (*S. chuatsi*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GSRX2* มีดีเอ็นเอที่คาดหวังขนาด 502 คู่เบส และมีดีเอ็นเอที่ได้ 498 คู่เบส (Figure 3) เป็นกรดอะมิโนจำนวน 166 ตัว มีความคล้ายกับยีน *GSRX2* ในปลา Bicolor damselfish (*S. partitus*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GSRX3* มีดีเอ็นเอที่คาดหวังขนาด 622 คู่เบส และมีดีเอ็นเอที่ได้ 624 คู่เบส (Figure 4) เป็นกรดอะมิโนจำนวน 208 ตัว มีความคล้ายกับยีน *GSRX3* ในปลานิล (*O. niloticus*) (Table 4)

A

```

1 AGGCATTCTTTGGTACATCATTGCCTGCTCAGCGGGGCGAGTCGGGGGTCAGCTTGTTCCTGGGACTTGAAGCTG
76 GCTCTCCAGGTACATGCAGGCACCGTAGGACTCGTTTCAGGACAAAGTTCCCATGTTTGAAGGCAGGAAGCTGTCC
151 CCTGGGATTCATTTTCATGACTTCTGGGGACTTGTGCTCCATTTTCTCAGAGGAGAGCAGTTTTTGGTTGTAGCC
226 CTGGAGGTTCTTCTCCTCCAGGGCGATTATCACCTCCAGCAGGGAGGAGAGCCGGAGCCCCAGAGAAGAGTCAT
301 ATCTTTGGCCAT

```

B

glutathione-S-transferase, partial [*Pagrus major*]
Sequence ID: gb|AAP20174.1|Length: 180Number of Matches: 1
Range 1:1 to 103GenPeptGraphics

	Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
	194 bits (492)	1e-61	Compositional matrix adjust.	91/103(88%)	96/103(93%)	0/103(0%)	-1
Query	312	MAKDMTLLWGSPPCWRVIIALEEKNLQGYNQKLLSSEKMEHKSPEVMKMNPRGQLPAF					133
		MAKDMTLLWGSPPCWRV+I LEEKNL+GYNQKLLS EKMEHKS EVMKMNPRGQLPAF					
Sbjct	1	MAKDMTLLWGSPPCWRVMITLLEKNLKGYNQKLLSFEKMEHKSDEVKMNPRGQLPAF					60
Query	132	KHGNFVLNESYGACMYLESQFKSQGNKLTDPDPAEQAMMYQRM		4			
		KHG+VLNESY AC+YLE+QFKSQGNKL PDCPAE AMMYQRM					
Sbjct	61	KHGDKVLNESYAACLYLENQFKSQGNKLVDPDPAELAMMYQRM		103			

Figure 1 The partial nucleotide sequences of *GST1* transcript of *L. calcarifer* (A) and result from BlastX indicating similarity between *L. calcarifer* and *Pagrus major* (B).

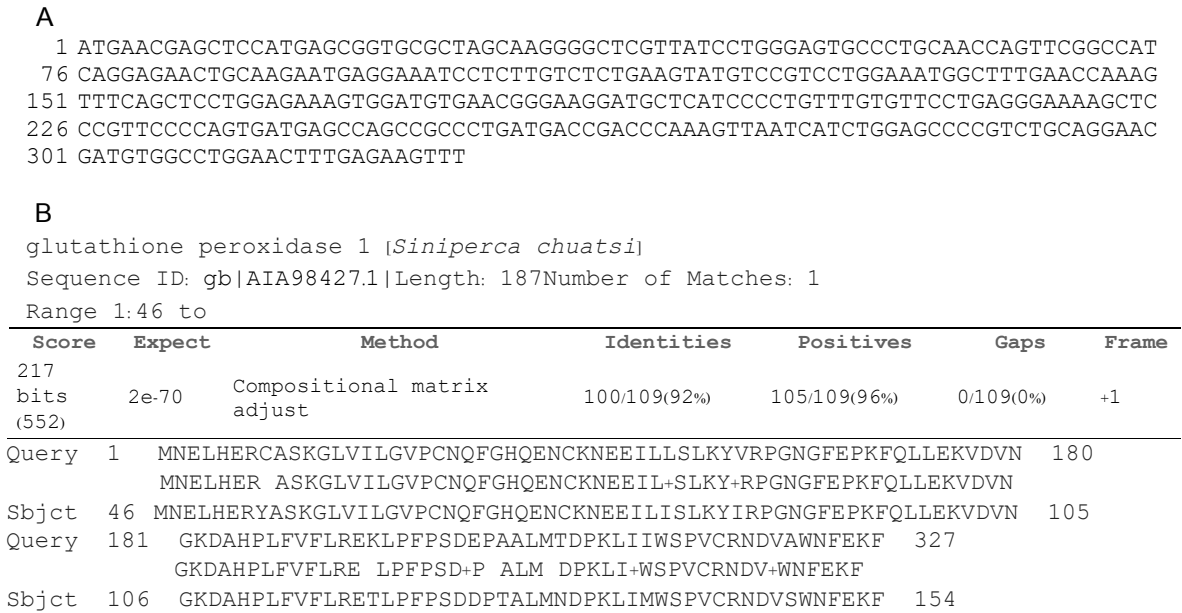


Figure 2 The partial nucleotide sequences of *GPX1* transcript of *L. calcarifer* (A) and result from BlastX indicating similarity between *L. calcarifer* and *Siniperca chuatsi* (B).



Figure 3 The partial nucleotide sequences of *GSRX2* transcript of *L. calcarifer* (A) and result from BlastX indicating similarity between *L. calcarifer* and *Stegastes partitus* (B).

A
 1 CGACAGACAGGGGTTTTGAGGAACTTTGACAGCTTCATAAGCACAAACTGCACCAAAGAGCTGCAGAACTCTGGC
 76 ATAGACTTGTGGAAGAACAACACTCAGGTGAGGTCTGTGCGTAAAATGGACCAAGGTCTGGAGGTGACGCTCGTCACC
 151 AAAGACCCGGAGAAGAAGAACGACGAGGAGAAGATCAGCACCATTTCAGGAGGTGGACTGCTTCTCTGGGCCATC
 226 GGCAGGCAGCCAAACACCTCTGGACTGGACATTGGCGAGATGGGTGTGGATACAGATGAAAAGAGGCCATATCATT
 301 GTAGATGAGTTTCAGAACACCACTCGATCAGGGATCTACGCCGTAGGAGACGTTTGTGGCAAAGCTCTTCTCACA
 376 CCTGTTGCCATTGCTGCAGGCAGAAAGCTGGCACACAGACTGTTTGGAGGCAAGAAGGACTCCAAGCTGGACTAC
 451 TCCAGTATTCCCACAGTGGTGTTCAGCCACCCACCCATTGGTACAGTGGGCCTCACAGAAGACGAGGCCATTAAA
 526 TCTAGAGGAAAGGAGAATGTGAAGATTTACAAGACTTCTTTCACCCCGACGTATCACGCCATCACAGCAGGAAG
 601 AGTCAGTGCATCCTGAAGCTGGTG

B
 PREDICTED: glutathione reductase, mitochondrial isoform X3 [*Oreochromis niloticus*]
 Sequence ID: ref|XP_005467405.1|Length: 413Number of Matches: 1
 Range 1:150 to 357GenPeptGraphics

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
404 bits (1037)	3e-139	Compositional matrix adjust.	191/208(92%)	202/208(97%)	0/208(0%)	+1
Query	1	RQTGVLNRNFD	SFISTNCTKELQNSGIDLWKN	TQVRSVRKMDQGLEVTLVTKDPEKKNDEE		180
Sbjct	150	RQTGVLNRNFDAFISANCTKELQNSGIDLWKN	SQVKS	SVSKTDKGLEVTVVTKDPEKKNDEE		209
Query	181	KISTIQEVDCLLWAIGRQPNTSGLDIGEMGVD	TDERGHIIIVDEFQNTSRSGIYAVGDVCG			360
Sbjct	210	KISTIQGVDCLLWAIGRQPNTAGLNI	GEMGVD	TDERGHIIIVDEFQNTSRSGIYAVGDVCG		269
Query	361	KALLTPVAIAAGRKL	LAHRLFEGKKDSKLDYSSIPTVVF	SHPPIGTVGLTEDEAIKSRGKE		540
Sbjct	270	RALLTPVAIAAGRKL	LAHRLFEGKKDSKLDYTCIPTVVF	SHPPIGTVGLTEDEAIKTRGKE		329
Query	541	NVKIYKTSFTP	YHAITSRKSQCI+KLV			624
Sbjct	330	NVKIYKTSFTP	MPYHAITSRKSQCIMKLV			357

Figure 4 The partial nucleotide sequences of *GSRX3* transcript of *L. calcarifer* (A) and result from BlastX indicating similarity between *L. calcarifer* and *Oreochromis niloticus* (B).

Table 4 Summary of the nucleotide sequence blast results comparing with the nucleotide sequences submitted in Genbank.

Genes	Organs	Product sizes (bp)	Number of amino acids	BlastX			%similarity
				Similar transcripts	Species	Similar nucleotide position	
<i>GST1</i>	gill	312	104	<i>GST1</i>	<i>Pagrus major</i>	1-103	93
<i>GPX1</i>	kidney and stomach	327	109	<i>GPX1</i>	<i>Siniperca chuatsi</i>	47-155	96
<i>GSRX2</i>	blood, kidney, heart and stomach	498	166	<i>GSRX2</i>	<i>Stegastes partitus</i>	127-290	96
<i>GSRX3</i>	kidney, heart stomach and gill	624	208	<i>GSRX3</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	150-357	97

Footnote: 2016, May 30

3. การแสดงออกของยีนในอวัยวะต่าง ๆ ของปลากะพงขาว

จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีนเป้าหมายในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลากะพงขาวด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับปลากะพงขาว (Table 2) พบว่ายีน *GST1* มีการแสดงออกที่ชัดเจนมากในตับและมีการแสดงออกในระดับต่ำมากในกล้ามเนื้อ (Figure 5) โดย Zhang *et al.* (2012) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน *GST* ในหอยอะซารี (*Venerupis philippinarum*) ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการปนเปื้อนของแคดเมียม ทองแดง และ benzo(a)pyrene พบว่า มีการแสดงออกสูงที่สุดในตับเมื่อเปรียบเทียบกับหอยที่เลี้ยงในสภาวะปกติ แสดงให้เห็นว่ายีน *GST* มีความสามารถในการเป็นเครื่องหมายชีวภาพเพื่อระบุผลกระทบจากแคดเมียม ทองแดง และ benzo(a)pyrene ในสัตว์น้ำ และจากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์เต็มยีน *GST* ของหอยสองฝาแอดแลนติก (*Laternula elliptica*) ของ Park *et al.* (2009) เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายชีวภาพในการตรวจสอบสาร Polychlorinated biphenyl พบว่า สามารถทำงานได้จริง ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาลักษณะเฉพาะของยีน *GST* ชนิด Omega Theta และ Zeta ในปลาหมึกลาย (*Dario dario*) พบว่า มีการแสดงออกสูงในตับและเหงือก (Branka *et al.*, 2015)

ยีน *GPX1* พบการแสดงออกในหลายอวัยวะ คือ เลือด ตับ ไต หัวใจ เหงือก ผิวหนัง กล้ามเนื้อ กระเพาะอาหาร และลำไส้ โดยมีการแสดงออกสูงที่สุดในกระเพาะอาหาร (Figure 5) สอดคล้องกับงานของ Malandrakis *et al.* (2013) ที่ศึกษาการแสดงออกของยีน *GPX* ทั้ง 4 ชนิดในปลากะพงยุโรป (*Sparus aurata*) พบว่ามีการแสดงออกสูงในม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้ และสมอง แต่มีการแสดงออกต่ำที่สุดในกล้ามเนื้อ และจากการศึกษาการแสดงออกของยีน *GPX* ในปลาทอง (*Carassius auratus*) ที่ได้รับผลกระทบจากแคดเมียม ในระยะเวลาที่แตกต่างกันที่ 0, 6, 12, 24 และ 36 ชั่วโมง ของ Cheol *et al.* (2007) พบว่า ระดับของยีน *GPX* ในสมอง ตับ ไต และลำไส้ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อได้รับแคดเมียมคลอไรด์ ($CdCl_2$) ในระยะเวลาที่นานขึ้น และจะมีการแสดงออกที่ลดลงหลังจาก 36 ชั่วโมงไปแล้ว

ยีน *GSRX2* มีการแสดงออกในเหงือก กระเพาะอาหาร หัวใจ ลำไส้ ตับ เลือด ผิวหนัง กล้ามเนื้อ และไต ตามลำดับ (Figure 5) และยีน *GSRX3* มีการแสดงออกในไต และกระเพาะอาหาร (Figure 5) สอดคล้องกับงานของ Minghetti *et al.* (2008) ที่ศึกษาการแสดงออกของยีนกลุ่มต้านอนุมูลอิสระในอวัยวะต่าง ๆ ของปลากะพงทรายแดง (*Sparus aurata*) ที่อาศัยในน้ำที่มีการปนเปื้อนของคอปเปอร์ โดยมีการแสดงออกของยีนที่ตับ เหงือก ไต และลำไส้ ตามลำดับ เมื่อนำผลการแสดงออกของยีนไปวิเคราะห์ความเข้มของแถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับระดับการแสดงออกกับยีน *EF-1 α* ด้วยโปรแกรม Image Lab™ Software ได้ผลสอดคล้องกับตรวจสอบการแสดงออกของยีนเป้าหมาย (Figure 6)

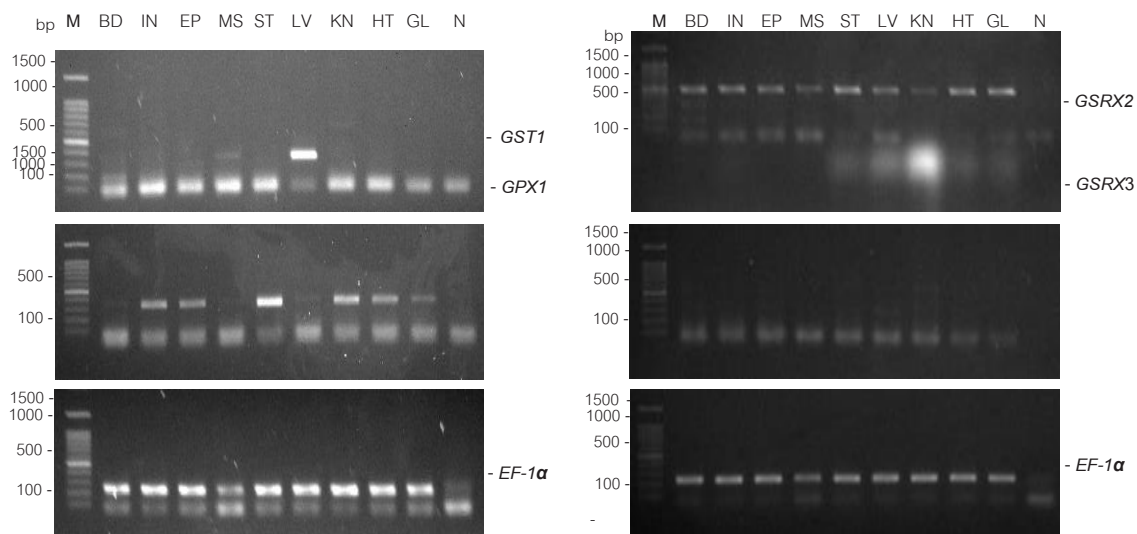


Figure 5 A 1.8% agarose gel showing results from tissue distribution analysis of *GST1* (A), *GPX1* (B), *GSRX2* (C) and *GSRX3* (D) transcripts using the cDNA template from blood (BD), intestine (IN), epidermis, (EP), muscle (MC), stomach (ST), liver (LV), kidney (KN), heart (HT) and gill (GL) of *L. calcarifer*. *EF-1 α* was included as the internal control and successfully amplified from the same cDNA template sample. Lane M is a 100 bp DNA marker and lane N is a negative control (dH₂O).

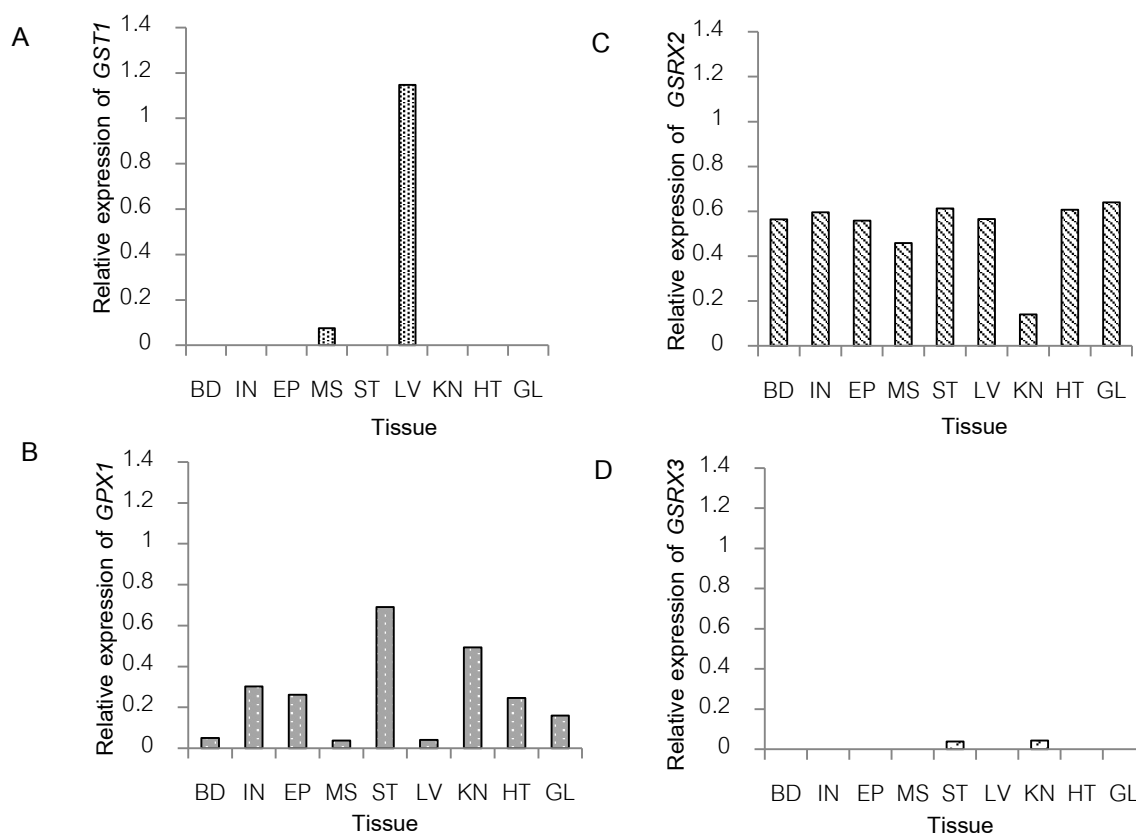


Figure 6 Histograms showing the relative expression profiles of *GST1* (A), *GPX1* (B), *GSRX2* (C) and *GSRX3* (D) transcripts using the cDNA template from blood (BD), intestine (IN), epidermis, (EP), muscle (MC), stomach (ST), liver (LV), kidney (KN), heart (HT) and gill (GL) of *L. calcarifer*. *EF-1 α* was included as the internal control and successfully amplified from the same template.

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาทำให้ทราบลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนกลูต้าไธโอนทรานส์เฟอเรส (*GST1*) กลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (*GPX1*) ยีนกลูต้าไธโอนรีดักเตส (*GSR*) ไอโซฟอร์ม *GSRX2* และ *GSRX3* ในปลา กะพงขาว (*Lates calcarifer*) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนกลูต้าไธโอนทรานส์เฟอเรส (*GST1*) มีขนาด 312 เบส เป็นกรดอะมิโนจำนวน 104 ตัว (Accession number = KX759403) และมีความคล้ายกับยีน *GST1* ในปลา Japanese seabream (*Pagrus major*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนกลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (*GPX1*) มีขนาด 327 เบส เป็นกรดอะมิโนจำนวน 109 ตัว (Accession number = KX759404) มีความคล้ายกับยีน *GPX1* ในปลา Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนกลูต้าไธโอนรีดักเตส (*GSR*) ไอโซฟอร์ม *GSRX2* มีขนาด 498 เบส เป็นกรดอะมิโนจำนวน 166 ตัว (Accession number = KX759405) มีความคล้ายกับยีน *GSRX2* ในปลา Bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) ในขณะที่ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *GSR* ไอโซฟอร์ม *GSRX3* มีขนาด 624 เบส เป็นกรดอะมิโน

จำนวน 208 ตัว (Accession number = KX759406) มีความคล้ายกับยีน *GSRX3* ในปลาไนล (*Oreochromis niloticus*)

จากการศึกษาารูปแบบการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลากะพงขาว พบว่า ในแต่ละยีนมีการแสดงออกในอวัยวะที่แตกต่างกัน โดย ยีน *GST1* พบการแสดงออกสูงที่สุดในตับ และมีการแสดงออกในระดับต่ำในกล้ามเนื้อ ยีน *GPX1* มีการแสดงออกสูงที่สุดในกระเพาะอาหาร และแสดงออกลดลงในไต ลำไส้ ผิวหนัง หัวใจ เหงือก เลือด ตับ และกล้ามเนื้อ ตามลำดับ ยีน *GSRX2* พบการแสดงออกในเหงือก กระเพาะอาหาร หัวใจ ลำไส้ ตับ เลือด ผิวหนัง กล้ามเนื้อ และไต ตามลำดับ และ ยีน *GSRX3* พบการแสดงออกเฉพาะในไต และกระเพาะอาหาร

ข้อมูลเบื้องต้นของยีนที่ได้ในการศึกษานี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษาผลกระทบทางกายภาพและสารเคมีที่เกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมโดยการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการปรับสมดุลของร่างกายในปลากะพงขาว เพื่อประเมินความเสี่ยงต่อความปลอดภัยของประชาชน จากการสัมผัส และบริโภคสิ่งมีชีวิตในบริเวณที่ปนเปื้อน รวมทั้งการประเมินผลกระทบความเสียหายทางด้านระบบนิเวศได้

เอกสารอ้างอิง

- Anderson, J.V. and Davis, D.G. 2004. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in *Euphorbia esula*. *Physiology Plant*. 120(3):421-433.
- Arthur, J.R. 2000. The glutathione peroxidases. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57: 1825-1835.
- Branka, G., Ivan, M., Marta, P., Roko, Z., Jovica, L., Karl, F. Radmila, K. and Tvrtko, S. 2015. Characterization of Glutathione-S-transferases in zebra fish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*. 158: 50-62.
- Carvalho-Neta, R.N.F. and Abreu-Silva, A.L. 2013. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) for environmental monitoring: the case study of São Marcos Bay, Maranhão, Brazil. *Latin american journal of aquatic research*. 41: 217-225.
- Cheol, Y.C., Kwang, W.A., Erik, R.N. and Hamid, R.H. 2007. Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GPX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology part C Toxicology and Pharmacology*. 145(4): 595-600.

- De-Haan, J.B., Cristiano, F., Iannello, R., Bladier, C., Kelner, M.J. & Kola, I. (1996). Elevation of the ratio of Cu/Zn-superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Human Molecular Genetics*. 5(2): 283-292.
- Hayes, J.D. and Pulford, D.J. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Biochemistry and Molecular Biology*. 30(6): 445-600.
- Malandrakis, E.E., Exadactylos, A., Dadali, O., Golomazou, E., Klaoudatos, S., Panagiotaki, P. 2014. Molecular cloning of four glutathione peroxidase (GPx) homologs and expression analysis during stress exposure of the marine teleost *Sparus aurata*. *Comparative Biochemistry and Physiology part B* 168: 53–61.
- Mandal, P.K., Saharan, S., Tripathi, M, and Murari, G. 2015. Brain glutathione levels - a novel bio marker for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*. 78(10):702-10.
- Office of Agricultural Economics. 2014. Annual Report. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Bangkok. 52. [in Thai]
- Park, H., Ahn, I.Y., Kim, H., Lee, J. and Shin, S.C. 2009. Glutathione S-transferase as a biomarker in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* after exposure to the polychlorinated biphenyl mixture. *Comparative Biochemistry and Physiology part C Toxicology and Pharmacology*. 150(4): 528-36.
- Tatjana, S., Ana S. R., Marija P. E., Marija M. and Jasmina M. O. 2009. Glutathione S-transferases in kidney and urinary bladder tumors. *Nature Reviews Urology* 6: 281-289.
- Zhang, L., Qiu, L., Wu, H., Liu, X., You, L., Pei, D., Chen, L., Wang, Q. and Zhao, J. 2012. Expression profiles of seven glutathione S-transferase (GST) genes from *Venerupis philippinarum* exposed to heavy metals and benzo[a] pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology part C*. 55: 517–527.

การคัดแยกและใช้แบคทีริโอเฟจยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลานิล
Isolation and utilization of bacteriophage to inhibit *Aeromonas hydrophila*
in Nile tilapia

ตระหนัก สมเนตร*, เกศินี จันทโรสภณ และเสรี จันทโรสภณ

Tranuk Somnate*, Kesinee Chantharasophon and Seree Chantarasopon

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: stranuk@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและใช้แบคทีริโอเฟจที่จำเพาะต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลานิล ผลการศึกษาพบว่า คัดแยกได้แบคทีริโอเฟจที่จำเพาะต่อเชื้อ *A. hydrophila* จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ แบคทีริโอเฟจ AE86 (เฟจ AE86) และเป็นเชื้อที่ไม่มี ความจำเพาะต่อแบคทีเรียก่อโรคตัวบ่งชี้ 10 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษา ผลการศึกษาสมบัติของเฟจ AE86 พบว่ามีสมบัติเป็นชนิดไลติกเฟจและมีความคงตัวสูงสุดที่ค่าพีเอชเป็น 7 ความเข้มข้นของ เฟจ AE86 ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ได้มากที่สุดคือ ที่สัดส่วน moi เท่ากับ 100 เมื่อใช้เฟจ AE86 ลดอัตราการตายของปลานิลที่ติดเชื้พบว่ามีกลุ่มที่ใช้เฟจ AE86 และกลุ่มควบคุมมีการตายสะสมเป็นร้อยละ 70.0 และ 93.34 ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้บ่งชี้ว่าเฟจ AE86 มีศักยภาพในการรักษาโรคติดเชื้ *A. hydrophila* ในปลานิลได้

คำสำคัญ : ปลานิล แบคทีริโอเฟจ ไลติกเฟจ *A. hydrophila*

Abstract

The objectives of this research were to isolate and utilize bacteriophage which was specific to *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia. The results revealed that 1 strain of bacteriophage which was specific to *A. hydrophila*, but not to other 10 strains of indicated pathogenic bacteria namely bacteriophage AE86 (phage AE86) was isolated. The properties of phage AE86 were studied. Phage AE86 exhibited as lytic phage type and showed the highest stability at pH 7. The highest inhibition zone to *A. hydrophila* in moi rate of phage AE86 was 100. The use of phage AE86 to reduce the mortality of infected Nile tilapia was carried out. The cumulative death of the phage AE86 treated groups and the control groups were 70.0%, and 93.34%, respectively. These results indicated that phage AE86 could be expressed therapeutic agent potential to treat *A. hydrophila* infection in Nile tilapia.

Keywords: Nile tilapia, Bacteriophage, Lytic phage, *A. hydrophila*

บทนำ

เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Aeromonas* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในแหล่งน้ำ แหล่งน้ำที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์มักพบว่าแบคทีเรียสกุลนี้ก่อให้เกิดโรคระบาดได้ โดยเฉพาะในแหล่งที่เพาะเลี้ยงปลานิลอย่างหนาแน่น จะพบว่าเชื้อ *A. hydrophila* เจริญเติบโตได้ดี (Wangkahart and Rattanasena, 2012; Kamgar *et al.*, 2013) และเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดโรคระบาดได้ทุกฤดู ในกรณีที่มีโรคระบาดและปลานิลทยอยตาย เกษตรกรจะใช้สารปฏิชีวนะในการรักษา แต่มักใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจนจุลินทรีย์ก่อโรคจึงต้องยาต้องเพิ่มปริมาณสารปฏิชีวนะ ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและมีสารปฏิชีวนะตกค้างในผลผลิต (Chantharasophon and Prawitthana, 2015) ทางเลือกที่ไม่ต้องใช้สารปฏิชีวนะในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคระบาดในการเพาะเลี้ยงปลา คือ การควบคุมแบบชีววิธีซึ่งมีหลายแบบ หนึ่งในวิธีการควบคุมแบบนี้ คือ การใช้จุลินทรีย์ที่สามารถฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ จุลินทรีย์ตัวที่ใช้ควบคุมมีทั้งที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และไวรัส เฉพาะที่เป็นการใช้ไวรัสคือใช้ไวรัสของแบคทีเรียที่เรียกว่า แบคเทอริโอเฟจ (Bacteriophage) หรือเฟจ (Phage) เข้าทำลายเชื้อก่อโรคโดยตรง เนื่องจากมีความจำเพาะกับแบคทีเรียเป้าหมายเท่านั้น ไม่มีผลไปทำลายแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น Golkar *et al.* (2014) รายงานว่า แบคเทอริโอเฟจมีบทบาทสำคัญในการศึกษาทางชีวโมเลกุลและใช้ในการต่อต้านแบคทีเรียมาตั้งแต่ปี 1966 แต่เนื่องจากในช่วงที่ผ่านมาการใช้ยาปฏิชีวนะง่ายกว่าจึงนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ต่อมาเกิดปัญหาแบคทีเรียก่อโรคมีการดื้อยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา จึงทำให้หันกลับมาให้ความสำคัญและมีการศึกษาทดลองเพื่อใช้แบคเทอริโอเฟจทดแทนยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะการใช้ต่อต้านแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อยาปฏิชีวนะแบบ multidrug-resistant เมื่อพบว่ามีมีการปรับตัวของเชื้อก่อโรคต่อการเข้าทำลายแบบจำเพาะของแบคเทอริโอเฟจได้ จึงมีการใช้แบคเทอริโอเฟจผสมหลายสายพันธุ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะในการรักษาโรค นอกจากนี้มีการใช้แบคเทอริโอเฟจป้องกันการเสื่อมเสียของอาหาร ผักและผลไม้ด้วย (Golkar *et al.*, 2014) เช่นเดียวกับ Pal (2015) ที่กล่าวถึงการใช้แบคเทอริโอเฟจว่าได้รับการรับรองความปลอดภัยจากหน่วยงาน Food and drug administration (FDA) US Environmental Protection Agency (EPA) และ Food Standards Australia and New Zealand (FSANZ) ว่าไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ทั้งที่เป็นมนุษย์และสัตว์เนื่องจากออกฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรียเป้าหมายที่จำเพาะเท่านั้นโดยไม่มีผลต่อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์อื่นรวมถึงสิ่งแวดล้อม สำหรับการรักษาโรคในสัตว์น้ำ มีงานวิจัยที่ใช้แบคเทอริโอเฟจควบคุมโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียในสัตว์น้ำหลายสายพันธุ์ เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. plecoglossicida*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Enterococcus seriolicida*, *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio harveyi*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus*, และ *Lactococcus garvieae* แทนการใช้ยาปฏิชีวนะ (Pal, 2015) ทำให้ลดอัตราการตายของสัตว์น้ำได้ (Pelon *et al.* 2005; Imbeault *et al.* 2006; Pal, 2015) นอกจากนี้ยังได้รายงานถึงข้อดีข้อเสียของการใช้แบคเทอริโอเฟจ โดยเฉพาะข้อกังวลเรื่องนี้อาจมีการถ่ายทอดยีนที่ไม่พึงประสงค์ เพราะการที่มีวงชีวิต 2 แบบคือแบบ Lytic phage (ทำให้เซลล์แบคทีเรียแตก) และ Lysogenic phage (เข้าไปอยู่ในเซลล์แบคทีเรีย) ดังนั้นการนำไปใช้ประโยชน์จะต้องนำเฉพาะแบคเทอริโอเฟจในแบบ Lytic phage เท่านั้นจึงเป็น

การตัดโอกาสที่จะเกิดการถ่ายทอดยีนที่ไม่พึงประสงค์ได้ (Pal, 2015) การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการคัดแยกและใช้แบคทีเรียโอฟาจที่เป็น Lytic phage เพื่อยับยั้งเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* ในปลานิล

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์: จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ดังนี้

2.1 เชื้อแบคทีเรียเจ้าบ้าน (Host strain) 1 สายพันธุ์คือ *A. hydrophila* TISTR 1321 จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2.2 เชื้อแบคทีเรียตัวทดสอบ 10 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *St. epidermidis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Klesbsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* และ *Flavobacterium columnare* KJ720207

2.2 การคัดแยกแบคทีเรียโอฟาจของ *A. hydrophila* จากตัวอย่างน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงปลานิลและตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล

นำตัวอย่างน้ำเพาะเลี้ยงปลานิล 2 แหล่ง (ฟาร์มของนายสง่า วรรณแสง 161 หมู่ 4 บ้านแพง อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี และฟาร์มของนายศักดิ์นา นักรำ 5 หมู่ 3 ตำบลหนองไฮ อำเภอสำโรง จังหวัดอุบลราชธานี) และตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ จังหวัดอุบลราชธานี มาตรวจหาแบคทีเรียโอฟาจที่จำเพาะต่อเชื้อ *A. hydrophila* ด้วยวิธี Spot test (Adam, 1959) ดังนี้ นำตัวอย่างน้ำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำ Supernatant กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ส่วนที่กรองได้ในขั้นนี้เรียกว่า Filtrate 1 จากนั้นนำ Filtrate 1 จำนวน 5 มิลลิลิตรเติมลงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB ที่มีความเข้มข้นสองเท่า) 5 มิลลิลิตร แล้วเติมเชื้อ *A. hydrophila* TISTR ที่บ่ม 12-18 ชั่วโมง จำนวน 100 ไมโครลิตรลงไป บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 12-18 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ส่วนใสที่กรองได้ในขั้นนี้เรียกว่า Filtrate 2 นำไปตรวจหาแบคทีเรียโอฟาจที่จำเพาะต่อ *A. hydrophila* โดยนำ TSA sloppy agar ไปต้มเพื่อให้อุ่นหลอมเหลว แล้วทิ้งไว้ให้ได้อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเชื้อ *A. hydrophila* ที่บ่ม 12-18 ชั่วโมงจำนวน 100 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากันแล้วค่อยๆ เทที่ลงไปบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ทิ้งไว้ 10-15 นาทีเพื่อให้ TSA sloppy agar แข็งตัว จากนั้นหยด filtrate 2 จำนวน 10 ไมโครลิตรลงไปบนผิวหน้าของ TSA sloppy agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง การตรวจหาแบคทีเรียโอฟาจที่จำเพาะต่อ *A. hydrophila* ให้สังเกตจากบริเวณใสหรือ Clear zone ตรงบริเวณที่หยด Filtrate 2 หากมีบริเวณใสเกิดขึ้นแสดงว่ามีแบคทีเรียโอฟาจที่จำเพาะต่อ *A. hydrophila*

นำ Filtrate 2 ที่ให้บริเวณใสจากการทำ Spot test มาตรวจนับและศึกษาลักษณะ Plaque ด้วยวิธี Double layer agar plaque assay (Lu, et al., 2003) โดยนำตัวอย่าง Filtrate 2 มาทำการเจือจางแบบ Serial dilution ครั้งละ 10 เท่า ด้วยอาหาร TSB จากนั้นนำสารละลายแบคทีเรียโอฟาจที่ระดับความเจือจางต่างๆ จำนวน 100 ไมโครลิตร เติมนลงในอาหาร TSA sloppy agar ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ที่ได้ทำการเติมเชื้อ

A. hydrophila ปริมาตร 100 ไมโครลิตรไว้แล้ว ผสมให้เข้ากันแล้วค่อยๆ เททับลงไปบนผิวหน้าของอาหาร TSA จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนและสังเกตลักษณะ Plaque ของแบคทีเรียโอฟาจที่เกิดขึ้นบนอาหาร จากนั้นเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียโอฟาจโดยลอกเอา Plaque บน TSA sloppy agar เดิมลงในอาหาร TSB ที่มี *A. hydrophila* เจริญในระยะ log phase อยู่ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสไปกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ส่วนใสที่กรองได้ในขั้นตอนนี้เรียกว่า Phage lysate นำ Phage lysate ที่กรองได้มาตรวจสอบลักษณะ Plaque อีกครั้งด้วยวิธี Double layer agar plaque assay ให้ทำแบบนี้ 3-4 ครั้งจนได้ Plaque ที่มีลักษณะเดียว

2.3 ศึกษาความจำเพาะของแบคทีเรียโอฟาจ

การศึกษาความจำเพาะของแบคทีเรียโอฟาจต่อแบคทีเรียที่เรียทดสอบ 10 สายพันธุ์โดยวิธี Spot test

2.4 การศึกษาความคงตัวของแบคทีเรียโอฟาจที่พีเอชต่างกัน

นำ Phage lysate ไปเจือจางในอาหาร TSB ที่ปรับ pH ให้มีค่าตั้งแต่ 2-12 โดยมีแบคทีเรียโอฟาจเริ่มต้นหลังการเติม 1×10^6 PFU/mL บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับแบคทีเรียโอฟาจที่คงเหลือด้วยวิธี Double layer agar plaque assay

2.5 ทดสอบการยับยั้ง *A. hydrophila* โดยแบคทีเรียโอฟาจที่ความเข้มข้นต่างกัน

แบ่งการทดสอบเป็น 4 ชุด แต่ละชุดเติม *A. hydrophila* (1×10^5 CFU/mL) ในอาหาร TSB เติม Phage lysate ที่ความเข้มข้นแบบ Multiplicity of infection หรือ moi ต่างกันดังนี้ ชุดที่ 1 เติม 1.0×10^5 PFU/mL (moi=1) ชุดที่ 2 เติม 1×10^6 PFU/mL (moi=10) ชุดที่ 3 เติม 1×10^7 PFU/mL (moi= 100) ชุดที่ 4 กลุ่มควบคุมไม่เติม Phage lysate บ่มที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมงจากนั้นนับจำนวนเชื้อ *A. hydrophila* บนอาหาร TSA ด้วยวิธี Spread plate method

2.6 การใช้แบคทีเรียโอฟาจลดอัตราการตายของปลาที่ติดเชื้อ *A. hydrophila*

นำปลานิลจากฟาร์มปลาของนายศักดิ์นา นักร้า 5 หมู่ 3 ตำบลหนองไฮ อำเภอสำโรง จังหวัดอุบลราชธานี น้ำหนัก 30-40 กรัม จำนวน 100 ตัว ไปเลี้ยงในห้องทดลอง ณ สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี เพื่อให้ปลาปรับตัวในถังพลาสติกขนาด $1 \times 1.2 \times 1.5$ เมตร³ ระดับน้ำลึก 50 เซนติเมตร ให้อากาศในปริมาณที่มากพอ เปลี่ยนน้ำทุก 2 วัน ให้อาหารร้อยละ 3 ของน้ำหนักปลาเป็นเวลา 14 วัน แบ่งปลานิลที่แข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว ในถังเหล็กกล้าปลอดสนิมขนาด 250 ลิตร ระดับน้ำลึก 50 เซนติเมตร ให้อากาศในปริมาณที่มากพอ เปลี่ยนน้ำทุก 2 วัน ให้อาหารร้อยละ 3 ของน้ำหนักปลา ให้ปรับตัวเป็นเวลา 14 วัน จึงฉีดเชื้อ *A. hydrophila* จำนวน 1×10^5 CFU/fish แบบ intraperitoneal ของปลาทั้งในชุดควบคุมและชุดทดสอบ หลังจากนั้น 30 นาที ในชุดทดสอบจะฉีด phage lysate ความเข้มข้น 1×10^7 PFU/fish และชุดควบคุมฉีดอาหาร TSB ปลอดเชื้อเข้าสู่ช่องท้องของปลา จากนั้นนับจำนวนปลาที่มีชีวิตรอดภายในระยะเวลา 7 วัน

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

ผลการทดลอง

3.1 ผลการคัดแยกแบคทีริโอเฟจของ *A. hydrophila* จากตัวอย่างน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงปลาชนิดและตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล

การคัดแยกแบคทีริโอเฟจที่จำเพาะต่อเชื้อ *A. hydrophila* พบว่าตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ จังหวัดอุบลราชธานี พบการเกิดบริเวณใสที่ Filtrate 2 แสดงถึงความจำเพาะของแบคทีริโอเฟจต่อเชื้อ *A. hydrophila* (ภาพที่ 1: A) ในขณะที่ตัวอย่างน้ำเลี้ยงปลาจากฟาร์มอีก 2 แห่งไม่พบการเกิดบริเวณใสใน Filtrate 2

เมื่อนำแบคทีริโอเฟจที่บริสุทธิ์ตรวจลักษณะ Plaque ด้วยวิธี Double layer agar plaque assay พบว่า Plaque ของแบคทีริโอเฟจมีลักษณะกลม ขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1: B) แบคทีริโอเฟจที่พบมีลักษณะเป็นชนิด ไลติกเฟจ ให้ชื่อเป็น AE86

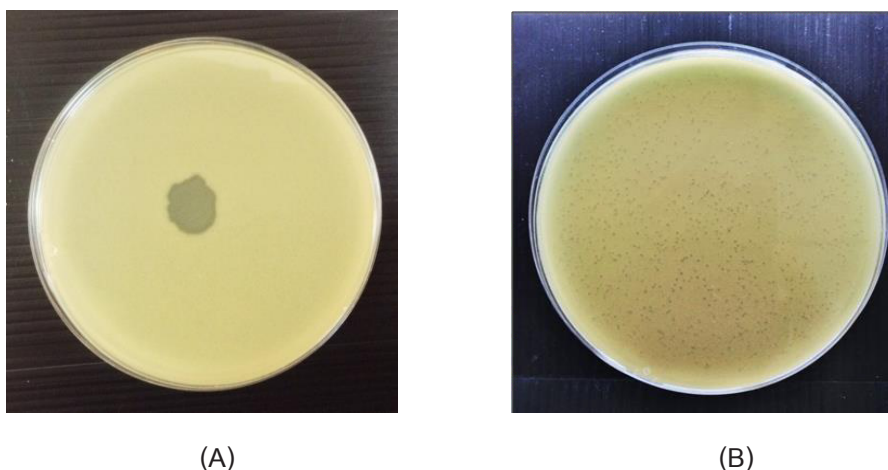


Figure 1 Clear zone of Bacteriophage which was specific to *A. hydrophila* from Filtrate 2 of The waste water sample from Sappasitthiprasong Hospital by Spot test method (A) Bacteriophage AE86 Plaque on TSA which was small and circular shape and ~1 mm diameter size (B)

3.2 ผลการศึกษาความจำเพาะของแบคทีริโอเฟจ

เมื่อศึกษาความจำเพาะของแบคทีริโอเฟจ AE86 ต่อแบคทีเรียที่เรียตัวทดสอบ 10 สายพันธุ์ด้วยวิธี Spot test เปรียบเทียบกับ เชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 พบว่า แบคทีริโอเฟจ AE86 ที่คัดแยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ มีความจำเพาะต่อเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 เท่านั้น

3.3 ผลการการศึกษาคงตัวของแบคทีริโอเฟจที่พีเอชต่างกัน

นำ phage lysate ในอาหาร TSB ปรับ pH ให้มีค่า 2-12 พบว่า ที่ค่า pH 5, 6, 7, 8, 9, 10 และ 11 สามารถตรวจนับจำนวนแบคทีริโอเฟจได้เป็น $4.7 \pm 0.15 \times 10^2$, $1.53 \pm 0.26 \times 10^3$, $1.06 \pm 0.15 \times 10^6$,

$2.74 \pm 0.21 \times 10^5$, $5.69 \pm 0.22 \times 10^4$, $6.22 \pm 0.31 \times 10^3$ และ $1.06 \pm 0.17 \times 10^6$ PFU/mL ตามลำดับ คิดเป็นความคงตัวที่ระดับร้อยละ 43 ± 45 , 48.93 ± 0.81 , 97.91 ± 0.76 , 89 ± 0.0 , 79.40 ± 0.71 , 68.07 ± 6.14 และ 51.12 ± 0.33 ตามลำดับ ความคงตัวสูงสุดพบที่ pH 7 ส่วนที่ pH 2-4 และ pH 12 เฝงไม่มีความคงตัวเนื่องจากไม่สามารถตรวจไม่พบแบคทีเรียโอฟาจ

3.4 ผลการทดสอบการยับยั้ง *A. hydrophila* โดยแบคทีเรียโอฟาจที่ความเข้มข้นต่างกัน

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* โดยเฝง AE86 ในหลอดทดลองที่ระดับ mois ต่างกันคือ 1, 10 และ 100 พบว่า ที่สัดส่วนของเฝงกับแบคทีเรียที่เรีย moi 100 เฝง AE86 ยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ได้สูงที่สุด โดยในช่วง 9 ชั่วโมงแรกแบคทีเรียมีจำนวนลดลงประมาณ $2.9 \log_{10}$ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่หลังจากนั้นจำนวนของ *A. hydrophila* กลับมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้น (Fig. 2)

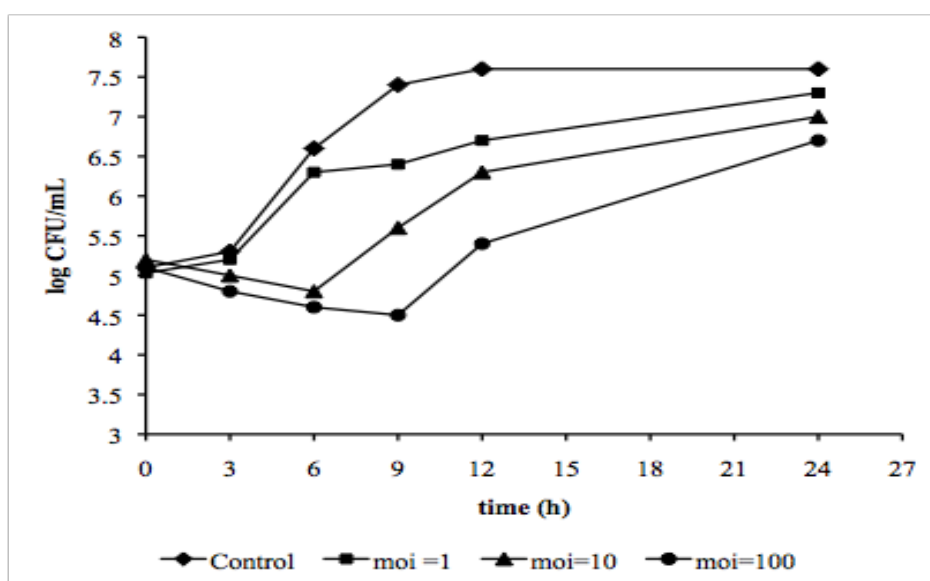


Figure 2 Inhibitory effect of Bacteriophage on *A. hydrophila* at mois of 1, 10 and 100

3.5 ผลการใช้แบคทีเรียโอฟาจลดอัตราการตายของปลานิลที่ติดเชื้อ *A. hydrophila*

เมื่อฉีดเชื้อ *A. hydrophila* ในปลานิลชุดควบคุมและชุดทดสอบ จากนั้นในชุดทดสอบจะฉีด phage lysate ความเข้มข้น 1×10^7 PFU/fish และชุดควบคุมฉีดอาหาร TSB ปลอดเชื้อเข้าที่ช่องท้องของปลา เมื่อนับจำนวนปลาที่มีชีวิตรอดภายในระยะเวลา 7 วัน พบว่า ชุดทดสอบ คือ ปลานิลที่ติดเชื้อ *A. hydrophila* และได้รับการรักษาด้วยเฝง AE86 มีอัตราการตายในช่วงวันแรกร้อยละ 67 เมื่อครบวันที่ 7 ชุดทดสอบมีการตายสะสมเป็นร้อยละ 70 ชุดควบคุม คือปลานิลที่ติดเชื้อ *A. hydrophila* และไม่ได้รับการรักษาด้วยเฝง AE86 มีอัตราการตายในช่วงวันแรกสูงถึงร้อยละ 87 เมื่อครบวันที่ 7 ชุดควบคุมมีการตายสะสมเพิ่มเป็นร้อยละ 93.34 (Fig. 3)

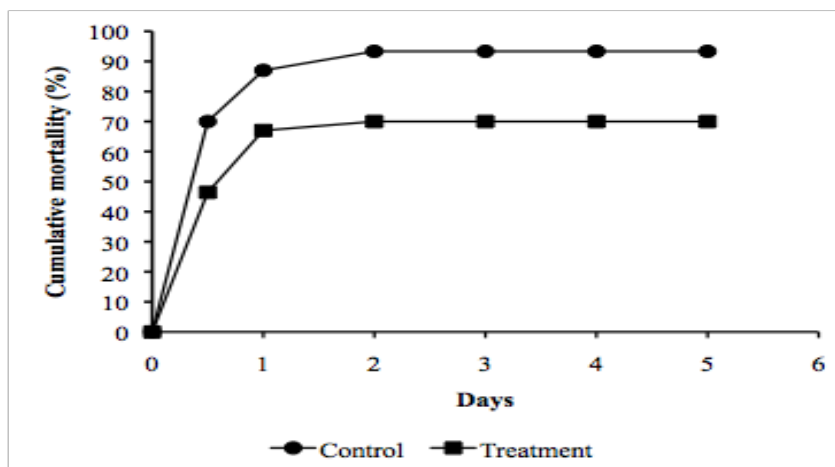


Figure 3 The cumulative death of the phage AE86 treated groups (Treatment) and the control groups at days 7 post challenge

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า เฟจ AE86 ที่จำเพาะต่อเชื้อ *A. hydrophila* คัดแยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงพยาบาล ในขณะที่ตามหลักการของการพบเฟจโดยทั่วไปแล้ว จะพบและคัดแยกได้จากแหล่งมีที่เชื้อแบคทีเรียชนิดนั้นอาศัยอยู่ คือเชื้อ *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากบริเวณผิวหนังและในตัวปลา แต่เฟจ AE86 คัดแยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงพยาบาล ซึ่งแสดงให้เห็นความไม่สัมพันธ์กันระหว่างแหล่งที่อยู่ของเฟจและแบคทีเรียเจ้าบ้าน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายเรื่อง เช่น เฟจของเชื้อ *Serratia marcescens* คือ เฟจ KSP20 และเฟจ KSP100 คัดแยกได้จากแหล่งบำบัดน้ำเสีย แต่เฟจ SM8 คัดแยกได้จากสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย (Matsushita *et al.*, 2009) อย่างไรก็ตามการที่ไม่สามารถคัดแยกเฟจจากแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาได้นั้น ไม่ได้หมายความว่าในแหล่งน้ำดังกล่าวจะไม่มีเฟจที่ต้องการ แต่อาจเป็นเพราะว่าปริมาณเฟจในแหล่งดังกล่าวมีน้อยเกินกว่าที่จะสามารถคัดแยกออกมาได้ คาดว่าหากทำการ Challenge ปลาในแหล่งที่ต้องการศึกษาด้วยเชื้อ *A. hydrophila* ก็จะทำให้มีโอกาสคัดแยกเฟจที่จำเพาะต่อเชื้อนี้ออกมาจากแหล่งนั้นๆ ได้

การศึกษาไฮสตรังเจนซ์ของเฟจ AE86 พบว่าเฟจมีช่วงการทำลายไฮสตรังแคบ เพราะไม่สามารถทำลายแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ ได้นอกจากเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเฟจ AE86 มีความจำเพาะกับแบคทีเรียเจ้าบ้านสูง ความจำเพาะนี้เหมือนกับรายงานที่มีมาก่อนนี้ของ Jun *et al.* (2013) คือ เฟจ pAh1-C และเฟจ pAh6-C จำเพาะกับ *A. hydrophila* เท่านั้น การมีช่วงไฮสตรังแคบเป็นข้อได้เปรียบในการนำเฟจไปประยุกต์ใช้งานรักษาโรค เพราะเฟจจะไม่บุกรุกแบคทีเรียประจำถิ่นอื่นๆ จึงไม่เกิดผลกระทบต่อสมดุลของเชื้ออื่นในสิ่งแวดล้อมที่ศึกษา

การศึกษาความคงตัวของเฟจที่ระดับ pH ต่างกัน พบว่าเฟจ AE86 มีความคงตัวสูงสุดที่ค่า pH 7.0 โดยความคงตัวของเฟจจะลดลงตามค่า pH ที่ต่ำกว่า 7 ลงไป และไม่คงตัวที่ค่า pH 4 เป็นต้นไป ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหากมีการประยุกต์ใช้เฟจในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลา เฟจ AE86 อาจไม่เหมาะกับการรักษาโรคผ่านการกิน เพราะเฟจต้องผ่านระบบย่อยอาหารของปลาซึ่งมีค่า pH เป็นกรดอาจทำให้ปริมาณเฟจลดลงจนไม่สามารถมีผลในการทำลายเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาได้

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* โดยเฟจ AE86 ในหลอดทดลองที่ระดับ mois ต่างกัน พบว่าการใช้เฟจความเข้มข้นสูง (moi เท่ากับ 100) มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *A. hydrophila* ได้ดีกว่า แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองที่ได้ยังพบว่าการใช้เฟจ AE86 ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อ *A. hydrophila* ให้หมดไปได้ สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากเชื้อ *A. hydrophila* มีการปรับตัวเพื่อต่อต้านการบุกรุกของเฟจ (phage-resistant bacteria) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานที่พบว่า *A. hydrophila* JUNAH มีการปรับตัวเพื่อต่อต้านการบุกรุกของเฟจ pAh1-C หลังจาก 12 ชั่วโมง ที่ทุกระดับ mois (Jun *et al.*, 2013) แต่ผลการทดลองที่ได้ต่างจากการทดลองของ Martínez-Díaz and Hipólito-Morales (2013) ที่ได้ศึกษาการใช้เฟจเพื่อรักษาเชื้อก่อโรคในสัตว์น้ำ โดยได้ทดลองใช้เฟจ vpms1 ในการกำจัดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่อยู่ในไร่น้ำเค็ม ซึ่งผลการทดลองได้พบว่าเฟจ vpms1 สามารถกำจัดเชื้อก่อโรค *V. parahaemolyticus* ในไร่น้ำเค็มได้ทั้งหมดเมื่อใช้เฟจในสัดส่วนความเข้มข้นที่เท่ากับกับเชื้อก่อโรค แต่หากใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่านี้การกำจัดเชื้อจะไม่ได้ผล อีกประการหนึ่งคือเมื่อนำเฟจ AE86 ไปรักษาปลาชนิดที่ติดเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 พบว่า สามารถลดอัตราการตายของปลาลงได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่อัตราการตายสะสมของปลายังสูงถึงร้อยละ 70 ภายในระยะเวลา 7 วันหลังจากได้รับเฟจ (โดยไม่พบการตายเพิ่มตั้งแต่วันที่ 6 ของการทดลอง) เมื่อเทียบกับรายงานที่มีการศึกษามาก่อนนี้ที่ใช้เฟจ pAh1-C และ pAH6-C รักษาปลาหมอ (*Misgurnus anguillicaudatus*) ที่ติดเชื้อ *A. hydrophila* JUNAH และพบว่าอัตราการตายสะสมของปลาหมอมียังเพียงร้อยละ 46.67 และ 26.67 ตามลำดับ เท่านั้น (Jun *et al.*, 2013) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเฟจ AE86 คัดแยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงพยาบาล หากเป็นเฟจที่คัดแยกได้จากแหล่งเพาะเลี้ยงปลา อาจมีโอกาสให้ผลที่เหมือนกับการทดลองของ Martínez-Díaz and Hipólito-Morales (2013) ที่พบว่าเฟจที่คัดแยกได้สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคที่นำมาศึกษาได้ทั้งหมด อีกประการหนึ่งคือควรทำการคัดแยกเฟจให้ได้เพิ่มมากกว่า 1 สายพันธุ์เพื่อนำมาทดลองใช้แบบเฟจผสม (Phage cocktail) ซึ่งจะเป็นการเพิ่มโอกาสในการทำลายแบคทีเรียจำเพาะได้มากขึ้น โดยที่แบคทีเรียจำเพาะปรับตัวหนีการเข้าทำลายของเฟจพร้อมกันหลายสายพันธุ์ได้ไม่ทัน จึงจะทำให้แบคทีเรียดังกล่าวถูกทำลายหมดไปก่อนที่จะปรับตัวได้ โดยไม่จำเป็นต้องใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ ดังผลการทดลองของ Woolston *et al.* (2013) ซึ่งจะทำให้การใช้เฟจเพื่อเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพในการรักษาปลาชนิดที่ติดเชื้อโรคระบาดดังกล่าว จะเป็นทางเลือกเพื่อลดการใช้สารปฏิชีวนะกับปลาชนิดที่เพาะเลี้ยง ลดภาระค่าใช้จ่ายสารเคมีและสารปฏิชีวนะ ลดความเสี่ยงของเกษตรกรกลุ่มผู้เลี้ยงปลาและผู้บริโภคไปพร้อมกัน

สรุปผลการทดลอง

คัดแยกแบคทีริโอเฟจ AE86 ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *A. hydrophila* สูงได้จากแหล่งน้ำเสียของโรงพยาบาล โดยเฟจ AE86 เป็นชนิดไลติกเฟจที่มีความคงตัวสูงสุดที่พีเอช 7 ความเข้มข้นของเฟจ AE86 ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ได้มากที่สุดคือที่สัดส่วน moi เท่ากับ 100 เมื่อใช้เฟจ AE86 ลดอัตราการตายของปลานิลที่ติดเชื้พบว่า ปลานิลมีการตายสะสมเป็นร้อยละ 70.0 ซึ่งจะเป็นทางเลือกเพื่อลดการใช้สารปฏิชีวนะกับปลานิลที่เพาะเลี้ยง ลดภาระค่าใช้จ่ายสารเคมีและสารปฏิชีวนะ ลดความเสี่ยงของเกษตรกรกลุ่มผู้เลี้ยงปลาและผู้บริโภคไปพร้อมกัน

เอกสารอ้างอิง

- Adams, M.H. 1959. Bacteriophages. Interscience Publishers, Inc., New York.
- 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., 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]
- Golkar, Z., Bagasra, O., Pace, D.G. 2014. Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. The Journal of Infection in Developing Countries. 8(2): 129-136.
- Imbeault, S., Parent, S., Legace, M., Uhland, C.F., and Blais, J.F. 2006. Using bacteriophage to prevent furunculosis cause by *Aeromonas salmonicida* in farmed brook trout. Journal of aquatic animal health. 18: 203-214.
- Jun, J.W., Kim, J.H., Shin, S.P., Han, J.E., Chai, J.Y., and Park, S.C. 2013. Protective effects of the *Aeromonas* phage pAh-1C and pAh6-C against mass mortality of the cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) caused by *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. 416-417: 289-295.
- 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.
- Lu, Z., Breidt Jr., F., Fleminga, H.P., Altermannb, E., and Klaenhammerb, T.R. 2003. Isolation and characterization of a *Lactobacillus plantarum* bacteriophage, AJL-1, from a cucumber fermentation. International Journal of Food Microbiology. 84: 225-235.

- Martínez-Díaz, SF., and Hipólito-Morales, A. 2013. Efficacy of phage therapy to prevent mortality during the vibriosis of brine shrimp. *Aquaculture*. 400–401: 1203-1204.
- Matsushita, K., Uchiyama, J., Kato, S., Ujihara, T., Hoshihara, H., Sugihara, S., Muraoka, A., Wakiguchi, H., Matsuzaki, S. 2009. Morphological and genetic analysis of three bacteriophages of *Serratia marcescens* isolated from environmental water. *FEMS Microbiology Letters*. 291: 201–208.
- Pal, S. 2015. Phage Therapy an alternate disease control in Aquaculture: A review on recent advancements. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 8(9): 68-81.
- Pelon, W., Luftig, R.B., and Johnston, K.H. 2005. *Vibrio vulnificus* load reduction in Oysters after combined exposure to *V. vulnificus*-specific bacteriophage and an oyster extract component. *Journal of Food Protection*. 68: 1188–1191.
- Wangkahart, E., and Rattanasena, P. 2012. Efficacy of injectable formalin-killed *Aeromonas hydrophila* vaccine in hybrid Catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*). *Journal of Fisheries Technology Research*. 6(1): 53-64. [in Thai]
- Woolston, J., Parks A.R., Abuladze, R., Anderson, B., Li M., Carter C., Hanna, L.F, Heyse, S., Charbonneau, D., and Sulakvelidze, A. 2013. Bacteriophages lytic for *Salmonella* rapidly reduce *Salmonella* contamination on glass and stainless steel surfaces. *Bacteriophage*. 3(3): e25697.

ชีววิทยาบางประการของปูแสม *Episesarma mederi* (H. Milne Edward, 1853)

ในอ่าวปัตตานี

Some Aspects of Biology of Mangrove Crab, *Episesarma mederi*

(H. Milne. Edward, 1853) in Pattani Bay

สมศักดิ์ บัวทิพย์¹ พัน ยี่สิน¹ และ ศราวุธ เจ๊ะโสะ^{1*}

Somsak Buatip¹ Pun Yeesin¹ and Sarawuth Chesoh^{1*}

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

¹Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani, Thailand

*Corresponding author; e-mail: chesoh.s@hotmail.com

บทคัดย่อ

สำรวจปูแสมจากแพปูบริเวณอ่าวปัตตานี ระหว่างสิงหาคม 2556 ถึงกรกฎาคม 2557 ผลการรวบรวมปูแสมทั้งหมด 2,490 ตัว ขนาดความกว้างกระดองเฉลี่ย 31.35 ± 3.62 มิลลิเมตร (17.41 - 46.50 มิลลิเมตร) น้ำหนักตัวเฉลี่ย 26.28 ± 10.49 กรัม (5.20 - 80.90 กรัม) พบว่า เพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดอง (CW) กับน้ำหนักตัว (W) พบในรูปสมการ $W = 12.8635 CW^{0.2772}$ และมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อัตราส่วนเพศ (ผู้ต่อเมีย) เท่ากับ 1.02 ต่อ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับความสมบูรณ์เพศของปูแสมเพศเมีย เป็นไปตามสมการ $Y = 1/(1 + \exp^{(26.004 - 0.0237X)})$ ขนาดความกว้างกระดองของปูในระยะเวลาสมบูรณ์เพศ ร้อยละ 50 เท่ากับ 37.80 มิลลิเมตร และฤดูผสมพันธุ์มี 1 ช่วง ระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคมของปี ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณน้ำฝน ดังนั้น จำเป็นต้องจัดการควบคุมการจับปูแสมในฤดูผสมพันธุ์ ควบคู่กับการรักษาป่าชายเลนเพื่อความยั่งยืนของปูแสม

คำสำคัญ : ปูแสม ชีววิทยา ป่าชายเลน อ่าวปัตตานี

Abstract

Some aspects of biology of the mangrove crabs, *Episesarma mederi* (H. Milne Edward, 1853) in the Pattani Bay were investigated by collecting crabs from the local fish landing port from August 2013 to July 2014. A total of 2,490 mangrove crabs were collected. Average sizes were 31.35 ± 3.62 mm (7.41- 46.50 mm) in carapace width and 26.28 ± 10.49 g in body weight (5.2 - 80.9 g). Size of male was larger than that of female. Relationships body weight (W) and carapace width (CW) of represented $W = 12.8635 CW^{0.2772}$ ($p < 0.05$). Sex ratio (Male : Female) was 1.02 : 1. The relationship between maturity of female proportion and carapace width showed as a logistic equation: $Y = 1/(1 + \exp^{(26.004 - 0.0237X)})$. Average size of first maturity (L_{50}) of female was 37.8 mm. Breeding season occurred once a year during September to December and related to rainfall. Therefore, regulation of mangrove

crab harvesting in breeding season need to be controlled together with the mangrove forest protection in Pattani Bay for sustaining of this species.

Key words: Mangrove crab, *Episesarma mederi*, Biology, Mangrove forest, Pattani Bay

บทนำ

ปูเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในไฟลัมอาร์โทรโปดา (Arthropoda) ชูเปอริคลาสครัสเตเชีย (Crustacea) อันดับเดคาปอด (Decapod) ทั่วโลกมีปูไม่ต่ำกว่า 6,793 ชนิด (Ng *et al.*, 2008) ในประเทศไทยมีทั้งหมด 715 ชนิด 269 สกุล 42 วงศ์ เป็นปูที่อาศัยอยู่ในทะเล 613 ชนิด ปูแสมจัดอยู่ในวงศ์ Grapsidae ลักษณะทั่วไปของกระดองมีความกว้างมากกว่าความยาว และแบนเกือบเป็นรูปสี่เหลี่ยม มีรายงานในประเทศไทยพบปูแสม 30 สกุล 73 ชนิด ใน 4 วงศ์ย่อย (Naiyanetr, 2007)

ปูแสมเป็นปูที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นิยมรับประทานสดและนำมาทำปูเค็มซึ่งมีขายอยู่ทั่วไปตามท้องตลาด เป็นปูที่อยู่ในวงศ์ย่อย Sesarminae มีอยู่ด้วยกัน 4 ชนิด คือ ปูแสมก้ามม่วงหรือเปี้ยวดำ (*Episesarma mederi*) ปูแสมก้ามขาวหรือเปี้ยวขาว (*Episesarma versicolor*) ปูแสมก้ามทอง (*Perisesarma eumolpe*) และปูแสมก้ามแดง (*Episesarma singaporense*) ส่วนอีก 2 ชนิด อยู่ในวงศ์ย่อยปูแป้น ปูจาก หรือปูใบไม้ (Family Varuninae) คือ *Varuna litterata* และ *Varuna yui* (Machjajib, 1973; Chuensri, 1982) นอกจากนี้ปูที่จับในประเทศแล้ว ยังมีการนำเข้าจากประเทศเพื่อนบ้านด้วย พบว่ามีการนำเข้าปูเค็มจากประเทศเมียนมาร์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 - 2555 เฉลี่ยปีละ 598,892 กิโลกรัม (Keeratihuttayakorn and Songsri, 2014) ผลผลิตปูแสมในตลาดทั้งหมดได้จากการจับจากแหล่งธรรมชาติ โดยคนไทยบริโภคปูแสมประมาณเดือนละ 45 ล้านตัว หรือประมาณปีละ 18,000 ตัน ซึ่งจับได้ในประเทศประมาณ 12,000 ตัน/ปี และนำเข้าจากเมียนมาร์ และกัมพูชา ไม่ต่ำกว่า 5,000 ตัน/ปี มูลค่าประมาณ 82 ล้านบาท (Tienongrusmee, 2009) ส่วนการเพาะพันธุ์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบป้อนสู่ฟาร์ม หรือการเพาะเลี้ยงเชิงเศรษฐกิจ หรือการปล่อยกลับคืนสู่ธรรมชาติยังขาดความต่อเนื่อง และผู้จับปูยังขาดความตระหนักถึงความสำคัญเพื่อการอนุรักษ์เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน (Promkead *et al.*, 2012) การศึกษาชีววิทยาของปูแสมในประเทศไทยมีไม่มากนัก มีรายงานการศึกษาที่จังหวัดนครศรีธรรมราช (Suwansanit, 2007) จังหวัดเพชรบุรี (Singkham, 2009) และจังหวัดชลบุรี (Arluanek, 2002) ดังนั้น การศึกษาชีววิทยาบางประการของปูแสม *Episesarma mederi* บริเวณอ่าวปัตตานีจึงมีความสำคัญ และจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อทราบถึงข้อมูลด้านชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับการแพร่ขยายพันธุ์ เพื่อเป็นข้อมูลบ่งชี้สถานภาพ ประเมินความอุดมสมบูรณ์ และนำไปสู่การจัดการทรัพยากรปูแสมและป่าชายเลนในพื้นที่อ่าวปัตตานีให้เกิดประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

วิธีการวิจัย

1. พื้นที่ศึกษา

อ่าวปัตตานี เป็นลักษณะอ่าวกึ่งปิด (Semi-enclosed) และเป็นอ่าวน้ำตื้น มีความลึกเฉลี่ย 1.2 เมตร มีพื้นที่ภายในอ่าว 54 ตารางกิโลเมตรและพื้นที่ปากอ่าว 20 ตารางกิโลเมตร ลักษณะคล้ายง่ามนิ้วชี้กับหัวแม่มือ ระดับน้ำค่อนข้างตื้น รับน้ำจืดจากแม่น้ำปัตตานี แม่น้ำยะหริ่ง และคลองสาขา ความเค็มเฉลี่ย 17 - 32 ppt เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ อนุบาลสัตว์น้ำนานาชนิด และทำให้เกิดฐานทรัพยากรอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของระบบนิเวศชายฝั่ง (Figure 1) พื้นที่ป่าชายเลนรอบอ่าวปัตตานีประมาณ 19,997.2 ไร่ (Yeemasae and Lertpongsombat, 2015) พันธุ์ไม้ชนิดเด่น ได้แก่ โกงกางใบเล็ก ตาตุ่มทะเล ถั่วขาว แสมขาว และแสมดำ (Pechkeo, 2007) ครอบคลุมพื้นที่อำเภอหนองจิก เมืองปัตตานี และอำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี

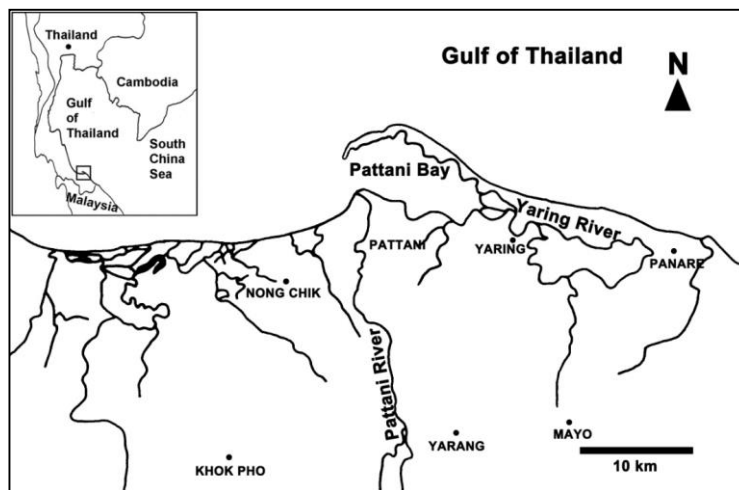


Figure 1 Sampling site for mangrove crab (*Episesarma mederi*) collecting in Pattani Bay

2. วิธีการ

2.1 การเก็บตัวอย่างปูแสม

สุ่มตัวอย่างปูแสมไม่น้อยกว่า 200 ตัว/ครั้ง จากแพปูนางสมนี้ก เรืองนุ่น อาศัยอยู่หมู่ที่ 3 บ้านดอนรัก ตำบลรูสะมิแล อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี ซึ่งเป็นแพรับซื้อและรวบรวมปูแสมเพียงรายเดียวในพื้นที่รอบอ่าวปัตตานี ทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2556 ถึงเดือนกรกฎาคม 2557 ทำการแยกเพศผู้ และเพศเมีย วัดขนาดความกว้างกระดอง (มิลลิเมตร) โดยใช้เวอเนียร์คาลิเปอร์ ชั่งน้ำหนัก (กรัม) และฉีกกระดองเพื่อจำแนกระยะการพัฒนากุ้ง ตามวิธีที่รายงานโดย Tien songrusmee and Pratoomchat (2002) และจำแนกการพัฒนากุ้งปูทะเล เป็น 4 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 (under developed stage) รังไข่ยังไม่พัฒนา มีลักษณะเป็นเส้นยาวแบน 2 เส้น แทรกอยู่ในช่องว่างภายในลำตัว ตามขอบกระดองด้านหน้าบน digestive gland ระยะนี้รังไข่มีขนาด 1/6 ของช่องว่างภายในลำตัว สีขาว โปร่งใส

ระยะที่ 2 (early development stage) รังไข่ขยายใหญ่ขึ้นประมาณร้อยละ 10-20 ของช่องว่างภายในลำตัว มีรอยหยักแทรกติดตัวอยู่กับ stero carapace บน digestive gland สีครีม หรือเหลืองอ่อน หรือชมพู

ระยะที่ 3 (nearly ripe stage) รังไข่เริ่มขยายตัว ขดไปตามลักษณะของช่องว่างภายในลำตัว ครอบคลุมพื้นที่ประมาณร้อยละ 20-75 ของช่องว่างภายในลำตัว

ระยะที่ 4 (ripe stage) รังไข่สมบูรณ์เต็มที่ แน่นเต็มช่องว่างภายในลำตัว ผิวมันวาว มอง จากด้านบน รูปร่างคล้ายสมอเรือ ไข่แยกเป็นเม็ด มีสีส้มเหลืองถึงส้มแดง และระยะที่ปูแสมเพศเมียมีไขนอกกระดอง

2.2 วิธีการศึกษาชีววิทยาบางประการของปูแสมเพศเมีย (ดัดแปลงจาก Kongchai et al., 2013) ดังนี้

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองและน้ำหนัก โดยใช้ข้อมูลความกว้างกระดอง และน้ำหนักมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ในรูปแบบการ

$$W = a CW^b \quad (1)$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัว หน่วยเป็น กรัม, CW = ความกว้างกระดอง หน่วยเป็น มิลลิเมตร โดยที่ a , b = ค่าคงที่

ค่า a เป็นค่าคงที่ที่เกี่ยวข้องกับความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) และค่า b เป็นค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของสัตว์น้ำ แปลงสมการดังกล่าวข้างต้นให้อยู่ในรูปแบบการเส้นตรง ด้วย natural logarithm ได้สมการเป็น

$$\ln W = \ln a + b \ln CW \quad (2)$$

และใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (linear regression analysis) เพื่อประมาณค่า $\ln a$ และ b

ศึกษาอัตราส่วนเพศ นับจำนวนตัวของปูแสมเพศผู้และเพศเมียในแต่ละเดือน จากข้อที่ 1 คำนวณหาอัตราส่วนเพศ โดยตั้งสมมุติฐานให้อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1 : 1 และทดสอบความแตกต่างระหว่างจำนวนเพศผู้และเพศเมียทางสถิติโดยวิธีไคเวิร์สแควร์ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามวิธีของ Zar (1996) ดังสมการ

$$X^2 = (f_1 - f_2)^2 / n \quad (3)$$

เมื่อ f_1 = จำนวนปูเพศผู้

f_2 = จำนวนปูเพศเมีย

n = จำนวนปูทั้งหมด

ศึกษาขนาดความกว้างกระดองแรกเริ่มสืบพันธุ์ โดยนำระยะเจริญพันธุ์ของปูแสมที่ได้มาแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะที่ไม่สมบูรณ์เพศ (immature) ได้แก่ ปูแสมเพศเมียที่มีการพัฒนาของไขในระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 3 ส่วนระยะสมบูรณ์เพศ (mature) ได้แก่ ปูทะเลเพศเมียที่มีการพัฒนาของไขในระยะที่ 4 และไขนอกกระดอง คำนวณหาขนาดความกว้างกระดองแรกเริ่มสืบพันธุ์โดยใช้สมการ

$$Y = 1 / (1 + e^{-(a+bx)}) \quad (4)$$

เมื่อ Y หมายถึงความน่าจะเป็นของจำนวนปูที่มีการพัฒนาในระยะสมบูรณ์เพศจากจำนวนปูเพศเมียทั้งหมด X = ค่าความยาวจุดกึ่งกลางในแต่ละอันตรภาคชั้น และ a , b หมายถึงค่าค่าพารามิเตอร์ที่คำนวณจากสมการถดถอยเชิงเส้น

ขนาดความกว้างกระดองของปูแสมที่มีเซลล์สีบัพันธุ์ในระยะสมบูรณ์เพศร้อยละ 50 คือ ขนาดความกว้างกระดองแรกเริ่มสีบัพันธุ์ (L_{50}) จะมีค่าเท่ากับ $-a/b$

ศึกษาฤดูวางไข่ของปูแสม โดยพิจารณาจากการพัฒนาของไข่ในระยะที่ 4 และปูแสมมีไข่นอกกระดอง

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับน้ำหนัก และความสัมพันธ์ระหว่างระยะการพัฒนาของไข่กับฤดูกาลเพื่อประเมินฤดูผสมพันธุ์ของปูแสมในพื้นที่อำเภอบัตตานี โดยใช้โปรแกรม R (Zar, 1996)

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

ปูแสม (*Episesarma mederi*) มีความกว้างกระดองระหว่าง 17.41 - 46.50 มิลลิเมตร ความกว้างกระดองเฉลี่ย 31.35 ± 3.62 มิลลิเมตร เพศผู้มีความกว้างของกระดองระหว่าง 17.41 - 45.47 มิลลิเมตร ความกว้างกระดองเฉลี่ย 31.91 ± 3.97 มิลลิเมตร และเพศเมียมีความกว้างของกระดองระหว่าง 20.80 - 46.50 มิลลิเมตร ความกว้างกระดองเฉลี่ย 30.77 ± 3.12 มิลลิเมตร (Table 1) ตัวผู้จะมีขนาดใหญ่กว่าตัวเมียในทุกเดือนปูแสมมีน้ำหนักกระดองระหว่าง 5.20 - 80.90 กรัม น้ำหนักเฉลี่ย 26.28 ± 10.49 กรัม เพศผู้มีน้ำหนักกระดองระหว่าง 5.20 - 80.90 กรัม และน้ำหนักเฉลี่ย 29.14 ± 12.03 กรัม ส่วนเพศเมียมีน้ำหนักกระดองระหว่าง 7.20 - 78.50 กรัม และน้ำหนักเฉลี่ย 23.35 ± 7.63 กรัม (Table 2)

Table1 Carapace width (mm) of mangrove crab (*Episesarma mederi*) in Pattani bay collected during August 2013 to July 2014

Month	Total				Male				Female			
	Carapace width (mm)				Carapace width (mm)				Carapace width (mm)			
	Max	Min	Mean	SD	Max	Min	Mean	SD	Max	Min	Mean	SD
Aug 2013	37.24	20.80	30.80	2.57	36.77	24.56	31.20	2.47	37.24	20.80	30.42	2.61
Sep 2013	46.50	23.70	32.08	3.31	44.03	24.22	32.61	3.49	46.50	23.70	31.66	3.10
Oct 2013	43.49	17.41	31.46	3.85	43.49	17.41	31.93	4.24	42.90	22.93	31.01	3.38
Nov 2013	40.71	22.65	30.69	3.39	40.71	22.65	30.86	3.71	39.97	24.41	30.55	3.11
Dec 2013	41.68	21.98	30.77	3.26	40.86	22.84	30.94	3.31	41.68	21.98	30.63	3.21
Jan 2014	40.70	22.75	30.28	4.02	40.70	23.07	30.90	4.57	39.67	22.75	29.76	3.43
Feb 2014	39.65	20.45	30.88	4.16	39.65	20.45	31.57	4.46	36.23	21.46	29.90	3.48
Mar 2014	39.91	22.91	31.33	3.24	39.91	22.91	31.71	3.54	35.87	23.20	30.89	2.81
Apr 2014	45.47	22.54	31.62	4.08	45.47	22.54	32.27	4.44	38.35	23.04	30.74	3.36
May 2014	42.16	24.45	32.23	3.47	42.16	24.48	32.90	4.09	38.29	24.45	31.50	2.45
Jun 2014	41.36	24.25	32.19	3.64	41.36	24.25	33.16	4.11	37.31	25.17	31.09	2.63
Jul 2014	39.92	23.17	31.49	3.64	39.92	23.17	32.21	3.85	37.71	23.86	30.63	3.19
Total	46.50	17.41	31.35	3.62	45.47	17.41	31.91	3.97	46.50	20.80	30.77	3.12

Table 2 Mean \pm SD, Maximum and Minimum of mangrove crab (*Episesarma mederi*) body weight during study period

Month	Total				Male				Female			
	Body weight (gm)				Body weight (gm)				Body weight (gm)			
	Max	Min	Mean	SD	Max	Min	Mean	SD	Max	Min	Mean	SD
Aug 2013	46.70	11.50	25.15	7.12	46.70	13.60	28.63	7.09	42.60	11.50	21.81	5.35
Sep 2013	78.50	10.50	29.23	10.48	77.10	11.00	32.16	11.79	78.50	10.50	26.88	8.62
Oct 2013	79.80	11.30	28.19	11.92	79.80	11.30	30.54	13.55	72.90	12.20	25.93	9.62
Nov 2013	70.40	9.50	25.45	10.07	70.40	9.50	27.45	11.58	52.90	11.50	23.87	8.39
Dec 2013	67.00	8.70	23.99	8.54	67.00	8.70	25.94	9.79	54.80	9.60	22.40	6.99
Jan 2014	65.20	7.80	23.60	11.29	65.20	7.80	26.77	13.60	47.00	8.50	20.95	8.06
Feb 2014	53.30	5.20	24.07	9.71	53.30	5.20	26.14	10.86	35.10	7.20	21.08	6.76
Mar 2014	54.40	8.50	25.01	8.81	54.40	8.50	27.04	10.06	36.10	9.90	22.63	6.30
Apr 2014	80.90	8.50	26.33	12.07	80.90	8.50	29.65	13.71	45.20	8.90	21.84	7.33
May 2014	60.40	10.40	28.46	10.68	60.40	10.40	32.31	12.47	46.70	10.80	24.30	6.04
Jun 2014	68.40	11.20	28.41	11.48	68.40	11.20	32.66	13.45	37.00	11.80	23.61	5.79
Jul 2014	57.80	9.10	25.98	10.44	57.80	9.60	29.14	11.81	37.20	9.10	22.25	6.93
Total	80.90	5.20	26.27	10.49	80.90	5.20	29.14	12.03	78.50	7.20	23.35	7.63

ความกว้างกระดอง และน้ำหนักตัวของปูแสม เมื่อแบ่งช่วงความกว้างของกระดองเป็น 6 ช่วง คือ <25, 25 - 30, 30 - 35, 35 - 40, 40 - 45 และ 45 - 50 มิลลิเมตร ตามลำดับ พบว่าปูแสมส่วนใหญ่มีความกว้างของกระดองระหว่าง 25-35 มิลลิเมตร ช่วงความกว้างของกระดองที่มีจำนวนปูแสมมากที่สุดคือ 30 - 35 มิลลิเมตร คิดเป็น 49.04% ของปูทั้งหมด (1,221 ตัว) โดยมีน้ำหนักกระดองระหว่าง 12.3 - 58.8 กรัม (Table 3)

Table 3 Percentage of carapace width and body weight of mangrove crab (*Episesarma mederi*) collected from Pattani bay during study period

Carapace width (mm)	N=2,490			Male (N=1,254)			Female (N=1,236)		
	Body Weight (gm)	N	%	Body Weight (gm)	N	%	Body Weight (gm)	N	%
<25	5.2-33.7	96	3.86	5.2-20.6	55	4.39	7.2-33.7	41	3.32
25-30	8.1-54.4	792	31.81	8.1-54.4	330	26.32	9.4-31.1	462	37.38
30-35	12.3-58.8	1,221	49.04	12.3-58.8	593	47.29	16.4-43.4	628	50.81
35-40	18.8-60.4	355	14.26	18.8-60.4	254	20.26	21.3-52.9	101	8.17
40-45	48.7-79.8	24	0.96	48.7-79.8	21	1.67	54.8-72.9	3	0.24
45-50	78.5-80.9	2	0.08	80.9	1	0.08	78.5	1	0.08

ขนาดและน้ำหนักปูแสมในพื้นที่อ่าวปัตตานี พบว่าใหญ่กว่าปูแสม ที่พบบริเวณอ่าวน้ำบ่อ จังหวัดภูเก็ต (ขนาด 29.20 มิลลิเมตร น้ำหนัก 16.95 กรัม) (Poovachiranon and Tantichodok, 1991) ในประเทศญี่ปุ่น (ขนาด 38.30 มิลลิเมตร) และในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ขนาด 40 มิลลิเมตร) (Marine Species Identification Portal, 2015) แต่มีขนาดเล็กกว่าปูแสมที่สำรวจพบบริเวณปากน้ำสมุทรปราการ เล็กน้อย (ขนาด 33 มิลลิเมตร) (Machjajib, 1973) ปูเพศผู้มีความกว้างของกระดองและน้ำหนักใกล้เคียงกับที่พบในจังหวัดสมุทรสาคร โดยรวมปูแสมเพศเมียในอ่าวปัตตานีมีขนาดใหญ่กว่าปูแสมที่จังหวัดสมุทรสาคร และพบว่าขนาดความกว้างกระดองโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกัน แต่ปูแสมเพศผู้ จะมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าเพศเมีย เนื่องจากโดยธรรมชาติปูเพศผู้ จะมีก้ามที่ใหญ่กว่าเพศเมีย ซึ่งขนาดของปูในธรรมชาตินั้น จะแตกต่างกันตามถิ่นที่อยู่อาศัย (Tiensongrusmee and Pratoomchat, 2002) ปริมาณน้ำฝนในพื้นที่ และมีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์ของชนิดอาหารในถิ่นอาศัย

ปูแสม (*Episesarma mederi*) จำนวน 2,490 ตัว มีความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับน้ำหนักตัว ในรูปสมการ $W = 12.8635 CW^{0.2772}$ แบ่งเป็นเพศผู้ จำนวน 1,254 ตัว มีความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับน้ำหนักตัว ในรูปสมการ $W = 13.1589 CW^{0.2677}$ และเพศเมีย จำนวน 1,236 ตัว มีความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับน้ำหนักตัว ตามสมการ $W = 11.6954 CW^{0.3104}$

จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าผลลัพธ์ของตัวแบบการถดถอยเชิงเส้นระหว่างความกว้างกระดองกับน้ำหนักของปูทั้งหมด และเพศมีความสัมพันธ์กับความกว้างกระดองอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าปูเพศเมีย ความกว้างกระดองกับน้ำหนัก มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$)

Table 4 Linear regression analysis of carapace width and body weight of mangrove crab (*Episesarma mederi*) during study period

Variable	B	SE	P-value
Constant	22.83	0.081	<0.001
Body weight	0.32	0.002	<0.001
Sex			
Female	0.37	0.030	<0.001
male	-0.37	0.030	<0.001

ด้านอัตราส่วนเพศ พบว่าปูแสมมีอัตราส่วนเพศผู้ ต่อเพศเมีย เท่ากับ 1.02 : 1 ซึ่งในเดือนสิงหาคม 2556 ถึงมกราคม 2557 เพศผู้มีอัตราส่วนเพศต่ำกว่าเพศเมีย แต่หลังจากนั้น ผลสำรวจพบว่าเพศผู้กลับมามีอัตราส่วนเพศสูงกว่า (Figure 2)

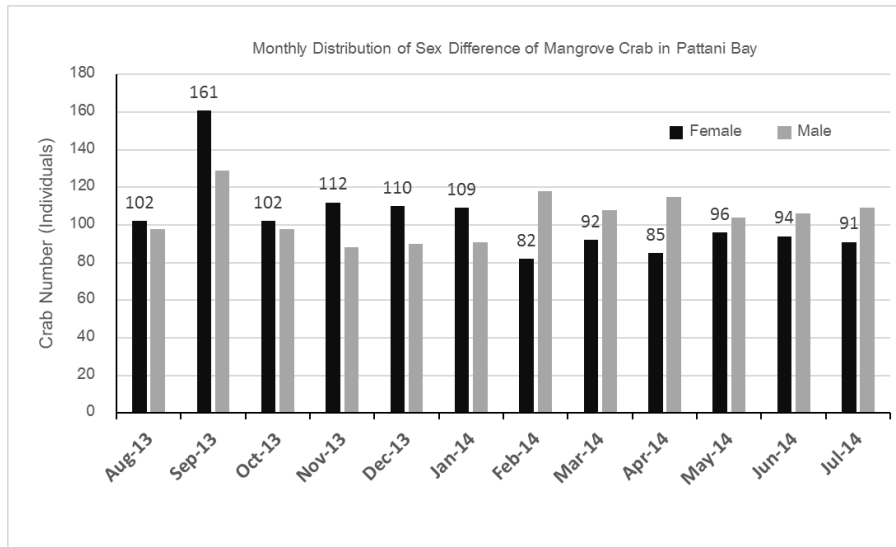


Figure 2 Monthly sex difference distribution of mangrove crab (*Episesarma mederi*) collected during study period

อัตราส่วนเพศของปูแสม (เพศผู้ ต่อเพศเมีย) ในพื้นที่อ่าวปัตตานี เป็นไปตามกฎธรรมชาติ คือ สัดส่วน 1 ต่อ 1 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่าช่วงเดือนที่รวบรวมตัวอย่างมีความสัมพันธ์กับเพศของปูแสม อย่างมีนัยสำคัญด้วย ($p < 0.05$) สอดคล้องกับปูแสมที่สำรวจที่บ้านคลองครุ จังหวัดสมุทรสาคร (1:1) (Chitarasing, 1976) ปูทะเลชนิด *Scylla olivacea* (1 : 0.79) (Koolkalya *et al.*, 2006) ปูแสมภูเขา (*Geosesarma krathing*) (1:1) (Ruengphrathuengsuka *et al.*, 2009) แต่แตกต่างจากปูก้ามดาบชนิด *Uca perplexa* อัตราส่วนเพศไม่เป็นไปตามทฤษฎีของธรรมชาติ โดยตลอดทั้งปีสัดส่วนเพศผู้ จะสูงกว่าในเพศเมีย ถึง 2 เท่า (Mookui *et al.*, 2012)

ปูแสมเพศเมียจำนวน 1,234 ตัว ประกอบด้วยปูแสมในระยะไม่สมบูรณ์เพศ จำนวน 801 ตัว และปูแสมในระยะสมบูรณ์เพศ 433 ตัว มีขนาดความกว้างกระดองระหว่าง 20.80 – 46.50 มิลลิเมตร มีความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับสัดส่วนความสมบูรณ์เพศของปูแสมเพศเมียดังสมการ $Y = 1/(1 + \exp^{(26.004 - 0.0237X)})$ ขนาดความกว้างกระดองของปูแสมที่มีเซลล์สืบพันธุ์ในระยะสมบูรณ์เพศ ร้อยละ 50 เท่ากับ 37.80 มิลลิเมตร และความกว้างกระดองเริ่มแรกสืบพันธุ์ของปูแสมเพศเมียที่เล็กที่สุดที่มีไข่นอกกระดอง เท่ากับ 22.97 มิลลิเมตร เล็กกว่าปูแสมบริเวณโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมภาคปัตตานีอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (28 มิลลิเมตร) (Singkam, 2009) ในส่วนของฤดูวางไข่ พบว่ามีปูเพศเมียสมบูรณ์เพศ 35.03% ของปูเพศเมียทั้งหมด ตั้งแต่เดือนกันยายน ถึงเดือนธันวาคม โดยในเดือนกันยายนมีปริมาณปูเพศเมียที่สมบูรณ์เพศมากที่สุด (Table 5) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางสถิติ กล่าวคือปูแสมเพศเมียสมบูรณ์เพศในภาพรวม เท่ากับร้อยละ 36.53 (เส้นสีแดง) โดยที่ในเดือนกันยายน - ธันวาคม มีปูแสมเพศเมียที่อยู่ในระยะนี้สูงกว่าค่าเฉลี่ยรวม ในขณะที่เดือนอื่นๆ มีค่าต่ำกว่า (Figure 3) สอดคล้องกับปริมาณน้ำฝนที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงนี้ด้วยส่งผลให้ปริมาณและชนิดอาหาร และปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น ความเค็มของน้ำทะเล อุณหภูมิ และอื่นๆ ในป่าชายเลนซึ่งมีอิทธิพลโดยตรงทำให้ปูเพศเมียมีพฤติกรรมจับ

คูผสมพันธุ์ (Koolkalya *et al.*, 2006) พัฒนารังไข่ ไข่ไข่ เลี้ยงดูตัวอ่อน และพ่อแม่ปูมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากขึ้น ในช่วงนี้ สอดคล้องกับปริมาณเพศเมียในช่วงนี้มีมากกว่าเพศผู้ ส่วนการศึกษาปูผสมในพื้นที่อื่น ๆ พบว่าปูผสมมีฤดูผสมพันธุ์หรือวางไข่ และมีไข่นอกกระดองตลอดทั้งปี แต่พบ 2 ช่วงที่มีความชุกชุม ได้แก่ บริเวณโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี ปูผสมวางไข่ช่วงแรก ในฤดูฝนตั้งแต่เดือนสิงหาคม ถึงเดือนตุลาคม และช่วงที่ 2 พบในช่วงหน้าแล้ง (เดือนมีนาคม – เมษายน) (Singkham, 2009) ในขณะที่ Tien songrusmee (2009) พบว่ามี 2 ช่วง คือ ช่วงแรกเดือนเมษายน – กรกฎาคม และช่วงที่ 2 กันยายน – พฤศจิกายนของปี หลังจากน้ำทะเลขึ้นสูงสุด และเมื่อน้ำทะเลเริ่มลง ปูก็จะเคลื่อนลงไปใต้น้ำแล้วไข่ให้ลอยออกสู่ปากแม่น้ำ และกระจายสู่ทะเลต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบฤดูวางไข่หรือฤดูผสมพันธุ์กับปูชนิดอื่นพบว่า สอดคล้องกับฤดูวางไข่ของปูแบ็น (*Varuna litterata*) (Srivilai *et al.*, 2008) และปูก้ามดาบชนิด *U. (Deltuca) forcipata* (Pahurat, 1983) ในขณะที่สอดคล้องกับช่วงที่ 2 ของฤดูวางไข่ของปูผสมก้ามขาว (*Episesarma versicolor*) และปูทะเลชนิด *Scylla serrata* (Kongchai *et al.*, 2013) และอยู่ระหว่างฤดูวางไข่ของปูก้ามดาบชนิด *U. perplexa* (Mookui *et al.*, 2012) และ *U. (Deltuca) dussumieri spinata* (Pahurat, 1983) แต่แตกต่างกับฤดูวางไข่ของปูผสมภูเขา (*Geosesarma krathing*) (Ruengphrathuengsuka *et al.*, 2009) เป็นต้น

Table 5 Percentage of sexual maturation female and immature mangrove crab (*Episesarma mederi*) collected from Pattani bay during study period

Month	Sexual maturity female			Sexual Immaturity female			
	Ovarian stage		%	Ovarian stage			%
	Berried female	4		3	2	1	
Aug 2013	15	12	2.18	20	23	32	6.07
Sep 2013	106	17	9.95	16	7	15	3.07
Oct 2013	63	1	5.18	11	7	20	3.07
Nov 2013	94	1	7.69	3	2	12	1.38
Dec 2013	75	0	6.07	9	4	22	2.83
Jan 2014	13	0	1.05	16	9	71	7.77
Feb 2014	1	0	0.08	0	7	74	6.55
Mar 2014	0	6	0.49	32	21	33	6.96
Apr 2014	1	11	0.97	12	16	45	5.91
May 2014	3	12	1.21	27	12	42	6.55
Jun 2014	0	0	0.00	7	17	70	7.61
Jul 2014	0	2	0.16	5	12	72	7.20
Total	371	62	-	158	137	508	-
%	30.02	5.02	35.03	12.78	11.08	41.10	64.97

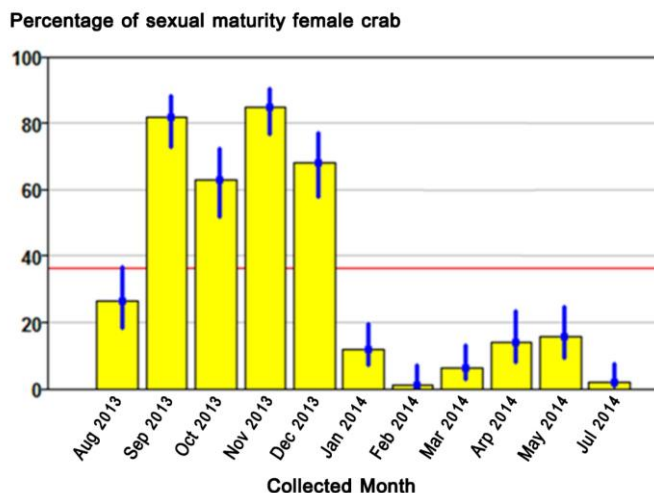


Figure 3 Show 95% Confidence intervals for predictions of female sexual maturity of logistic regression and percentage of month of female mangrove crabs. (Female crab could not be caught in June, red line denoted overall mean, blue line denoted 95% confidence intervals for female sexual maturity)

สรุปผลการศึกษา

ปูแสมในพื้นที่อ่าวปัตตานี มีความกว้างกระดองเฉลี่ย 31.35 ± 3.62 มิลลิเมตร (17.41 - 46.50 มิลลิเมตร) น้ำหนักเฉลี่ย 26.28 ± 10.49 กรัม (5.20 - 80.90 กรัม) โดยปูแสมเพศผู้ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าเพศเมีย ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกระดองกับน้ำหนักตัวของปูทั้งหมดมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ พบว่าเฉพาะในปูเพศเมียความกว้างกระดองกับน้ำหนักมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ในขณะที่อัตราส่วนเพศเป็นไปตามทฤษฎีของธรรมชาติ และความกว้างกระดองเริ่มแรกสืบพันธุ์ของปูแสมที่เล็กที่สุดที่มีไข่นอกกระดอง ประมาณ 22.97 มิลลิเมตร ส่วนขนาดความกว้างกระดองของปูแสมเพศเมียที่มีเซลล์สืบพันธุ์ในระยะสมบูรณ์เพศร้อยละ 50 เท่ากับ 37.80 มิลลิเมตร ปูแสมจะเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ประมาณปลายเดือนกรกฎาคม หลังจากนั้นประมาณต้นเดือนสิงหาคมของปี จะเริ่มพบปูแสมมีไข่นอกกระดองและจะเพิ่มจำนวนมากขึ้น ซึ่งในเดือนกันยายนเป็นเดือนที่พบปูแสมไข่นอกกระดองมากที่สุดจนกระทั่งถึงเดือนธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนมากที่สุดเช่นกันจัดเป็นช่วงที่มีความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร และปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ที่เอื้อต่อการอนุบาลตัวอ่อน จึงเป็นช่วงที่ปูเพศเมียวางไข่มากที่สุดในรอบปี

ดังนั้น หากมีการบริหารจัดการเพื่อให้เกิดความยั่งยืนในพื้นที่ป่าชายเลนอ่าวปัตตานี ควรมีข้อกำหนดงดเว้นจับปูในฤดูผสมพันธุ์ (กันยายน - ธันวาคม) หรือหยุดจับในช่วงเวลาที่ปูวางไข่ (เดือนพฤศจิกายน - ธันวาคม) เพื่อสร้างความสมดุลของระบบนิเวศทางธรรมชาติ พร้อมการอนุรักษ์พื้นที่แหล่งอาศัยหรือป่าชายเลนอันจักส่งผลต่ออาชีพของคนจับปูแสม และผู้บริโภคปูแสมที่ยั่งยืนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับสนับสนุนงบประมาณวิจัย ประเภททุนพัฒนานักวิจัย จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี พ.ศ. 2556 ขอขอบคุณ รศ.ดร.ชูกีรี หะยีสาแม ที่กรุณาให้คำแนะนำแก้ไขต้นฉบับ ดร.เกื้อ ฤทธิบุญรณ์ และนายชูไฮมี บุญยา ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และเจ้าหน้าที่ประจำสถานีอุตุนิยมวิทยา จังหวัดปัตตานี ที่สนับสนุนข้อมูลน้ำฝนที่ตกในพื้นที่ศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- Arluanek, O. 2002. Some aspects on biology of grapsid crab (*Perisesarma eumolpe*). Special problem of bachelor degree in Aquatic Science, Burapha University, Chonburi. 45 p. [in Thai]
- Chitarasing, S. 1976. A preliminary study on ecological life history and some behaviour of *Sesarma* (*Sesarma*) *Mederi* (H. Milne-Edwards). Master of Science, Zoology, Graduate School, Kasetsart University. Bangkok. 61p. [in Thai]
- Chuensri, C. 1982. Vinegar crab in Thailand Sea. Faculty of Fishery, Kasetsart University. Bangkok. 149 p. [in Thai]
- Keeratihuttayakorn, S., and Songsri, A. 2014. Study of level of Lead and Cadmium contaminated in Imported Salted *Sesarma Mederi* in Ranong Province. FDA Journal. 21(3): 47-56. [in Thai]
- Kongchai, T., Wiboonpan, S., Chottaammo, U., and Chompuwon, S. 2013. Some biology of mud crab, *scylla serrata* (Forsk., 1755) in Nakhon Si Thammarat bay. Technical paper No 19/2011. Southern Marine Fisheries Research and Development Center (Songkhla). 20 p. [in Thai]
- Koolkalya, S., Havanont, W., Poomikong, P., and Darbanandana, T. 2006. Reproductive biology of orange mud crab, *Scylla olivacea* (Herbst, 1796) in Ranong biosphere reserved area, Thailand. Proceedings of 44th Kasetsart University Annual Conference: Science, Bangkok, January 30th – February 2nd 2006. 29-36. [in Thai]
- Machjajib, S. 1973. Grapsid crabs in the gulf of Thailand. Master Thesis of Chulalongkorn University. Bangkok. 229 p. [in Thai]
- Marine Species Identification Portal. 2015. Crabs of Japan. Available from http://species-identification.org/species.php?species_group=crabs_of_japan&id=1720 [15 January 2015]
- Mookui, P., Paphavasit, N., and Sudtongkong, C. 2012. Reproductive Biology of Fiddler Crab *Uca perplexa* (H. Milne Edwards, 1837) in Klong Sikao Mangrove Forest, Trang Province. RMUTSV Res J. 4(2): 10-22. [in Thai]

- Naiyanetr, P. 2007. Checklist of crustacean fauna in Thailand (Decapoda, Stomatopoda, Anostraca, Myodocopa and Isopoda). Office of Environmental Policy and Planning. Bangkok. 196 p.
- Ng, P.K.L., Guinot, D., and Davie, P.J.F. 2008. *Systema brachyurorum* : part I an annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. Raffles Bull. Zool. 17: 1-286.
- Pahurat, K. 1983. Behavior and Ecology of two species of Fiddler crabs: *Uca (Deltuca) Forcipata* (Adams & White, 1848) *Uca (Deltuca) Dussumieri spinata* (H. Milne-Edwards, 1852). Master Thesis of Kasetsart University. Bangkok. 209 p. [in Thai]
- Pechkeo, S. 2007. Guideline for mangrove area management in Amphoe Yaring, Changwat Pattani. Master Thesis Prince of Songkla University. Songkhla. 295 p. [in Thai]
- Poovachiranon, S., and Tantichodok, P. 1991. The role of Sesarmid crabs in the mineralization of leaf litter of *Rhizophora apiculata* in a mangrove, Southern Thailand. Phuket mar. biol. Cent. Res. Bull. 56: 63-74.
- Promkead, B., Promkead, J., and Ontong, U. 2012. Community participation in conservation and rehabilitation of mangrove crab population in mangrove area of Nakhon Si Thammarat Province. [Online], Available from <http://202.29.33.134:8080/dspace/handle/123456789/1430> [15 January 2016] [in Thai]
- Ruengphrathuengsuka, K., Damrongrotwattana, P., and Machjajib, S. 2009. Preliminary study of some Biology and Ecology of Tree-climbing crab (*Geosesarma krathing* Ng and Naiyanetr, 1992) (Crustacea: Brachyura: Grapsidae). Proceedings of 44th Kasetsart University Annual Conference: Science, Bangkok, January 30th – February 2nd 2006. 333-338. [in Thai]
- Singkham, P. 2009. Fecundity, hatchability, Growth and survival of Sesarmid crabs (*Episesarma versicolor*) Collected from mangrove area, the king royalty initiated Leam Phak Bia environmental and development project. Master Thesis Kasetsart University. Bangkok. 142 p. [in Thai]
- Srivilai, D., Kongsak, M., Payom, P., Soontonkig, Y., Chantarak, S., and Noikongka, W. 2008. Some biology and migration of green tidal crab (*Varuna litterata*) along We Ru River, phanthaburi Province. [Online], Available from http://elibrary.trf.or.th/project_content.asp?PJID=RDG5120081 [15 January 2016] [in Thai]
- Suwansanit, T. 2007. Development and succession of *Neoepisesarma mederi* (H. Milne Edward, 1853) in Mangrove area of Pak Panang bay of Nakhon Si Thammarat Province. Master Thesis of Chulalongkorn University. Bangkok. 125 p. [in Thai]

- Tiengsongrusmee, B. 2009. Mangrove Crabs: Crisis, Rearing Knowledge Sharing and Community Collaboration. The Thailand Research Fund (TRF). 104 p. [in Thai]
- Tiengsongrusmee, B., and Pratoomchat, B. 2002. Mud Crabs: Biology, Conservation and Sustainable aquaculture. The Thailand Research Fund (TRF). 264 p. [in Thai]
- Yeemasae, I., and Lertpongsombat, I. 2015. Application of Geographic Information System for Information Management of Mangrove Forest Area Change in Pattani Province. ASJ-PSU. 26(3):103-119. [in Thai]
- Zar, J.H. 1996. Biostatistical Analysis. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. 663 p.

การศึกษาอาหารธรรมชาติในกระเพาะของปลากดหัวโม่งจากการประมงพื้นบ้าน
บริเวณชุมชนชาวประมงบ้านท่าสะอ้าน ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
The study of natural food in the stomach of spotted catfish from the local fishery
community in Thasaan village, Phawong subdistrict, Muang district,
Songkhla province

ซีตียาเราะห์ สะอะ¹ วณาลี เกื้อคราม¹ และพงศธร จันทรรัตน์^{2*}

Seetiyaroh Sa-ah¹ Wanalee Kuakram¹ and Pongsaton Juntarut^{2*}

¹โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

²โปรแกรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

*Corresponding author E-mail: pongsaton634@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาอาหารธรรมชาติในกระเพาะของปลากดหัวโม่ง (*Arius maculatus* Thunberg, 1792) จากการประมงพื้นบ้านบริเวณชุมชนชาวประมงบ้านท่าสะอ้าน ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ในเขตพื้นที่ทะเลสาบสงขลาตอนล่าง โดยเก็บตัวอย่างปลาทุกเดือนระหว่างเดือนมกราคมถึงมีนาคม พ.ศ. 2558 พบว่าปลามีขนาดค่อนข้างใกล้เคียงกัน และผลการศึกษาอาหารในกระเพาะปลากดหัวโม่งพบว่ามีสัตว์จำพวกกุ้งปู (crustaceans) เป็นอาหารหลัก โดยร้อยละความถี่ของอาหารแต่ละชนิดที่พบในกระเพาะอาหารปลา ประกอบด้วย ทาไนดาเซีย (Tanaidacea) และกุ้งฝอย (Upogebiidae) มากที่สุด รองลงมาคือ กุ้งเดิน (Amphipoda), กุ้งดีดขันธ์ (Alpheidae), ไข่ปลา (fish egg), กุ้งเคย (Mysidae), แมลงสาบทะเล (Isopoda), หอยสองฝา (Bivalvia), ปลาวัยอ่อน (fish larvae) และหนอนตัวกลม (Nematoda) ตามลำดับ ในขณะที่ร้อยละของปริมาณอาหารแต่ละชนิดในกระเพาะปลา พบว่ามีทาไนดาเซีย กุ้งเดิน และกุ้งเคยมากที่สุด รองลงมาคือ กุ้งฝอย ไข่ปลา กุ้งดีดขันธ์ แมลงสาบทะเล หอยสองฝา ปลาวัยอ่อน และหนอนตัวกลม ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสัตว์หน้าดินเป็นอาหารธรรมชาติหลักของปลากดหัวโม่งในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง

คำสำคัญ: ทะเลสาบสงขลาตอนล่าง ปลากดหัวโม่ง องค์ประกอบของอาหารในกระเพาะ สัตว์หน้าดิน

Abstract

The study was aimed to determine the natural food in the stomach of spotted catfish (*Arius maculatus* Thunberg, 1792) from the local fishery community around Thasaan village, Phawong subdistrict, Muang district, Songkhla province in the lower part of Songkhla lagoon. The fish samples were collected monthly from January to March 2015. Zootechnical data revealed that the fish collected each month showed similarity of the total length and wet body weight. Crustaceans were mostly the major composition in the stomach contents of collected fish. The high percentages

in frequency of occurrence were tanaidacean (Tanaidacea) and mud shrimp (Upogebiidae), followed by amphipod (Amphipoda), snapping shrimp (Alpheidae), fish egg, opossum shrimp (Mysidae), isopod (Isopoda), bivalve (Bivalvia), fish larvae and nematode (Nematoda), respectively. Moreover, high percentages of numerical composition were tanaidacean, amphipod and opossum shrimp, followed by mud shrimp, fish egg, snapping shrimp, isopod, bivalve, fish larvae and nematode, respectively. The overall results showed that benthic fauna play an important role as a major natural food for spotted catfish in the lower Songkhla lagoon.

Keywords: Lower Songkhla lagoon, Spotted catfish, Stomach contents, Benthic fauna

บทนำ

ทะเลสาบสงขลาเป็นแหล่งน้ำขนาดใหญ่ที่เข้าเข้าไปในส่วนของแผ่นดินใหญ่บริเวณภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย ซึ่งมีเนื้อที่ความยาวและความกว้างประมาณ 75 กิโลเมตร และ 20 กิโลเมตร ตามลำดับ มีพื้นที่น้ำประมาณ 1,040 ตารางกิโลเมตร ครอบคลุมอยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดสงขลาและพัทลุง โดยทะเลสาบสงขลามีลักษณะแตกต่างจากทะเลสาบอื่น ๆ เนื่องจากมีพื้นที่แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ทะเลสาบตอนบน ทะเลสาบตอนกลาง และทะเลสาบตอนล่าง ซึ่งทะเลสาบส่วนล่างสุดมีปากทางเปิดออกสู่ทะเลอ่าวไทยที่มีลักษณะเป็นร่องน้ำหรือปากแม่น้ำ ส่งผลให้น้ำในทะเลสาบสงขลาได้รับอิทธิพลจากกระแสน้ำขึ้นน้ำลงจากทะเลเปิด รวมทั้งน้ำจืดและน้ำท่าจากแผ่นดินใหญ่ ทะเลสาบสงขลาทั้ง 3 ส่วน จึงมีความเค็มของน้ำแต่ละบริเวณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับฤดูกาลและระยะทางใกล้และไกลจากปากทะเลสาบ ดังนั้นจึงเรียกระบบนิเวศแหล่งน้ำลักษณะนี้ว่า สงขลา lagun (Songkhla lagoon) (Angsupanich, 2012) โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกพื้นที่ศึกษาในเขตทะเลสาบสงขลาตอนล่างที่มีพื้นที่ส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในเขตจังหวัดสงขลา ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเค็มของน้ำมากกว่าตอนอื่น ๆ แต่ในช่วงฤดูฝนสามารถส่งผลให้ความเค็มของน้ำลดต่ำลงเนื่องจากการเจือจางของน้ำจืดได้เช่นกัน (Riamcharoen *et al.*, 2013) โดยมีรายงานความเค็มของน้ำในทะเลสาบสงขลาตอนล่างบริเวณพื้นที่บ้านเกาะยอ และบ้านท่าสะอ้าน อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา มีความเค็มของน้ำในรอบปีอยู่ในช่วง 0.9-32.3 ส่วนในพันส่วน (part per thousand; ppt) (Tassamakorn and Angsupanich, 2014)

ทะเลสาบสงขลาจัดเป็นระบบนิเวศแหล่งน้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์ของแพลงก์ตอน (plankton) สาหร่ายขนาดใหญ่ (macroalgae) และพืชน้ำ (macrophyte) โดยเฉพาะทะเลสาบสงขลาตอนล่างสามารถพบป่าชายเลน (mangrove forest) (Angsupanich, 2012) รวมทั้งพืชน้ำจืดพวกหญ้าทะเล เช่น หญ้ากุ่มชายเข้ (Halodule pinifolia), หญ้าใบมะกรูด (Halophila ovalis) และหญ้าใบพาย (Halophila beccarii) (Angsupanich, 1996) ซึ่งมีความสำคัญเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย แหล่งอาหาร แหล่งขยายพันธุ์ของสัตว์น้ำและสัตว์บก พร้อมทั้งทะเลสาบสงขลายังเป็นระบบนิเวศแหล่งน้ำที่มีความซับซ้อนของห่วงโซ่อาหารที่มีการกินต่อกันเป็นทอด ๆ โดยเริ่มจากฐานของห่วงโซ่คือผู้ผลิตเบื้องต้นจำพวกแพลงก์ตอนพืช (phytoplankton) ที่มีความหลากหลายชนิด ได้แก่ ไดอะตอม (diatom), สาหร่ายสีเขียว (green algae), ไดโนแฟลเจลเลต

(dinoflagellate), สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (bluegreen algae), สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (goldenbrown algae) และยูกลีนาออยด์ (euglenoid) (Angsupanich and Rakkheaw, 1997) และผู้บริโภคนั้นต้นในกลุ่มแพลงก์ตอนสัตว์ (zooplankton) ที่ประกอบไปด้วยสัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก เช่น สัตว์จำพวกกุ้งปู กุ้ง (crustaceans), สัตว์เซลล์เดียว (protozoa), โรติเฟอร์ (rotifer) และปลาวัยอ่อน เป็นต้น (Angsupanich, 1997) รวมทั้งสัตว์พื้นใต้น้ำหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าสัตว์หน้าดิน (benthic fauna) ได้แก่ ใส้เดือนทะเล (polychaete) และสัตว์จำพวกกุ้งปู กุ้ง เป็นต้น (Angsupanich *et al.*, 2005a) ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีบทบาทสำคัญเป็นอาหารธรรมชาติของสัตว์น้ำนานาชนิด ก่อให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ทางชีวภาพในระบบนิเวศทะเลสาบสงขลา และชักนำให้มีการประกอบอาชีพประมงพื้นบ้านที่มีการจับสัตว์น้ำมาบริโภคในครัวเรือนและค้าขายกันบริเวณรอบ ๆ พื้นที่ทะเลสาบสงขลา (Boonprakarn *et al.*, 2013)

จากการสำรวจของคณะผู้วิจัยพบว่าตลาดนัดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดสงขลา และชุมชนขายสินค้าทางการประมงบริเวณพื้นที่ตำบลเกาะยอ และตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา สามารถพบเห็นการค้าขายสัตว์น้ำที่จับได้จากทะเลสาบสงขลาตอนล่าง เช่น ปลากดหัวโม่ง ปลากดหัวอ่อน ปลากดขี้ลิง ปลากะบอก ปลากะพงขาว ปลาดูตะกั่ว ปลากะเบน กุ้งหัวแข็ง กุ้งหัวมัน กุ้งตะกาด กุ้งแชบ๊วย กุ้งก้ามกราม และปลูด้า เป็นต้น โดยเฉพาะชุมชนชาวประมงบ้านท่าสะอ้าน ซึ่งมีการประกอบอาชีพประมงขนาดเล็กในชุมชนด้วยการใช้เครื่องมือประมงพื้นบ้านที่มีลักษณะเรียบง่าย เช่น อวนลอย ไช้หนัง ลอบ แห เบ็ด และยังเป็นลักษณะการจับสัตว์น้ำด้วยการใช้แรงงานคนในครอบครัวเป็นหลัก โดยจากการสำรวจเบื้องต้นพบว่าปลากดหัวโม่ง (*Arius maculatus* Thunberg, 1792) เป็นผลผลิตที่สำคัญจากการทำประมงพื้นบ้านบริเวณดังกล่าว และมีวางขายทั่วไปในร้านแผงลอยในเขตพื้นที่ชุมชนชาวประมงพื้นบ้านบริเวณบ้านท่าสะอ้าน ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ปลากดหัวโม่งจึงจัดเป็นปลาสำคัญที่สามารถสร้างรายได้ให้กับชาวประมงพื้นบ้านที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าวได้เป็นอย่างดี ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะปลากดหัวโม่งจึงเป็นสิ่งสำคัญที่สามารถบ่งบอกถึงคุณค่าและปริมาณของอาหารธรรมชาติแต่ละชนิดที่เชื่อมโยงต่อปริมาณผลผลิตของปลาชนิดนี้ โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของอาหารสัตว์น้ำที่มีความสำคัญในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง และสามารถเชื่อมโยงสู่การอนุรักษ์แหล่งที่อยู่อาศัยของอาหารธรรมชาติเหล่านั้น ซึ่งส่งผลต่อความยั่งยืนของการประกอบอาชีพประมงพื้นบ้านที่สร้างรายได้ให้คนในครัวเรือนที่อาศัยอยู่รอบ ๆ ทะเลสาบสงขลา

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างปลากดหัวโม่ง

การศึกษาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารของปลากดหัวโม่งที่จับได้จากการประมงพื้นบ้านบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่างในเขตพื้นที่จังหวัดสงขลา ได้มีการดำเนินการเก็บตัวอย่างปลาในช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม พ.ศ. 2558 กำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างบริเวณชุมชนชาวประมงพื้นบ้านในเขตบ้านท่าสะอ้าน ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา โดยเลือกซื้อปลากดหัวโม่งสดที่มีลักษณะท้องอูมมีอาหาร

ในกระเพาะ จากนั้นนำตัวอย่างปลามาคัดเลือกแล้วมาแช่เย็น ก่อนการวัดความยาวของปลาจากปลายสุดของด้านหัวถึงปลายหาง (total length; เซนติเมตร) และชั่งน้ำหนักตัว (wet body weight; กรัม)

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารในกระเพาะปลากดหัวโม่

การศึกษาในครั้งนี้ได้ดัดแปลงมาจากการศึกษาของ Angsupanich *et al.* (2005b) โดยเก็บตัวอย่างปลากดหัวโม่ที่มีอาหารในกระเพาะสมบูรณ์จำนวน 30 ตัว/เดือน จากการประมงพื้นบ้านบริเวณชุมชนชาวประมงบ้านท่าสะอ้าน ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา โดยเก็บตัวอย่างปลาเป็นเวลา 3 เดือนระหว่างเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม พ.ศ. 2558 ซึ่งรวมตัวอย่างปลาทั้งหมด 90 ตัว ตลอดระยะเวลาการศึกษา จากนั้นทำการผ่าท้องปลากดหัวโม่แต่ละตัว แล้วตัดกระเพาะอาหารและแยกอาหารในกระเพาะทั้งหมดด้วยการฉีดน้ำกลั่นล้างลงในจานแก้ว จากนั้นทำการดองตัวอย่างอาหารด้วยฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำตัวอย่างดังกล่าวมาตรวจสอบและจัดจำแนกกลุ่มภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยการเปรียบเทียบฐานวิทยาจากเอกสารอ้างอิงทางวิชาการ พร้อมทั้งนับจำนวนองค์ประกอบอาหารแต่ละกลุ่มที่พบในกระเพาะของปลากดหัวโม่แต่ละตัว แล้วคำนวณหาร้อยละความถี่ของอาหารแต่ละชนิด และร้อยละของปริมาณอาหารแต่ละชนิดในกระเพาะ โดยมีสูตรสมการคำนวณ ดังนี้

2.1 การศึกษาร้อยละความถี่ของอาหารแต่ละชนิดที่พบในกระเพาะปลากดหัวโม่

$$\text{Frequency of occurrence} = 100 \times N_p/N'$$

เมื่อ N_p คือ จำนวนของกระเพาะที่พบอาหารชนิด p

N' คือ จำนวนกระเพาะปลาทั้งหมดที่ใช้วิเคราะห์ในแต่ละเดือน

2.2 การศึกษาร้อยละของปริมาณอาหารแต่ละชนิดในกระเพาะปลากดหัวโม่หนึ่งตัว

$$\text{Numerical composition} = 100 \times p_i/P$$

เมื่อ p_i คือ จำนวนตัวของอาหารชนิด i

P คือ จำนวนตัวของอาหารทุกชนิดรวมกัน

ผลการวิจัย

1. ความยาวและน้ำหนักของปลากดหัวโม่

ปลากดหัวโม่ที่ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาองค์ประกอบอาหารในกระเพาะครั้งนี้ได้ทำการชั่งน้ำหนักเปียก (กรัม) และวัดความยาวเหยียดตั้งแต่ปลายหัวจนถึงปลายหาง (เซนติเมตร) ของปลาตัวอย่างจำนวน 30 ตัว/เดือน พบว่าปลากดหัวโม่ที่จับได้ในแต่ละเดือนมีความยาวเหยียดเฉลี่ยใกล้เคียงกัน โดยตัวอย่างของปลาที่จับได้ในช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม มีความยาวเหยียดเฉลี่ย 22.67 ± 2.29 , 22.97 ± 2.98 และ 21.83 ± 2.18 เซนติเมตร/ตัว ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างปลากดหัวโม่ที่จับได้ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงมีนาคมรวมปลาตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัว มีความยาวเหยียดเฉลี่ย 22.49 ± 2.54 เซนติเมตร/ตัว (Table 1) ในขณะที่ข้อมูลน้ำหนักตัวเปียกของปลากดหัวโม่มีน้ำหนักเฉลี่ยค่อนข้างมากในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ (130.00 ± 46.85 กรัม/ตัว) รองลงมาเป็นปลาที่จับได้ในช่วงเดือนมกราคม (120.33 ± 37.48 กรัม/ตัว) และ

มีนาคม (99.00 ± 27.99 กรัม/ตัว) ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างปลากดหัวโม่ที่จับได้ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงมีนาคม รวมปลาตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัว มีน้ำหนักตัวเปียกเฉลี่ย 116.44 ± 39.97 กรัม/ตัว (Table 1)

Table 1 Total length and wet body weight of spotted catfish collected each month during January to March 2015 (n=30 of each month)

Sampling times	Total length (cm) (mean±S.D.)	Wet body weight (g) (mean±S.D.)
January	22.67±2.29	120.33±37.48
February	22.97±2.98	130.00±46.85
March	21.83±2.18	99.00±27.99
Average	22.49±2.54	116.44±39.97

2. ชนิดและปริมาณอาหารในกระเพาะปลากดหัวโม่

การศึกษาในครั้งนี้พบอาหารธรรมชาติในกระเพาะของปลากดหัวโม่ส่วนใหญ่เป็นสัตว์หน้าดินจำพวก กุ้งปูกุ้ง ได้แก่ ทาโนดาเซียน กุ้งเต็น กุ้งฝี่ กุ้งดิดชัน และแมลงสาบทะเล นอกจากนี้ยังพบสัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น ๆ ได้แก่ กุ้งเคย หอยสองฝา และหนอนตัวกลม ในขณะที่ไขปลาและปลาวัยอ่อนพบปริมาณน้อยในกระเพาะอาหารของปลาชนิดนี้ โดยจากผลการศึกษาร้อยละความถี่ของอาหารแต่ละชนิดที่พบในกระเพาะปลากดหัวโม่ ประกอบด้วย ทาโนดาเซียน ($75.56 \pm 10.18\%$) และกุ้งฝี่ ($71.11 \pm 13.88\%$) มากที่สุด รองลงมาเป็นกุ้งเต็น ($36.67 \pm 12.02\%$), กุ้งดิดชัน ($24.44 \pm 17.11\%$), ไขปลา ($13.33 \pm 3.33\%$), กุ้งเคย ($11.11 \pm 11.71\%$), แมลงสาบทะเล ($4.44 \pm 1.92\%$), หอยสองฝา ($3.33 \pm 3.33\%$), ปลาวัยอ่อน ($1.11 \pm 1.92\%$) และหนอนตัวกลม ($1.11 \pm 1.92\%$) ตามลำดับ (Table 2) ในขณะที่การศึกษาร้อยละของปริมาณอาหารแต่ละชนิดในกระเพาะปลากดหัวโม่ พบว่ามีทาโนดาเซียน ($27.59 \pm 12.95\%$), กุ้งเต็น ($25.78 \pm 34.36\%$) และกุ้งเคย ($25.51 \pm 22.22\%$) มากที่สุด รองลงมาเป็นกุ้งฝี่ ($11.48 \pm 3.70\%$), ไขปลา ($4.25 \pm 5.32\%$), กุ้งดิดชัน ($1.40 \pm 0.93\%$), แมลงสาบทะเล ($0.32 \pm 0.18\%$), หอยสองฝา ($0.09 \pm 0.08\%$), ปลาวัยอ่อน ($0.02 \pm 0.04\%$) และหนอนตัวกลม ($0.02 \pm 0.04\%$) ตามลำดับ (Table 3)

Table 2 The percentage of frequency of occurrence of stomach contents collected from spotted catfish during January to March 2015

Stomach contents	Frequency of occurrence (%)			Mean±S.D.
	January	February	March	
Tanaidacean	66.67	73.33	86.67	75.56±10.18
Mud shrimp	60.00	86.67	66.67	71.11±13.88
Amphipod	33.33	26.67	50.00	36.67±12.02
Snapping shrimp	43.33	20.00	10.00	24.44±17.11
Fish egg	10.00	16.67	13.33	13.33±3.33
Opossum shrimp	0.00	10.00	23.33	11.11±11.71
Isopod	3.33	3.33	6.67	4.44±1.92
Bivalve	3.33	0.00	6.67	3.33±3.33
Fish larvae	0.00	0.00	3.33	1.11±1.92
Nematode	0.00	0.00	3.33	1.11±1.92

Table 3 The percentage of numerical composition of stomach contents collected from spotted catfish during January to March 2015

Stomach contents	Percentage of numerical composition (%)			Mean±S.D.
	January	February	March	
Tanaidacean	21.96	18.42	42.41	27.59±12.95
Amphipod	65.36	8.33	3.64	25.78±34.36
Opossum shrimp	0.00	35.92	40.63	25.51±22.22
Mud shrimp	9.27	15.75	9.41	11.48±3.70
Fish egg	0.43	10.33	2.00	4.25±5.32
Snapping shrimp	2.35	0.50	1.35	1.40±0.93
Isopod	0.51	0.17	0.29	0.32±0.18
Bivalve	0.13	0.00	0.14	0.09±0.08
Fish larvae	0.00	0.00	0.07	0.02±0.04
Nematode	0.00	0.00	0.07	0.02±0.04

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. ความยาวและน้ำหนักของปลากดหัวโม่

การศึกษาปริมาณปลากดหัวโม่ด้วยการสำรวจเบื้องต้นจากชาวประมงพื้นบ้านที่ทำการประมงอวนลอยและชายในแต่ละครอบครัวบริเวณพื้นที่ศึกษาในเขตพื้นที่บ้านท่าสะพาน อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา พบว่าปริมาณการจับปลากดหัวโม่ในแต่ละเดือนตั้งแต่เดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม มีความเกี่ยวข้องกับ ความชุกชุมของอาหารธรรมชาติ ฤดูกาล ความเค็มของน้ำ และสภาพระบบนิเวศทะเลสาบสงขลา โดยจากการ สอบถามชาวประมงพื้นบ้านและแม่ค้าขายปลาในบริเวณนั้นได้กล่าวว่าในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคม ของทุกปี มักมีปลากดหัวโม่มากกว่าปลาชนิดอื่น ๆ เนื่องมาจากอิทธิพลของน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงไปตาม ฤดูกาลจึงมักพบปลาชนิดนี้มากในช่วงฤดูฝนของทุกปี ในขณะที่ Tassamakorn and Angsupanich (2014) รายงานว่าปลากดขี้ลิง (*Arius sagor*) และปลากดหัวโม่ มีความชุกชุมสม่ำเสมอตลอดทั้งปี แต่พบว่าปลากด หัวอ่อน (*Osteogeneiosus militaris*) มักมีความชุกชุมในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือในช่วงกลางเดือน ตุลาคมถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์ อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Angsupanich et al. (2005b) พบว่า ปลากดหัวอ่อนและปลากดหัวโม่ในทะเลสาบสงขลาค่อนข้างชุกชุมในช่วงฤดูฝนจนถึงปลายฤดูฝน ซึ่งเป็น ช่วงเวลาที่น้ำมีความเค็มลดลง จึงสามารถกล่าวได้ว่าปลากดหัวโม่เป็นปลาที่ค่อนข้างชอบอาศัยอยู่ในน้ำที่มี ความเค็มค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Musikasung et al. (2006) รายงานว่าปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) ในทะเลสาบสงขลาสามารถอาศัยอยู่ได้ในแหล่งน้ำที่มีความเค็มในช่วงกว้าง (euryhaline) คือพบได้ในบริเวณที่มีความเค็มตั้งแต่ประมาณ 9-24 ส่วนในพันส่วน ซึ่งสามารถแพร่กระจายได้ ในแต่ละบริเวณทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ตามช่วงเวลา ฤดูกาล และคุณภาพน้ำที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้ในช่วงฤดูร้อนระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายนปลาบางชนิดที่สามารถทนความเค็มใน ช่วงกว้างที่อาศัยอยู่บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่างมักจะมีการอพยพย้ายถิ่นฐานไปยังทะเลเปิดอ่าวไทยได้ เช่นกัน (Chesoh and Lim, 2008)

การวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารของปลากดหัวโม่ตั้งแต่เดือน มกราคมถึงมีนาคม พ.ศ. 2558 จากจำนวนตัวอย่างปลากดหัวโม่ทั้งหมด 90 ตัว พบว่าปลาที่จับได้ในช่วง เดือนกุมภาพันธ์มีขนาดค่อนข้างใหญ่ โดยมีความยาวเฉลี่ย 22.97 ± 2.98 เซนติเมตร/ตัว และมีน้ำหนัก เฉลี่ย 130.00 ± 46.85 กรัม/ตัว เมื่อเทียบกับขนาดของปลากดหัวโม่ที่จับได้ในเดือนมกราคม (22.67 ± 2.29 เซนติเมตร/ตัว และ 120.33 ± 37.48 กรัม/ตัว ตามลำดับ) และมีนาคม (21.83 ± 2.18 เซนติเมตร/ตัว และ 99.00 ± 27.99 กรัม/ตัว ตามลำดับ) ซึ่งหากเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Angsupanich et al. (2005b) ซึ่งเก็บ ตัวอย่างปลากด 2 ชนิด ครอบคลุม 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝนตกน้อย และฤดูฝนตกหนัก พบว่าปลากดหัว อ่อนในทะเลสาบสงขลาตอนล่างมีความยาวส้อมหาง (fork length) เฉลี่ยอยู่ในช่วง 20-21 เซนติเมตร/ตัว และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 103-123 กรัม/ตัว ในขณะที่ปลากดหัวโม่ที่จับได้จากทะเลสาบสงขลาตอนบนและ ตอนล่างมีความยาวส้อมหางเฉลี่ยประมาณ 18 เซนติเมตร/ตัว และมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 95-100 กรัม/ตัว ในขณะที่ Angsupanich and Siripech (2001) รายงานว่าปลากดหัวโม่ที่จับได้ในทะเลสาบสงขลาตอนบน

ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์มีความยาวเหยียดเฉลี่ยประมาณ 16 เซนติเมตร/ตัว ส่วนปลากดขีลิ่งที่จับได้ในทะเลสาบสงขลาตอนล่างในช่วงเดือนกุมภาพันธ์มีความยาวเหยียดเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร/ตัว อย่างไรก็ตาม Tapparak *et al.* (2009) ศึกษาชีววิทยาเบื้องต้นของปลากดหัวอ่อนในทะเลสาบสงขลาตอนบนในเขตจังหวัดพัทลุง พบว่าตัวอย่างปลาที่จับได้ในบริเวณน้ำจืดมีความยาวมาตรฐาน (standard length) น้อยกว่าปลาที่จับได้ในบริเวณน้ำกร่อย กล่าวคือปลากดหัวอ่อนจากทำขึ้นปลาบ้านปากประ ตำบลลำป่า อำเภอมืองจังหวัดพัทลุง มีความยาวมาตรฐานเฉลี่ยในช่วง 11-23 เซนติเมตร ส่วนปลากดหัวอ่อนจากทำขึ้นปลาอำเภอมืองจังหวัดพัทลุง พบว่าปลามีความยาวมาตรฐานเฉลี่ยในช่วง 13-24 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Tassamakorn and Angsupanich (2014) พบว่าน้ำหนักตัวและขนาดความยาวของปลากดขีลิ่ง ปลากดหัวโม่ง และปลากดหัวอ่อน ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคมระหว่างฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ มักมีขนาดใหญ่มากกว่าฤดูอื่นๆ ซึ่งขนาดของปลาและฤดูกาลจัดเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถส่งผลกระทบต่อการกินอาหารของปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติ ดังการสนับสนุนจากการศึกษาของ Poldee and Suvarnaksha (2013) รายงานอาหารธรรมชาติในกระเพาะและลำไส้ของปลาพลวง (*Neolissochilus stracheyi*) ที่อาศัยอยู่ในแม่น้ำว่าในเขตจังหวัดน่าน พบว่าในระบบทางเดินอาหารของปลาชนิดนี้มักมีองค์ประกอบของพืชเป็นหลัก ส่วนที่เหลือเป็นสาหร่าย ปรสิตร และแมลง โดยที่ขนาดของปลาและฤดูกาลเป็นปัจจัยในการเลือกกินอาหารของปลาชนิดนี้ด้วยเช่นกัน โดยปลาพลวงขนาดเล็ก (9-20 เซนติเมตร) มักเลือกกินสาหร่าย ส่วนปลาขนาดกลาง (21-30 เซนติเมตร) มักชอบกินแมลง ในขณะที่ปลาขนาดใหญ่ (31-40 เซนติเมตร) มักพบสัดส่วนของพืชเป็นองค์ประกอบอาหารหลักในกระเพาะ และหากพิจารณาอุปนิสัยการกินของปลาชนิดนี้ที่มีผลมาจากฤดูกาลพบว่าในช่วงฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์) ปลาชนิดนี้มักชอบกินแมลงและสาหร่ายเป็นอาหาร ส่วนฤดูร้อน (เดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม) มักพบปลาพลวงกินพืชเป็นอาหารหลัก

2. ชนิดและปริมาณอาหารในกระเพาะปลากดหัวโม่ง

สายใยอาหารในระบบนิเวศทางทะเลและชายฝั่งเป็นความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตที่มีการถ่ายทอดพลังงานจากผู้ผลิตไปยังผู้บริโภคด้วยการกินต่อกันเป็นทอด ๆ ซึ่งสิ่งมีชีวิตในกลุ่มแพลงก์ตอนและสัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลังทั้งที่ดำรงชีพอยู่ในมวลน้ำและอาศัยอยู่บริเวณหน้าดินย่อมจัดเป็นอาหารธรรมชาติที่สำคัญของผู้บริโภคชั้นสูงในสายใยอาหาร (Hajisamae, 2009) ซึ่งอาหารธรรมชาติเหล่านี้สามารถเชื่อมโยงสู่ผลผลิตทางการประมงได้เช่นกัน โดยการศึกษาขององค์ประกอบในกระเพาะอาหารของสัตว์น้ำจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้ทราบถึงอุปนิสัยการกินอาหารและชนิดของอาหารธรรมชาติของสัตว์น้ำชนิดนั้นๆ (Chittapalapong *et al.*, 2014a) ซึ่งปลาสำคัญทางการประมงมักมีการศึกษาองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะ ดังเช่น Chittapalapong *et al.* (2014b) ได้ศึกษาอุปนิสัยการกินอาหารของปลาหม่า (*Boesemania microlepis*) ในอ่างเก็บน้ำเขื่อนกระเสียว ซึ่งพบว่าองค์ประกอบในกระเพาะเป็นกลุ่มปลา กุ้ง แมลง หอย แพลงก์ตอนสัตว์ ไข่เดือนน้ำ และเห่าน้ำ ในขณะที่ในแหล่งน้ำธรรมชาติดังเช่นแม่น้ำสงครามตอนล่างในเขตจังหวัดสกลนครและนครพนมได้มีการศึกษาการกินอาหารของปลา 3 ชนิด จากการรายงานของ Chittapalapong *et al.* (2009)

พบว่าปลาสร้อยนกเขา (*Osteochilus hasselti*) เป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ที่มักกินสาหร่ายไฟ สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และแพลงก์ตอน ส่วนปลาแขยงใบข้าว (*Mystus singaringan*) และปลาแขยงข้างลาย (*Mystus mysticetus*) จัดได้ว่าเป็นปลากินเนื้อที่พบสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มตัวอ่อนแมลงเป็นองค์ประกอบอาหารหลักในกระเพาะอาหารของปลาทั้ง 2 ชนิด ซึ่งการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างปลากดหัวโม่จากการประมงพื้นบ้านบริเวณทะเลสาบสงขลา ซึ่งจัดเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติมีลักษณะเป็นทะเลสาบเปิดที่ได้รับอิทธิพลทั้งน้ำเค็มจากอ่าวไทยและน้ำจืดจากแผ่นดินใหญ่ โดยองค์ประกอบมีชีวิตในทะเลสาบสงขลาสามารถพบแพลงก์ตอนสัตว์ที่มีบทบาทเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ตัวอ่อนกุ้งปู กุ้ง ตัวอ่อนหอยโรติเฟอร์ และสัตว์เซลล์เดียว เป็นต้น รวมทั้งสัตว์จำพวกกุ้งปู กุ้งขนาดเล็กในกลุ่มโคพีพอด (copepod) ได้แก่ ฮาร์แพคติกอยด์ (harpacticoid) คาลานอยด์ (calanoid) และไซโคลพอยด์ (cyclopoid) (Angsupanich, 1997) อีกทั้งสัตว์หน้าดินก็จัดเป็นอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำในทะเลสาบสงขลาเช่นกัน ซึ่งในทะเลสาบสงขลามีสัตว์หน้าดินหลากหลายชนิดที่จัดเป็นอาหารธรรมชาติของสัตว์น้ำที่อาศัยในบริเวณดังกล่าว ดังการศึกษาค้นคว้าของ Angsupanich *et al.* (1997) รายงานความหลากหลายของสัตว์หน้าดินขนาดเล็ก (meiofauna) ที่อาศัยอยู่ในบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่าง พบว่ามีสัตว์เซลล์เดียวและหนอนตัวกลม (nematode) เป็นกลุ่มเด่น และยังพบสัตว์จำพวกกุ้งปู กุ้ง เช่น ฮาร์แพคติกอยด์โคพีพอด (harpacticoid copepod) ออสตราคอด (ostracod) กุ้งเดิน (amphipod) ทาไนดาเซีย (tanaidacean) รวมทั้งไส้เดือนทะเล หนอนปล้อง (oligochaete) หนอนตัวแบน (turbellarian) หอยฝาเดียว (gastropod) หอยสองฝา (bivalve) โรติเฟอร์ เป็นต้น ในขณะที่ Angsupanich and Kuwabara (1995) ศึกษาสัตว์หน้าดินขนาดใหญ่ (macrobenthic fauna) บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่าง พบสัตว์หน้าดินกลุ่มหลักเป็นไส้เดือนทะเล สัตว์จำพวกกุ้งปู กุ้ง และหอย ส่วนน้อยที่เหลือเป็นสัตว์ในกลุ่มหนอนตัวกลม หนอนปล้อง หนอนถั่ว และปลาวัยอ่อน ซึ่งสมาชิกหลักที่เป็นสัตว์จำพวกกุ้งปู กุ้ง ประกอบด้วย ทาไนดาเซีย (*Apseudes*) แมลงสาบทะเล (*Apathura*) กุ้งเดิน (*Eriopisa*, *Erichthonius*, *Grandidierella* เป็นต้น) และกุ้งผี (*Eupogebia*) จากการสนับสนุนด้วยผลการวิจัยในครั้งนี้ซึ่งได้ศึกษาองค์ประกอบในกระเพาะอาหารของปลากดหัวโม่บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่าง พบว่าปลาชนิดนี้เป็นปลา กินเนื้อที่ชอบกินสัตว์หน้าดินเป็นอาหารหลัก โดยผลการศึกษาร้อยละความถี่ของอาหารแต่ละชนิดที่พบในกระเพาะอาหาร พบว่ามีทาไนดาเซียและกุ้งผีมากที่สุด รองลงมาคือ กุ้งเดิน กุ้งตืดชัน ไข่ปลา กุ้งเคย แมลงสาบทะเล หอยสองฝา ปลาวัยอ่อน และหนอนตัวกลม ตามลำดับ ในขณะที่การศึกษาร้อยละของปริมาณอาหารแต่ละชนิดในกระเพาะอาหาร พบว่ามีทาไนดาเซีย กุ้งเดิน และกุ้งเคยมากที่สุด รองลงมาคือกุ้งผี ไข่ปลา กุ้งตืดชัน แมลงสาบทะเล หอยสองฝา ปลาวัยอ่อน และหนอนตัวกลม ตามลำดับ โดยจากผลการศึกษานี้สามารถบ่งชี้ได้ว่าปลากดหัวโม่ชอบกินสัตว์หน้าดินจำพวกกุ้งปู กุ้งในกลุ่มทาไนดาเซีย กุ้งเดิน และกุ้งผี และรวมถึงกุ้งเคยด้วยเช่นกัน โดยสอดคล้องกับการรายงานของ Angsupanich *et al.* (2005b) ได้ศึกษาองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะปลากดหัวอ่อนและปลากดหัวโม่ในทะเลสาบสงขลาตอนบนและตอนล่าง พบว่าปลาทั้ง 2 ชนิด ชอบกินสัตว์หน้าดินเป็นอาหารหลัก ได้แก่ ทาไนดาเซีย กุ้งเดิน หอยสองฝา ไส้เดือนทะเล และแมลงสาบทะเล ตามลำดับ และยังคงสอดคล้องกับการศึกษาของ Angsupanich and Siripech (2001)

ที่พบว่าปลากดหัวโม่ในทะเลสาบสงขลาตอนบนและปลากดขี้ลิงในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง มีอุปนิสัยชอบกินสัตว์หน้าดินจำพวกทากในดาเซียนเป็นอาหารหลักเช่นเดียวกัน ส่วนอาหารที่เหลือในกระเพาะปลาชนิดนี้พบว่าประกอบด้วยสัตว์จำพวกกุ้งปูกั้งชนิดอื่น ๆ หอย และปลาวัยอ่อน อีกทั้ง Angsupanich *et al.* (2010) ยังรายงานพบทากในดาเซียนชนิด *Ctenapseeudes sapensis* เป็นองค์ประกอบหลักในกระเพาะอาหารของปลากดหัวโม่ ปลากดคันหลาว (*Arius truncatus*) และปลากดหัวโม่ในทะเลสาบสงขลาตอนบน นอกจากนี้การศึกษาอาหารในกระเพาะของปลาสำคัญทางการประมงพื้นบ้านชนิดอื่น ๆ ในทะเลสาบสงขลา ก็ยังพบว่ากินสัตว์หน้าดินเป็นอาหารเช่นกัน โดยรายงานการวิจัยของ Sritakon *et al.* (2001) รายงานว่าปลาเห็ดโคนหรือปลาทราย (*Sillago sihama*) ที่จับได้ในบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่าง จัดว่าเป็นปลากินเนื้อที่มักชอบกินสัตว์หน้าดินจำพวกกุ้งปูกั้ง และไส้เดือนทะเล เป็นอาหารหลัก และอาหารชนิดอื่น ๆ ที่พบในกระเพาะปลาชนิดนี้เช่นกันคือ หนอนตัวแบน หนอนตัวกลม หนอนถั่ว มอลลัส (mollusk) เอกโคโนเดิร์ม (echinoderm) และคอร์ดเตท (chordate) ซึ่งปลาเห็ดโคนขนาดเล็กมักเลือกกินสัตว์จำพวกกุ้งปูกั้งขนาดเล็ก เช่น โคพีพอด และกั้งเดินเป็นต้น ส่วนปลาเห็ดโคนที่มีขนาดใหญ่กว่ามักกินไส้เดือนทะเลเป็นอาหารหลัก ในขณะที่ Musikasung *et al.* (2006) ได้ศึกษาองค์ประกอบของอาหารในกระเพาะปลาตะกอบในทะเลสาบสงขลาตอนกลางและตอนล่างพบว่าปลาชนิดนี้จัดเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ นอกจากปลาตะกอบกินสาหร่ายเป็นอาหารแล้ว ยังสามารถกินสัตว์จำพวกกุ้งปูกั้ง โดยเฉพาะกั้งเดินที่พบมากที่สุด รวมทั้งโคพีพอด กุ้ง กั้ง และตัวอ่อนแมลง รวมทั้งปลาขนาดเล็ก ไส้เดือนทะเล หอยขนาดเล็ก และยังพบแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหารของปลาตะกอบได้อีกด้วย นอกจากสัตว์หน้าดินแล้วยังพบว่าสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในกลุ่มแพลงก์ตองก็จัดเป็นอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำที่อาศัยในทะเลสาบสงขลา ดังเช่นการรายงานของ Aongsara *et al.* (2013) พบว่าปลาทองเทียวเกล็ดใหญ่ (*Parapocryptes serperaster*) กินแพลงก์ตองพืชในกลุ่มไดอะตอมเป็นอาหารหลัก ซึ่งปลาชนิดนี้จัดว่าเป็นผลผลิตสำคัญทางการประมงในบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่างเช่นกัน ซึ่งจากการรายงานผลการวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าสิ่งมีชีวิตในกลุ่มแพลงก์ตอง สาหร่าย และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมีบทบาทสำคัญเป็นอาหารธรรมชาติของปลาหลากหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการทำการประมงพื้นบ้านบริเวณทะเลสาบสงขลา โดยเฉพาะสัตว์หน้าดินจัดเป็นอาหารหลักของสัตว์น้ำในกลุ่มปลากด เช่น ปลากดหัวโม่ ปลากดหัวโม่ ปลากดขี้ลิง และปลากดคันหลาว นอกจากนี้ก็ยังพบว่าปลาเห็ดโคน และปลาตะกอบ ก็สามารถกินสัตว์หน้าดินเป็นอาหารได้เช่นกัน ดังนั้นการดูแลรักษาสุขภาพแวดล้อมในทะเลสาบให้อุดมสมบูรณ์ย่อมส่งผลต่อความชุกชุมของอาหารธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นแพลงก์ตอง สัตว์หน้าดิน และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ซึ่งส่งผลต่อความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์น้ำสำคัญทางการประมงหลายชนิดที่สามารถชักนำให้เกิดการประกอบอาชีพการประมงพื้นบ้านและการแปรรูปสัตว์น้ำของผู้คนที่อาศัยอยู่รอบ ๆ บริเวณทะเลสาบสงขลา

บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่างมีความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์น้ำกร่อยและสัตว์น้ำเค็มหลากหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นปลา กุ้ง ปู และหอย โดยจัดได้ว่าเป็นแหล่งผลิตอาหารที่สำคัญของผู้คนที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าว ซึ่งส่งผลให้ปริมาณการจับสัตว์น้ำจากการประมงในทะเลสาบสงขลาตอนล่างมากกว่าทะเลสาบตอนกลางและตอนบน (Chesoh, 2009) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าแนวโน้มการจับสัตว์น้ำมูลค่าต่ำสามารถเป็น

ดัชนีบ่งชี้ถึงการทำการประมงมากเกินไปในทะเลสาบสงขลา ซึ่งสามารถส่งผลทำให้เกิดความเสื่อมโทรมของระบบนิเวศทะเลสาบสงขลาได้ (Lateh *et al.*, 2010) อีกทั้งอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลบริเวณทะเลสาบสงขลา ยังสามารถสร้างผลกระทบเชิงลบต่อระบบนิเวศ ไม่ว่าจะเป็นการทำลายพื้นที่เพื่อขุดบ่อเลี้ยง และการปล่อยน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร (Tanavud *et al.*, 2001) อีกทั้งผลเสียจากการเลี้ยงปลาในกระชัง หรือแม้กระทั่งน้ำเสียจากบ้านเรือนแหล่งที่อยู่อาศัย การเกษตรกรรม การปศุสัตว์ โรงงานอุตสาหกรรม และการก่อสร้างสาธารณูปโภค ก็สามารถส่งผลกระทบเชิงลบต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำในทะเลสาบสงขลาได้เช่นกัน (Chesoh *et al.*, 2009; Chevavidagarn, 2006) ซึ่งสาเหตุดังกล่าวยังสามารถชักนำให้เกิดสภาวะสารอาหารในน้ำมากเกินไป มีผลทำให้เกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี (eutrophication) เนื่องจากการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณความหนาแน่นอย่างรวดเร็วของแพลงก์ตอนพืช สาหร่าย และพืชน้ำในบริเวณดังกล่าวได้อีกด้วย (Chevavidagarn, 2006; Suwanidcharoen and Liengcharernsit, 2012) ซึ่งปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีจึงสามารถส่งผลกระทบเชิงลบต่อการดำรงชีพของสัตว์น้ำนานาชนิดที่อาศัยอยู่ในทะเลสาบสงขลาด้วยเช่นกัน (Sompongchaiyakul *et al.*, 2004) อีกทั้งสารโลหะหนักบางชนิด เช่น โคบอลต์ (Co) นิกเกิล (Ni) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) แคดเมียม (Cd) ตะกั่ว (Pb) สารหนู (As) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) และอะลูมิเนียม (Al) ที่ปะปนมากับน้ำเสียจากแหล่งต่างๆ รอบทะเลสาบสงขลา สามารถสะสมอยู่ในตะกอนดินและตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่อของปลาและสัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลังจำพวก กุ้งปูกั้งที่อาศัยอยู่บริเวณหน้าดินในทะเลสาบสงขลาได้ (Pradit *et al.*, 2010) ซึ่งสารตกค้างเหล่านี้สามารถถ่ายทอดผ่านทางสายใยอาหารจนกระทั่งถึงผู้บริโภคชั้นสูง โดยผลกระทบเชิงลบที่กล่าวมาสามารถส่งผลกระทบต่อปริมาณและการแพร่กระจายของอาหารธรรมชาติที่สำคัญของสัตว์น้ำ ซึ่งเกี่ยวข้องกับปริมาณผลผลิตทางการประมงในทะเลสาบสงขลา และยังเชื่อมโยงสู่การประกอบอาชีพและการสร้างรายได้ให้กับชาวประมงท้องถิ่นที่อาศัยอยู่บริเวณทะเลสาบสงขลาอีกด้วย การจัดการดูแลรักษาสุขภาพแวดล้อมในทะเลสาบสงขลาจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องมีการสร้างแนวปฏิบัติจากชุมชนท้องถิ่นและการสนับสนุนจากหน่วยงานภาครัฐในการรักษาทรัพยากรธรรมชาติในทะเลสาบสงขลา (Pradit *et al.*, 2013) ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำที่มีความสำคัญเป็นอาหารธรรมชาติของสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะสัตว์น้ำสำคัญในระบบการประมงที่สามารถสร้างรายได้เสริมและรายได้หลักให้กับผู้คนที่อาศัยอยู่ในบริเวณทะเลสาบสงขลา

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างปลาสดหัวโหม่งที่จับได้จากการประมงพื้นบ้านบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนล่าง และมีการค้าขายกันในเขตพื้นที่บ้านท่าสะอ้าน ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ในช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม พ.ศ. 2558 โดยตัวอย่างปลาสดหัวโหม่งจำนวน 90 ตัว ได้มีการวัดขนาดและน้ำหนักพบว่ามีความเฉลี่ยอยู่ในช่วงประมาณ 22-23 เซนติเมตร/ตัว และ 99-130 กรัม/ตัว ตามลำดับ และเป็นที่น่าสนใจที่การศึกษาในครั้งนี้พบว่าปลาสดหัวโหม่งมักเลือกกินอาหารธรรมชาติที่เป็นสัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มสัตว์หน้าดินจำพวกกุ้งปูกั้งเป็นอาหารหลัก จึงจัดได้ว่าอาหารธรรมชาติกลุ่มดังกล่าวมีความสำคัญ

ต่อการดำรงชีพของปลาหวัดหัวโหม่ง ซึ่งเป็นปลาที่สามารถสร้างรายได้ให้กับผู้คนที่อาศัยอยู่ในบริเวณทะเลสาบสงขลา

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ข้อมูลความยาวและน้ำหนักของปลาหวัดหัวโหม่งจากการทำประมงพื้นบ้านบริเวณพื้นที่วิจัย และยังทราบถึงชนิดและปริมาณของอาหารธรรมชาติที่ปลาหวัดหัวโหม่งกินเป็นอาหารในช่วงเดือนมกราคม กุมภาพันธ์ และมีนาคม พ.ศ. 2558 รวมระยะเวลา 3 เดือน แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต โดยการวางแผนการวิจัยให้ครอบคลุมช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างในรอบปี เพื่อแสดงความแตกต่างของผลการศึกษาที่อาจเกิดจากปัจจัยของฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงในรอบปี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับอาจารย์วันวิภา หนูมา อาจารย์สุธินี หิมยิ และเจ้าหน้าที่ประจำโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการทำวิจัย รวมทั้งการให้ความช่วยเหลือดูแลการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

- Angsupanich, S. 1996. Seagrasses and epiphytes in Thale Sap Songkhla, Southern Thailand. *La mer* 34: 67-73.
- Angsupanich, S. 1997. Seasonal variations of zooplankton in Thale Sap Songkhla, Southern Thailand. *Journal of the National Research Council of Thailand* 29(1): 27-47.
- Angsupanich, S. 2012. Songkhla Lagoon Ecosystem. Office of the National Research Council of Thailand. Bangkok. 96 pp. [in Thai]
- Angsupanich, S. and Kuwabara, R. (1995). Macrobenthic fauna in Thale Sap Songkla, a brackish lake in Southern Thailand. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 1: 115-125.
- Angsupanich, S. and Rakkheaw, S. 1997. Seasonal variation of phytoplankton community in Thale Sap Songkhla, a lagoonal lake in Southern Thailand. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 30(4): 297-307.
- Angsupanich, S., Ruensirikul, J. and Himyi, S. 2010. Redescription of *Ctenapseudes sapensis* (Chilton, 1926) from the Upper Songkhla Lagoon, Thailand (Crustacea: Tanaidacea). *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 32(4): 349-355.

- Angsupanich, S., Siripech, A. and Charoenporntip, M. 2005a. Macrobenthic fauna community in the Middle Songkhla Lake, Southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 27 (Suppliment 1): 365-390. [in Thai]
- Angsupanich, S. and Siripech, A. 2001. Role and distribution of the dominant benthic fauna, *Apseudes sapensis* Chilton 1926 (Crustacea : Tanaidacea) in Songkhla Lake, Southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 23(4): 515–525. [in Thai]
- 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(4): 347-358.
- Angsupanich, S., Somsak, S. and Phrommoon, J. 2005b. Stomach contents of the catfishes *Osteogeneiosus militaris* (Linnaeus, 1758) and *Arius maculatus* (Thunberg, 1792) in the Songkhla Lake. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 27 (Suppliment 1): 391-402. [in Thai]
- Aongsara, S., Thaiklang, T. and Damchoo, S. 2013. Stomach contents of Large scale goby in Songkhla lower lake. [Online Poster] Available from <http://dmcr2014.dmcr.go.th/detailLibrary.php?WP=qmWZG22DM7y04TywrPMjAJ04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [2016, July 6]. Marine and Coastal Resources Research and Development Center, The Lower Gulf of Thailand. Songkhla. [in Thai]
- Boonprakarn, K., Chanthawong, A., Sangkapan, J. and Suriyo, N. 2013. When fish disappeared from Songkhla Lake, what tactics do small-scale fishermen use for survival in times of scarcity ?. *Journal of Liberal Arts, Prince of Songkla University* 5(2): 87-101. [in Thai]
- Chesoh, S. 2009. Method for analyzing fish assemblage distribution with application to fishery landings of tropical shallow lake as Songkhla Lake, Thailand. *Modern Applied Science* 3(5): 179-192.
- Chesoh, S. and Lim, A. 2008. Forecasting fish catches in the Songkhla Lake basin. *ScienceAsia* 34(3): 335-340.
- Chesoh, S., Lim, A. and Tongkumchum, P. 2009. Trend of water quality and model for forecasting eutrophication occurrence. *Journal of Fisheries Technology Research* 3(1): 195-204.
- Chevakidagarn, P. 2006. Operational problems of wastewater treatment plants in Thailand and case study: Wastewater pollution problems in Songkhla Lake Basin. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 28(3): 633-639.

- Chittapalapong, T., Kakkaeo, M., Nachaipeam, J. and Nuangsit, S. 2009. Feeding of *Osteochilus hasselti* (Valenciennes, 1842), *Mystus singaringan* (Bleeker, 1846) and *Mystus mysticetus* Roberts, 1992 in the Lower Songkhram River. Technical Paper No. 1/2009. Inland Fisheries Resources Research and Development Institute, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries. 30 pp. [in Thai]
- Chittapalapong, T., Rungrangsri, A. and Lempan, M. 2014a. Fish feeding analysis. Technical Paper. Central Administrative Office, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 29 pp. [in Thai]
- Chittapalapong, T., Thong-ngok, W. and Kwangkhwang, U. 2014b. Study on Feeding Habit of Soldier Croaker, *Boesemania microlepis* Bleeker, 1858 in Kraseaw Dam. Technical Paper No. 1/2014. Central Administrative Office, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 21 pp. [in Thai]
- Hajisamae, S. 2009. Trophic ecology of bottom fishes assemblage along coastal areas of Thailand. Estuarine, Coastal and Shelf Science 82: 503-514.
- Lateh, S., Choonpradub, C. and McNeil, N. 2010. Trends of low value fish in capture fisheries of Songkhla Lake: 2003-2006. Journal of Fisheries Technology Research 4(1): 78-91.
- Musikasung, W., Danayadol, Y. and Songsangjinda, P. 2006. Stomach content and ecological feature of *Scatophagus argus* (Linnaeus) in Songkhla lake. Technical Paper No. 47/2006. Coastal Aquaculture Research Institute, Coastal Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries. Songkhla. 30 pp. [in Thai]
- Poldee, P. and Suvarnaraksha, A. 2013. Natural food in digestive tract of *Neolissochilus stracheyi* (Day, 1871) in Wa River, Nan Province. Journal of Fisheries Technology Research 7(1): 39-50. [in Thai]
- Pradit, S., Wattayakorn, G., Angsupanich, S., Baeyens, W. and Leermakers, M. 2010. Distribution of trace element in sediments and biota of Songkhla Lake, Southern Thailand. Water Air Soil Pollut 206: 155-174.
- Pradit, S., Wattayakorn, G., Angsupanich, S., Leermakers, M. and Baeyens, W. 2013. Do sediments impact fish catch in a shallow lagoon? Fishermen points of view : Case study in Songkhla lake, Thailand. Proceedings of The Burapha University International Conference. Pattaya, July 4-5, 2013, pp. 297-308.

- Riamcharoen, C., Chusuwan, W. and Kaeokliang, J. 2013. Variation of water qualities in Songkhla lake. Proceedings of Marine Sciences Conference 2012. Bangkok, October 17-19, 2012, pp. 478-490. [in Thai]
- Sompongchaiyakul, P., Laongsiriwong, N. and Sangkarnjanawanich, P. 2004. An occurrence of eutrophication in Songkhla Lake : A review. Proceedings of the International Workshop on Integrated Lake Management. Hat-Yai, August 19-21, 2004, pp. 1-14.
- Sritakon, T., Sirimontaporn, P., Lheknim, V. and Assava-Aree, A. 2001. Stomach content of sand whiting (*Sillago sihama* Forskal, 1755). Technical Paper No. 9/2001. National Institute of Coastal Aquaculture, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Songkhla. 19 pp. [in Thai]
- Suwanidcharoen, S. and Liengcharernsit, W. 2012. Development of phytoplankton model with application to Songkhla Lake, Thailand. Lowland technology International 14(2): 50-59.
- Tanavud, C., Yongchalemchai, C., Bennui, A. and Densrisereekul, O. 2001. The expansion of inland shrimp farming and its environmental impacts in Songkhla Lake basine. Kasetsart Journal: Natural Science 35: 326-343.
- Tapparuk, T., Lerssutthichawal, T. and Thapanand-Chaidee, T. 2009. Preliminary study of reproductive biology of soldier catfish (*Osteogeneiosus militaris* Linnaeus, 1758) in Songkhla Lake, Pattalung Area. Journal of Fisheries Technology Research 3(2): 79-87. [in Thai]
- Tassamakorn, A. and Angsupanich, S. 2014. Ectoparasitic copepods of some catfishes in family Ariidae in the lower Songkhla lagoon. Journal of Fisheries Technology Research 8(1): 44-59. [in Thai]

โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลากระบอก (*Liza subviridis*)

ในชายฝั่งทะเลอันดามัน

Population Genetic Structure of Greenback Mullet (*Liza subviridis*)

Along the Andaman Sea Coast of Thailand

วีระเกียรติ ทรัพย์มี¹ จุฑามาศ ศุภพันธ์² แจ่มจันทร์ เพชรศิริ³ และประดิษฐ์ แสงทอง⁴

Verakiat Supmee¹ Juthamas Suppapan² Jamjun Pechsiri³ and Pradit Sangthong⁴

¹สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช
จ.นครศรีธรรมราช 80110

²หลักสูตรครุศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จ.นครศรีธรรมราช 80280

³สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง จ. พัทลุง 93110

⁴ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹Department of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of
Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus, Nakhon Si Thammarat 80110

²Master of Education in Science program, Faculty of Education, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University,
Nakhon Si Thammarat 80280

³Department of Biological and Environmental Sciences, Faculty of Science, Thaksin University, Phattalung Campus,
Phattalung 93110

⁴Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

*Corresponding author E-mail : audy422r@yahoo.com

บทคัดย่อ

ศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลากระบอก (*Liza subviridis*) ตลอดชายฝั่งทะเลอันดามัน วิเคราะห์จากความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณคอนโทรลรีเจียนขนาด 596 - 606 คู่เบส เก็บตัวอย่างจาก 6 จังหวัด คือ จังหวัดสตูล จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ จังหวัดภูเก็ต จังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง จำนวนทั้งหมด 115 ตัว พบว่า มีแฮพลไทป์ทั้งหมด 89 แฮพลไทป์ ประกอบด้วย shared haplotype 15 แฮพลไทป์ และ rare haplotype 74 แฮพลไทป์ ค่า haplotype diversity และ nucleotide diversity มีค่า 0.990 และ 0.032 ตามลำดับ ทดสอบ neutrality test พบว่าค่า Tajima's *D* และ *Fu' Fs* มีค่า -1.595 และ -23.941 และมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งเบี่ยงเบนไปจากค่าคาดหวังตาม neutral evolution ในทิศทางที่แสดงว่าประชากรปลากระบอกในทะเลอันดามันเคยมีการขยายขนาดมาก่อน การทดสอบ mismatch distribution พบว่า ประชากรน่าจะมีการขยายขนาดมาประมาณ 110,000 ปีที่ผ่านมาในยุคไพลสโตซีน การทดสอบโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรด้วยวิธี AMOVA พบว่า ประชากรปลากระบอกในทะเลอันดามันมีโครงสร้างทางพันธุกรรม โดยแบ่งเป็นกลุ่มประชากรอันดามันตอนล่างและกลุ่มประชากรอันดามันตอนบน ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำข้อมูลมาใช้เป็นแนวทางในการพิจารณาจัดการปลากระบอกในทะเลอันดามันได้

คำสำคัญ : คอนโทรลรีเจียน ความหลากหลายทางพันธุกรรม ประวัติประชากร อนุรักษ

Abstract

Population genetic structure of the Greenback Mullet (*Liza subviridis*) along the Andaman Sea coast of Thailand was analyzed based on the variations of the nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region (mtDNA CR) with a size of 596 – 606 bp. The mtDNA CR sequences of 115 individuals collected from 6 sampling sites : Satun, Trang, Krabi, Phuket, Phang Nga and Ranong province, were analyzed. A total of 89 haplotypes, consisting of 15 shared and 74 rare haplotypes, were identified. Estimated values of haplotype diversity and nucleotide diversity were 0.990 and 0.032, respectively. The results of neutrality tests, both Tajima's *D* and Fu's *F_s* statistics, yielded negative values (-1.595 and -23.941, respectively), which were statistically significant deviation from the neutrality, indicating that the *L. subviridis* along the Andaman Sea coast had experienced population expansion. Mismatch distribution analysis indicated that a possible expansion that may occur 110,000 years ago during the Pleistocene glaciations period. The AMOVA analysis also revealed genetic differentiation of *L. subviridis* between the lower and upper coast of Andaman Sea populations. This study gave necessary information contributing to efficient strategies to conserve this species along the Andaman Sea coast.

Key words: control region, genetic variation, demographic history, conservation

บทนำ

ปลากะบอก (*Liza subviridis*) เป็นปลาที่อาศัยตามชายฝั่งบริเวณป่าชายเลน พฤติกรรมการสืบพันธุ์ของปลากะบอกจะมีการอพยพจากป่าชายเลนสู่แนวชายฝั่งเพื่อวางไข่ (Chang *et al.*, 2004) หลังจากรวางไข่ตัวอ่อนจะอยู่ในระยะแพลงก์ตอนและอาศัยอยู่ใกล้กับชายฝั่งโดยอาศัยการเคลื่อนที่ตามกระแสน้ำบริเวณชายฝั่งจนเข้าสู่ระยะวัยรุ่น (juvenile) จึงว่ายน้ำกลับสู่ป่าชายเลนและเจริญเป็นตัวเต็มวัย (adult) (Chang and Tzeng, 2000) จากความสามารถในการแพร่กระจายของตัวอ่อนที่เคลื่อนที่ได้ในระยะทางจำกัดทำให้มีการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างประชากรได้น้อย จึงทำให้มีโอกาสเกิดการแบ่งแยกโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรได้สูง โดยเฉพาะตลอดแนวชายฝั่งทะเลอันดามันซึ่งมีพื้นที่ป่าชายเลนที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทย (Juntarashote, 2003) รวมระยะทางประมาณ 900 กิโลเมตร ครอบคลุมพื้นที่ 1,764.86 ตารางกิโลเมตรตั้งแต่จังหวัดสตูลถึงจังหวัดระนองซึ่งมีพื้นที่แยกย่อยหลายพื้นที่ (Aungtonya, 2000) อาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลากะบอกได้

ปลากะบอกเป็นปลาเศรษฐกิจที่นิยมบริโภคเนื่องจากสามารถนำมาทำเป็นอาหารได้หลายชนิด จากข้อมูลทางสถิติประมงในปี พ.ศ. 2553 พบว่าปลากะบอกที่จับได้มีปริมาณลดลง (Fishery Statistics Analysis and Research Group, 2010) ดังนั้นการบริหารจัดการปลากะบอกเพื่อให้ใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืนจึงเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งจำเป็นต้องมีข้อมูลทางพันธุกรรมเพื่อเป็นแนวทางในการจัดการ วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรและประวัติประชากรของปลากะบอกที่อาศัยตามแนวชายฝั่งทะเล

อันดามัน โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอบริเวณคอนโทรลรีเจียน (control region) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีอัตราการกลายพันธุ์สูง จึงเหมาะสมในการนำมาศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากร นอกจากนี้ยังมีการถ่ายทอดพันธุกรรมทางแม่ จึงมีลักษณะเป็นแฮพลอยด์ ซึ่งสามารถใช้ประชากรเพื่อศึกษาในจำนวนน้อยกว่าการใช้เครื่องหมายพันธุกรรมอื่นจากจีโนมในนิวเคลียสได้ (Boore, 1999) อีกทั้งไม่เกิดรีคอมบิเนชัน ดังนั้นลูกจึงมีจีโนมเหมือนกับแม่ ทำให้สามารถศึกษาแบบแผนการถ่ายทอดได้โดยตรง (Avice, 1984) ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถนำข้อมูลที่ได้เป็นแนวทางในการพิจารณาจัดการประชากรปลากระบอกในธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพและคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลากระบอกตลอดชายฝั่งทะเลอันดามันจากจังหวัดสตูล จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ จังหวัดภูเก็ต จังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง รวมทั้งหมดจำนวน 115 ตัว (Figure 1, Table1) แช่ตัวอย่างในน้ำแข็งแล้วนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป



Figure 1 The collecting localities for *L. subviridis* along the Andaman Sea coast

2. การสกัดดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายและการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

สกัดดีเอ็นเอจากเนื้อปลาโดยใช้ชุดสกัด Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, BIOTECH CORP.) ตามวิธีและขั้นตอนที่แนบมากับชุดสกัดเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายบริเวณคอนโทรลรีเจียนด้วยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันโดยใช้ forward primer LSCR_H1 5'- TCA ACT CCT ATC TAT AGC TCC C 3' และ reverse primer LSCR_L1 5'- GTC CAT CTT AAC ATC TTC AGT GTC 3' (Suppapan, 2015) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายในหลอดพีซีอาร์ ประกอบด้วย 10X Taq buffer 5 ไมโครลิตร, 25 mM MgCl₂ 7.5 ไมโครลิตร, 2 mM dNTPs mix 4 ไมโครลิตร, 10 μM primer forward 2 ไมโครลิตร, 10 μM primer reverse 2 ไมโครลิตร, Taq DNA polymerase (RBCbiosciences, USA) 0.5 ไมโครลิตร (2.5 unit), DNA template 5 ไมโครลิตร (50-100 ng) และ ultrapure water 24 ไมโครลิตร รวมปริมาตรทั้งหมด 50 ไมโครลิตร

ใช้ปฏิกิริยาถูกใช้พอลิเมอเรสด้วยเครื่อง Mastercycler, Eppendorf (Germany) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ แล้วตรวจสอบผลผลิตที่ได้ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟเรซิสในเจลอะกาโรส 1 เปอร์เซ็นต์ นำผลผลิตที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วย Gel/PCR Purification Mini Kit (FAVORGEN, BIOTECH CORP.) ตามที่วิธีและขั้นตอนที่แนบมากับชุดทำผลผลิตให้บริสุทธิ์ จากนั้นส่งดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่ได้ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่หน่วยบริการ 1ST Base Laboratory ประเทศมาเลเซีย

3. การจัดการข้อมูลและการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

3.1 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

เชื่อมต่อข้อมูลชิ้นส่วนลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 5' และ 3' ของแต่ละตัวอย่างด้วยโปรแกรม CAP3 software (Huang and Madan, 1999) ทำ multiple alignment ด้วยโปรแกรม ClustalW version 2.0.12 (Larkin *et al.*, 2007) แล้วตรวจสอบความถูกต้องด้วยสายตาอีกครั้ง วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยหาค่า nucleotide diversity (π) (Nei, 1987), haplotype diversity (h) (Nei, 1987) และค่า mean number of nucleotide differences ระหว่างแฮพลไทป์ทั้งหมดด้วยโปรแกรม DnaSP version 5.00 (Librado and Rozas, 2009)

3.2 การวิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร

วิเคราะห์โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรด้วยวิธี Analysis of Molecular Variance (AMOVA) เพื่อเปรียบเทียบระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากรโดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010) โดยวิเคราะห์ค่า F-statistic ได้แก่ Φ_{CT} , Φ_{SC} และ Φ_{ST} ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations แบ่งการวิเคราะห์เป็น 2 แบบ โดยการวิเคราะห์แบบแรก แบ่งประชากรเป็น 6 กลุ่มตามจังหวัดที่เก็บตัวอย่าง (single region) ได้แก่ จังหวัดสตูล จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ จังหวัดภูเก็ต จังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง การวิเคราะห์แบบที่สองแบ่งกลุ่มประชากรตามแนวเส้นละติจูด ได้แก่ กลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนล่าง ประกอบด้วยจังหวัดสตูล จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ และจังหวัดภูเก็ต และกลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนบน ประกอบด้วยจังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง วิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรด้วยวิธี pairwise F_{ST} ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations โดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010)

3.3 การวิเคราะห์ประวัติประชากร

วิเคราะห์ประวัติประชากรโดยใช้การทดสอบ 4 วิธี ได้แก่ (1) ทดสอบ selective neutrality โดยวิเคราะห์ค่า Tajima's D (Tajima, 1989) และ Fu's F_s (Fu, 1997) เพื่อทดสอบการเบี่ยงเบนของประชากรจาก neutral evolution (2) วิเคราะห์ mismatch distribution เพื่อศึกษาการขยายขนาดของประชากรภายใต้สมมติฐาน sudden expansion model โดยใช้ค่าทดสอบ Harpending Raggedness index (Harpending, 1994) เพื่อทดสอบการเข้ากันได้ของค่าทดสอบกับค่าคาดหวัง และ sum of squared deviations (SSD) เพื่อทดสอบ goodness-of-fit ทุกวิธีการวิเคราะห์ใช้การทำซ้ำ 10,000 permutations โดยใช้โปรแกรม ARLEQUIN

version 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer, 2010) (3) ประเมินขนาดของประชากรด้วยพารามิเตอร์ θ_0 และ θ_1 เมื่อ θ_0 และ θ_1 เท่ากับ $2N\mu$ เมื่อ N คือค่า effective female population size (4) คำนวณเวลาในการขยายขนาดประชากร (t) โดยใช้สูตร $t = \tau/2\mu$ เมื่อ τ คือ expansion time และ $2\mu = \mu \times \text{generation time} \times \text{number of bases}$ เมื่อค่า μ คือค่า mutation rate และมีค่าเท่ากับ 3.6 % per million year (Henriques *et al.*, 2014)

ผลการวิจัย

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของปลากระบอกแต่ละตัวมีลำดับเบสตั้งแต่ 596 - 606 คู่เบส มีตำแหน่ง align sites 585 ตำแหน่ง แบ่งเป็น monomorphic sites 390 ตำแหน่ง และ polymorphic sites 195 ตำแหน่ง (singleton variable site 91 ตำแหน่ง และ parsimony variable site 104 ตำแหน่ง) ประกอบไปด้วย 89 แฮพลไทป์ โดยเป็นแฮพลไทป์ชนิด shared haplotype จำนวน 15 แฮพลไทป์ แบ่งเป็น shared haplotype ภายในประชากร 9 แฮพลไทป์ และ shared haplotype ระหว่างประชากร 6 แฮพลไทป์ โดยแฮพลไทป์ H41 มีสมาชิกจากแต่ละจังหวัดมากที่สุดคือ 3 จังหวัด ได้แก่จังหวัดกระบี่ จังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง ส่วนแฮพลไทป์ที่มีสมาชิกจากจังหวัด 2 จังหวัด มีจำนวน 5 แฮพลไทป์ ได้แก่ H02, H14, H15, H20 และ H25 (Table 2) พบแฮพลไทป์ที่เป็น rare haplotype จำนวนทั้งหมด 74 แฮพลไทป์ แบ่งเป็น จังหวัดสตูล 15 แฮพลไทป์ (H01, H03, H04, H05, H06, H07, H08, H09, H10, H11, H12, H13, H16, H17, H18) จังหวัดตรัง 13 แฮพลไทป์ (H21, H22, H23, H24, H26, H27, H29, H30, H31, H32, H33, H34, H35) จังหวัดกระบี่ 13 แฮพลไทป์ (H36, H37, H38, H40, H43, H44, H45, H46, H47, H48, H49, H50, H51) จังหวัดภูเก็ต 13 แฮพลไทป์ (H61, H62, H63, H64, H65, H66, H67, H68, H69, H70, H71, H72, H73) จังหวัดพังงา 7 แฮพลไทป์ (H52, H54, H55, H57, H58, H59, H60) และจังหวัดระนอง 13 แฮพลไทป์ (H75, H76, H77, H79, H80, H81, H82, H84, H85, H86, H87, H88, H89) ค่า haplotype diversity มีค่าอยู่ในช่วง 0.784-1.000 โดยมีค่าของประชากรรวมคือ 0.990 ± 0.004 ส่วนค่า nucleotide diversity มีค่าอยู่ในช่วง 0.020-0.037 โดยมีค่าของประชากรรวมคือ 0.032 ± 0.001 ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมได้แก่ จำนวนแฮพลไทป์, จำนวน polymorphic sites, haplotype diversity (h) และ nucleotide diversity (π) แสดงใน Table 1

Table 1 Collecting localities, number of individuals per sampling locality (N) and summary statistics of genetic variability for *L. subviridis* along the Andaman Sea coast

Locality	N	No. haplotypes	No. polymorphic sites	Haplotype diversity (h) (mean \pm SD)	Nucleotide diversity (π) (mean \pm SD)
Satun	18	18	85	1.000 \pm 0.019	0.034 \pm 0.001
Trang	20	17	80	0.979 \pm 0.024	0.033 \pm 0.001
Krabi	19	17	71	0.988 \pm 0.021	0.031 \pm 0.002
Phuket	19	18	96	0.994 \pm 0.019	0.037 \pm 0.003
Phang Nga	19	10	119	0.784 \pm 0.098	0.035 \pm 0.009
Ranong	20	16	53	0.974 \pm 0.025	0.020 \pm 0.003
Total	115	89	195	0.990 \pm 0.004	0.032 \pm 0.001

Table 2 Share haplotype distributions of *L. subviridis* from 6 localities along the Andaman Sea coast

Haplotype	Satun	Trang	Krabi	Phuket	Phang Nga	Ranong	Total
H02	1	-	-	1	-	-	2
H14	1	-	-	1	-	-	2
H15	1	-	1	-	-	-	2
H19	-	2	-	-	-	-	2
H20	-	1	-	1	-	-	2
H25	-	1	-	1	-	-	2
H28	-	3	-	-	-	-	3
H39	-	-	2	-	-	-	2
H41	-	-	2	-	1	3	6
H42	-	-	2	-	-	-	2
H53	-	-	-	-	9	-	9
H56	-	-	-	-	2	-	2
H74	-	-	-	2	-	-	2
H78	-	-	-	-	-	2	2
H83	-	-	-	-	-	2	2

2. โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร

จากการศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลากะบอกในทะเลอันดามัน เมื่อวิเคราะห์โดยแบ่งประชากรเป็น 6 กลุ่มตามจังหวัดที่เก็บตัวอย่าง พบว่ามีโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร โดยมีค่า Φ_{ST} เท่ากับ 0.032 ($p=0.004$)(Table3) เมื่อวิเคราะห์โดยแบ่งกลุ่มประชากรเป็นกลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนล่าง และกลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนบน พบว่ามีโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร โดยมีค่า Φ_{CT} เท่ากับ 0.047 ($p=0.036$)(Table3) ผลการวิเคราะห์ค่า pairwise F_{ST} พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญระหว่างประชากรจังหวัดสตูลกับจังหวัดพังงา, จังหวัดสตูลกับจังหวัดระนอง, จังหวัดตรังกับจังหวัดพังงา, จังหวัดตรังกับจังหวัดระนอง, จังหวัดกระบี่กับจังหวัดระนอง, จังหวัดภูเก็ตกับจังหวัดพังงา, จังหวัดภูเก็ตกับจังหวัดระนอง และจังหวัดพังงากับจังหวัดระนอง (Table4)

Table 3 Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of *L. subviridis*

Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	p-value
1) Single region					
Among populations	5	75.801	0.309Va	3.24	$\Phi_{ST} = 0.032^*$
Within populations	109	1006.938	9.237Vb	96.76	
Total	114	1082.739	9.547		
2) Lower and Upper of Andaman Sea					
Among groups	1	34.489	0.468Va	4.80	$\Phi_{CT} = 0.047^*$
Among populations within groups	4	41.312	0.057Vb	0.58	$\Phi_{SC} = 0.006$
Within populations	109	1006.938	9.237Vc	94.62	$\Phi_{ST} = 0.053^*$
Total	114	1082.739	9.763		

* significant differentiation ($p < 0.05$)

Table 4. Population pairwise F_{ST} values of *L. subviridis* in Andaman Sea

	Satun	Trang	Krabi	Phuket	Phang Nga	Ranong
Satun	-					
Trang	0.007	-				
Krabi	0.001	0.012	-			
Phuket	0.031	0.001	0.002	-		
Phang Nga	0.050*	0.044*	0.017	0.042*	-	
Ranong	0.086*	0.105*	0.085*	0.061*	0.049*	-

* significant differentiation ($p < 0.05$)

3. ประวัติประชากร

จากการทดสอบประวัติประชากรได้ผลดังนี้ (1) การทดสอบ selective neutrality ด้วยวิธี neutrality test พบว่าค่า Tajima's D มีค่าติดลบในทุกจังหวัด โดยมีค่าของประชากรรวม คือ -1.595 ($p=0.025$) และค่า F_u F_s มีค่าติดลบในทุกจังหวัด โดยมีค่าของประชากรรวมคือ -23.941 ($p=0.013$) (Table 5) (2) การทดสอบ mismatch distribution พบว่าค่า SSD ของประชากรรวม มีค่า 0.002 ($p=0.458$) และค่า Harpending Raggedness index ของประชากรรวมมีค่า 0.002 ($p=0.771$) (Table 5) (3) ค่าพารามิเตอร์ θ_0 ของประชากรรวมมีค่า 0.005 และค่า θ_1 ของประชากรรวมค่า 70.619 โดยในทุกจังหวัดมีค่า θ_1 มากกว่า θ_0 (Table 5) (4) คำนวณระยะเวลาในการขยายขนาดประชากรพบว่าการขยายขนาดมาเป็นระยะเวลา 116,125 ปีที่ผ่านมา (Table 5)

Table 5 Parameter indices of mismatch distribution analysis, neutrality test and expansion time of *L. subviridis*

Locality	Tajima's D	Fu' s Fs	τ	θ_0	θ_1	SSD	Rag	Expansion time (year ago)
Satun	-0.753*	-6.058*	6.787	0.021	405.517	0.007	0.017	301,162
Trang	-0.595*	-2.331*	6.125	0.000	99999.000	0.015	0.023	271,787
Krabi	-0.431*	-3.379*	6.640	0.000	264.462	0.023	0.019	294,639
Phuket	-0.848*	-4.141*	2.000	2.932	138.110	0.009	0.013	88,746
Phang Nga	-1.619*	-4.255*	1.001	0.000	99999.000	0.657	0.073	44,417
Ranong	-0.659*	-2.907*	1.816	15.960	99999.000	0.046	0.062	80,582
Total	-1.595*	-23.941*	2.617	0.005	70.619	0.002	0.002	116,125

*significant differentiation ($p<0.05$)

τ = time in number of generation

θ_0 = preexpansion population size ($\theta_0=2N_0\mu$)

θ_1 = postexpansion population size ($\theta_1=2N_1\mu$)

SSD = sum of squared deviations

Rag = Harpending Raggedness index

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากผลการศึกษาพบว่าประชากรปลากะบอกในทะเลอันดามันมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากรมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าในทุกประชากรมีแบบแผนความสัมพันธ์ของค่า haplotype diversity และ nucleotide diversity เหมือนกัน คือมีค่า haplotype diversity มากกว่า nucleotide diversity ในทุกจังหวัด ซึ่งพบได้ในประชากรที่กำลังมีการขยายขนาด

(Watterson, 1984) โดยสาเหตุเกิดจากการกลายพันธุ์และการสะสมของแฮพลไทป์แบบใหม่อย่างรวดเร็ว สอดคล้องกับผลการคำนวณระยะเวลาในการขยายขนาดประชากร ที่พบว่าประชากรปลากระบอกในทะเลอันดามันเคยมีการขยายขนาดมาเมื่อประมาณ 110,000 ปีที่ผ่านมา โดยแบบแผนดังกล่าวพบได้ในสัตว์ทะเลหลายชนิดเช่น ปูม้า (Xu *et al.*, 2009) ปลากระบอก (Liu *et al.*, 2009), ปลาตะกรับ (Supmee, 2015) และ หอยชักตีน (Suppapan and Supmee, 2016) เป็นต้น ผลการศึกษาพบว่าจากจำนวนแฮพลไทป์ทั้งหมด 89 แฮพลไทป์ เป็น rare haplotype จำนวน 74 แฮพลไทป์ แสดงว่ามีจำนวนแฮพลไทป์ที่มีความแตกต่างกันเป็นจำนวนมาก (Lewontin, 1974) บ่งบอกว่าปลากระบอกในชายฝั่งทะเลอันดามันมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและมีปลากระบอกเพศเมียที่มีความสามารถในการขยายพันธุ์เป็นจำนวนมาก และยังพบว่ามี private allele ซึ่งเป็นแฮพลไทป์ที่พบเฉพาะในแต่ละจังหวัดจำนวน 83 แฮพลไทป์ โดยสามารถใช้ private allele ระบุแหล่งที่มาของสายพันธุ์หรือแหล่งทางพันธุกรรม (genetic stock) ได้ (Xu *et al.*, 2009)

2. โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากร

ผลการศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรด้วยวิธี AMOVA พบว่าปลากระบอกในทะเลอันดามันมีโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรแบ่งเป็นสองกลุ่มประชากร โดยแบ่งเป็นประชากรในทะเลอันดามันตอนล่าง ประกอบด้วยประชากรจากจังหวัดสตูล จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ และจังหวัดภูเก็ต และกลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนบน ประกอบด้วยประชากรจากจังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมเป็นรายจังหวัดด้วยวิธี pairwise F_{ST} พบว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมส่วนใหญ่เกิดขึ้นระหว่างประชากรในกลุ่มจังหวัดทะเลอันดามันตอนล่างและกลุ่มจังหวัดทะเลอันดามันตอนบน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรด้วยวิธี AMOVA สาเหตุที่เกิดโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรเป็นสองกลุ่มประชากร น่าจะเกิดจากรูปแบบการสืบพันธุ์ของปลากระบอกที่มีการผสมพันธุ์โดยการวางไข่ใกล้บริเวณชายฝั่งที่เป็นแหล่งที่อยู่เดิม และเมื่อตัวอ่อนเจริญเติบโตจะว่ายน้ำเข้ามาหากินและอาศัยในป่าชายเลนที่เคยอาศัยเพื่อทำการรวมฝูง (Lee, 1992) จึงทำให้มีการแพร่กระจายอยู่ในบริเวณที่จำกัด เมื่อประกอบกับระยะทางแนวของชายฝั่งที่เป็นป่าชายเลนซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ของปลากระบอกในเขตทะเลอันดามันมีระยะทางยาวประมาณ 900 กิโลเมตร จึงน่าจะเป็นอีกปัจจัยในการขัดขวางการผสมพันธุ์และการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างประชากรทำให้มีการแบ่งแยกโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรเป็นสองกลุ่มประชากร การเกิดโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลากระบอกในการศึกษาครั้งนี้มีผลแบบเดียวกับการเกิดโครงสร้างทางพันธุกรรมของปลากระบอก (*Mugil cephalus*) ระหว่างชายฝั่งทะเลตอนล่างและชายฝั่งทะเลตอนบนของประเทศจีน (Liu *et al.*, 2009) เป็นการยืนยันว่าลักษณะการดำรงชีวิต พฤติกรรมการสืบพันธุ์ และระยะทางของแหล่งที่อยู่ของปลากระบอกน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้เกิดโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรปลากระบอกในทะเลอันดามัน

3. ประวัติประชากร

ผลการศึกษาประวัติประชากร พบว่าประชากรปลากระบอกในทะเลอันดามันเคยมีการขยายขนาดประชากรมาก่อน โดยสอดคล้องกับผลการทดสอบดังนี้ (1) การทดสอบ neutrality test ทั้งวิธี Tajima's D test และ Fu's F_s test พบว่ามีค่าติดลบซึ่งแสดงว่าประชากรมีการเบี่ยงเบนไปจากสมดุล (neutral state) ในส่วน

ของค่า Tajima's D ที่มีค่าติดลบ แสดงว่า ประชากรน่าจะมีการคัดเลือกโดยการคัดการกลายพันธุ์ที่ไม่เหมาะสมทิ้งไป (purifying selection) หรืออาจเกิดการขยายขนาดของประชากรมาก่อน (Yang, 2006) ส่วนค่า Fu's F_s ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบการขยายขนาดของประชากรที่เหมาะสมกับเครื่องหมายพันธุกรรมที่เป็น non-recombination genetic data (Ramirez-Soriano *et al.*, 2008) มีค่าติดลบด้วยเช่นกัน ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันว่าประชากรปลาระบบอกน่าจะมีประวัติการขยายขนาดประชากรมาก่อน (2) การทดสอบ mismatch distribution พบว่าค่า Harpending Raggedness index ยอมรับการกระจายตัวแบบ unimodal และค่า SSD ยอมรับสมมติฐาน sudden expansion model (3) การประเมินขนาดของประชากรด้วยพารามิเตอร์ θ , พบว่ามีค่ามากกว่า θ_0 ในทุกกลุ่มประชากรแสดงว่าประชากรเคยมีการขยายขนาดจากขนาดเล็กสู่ขนาดใหญ่ (4) การคำนวณเวลาในการขยายขนาดประชากรพบว่าประชากรเคยมีการขยายขนาดมาประมาณ 110,000 ปีที่ผ่านมา โดยเมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ τ พบว่า จังหวัดกลุ่มอันดามันตอนล่างมีค่ามากกว่าจังหวัดกลุ่มอันดามันตอนบน (Table 5) บ่งบอกว่าการขยายขนาดประชากรของปลาระบบอกในกลุ่มอันดามันตอนล่างมีการขยายขนาดของประชากรมานานกว่ากลุ่มอันดามันตอนบน การขยายขนาดประชากรของปลาระบบอกในทะเลอันดามันน่าจะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสภาพทางภูมิศาสตร์ในยุคไพลสโตซีน (Pleistocene) เมื่อประมาณ 275,000 - 11,500 ปีที่ผ่านมา โดยในช่วงเวลาดังกล่าวบริเวณคาบสมุทรอินโดจีนจะถูกปกคลุมไปด้วยน้ำทะเลเนื่องจากการละลายของน้ำแข็งจากขั้วโลก หลังจากนั้นระดับน้ำทะเลจะเริ่มลดระดับลงเรื่อยๆจนเข้าสู่ยุคโฮโลซีน (Holocene) ประมาณ 10,000 ปีที่ผ่านมา (Gradstein *et al.*, 2004) แต่แผ่นดินยังคงมีระดับน้ำทะเลท่วมสูงและคงระดับไว้จนถึงยุคโฮโลซีนตอนกลาง และจะเริ่มลดระดับลงจนเข้าสู่ยุคโฮโลซีนตอนปลาย (Horton *et al.*, 2005) หลังจากนั้นบริเวณชายฝั่งของทะเลอันดามันจะเริ่มมีการทับถมของตะกอนเกิดเป็นพื้นที่ชายฝั่งและเริ่มมีการขยายพื้นที่ของป่าชายเลน (Rhodes *et al.*, 2011) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการขยายขนาดประชากรของปลาระบบอกในฝั่งอันดามันน่าจะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของแหล่งที่อยู่ ซึ่งในช่วงระยะเวลาดังกล่าวนี้มีหลายรายงาน พบว่า มีการขยายขนาดของประชากรในสัตว์ทะเลอีกหลายชนิดและในหลายพื้นที่ เช่น ปลาระบบอกในอ่าวไทย (Suppapan, 2015) และปูทะเล (mud crab) ในชายฝั่งของประเทศจีน (He *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าการขยายขนาดประชากรในครั้งนี้อยู่ในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกับการขยายขนาดประชากรของปูแสมก้ามขาวในเขตทะเลอันดามันด้วย (Supmee *et al.*, 2012)

4. แนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากผลการศึกษาที่พบว่ามีการสร้างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรปลาระบบอกในทะเลอันดามันตอนล่างและทะเลอันดามันตอนบน ดังนั้นแนวทางการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมควรมีการจัดการโดยแยกเป็นเป็นสองกลุ่มประชากรตามโครงสร้างทางพันธุกรรม เช่น การปล่อยพันธุ์ปลาสู่แหล่งน้ำธรรมชาติควรใช้พ่อแม่พันธุ์จากหลายพื้นที่ในกลุ่มประชากรที่มีโครงสร้างทางพันธุกรรมเดียวกันปล่อยลงสู่แหล่งน้ำเพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม และควรมีการจัดการด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม เช่น การรักษากินที่ อยู่ตามธรรมชาติ โดยการไม่ทำลายแหล่งที่อยู่หรือการเพิ่มขนาดของแหล่งที่อยู่ เช่น การเพิ่มพื้นที่ป่าชายเลนเพื่อรองรับการขยายขนาดประชากรและไม่ควรจับปลาตัวเมียที่กำลังวางไข่ เนื่องจากเป็นการขัดขวางการเพิ่ม

จำนวนประชากร สำหรับการเพาะเลี้ยงหรือการปรับปรุงสายพันธุ์ปลากระบอก ควรสร้างประชากรพ่อแม่พันธุ์ ให้มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับในธรรมชาติโดยอาจมีการผสมระหว่างประชากรหรือนำประชากรจากธรรมชาติเข้ามาผสมเพื่อให้ได้ประชากรพ่อแม่พันธุ์ที่มีคุณภาพทางพันธุกรรมที่สมบูรณ์และมีศักยภาพที่ยั่งยืนในการเป็นพ่อแม่พันธุ์ที่ดี อย่างไรก็ตามในการพิจารณาแนวทางในการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมควรมีการใช้ข้อมูลจากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลอื่น เช่น เครื่องหมายพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์ ซึ่งมีอัตราการกลายพันธุ์สูง ในการพิจารณาหาแนวทางในการจัดการปลากระบอกในทะเลอันดามันควบคู่กันไปด้วย

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาโครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรและประวัติประชากรปลากระบอกในทะเลอันดามัน โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณคอนโทรลรีเจียนขนาด 596 – 606 คู่เบส พบว่า มีการแบ่งโครงสร้างทางพันธุกรรมเป็นสองกลุ่มประชากร ได้แก่ กลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนล่าง ประกอบด้วยประชากรปลากระบอกจากจังหวัดสตูล จังหวัดตรัง จังหวัดกระบี่ และจังหวัดภูเก็ต และกลุ่มประชากรในทะเลอันดามันตอนบน ประกอบด้วยประชากรปลากระบอกจากจังหวัดพังงา และจังหวัดระนอง เมื่อวิเคราะห์ประวัติประชากร พบว่าปลากระบอกในทะเลอันดามันเคยมีการขยายขนาดมาประมาณ 110,000 ปีที่ผ่านมา และพบว่าประชากรปลากระบอกจากกลุ่มอันดามันตอนล่างมีการขยายขนาดมานานกว่ากลุ่มอันดามันตอนบน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

เอกสารอ้างอิง

- Aungtonya, C., Thaipal, S. and Tendal, O. 2000. A preliminary report on the Thai-Danish Bioshelf surveys (1996-2000) of the west coast of Thailand, Andaman Sea. Phuket, Mar. Biol. Cent. Res. Bull. 63 : 53-76.
- Awise, J.C., Neigel, J. E. and Arnold, J. 1984. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. J. Mo. Evol. 20: 99-105.
- Boore, J.L. 1999. Survey and summary animal mitochondria genome. Nucleic Acids Res. 27(8): 1767-1780.
- Chang, C.W., and Tzeng, W.N. 2000. Species composition and seasonal occurrence of mullets (Pisces, Mugilidae) in the Tanshui Estuary northwest Taiwan. J. Fish Soc. Taiwan. 27: 253–262.

- Chang, C.W., Iizuka, Y. and Tzeng, W.N. 2004. Migratory environmental history of the grey Mullet *Mugil cephalus* as revealed by otolith Sr : Ca ratios. *Mar. Ecol. Prog.* 269: 277–288.
- Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Res.* 10: 564-567.
- Fishery Statistics Analysis and Research Group. 2010. Fisheries Statistics of Thailand 2010, No. 12 / 2012. Department of Fisheries. Ministry of Agriculture and Cooperatives. 91p. [in Thai]
- Fu, F.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics.* 147: 915–925.
- Gradstein, F.M., Ogg, J. G. and Smith, A. G. 2004. A geologic time scale. Cambridge Univ. Press, New York, 589 p.
- Harpending, R.C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Hum. Biol.* 66: 591-600.
- He, L., Zhang, A., Weese, D., Zhu, C., Jiang, C. and Qiao, Z. 2010. Late Pleistocene population expansion of *Scylla paramamosain* along the coast of China: a population dynamic response to the Last Interglacial sea level highstand. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 385: 20-28.
- Henriques, R., Potts, W. M., Santos, C. V., Sauer, W. H. H. and Shaw, P. W. 2014. Population connectivity and phylogeography of a coastal fish, *Atractoscion aequidens* (Sciaenidae), across the Benguela current region: Evidence of an ancient vicariant event. *PLOS ONE*, 9 (2) : 1-11.
- Horton, B.P., Gibbard, P. L., Milne, G.M., Morley, R.J., Purintavaragul, C. and Stargardt, J.M. 2005. Holocene sea levels and palaeoenvironments, Malay- Thai Peninsula, Southeast Asia. *Holocene.* 15 : 1199-1213.
- Huang, X. and Madan, A. 1999. CAP3: a DNA sequence assembly program, *Genome Res.* 9: 868 – 877.
- Juntarashote, K. 2003. Country report for BOBLME programme: Bangkok, Thailand: national workshop, 29-30 October 2003, Bangkok, Kasetsart Univ.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. and Higgins, D.G. 2007. Sequence analysis Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics Applications Note.* 23 (21): 2947-2948.
- Lee, S.C. 1992. Fish fauna and abundance of some dominant species in the estuary of Tanshui, northwestern Taiwan. *J. Fish Soc. Taiwan.* 19: 263–271.

- Lewontin, R.C. 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press, New York, 24 p.
- Librado, P. and Rozas, J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25: 1451-1452.
- Liu, J., Brown, C. L. and Yang, T. 2009. Population genetic structure and historical demography of grey mullet, *Mugil cephalus*, along the coast of China, inferred by analysis of the mitochondrial control region. *Biochem. Syst. Ecol.* 37: 556–566.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512 p.
- Ramirez-Soriano, A., Ramos-Onsins, S. E., Rozas, J., Calafell, F. and Navarro, A. 2008. Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination. *Genetics*. 179: 555-567.
- Rhodes, B.P., Kirby, M.E., Jankaew, K. and Choowong, M. 2011. Evidence for a mid-Holocene tsunami deposit along the Andaman coast of Thailand preserved in a mangrove environment. *Mar. Geol.* 282 : 255-267.
- Supmee, V. 2015. Population genetic structure and demographic history of Spotted scat (*Scatophagus argus*) in Southern of Thailand. *Phranakhon Rajabhat Research Journal*. 10(2): 38-56. [in Thai]
- Supmee, V., Ngernsiri, L., Sriboonlert, A., Wonnapijit, P. and Sangthong, P. 2012. Population genetic analysis of Violet vinegar crab (*Episesarma versicolor*) along the Andaman sea coast of Thailand. *Zool. Stud.* 51(7): 1040-1050.
- Suppapan, J. 2015. Population genetic structure of Greenback Mullet (*Liza subviridis*) in Gulf of Thailand coast : Implication for conservation. *Phranakhon Rajabhat Research Journal*. 10 (1) : 118-130. [in Thai]
- Suppapan, J. and Supmee, V. 2016. Population genetic structure of Wing Shell (*Strombus canarium*) along the Andaman Sea coast. *Burapha Science Journal*. 21(3): 138 – 150. [in Thai]
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA Polymorphism. *Genetics*. 123 : 585–595.
- Watterson, G.A. 1984. Allele frequencies after a bottleneck. *Theor. Populat. Biol.* 26: 387-407. Xu, Q., Liu, R. and Liu, Y. 2009. Genetic population structure of the swimming crab, *Portunus trituberculatus* in the East China Sea based on mtDNA 16S rRNA sequences. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 371 : 121-129.
- Yang, Z. 2006. *Computational molecular evolution*, Oxford Univ. Press, New York, 376 p.

**ความเป็นไปได้ในการนำไส้เดือนน้ำจืดมากำจัดของเสียที่พื้นก้นบ่อเลี้ยงปลา
ภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม**

**Possibility of using aquatic worms to dispose of waste at the bottom of fish pond
under aquaculture system with sustainable and environmentally friendly condition**

สิริฉัตร สุนทรวิภาต¹ และ ประจวบ ฉายบุ²

Sirichat Soonthornvipat¹ and Prachaub Chaibu²

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดน่าน อำเภอเมือง จังหวัดน่าน 55000

² คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

¹ Nan Inland Aquaculture Research and Development Center, Mueang, Nan Province 55000

² Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Sansai, Chiang Mai Province 50290

Corresponding author: pu_sirichat@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำไส้เดือนน้ำจืดมากำจัดของเสียที่พื้นก้นบ่อเลี้ยงปลาภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยทดลองเลี้ยงปลาดุกพร้อมกับไส้เดือนน้ำจืดในปริมาณที่แตกต่างกัน 4 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ คือ เลี้ยงปลาดุกพร้อมกับไส้เดือนน้ำจืด 0, 300, 450 และ 600 กรัม ตามลำดับ ทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สามารถนำไส้เดือนน้ำจืดมาเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการกำจัดของเสียที่พื้นก้นบ่อเลี้ยงปลา เนื่องจากปริมาณสารอินทรีย์รวมในดินและแอมโมเนียในน้ำระหว่างการเลี้ยงปลาดุกพร้อมกับไส้เดือนน้ำจืดลดลงแตกต่างจากการเลี้ยงปลาดุกเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ : ไส้เดือนน้ำจืด ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

Abstract

The study was conducted on the possibility of using aquatic worms to dispose of waste at the bottom of fish pond under aquaculture system with sustainable and environmentally friendly condition by culture catfish combine with different quantity of aquatic worms in 4 treatments 3 replications (catfish with 0, 300, 450 and 600 g aquatic worms) for 12 weeks. It was concluded that the use of aquatic worms could be used to dispose of waste at the bottom of the pond because of decreased organic matter in the soil and decreased ammonia in the water compared with using only culture catfish ($p < 0.05$).

Keywords: Aquatic worms, Aquaculture system, Sustainable and environmentally friendly

บทนำ

ระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันนิยมเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูงและมีการให้อาหารโปรตีนสูงปริมาณมาก ทำให้มีการสะสมของของเสียที่ตะกอนดินก้นบ่อ ซึ่งเกิดจากอาหารที่เหลือจากการบริโภคของสัตว์น้ำ การขับถ่ายของสัตว์น้ำ และจากการย่อยสลายของโปรตีนในอาหารที่เหลือจากการบริโภคโดยแบคทีเรียภายในบ่อเลี้ยง ตะกอนดินเหล่านี้จะไม่ไหลเทไปที่อื่นจนกว่าจะมีการจับสัตว์น้ำจำหน่าย ทำให้ตะกอนดินเป็นแหล่งสะสมของแอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรต และอินทรีย์ไนโตรเจน การย่อยสลายของสารอินทรีย์ทางชีวภาพและการแลกเปลี่ยนของสารที่เป็นผลผลิตเหล่านี้สามารถก่อให้เกิดการลดลงของออกซิเจนในบริเวณผิวดินและในมวลน้ำ โดยตะกอนดินในบริเวณพื้นก้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีบทบาทสำคัญในการควบคุมและเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำในด้านองค์ประกอบของไนโตรเจนรูปต่างๆ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาในการเลี้ยง พบว่า ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทยที่ใช้อยู่ในปัจจุบันยังไม่สามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมภายในระบบได้อย่างดีพอ โดยเฉพาะระบบที่เลี้ยงสัตว์น้ำด้วยความหนาแน่นสูงมากๆ จะส่งให้ระบบนิเวศในบ่อเสื่อมโทรมเร็วและก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่มีการพัฒนาระบบกำจัดของเสียที่เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงสัตว์น้ำไปจากบ่อได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน ดังนั้น เมื่อน้ำในบ่อเลี้ยงมีคุณภาพไม่ดีจะทำให้การตอบสนองต่ออาหารจะช้า การเจริญเติบโตช้า มีความแตกต่างกันมากด้านขนาดของสัตว์น้ำ ผลผลิตสัตว์น้ำที่ได้นั้นไม่มีคุณภาพ และทำให้เกิดโรคได้ง่าย ดังนั้น การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงมีแนวโน้มที่จะต้องมีการปรับเปลี่ยนเพื่อเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการปรับรูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจากระบบบ่อเปิดที่มีการถ่ายน้ำที่ผ่านการใช้เลี้ยงสัตว์น้ำแล้วทิ้งออกนอกระบบเลี้ยงหรือทิ้งออกจากฟาร์ม มาเป็นการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในบ่อระบบกึ่งปิดหรือระบบปิดที่มีการหมุนเวียนน้ำที่ผ่านการบำบัดให้มีคุณภาพดีแล้วนำกลับมาใช้ใหม่ ระบบปิดสำหรับสัตว์น้ำมีข้อดีคือ ทำให้คุณภาพน้ำคงที่ตลอดการเลี้ยง สามารถเพิ่มผลผลิต ป้องกันการติดโรค และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากการปล่อยน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยง จึงนับว่ามีความจำเป็นและสำคัญอย่างยิ่งต่ออนาคตของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย แต่การเพาะเลี้ยงในระบบปิดมักประสบปัญหาแอมโมเนียสะสมในระดับความเข้มข้นสูง มีสาเหตุจากการให้อาหารในปริมาณมาก การขับถ่ายของสัตว์น้ำ และจากการย่อยสลายของโปรตีนในอาหารที่เหลือจากการบริโภคโดยแบคทีเรียภายในบ่อเลี้ยง ทั้งนี้ การแก้ปัญหาคาร์บอนไดออกไซด์ของดินที่ก้นบ่อที่อยู่ภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อาจใช้วิธีทางชีวภาพโดยใช้สิ่งมีชีวิตหน้าดินเข้ามาช่วย เช่น ไส้เดือนน้ำจืด เนื่องจากไส้เดือนน้ำจืดเป็นสัตว์กินซากเน่าเปื่อยของพืชและสัตว์ (Scavenger) กินพวกซากอินทรีย์ ตะกอน และสารอินทรีย์ในดินและโคลนที่อยู่ในรู แหล่งอาหารและพฤติกรรมกินอาหารขึ้นอยู่กับพื้นที่อยู่อาศัย ซากอินทรีย์ขนาดเล็กสำหรับ และจุลินทรีย์อื่นๆ เป็นอาหาร ไส้เดือนน้ำจืดสามารถอยู่ในน้ำจืดได้ทุกสภาพ ส่วนใหญ่ฝังตัวลงในรูตามพื้นที่ที่น้ำที่มีซากเปื่อยอยู่ สามารถทนต่อสภาวะออกซิเจนในน้ำต่ำได้ และมีการสกัดของเสียในรูปของแอมโมเนีย หรืออาจอยู่ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนได้ในช่วงเวลาสั้นๆ เช่น *Tubifex* อยู่ในโคลนในน้ำเน่าเสียหรืออยู่ในพื้นที่ทะเลสาบที่ขาดออกซิเจนได้ และ *Tubifex* จะตายถ้าอยู่ในสภาพที่มีการพ่นออกซิเจนให้นานเกินไป ไส้เดือนน้ำจืดเป็นอาหารธรรมชาติที่สำคัญโดยเฉพาะปลา เป็นห่วงโซ่อาหารที่สำคัญและระบบนิเวศของแหล่งน้ำด้วย (Jarupan and Jarupan, 2003) ทำให้เป็นที่นิยมและเป็นที่ต้องการของผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะ

การเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเพราะเป็นอาหารมีชีวิตที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่งรวมโปรตีน วิตามินและกรดไขมันหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้ำโดยเฉพาะกรดไขมัน omega 3 ชนิด DHA (docosahexaenoic acid) และ EPA (eicosapentaenoic acid) มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ไส้เดือนน้ำจืดสามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ความเน่าเสียของน้ำได้ดี โดยเฉพาะไส้เดือนน้ำจืดวงศ์ Tubificidae สามารถใช้แสดงลักษณะสถานภาพทางอินทรีย์สารที่อุดมสมบูรณ์ของพื้นที่ของน้ำ โดยเฉพาะ *Branchiura sowerbyi* และ *Tubifex tubifex* เป็นชนิดที่แพร่กระจายในแหล่งน้ำที่มีปริมาณสารอินทรีย์รวมมากในระดับ 112.55-118.15 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีปริมาณซัลไฟด์รวมอยู่ในระดับ 0.14-0.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และอาศัยอยู่สภาพพื้นที่ของน้ำที่เป็นลักษณะโคลนสีดำปนไปด้วยซากพืชซากและมูกเลนเหนียวได้ดี เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพของแหล่งน้ำที่เสื่อมโทรม (Bartsh and Ingram, 1959; Teera, 1992; Soodta, 2007) การวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วิธีทางชีวภาพโดยใช้ไส้เดือนน้ำจืดมาแก้ปัญหาการเน่าเสียของดินพื้นบ่อที่อยู่ภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

วิธีการวิจัย

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลอง (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 4 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replication) ดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงปลาดุกอย่างเดียว
- ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลาดุกและใส่ไส้เดือนน้ำจืด 300 กรัม
- ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงปลาดุกและใส่ไส้เดือนน้ำจืด 450 กรัม
- ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงปลาดุกและใส่ไส้เดือนน้ำจืด 600 กรัม

วิธีดำเนินการทดลอง

1. ทดลองเลี้ยงปลาดุกในกล่องพลาสติกทึบขนาด 47×66×34 เซนติเมตร จำลองเป็นบ่อเลี้ยงปลาดุกจากพื้นกล่องมีดินสูง 5 เซนติเมตร ใส่น้ำสูง 20 เซนติเมตร น้ำไหลผ่านตลอดในระบบน้ำหมุนเวียน

2. ปลาดุกที่ใช้ในการทดลองมีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันประมาณ 3 นิ้ว เลี้ยงในกล่องพลาสติกทึบขนาด 47×66×34 เซนติเมตร ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร (40 ตัว) ตามแผนการทดลองที่กำหนด ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีนไม่น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ให้กินจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง เวลา 08.00 น. และเวลา 16.00 น. ขณะให้อาหารปิดระบบน้ำหมุนเวียน

3. ไส้เดือนน้ำจืดที่ใช้ในการทดลองซื้อมาจากร้านในเขตภาคกลาง มาล้างทำความสะอาดโดยการเปิดน้ำไหลผ่านตลอดและคอยพลิกกลับไส้เดือนน้ำจืดที่เกาะกลุ่มกันเป็นก้อนเพื่อให้ตะกอนสิ่งสกปรกที่อยู่ด้านใต้หลุดออกมา คัดเฉพาะไส้เดือนน้ำจืดที่สะอาดนำมาใช้ทดลอง ใส่อุณหภูมิไส้เดือนน้ำจืดตามแผนการทดลอง ทำตะแกรงกันเหนือพื้นกล่องประมาณ 10 เซนติเมตร เพื่อไม่ให้ปลาดุกมุดลงไปกินไส้เดือนน้ำจืดและเลี้ยงร่วมกับปลาดุกจนครบ 12 สัปดาห์

4. เติมหอากาศอยู่ตลอดเวลาเพื่อรักษาปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำให้อยู่ในระดับไม่ต่ำกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระหว่างการเลี้ยง

5. ศึกษาคุณสมบัติของน้ำในระหว่างการทดลอง ดังนี้

5.1 วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุกวัน เวลา 08.00 น. โดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen) ใช้วิธีไตเตรท หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีที่กล่าวอ้างโดย Duangsawasdi and Somsiri (1985) และอุณหภูมิ (temperature) ใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบแท่งแก้ว หน่วยวัดเป็นองศาเซลเซียส

5.2 วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุก 2 สัปดาห์ เวลา 08.00 น. โดยความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ใช้ pH meter ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 991001 ความกระด้าง (hardness) และความเป็นด่าง (alkalinity) ใช้วิธีไตเตรท หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ตามวิธีที่กล่าวอ้างโดย Duangsawasdi and Somsiri (1985) ปริมาณแอมโมเนียรวม ไนโตรท ไนเตรต และ ฟอสเฟต วัดโดยเครื่อง spectrophotometer ยี่ห้อ HACH รุ่น DR/2000V หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร

6. เก็บตัวอย่างดินก่อนเริ่มต้นการทดลองและหลังสิ้นสุดการทดลอง เพื่อนำมาหาค่าปริมาณความเป็นกรดเป็นด่างในดิน (pH) สารอินทรีย์รวม (Organic matter) ฟอสฟอรัสที่มีประโยชน์ (Available-P) ไนโตรเจนรวม (Total Nitrogen) โปแทสเซียม (Extractable forms potassium)

7. ศึกษาการเจริญเติบโตทั้งด้านความยาวและน้ำหนักของปลาทุก โดยการชั่งน้ำหนักวัดความยาวทุก 2 สัปดาห์ ตั้งแต่ก่อนเริ่มต้นการทดลองและไปจนถึงสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 สุ่มปลาทุกจำนวน 25% ของแต่ละซ้ำของการทดลอง นำปลามาวัดความยาวเหี่ยย (total length) ด้วย electronic digital caliper ทศนิยม 2 ตำแหน่ง และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง เลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 12 สัปดาห์ นับจำนวนลูกปลาทั้งหมด ศึกษาการเจริญเติบโตของไส้เดือนน้ำจืด โดยชั่งน้ำหนักเปียกรวมก่อนเริ่มต้นการทดลองและหลังสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักและความยาวของปลาทุก การเจริญเติบโตด้านน้ำหนักของไส้เดือนน้ำจืด มาทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน one way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan new's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 17.0

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำไส้เดือนน้ำจืดมากำจัดของเสียที่พื้กันบ่อเลี้ยงปลาภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยทดลองเลี้ยงปลาทุกในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร (40 ตัว) ในกล่องพลาสติกทึบ ขนาด 47×66×34 เซนติเมตร ซึ่งจำลองเป็นบ่อเลี้ยงปลา และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 300, 450 และ 600 กรัม ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีนไม่น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้

1. การเจริญเติบโตของปลาตุ๊ก

1.1 ด้านความยาว

ปลาตุ๊กมีความยาวเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 7.63 ± 0.11 , 7.66 ± 0.12 , 7.62 ± 0.04 และ 7.64 ± 0.10 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 ปลาตุ๊กมีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 13.38 ± 0.15 , 13.47 ± 0.07 , 13.53 ± 0.09 และ 13.62 ± 0.15 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า ปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 0, 300, 450 และ 600 กรัม มีความยาวเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีค่ามากกว่าปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ความยาวเพิ่มเฉลี่ยต่อวันมีค่าเท่ากับ 0.0639 ± 0.002 , 0.0646 ± 0.001 , 0.0657 ± 0.001 และ 0.0664 ± 0.002 เซนติเมตรต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านความยาวมีค่าเท่ากับ 0.62 ± 0.02 , 0.63 ± 0.01 , 0.64 ± 0.01 และ 0.64 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า ปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ (0, 300, 450 และ 600 กรัม) มีความยาวเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านความยาวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1)

1.2 ด้านน้ำหนัก

ปลาตุ๊กมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.5327 ± 0.0678 , 2.5353 ± 0.0755 , 2.5344 ± 0.0882 และ 2.5319 ± 0.0899 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยของปลาตุ๊กในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 ปลาตุ๊กมีน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 11.4451 ± 0.1128 , 11.5145 ± 0.0747 , 11.6591 ± 0.1020 และ 11.9011 ± 0.2394 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า ปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 450 และ 600 กรัม มีน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีค่ามากกว่าปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 0 และ 300 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 0, 300 และ 450 กรัม มีน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวันมีค่าเท่ากับ 0.0990 ± 0.0018 , 0.0998 ± 0.0017 , 0.1014 ± 0.0020 และ 0.1041 ± 0.0034 กรัมต่อวัน ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านน้ำหนักมีค่าเท่ากับ 1.68 ± 0.04 , 1.68 ± 0.03 , 1.70 ± 0.05 และ 1.72 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านน้ำหนักของปลาตุ๊กที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1)

1.3 อัตราการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลาตุ๊กที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร (40 ตัว) ในทุกชุดการทดลอง เหลือรอด 40 ตัว คิดเป็นอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า ปลาตุ๊กที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1)

2. การเจริญเติบโตของไส้เดือนน้ำจืด

ไส้เดือนน้ำจืดมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.0000 ± 0.0000 , 300.0277 ± 0.0037 , 450.0120 ± 0.0008 และ 600.0110 ± 0.0017 กรัม ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ไส้เดือนน้ำจืดมีน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 0.0000 ± 0.0000 , 348.4725 ± 6.5906 , 526.3777 ± 8.3220 และ 707.2139 ± 9.8021 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวันมีค่าเท่ากับ 0.0000 ± 0.0000 , 0.5383 ± 0.0732 , 0.8485 ± 0.0925 และ 1.1911 ± 0.1089 กรัมต่อวัน ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านน้ำหนักมีค่าเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 0.17 ± 0.02 , 0.17 ± 0.02 และ 0.18 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า ไส้เดือนน้ำจืดที่ใส่ในปริมาณ 300, 450 และ 600 กรัม ระหว่างการเลี้ยงปลาตู้ในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะด้านน้ำหนักของไส้เดือนน้ำจืดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 2)

3. คุณสมบัติของน้ำระหว่างการทดลอง

จากผลการทดลองข้างต้น เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของน้ำระหว่างการทดลองเลี้ยงปลาตู้ในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร (40 ตัว) และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 300, 450 และ 600 กรัม เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า คุณสมบัติของน้ำทุกพารามิเตอร์ระหว่างการทดลองอยู่ในช่วงเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ อุณหภูมิน้ำระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 26-28 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 5.1-6.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 6.1-7.5 แอมโมเนียระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.043-0.356 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนโตรที่ระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.002-0.075 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่าไนเตรตระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.353 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัสระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.113 มิลลิกรัม ความเป็นด่างระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 114-134 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต และความกระด้างระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 92-126 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต

4. คุณสมบัติของดินระหว่างการทดลอง

จากผลการทดลองข้างต้น คุณสมบัติของดินก่อนเริ่มต้นการทดลองและสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลาตู้ในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร (40 ตัว) และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 300, 450 และ 600 กรัม เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่า คุณสมบัติของดินทุกพารามิเตอร์ (ยกเว้นสารอินทรีย์รวมในดิน) ทั้งก่อนเริ่มต้นการทดลองและสิ้นสุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า สารอินทรีย์รวมในดินเฉลี่ยระหว่างการเลี้ยงปลาตู้ในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 300, 450 และ 600 กรัม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีค่าน้อยกว่าที่เลี้ยงปลาตู้เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 3)

Table 1 Mean±SD of initial length, initial weight, final length, final weight, daily length gain, daily weight gain, specific growth rate in length and weight and survival rate of 120 catfish /m² combined with aquatic worms at 4 different quantities for 12 weeks

Index	culture catfish 120 species/m ² combine with aquatic worms (g)			
	0	300	450	600
initial length (cm)	7.63±0.11 ^a	7.66±0.12 ^a	7.62±0.04 ^a	7.64±0.10 ^a
final length (cm)	13.38±0.15 ^a	13.47±0.07 ^{ab}	13.53±0.09 ^{ab}	13.62±0.15 ^b
initial weight (g)	2.5327±0.0678 ^a	2.5353±0.0755 ^a	2.5344±0.0882 ^a	2.5319±0.0899 ^a
final weight (g)	11.4451±0.1128 ^a	11.5145±0.0747 ^a	11.6591±0.1020 ^{ab}	11.9011±0.2394 ^b
daily length gain (cm/day)	0.0639±0.002 ^a	0.0646±0.001 ^a	0.0657±0.001 ^a	0.0664±0.002 ^a
daily weight gain (g/day)	0.0990±0.0018 ^a	0.0998±0.0017 ^a	0.1014±0.0020 ^{ab}	0.1041±0.0034 ^b
Specific growth rate In length (%)	0.62±0.02 ^a	0.63±0.01 ^a	0.64±0.01 ^a	0.64±0.01 ^a
Specific growth rate In weight (%)	1.68±0.04 ^a	1.68±0.03 ^a	1.70±0.05 ^a	1.72±0.06 ^a
Survival rate (%)	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

Remarks: Different letters between the horizontal differences are statistically Significant (p<0.05).

Table 2 Mean±SD of initial weight, final weight, daily weight gain and specific growth rate in weight of aquatic worms cultured with 120 catfish /m² combined with aquatic worms at 4 different quantities for 12 weeks

Aquatic worms	culture catfish 120 species/m ² combine with aquatic worms (g)			
	0	300	450	600
initial weight (g)	0.000±0.000	300.0277±0.0037	450.0120±0.0008	600.0110±0.0017
final weight (g)	0.000±0.000	348.4725±6.5906	526.3777±8.3220	707.2139±9.8021
daily weight gain (g/day)	0.000±0.000	0.5383±0.0732	0.8485±0.0925	1.1911±0.1089
Specific growth rate In weight (%)	0.000±0.000 ^a	0.17±0.02 ^b	0.17±0.02 ^b	0.18±0.02 ^b

Remarks: Different letters between the horizontal differences are statistically Significant (p<0.05).

Table 3 Mean±SD of pH, Organic matter, Available-P, Total Nitrogen and Extractable forms potassium at the beginning and the end of experiment in 120 catfish /m² culture combined with aquatic worms at 4 different quantities for 12 weeks

Index	culture catfish 120 species/m ² combine with aquatic worms (g)			
	0	300	450	600
<i>At the beginning</i>				
pH	7.07±0.21 ^a	7.07±0.12 ^a	7.13±0.15 ^a	7.07±0.21 ^a
Organic matter (%)	2.75±0.16 ^a	2.77±0.20 ^a	2.75±0.18 ^a	2.78±0.08 ^a
Available-P (mg/kg)	35.33±1.53 ^a	35.00±2.65 ^a	35.67±1.53 ^a	35.33±2.52 ^a
Total Nitrogen (%)	0.11±0.03 ^a	0.12±0.03 ^a	0.11±0.03 ^a	0.11±0.02 ^a
Extractable forms potassium (mg/kg)	87.33±1.53 ^a	87.33±2.08 ^a	87.33±2.52 ^a	87.33±3.79 ^a
<i>At the end</i>				
pH	7.17±0.06 ^a	7.20±0.10 ^a	7.13±0.15 ^a	7.10±0.10 ^a
Organic matter (%)	3.35±0.09 ^a	3.17±0.05 ^b	3.13±0.10 ^b	3.05±0.08 ^b
Available-P (mg/kg)	39.67±2.52 ^a	39.33±1.53 ^a	39.67±2.08 ^a	39.67±1.53 ^a
Total Nitrogen (%)	0.24±0.02 ^a	0.23±0.03 ^a	0.22±0.05 ^a	0.22±0.04 ^a
Extractable forms potassium (mg/kg)	87.33±1.53 ^a	87.33±2.08 ^a	87.33±2.52 ^a	87.33±3.79 ^a

Remarks: Different letters between the horizontal differences are statistically Significant (p<0.05).

การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำไส้เดือนน้ำจืดมากำจัดของเสียที่พื้นก้นบ่อเลี้ยงปลาภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมโดยทดลองเลี้ยงปลาดุกพร้อมกับการใช้ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าไส้เดือนน้ำจืดมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตทั้งด้านความยาวและน้ำหนักของปลาดุก เห็นได้จากผลการทดลองเลี้ยงปลาดุกในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใช้ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 300, 450 และ 600 กรัม มีค่าความยาวเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน แต่มีค่ามากกว่าเลี้ยงปลาดุกอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) Marian and Pandian (1984) รายงานว่า ได้มีนักวิจัยทำการศึกษาการเพิ่มโปรตีนเข้าไปในส่วนผสมของอาหารในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์น้ำ และนักวิจัยได้พัฒนาสูตรการผลิตอาหารโดยมุ่งไปที่การใช้ไส้เดือนน้ำเข้ามา เนื่องจากไส้เดือนน้ำมีสารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ โดยใช้ไส้เดือนน้ำที่มีการแพร่กระจายในแหล่งน้ำจืด เช่น ไส้เดือนน้ำจืดจำพวก *Tubifex sp.*, *Branchiura sowerbyi* และ *Enchytraeus sp.* เป็นอาหารเสริมหรืออาหารพิเศษสำหรับเลี้ยงปลาหรือกึ่งได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Vineetha and Maheswarudu (2013) รายงานว่า ไส้เดือนน้ำ

สามารถช่วยกระตุ้นฮอร์โมนโพสทาเกรนดินและกระตุ้นอวัยวะเซลล์สืบพันธุ์ของสัตว์น้ำโดยเฉพาะกลุ่มครัสเตเชียขึ้นให้มีความสมบูรณ์เพศได้ โดยมีการรายงานว่าการนำเอาไส้เดือนน้ำ *Pontodrilus bermudensis* มาใช้เป็นอาหารของกุ้งกุลาดำ ช่วยกระตุ้นรังไข่ให้มีความสมบูรณ์ กระตุ้นการวางไข่ได้ ซึ่งไส้เดือนน้ำสามารถนำมาเป็นแหล่งอาหารโปรตีนทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสำเร็จรูปได้

คุณสมบัติของน้ำระหว่างการทดลองเลี้ยงปลาอุกอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร (40 ตัว) ร่วมกับไส้ไส้เดือนน้ำจัดปริมาณต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 300, 450 และ 600 กรัม เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าคุณสมบัติของน้ำทุกพารามิเตอร์ระหว่างการทดลองอยู่ในช่วงเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ อุณหภูมิน้ำระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 26-28 องศาเซลเซียส อุณหภูมิน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำควรอยู่ในช่วง 23 - 32 องศาเซลเซียส (Wirat, 2001) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 5.1-6.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต การขยายพันธุ์ และการอนุรักษสัตว์น้ำ ควรมีค่าไม่ต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำ ความกดดันของอากาศ และสิ่งเจือปนในน้ำ น้ำที่มีค่าปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำสูงจะมีคุณภาพน้ำที่ดีกว่าน้ำที่มีค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำยังมีความสัมพันธ์กับค่าปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (บีโอดี) กล่าวคือ ถ้าแหล่งน้ำมีค่าบีโอดีมากแสดงว่าแหล่งน้ำนั้นมีความสกปรกมาก เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องใช้ออกซิเจนจำนวนมากในการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือปฏิภูมิล ส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง แหล่งน้ำธรรมชาติมีค่าบีโอดีที่เหมาะสมไม่เกิน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 6.1-7.5 ซึ่งความเป็นกรดเป็นด่างภายในแหล่งน้ำที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5 - 9 ความเป็นกรดเป็นด่างเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ แหล่งน้ำที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างไม่ได้ตามมาตรฐานอาจเป็นอันตรายต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ แอมโมเนียระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.043-0.356 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์ระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.002-0.075 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรตระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.353 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสฟอรัสระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.005-0.113 มิลลิกรัม ซึ่งค่าที่เหมาะสมของแอมโมเนียควรมีค่าไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์ควรมีค่าไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรตควรมีค่าไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟอสฟอรัสควรมีค่าที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.05- 1 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่อเลี้ยงที่มีค่าฟอสฟอรัสสูงกว่าเกณฑ์จะมีสีของน้ำค่อนข้างเขียวเข้ม (Pollution Control Department, 2014) ความเป็นด่างระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 114-134 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต และความกระด้างระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 92-126 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ คือ 50-300 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต และค่าความกระด้างที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ คือ 75-150 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (Wirat, 2001) สารอินทรีย์รวมในดินเฉลี่ยระหว่างการเลี้ยงปลาอุกในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และไส้ไส้เดือนน้ำจัดปริมาณ 300, 450 และ 600 กรัม มีค่าไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าน้อยกว่าที่เลี้ยงปลาอุกเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lucai *et al* (2016) ศึกษา

การเติมไส้เดือนน้ำเข้าไปในระบบการบำบัดน้ำเสียสามารถช่วยลดกากตะกอนภายในระบบได้ ระดับการให้อากาศเป็นสิ่งสำคัญ การศึกษานี้ตรวจสอบกระบวนการของการลดกากตะกอนในพื้นที่ใช้ไส้เดือนน้ำ โดยมีการให้อากาศที่แตกต่างกันเพื่อเปรียบเทียบการบำบัดน้ำเสียแบบทั่วไปและการบำบัดโดยใช้ไส้เดือนน้ำ พบว่าในระบบการบำบัดน้ำโดยให้อากาศ การใช้ไส้เดือนน้ำสามารถช่วยลดของเสียที่เป็นกากตะกอนได้โดยไม่ต้องใช้พลังงานเพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับ Anschutz *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษาคูณสมบัติทางเคมีภาพของตะกอนดินที่มีผลต่อสัตว์หน้าดินที่ไม่มีกระดูกสันหลังน้ำจืด หลังจากที่มีการรบกวนตะกอนดินจะพบกลุ่มของไส้เดือนน้ำจืด tubificid worms ไส้เดือนน้ำจืดจะกินตะกอนดินเหล่านี้ ความถี่ของการรบกวนตะกอนดินในการทดลองใช้การตามรอยของแสงฟลูออเรสเซนซ์ ไส้เดือนน้ำจืด Tubificids จะดึงเอาออกซิเจนจากบริเวณน้ำใต้ท้องน้ำ ดังนั้นตะกอนดินข้างใต้ท้องน้ำจึงอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน (anoxic) ความเข้มข้นของแอมโมเนียและแมงกานีสในตะกอนดินต่ำส่งผลให้เกิดการแย่งอินทรีย์คาร์บอนของไส้เดือนน้ำจืด tubificids ทำให้ไส้เดือนน้ำจืดชนิดนี้พบมากเมื่อเปรียบเทียบกับชนิดอื่นๆ

สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า ไส้เดือนน้ำจืดที่ใส่ลงไปช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มาจากเศษอาหารที่เหลือและมูลของปลาที่อยู่ในพื้นที่บ่อทดลองได้จริง จึงทำให้ปริมาณสารอินทรีย์รวมในดินเฉลี่ยลดลงอย่างเห็นได้ชัด มีการเพิ่มปริมาณของไส้เดือนน้ำจืดที่พื้นที่บ่อเนื่องจากไส้เดือนน้ำจืดมีอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโต เห็นได้จากผลการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักของไส้เดือนน้ำจืดเมื่อสิ้นสุดการทดลองในชุดการทดลองที่ใส่ไส้เดือนน้ำจืดจะมีปริมาณไส้เดือนน้ำจืดเพิ่มมากขึ้น ไส้เดือนน้ำจืดมีส่วนช่วยลดแอมโมเนียในน้ำเห็นได้จากผลการทดลองคุณสมบัติของน้ำระหว่างการทดลองครั้งนี้ที่เลี้ยงปลาในอัตราความหนาแน่น 120 ตัวต่อตารางเมตร และใส่ไส้เดือนน้ำจืดปริมาณ 300, 450 และ 600 กรัม มีค่าแอมโมเนียเฉลี่ยในน้ำลดลง จากผลการวิจัยดังกล่าวสามารถนำไส้เดือนน้ำจืดมาเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการกำจัดของเสียที่พื้นที่บ่อเลี้ยงปลา

เอกสารอ้างอิง

- Anschutz, P., A. Ciutat, P. Lecroart, M. Gerino and A. Boudou. 2012. Effects of Tubificid worm bioturbation on freshwater sediment biogeochemistry. *Aquatic Geochemistry*, 475-497.
- Bartsh, A. F. and W. M. Ingram. 1959. Stream life and pollution environment. *Public Work*, 9, 104-110.
- Duangwasadi, M. and Somsiri, J. 1985. Water quality and analytical method for fisheries research. National Fisheries Institute, Department of Fisheries, Bangkok. 115 p. [In Thai]
- Jarupan B. and Jarupan N. 2003. Invertebrates II Annelida through Protochordata. Publisher of Kasetsart University, Bangkok. 698 p. [in Thai]
- Lucai, D. G., W. Kan, H., Liu and X. Wan. 2016. Sludge reduction using aquatic worms under different aeration regimes. *Environmental Technology*, 38, 737-743.

- Marian M. P., T. J. Pandian. 1984. Culture and harvesting technique of *Tubifex tubifex*. *Aquaculture*, 42, 303-315.
- Pollution Control Department. 2014. Handbook for monitoring and evaluation of inland water quality surface of the earth. Ministry of Natural Resources and Environment, Bangkok. 96 p. [in Thai]
- Soodta, H. 2007. The use of Oligochaetes as an index of organic status of benthic substrate in different land use types of Nakhonchaisri River. Master of Science, Department of Fishery, Kasetsart University, Bangkok. 96p. [in Thai]
- Teera Lekcholayut. 1992. Aquatic Ecology. Publisher of Kasetsart University, Bangkok. 165 p. [in Thai]
- Vineetha A. and G. Maheswarudu. 2013. Culture of the littoral oligochaete *Pontodrilus bermudensis* Beddard. *The Journal of Bioprocess Technology Photon*, 97, 142-155.
- Wirat Jiwyam. 2001. Introduction to water quality and water quality analysis in aquaculture ponds. Publisher of Chulalongkorn University, Bangkok. 178 p. [in Thai]

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 ให้ส่งสำเนาใบโอนมาที่ 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 จุลละคร
๕. ศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภาณิช
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 ธิภูสุวรรณ์ ปภาวสิทธิ์
๑๔. รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรพงศ์ อมรสกุล
๑๕. รองศาสตราจารย์ ดร.ธนิษฐา ทรรพนันท์ ใจดี
๑๖. รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลหาหะวิสุทธิ
๑๗. รองศาสตราจารย์ ดร.นิวุฒิ หวังชัย
๑๘. รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณีต งามเสน่ห์

๑๙. รองศาสตราจารย์ ดร.เผด็จศักดิ์ จารยะพันธุ์
๒๐. รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว
๒๑. รองศาสตราจารย์ ดร.พรศิลป์ ผลพันธุ์หิน
๒๒. รองศาสตราจารย์ ดร.มารีสา จาตุพรพัฒน์
๒๓. รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พิรพรพิศาล
๒๔. รองศาสตราจารย์ ดร.วิภูษิต มั่นชนะจิตร
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 ดุลจินดาชบาพร
๓๑. รองศาสตราจารย์ ดร.อัษฎารัตน์ เปี่ยมสมบุญ
๓๒. รองศาสตราจารย์ ดร.อลงกลด แทนออมทอง
๓๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา พยุหะ
๓๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญญาณัฐ สุนทรประสิทธิ์
๓๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลยา ลีรุ่งเรืองรัตน์
๓๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ครศรี ศรีกุลนาถ
๓๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรหมยะ
๓๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราพร โรจน์ทินกร
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 เลิศสุทธิชวาล
๔๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ ช้วนยุก

๔๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ มนเทียรอาสน์
๕๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ
๕๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุญ
๕๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ
๕๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ศักดิ์ เหล่าดี
๕๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เมธี แก้วเนิน
๕๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.รัชต์ ชัดติยะ
๕๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรียา ภูรีวิโรจน์กุล
๕๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันชัย วรวัฒนเมธีกุล
๕๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศราวุธ เจ๊ะไ่สะ
๕๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิจ
๖๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันธิวัฒน์ พิทักษ์พล
๖๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวิ
๖๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา เดวิดสัน
๖๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สถาพร ดิเรกบุษราคม
๖๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สำเนาวิ เสาวกุล
๖๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัมพันธ์ จันทร์ด
๖๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรัตน์ 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 ๓ มีนาคม พ.ศ. ๒๕๖๐


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช)
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้



วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

ปีที่ 11 เล่มที่ 2

กรกฎาคม - ธันวาคม 2560

Volume 11 Number 2

July - December 2017

สารบัญวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม พ.ศ. 2560

สารบัญ

บรรณาธิการ

บทความวิจัย

	หน้า
ผลของการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง	1
นพรัตน์ พัทธนี และทรงทรัพย์ อรุณกมล	
การเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมหญ้าหมักจากกระเพาะวัว	11
วรวิทย์ ชูขวัญนวล สายสุนีย์ จิตมโนวรรณ และสุดาพร ตงศิริ	
ประสิทธิภาพของถั่วเหลืองปนหมักเชื้อราท้องถิ่น <i>Aspergillus niger</i> ในอาหารผสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดง	20
วรอุฒิ เกิดปรากฏ และปรีดา ภูมิ	
ผลของแหนเปิดสดต่อการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการและต้นทุนการผลิตปลาดุกกรัสเซียในระบบน้ำหมุนเวียน	32
ภาณุมาศ อัมพรสวัสดิ์ จงกล พรมยะ บัญญัติ มนเทียรอาสน์ และชนกันต์ จิตมโน	
การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบเอนไซม์กลูตาไธโอนในปลากะพงขาว	46
(<i>Lates calcarifer</i>)	
รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ ศรีภาพรรณ ธาระนารถ ชลมาท โอฬารวณิช และกุลจิรา ญาณวัฒน์นะ	
การคัดแยกและใช้แบคทีเรียโอเพอซัยบัสเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> ในปลานิล	60
ตระหนัก สมเนตร เกตินิกิ จันทรโสภณ และเสรี จันทรโสภณ	
ชีววิทยาบางประการของปูแสม <i>Episesarma mederi</i> (H. Milne Edward, 1853) ในอ่าวปัตตานี	70
สมศักดิ์ บัวทิพย์ พัน ยี่ลีน และศราวุธ เจ๊ะโละ	
การศึกษาอาหารธรรมชาติในกระเพาะของปลากดหัวไม่งอกจากการประมงพื้นบ้านบริเวณชุมชนชาวประมงบ้านท่าสะพาน	83
ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา	
ชิตติยาเราะห์ สะอะ วณาลี เกื้อคราม และพงศธร จันทรรัตน์	
โครงสร้างพันธุศาสตร์ประชากรของปลากะบอก (<i>Liza subviridis</i>) ในชายฝั่งทะเลอันดามัน	98
วิระเกียรติ ทรัพย์มี จุฑามาต ศุภพันธ์ แจ่มจันทร์ เพชรศิริ และประดิษฐ์ แสงทอง	
ความเป็นไปได้ในการนำไส้เดือนน้ำจืดมากำจัดของเสียที่พื้กันบ่อเลี้ยงปลาภายใต้เงื่อนไขระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืน	111
และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม	
สิริฉัตร สุนทรวิภาต และ ประจวบ ฉายบุญ	