



วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง
JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

ปีที่ 14 เล่มที่ 1 : มกราคม - มิถุนายน 2563
Volume 14 Number 1 : January - June 2020

ISSN 1905-7393
ISSN Online 2730-146X

วารสารวิชาการเผยแพร่ความรู้

เทคโนโลยีและส่งเสริมกิจกรรมทางการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

ทั้งเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อม

จัดทำโดย

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง
Journal of Fisheries Technology Research
ISSN 1905-7393

ผู้จัดทำ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ที่ปรึกษา อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

คณบดีคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

หัวหน้ากองบรรณาธิการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุญ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมณะเศวต	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศาสตราจารย์ ดร.ทวนทอง จุฑาเกตุ	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
รองศาสตราจารย์ ดร.วิภูษิต มั่นทะจิตร	มหาวิทยาลัยบูรพา
รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รองศาสตราจารย์ ดร.นิวุฒิ หวังชัย	มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สำเนา เสาวกุล	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศ์ศักดิ์ เหล่าดี	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชยากร ภูมาศ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เลขากองบรรณาธิการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนกันต์ จิตมนัส มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง (ISSN 1905-7393) เป็นวารสารของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ (มกราคมและกรกฎาคม) ของทุกปี โดยมีนโยบายเพื่อเผยแพร่งานวิจัยและบทความทางวิชาการ ด้านเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำให้แก่องค์กรที่เกี่ยวข้องทั่วประเทศ

ติดต่อสำนักงานกองบรรณาธิการ

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

โทร. 053 875 100 – 2 โทรสาร. 053 875 130

อีเมลล์: jfishtech.mju@gmail.com

เว็บไซต์: http://http://www.fishtech.mju.ac.th/WEB/Journal_FT/main/index.php

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง
Journal of Fisheries Technology Research

ปีที่ 14 ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน พ.ศ. 2563

ISSN 1905-7393

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงเป็นวารสารวิชาการ
และเป็นลิขสิทธิ์ของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

มีวัตถุประสงค์เพื่อ

- 1.เผยแพร่วิชาความรู้และผลงานทางวิชาการ โดยเน้นผลงานจากการวิจัยทางการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ทั้งเชิงเศรษฐกิจ สังคมและสิ่งแวดล้อม
- 2.เป็นสื่อกลางในการแลกเปลี่ยนความคิดเห็นทางวิชาการเชิงสร้างสรรค์
- 3.ส่งเสริมอาจารย์ นักวิชาการ นักวิจัย นักศึกษาและผู้ที่เกี่ยวข้องให้มีส่วนร่วมในการถ่ายทอดเทคโนโลยี เผยแพร่และบริการด้านวิชาการแก่สังคม

ข้อคิดเห็นที่ปรากฏและแสดงในเนื้อหาบทความต่างๆ ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง
ถือเป็นความเห็นและความรับผิดชอบโดยตรงของผู้เขียนโดยเฉพาะ ไม่จำเป็นต้องสอดคล้อง
กับทฤษฎีของคณะผู้จัดทำ และมีใช้ความรับผิดชอบของคณะเทคโนโลยีการประมงและ
ทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ผู้ประสงค์จะนำข้อความใดๆ ไปพิมพ์เผยแพร่ต้องได้รับ
อนุญาตจากวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงและผู้เขียนตามกฎหมายว่าด้วยลิขสิทธิ์

บทบรรณาธิการ

วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ISSN 1905-7393 (print) และ ISSN 2730-146X (online) เป็นวารสารของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ (มกราคมและกรกฎาคม) ของทุกปี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสื่อกลางในการนำเสนอผลงานวิชาการให้กับนักวิจัย นักศึกษา บุคลากรเพื่อการเผยแพร่ข้อมูลนวัตกรรมและองค์ความรู้เชิงวิชาการระหว่างนักวิจัย นักวิชาการกับผู้ใช้ประโยชน์ทุกภาคส่วน เช่น เกษตรกร ภาคเอกชนและผู้สนใจ

วารสารฉบับนี้ประกอบด้วยเนื้อหาครอบคลุมที่หลากหลายเริ่มด้วยการพัฒนาสูตรอาหารเพื่อผลิตปลานิล การศึกษาผลของความเค็มเพื่อเป็นแนวทางการเลี้ยงปลาตะเพียนขาวในพื้นที่ดินเค็ม ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกิ้งกั้งแตงสามแถบ การใช้หอยกาบแหลมเพื่อเป็นดัชนีทางชีวภาพ รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลานวลจันทร์เทศ ปริศนากายนอกของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวทอนูเบียส การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ในการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำใส่ปลาไหลของไทยเพื่อการอนุรักษ์ ผลของอุณหภูมิความร้อนต่อจุลณพลศาสตร์การอบแห้งและคุณภาพของกุ้งกะต๋อม

ในนามคณะกรรมการกองบรรณาธิการฯ ต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อผู้เขียนผลงาน คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่พิจารณาผลงาน คณะกรรมการวิชาการของคณะฯ และผู้ประสานงาน ในนามตัวแทนกองบรรณาธิการและกรรมการท่านอื่น ๆ ที่ไม่สามารถเอ่ยนามได้หมด ตลอดจนผู้ให้การสนับสนุนจากหลายฝ่ายด้วยกัน ที่สามารถเป็นการส่งเสริมคุณภาพวารสารและดำเนินการจนทำให้วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงฉบับนี้ เป็นวารสารวิชาการเข้าสู่ระบบฐานข้อมูลวารสาร ASEAN Citation Index (ACI) ทำให้สามารถสืบค้นบทความได้จาก <http://www.asean-cites.org/> และระบบฐานข้อมูลวารสารไทย ที่สามารถสืบค้นได้จากหน้าเว็บไซต์วารสารที่ http://www.fishtech.mju.ac.th/WEB/Journal_FT/main/index.php?select=main หรือเว็บไซต์ของศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทยที่ <http://tci/trf.or.th> นำไปสู่การส่งเสริมคุณภาพวารสารและเผยแพร่ผลงานทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสาร ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าต่อการนำประโยชน์ต่อการศึกษาด้านวิชาการและวงการวิชาชีพด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำได้อย่างมั่นคงต่อไป

กองบรรณาธิการ

การหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลานิล

Fermentation of de-oil rice bran by *Pleurotus sajor-caju* for feed supplement

in Nile Tilapia

วาริรัตน์ แสนมานิช

Wareerat Sanmanoch

สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34000

Program in Microbiology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani, 34000

Corresponding author: wareerat.s@ubru.ac.th

บทคัดย่อ

การใช้กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลานิล โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนกากรำข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อ ปมที่อุณหภูมิ 35 ± 2 °C เป็นเวลา 15 วัน และอบแห้งที่ 55 °C พบว่ากากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนละลายและน้ำตาลรีดิวซ์ 89.44 ± 4.33 และ 48.25 ± 1.57 mg/ml ส่วนกากรำข้าวที่ไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดมี 42.82 ± 2.00 และ 136.00 ± 3.19 mg/ml ตามลำดับ เมื่อนำกากรำข้าวทั้งสองชนิดไปทดลองเลี้ยงปลานิล อายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 80 กรัม โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง คือ (T1) อาหารสำเร็จรูปปลาตะกุงเล็ก (โปรตีน 30%) เสริมด้วยกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้า 50% (T2) อาหารสำเร็จรูปปลาตะกุงเสริมด้วยกากรำข้าวที่ไม่ได้หมัก 50% (T3) อาหารสำเร็จรูปปลาตะกุงเลี้ยงปลาเป็นเวลา 45 วัน พบว่า ปลานิลที่กินอาหาร T1 (31.46 ± 2.48 กรัม) มีน้ำหนักเพิ่มสูงกว่า T2 (12.72 ± 1.07 กรัม) และ T3 (16.43 ± 1.57 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลที่กินอาหาร T1 วัดได้ 1.36 ± 0.13 และ 0.75 ± 0.07 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งให้ผลดีที่สุด ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับ T2 และ T3 นอกจากนี้ปลานิลที่กินอาหารทดลอง T1 และ T2 มีอัตราการรอดสูงกว่า T3 ($p < 0.05$) ในการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าการหมักกากรำข้าวด้วยเห็ดนางฟ้าสามารถใช้เป็นอาหารเสริมเลี้ยงปลานิลทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ: กากรำข้าว อาหารเสริมปลา เห็ดนางฟ้า ฐาน ปลานิล

Abstract

The utilization of de-oil rice bran fermented with mycelium of *Pleurotus sajor-caju* for feed supplement in Nile Tilapia was investigated. Mushroom's mycelium was cultured on de-oil rice bran, incubated at 35 ± 2 °C for 15 days and dried in oven at 55 °C. The fermented de-oil rice bran with *P. sajor-caju* was evaluated and a result found that soluble protein and reducing sugar were 89.44 ± 4.33 mg/ml and 48.25 ± 1.57 mg/ml, respectively, while those in de-oil rice bran without fermentation were 42.82 ± 2.00 and 136.00 ± 3.19 mg/ml, respectively. After that, two conditions of de-oil rice bran treatment were used to feed Nile Tilapia, 2 months old, with an average weight 80 gram for 60 days. The samples were assigned to three treatments, (T1) commercial catfish feed (30%

protein) combine fermented de-oil rice bran 50%, (T2) commercial catfish feed combine de-oil rice bran 50% and (T3) only commercial catfish feed. The result revealed that body weight of T1 was 31.46 ± 2.48 gram which was significantly ($p < 0.05$) higher than T2 (12.72 ± 1.07 gram), and T3 (16.43 ± 1.57 gram). Feed conversion ratio and average daily growth of fish fed T1 treatment were 1.36 ± 0.13 and 0.75 ± 0.07 gram/day which were better ($p < 0.05$) than T2 and T3. Moreover, fish from T1 and T2 treatment showed higher survival rate than T3 treatment. In conclusion, de-oil rice bran fermentation with *P. sajor-caju* provided the alternative supplement diet to Nile Tilapia which was better than feeding only commercial feed.

Key words: De-oil rice bran, Feed supplement of fish, Oyster mushroom, Nile Tilapia

บทนำ

กากรำข้าวเป็นผลพลอยได้มาจากการสกัดน้ำมันรำข้าวซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีราคาถูก และในกากรำข้าวมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์มาก เช่น โปรตีน ใยอาหาร วิตามิน เป็นต้น กากรำข้าวยังมี คาร์โบไฮเดรตและเยื่อใยอยู่มากที่ประกอบไปด้วยอะราบิโนไซแลน เฮมิเซลลูโลส (Arabinoxylan Hemicellulose) ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์และผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงได้ (Wongpiyachon and Sukviwat, 2009) ปัจจุบันนิยมนำกากรำข้าวมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงสัตว์เพื่อการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตามอะราบิโนไซแลน เฮมิเซลลูโลส ที่อยู่ในกากรำเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด นอกจากนี้เฮมิเซลลูโลสจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว เมื่อนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์คุณค่าทางโภชนาของกากรำข้าวจึงยังไม่ได้ประโยชน์สูงสุด ดังนั้นถ้าหากำรามาหมักด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโครงสร้างขององค์ประกอบในกากรำข้าวให้เป็นน้ำตาลและยังได้โปรตีนเพิ่มจากเซลล์จุลินทรีย์ที่เจริญร่วมด้วย เพื่อให้สัตว์สามารถนำสารอาหารเหล่านี้ดูดซึมใช้ในการเจริญต่อไป

เห็ดนอกจากใช้เป็นอาหารแล้ว ยังมีความสำคัญต่อกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ เนื่องจากเห็ดสามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น เอนไซม์เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ไคลาเนส ลิกนินเนส (Reddy *et al.*, 2003) เห็ดนางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. เป็นเห็ดกินได้ที่จัดเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญที่นิยมรับประทานเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เพราะมีไขมันต่ำ โปรตีนสูงและมีสารสำคัญ เช่น polysaccharide, β -glucan ช่วยในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและยังสามารถใช้เป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ในอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ (Chirinang and Intarapichet, 2009; Jabir *et al.* 2012; Ahmed *et al.* 2017) และสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายโครงสร้างที่ซับซ้อนในองค์ประกอบหลักของก้อนเพาะเห็ดได้ เช่น ขี้เลื่อย และรำข้าว เป็นต้น เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเป็นดอกเห็ด (fruiting body) ดังนั้นการหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจในด้านกระบวนการย่อยสลาย

คาร์โบไฮเดรตกลุ่ม heteropolysaccharide ในกากรำข้าวเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาะให้กับกากรำข้าว ซึ่งเหมาะสมต่อการนำมาเป็นอาหารสัตว์ต่อไป

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย เนื่องจากเป็นที่นิยมในการบริโภคสูงถึงร้อยละ 30 ของการบริโภคปลาทั้งหมดและมีแนวโน้มการบริโภคที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปลานิลเป็นอาหารโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ไขมันต่ำ เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว จึงทำให้ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย ทำให้การเลี้ยงปลานิลมีอัตราการขยายตัวเพิ่มมากขึ้นทุกปี รูปแบบการเลี้ยงในปัจจุบันเริ่มเปลี่ยนเป็นการเลี้ยงแบบหนาแน่นสูง ซึ่งการเลี้ยงรูปแบบนี้มากกว่าร้อยละ 50 ของต้นทุนทั้งหมดมาจากต้นทุนค่าอาหาร (Bureau of agricultural economics research, 2009) ในปัจจุบันราคาอาหารปลาที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากปลาป่นที่เป็นวัตถุดิบหลักในสูตรอาหารมีราคาสูงขึ้นและผลิตได้ลดลง จึงมีความพยายามที่จะลดการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำแทบทุกชนิดลงให้ได้มากที่สุด และใช้อาหารอย่างอื่นทดแทน ซึ่งต้องเป็นอาหารเสริมที่มีราคาถูก ผลิตได้ปริมาณมาก และส่งเสริมการเจริญของปลาได้ดี

ดังนั้นคณะผู้วิจัยได้เห็นความสำคัญในคุณค่าของสารอาหารที่มีอยู่จำนวนมากในกากรำข้าว การนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้นโดยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้มากขึ้นด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารเสริมปลานิล เพิ่มทางเลือกที่ดีให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สถานที่ทดลองเพาะเลี้ยงปลานิลและตัวอย่างปลานิล

Site I สถานที่รับตัวอย่างปลานิลอายุ 2 เดือน จากฟาร์มเลี้ยงปลานิล 1). ประจิม ฟาร์มปลา 104 หมู่ 6 บ้านตำแย ตำบลม่วงสามสิบ อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี 2). อุทัยพันธุ์ปลา 47 หมู่ 11 บ้านตำแย ตำบลม่วงสามสิบ อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี 3). น้องตองฟาร์มปลา 136 หมู่ 6 บ้านตำแย ตำบลม่วงสามสิบ อำเภอม่วงสามสิบจังหวัดอุบลราชธานี

Site II สถานที่ทดลองเพาะเลี้ยงลูกปลานิล ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี

2. การเตรียมเส้นใยเห็ดนางฟ้าและกากรำข้าว

2.1 การแยกเส้นใยเห็ดนางฟ้า โดยนำดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานมาเช็ดทำความสะอาด 70% ethyl alcohol จากนั้นใช้มือฉีกดอกเห็ดออกเป็น 2 ส่วน แล้วใช้เข็มเย็บเย็บที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อภายในดอกโดยเลือกเนื้อเยื่อระหว่างก้านดอกกับหมวกเห็ด ใช้เข็มเย็บเย็บตัดเนื้อเยื่อติดมาเพียงเล็กน้อย แล้ววางลงในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นแยกเส้นใยของเห็ดนางฟ้าที่บริสุทธิ์ลงในอาหารหลอดอาหารเลี้ยง PDA

2.2 การเตรียมกากรำข้าวสำหรับกระบวนการหมัก ซึ่งได้กากรำข้าวจากบริษัทสยามฮาร์ทออยล์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด เพื่อหาความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ดีที่สุด โดยชั่งกากรำข้าว 30 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น โดยคิดเป็นร้อยละของน้ำต่อกากรำข้าว 40, 60, 80, 100, 120 และ 140 บรรจุกากรำข้าวลงในขวดขนาด 16 ออนซ์ ปิดขวดบรรจุ แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยการนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 15 นาที

3. การศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนกากรำข้าว

เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยนำเส้นใยเชื้อเห็ดเลี้ยงบนจานอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเจาะชั้นวุ้นเชื้อเห็ดให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชิ้น ลงบนกากรำข้าวผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 (ความชื้นที่เส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานเจริญบนกากรำได้ดีที่สุด) ที่ฆ่าเชื้อแล้วในข้อ 2.2 บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 15 วัน เมื่อครบเวลานำกากรำข้าวและเส้นใยเห็ดที่ได้จากการหมักไปบ่มแห้งที่อุณหภูมิ 55 °C เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนละลายและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนละลาย ด้วยวิธี Biuret method

ชั่งตัวอย่างกากรำข้าว 5 กรัม ลงใน erlenmeyer flask จากนั้นเติมน้ำกลั่น 95 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 9.5 ด้วย 2 N NaOH ผสมด้วยเครื่อง Magnetic & Stirrer ที่ 600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนใส 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติม Biuret solution 4 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ วิธี 3,5-dinitrosalicylic acid

ชั่งตัวอย่างกากรำข้าว 1 กรัม บดให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนใส 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 3, 5-dinitrosalicylic acid 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร เติมน้ำเย็นทันที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

4. การเลี้ยงปลานิลโดยใช้กากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน

4.1 การเตรียมสถานที่ เลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ถังน้ำสแตนเลสขนาด 250 ลิตร จำนวน 9 ถัง น้ำเลี้ยงใช้น้ำประปาที่ระเหยคลอรีนแล้ว เติมน้ำให้มีระดับความสูงของน้ำ 40 เซนติเมตร ให้อากาศโดยใช้แอร์ปั๊มให้มากพอ เปลี่ยนน้ำใหม่วันเว้นวันโดยเปลี่ยนน้ำเดิมไว้ร้อยละ 30

4.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง นำปลานิล อายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 80 กรัมต่อตัว จากฟาร์ม (Site I) จำนวน 140 ตัว แต่เนื่องจากลูกปลามีแหล่งกำเนิดที่ต่างกัน จึงจัดการกระจายลูกปลาแบบสุ่มคละรวมกันให้แต่ละถังโดยไม่กำหนดแหล่งที่มา ด้วยความหนาแน่น 15 ตัวต่อถัง เพื่อมาพักปรับสภาพในถังทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปรับสภาพให้คุ้นเคยกับอาหารและสถานที่

4.3 การจัดการด้านอาหาร ใช้อาหารปลาตุ๊กเล็ก (ยี่ห้อฟิชเฟรช) เพื่อให้เหมาะต่อการกินอาหารของปลา ช่วงอายุ 2-4 เดือน โดยมีระดับโปรตีนในอาหารทดลองประมาณร้อยละ 30 ให้อาหารร้อยละ 2 ของน้ำหนักตัวต่อวัน วันละ 2 ครั้งต่อวัน คือ 09.00 น. และ 16.00 น. ให้ปลาปรับสภาพเป็นระยะเวลา 14 วัน ก่อนเริ่มการทดลอง

4.4 การใช้กากรำหมักเป็นอาหารเสริมในปลานิล ซึ่งอาหารเสริมกากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานจะอยู่ในรูปแบบบดผงหยาบให้คล้ายกับการให้กากรำข้าวปกติ เมื่อครบระยะเวลาการปรับตัวจากข้อ 4.3 ปลาจะถูกอดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 12 ตัว ดังนี้

กลุ่ม T1 ให้อาหารสำเร็จรูปปลาตู้ร้อยละ 50+กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50

กลุ่ม T2 ให้อาหารสำเร็จรูปปลาตู้ร้อยละ 50+กากรำข้าวที่หนึ่งฆ่าเชื้อแต่ไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50

กลุ่ม T3 ให้อาหารสำเร็จรูปปลาตู้ (ชุดควบคุม)

โดยให้อาหารปลาวันละ 2 ของน้ำหนักปลา วันละ 2 เวลา เลี้ยงปลาเป็นเวลา 45 วัน เมื่อครบกำหนดตรวจวัดดังนี้

1) อัตราการเจริญ อัตราการรอดชีวิตของปลานิล อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันมีหน่วยเป็นกรัมต่อวัน (Average daily growth; gram/days; g/d)

2) ร้อยละของค่าไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแบบอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดง (Ali *et al.* 2008)

การคำนวณต้นทุนในสูตรอาหารแต่ละสูตรแตกต่างกัน เมื่อกากรำข้าว 2-4 บาทต่อกิโลกรัม หัวเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในเมล็ดข้าวฟ่างขดละ 10 บาท (ใช้เพาะเลี้ยงบนกากรำข้าว 2 กิโลกรัมต่อ 1 ขวด) อาหารสำเร็จรูปปลาตู้ 25 บาทต่อกิโลกรัม ดังนั้นอาหารสูตร T1 ใช้ต้นทุนประมาณ 18-20 บาทต่อกิโลกรัม อาหารสูตร T2 มีต้นทุนประมาณ 15-17 บาทต่อกิโลกรัม

4.5 วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 20 ตามแบบวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานบนกากรำข้าว

การทดสอบความขึ้นของกากรำข้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดย คิดเป็นร้อยละของน้ำต่อกากรำข้าว 40, 60, 80, 100, 120 และ 140 และเลี้ยงในสภาวะหนึ่งที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน พบว่าอัตราส่วนของกากรำข้าวต่อน้ำ 1:1 มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานใน กากรำข้าวได้ดีที่สุด เมื่อนำกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน (อัตราส่วนของกากรำข้าวต่อน้ำ 1:1) มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนละลายด้วยวิธี Biuret method และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี 3,5-dinitrosalicylic acid พบว่า กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนละลาย เท่ากับ 89.44 ± 4.33 mg/ml และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 48.25 ± 1.57 mg/ml ส่วนกากรำข้าวที่หนึ่งฆ่าเชื้อแต่ยังไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม) มีปริมาณโปรตีนละลายเท่ากับ 42.82 ± 2.00 mg/ml และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 136.00 ± 3.19 mg/ml ขณะที่อาหารปลาสำเร็จรูปและกากรำข้าว (ไม่ได้หนึ่งฆ่าเชื้อ) มีปริมาณโปรตีนละลาย เท่ากับ 127.61 ± 3.08 mg/ml และ 36.47 ± 2.10 mg/ml ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 9.93 ± 0.56 mg/ml และ 16.46 ± 9.06 mg/ml ตามลำดับ (Table 1) ดังนั้นในการหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนละลายแต่ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ทั้งนี้เมื่อกากรำข้าวมีการปรับสภาพด้วยความร้อนโดยการนึ่งร่วมกับความดันไอน้ำ ซึ่งวัสดุหมักจำเป็นต้องมีการปรับสภาพหรือการไฮโดรไลสเพื่อกำจัดลิกนินออกก่อน (Thancharoen, 2014) และช่วยปรับปรุงโครงสร้างซับซ้อนของกากรำข้าวให้หลวมขึ้นและหลุดออกมาในรูปแบบของน้ำตาลรีดิวซ์ ส่งผลให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ของกา

การข้าวที่หนึ่งด้วยความร้อนมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่เมื่อนำมาหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเพราะน้ำตาลรีดิวซ์บางส่วนถูกนำไปใช้ในการเจริญของเส้นใยเห็ด

ส่วนปริมาณโปรตีนละลายที่วัดได้อาจเกิดจากเส้นใยเห็ดนางฟ้าและเอนไซม์ที่สร้างขึ้นจากจุลินทรีย์ซึ่งมีส่วนช่วยย่อยสลายโครงสร้างของกากข้าว ดังงานวิจัยของ Ranjan *et al.* (2018) ศึกษาการเติมเอนไซม์กลุ่ม exogenous คือ xylanase และ phytase ในการหมักกากข้าวเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมของปลาเลี้ยงเทศ (*Labeo rohita*) พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวมีผลต่อการสลายโครงสร้างที่ซับซ้อนของกากข้าวได้โปรตีนและสารอาหารสำคัญเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปลามีอัตราการเจริญสูงกว่าปลาที่ให้อาหารเสริมกากข้าวที่ไม่มีการเติมเอนไซม์ เช่นเดียวกันนี้การเจริญเส้นใยเห็ดบนกากข้าวถือเป็นกระบวนการหมักที่ใช้เอนไซม์จากเส้นใยเห็ดที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของการเจริญซึ่งส่งผลให้ปริมาณโปรตีนละลายในกากข้าวเพิ่มขึ้นได้ และ Nopparatmaitree *et al.* (2017) รายงานว่าเศษวัสดุเหลือทิ้งเมื่อผ่านกระบวนการเพาะเห็ดมีไขมันรวม พลังงานรวม โปรตีนหยาบ อินทรีย์วัตถุ แคลเซียมรวม ฟอสฟอรัสรวม และเอมิเซลลูโลสเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Saenthaweesuk *et al.* (2017) พบว่าไก่ลูกผสมพื้นเมืองไทยกลุ่มที่ได้รับก้อนเห็ดสกุลนางรมเหลือทิ้งที่ร้อยละ 5 มีสมรรถนะต่างๆ ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม จึงมีความสอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้เนื่องจากเห็ดที่เจริญในเศษวัสดุสามารถสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ มาย่อยสลายเศษวัสดุทำให้เห็ดเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณโปรตีน ทำให้เพิ่มคุณค่าที่จำเป็นต่อการเจริญของสัตว์ได้

Table 1 Total soluble protein and reducing sugar of treatment conditions

Treatment conditions	Total soluble protein (mg/ml)	Reducing sugar (mg/ml)
De-oil rice bran (before streaming)	36.47±2.10 ^d	16.46±9.06 ^c
De-oil rice bran (after streaming)	42.82± 2.00 ^c	136.00± 3.19 ^a
Fermented de-oil rice bran	89.44± 4.33 ^b	48.25± 1.57 ^b
Commercial catfish feed	127.61±3.08 ^a	9.93±0.56 ^d

^{abc} Mean(±SD) in the same row with a different superscript letter are significantly different (p<0.05).

2. ผลของการใช้กากข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าต่อการเจริญของปลานิล

การตรวจวัดค่าอัตราการเจริญ อัตราการรอด อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ค่าไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดง ในกลุ่มการทดลอง (T1) อาหารปลาสูตรสำเร็จรูป+กากข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50, (T2) อาหารปลาสำเร็จรูป+กากข้าวที่ไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50 และ (T3) ให้อาหารปลาสูตรสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว พบว่า T1 มีอัตราการเจริญที่สูงกว่า T2 และ T3 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) มีอัตราการเจริญโดยวัดได้ 31.46±2.84 กรัม, 12.72±1.07 กรัม และ 16.43±1.57 กรัม ตามลำดับ (Table 2) อัตราการรอดพบว่า T1 T2 และ T3 มีอัตราการรอดร้อยละ 76.67±15.28, 86.67±5.77 และ 36.67±30.55 อีกทั้งอัตราการเปลี่ยนอาหาร

เป็นเนื้อ T1 ให้ผลดีที่สุด รองลงมา T2 และ T3 โดยวัดได้ 1.36 ± 0.13 , 3.31 ± 0.29 และ 3.61 ± 0.35 ตามลำดับ (Table 2) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน T1 มีค่า 0.75 ± 0.07 กรัม/ตัว/วัน ขณะที่ T2 วัดได้เพียง 0.39 ± 0.04 และ T3 วัดได้ 0.30 ± 0.03 กรัม/ตัว/วัน ทั้งนี้ผลของการเจริญเติบโต อัตราการรอดและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่เลี้ยงด้วยกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้า (T1) มีผลที่ดีสอดคล้องกัน เพราะปลานิลเป็นปลากลุ่ม omnivorous สามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์และสามารถใช้กลูโคสได้ดี ทำให้ปลากลุ่มนี้สามารถทดแทนพลังงานจากโปรตีนบางส่วนด้วยคาร์โบไฮเดรตในอาหารต่อการเจริญเติบโต (Thepnarong and Phromkunthong, 2018; Singh *et al.*, 2006) โดยปลาได้รับพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตและไขมันเพียงพอ เป็นการช่วยสงวนการใช้โปรตีนและจะใช้โปรตีนในหน้าที่สำคัญอื่น ๆ ที่สารอาหารคาร์โบไฮเดรตและไขมันทำไม่ได้ นอกจากนี้เส้นใยเห็ดที่มีโปรตีนและสารสำคัญ คือ polysaccharide และ β -glucan ช่วยในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Ahmed *et al.* 2017) ส่งเสริมให้ปลานิลแข็งแรงทนต่อการบาดเจ็บต่อแผลที่เกิดจากการกัดกันในถังเลี้ยง ส่งผลให้ปลาที่กินอาหารเสริมใน T1 มีผลที่ดีกว่าปลาที่ให้อาหารด้วย T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากงานวิจัยของ Sartori *et al.* (2015) ศึกษาการผลิตเส้นใยเห็ดในกลุ่มเห็ดนางฟ้านางรม *Pleurotus* sp. โดยใช้กากส่าเป็นแหล่งสารอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลาม้าลาย (*Danio rerio*) พบว่าเส้นใยเห็ด *Pleurotus* sp. สามารถใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลาม้าลายได้ ซึ่งเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยงจากกากส่ามีการเจริญได้ดีและไม่เป็นพิษต่อปลาม้าลายเมื่อถูกนำไปใช้เป็นอาหารเสริมปลาได้ดีเท่ากับอาหารเสริมปลาชนิดอื่น ๆ ดังนั้นการใช้เส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลาจึงมีการศึกษาและเป็นที่ยอมรับด้านการส่งเสริมการเจริญของปลาขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาใช้ในการเลี้ยงเส้นใยเห็ด นอกจากนี้ได้ตรวจค่าการเกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอนโนมัลลิตีในเม็ดแดงอยู่ในระดับปกติทุกชุดการทดลอง ซึ่งวัดได้ร้อยละ 2.06 ± 0.23 , 1.94 ± 0.54 และ 4.04 ± 0.77 ตามลำดับ (Table 2) นั้นหมายถึงอาหารเสริมที่ใช้ในการทดลองไม่เป็นสารก่อกลายพันธุ์และไม่มีความเป็นพิษต่อปลานิล โดยค่าการเกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอนโนมัลลิตีในเม็ดแดงที่วัดได้ต้องไม่เกินร้อยละ 10 เมื่อเทียบกับเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่กินอาหารปลาปกติ จากงานวิจัยสัตว์น้ำที่ได้รับสารโลหะหนักหรือสารก่อกลายพันธุ์บางชนิด (Kousar and Javed, 2015; Chantharasophon *et al.*, 2017) จะส่งผลให้เกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอนโนมัลลิตีในเม็ดแดงของสัตว์น้ำ โดยลักษณะของเม็ดเลือดแดงที่เกิดความผิดปกตินั้นมีลักษณะที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ทำลายโครโมโซมให้ขาดออกจากกันได้หรือมีลักษณะที่ผิดปกติไปจากเดิมปริมาณมาก ดังนั้นกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าจึงไม่มีผลในการเหนี่ยวนำให้เกิดนิวเคลียสแอนโนมัลลิตีในเม็ดเลือดแดงของปลานิลไม่ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ในปลานิล

Table 2 Growth performances including total weight gain, survival rate, average daily growth and micronucleus & nuclear abnormalities in red blood cells of Nile Tilapia fed with de-oil rice bran fermented with mushroom after 60 days

Treatment*	T1	T2	T3
Weight gain (g)	31.46±2.84 ^a	12.72±1.07 ^b	16.43±1.57 ^b
Survival Rate (%)	76.67±15.28 ^a	86.67±5.77 ^a	36.67±30.55 ^b
Feed conversion ratio	1.36±0.13 ^a	3.31±0.29 ^b	3.61±0.35 ^b
Average daily growth (g/d)	0.75±0.07 ^a	0.30±0.03 ^b	0.39±0.04 ^b
Micronucleus & Nuclear abnormalities (%)	2.06±0.23 ^a	1.94±0.54 ^a	4.04±0.77 ^b

^{abc} Mean(±SD) in the same row with a different superscript letter are significantly different ($P<0.05$)

*T1 = Commercial catfish feed 50%+ fermented de-oil rice bran 50%

T2 = Commercial catfish feed+ de-oil rice bran (after streaming)

T3 = Commercial catfish feed (control)

สรุปผลการทดลอง

การหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้า ทำให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณโปรตีนละลายสูงกว่ากากรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อนำกากรำข้าวทั้งสองชนิดที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเสริมร่วมกับอาหารปลาสูตรสำเร็จรูปร้อยละ 50 ไปทดลองเลี้ยงปลานิลอายุ 2 เดือน พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมกากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ด มีน้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมกากรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการหมัก และอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และไม่ก่อการกลายพันธุ์ไม่ทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดงของปลานิล ดังนั้นเส้นใยของเห็ดนางฟ้าที่เจริญบนกากรำข้าวสามารถใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลานิลได้ดีกว่าการใช้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย สำหรับคณาจารย์และบุคลากร จากงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ประจำปีงบประมาณ 2560

เอกสารอ้างอิง

Ahmed, M., Abdullah, N., Shuib, A.S., and Razak, S.A. 2017. Influence of raw polysaccharide extract from mushroom stalk waste on growth and pH perturbation induced-stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 468 (1): 60–70.

- Ali, D., Nagpure, N.S., Kumar, S., Kumar, R. and Kushwaha, B. 2008. Genotoxicity assessment of acute exposure of chlorpyrifos to freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Chemosphere*, 71:1823-1831.
- Bureau of Agricultural Economics Research. 2009. Production and marketing potential of Tilapia. Ministry of Agriculture and Cooperatives: Agricultural Economics Research No. 119. Bangkok. 53 p. [in Thai]
- Chantharasophon, K., Prawottana, S., and Chantharasophon, S. 2017. The use of *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 and soy as probiotics in Nile tilapia. *Journal of Fisheries Technology Research*. 11(1): (inpress) [in Thai]
- Chirinang, P., and Intarapichet, K. 2009. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Science Asia* 35 (1): 326–331.
- Jabir, M.D.A.R., Razak, S.A. and Vikineswary, S. 2012. Effect of Mushroom Supplementation as a Prebiotic Compound in Super Worm Based Diet on Growth Performance of Red Tilapia Fingerlings. *Sains Malaysiana* 41: 1197-1203.
- Kousar, S. and Javed, M. 2015. Studies on Induction of Nuclear Abnormalities in Peripheral Blood Erythrocytes of Fish Exposed to Copper. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 15: 879-886
- Nopparatmaitree, M., Seanpoom, P., Panthong, A., and Kitpipit, W. 2017. Nutritive Value and Modified Byproduct from Mushroom Cultivation as Feedstuff. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 45(1): 715-721. [in Thai]
- Ranjan, A., Sahu, N.P., Deo, A.D., Kumar, H.S., Kumar, S., and Jain, K.K. 2018. Comparative evaluation of fermented and non-fermented de-oiled rice bran with or without exogenous enzymes supplementation in the diet of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). *Fish Physiol Biochem*. 44:1037-1049.
- Reddy, G.V., Babu, P.R., Komaraiah, P., Roy, K.R.R.M., and Kothari, I.L. 2003. Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using to *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochem*. 38: 1457-1462.
- Saenthaweesuk, N., Chumpawadee, S., Chaikong, C., Ruangwittayanusorn, K., Thamwan, Chanyuth., Sakwiwatkul, K. and Thumpala, W. 2017. Efficacy of spent oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) substrate in Thai native cross bred chicken diet. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 45(1): 665-670. [in Thai]

- Sartori, S.B., Ferreira, L.F.R., Messias, T.G., Souza, G., Pompeu, G.B., and Monteiro, R.T.R. 2015. Pleurotus biomass production on vinasse and its potential use for aquaculture feed. *Mycology*. 6(1): 28-34.
- Singh, R.K., Balange, A.K. and Ghughuskar, M.M. 2006. Protein sparing effect of carbohydrates in the diet of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) fry. *Aquaculture*. 258(1-4): 680-684.
- Thancharoen, K. 2014. Utilization of Water hyacinth Produced Cellulase from Thermotorelant Bacteria. *Pawarun Agriculture Journal*. 11(2): 159-166. [in Thai]
- Thepnarong, K., and Phromkunthong, W. 2018. Partial energy replacement of protein with carbohydrate in diets of hybrid catfish. *Thai Journal of Science and Technology, Thammasat University*. 25 (2): 267-277. [in Thai]
- Wongpiyachon, S., and Sukwiat, W. 2009. Snack bar of puffed rice with defatted rice bran. *Thai Rice Research Journal (Thailand)*. 3 (2): 48-56. [in Thai]

ผลของความเค็มจากเกลือสินเธาว์ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต
ของปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*)

Effects of rock salt salinity on growth efficiency of Silver barb
(*Barbonymus gonionotus*)

ศตพร โนนคู่เขตโขง¹, ขจรเกียรติ ศรีนวลสม², ทศนีย์ อนุกุลประเสริฐ¹, ธนสรณ์ รักคนตรี³
และ รักพงษ์ เพชรคำ¹

Sataphon Nonkhukhetkhong¹, Khajornkiat Srinaunsom², Thatsanee Anukoolprasert¹, Thanasorn Rukdontri³
and Rakpong Petkam^{1*}

¹สาขาการประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

¹Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

²คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

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

³คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

³Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000

*Corresponding author e-mail: rakpong@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การปรับตัวในสภาวะต่าง ๆ ในน้ำของสัตว์น้ำจะถูกควบคุมด้วยกระบวนการรักษาสมดุลที่ต้องใช้พลังงานในการดูดซึมหรือขับออกของไอออนต่าง ๆ ซึ่งอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตได้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของความเค็มจากเกลือสินเธาว์ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*) และอัตราการตาย โดยทดลองกับความเค็ม 4 ระดับได้แก่ น้ำจืด (ชุดควบคุม), 3.0, 6.0 และ 9.0 ppt เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เป็นการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design) ใช้ปลาน้ำหนักเฉลี่ย 25.97 ± 2.54 กรัม ความยาวเฉลี่ย 11.37 ± 0.57 เซนติเมตร ทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำหนักสุดท้ายมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสุดท้ายในแต่ละกลุ่มพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มีน้ำหนักสุดท้ายมากกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความยาวสุดท้ายไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ในส่วนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) พบความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดลองพบว่า กลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt มีค่า FCR สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt อัตราการเพิ่มน้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน (ADG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) พบความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่า ADG ในแต่ละกลุ่มพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่แตกต่างจากกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt ในลักษณะที่คล้ายคลึงกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ SGR ในแต่ละกลุ่มพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่แตกต่างจากกลุ่ม

ที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt ตลอดการทดลองไม่พบการตายของปลาในทุกกลุ่ม ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าปลาตะเพียนขาวสามารถเจริญเติบโตได้ดีในระดับความเค็มไม่เกิน 3.0 ppt

คำสำคัญ: ความเค็ม เกลือสินเธาว์ ปลาตะเพียนขาว การเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย

Abstract

Aqueous environmental adaptation of aquatic animals was regulated via osmoregulation to maintain homeostasis. The mechanisms of these regulations require energy for ions transfer which may affect on growth. The present study aimed to investigate effects of rock salt salinity on growth efficiency of Silver barb (*Barbonymus gonionotus*). Fish, 25.97±2.54 g mean weight and 11.37±0.57 cm total length, were exposed to 4 treatments with 3 replications including freshwater (control), 3.0, 6.0 and 9.0 parts per thousand (ppt) using a Completely Randomized Design for an 8 weeks experiment period. At the end of the experiment, it was found that there was a statistically different in final body weight ($P<0.05$) among treatments. When mean final weight was compared, it was found that fish exposed to 3.0 ppt was not differed from the control but significantly higher than that of 6.0 and 9.0 ppt treatments. However, there was no significant difference in final length ($P>0.05$). For feed conversion ratio (FCR), there was significant different ($P<0.05$) among treatments. Mean FCR of fish exposed to 6.0 and 9.0 ppt was significantly higher than that of the control and 3.0 ppt treatments. In term of an average daily gain (ADG) and specific growth rate (SGR), there were significantly different ($P<0.05$) among treatments. When mean ADG was compared, it was found that ADG of fish in 3.0 ppt group was not differed from the control, but significantly higher than that of 6.0 and 9.0 ppt treatments. Similarly, mean SGR of 3.0 ppt and the control was not significant different, but significantly higher than that of 6.0 and 9.0 ppt treatments. Mortality was not observed throughout an 8 weeks experimental period. Based on the results of this study, good growth performance of silver barb could be obtained when rearing in rock salt salinity not higher than 3.0 ppt.

Keywords: Salinity, Rock salt, Silver barb, Growth, Survival rate

บทนำ

ในปัจจุบันภาคตะวันออกเฉียงเหนือกำลังประสบปัญหาการแพร่กระจายของพื้นที่ดินเค็ม โดยมีพื้นที่ที่สามารถเกิดการแพร่เกลือในชั้นดินได้ประมาณ 19.4 ล้านไร่ (Department of Land Development, 2006) พื้นที่ดินเค็มนั้นทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการเพาะปลูกพืชและการเลี้ยงสัตว์น้ำ ส่งผลกระทบต่อการเกษตรและการประมงในพื้นที่โดยรอบ (Williamson *et al.*, 1989) จากรายงานของ Stickney (2000) ที่ทำการศึกษาส่วนประกอบของน้ำทะเลธรรมชาติจากแหล่งต่าง ๆ พบว่ามีระดับความเค็มอยู่ในช่วง 32-36 ppt และสามารถแบ่งเป็นกลุ่มแร่ธาตุหลักที่มีความเข้มข้นสูง ได้แก่ คลอไรด์ โซเดียม ซัลเฟต แมกนีเซียม แคลเซียม

โพแทสเซียม เป็นต้น และแร่ธาตุรองจำพวกโลหะหนักต่างๆ โดยความเค็มของน้ำในพื้นที่ดินเค็มภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะอยู่ที่ 3-9 ppt ขึ้นกับฤดูกาล (Tanomtong *et al.*, 2006) ซึ่ง Ta-Oon (2004) และ Siriporn *et al.* (2013) รายงานตรงกันว่าน้ำเค็มจากเกลือสินเธาว์มีองค์ประกอบในกลุ่มแร่ธาตุหลัก เช่น โซเดียมไอออน (Na^+) และคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ในปริมาณความเข้มข้นสูง และมีไอออนธาตุอื่น ๆ ในกลุ่มแร่ธาตุรองอยู่เล็กน้อย ซึ่งมีความใกล้เคียงกับน้ำทะเลมาก

การศึกษาในปลาเกี่ยวกับการปรับตัวต่อสิ่งต่าง ๆ นิยมศึกษาในปลาวัยอ่อน และปลานขนาดเล็ก ซึ่งเป็นขนาดเริ่มต้นในการเลี้ยงปลานหลายชนิดในเชิงพาณิชย์ (Akkataweewat, 2004; Boonaya and Duljindachabaporn, 2009) โดยกลไกการปรับตัวในสภาวะต่าง ๆ ของสัตว์น้ำจะขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารละลายและไอออนต่าง ๆ ในแหล่งน้ำ (Evans *et al.*, 2005) ผ่านกระบวนการดูดซึมหรือขับออกนอกร่างกายที่ควบคุมด้วยระบบการรักษาสมดุลร่างกาย (Osmoregulation) ซึ่งเป็นระบบที่ใช้พลังงานจากร่างกายเป็นตัวขับเคลื่อน ส่งผลให้สัดส่วนพลังงานที่นำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตลดลงได้ (Gonzalez, 2012) ปลาดูปลาขาว (*Barbonymus gonionotus*) เป็นปลาในวงศ์ปลาดูปลา (Cyprinidae) เมื่อโตเต็มที่ มีขนาด 40-50 เซนติเมตร สามารถเลี้ยงและขยายพันธุ์ได้ดีทั้งในบ่อดินและในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยทั่วไปมักเลี้ยงร่วมกับปลากินพืชชนิดอื่น เช่น ปลายี่สก ปลากระแห และปลานวลจันทร์ เป็นต้น เนื่องจากเป็นปลาที่มีเนื้อนุ่ม และมีรสชาติดี สามารถนำไปประกอบอาหารและแปรรูปได้หลากหลาย (Daungsawas *et al.*, 1984) มีมูลค่าทางการตลาดและแนวโน้มความต้องการเพิ่มขึ้นโดยตลอด โดยสถิติจากการเพาะเลี้ยงในปี พ.ศ. 2558 มีมูลค่ารวมประมาณ 2.3 พันล้านบาท (Department of Fisheries, 2017) สืบเนื่องจากปัญหาน้ำเค็มในพื้นที่น้ำจืดซึ่งเป็นสภาวะที่ส่งผลต่อการทำการเกษตรและการประมงในพื้นที่โดยรอบ ระดับความเค็มที่สามารถทนได้ และระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาชนิดนี้จึงเป็นเรื่องที่จำเป็นต้องทำการศึกษา แหล่งของความเค็มในการทดลองนี้จึงใช้เกลือสินเธาว์เพื่อจำลองให้สภาพในน้ำใกล้เคียงกับน้ำเค็มจากดินเค็มมากที่สุด ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์และใช้ในการพัฒนาประสิทธิภาพและพัฒนาการเพิ่มผลผลิตปลาดูปลาขาว หรือนำไปปรับใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำบนพื้นที่ที่ประสบปัญหาน้ำเค็มจากดินเค็มได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมพันธุ์ปลา

พักลูกปลาดูปลาขาวจากฟาร์มเพาะเลี้ยงของเอกชนจำนวน 200 ตัว ในถังไฟเบอร์กลาสที่บรรจุน้ำจืด 500 ลิตร เป็นเวลา 15 วัน เพื่อเกิดการปรับตัว ให้อาหารสำเร็จรูปเม็ดลอยสำหรับปลากินพืชที่ระดับโปรตีนไม่ต่ำกว่า 18% วันละ 2 มื้อ (08.00 น. และ 17.00 น.) ก่อนเริ่มการทดลองวัดความยาวเหี่ยว (Total Length) หน่วยเป็นเซนติเมตร และชั่งน้ำหนักปลา (Body Weight) หน่วยเป็นกรัม จากนั้นสุ่มลงหน่วยทดลองละ 15 ตัว โดยปลาที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ย 25.97 ± 2.54 กรัม และมีความยาวเฉลี่ย 11.37 ± 0.57 เซนติเมตรตามลำดับ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) กำหนดให้มี 4 กลุ่ม ได้แก่ น้ำจืด (ชุดควบคุม) น้ำเค็มจากเกลือสินเธาว์ความเข้มข้น 3.0, 6.0 และ 9.0 ส่วนในพันส่วน (ppt) ตามลำดับ ใช้ปลาหน่วยทดลองละ 15 ตัว ในตู้กระจกขนาด 90x45x45 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำ 150 ลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ น้ำที่ใช้ในการทดลองเตรียมในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 500 ลิตร จำนวน 1 ถัง โดยนำเกลือสินเธาว์ (NaCl) 10 กิโลกรัม ละลายผ่านถุงกรองขนาดตา 20 ไมครอน ในน้ำ 500 ลิตร จะได้ Stock solution ของน้ำเค็ม 20 ppt ปริมาณ 500 ลิตร คำนวณความเค็มแต่ละระดับแล้ว นำ Stock solution เติมลงในแต่ละตู้ทดลองก่อนปรับปริมาตรด้วยน้ำจืดให้ได้ปริมาณ 150 ลิตร ตรวจสอบความเค็มของน้ำด้วย Conductivity/salinity meter (YSI model 30) ในด้านคุณภาพน้ำมีการเก็บข้อมูลอุณหภูมิของน้ำ, สภาพกรด-ด่าง (pH) และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ด้วย pH meter (Extech model PH100) และ Conductivity/salinity meter (YSI model 30) เปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตรา 45-50% ของปริมาณน้ำในตู้ทุก 7 วัน ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ให้อาหารโดยใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโดยให้จนอิ่ม วันละ 2 มื้อ เวลา 08.00 น. และ 17.00 น. มีการให้อากาศตลอดเวลาและบันทึกจำนวนปลาตายในแต่ละตู้ก่อนให้อาหารครั้งแรกของทุกวัน

การเก็บข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลทุก 1 สัปดาห์ โดยดให้อาหารก่อนเก็บข้อมูล 1 วัน จากนั้นบันทึกจำนวนปลาที่ยังมีชีวิตอยู่ แล้วชั่งน้ำหนักปลาด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักชนิด 2 ตำแหน่ง และวัดความยาวเหยียด (Total Length) ด้วยไม้บรรทัดที่มีความละเอียด 0.1 เซนติเมตร นำค่าที่วัดได้คำนวณหาอัตราการรอด อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed Conversion Ratio; FCR) อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Gain; ADG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR) ตามวิธีของ Okeke *et al.* (2014) ดังนี้

$$FCR = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวสุดท้าย (กรัม) - น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กรัม)}}$$

$$ADG \text{ (กรัม/วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวสุดท้าย (กรัม) - น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{ระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน)}}$$

$$SGR \text{ (\%/วัน)} = \frac{\ln \text{น้ำหนักตัวสุดท้าย (กรัม)} - \ln \text{น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{ระยะเวลาที่เลี้ยง (วัน)}} \times 100 \%$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเมื่อพบความแตกต่างทางสถิติ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS 24.0

ผลการวิจัย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่พบการตายของปลาในทุกกลุ่มการทดลอง คุณภาพน้ำโดยรวมตลอดการทดลอง พบว่ามีค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิอยู่ที่ 24.56 ± 1.11 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ที่ 8.16 ± 0.08 และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ที่ 7.34 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลของระดับความเค็มต่อน้ำหนักตัวและความยาวลำตัว

ด้านน้ำหนักตัวเฉลี่ยตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนถึงสัปดาห์ที่ 5 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt มีค่ามากกว่าทุกกลุ่มทดลอง มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 44.09 ± 1.06 กรัม สำหรับสัปดาห์ที่ 7 พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 ppt แต่มากกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 9.0 ppt ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มีค่าเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 52.28 ± 2.78 กรัม (Table 1) ส่วนด้านความยาวลำตัวพบว่าตลอดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) (Table 2)

Table 1 Effects of salinity on body weight (g) of Silver barb in an 8 weeks experimental period

Treatment	Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	Week 7	Week 8
Control	25.97 ± 2.54^a	30.35 ± 1.20^a	27.84 ± 0.76^a	32.99 ± 2.44^a	36.33 ± 1.11^a	37.65 ± 0.94^a	39.59 ± 0.30^a	44.13 ± 1.20^{ab}	48.22 ± 1.02^{bc}
3.0 ppt	25.97 ± 2.54^a	27.07 ± 1.02^a	31.21 ± 1.93^a	34.60 ± 1.17^a	36.17 ± 0.49^a	39.12 ± 1.68^a	44.09 ± 1.06^b	46.62 ± 1.93^b	52.28 ± 2.78^c
6.0 ppt	25.97 ± 2.54^a	29.42 ± 2.03^a	31.64 ± 2.85^a	34.46 ± 3.67^a	36.43 ± 1.85^a	36.86 ± 1.40^a	40.62 ± 0.99^a	42.52 ± 1.33^{ab}	44.39 ± 0.63^{ab}
9.0 ppt	25.97 ± 2.54^a	30.44 ± 1.11^a	31.60 ± 1.21^a	33.08 ± 1.56^a	34.46 ± 1.76^a	35.83 ± 1.78^a	38.01 ± 1.05^a	39.87 ± 0.67^a	41.62 ± 1.31^a

^{a,b} mean $\pm$ SE (n=3) within column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

Table 2 Effects of salinity on total length (cm) of Silver barb in an 8 weeks experimental period.

Treatment	Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	Week 7	Week 8
Control	11.4 ± 0.57^a	12.0 ± 0.10^a	11.9 ± 0.12^a	12.3 ± 0.43^a	12.2 ± 0.17^a	12.1 ± 0.48^a	13.3 ± 0.47^a	13.7 ± 0.28^a	14.5 ± 0.29^a
3.0 ppt	11.4 ± 0.57^a	12.5 ± 0.35^a	12.0 ± 0.31^a	12.7 ± 0.27^a	12.3 ± 0.22^a	12.8 ± 0.20^a	13.2 ± 0.30^a	13.6 ± 0.12^a	14.1 ± 0.29^a
6.0 ppt	11.4 ± 0.57^a	11.6 ± 0.21^a	12.4 ± 0.42^a	12.7 ± 0.47^a	12.4 ± 0.35^a	12.8 ± 0.23^a	13.0 ± 0.15^a	13.5 ± 0.06^a	13.8 ± 0.10^a
9.0 ppt	11.4 ± 0.57^a	12.0 ± 0.27^a	12.1 ± 0.34^a	12.2 ± 0.25^a	12.6 ± 0.33^a	12.9 ± 0.29^a	13.1 ± 0.33^a	13.1 ± 0.23^a	13.5 ± 0.20^a

^{a,b} mean $\pm$ SE (n=3) within column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

ผลของระดับความเค็มต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

ด้านอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) สัปดาห์ที่ 1 พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 9.0 ppt แต่น้อยกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 6 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 7 พบความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลอง

ในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 ppt แต่น้อยกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 9.0 ppt สำหรับสัปดาห์ที่ 8 พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่น้อยกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt (Figure 1A) ด้านน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 5 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 6 พบความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 ppt แต่มากกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 9.0 ppt ส่วนสัปดาห์ที่ 7 และ 8 พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มากกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt (Figure 1B) ส่วนด้านอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 6 ไม่พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) สำหรับสัปดาห์ที่ 7 และ 8 พบความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแล้วพบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มากกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt (Figure 1C)

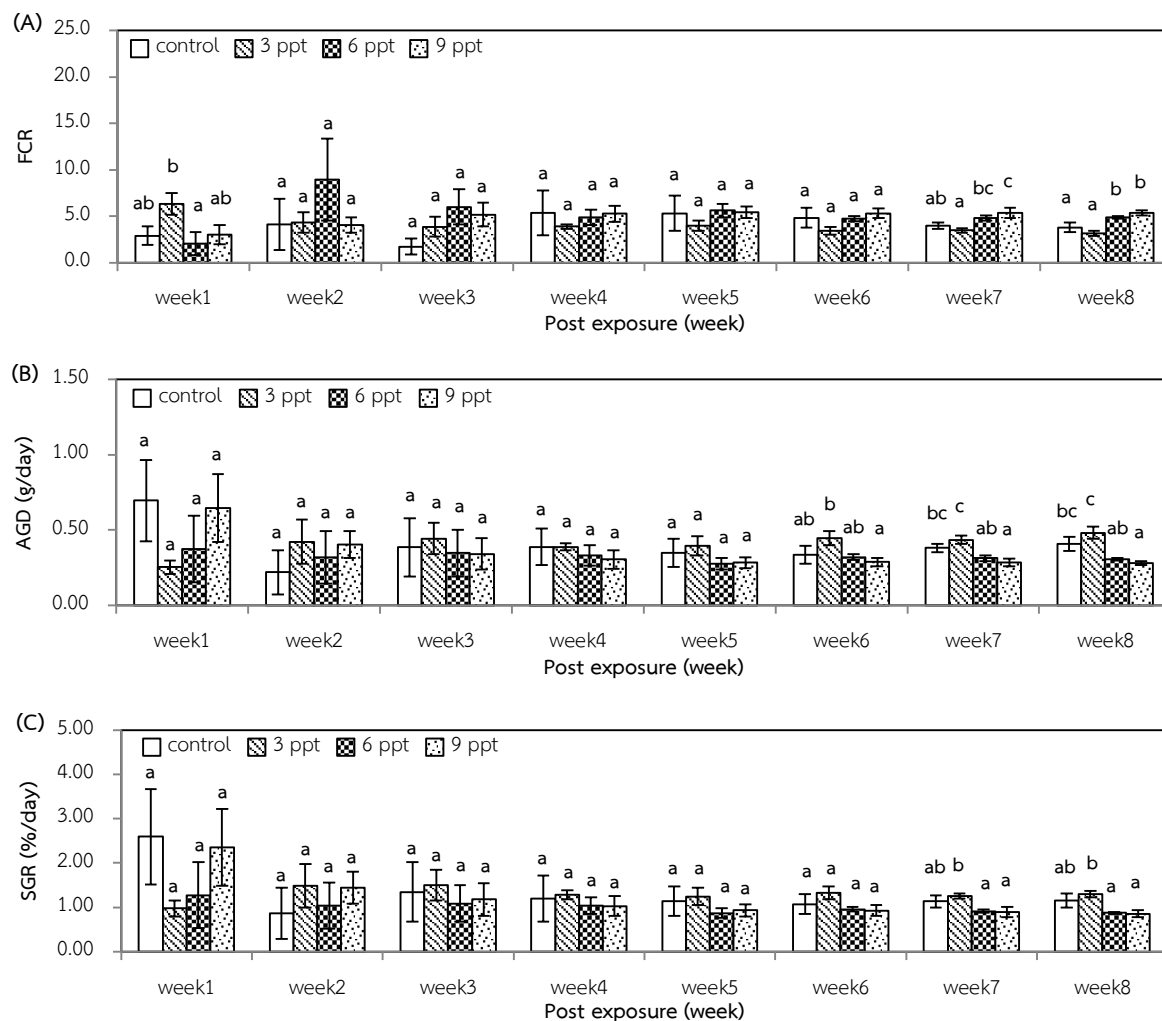


Figure 1 Effects of salinity on feed conversion ratio (FCR) (A), average daily gain (ADG) (B) and specific growth rate (SGR) (C) of Silver barb in an 8 weeks experimental period. Different letters in the graphs mean significantly differences ($P<0.05$).

วิจารณ์ผลการวิจัย

ผลจากการทดลองเลี้ยงปลาดตะเพียนขาวในน้ำที่มีระดับความเค็มแตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ด้านน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น พบว่าน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้นการทดลองจนถึงสัปดาห์ที่ 5 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยตั้งแต่สัปดาห์ที่ 6 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง พบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในปลาน้ำจืดต้องใช้พลังงานในการรักษาความเข้มข้นของไอออนในเซลล์และขับน้ำส่วนเกินออกนอก่างกายอยู่เสมอ ที่ระดับความเข้มข้นของไอออนต่ำกว่าจึงใช้พลังงานในการรักษาสสมดุลน้อยกว่า ทำให้สัดส่วนพลังงานจากอาหารที่ได้รับถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้มากกว่า (Evans *et al.*, 2005; Amin *et al.*, 2016) การศึกษาของ Faizul and Christianus (2013) ที่ศึกษาในปลาดตะเพียนขาว และ Abdel-Tawwab and Monier (2018) ที่ศึกษาในปลาไน (*Cyprinus carpio*) รายงานว่าการเลี้ยงที่ระดับความเค็มสูงกว่า 5.0 ppt จะทำให้น้ำหนักตัวน้อยลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เลี้ยงในน้ำจืดทั่วไป ด้านความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง สอดคล้องกับรายงานของ

Das *et al.* (2012) ที่ศึกษาในปลาตะเพียนขาว และรายงานของ Cardona (2000) ที่ศึกษาในปลากระบอกเทา (*Mugil cephalus*) ว่าระดับเข้มข้นของไอออนในน้ำส่งผลกับความยาวลำตัวน้อยมาก โดยจะส่งผลกับน้ำหนักตัวมากกว่าความยาวลำตัว ในด้านอัตราการรอดไม่พบการตายของปลาทุกกลุ่มทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ แสดงว่าปลาตะเพียนขาวสามารถอาศัยในน้ำที่มีระดับความเค็ม 9.0 ppt ซึ่งเป็นระดับความเค็มสูงสุดที่ใช้ในการทดลองนี้ได้ ผลที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Akther *et al.* (2009) และ Amin *et al.* (2016) ในปลาตะเพียนขาว ซึ่งรายงานว่าเริ่มพบการตายตั้งแต่ที่ระดับความเค็ม 10 ppt ภายในระยะ 72 ชั่วโมง และรายงานของ Kunlapapak *et al.* (2015) ยังพบว่าสามารถพบปลาในสกุล *Barbonymus* รวมถึงปลาตะเพียนขาวในเขตนํ้ากร่อยบริเวณปากแม่น้ำได้

ในด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ค่า FCR พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง แต่ความแตกต่างของค่า FCR ภายในระยะเวลาสั้นๆ ไม่สามารถสรุปได้ว่าปลา มีการเติบโตที่แตกต่างกันได้ (Hussian *et al.*, 1989; Gonzalez, 2012) ค่า FCR เฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 6 พบว่า ในทุกกลุ่มทดลองมีแนวโน้มลดลงทุกสัปดาห์ แสดงว่าปลาสามารถปรับตัวได้จนสามารถกินอาหารดีขึ้น แล้วด้วยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้ FCR ค่อยๆ ลดลงตามระยะเวลาการเลี้ยง (Sarker, 2002; Paolucci *et al.*, 2010) ในสัปดาห์ที่ 7 และ 8 กลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt มีค่า FCR ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมและมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt แสดงว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ใช้พลังงานจากอาหารในการรักษาสสมดุลไอออนในระดับที่ไม่รบกวนต่อการเจริญเติบโต ส่วนกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt คาดว่าปลาอยู่ในภาวะที่เกิดความเครียดและใช้พลังงานในการรักษาสสมดุลไอออนอยู่ตลอดเวลา ส่งผลให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นน้อยกว่าที่ควรจะเป็น และอาจมีผลต่อการกินได้ ทำให้ปลากินอาหารได้น้อยลง และมีค่า FCR สูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Chaudhary *et al.* (2008) ซึ่งรายงานว่าปลาตะเพียนขาวที่เลี้ยงในระดับความเค็ม 5.0-6.0 ppt ในบ่อดินมีค่า FCR เพิ่มขึ้น และทำให้ค่า SGR เฉลี่ยรวมถึงอัตราการรอดต่ำลง ด้านค่า ADG พบว่าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง 5 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนค่า ADG ในสัปดาห์ที่ 6 ถึงสัปดาห์ที่ 8 พบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 9.0 ppt มีค่าต่ำกว่าทุกกลุ่ม หมายความว่าที่ระดับความเค็มดังกล่าวมีการเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันน้อยที่สุด เนื่องจากกลุ่มนี้ต้องใช้พลังงานในการปรับสมดุลมากกว่ากลุ่มอื่น แต่เมื่อพิจารณาในภาพรวมจะพบว่าค่า ADG มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ หมายความว่าปลากินอาหารในปริมาณที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงเนื่องจากการให้อาหารในการทดลองเป็นการให้อาหารอิ่ม สอดคล้องกับน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ ซึ่งต่างจากรายงานของ Akther *et al.* (2009) ที่ศึกษาในปลาตะเพียนขาว พบว่าระดับความเค็มในน้ำส่งผลต่อพฤติกรรมและการกินอาหาร โดยในกลุ่มที่ระดับความเค็มสูงกว่า 8 ppt การเคลื่อนไหวจะน้อยลงและการกินอาหารจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ส่วนในด้านค่า SGR มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับค่า ADG กล่าวคือระหว่างสัปดาห์ที่ 1 ถึง 6 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งในสัปดาห์ที่ 7 และ 8 พบว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt มีค่าไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมและสูงกว่ากลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 6.0 และ 9.0 ppt สอดคล้องกับแนวโน้มของค่า ADG และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น Hopkins (1992) อธิบายว่าโดยปกติแล้วการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำระยะหลังช่วงวัยอ่อนจะมีความสัมพันธ์ของระดับการเจริญเติบโตและระยะเวลา

เป็นเส้นตรง แต่แนวโน้มของค่า SGR ในการทดลองนี้อาจมีค่าต่ำกว่าปกติ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความเครียดจากการปรับตัวต่อความเค็มและสภาพการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (Evans *et al.*, 2005; Paolucci *et al.*, 2010) เมื่อศึกษาในภาพรวมทั้งหมดจะเห็นได้ว่าการเลี้ยงที่ระดับความเค็มสูงกว่า 3.0 ppt จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารได้ เห็นได้จากค่า FCR ที่สูง รวมไปถึงค่า ADG และ SGR ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทดลองในระดับความเค็ม 3.0 ppt ดังนั้นการเลี้ยงปลาตะเพียนขาวที่ระดับความเค็มสูงกว่า 3.0 ppt อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตลดลงได้ อย่างไรก็ตาม การขยายผลการศึกษาโดยเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยงและสภาพการทดลองที่ใกล้เคียงกับสภาพการเลี้ยงธรรมชาติมากขึ้นอาจทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์มากยิ่งขึ้น

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองเลี้ยงปลาตะเพียนขาว น้ำหนักเฉลี่ย 25.97 ± 2.54 กรัม และความยาวเฉลี่ย 11.37 ± 0.57 ซม. ในน้ำที่มีระดับความเค็ม 4 ระดับเป็นระยะเวลาทั้งหมด 8 สัปดาห์ สรุปได้ว่า ปลาตะเพียนขาวสามารถเลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มของเกลือสินเธาว์ได้ไม่เกิน 3.0 ppt โดยไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับทุนวิจัยคณาจารย์บัณฑิตศึกษา ประจำปีการศึกษา 2559 ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Abdel- Tawwab, M. and Monier, M. N. 2018. Stimulatory effect of dietary taurine on growth performance, digestive enzymes activity, antioxidant capacity, and tolerance of common carp, *Cyprinus carpio* L., fry to salinity stress. *Fish Physiol Biochem.* 44(2): 639-649.
- Akkataweewat, S. 2004. Thai Freshwater fish 1. Suksapan. Bangkok. 257p. [in Thai]
- Akther, M., A. R. Mollah and Kadir, M. 2009. Laboratory investigation on salinity tolerance to *Barbodes gonionotus* (Bleeker). *Progress Agric.* 20(2): 193-200.
- Amin, F. B., T. Farhana, G. M. Mostakim, M. M. Zahangir, M. M. Mishu and Islam, M. S. 2016. Behavioral and physiological stress responses of Java barb (*Barbonymus gonionotus*) to environmental salinity challenge. *J Aquacult Eng Fish Res.* 2(4): 176-184.
- Boonaya, P. and Duljindachabaporn, S. 2009. Effect of Optimal Premix Levels on Nursing of Green Catfish (*Mystus nemurus*). *RMUTTO Res J.* 2(1): 58–66. [in Thai]

- Cardona, L. 2000. Effects of salinity on the habitat selection and growth performance of Mediterranean flathead grey mullet *Mugil cephalus* (Osteichthyes, Mugilidae). Estuar Coast Shelf Sci. 50(5): 727-737.
- Chaudhary, S. N., M. K. Shrestha, D. K. Jha and Pandit, N. P. 2008. Growth performance of Silver barb (*Puntius gonionotus*) in mono and polyculture Systems. Our Nature. 6: 38-46.
- Das, P. C., J. Jena, B. Mishra and Pati, B. K. 2012. Impact of aeration on the growth performance of Silver barb, *Puntius gonionotus*, during fingerling rearing. J World Aquacult Soc. 43(1): 128-134.
- Daungsawas, S., Sunthonsatit, T., Banyen, S. and Kertkomut, B. 1984. Study on biology of Rohu (*Labeo rohita*). Page Technical Paper No. 42. National Fisheries Institute, Department of Fisheries. 29 p. [in Thai]
- Department of Fisheries. 2017. Fisheries statistics of Thailand 2015. Depart of Fisheries. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Bangkok. 87 p. [in Thai]
- Department of Land Development. 2006. A map of problematic soil. Department of land development. Bangkok. 14 p. [in Thai]
- Evans, D. H., Piermarini, P. M. and Choe, K. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, Acid-base and excretion on nitrogenous waste. Physiol Rev. 85: 97-177.
- Faizull, M. I. M. and Christianus, A. 2013. Salinity and stocking density effect on growth and survival of *Barbodes gonionotus* (Bleeker, 1850) Fry. J Fish Aquat Sci. 8(2): 419-424.
- Gonzalez, R. J. 2012. The physiology of hyper-salinity tolerance in teleost fish: A review. J Comp Physiol B: Biochem Syst Environ Physiol. 182(3): 321-329.
- Hopkins, K. D. 1992. Reporting Fish Growth: A Review of the Basics¹. J World Aquacult Soc. 23(3): 173-179.
- Hussain, M. G., Akteruzzaman, M., Kohinoor, A. H. M. and Shah, K. A. 1989. Semi intensive culture of silver barb. J Fish. 12: 32-38.
- Kunlapapak, S., Kulabong, S. and Saipattana, P. 2015. Updated checklist of freshwater and brackish fishes of Phetchaburi Basin, Northwest Gulf of Thailand Drainages. Biodivers J. 6(4): 837-842.
- Okeke, J. J., I. Iju, Nwankwo, O. D. and Arazu, V. N. 2014. The effect of *Leucena leucocephala* (lead plant) on the growth performance of catfish (*Clarias gariepinus*). Am J BioSci. 2(4): 111-114.

- Paolucci, E. M., Thuesen, E. V., Cataldo, D. H. and Boltovsko, D. 2010. Veligers of an introduced bivalve, *Limnoperna fortunei*, are a new food resource that enhances growth of larval fish in the Paraná River (South America). *Freshwater Biol.* 55(9): 1,831-1,844.
- Sarker, P. K., Chowdhury, B. B. P., Khan, M. S. A., Pal, H. K. and Mondal, S. 2002. A study on Silver barb (*Puntius gonionotus*) monoculture vs. mixed culture with carp (*Cyprinus carpio*) in the yard ditches of Bangladesh. *Online J Boil Sci.* 2(4): 230-231.
- Siriporn K., Penpun, S. and Somsamorn, G. 2013. Major Mineral Composition of Sea water Compare to Rock Salt Water for Nursing *Macrobrachium rosenbergii* larvae. *Khon Kaen Agr. J.* 41(4): 419-424. [in Thai]
- Stickney, R. R. 2000. *Encyclopedia of Aquaculture*. A Wiley-Inter Science Publication John Wiley and Sons, Inc. New York. 1,088 p.
- Tanomtong, P., Treelagate, W. and Angwanich, W. 2006. Effect of rock salt salinity on morphometric and physiological changes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* linn.). *KKU Res J.* 11(1): 46-52. [in Thai]
- Ta-Oon, M. 2004. Rehabilitation/management of salt-affected and low fertility soil. Department of land resources and environment, Faculty of Agriculture. Khon Kaen University. Khon Kaen. 164 p. [in Thai]
- Williamson, D. R., Peck, A. J., Turner, J. V. and Arunin, S. 1989. Groundwater hydrology and salinity in a valley in Northeast Thailand. In: *Groundwater Contamination*. International Association of Hydrological Sciences (IAHS). 185: 147-154.

ความแตกต่างของขนาดและดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกั้งตักแตนสามแถบ
(*Miyakella nepa*) ในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย

Difference in Sizes and Ovarian Gonadosomatic Index of the Three-Banded
Mantis Shrimp *Miyakella Nepa* in the Eastern Region of Thailand

เพ็ญจันทร์ ละอองมณี¹ มัณฑนา สำเภา¹ และ รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ¹

Penchan Laongmanee¹ Mantana Sompao¹ and Rachanimuk Hiransuchaler¹

¹คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพาวิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22170

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

Corresponding author: rachanimuk@buu.ac.th

บทคัดย่อ

จากการศึกษาขนาดและค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกั้งตักแตนสามแถบ โดยเก็บตัวอย่างจากตัวแทนเรือประมงที่ขึ้นเทียบท่าเทียบเรือใน 4 จังหวัดของภาคตะวันออกของประเทศไทย คือ จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง และชลบุรี เก็บตัวอย่าง 2 ช่วงเวลา คือช่วงเดือน มกราคม - มีนาคม พ.ศ. 2558 จำนวน 244 ตัว เป็นตัวแทนฤดูแล้ง และช่วงเดือน สิงหาคม - ตุลาคม พ.ศ. 2558 จำนวน 295 ตัว เป็นตัวแทนฤดูฝน พบค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว ความยาวทั้งหมด ความยาวส่วนกระดอง ความยาวส่วนหาง ความยาวส่วน้ามอก และความยาวส่วนปล้องท้องของกั้งตักแตนสามแถบเพศเมียมากกว่าเพศผู้ทั้งสองช่วงเวลา กั้งตักแตนสามแถบที่มีขนาดตัวเฉลี่ยใหญ่ที่สุด คือ เพศเมียในช่วงฤดูแล้งจากจังหวัดตราด (37.01 ± 5.82 กรัม) และกั้งตักแตนสามแถบที่มีขนาดตัวเฉลี่ยเล็กที่สุด คือ เพศผู้ในช่วงฤดูฝนจากจังหวัดระยอง (12.78 ± 4.56 กรัม) นอกจากนี้ ค่าเฉลี่ยดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียสูงสุด คือ ในช่วงฤดูแล้งจากจังหวัดตราด ($6.54 \pm 4.38\%$) เมื่อพิจารณาระยะพัฒนารังไข่จากค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย พบว่ากั้งตักแตนที่มีการพัฒนารังไข่สูงที่สุด คือ จากจังหวัดจันทบุรี (ระยะที่ 4; $GSI = 10.45 \pm 2.38\%$) งานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับประเมินช่วงเวลาความสมบูรณ์เพศของกั้งตักแตนสามแถบแต่ละจังหวัดได้

คำสำคัญ : กั้งตักแตนสามแถบ *Miyakella nepa* ภาคตะวันออก ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย

Abstract

This study aimed to study on sizes and ovarian gonadosomatic index of the three-banded mantis shrimp (*Miyakella nepa*). The samples were collected from the representative fishing boats at the fishing port in the Eastern region of Thailand including 4 provinces, (i.e., Trat, Chanthaburi, Rayong and Chonburi). In addition, *M. nepa* was collected for 2 periods of time (January – March, 2015 represented the dry season; n=244 and August – October, 2015 represented the rainy season; n=295). The results showed that body weight, total length, carapace length, telson length, raptorial claw length and abdominal somites length of females *M. nepa* were larger than male in both of time periods. Moreover, female *M. nepa* from Trat in dry season showed the largest size (37.01 ± 5.82 g.), while male *M. nepa* from Rayong in rainy season showed the smallest size (12.78 ± 4.56 g.). Female *M. nepa* from Trat in dry season showed the highest ovarian gonadosomatic index (GSI) ($6.54 \pm 4.38\%$). In addition, female *M. nepa* in Chanthaburi contained the highest

ovarian developmental stage (stage 4; GSI=10.45±2.38%). This research is basis information for assessing the timing of sexual maturity of *M. nepa* in Eastern region of Thailand.

Keywords: *Miyakella nepa*, Eastern region of Thailand, ovarian gonadosomatic index

บทนำ

กั้งตักแตนสามแถบ (*Miyakella nepa*) ตามธรรมชาติอาศัยอยู่ในบริเวณพื้นทะเลที่เป็นทราย เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับปูและกุ้ง (ไฟลัม Arthropoda ชั้น Crustacea ชั้นย่อย Malacostraca อันดับใหญ่ Hoplocarida อันดับ Stomatopoda ครอบครัว Squillidae) (Wattanatongchai, 1995) พบได้ทั้งบริเวณอ่าวไทยและทะเลอันดามัน (Naiyanetr, 1998) โดยบริเวณทะเลอันดามันสามารถจับได้บริเวณทะเลพื้นโคลนปนทรายที่ระดับความลึก 30-70 เมตร (Ahyong and Naiyanetr, 2002) กั้งตักแตนสามแถบเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและกำลังเป็นที่นิยมบริโภคในปัจจุบัน (Hiransuchalert *et al.*, 2015) เนื่องจากกั้งตักแตนชนิดนี้พบได้ตลอดทั้งปี โดยกั้งตักแตนสามแถบพบได้มากแถบภาคตะวันออกของประเทศไทย (Kovitvadh, 1994) จากการศึกษาชีววิทยาบางประการของกั้งตักแตนสามแถบ *M. nepa* ที่ได้จากเรือประมงอวนลากบริเวณท่าเทียบเรือประมงเกาะเบริดและท่าเทียบเรือประมงแหลมสิงห์ อ.แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี จำนวน 515 ตัว พบว่ากั้งตักแตนสามแถบในเดือนมิถุนายนมีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีรังไข่สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าช่วงฤดูสืบพันธุ์ของกั้งตักแตนสามแถบบริเวณจังหวัดจันทบุรีอยู่ในช่วงเดือนมิถุนายน (Hiransuchalert *et al.*, 2015) โดยในจังหวัดจันทบุรี ราคา กั้งตักแตนสามแถบ ณ ท่าเรืออยู่ระหว่าง 30-60 บาทต่อกิโลกรัม แต่หากเป็นกั้งตักแตนหางจุด (*Haplosquilla raphidea*) จะมีราคาสูงกว่ามากคือประมาณ 200-300 บาทต่อกิโลกรัม (Boonsom *et al.*, 2016)

กั้งตักแตนที่บริโภคทุกชนิดถูกจับมาจากธรรมชาติ โดยกั้งตักแตนสามแถบส่วนใหญ่เป็นสัตว์น้ำพลอยจับได้ (by catch) จากการทำประมงแบบอวนลาก (Hiransuchalert *et al.*, 2015) และเรือประมงพื้นบ้านขนาดเล็กด้วยอวนลอยสามชั้น (Boonsom *et al.*, 2016) ซึ่งจากลักษณะเครื่องมือประมงส่งผลให้ขนาดของกั้งตักแตนสามแถบที่จับได้มีตั้งแต่ขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่ และด้วยลักษณะทางชีววิทยาที่กั้งตักแตนมีเปลือกที่เป็นหนามแหลมอาจทำให้เกิดความเสียหาย ทำให้ชาวประมงไม่ตระหนักถึงการปล่อยกั้งตักแตนขนาดเล็กกลับสู่ธรรมชาติ นอกจากนี้ ในปัจจุบันพฤติกรรมบริโภคกั้งตักแตนสามแถบของคนส่วนใหญ่นิยมบริโภคเพศเมียที่มีไข่ จึงอาจส่งผลให้จำนวนประชากรของกั้งตักแตนสามแถบในธรรมชาติมีปริมาณลดลง (Department of Fisheries, 2016) การศึกษาชีววิทยาเบื้องต้นบางประการ เช่น ขนาดและความสมบูรณ์เพศของกั้งตักแตนสามแถบในประเทศไทยจึงมีความสำคัญ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการจัดการการประมงกั้งตักแตน นำไปสู่การอนุรักษ์และการวางแผนการจับสัตว์น้ำชนิดนี้ตามธรรมชาติ เพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ได้ โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความแตกต่างด้านขนาดและค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีรังไข่ของกั้งตักแตนสามแถบบริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่างกั้งตักแตนสามแถบ

เก็บตัวอย่างกั้งตักแตนสามแถบจากเรือประมงที่มีขนาดความยาวเรือระหว่าง 12-18 เมตร ที่มาเทียบเรือเป็นประจำบริเวณท่าเทียบเรือของจังหวัดตราด จังหวัดจันทบุรี จังหวัดระยองและจังหวัดชลบุรี โดยเก็บตัวอย่างกั้งตักแตนสามแถบเป็น 2 ช่วงเวลาจากเรือลำเดียวกันและขึ้นเทียบที่ท่าเรือประมงเดิม คือช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2558 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2558 เพื่อเป็นตัวแทนตัวอย่างฤดูแล้ง และช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2558 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558

เพื่อเป็นตัวแทนตัวอย่างฤดูฝน แต่ละครึ่งเก็บตัวอย่างคิดเป็น 10-20 เพอร์เซ็นต์ของจำนวนกึ่งตัวต้นสามแถบที่จับได้ แต่ละครึ่ง หลังจากที่ได้ตัวอย่างมาแล้วระบุ วันเดือนปี และสถานที่เก็บตัวอย่าง นำไปชั่งน้ำหนัก วัดขนาดตัว และชั่งน้ำหนักของรังไข่กึ่งตัวต้นสามแถบเพศเมียในห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษาเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกึ่งตัวต้นสามแถบ

การหาเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย (Gonadosomatic index; GSI) ของกึ่งตัวต้นสามแถบ โดยคำนวณจากสมการของ Kodama *et al.* (2009) ดังสมการ [(น้ำหนักรังไข่/น้ำหนักลำตัว) X 100]

นำค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียที่ได้มาเปรียบเทียบกับตารางระยะพัฒนารังไข่ที่ได้ในแต่ละระยะตามงานวิจัยของ Hiransuchalert *et al.* (2016) (Table 1)

Table 1 Ovarian developmental stages of *Miyakella nepa* estimated by Ovarian Gonadosomatic index

Ovarian developmental stages	Ovarian Gonadosomatic index (%)
stage 1 Previtellogenic	0.00 - 1.50
stage 2 Early-Vitellogenic	1.51 - 3.00
stage 3 Mid-Vitellogenic	3.01 - 5.00
stage 4 Late-Vitellogenic	> 5.01

3. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย และน้ำหนักรังไข่ต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรังไข่ต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย และน้ำหนักตัวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย โดยวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation analysis) แบบเพียร์สัน (Pearson product moment correlation) โดยใช้การกระจายตัวของข้อมูลที่มีระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) และใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เปรียบเทียบกับตารางระดับความสัมพันธ์ใน Table 2 ว่ามีระดับความสัมพันธ์อยู่ในช่วงใด

Table 2 The probability levels for the correlation coefficient using r value (Hinkle *et al.*, 2003)

Size of Correlation	The probability levels
0.0 – 0.29	Very low correlation
0.30 – 0.49	Low correlation
0.50 – 0.69	Moderate correlation
0.70 – 0.89	High correlation
0.90 – 1.00	Very high correlation

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบข้อมูลของกั้งตักแตนสามแถบในแต่ละพื้นที่ โดยหลังจากการทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลว่ามีการแจกแจงแบบปกติ (Normal distribution) จึงวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

พื้นที่เก็บตัวอย่างกั้งตักแตนสามแถบในภาคตะวันออกของประเทศไทย

จากการเก็บตัวอย่างกั้งตักแตนสามแถบ โดยจังหวัดตราดทำการศึกษาศาบริเวณท่าเทียบเรือประมงแก้วตาด ตำบลหนองคันทรอง อำเภอเมืองตราด จังหวัดตราด จากเรือประมงขนาด 18 เมตร ใช้วิธีทำการประมงด้วยอวนรุน พื้นที่ทำการประมงบริเวณทางทิศตะวันออกของแหลมชอกหรือบริเวณอ่าวตราดและบริเวณท่าเรือแหลมกลัด จังหวัดจันทบุรี ทำการศึกษาศาบริเวณท่าเทียบเรือประมงเกาะเปริด ตำบลเกาะเปริด อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี จากเรือประมงขนาด 12 เมตร ใช้วิธีทำการประมงด้วยอวนลาก พื้นที่ทำการประมงเรือจะออกไปทางจังหวัดตราด จังหวัดระยอง ทำการศึกษาศาบริเวณท่าเทียบเรือสะพานปลา ตำบลบ้านเพ อำเภอเมืองระยอง จังหวัดระยอง จากเรือประมงขนาด 18 เมตร ใช้วิธีทำการประมงด้วยอวนจมกึ่ง พื้นที่ทำการประมงบริเวณอ่าววังแก้ว และจังหวัดชลบุรีทำการศึกษาศาบริเวณท่าเทียบเรืออ่างศิลา อำเภอศรีราชา อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี จากเรือประมงขนาด 12 เมตร ใช้วิธีทำการประมงด้วยอวนลาก พื้นที่ทำการประมงบริเวณหน้าอ่าวเกาะลอย (Figure 1)



Figure 1 Fishing boats and the sample of *Miyakella nepa* from each province including Trat (a and e) Chanthaburi (b and f) Rayong (c and g) and Chonburi (d and h).

การเปรียบเทียบลักษณะทางชีววิทยาระหว่างประชากรของกั้งตักแตนสามแถบในภาคตะวันออกของประเทศไทย

1. การเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกั้งตักแตนสามแถบ

จากการศึกษาการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกั้งตักแตนสามแถบพบว่า น้ำหนักตัวเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกั้งตักแตนสามแถบทั้งเพศผู้ (28.43 ± 4.11 กรัม, 13.37 ± 0.81 เซนติเมตร) และเพศเมีย (37.01 ± 4.44 กรัม, 14.71 ± 0.81 เซนติเมตร) จากจังหวัดตราดในเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคมของตัวแทนฤดูแล้ง มีค่ามากกว่าจังหวัดอื่นทั้ง 2 ฤดูกาล ($P < 0.05$) ส่วนกั้งตักแตนสามแถบทั้งเพศผู้ (12.78 ± 4.56 กรัม, 9.98 ± 1.13 เซนติเมตร) และเพศเมีย

(13.36±6.14 กรัม, 10.11±1.36 เซนติเมตร) จากจังหวัดระยองในเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคมของตัวแทนฤดูฝน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยน้อยกว่าจังหวัดอื่นทั้ง 2 ฤดูกาล ($P<0.05$) (Table 3 and Figure 2)

Table 3 Comparisons of the average body weight and total length between *Miyakella nepa* from 4 provinces

Sex	Trat		Chanthaburi		Rayong		Chonburi	
	Dry season	Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season	Rainy season	Dry season	Rainy season
average body weight (gram)								
male	28.43±4.11 ^f	21.50±4.44 ^d	19.47±2.70 ^c	26.5±3.29 ^f	16.83±3.64 ^b	12.78±4.56 ^a	27.23±2.94 ^f	23.99±3.47 ^e
female	37.01±4.44 ^e	21.52±6.63 ^c	20.49±4.76 ^b	34.21±4.21 ^{de}	22.64±5.53 ^b	13.36±6.14 ^a	32.16±5.28 ^c	23.70±4.76 ^b
average total length (cm)								
male	13.37±0.81 ^e	12.04±0.87 ^c	12.14±0.91 ^c	13.16±0.54 ^{de}	10.99±0.83 ^b	9.98±1.13 ^a	13.13±0.57 ^{de}	12.86±0.72 ^d
female	14.71±0.81 ^d	13.00±1.21 ^c	12.14±1.02 ^b	14.39±0.65 ^d	12.2±1.10 ^b	10.11±1.36 ^a	14.19±0.78 ^d	12.72±0.83 ^{bc}
number	23 and 23	36 and 24	30 and 38	23 and 28	41 and 37	56 and 66	27 and 25	50 and 12

*Different alphabets in each horizontal line meaning of the significantly difference at the 95 % confidence level.

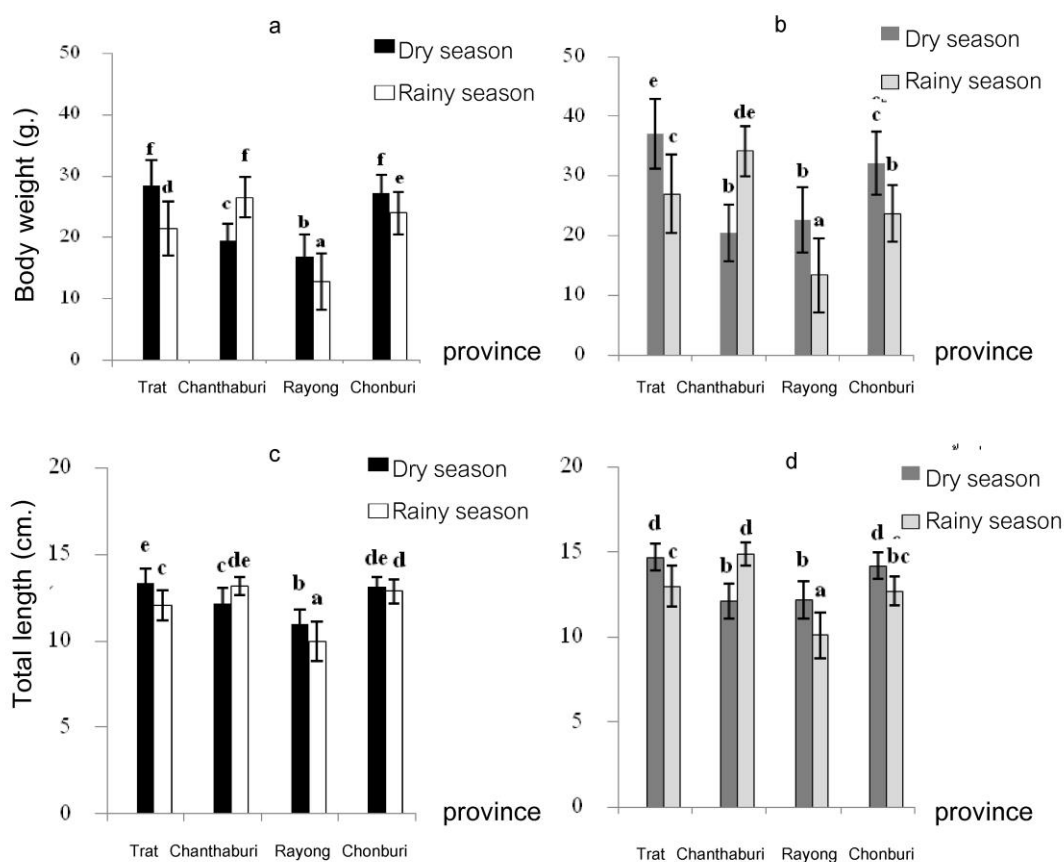


Figure 2 Comparisons of the average body weight (a, b) and total length (c, d) between male (a, c) and female (b, d) of *Miyakella nepa* from 4 provinces

จากพื้นที่ทำการศึกษากันจับตัวอย่างกั้งตักเตนสามแถบในพื้นที่จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง และชลบุรี ซึ่งในแต่ละพื้นที่มีขนาดของเรือและลักษณะของเครื่องมือในการทำประมงที่แตกต่างกัน ส่งผลทำให้ได้ตัวอย่างกั้งตักเตนสามแถบที่มีขนาดแตกต่างกันด้วย โดยตัวอย่างกั้งตักเตนสามแถบที่ได้จากจังหวัดตราดมาจากการทำประมงแบบอวนรุน ซึ่งการทำประมงในลักษณะนี้เป็นการทำประมงที่สามารถจับสัตว์น้ำได้ทุกชนิดทุกขนาด ตั้งแต่ลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนจนถึงขนาดโตเต็มวัยเพราะอวนรุนสามารถจับสัตว์น้ำได้ตั้งแต่พื้นท้องน้ำขึ้นมา (Marine Fisheries Division, 1997) จึงเป็นผลทำให้ได้กั้งตักเตนเป็นปริมาณมากและมีขนาดหลากหลายในการทำประมงต่อครั้ง นอกจากนี้ วิธีการทำประมงแบบนี้ยังถือเป็นการทำลายแหล่งอนุบาลหรือที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำอีกด้วยเนื่องจากมีลักษณะการรุนตั้งแต่พื้นท้องน้ำ โดยอวนรุนถูกห้ามมิไว้ในครอบครองตั้งแต่วันที่ 7 สิงหาคม พ.ศ. 2558 (ยกเว้นอวนรุนเคย) ตามคำสั่ง คสช. 24/2558 ซึ่งการเก็บตัวอย่างจากการศึกษานี้ดำเนินการก่อนการออกคำสั่งเพียงเล็กน้อย ชาวประมงจึงยังสามารถจับสัตว์น้ำด้วยเครื่องมือประมงดังกล่าวได้

ส่วนตัวอย่างที่ได้จากจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดชลบุรีมาจากลักษณะการทำประมงแบบอวนลาก เป็นการทำประมงในลักษณะเดียวกับอวนรุน คือ สามารถจับสัตว์น้ำตั้งแต่ลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนจนถึงขนาดโตเต็มวัย และยังจับได้ทั้งที่อาศัยอยู่กันแบบเป็นฝูงหรือแบบกระจายตัวกันอยู่ (Marine Fisheries Division, 1997) ซึ่งขณะทำการประมงสัตว์น้ำจะถูกลากรวมกันให้ไปอยู่ที่บริเวณก้นของอวนเป็นเวลานานและถูกทับถมกันเป็นจำนวนมาก อาจทำให้เกิดความเสียหายต่อสัตว์น้ำที่อยู่ส่วนนี้ของอวนได้ ส่วนจังหวัดระยองเป็นตัวอย่างที่ได้จากการประมงแบบอวนจมกึ่ง ซึ่งเป็นการประมงที่ต้องอาศัยกระแสน้ำไหลเท่านั้น มีลักษณะเป็นอวนสามชั้นและจะได้กั้งตักเตนปริมาณมากถ้าในช่วงนั้นเกิดคลื่นลมแรง (Marine Fisheries Division, 1997) ทั้งนี้จึงส่งผลให้กั้งตักเตนสามแถบในจังหวัดระยองมีขนาดเล็กและมีปริมาณไม่มากนัก เพราะต้องอาศัยปัจจัยของกระแสน้ำและคลื่นลมเป็นปัจจัยหลักในการทำประมง

จากการศึกษาข้อมูลน้ำหนักตัวและความยาวเฉลี่ยของกั้งตักเตนสามแถบในแต่ละจังหวัด พบว่าพื้นที่ที่มีปริมาณกั้งตักเตนสามแถบมากและมีขนาดตัวที่ใหญ่กว่าจังหวัดอื่นๆ คือ พื้นที่ที่มีการประมงอวนรุน อวนลาก และอวนจมกึ่ง ตามลำดับ เนื่องจากกั้งตักเตนสามแถบเป็นสัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่บริเวณใกล้ชายฝั่งเป็นส่วนมาก จนไปถึงทะเลลึก จึงทำให้การประมงแบบอวนรุนซึ่งเป็นการทำประมงในระดับความลึกน้ำในช่วง 1-12 เมตร สามารถเข้าถึงพื้นที่อยู่อาศัยของกั้งตักเตนได้มากกว่าอวนลาก โดยการทำประมงแบบอวนลากอยู่ที่ระดับความลึกน้ำตั้งแต่ 5-60 เมตร ซึ่งโดยส่วนมากแล้วการทำประมงแบบอวนลากจะทำประมงในเขตน้ำลึกมากกว่าบริเวณน้ำตื้น (Fisheries Surveys Unit, 1969) ทั้งนี้กั้งตักเตนเป็นเพียงสัตว์น้ำพลอยได้จากการทำประมงของชาวประมงเท่านั้น อีกทั้งกั้งตักเตนยังสร้างความเสียหายให้กับอวนหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการทำประมงจึงทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของชาวประมง และไม่ตระหนักถึงการปล่อยกั้งตักเตนที่มีขนาดเล็กกลับสู่แหล่งน้ำธรรมชาติอีกด้วย (Boonsom *et al.*, 2016)

Kantan (2014) ศึกษาความหลากหลายของสัตว์ทะเลหน้าดินบริเวณพื้นที่ช่องเกาะช้าง จังหวัดตราด ช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 พบมีสัตว์หน้าดินทั้งหมด 6 ไฟล์ม และความหนาแน่นของสัตว์หน้าดินเฉลี่ย 12488.34 ± 3368.44 ตัว/ตารางเมตร และ Somluk (2014) ศึกษาองค์ประกอบชนิดและความชุกชุมของสัตว์หน้าดินบริเวณโครงการโป๊ะเชือกบ้านเพ จังหวัดระยอง พบว่าความชุกชุมของสัตว์หน้าดินบริเวณก่อนติดโป๊ะเชือกและหลังติดโป๊ะเชือกมีค่าเฉลี่ย 2224.29 ± 88.81 และ 432.31 ± 302.05 ตัว/ตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นได้ว่า ปริมาณสัตว์หน้าดินที่เป็นอาหารส่วนหนึ่งของกั้งตักเตนสามแถบในจังหวัดตราดมีปริมาณมากกว่าเมื่อเทียบกับบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลจังหวัดระยอง จึงอาจเป็นผลให้น้ำหนักและขนาดตัวของกั้งตักเตนสามแถบในจังหวัดตราดสูงที่สุด นอกจากนี้ ชนิดของเครื่องมือประมงก็มีส่วนสำคัญที่ทำให้ขนาดของกั้งตักเตนมีขนาดแตกต่างกันเช่นกัน (Chuaduanguai, 2011)

2. การเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย (GSI) ของกิ้งกัสดักแค้นสามแถบ

จากการศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีรังไข่ของกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียจากแต่ละจังหวัด พบว่ากิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียจากจังหวัดตราดในช่วงฤดูแล้งมีค่าเฉลี่ยสูงสุดที่ 6.54±4.38% รองลงมาคือกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียจากจังหวัดจันทบุรีในช่วงฤดูฝน (6.45±4.73%) ส่วนกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียจากจังหวัดชลบุรีในช่วงฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด (1.79±0.98%) (Table 4) โดยจากตารางเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีรังไข่มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสูงเนื่องจากกิ้งกัสดักแค้นที่จับได้มีระยะการพัฒนารังไข่ที่หลากหลายตั้งแต่ระยะที่ 1-4 ดังแสดงใน Table 5

เมื่อตรวจสอบระยะการพัฒนารังไข่จากค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียตาม Hransuchalert *et al.* (2016) พบว่าในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคมกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียที่มีการพัฒนารังไข่สูงสุดคือจังหวัดตราด (9.17±2.90%) อย่างไรก็ตาม ระยะการพัฒนารังไข่ของกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียจากทุกจังหวัดมีการพัฒนาถึงระยะที่ 4 (Table 5) ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคมกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียที่มีการพัฒนารังไข่สูงสุดคือจังหวัดจันทบุรี (10.45±2.38%) โดยกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเพศเมียจากจังหวัดชลบุรีไม่พบการพัฒนารังไข่ถึงระยะที่ 4 (Table 6)

Table 4 Ovarian Gonadosomatic index of female *Miyakella nepa* from 4 provinces during dry season and rainy season

Province	Ovarian Gonadosomatic index (%)	
	dry season	rainy season
Trat	6.54±4.38 (N=23)	4.27±2.45 (N=24)
Chanthaburi	4.63±2.29 (N=22)	6.45±4.73 (N=28)
Rayong	4.90±4.31 (N=37)	4.23±3.45 (N=66)
Chonburi	5.24±3.15 (N=25)	1.79±0.98 (N=12)

Table 5 Observation of ovarian developmental stages from ovarian Gonadosomatic index of female *Miyakella nepa* from 4 provinces during dry season

Province/ ovarian stages	ovarian Gonadosomatic index			
	stage 1 (0.00-1.50%)	stage 2 (1.50-3.00%)	stage 3 (3.00-5.00%)	stage 4 (>5.00%)
Trat	1.13±0.13 (n=5)	2.32±0.69 (n=3)	-	9.17±2.90 (n=15)
Chanthaburi	-	2.27±0.53 (n=5)	4.23±1.00 (n=8)	6.84±1.87 (n=9)
Rayong	1.19±0.18 (n=5)	2.16±0.39 (n=14)	4.58±0.83 (n=5)	9.26±4.26 (n=13)
Chonburi	0.72±0.01 (n=1)	2.38±0.52 (n=7)	4.00±0.85 (n=5)	8.26±2.07 (n=12)

ช่วงของฤดูกาลสืบพันธุ์ของกิ้งกัสดักแค้นสามแถบที่ได้จากงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Reddy and Shanbhogue (1994) โดยพบว่ากิ้งกัสดักแค้นสามแถบ (*M. nepa*) ที่ศึกษาบริเวณชายฝั่งทะเลมังกาลอร์ ประเทศอินเดีย มีช่วงเวลาการวางไข่ของกิ้งกัสดักแค้นสามแถบเป็นระยะเวลานาน โดยแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลาคือ เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน และเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม อย่างไรก็ตาม Hransuchalert *et al.* (2015) ศึกษาชีววิทยาบางประการของกิ้งกัสดักแค้นสามแถบที่ได้จากเรือประมงอวนลากบริเวณท่าเทียบเรือประมงเกาะเปริดและท่าเทียบเรือประมงแหลม

สิงห์ จังหวัดจันทบุรี พบว่ากั้งตักแตนสามแถบในเดือนมิถุนายนมีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีรังไข่มากที่สุด ($7.51 \pm 1.52\%$) โดยมีความน้อยกว่าในงานวิจัยนี้ แต่แสดงให้เห็นว่ากั้งตักแตนสามแถบในจังหวัดจันทบุรีสามารถพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียได้ทั้ง 2 ฤดูกาล

Table 6 Observation of ovarian developmental stages from ovarian Gonadosomatic index of female *Miyakella nepa* from 4 provinces during rainy season.

Province/ ovarian stages	ovarian Gonadosomatic index			
	stage 1 (0.00-1.50%)	stage 1 (0.00-1.50%)	stage 1 (0.00-1.50%)	stage 1 (0.00-1.50%)
Trat	1.48 ± 0.02 (n=3)	2.21 ± 0.41 (n=8)	4.98 ± 0.87 (n=3)	6.80 ± 1.28 (n=10)
Chanthaburi	1.20 ± 0.18 (n=5)	1.99 ± 0.37 (n=7)	3.77 ± 0.00 (n=1)	10.45 ± 2.38 (n=15)
Rayong	1.10 ± 0.18 (n=9)	2.16 ± 0.39 (n=23)	3.91 ± 0.29 (n=15)	9.26 ± 4.62 (n=19)
Chonburi	1.03 ± 0.13 (n=5)	1.83 ± 0.18 (n=5)	3.44 ± 0.62 (n=2)	-

3. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวต่อเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกั้งตักแตนสามแถบ

เมื่อนำค่าน้ำหนักตัวและค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกั้งตักแตนสามแถบเพศเมียจำนวน 253 ตัว ในช่วงฤดูแล้งและช่วงเดือนฤดูฝน มาหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียโดยแยกตามจังหวัด พบว่ามี (R^2) ระหว่าง 0.0159-0.0356 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ระหว่าง 0.1261-0.1887 (Figure 3) แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักตัวของกั้งตักแตนไม่มีความสัมพันธ์กับดัชนีความสมบูรณ์เพศเมีย โดยการที่กั้งตักแตนเพศเมียมีน้ำหนักตัวมากหรือน้อย อาจเป็นกั้งตักแตนที่มีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์หรือไม่พัฒนาก็ได้

Nakajima *et al.* (2010) รายงานว่าฤดูกาลวางไข่ของกั้งตักแตน *Oratosquilla oratoria* ในอ่าวโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น เปลี่ยนจากการวางไข่ครั้งเดียวต่อปี (ฤดูใบไม้ผลิเท่านั้น) เป็นการวางไข่สองครั้งต่อปี (ฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน) การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นเนื่องจากการเจริญพันธุ์ของกั้งตักแตนเพศเมียที่มีขนาดเล็กลง นอกจากนี้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่แสดงการเปลี่ยนแปลงพลวัตประชากรของกั้งตักแตน ยังแสดงว่ากั้งตักแตนเลือกวางไข่ในฤดูร้อนด้วยจำนวนไข่ที่มากกว่าฤดูใบไม้ผลิ เนื่องจากกั้งตักแตนวัยอ่อนมีโอกาสรอดชีวิตในฤดูร้อนได้มากกว่า ในความเป็นจริงแล้วจำนวนประชากรกั้งตักแตนตามธรรมชาติลดลงอย่างมากจากการประมงที่ถาวร การปรับตัวของกั้งตักแตนนี้แสดงให้เห็นว่า สัตว์ชนิดนี้มีความพยายามในการฟื้นตัวของประชากรโดยการเพิ่มฤดูกาลวางไข่

การปรับตัวด้านอัตราการเติบโตของร่างกายและความสมบูรณ์เพศ มีรายงานไว้ในกลุ่มประชากรสัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนมและครัสเตเชียนหลายชนิด รวมทั้งกั้งตักแตน *M. nepa* และ *O. oratoria* (Jørgensen, 1990; Sampson 1990; Reddy and Shanbhogue, 1994; Kodama *et al.*, 2009; Nakajima, *et al.*, 2010) โดยการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการลดลงของอาหารจากห่วงโซ่อาหารตามธรรมชาติของสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นผลมาจากการจับสัตว์น้ำด้วยเครื่องมือประมงมีประสิทธิภาพสูง จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการทำการประมงโดยใช้เครื่องมือประมงที่มีประสิทธิภาพสูง ส่งผลต่อการปรับตัวด้านอัตราการเติบโตของร่างกายและความสมบูรณ์เพศของกั้งตักแตนสามแถบด้วย ดังแสดงใน Figure 3 โดยพบการสมบูรณ์เพศของกั้งตักแตนที่ขนาดเล็กน้อยกว่า 10 เซนติเมตรในช่วงฤดูฝน สอดคล้องกับที่มีรายงานในกั้งตักแตนชนิดอื่น (Reddy and Shanbhogue, 1994; Nakajima, *et al.*, 2010) นอกจากนี้ ชนิดของเครื่องมือประมงมีผลต่อขนาดของสัตว์น้ำที่จับได้ด้วย โดยตัวอย่างกั้งตักแตนสามแถบจากจังหวัดระยองเป็นตัวอย่างที่ได้จากการทำการประมงด้วยอวนจมกึ่ง ซึ่งเป็นการประมงใกล้ฝั่งทำให้ได้กั้งตักแตนที่ขนาดเล็ก

กว่าจังหวัดอื่น ส่วนตัวอย่างกึ่งตึกแต่นสามแถบจากจังหวัดตราดมีการกระจายขนาดตัวที่กว้างเนื่องจากกระยองเป็นตัวอย่างที่ได้จากการทำประมงด้วยอวนรุน มีรายงานในกึ่งตึกแต่น *O. oratoria* ว่ากึ่งตึกแต่นชนิดนี้ที่อาศัยบริเวณอ่าวโตเกียวไม่มีการอพยพไปพื้นที่อื่น (Nakata, 1986) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่ากึ่งตึกแต่นสามแถบของแต่ละจังหวัดมีการอพยพระหว่างจังหวัดหรือไม่

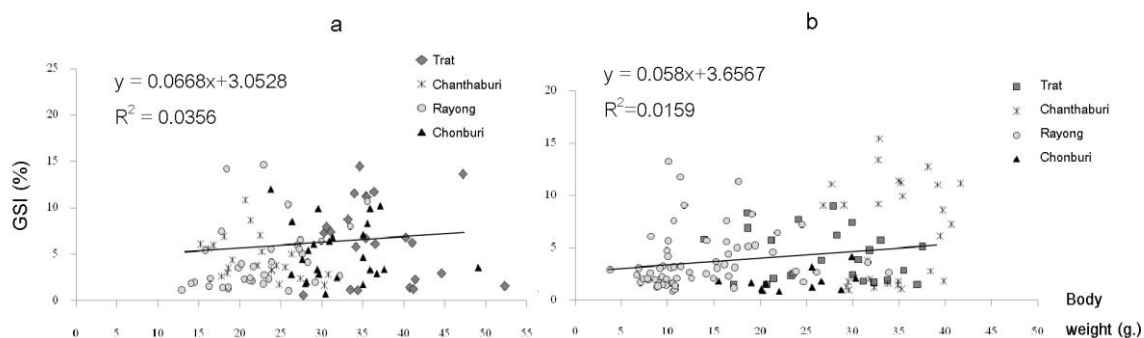


Figure 3 The correlation between the average body weight and ovarian Gonadosomatic index of female *Miyakella nepa* during dry season (a) and rainy season (b)

4. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรังไข่ต่อเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกึ่งตึกแต่นสามแถบ

เมื่อนำค่าน้ำหนักรังไข่และค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกึ่งตึกแต่นสามแถบเพศเมีย จำนวน 253 ตัว ในช่วงฤดูแล้งและช่วงฤดูฝน มาหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรังไข่ต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียโดยแยกตามจังหวัด มีค่าสัมประสิทธิ์ตัวกำหนด (R^2) ระหว่าง 0.6954-0.8408 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ระหว่าง 0.8340-0.9170 (Figure 4) แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับสูงในทุกจังหวัด ซึ่งน้ำหนักรังไข่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ เมื่อน้ำหนักรังไข่มากขึ้นเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกึ่งตึกแต่นสามแถบเพศเมียจะมีค่าสูง นอกจากนี้ ในฤดูแล้งความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรังไข่ต่อเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกึ่งตึกแต่นสามแถบ มีค่าสูงกว่าฤดูฝนสามารถอธิบายได้ว่ากึ่งตึกแต่นในช่วงฤดูแล้งมีความสมบูรณ์เพศสูงกว่าและมีความพร้อมสำหรับการสืบพันธุ์มากกว่าช่วงฤดูฝน

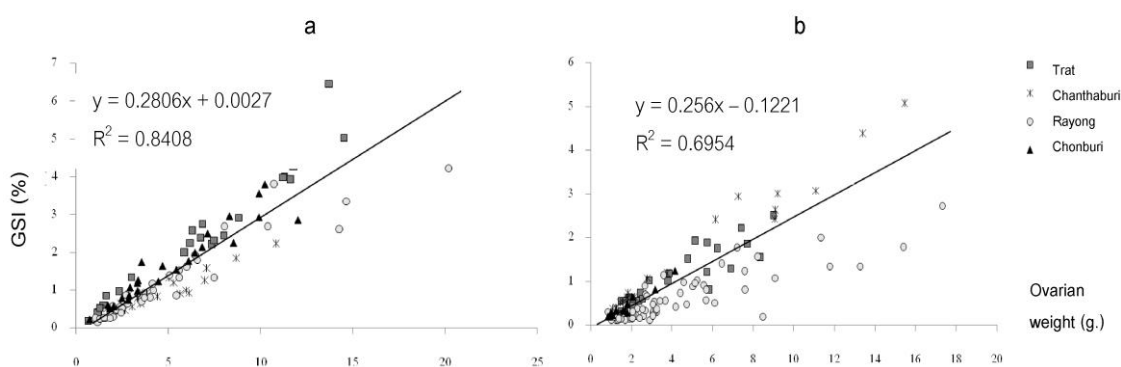


Figure 4 The correlation between the ovarian weight and ovarian Gonadosomatic index of female *Miyakella nepa* during dry season (a) and rainy season (b)

สรุปผล

จากการศึกษาขนาดและค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกั้งตักแตนสามแถบ ในภาคตะวันออกของประเทศไทย 4 จังหวัด คือ ตราด จันทบุรี ระยอง และชลบุรี โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 2 ช่วงเวลา คือในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม เป็นตัวแทนฤดูแล้ง และช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม เป็นตัวแทนฤดูฝน พ.ศ. 2558 พบว่ากั้งตักแตนสามแถบจากจังหวัดตราดซึ่งได้จากการทำประมงด้วยอวนรุนมีขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนกั้งตักแตนสามแถบจากจังหวัดระยองซึ่งได้จากการทำประมงด้วยอวนจมกั้งมีขนาดเล็กที่สุด แสดงให้เห็นว่าเครื่องมือประมงมีผลต่อขนาดกั้งตักแตนที่จับได้ และจากค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกั้งตักแตนสามแถบเพศเมียพบว่า กั้งตักแตนจากจังหวัดตราด จันทบุรี และระยอง มีระยะการพัฒนาลีขันธ์ที่สูงทั้งสองช่วงเวลาของการศึกษา แสดงถึงศักยภาพของกั้งตักแตนในการสืบพันธุ์หรือเป็นช่วงฤดูกาลสืบพันธุ์ได้ทั้งสองช่วงเวลาของการศึกษา โดยกั้งตักแตนสามแถบเพศเมียจากจังหวัดจันทบุรีมีแนวโน้มในการสืบพันธุ์ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคมได้มากกว่า เนื่องจากมีค่าดัชนีรังไข่สูงที่สุด ส่วนกั้งตักแตนสามแถบเพศเมียจากจังหวัดชลบุรี มีแนวโน้มของฤดูกาลสืบพันธุ์ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคมได้มากกว่า นอกจากนี้ จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรังไข่ต่อค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีรังไข่ที่มีความปฏิสัมพันธ์กันในระดับสูงมาก แสดงให้เห็นว่าสามารถประเมินระยะการพัฒนารังไข่ของกั้งตักแตนสามแถบเพศเมียได้จากค่าน้ำหนักรังไข่

เอกสารอ้างอิง

- Ahyong, S.T. and Naiyanetr, P. 2002. Stomatopod Crustaceans from Phuket and the Andaman Sea. Phuket Marine Biological Center Special Publication. 23(2): 281–312.
- Boonsom, S., Hiransuchalert, R. and Yuvanatemiya, V. 2016. Surveys of the Status of Mantis Shrimp Caught from Shrimp Trammel Net by Small Scale Fishing Boats in Chanthaburi Coastal Area. *In* The 5th Marine Science Conference, Bangkok, 1-3 May 2016. [in Thai]
- Chuaduangpui, P. 2011. Promoting community participation in public policy for fisheries resources management: Case of mantis shrimp resources management in Tunyongpo, Satun province. The final research report. Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. 101 p. [in Thai]
- Department of Fisheries. 2016. Fisheries Statistics of Thailand (1985-2014). Ministry of Agriculture and Cooperative, Government of Thailand. [in Thai]
- Fisheries Surveys Unit. 1969. The fishing gears of marine capture fisheries in Thailand. Ministry of Agriculture and Cooperative, Government of Thailand. 779 p. [in Thai]
- Hinkle, D.E., Wiersma, W. and Jurs, S. G. 2003. Applied statistics for the behavioral sciences. 5th Edition. Boston, Houghton Mifflin. 756 p.
- Hiransuchalert, R., Bukbun, W., Noppamas, D. and Kongsiri, J. 2015. Some biological aspects of the small-eyed squillid mantis shrimp *Miyakea nepa* (Latreille, 1828) in Laemsing, Chanthaburi province. Khon Kaen Agr. J. 43(1): 29-38. [in Thai]
- Hiransuchalert, R. Kongsiri, J. and Thongpajit, B. 2016. Histological patterns and ovarian development of the female Small-eyed squillid mantis shrimp *Miyakea nepa* (Latreille, 1828). Khon Kaen Agr. J. 43(special edition 1): 556-561. [in Thai]

- Jørgensen, T. 1990. Long-term changes in age at sexual maturity of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua* L.). J. Cons. Int. Explor. Mer. 46(3): 235-248.
- Kantan, T. 2014. A study on the diversity of the benthic marine species in Koh Chang, Trat province during the winter season (December 2013 to February 2014). Bachelor of Science, Marine Technology, Burapha University. [in Thai]
- Kodama, K., Shiraishi, H., Morita, M. and Horiguchi, T. 2009. Reproductive biology of the Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Stomatopoda): annual cycle of gonadal development and copulation. Mar. Biol. 5: 415-426.
- Kovitvadh, S. 1994. Taxonomic study on mantis shrimp from the eastern coast of Thailand. *In* Proceedings of the 32nd Kasetsart University Annual Conference: Animal Science, Veterinary Science and Fisheries. [in Thai]
- Marine Fisheries Division. 1997. Definition and classification of Thai marine fishing gears. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 198 p. [in Thai]
- Naiyanetr, P. 1998. Checklist of Crustacean Fauna in Thailand: (Decapoda and Stomatopoda). OEPP biodiversity series. Office of Environmental Policy and Planning, 161 p.
- Nakajima, M., Kodama, K., Horiguchi, T., Tanaka, Y. and Shiraishi, H. 2010. Impacts of shifts in spawning seasonality and size at maturation on the population growth of mantis shrimp in Tokyo Bay. Mar Ecol-Prog Ser. 418: 179-188.
- Nakata, N. 1986. Larval distribution of *Oratosquilla oratoria* (de Haan) in Tokyo Bay. Bull Kanagawa Pref Fish Exp Stn. 7: 17-22.
- Reddy, H.R.V. and Shanbhogue, S.L. 1994. Biochemical changes in different tissues of the mantis shrimp, *Oratosquilla nepa* (Stomatopoda) during reproductive cycle. Indian J. Mar. Sci. 23: 247-249.
- Sampson, D.B. 1990. A length-structured population model for southern fin whales and a test for density dependence. J. Cons. Int. Explor. Mer. 46(3): 249- 261.
- Somluk, T. 2014. A study on the composition and abundance of the benthic animals in set-net at Ban Phe, Rayong province. Bachelor of Science, Marine Technology, Burapha University. [in Thai]
- Wattanatongchai, B. 1995. Geographical Distribution of Stomatopods in the Gulf of Thailand. Master of Zoological Science, Graduate School, Chulalongkorn University. [in Thai]

จุลกายวิภาคและสุขภาพของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกาบแหลม
ในแม่น้ำของกาเลีย ช่วงไหลผ่านอำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทย
Gonadal histology and its health of *Ensidens ingallsianus ingallsianus* (Lea, 1852)
in Songgaria River during Sangkhlaburi District, Kanchanaburi Province, Thailand

ละม้าย ทองบุญ¹, ศิลปชัย เสนารัตน์^{2,*}, เจษฎ์ เกษตรระทัต², พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ³
เอศรา มงคลชัยชนะ⁴, ณัฐกิตติ์ โตอ่อน⁵, วิษณุ ธงไชย⁶ และวรรณีย์ จีรอังกูรสกุล⁷
Lamai Thongboon¹, Sinlapachai Senarat^{2,*}, Jes Kettratad², Pisit Poolprasert³,
Ezra Mongkolchaichana⁴, Natthakitt To-orn⁵, Wisanu Thongchai⁶,
and Wannee Jiraungkoorskul⁷

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

¹Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla 90110, Thailand

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

²Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Corresponding author: Senarat.S@hotmail.com

³สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก 65000

³Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, 65000, Thailand

⁴วิทยาลัยพัฒนามหานคร มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพฯ 10300

⁴Institute of Metropolitan Development, Navamindrahaj University, Rongmuang, Pathumwan, Bangkok, 10330

⁵สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ
อยุธยา 13000

⁵Program of Marine Science, Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry, Rajamangala University of Technology
Suvarnabhumi, Ayutthaya, 13000 Thailand

⁶สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก 65000

⁶Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, 65000,
Thailand

⁷ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400 ประเทศไทย

⁷Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Thung Phaya Thai, Ratchathewi, Bangkok 10400

บทคัดย่อ

ความเข้าใจเรื่องการประเมินสุขภาพของหอยกาบแหลม (*Ensidens ingallsianus ingallsianus*) บริเวณใกล้แหล่งกิจกรรมมนุษย์และพื้นที่เกษตรกรรมจากแม่น้ำของกาเลีย อำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทย เป็นสิ่งที่ต้องศึกษา แต่ยังไม่มียารายงานมาจวบจนถึงปัจจุบัน วัตถุประสงค์ครั้งนี้เพื่อศึกษาจุลกายวิภาคและประเมินสุขภาพของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกาบแหลม โดยการใช้จุลกายพยาธิวิทยาเป็นตัววัดทางชีวภาพ ทำการเก็บตัวอย่างหอยกาบแหลมจากฤดูหนาว (เดือนธันวาคม พ.ศ. 2558 ถึงมกราคม พ.ศ. 2559) และฤดูแล้ง (เดือนเมษายนถึงมิถุนายน พ.ศ. 2559) จำนวน 20 ตัวต่อฤดูกาล (เพศละ 10 ตัว) มีขนาดความยาวเปลือกอยู่ในช่วง 4-8 เซนติเมตร และนำตัวอย่างทั้งหมดมาผ่านกระบวนการทางมีนุวิทยา ผลการวิจัยพบว่าหอยทั้งสองเพศจัดอยู่ในช่วงสืบพันธุ์ โครงสร้างจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่ออวัยวะหอยกาบ

แหลมเพ็ดผู้ ประกอบด้วยโครงสร้างคล้ายถุงเป็นจำนวนมาก แต่ละถุงมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ตั้งแต่ระยะสเปิร์มาโทโกเนียมถึงสเปิร์มาโทซอน สำหรับจุลกายพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่ออวัยวะที่เกิดขึ้นได้น้อยมาก มีเพียงการหดตัวของนิวเคลียสของเซลล์สืบพันธุ์ระยะสเปิร์มาโทโกเนียมในบางบริเวณ เนื้อเยื่อรังไข่ของหอยกาบแหลมเพ็ดเมียประกอบด้วยโครงสร้างคล้ายถุงเป็นจำนวนมาก ภายในถุงประกอบด้วยระยะการพัฒนาของเซลล์ไข่ที่แบ่งเป็น 4 ระยะ คือ โอโอโกเนีย ระยะก่อนสะสมไข่แดง ระยะสะสมไข่แดง และระยะไข่สุก สำหรับจุลกายพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อรังไข่พบได้น้อยมากเช่นกัน มีเพียงการฝ่อของเซลล์ไข่ในระยะสะสมไข่แดง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ นอกจากทำให้ทราบถึงจุลกายวิภาคของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่ถูกต้องแล้ว การพบจุลกายพยาธิวิทยาที่เกิดขึ้นน้อยมากชี้ให้เห็นว่าสุขภาพของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ยังดีและอยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิต

คำสำคัญ: จุลกายพยาธิวิทยา หอยสองฝา ตัววัดทางชีวภาพ เซลล์สืบพันธุ์

Abstract

Understanding of the health assessment of *Ensis ensis* living near the human activity and agricultural area from Songgaria River, Sangkhlaburi district, Kanchanaburi province, Thailand is required; however, it has never been reported. The objective of this study was to investigate the gonadal histology and its health of *E. ensis ensis*, using histopathological biomarker. All samples were collected from winter season (December 2015 to January 2016) and the dry season (April to June 2016) (n = 20 per season/ n = 10 per sex) with shell length during 4-6 cm. and then they were routinely processed by a standard histological techniques. The results showed that all specimens were considered as the breeding season. Histological structure of the testicular tissue in *E. ensis ensis* male consisted of several acini, which was different in the male germ cells from the spermatogonium to spermatozoon. Only histopathological alteration included the pyknotic nuclei of the spermatogonia. The ovarian histology of the *E. ensis ensis* female composed of various follicles. Each follicle contained the oocyte differentiations, which was divided into four stages including oogonia, previtellogenic stage, vitellogenic stage and mature stage. The atretic follicle during vitellogenic stage was observed in the ovarian histopathology. The result from this observation was accurately received not only the gonadal histology, but also rare histopathologies with indicating to a good gonadal health under the environmental situation.

Keywords: Histopathology, Bivalve, Biomarker, Gametes

บทนำ

ในปัจจุบันการประเมินสุขภาพของสัตว์น้ำในพื้นที่ในธรรมชาติที่มีการปนเปื้อนของสารเคมีและมลพิษได้รับความนิยมนำมาอย่างต่อเนื่อง (NRC, 1991; Frame *et al.*, 2006) ถึงแม้ว่าวิธีการนี้มีข้อจำกัดในการอธิบายถึงความเชื่อมโยงในแง่เหตุและผลว่ามาจากปัจจัยใด (Frame *et al.*, 2006) แต่ข้อมูลที่ได้นอกจากช่วยประเมินถึงความเสี่ยงหรือคาดการณ์อันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับสัตว์น้ำ ยังทำให้ทราบถึงสถานการณ์ของสิ่งแวดล้อมในบริเวณนั้น ๆ ได้ทันทั่วทั้งที่ สำหรับการคัดเลือกหรือการนำเอาสัตว์น้ำมาเป็นสัตว์เฝ้าระวัง (sentinel species) เป็นสิ่งแรกที่ต้องกระทำ โดยสัตว์ชนิดนั้นควรมีคุณสมบัติหลัก คือ มีจำนวนมาก ง่ายต่อการจับและอาศัยในบริเวณคาบเกี่ยวกับพื้นที่การปนเปื้อน (NRC, 1991) ทั้งนี้หอยสองฝาจัดเป็นสัตว์น้ำกลุ่มเด่นที่กำลังนิยมใช้เป็นสัตว์เฝ้าระวังอย่างแพร่หลาย อาทิ หอยกาบ *Elliptio complanata* (Won *et al.*, 2005) และหอยทราย *Corbicula australis* (Taylor *et al.*, 2017) ด้วยลักษณะชีววิทยาของการดำรงชีวิตขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมรอบตัว มีรูปแบบการกรองกินแพลงก์ตอนและสารอินทรีย์จากดินตะกอน (Dillon, 2000) จึงเชื่อต่อการได้รับผลกระทบจากมลพิษหลายกลุ่ม เช่น ซีโนไบโอติก (xenobiotic accumulation), โลหะหนัก (heavy metals) (Uno *et al.*, 2001; Jacomini *et al.*, 2003) และกลุ่มไตรบิวทิลทิน (tributyltin) (Bettin *et al.*, 1996) หลังจากการคัดเลือกสัตว์เฝ้าระวังจำเป็นต้องมีการตรวจสอบจากตัววัดทางชีวภาพ (Biomarker) ที่เหมาะสม เพื่อให้ประเมินผลกระทบจากการปนเปื้อนของมลพิษต่อร่างกายของสัตว์ โดยเฉพาะการใช้จุลกายพยาธิวิทยาในระบบสืบพันธุ์มาเป็นตัววัดทางชีวภาพ สอดคล้องกับการรายงานหลายฉบับที่กล่าวถึงอวัยวะสืบพันธุ์จัดเป็นอวัยวะที่มีความไวต่อผลกระทบของมลพิษ (Chesman and Langto, 2006; Gomes *et al.*, 2009) ดังเช่น การพบภาวะสองเพศ (intersex) ในหอยกาบ *Scrobicularia plana* เพศผู้ ที่อาศัยในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของซีโนไบโอติก ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าหอยชนิดนี้มีความเสี่ยงต่อการลดลงของสุขภาพและมีแนวโน้มที่ทำให้เซลล์สืบพันธุ์ทั้งคุณภาพและปริมาณลดลง (Chesman and Langto, 2006; Gomes *et al.*, 2009)

แม่น้ำของกาเลียจัดเป็นแม่น้ำที่มีความสำคัญสายหนึ่งในจังหวัดกาญจนบุรีของประเทศไทยที่ตลอดทั้งสองฝั่งมีการพัฒนาเป็นแหล่งท่องเที่ยว การตั้งและขยายตัวของแหล่งชุมชนอย่างหนาแน่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณใกล้สะพานมอญ นอกจากนี้ยังมีแหล่งเกษตรกรรมที่สำคัญและมีการเพาะปลูกพืชเศรษฐกิจหลายชนิดหมุนเวียนกันในรอบปี อาจเป็นไปได้ว่ามีการใช้สารเคมีทางการเกษตรติดต่อกันเป็นระยะเวลายาวนาน ดังนั้นแม่น้ำของกาเลียจึงเป็นแหล่งรองรับของเสียจากบ้านเรือนและสารเคมีเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร อาจมีผลต่อเนื่องทำให้คุณภาพน้ำลดลงและมีผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์น้ำที่อาศัยในบริเวณนี้ จากการสำรวจของนักวิจัยพบว่าในแม่น้ำของกาเลียมีหอยน้ำจืดหลากหลายชนิด มีอยู่จำนวนมากและง่ายต่อการเก็บตัวอย่าง โดยเฉพาะหอยกาบแหลม (*Ensisidens ingallsianus ingallsianus*) ซึ่งจัดเป็นหอยสองฝา ในวงศ์ Unionidae และเป็นหอยเศรษฐกิจในฐานะแหล่งโปรตีนที่สำคัญของประชากรในอำเภอสังขละบุรี หอยกาบแหลมมีรูปร่างยาวรีคล้ายลิ้ม ด้านหน้ากลมมน ด้านท้ายเรียวแหลม ผิวเปลือกเรียบ สีเขียวอมน้ำตาลหรือน้ำตาล อัมโบ (umbo) โป่งออกค่อนไปทางปลายด้านหน้า และมักสีกร่อน เปลือกด้านในเป็นมุกสีขาว มีความแวววาว (Nakjinda *et al.*, 2005) จากข้อมูลการศึกษาหอยกาบแหลมในประเทศไทย Jivaluk *et al.* (2007) รายงานว่าหอยกาบแหลมที่พบมีความยาว ความสูง และความหนาของเปลือกในช่วง 1.7–7.2, 0.7–2.9 และ 0.4–2.4

เซนติเมตร แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานถึงขนาดช่วงสืบพันธุ์ ดังนั้นในการศึกษาค้างนี้จึงเลือกหอยกาบแหลมที่อาศัยในแม่น้ำของกาเลีย ช่วงที่ไหลผ่านสะพานมอญ อำเภอสังขละบุรี ประเทศไทย เพื่อศึกษาจุลกายวิภาคและประเมินสุขภาพของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ด้วยการใช้จุลกายพยาธิวิทยาของหอยมาเป็นตัววัดทางชีวภาพ

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่างหอยกาบแหลมและพื้นที่ศึกษา

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยกาบแหลมถูกรวบรวมในช่วงฤดูหนาว (เดือนธันวาคม พ.ศ. 2558 ถึง มกราคม พ.ศ. 2559) และ ฤดูแล้ง (เดือนเมษายนถึงมิถุนายน พ.ศ. 2559) จากบริเวณแม่น้ำของกาเลีย ช่วงที่ไหลผ่านสะพานมอญ อำเภอสังขละบุรี ประเทศไทย ($15^{\circ} 8'41.87''\text{N}$ $98^{\circ}26'42.77''\text{E}$) (จำนวนรวม 40 ตัว ต่อฤดูกาล (เพศละ 10 ตัว) และมีขนาดความยาวเปลือกอยู่ในช่วง 4-8 เซนติเมตร) หลังจากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดมาสลับด้วยการแช่น้ำแข็ง (rapid cooling method) (Wilson *et al.*, 2006) และทำการแกะเนื้อเยื่อหอยออกจากเปลือก เพื่อนำมาศึกษาจุลกายวิภาคและความผิดปกติของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ภายใต้กล้องสเตอริโอ หลังจากนั้นนำตัวอย่างนำมาเก็บรักษาสภาพเนื้อเยื่อในน้ำยาเดวิดสัน (Davidson's fixative) ประมาณ 48 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิห้อง

การศึกษาทางด้านมีนุชวิทยา

นำตัวอย่างหอยกาบแหลม (fixed tissue) มาผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างสไลด์ถาวรด้วยวิธี paraffin method ตามหลักการมาตรฐานทางด้านมีนุชวิทยา (Presnell and Schreiber, 1997; Suvarna *et al.*, 2013) หลังจากนั้นนำบล็อกมาตัดบางด้วยความหนา 4 ไมโครเมตร และนำมาย้อมสี periodic acid-schiff (PAS) และ Masson's trichrome (MT) ทำยาสีได้น้ำสไลด์เนื้อเยื่อหอยกาบมาวิเคราะห์ตำแหน่ง โครงสร้าง จุลกายวิภาคและความผิดปกติที่เกิดขึ้นในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง บันทึกภาพและวัดขนาดเซลล์สืบพันธุ์ นอกจากนี้ยังทำการนับจำนวนของไข่ฝ่อ (atretic follicle) (จำนวน 100 เซลล์ จาก 5 แผ่นบาง (20 เซลล์ต่อ 1 แผ่นบาง)) ภายใต้กล้องถ่ายภาพสไลด์รุ่น Leica TE2000-U และคำนวณจำนวนของไข่ฝ่อเป็นเปอร์เซ็นต์

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างหอยกาบแหลมทุกตัวที่เก็บจากฤดูหนาวและฤดูแล้ง อยู่ในช่วงการฤดูสืบพันธุ์ (breeding season) (Figure 1-2) นอกจากนี้การศึกษานี้ยังยืนยันได้ว่าหอยกาบแหลมที่มีความยาวเปลือกช่วง 4-8 เซนติเมตร จัดเป็นช่วงวัยเจริญพันธุ์ โดยรายละเอียดของการจัดเรียงและองค์ประกอบทางด้านจุลกายวิภาคและจุลกายพยาธิวิทยาของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Figures 1-2) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

จุลกายวิภาคและจุลกายพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่ออัณฑะ (histology and histopathology of testicular tissue)

ลักษณะทางกายวิภาคอัณฑะของหอยกาบมีสภาพปกติ โครงสร้างทางด้านจุลกายวิภาคอัณฑะประกอบด้วยโครงสร้างคล้ายถุง หรือที่เรียกว่า อซินาร์ (acinar) จำนวนมากที่มีเนื้อเยื่อไขมันแทรกอยู่ (Figures 1A-1B) แต่ละถุงประกอบด้วยกลุ่มของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่มีการพัฒนาอยู่หลายระยะและสามารถแบ่งกระบวนการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ได้ 5 ระยะ คือ สเปอริมาโทโกเนียม, ไพรมารี สเปอริมาโทไซต์, เซคันดารี สเปอริมาโทไซท์, สเปอริมาทิด และ สเปอริมาโทซูน (Figure 1C) คล้ายคลึงกับระยะการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของหอยกาบน้ำจืด *Margaritifera margaritifera* (Smith, 1980), หอยกาบน้ำเค็ม *Ostrea edulis* (Loosanoff, 1962), หอย *Spisula solidissima* (Ropes, 1968) และหอยกาบน้ำจืด *Prisodon alatus* (Matos *et al.*, 1998) แต่ละระยะมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

สเปอริมาโทโกเนียม (spermatogonium) เป็นเซลล์ที่พบในบริเวณฐานของถุงอซินาร์และแนบชิดกับเบสเมมเบรน (basement membrane) จัดเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด (ขนาดเฉลี่ย 10 ไมโครเมตร) ลักษณะเด่นของระยะนี้คือ เซลล์และนิวเคลียสมีรูปร่างกลม ติดสีน้ำเงินอ่อน และถูกล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึมสีชมพูจาง (Figure 1C)

ไพรมารีสเปอริมาโทไซต์ (primary spermatocyte) เซลล์ระยะนี้มีขนาดเล็กกว่าสเปอริมาโทโกเนียม เนื่องจากเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (ขนาดเฉลี่ย 8 ไมโครเมตร) นิวเคลียสติดสีเข้ม บางเซลล์สังเกตเห็นโครมาตินชัดเจนและมักอยู่รวมกันใกล้กับเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Figure 1C)

เซคันดารี สเปอริมาโทไซท์ (secondary spermatocyte) มีรูปร่างกลมและมีขนาดเล็กกว่าระยะ primary spermatocyte (ขนาดเฉลี่ย 6 ไมโครเมตร) เนื่องจากเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) และยื่นเข้าไปในลูเมนมากขึ้น ภายในนิวเคลียสประกอบด้วยโครมาตินที่ติดสีเบสกระจายอยู่เต็มเซลล์ไซโตพลาสซึมมีปริมาณลดลง

สเปอริมาทิด (spermatid) เซลล์ระยะนี้เกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของ secondary spermatocytes ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลงอย่างชัดเจน โครมาตินภายในนิวเคลียสกลมชัดเจนแนบกับเยื่อหุ้มเซลล์ และถูกล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึมบาง ๆ (Figures 1C-1D)

สเปอริมาโทซูน (spermatozoon) เป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็ก ประกอบด้วยส่วนหัวติดสีเข้มขนาดเฉลี่ย 2 ไมโครเมตรและหางติดสีชมพูอ่อนที่เข้าไปบริเวณตรงกลางของถุง (Figure 1C-1D) หลังจากนั้นสเปอริมาโทซัว (spermatozoa) จากแต่ละถุงรวมกันกลายเป็นท่อนำสุจิ (germinal duct หรือ gonadal duct) โดยท่อนำสุจิ

ด้วยเซลล์บุผิวชั้นเดียวเป็นรูปทรงสูงที่มีซิเลีย (simple ciliated columnar epithelium) แต่ละเซลล์เยื่อมีนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินจาง (Figures 1E-1F)

เมื่อทำการศึกษากายพยาธิหรือความผิดปกติพบการหดตัวในระยะสเปอร์มาโทโกเนียมในบางบริเวณของถุงอซินาร์ แต่ไม่มากนัก (Figure 1C)

จุลกายวิภาคและจุลกายพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อรังไข่ (histology and histopathology of ovarian tissue)

ลักษณะทางกายวิภาครังไข่ของหอยกาบแหลมไม่พบความผิดปกติ และเมื่อนำมาศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคพบว่ามีการสร้างคล้ายถุงเรียกว่า ฟอลลิเคิล (follicle) (Figure 2A) แต่ละถุงประกอบด้วยระยะการพัฒนาของเซลล์ไข่หลายระยะคือ ระยะโอโอโกเนียม (oogonium) ระยะก่อนสะสมไข่แดง (previtellogenic stage) ระยะการสะสมไข่แดง (vitellogenic stage) และระยะไข่สุก (mature stage) คล้ายคลึงกับการศึกษาการพัฒนาของเซลล์ไข่ในหอยมุก *Hyriopsis bialatus* (Chatchavalcanich *et al.*, 2006) แต่ละระยะมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ระยะโอโอโกเนียมพบในบริเวณขอบของถุงและแทรกตัวในส่วนเจอร์มินอล (germinal compartment) เซลล์มีขนาดเล็กที่สุด นิวเคลียสติดสีน้ำเงินและภายในประกอบด้วยนิวคลีโอลัส 1 อัน ส่วนของไซโตพลาสซึมติดสีชมพูจาง (Figure 2B)

ระยะก่อนสะสมไข่แดง เซลล์ในระยะนี้มีขนาดเซลล์ใหญ่ขึ้น (ขนาดเฉลี่ย 20 ไมโครเมตร) นิวเคลียสกลมหรือรี ติดสีน้ำเงินอ่อน บริเวณเยื่อหุ้มนิวเคลียสมีการจัดเรียงกันของโครมาทินคล้ายหน้าปัดนาฬิกา (clock face like-structure) ส่วนไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้มขึ้นอย่างชัดเจน เนื่องจากการติดสีเข้มของไมโทคอนเดรียที่มีเป็นจำนวนมากภายในเซลล์ เพื่อควบคุมการทำงานในช่วงการพัฒนาของเซลล์ไข่ (Bielefeld, 1991) และเริ่มปรากฏของชั้นฟอลลิเคิล (follicle layer) รอบเซลล์ไข่

ระยะการสะสมไข่แดง เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น (ขนาดเฉลี่ย 50 ไมโครเมตร) ภายในไซโตพลาสซึมมีการสะสมไข่แดง (yolk granule) ติดสีชมพูเป็นจำนวนมาก (Figure 2B) ตรงกันข้ามกับนิวเคลียสมีขนาดเล็กลงอย่างชัดเจน (ขนาดเฉลี่ย 5 ไมโครเมตร) และเคลื่อนที่ไปทางขอบเซลล์ (Germinal vesicle migration) (Figure 3C) ผนังของเซลล์ไข่พบชั้นฟอลลิเคิลได้อย่างชัดเจน

ระยะไข่สุก เป็นระยะที่มีขนาดเซลล์ใหญ่ที่สุด (ขนาดเฉลี่ย 60 ไมโครเมตร) เนื่องจากมีไข่แดงจำนวนมากและมีขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างไม่แน่นอน (polygonal shape) และไม่พบนิวเคลียสในระยะนี้ (Figures 2B-2D) หลังจากนั้นเซลล์ระยะนี้จะเคลื่อนที่ไปยังท่อนำไข่ (germinal duct) ซึ่งมีเซลล์บุผิวชั้นเดียวเป็นรูปทรงสูงที่มีซิเลีย (Figure 2C)

จากการศึกษากายพยาธิวิทยาของเซลล์ไข่พบได้น้อยมาก แต่ยังพบการเสื่อมและฝ่อของเซลล์ไข่ในระยะสะสมไข่แดงในสองฤดูกาลเฉลี่ยจำนวน 7 เซลล์ไข่ (จากจำนวน 100 เซลล์ คิดเป็น 7 เปอร์เซ็นต์) (Figure 2B)

ถึงแม้ว่าการศึกษารังไข่พบจุลกายพยาธิวิทยาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของหอยกาบแหลมที่อาศัยอยู่แม่น้ำแควน้อยได้น้อยมาก การหดตัวของนิวเคลียสของสเปอร์มาโทโกเนียมในอวัยวะของหอยกาบแหลมจัดเป็นกระบวนการตายของเซลล์ (cell necrosis) และเป็นส่วนหนึ่งของการลดลงของเซลล์สืบพันธุ์ในระยะ

ต่อมา สำหรับการเสื่อมและฝ่อของเซลล์ไข่ถือว่าเป็นเรื่องปกติที่เกิดขึ้นในช่วงสืบพันธุ์ (Leino and Maccormil, 1997) แต่อย่างไรก็ตามการการเกิดอาการดังกล่าวอาจเกี่ยวข้องกับอาหารที่ไม่เหมาะสม, อุณหภูมิต่ำ (Bayne, 1976; Newell, 1989) และมลพิษหลายชนิด เช่น ซีโนไบโอติกและโลหะหนักบางชนิด (Maung and Tyler, 1982; Rasmussen *et al.*, 1983) นอกจากนี้ยังพบว่าของการฝ่อของเซลล์ไข่เพิ่มขึ้นในหอยกาน้ำเค็ม *Mytilus edulis* หลังได้รับสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันที่มีความเข้มข้นสูง (hydrocarbon, high oil เท่ากับ 127.7 ± 28.3) เป็นเวลา 144 วัน (Lowe and Pipe, 1986) จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดการพบจุลกายพยาธิวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์อาจไม่รุนแรง ดังนั้นผู้วิจัยจึงยืนยันเบื้องต้นพบว่าเนื้อเยื่ออวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ยังแสดงให้เห็นถึงสุขภาพของหอยกาน้ำเค็มในขณะนี้มีความสุขภาวะที่ดีและอยู่ภายใต้สิ่งแวดล้อมที่ยังเหมาะสมต่อการดำรงชีวิต

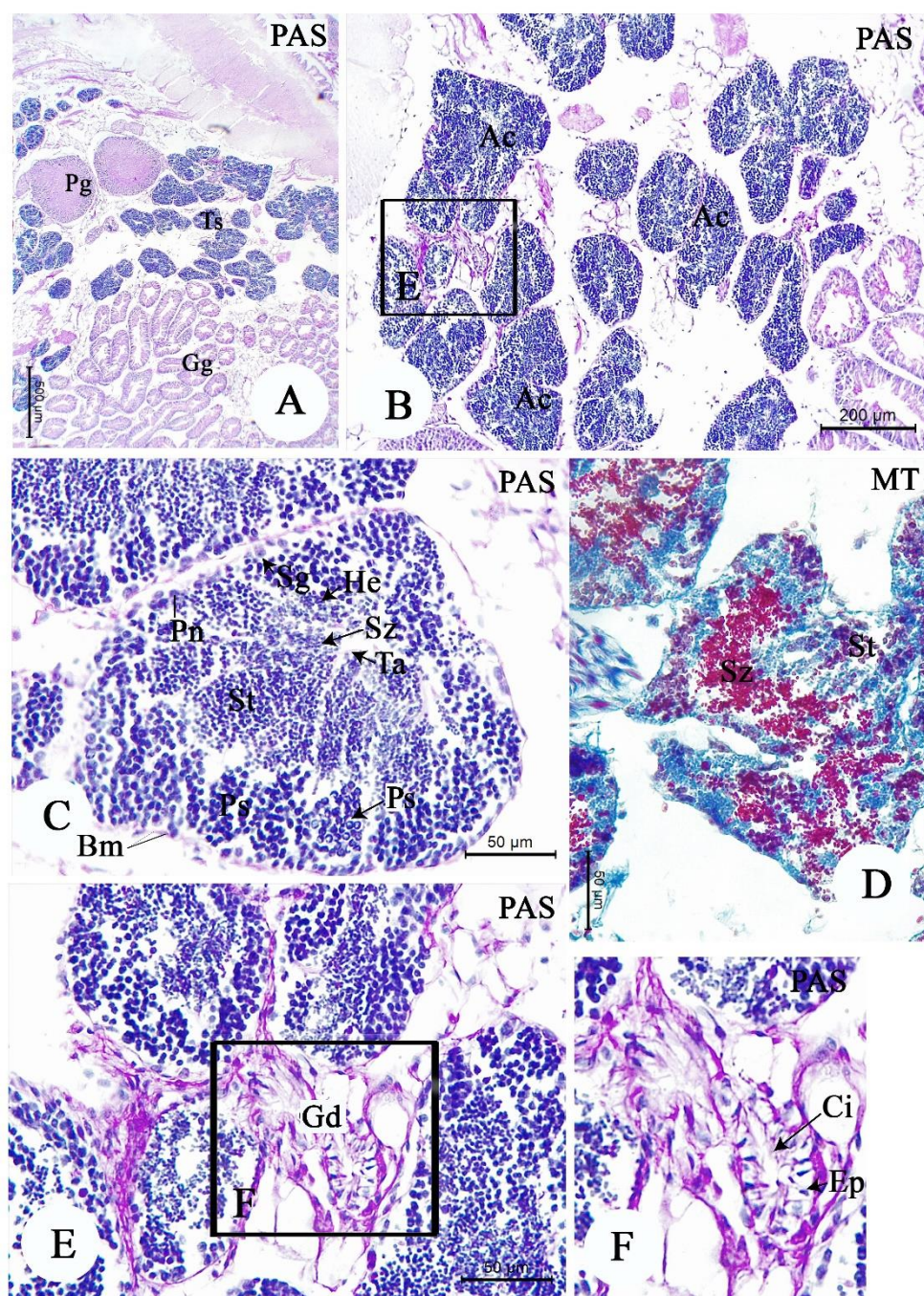


Figure 1 Light microscopic level showing the histological structure of the testicular tissue and spermatogenesis in *Ensidents ingallsianus ingallsianus* (Ac = acini, Bm = basement membrane, Ci = cilia, Ep = epithelium, Gc = germinal duct, Gg = digestive gland, He = head of spermatozoon, Pg = pedal ganglion, Pn = pynotic nuclei, Ps = primary spermatocytes, Sg = spermatogonium, St = spermatids, Sz = spermatozoa, Ta = tail of spermatozoon, Ts = testis) Note: MT = Masson's trichrome, PAS = periodic acid-schiff

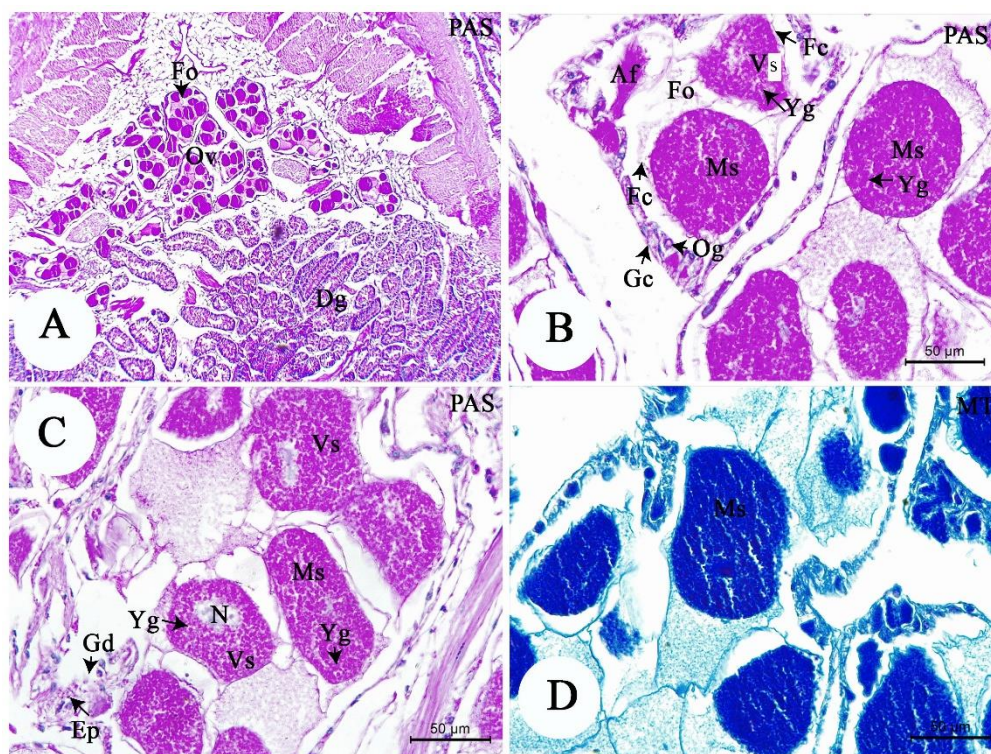


Figure 2 Light microscopic level showing the histological structure of the ovarian tissue and oogenesis in *Ensident ingallsianus ingallsianus* (Af = atretic follicle, Dg = digestive gland, Ep = epithelium, Fc = follicle cell layer, Fo = follicle, Gd = germinal duct, Ms = mature stage, N = nucleus, Og = oogonium, Ov = ovary, Yg = yolk granule, Vs = vitellogenic stage) Note: MT = Masson's trichrome, PAS = periodic acid-schiff

สรุป

งานวิจัยครั้งนี้ได้ตอบคำถามถึงโครงสร้างจุลกายวิภาคและสภาวะของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์เบื้องต้นของหอยกาบแหม่นในแม่น้ำของกาเลีย จังหวัดกาญจนบุรี ด้วยใช้จุลกายพยาธิวิทยาเป็นตัววัดทางชีวภาพ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าหอยกาบแหม่นยังมีสภาวะของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการสร้างตัวอ่อนและดำรงชีวิต นอกจากนี้ผู้วิจัยแนะนำว่าสามารถใช้หอยกาบแหม่นเป็นสัตว์เฝ้าระวังและใช้จุลกายพยาธิวิทยาเป็นตัววัดทางชีวภาพ เพื่อใช้สำหรับการประเมินผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมเบื้องต้นได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการเก็บข้อมูลทางด้านสิ่งแวดล้อมในบริเวณแม่น้ำของกาเลียยังคงต้องมีการติดตามอย่างต่อเนื่องในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ห้องปฏิบัติการไมโครเทคนิค ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกการเตรียมตัวอย่างและถ่ายรูปสไลด์ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- Bayne, B.L. 1976. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: Estuarine Processes., edited by Wiley, M. Academic Press, New York, USA. pp. 432-448.
- Bettin, C., Oehlman, J. and Stroben, E, 1996. TBT-induced imposex in marine neogastropods in mediated by an increasing androgen level. Helgoland Mar. Res. 50: 299-317.
- Bielefeld, U. 1991. Histological observation of gonads and digestive gland in straving *Dreissena polynorpha* (Bivalvia). Malacologia. 33: 31-42.
- Chatchavalcanich, K., Jindamongkon, P., Kovitadhi, U., Thongpan, A. and Kovitvadhi. 2006. Histological structure of gonads in the freshwater pearl mussel, *Hyriopsis* (Hyriopsis) *bialatus* Simpson, 1900. Invertebr. Repr. Dev. 49: 245-253.
- Chesman, B.S. and Langto, W.J. 2006. Intersex in the clam *Scrobicularia plana*: a sign of endocrine disruption in estuaries?. Biol. Lett. 2006 Sep 22: 420-422.
- Dillon, Jr. R.T. 2000. The Ecology of Freshwater Mollusks. UK: Cambridge University Press
- Frame, L. and Dickerson, R.L. 2006. Fish and wildlife as sentinels of environment contamination. In D.O. Norris and J.A. Carr (eds.), Endocrine disruption: biological bases for health effects in wildlife and humans. 202-222. New York: Oxford University Press.
- Gomes, T., Gonzalez-Rey, M. and Bebianno, M.J. 2009. Incidence of intersex in male clams *Scrobicularia plana* in the Guadiana Estuary (Portugal). Ecotoxicology. 18:1104-1109.
- Jacomini, A.E., Bonato, P.S. and Avelar, W.E.P. 2003. HPLC method for the analysis of atrazine in freshwater bivalves. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 60: 452-461.
- Jivaluk, J., Promprasri, P. and Nakjinda, O. 2007. Thai Inland Clam. Research Group on Biological Diversity, Inland Fisheries Resources Research and Development Institute, Inland Fisheries Resources Research and Development Office: Bangkok. 50 p.
- Leino, R.L. and McCormik, J.H., 1997. Reproductive characteristics of the ruffe, *Gymnocephalus cernuus*, in the St. Louis River estuary on western Lake Superior: a histological examination of the ovaries over one annual cycle. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54: 256-263.
- Lowe, V.L. and Pipe, R.K. 1986. Hydrocarbon exposure in mussels: a quantitative study of the responses in the reproductive and nutrient storage cell systems. Aquat. Toxicol. 8: 265-272.
- Loosanoff, V.L. 1962. Gametogenesis and spawning of the European oyster, *Ostrea edulis* in water of Maine. Biol. Bull. 122: 86-95.
- Matos, E., Corral, L. and Azevedo, C. 1998. Fine structure of spermiogenesis with special reference to the spermatid morulae of the freshwater mussel *Prisodon alatus* (Bivalvia, Unionoidea). J. Morph. 238: 63-70.

- Maung, M.U. and Tyler, P.A. 1982. Effects of temperature, nutritive and metal stressors on the reproductive biology of *Mytilus edulis*. Mar. Biol. 67: 209-223.
- Nakjinda, O., Piemthipmanus, M., Jutamas, J., Poonyanok, V. and Tothanabhoka, J. 2005. Benefit Exploitation from Inland Mollusc in Thailand. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Bangkok. 155 p.
- National Research Council (NRC). 1991. Animals as sentinel of environmental health hazards. Washington D.C.: National Academy Press.
- Newell, R.I.E. 1989. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (Northand Mid-Atlantic)—blue mussel. US Fish Wildlife Service for Biology and Reproduction 82 (11.102). US Army CorpsofEngineers, TREL. pp. 82-84.
- Presnell, J.K. and Schreibman, M.P. 1997. Humason's Animal Tissue Techniques. 5th ed. US, Johns Hopkins University Press, 600.
- Rasmussen, L.P.D., Hage, E. and Karlog, O. 1983. Light and electron microscopic studies of the acute chronic toxic effects of N-nitroso compounds on the marine mussel, *Mytilus edulis* (L.). Aquat. Toxicol, 3: 285-299.
- Ropes, J.W. 1968. Reproductive cycle of the surf clam, *Spisula solidissima*, in offshore New Jersey. Biol. Bull. 135: 349-365.
- Smith, D.G. 1980. Sexual characteristics of *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus) populations in Central New England. The Veliger. 21: 381-383.
- Suvarna, K.S., Layton, C. and Bancroft, J.D. 2013. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 7th ed. Canada, Elsevier, 654.
- Taylor, A.M., Edge, K.J., Ubrihien, R.P. and Maher, W. 2017. The freshwater bivalve *Corbicula australis* as a sentinel species for metal toxicity assessment: An in situ case study integrating chemical and biomarker analyses. Environ. Toxicol. Chem. 36: 709-719.
- Uno, S., Shiraishi, H., Hatakeyama, S., Otsuki, A. and Koyama. 2001. Accumulation characteristics of pesticide residuals in organs of bivalves (*Anodonta woodiana* and *Corbicula leana*) under natural condition. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40: 35-47.
- Wilson, J.M., Bunte, R.M., Carty, A.J. 2009. Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS 222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*). Journal of the American Association for Laboratory Animal Science 48: 785-789.
- Won, S.J., Novillo, A., Custodia, N., Rie, M.T., Fitzgerald, K., Osada, M. and Callard, I.P. 2005. The freshwater mussel (*Elliptio complanata*) as a sentinel species: Vitellogenin and steroid receptors. Integr. Comp. Biol. 45: 72-80.

รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของปลานวลจันทร์เทศ (*Cirrhinus cirrhosus*, Cyprinidae) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบซิลเวอร์นอร์

First Cytogenetic Report of Mrigal Carp (*Cirrhinus cirrhosus*, Cyprinidae)

by Conventional Staining and Ag-NOR banding

ประวีรณ สุพรรณอ่วม^{1*}, เจนจิรา มหา¹, สุขยา วิริยะการุณย์¹, ศิวพร หอมหวล¹ และปริญญ์ มุลสิน¹

Praween Supanuam^{1*}, Jenjira Maha¹, Suchaya Wiriyagaroon¹, Siwaporn Homhaun¹ and Parinya Moonsin¹

¹สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี 34000

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

*Corresponding author, E-mail: supanuam@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของปลานวลจันทร์เทศ (*Cirrhinus cirrhosus*) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดาและการย้อมแถบซิลเวอร์นอร์ โดยเตรียมโครโมโซมจากไตและเหงือกของตัวอย่างปลาเพศผู้ 10 ตัว และเพศเมีย 10 ตัว จากอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี จากนั้นย้อมสีโครโมโซมด้วยสีจีมีซาและซิลเวอร์ไนเตรต ผลการศึกษาพบว่าปลานวลจันทร์เทศมีโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 72 โครโมโซมประกอบด้วยชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ 12 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลาง 10 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลาง 14 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็ก 6 แท่ง ไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศ นอกจากนี้พบตำแหน่งนอร์บนแขนข้างยาวใกล้กับบริเวณเทโลเมียร์ของโครโมโซมคู่ที่ 6 และสูตรแคริโอไทป์ของปลานวลจันทร์เทศแสดงได้ดังนี้

$$2n (50) = L_{12}^{sm} + L_8^t + M_{10}^m + M_{14}^t + S_6^t$$

คำสำคัญ: ปลานวลจันทร์เทศ แคริโอไทป์ นอร์

Abstract

This study was the first cytogenetic study of mrigal carp (*Cirrhinus cirrhosus*) by conventional staining and Ag-NOR banding. Fish chromosome preparation was conducted by squash technique. Gill and kidney tissues were taken from ten male and ten female fish from Muang district, Ubon Ratchathani province. The metaphase spreads were performed on microscopic slide and air-dried. Giemsa staining and Ag-NOR banding techniques were applied to stain the chromosome. Results showed that the diploid chromosomes number of *C. cirrhosus* was $2n=50$, the fundamental numbers (NF) was 72 in both male and female. The type of chromosomes can be defined as 12 large submetacentric, 8 large telocentric, 10 medium metacentric, 14 medium telocentric and 6 small telocentric chromosomes. There were no strange size chromosomes related to sex. The long arm

near telomere of chromosome pair 6 showed clearly observable nucleolar organizer regions (NORs). The karyotype formula of *C. cirrhosus* was as follows:

$$2n (50) = L_{12}^{sm} + L_8^t + M_{10}^m + M_{14}^t + S_6^t$$

Key words: *Cirrhinus cirrhosus*, Karyotype, NORs

Introduction

The genus *Cirrhinus* is native to freshwater in South Asia, Indochina and southern China. There are about 11 species including *C. caudimaculatus*, *C. cirrhosis*, *C. fulungee*, *C. inornatus*, *C. jullieni*, *C. macrops*, *C. microlepis*, *C. molitorella*, *C. mrigala*, *C. reba* and *C. rubirostris*. In Thailand, there are 5 species of this genus i.e. *C. caudimaculatus*, *C. cirrhosis*, *C. jullieni*, *C. microlepis* and *C. molitorella* (Roberts, 1997; Menon, 1999; Kottelat, 2001).

Mrigal carp (*Cirrhinus cirrhosus*) is a species of ray-finned fish in the family Cyprinidae. This fish distribution is a native to streams and rivers in India but it has been introduced to many countries in Southeast Asia such as Myanmar, Thailand, Laos and Cambodia. The IUCN (International Union for Conservation of Nature) evaluated this fish as vulnerable (Roberts, 1997; Kottelat, 2001).

The cytogenetic study of the genus *Cirrhinus* has been reported from 6 species including *C. caudimaculatus*, *C. jullieni*, *C. microlepis*, *C. mrigala*, *C. reba* and *C. molitorella* (Manna and Khuda-Bukhsh, 1977; Wu *et al.*, 1989; Zhang and Reddy, 1991; Magtoon and Arai, 1993; Ren and Yu, 1993; Donsakul and Magtoon, 1997; Nangpure *et al.*, 2001; Donsakul *et al.*, 2007; Biswal *et al.*, 2008; Saravanan *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2013; Bhatnagar *et al.*, 2014; Nadini *et al.*, 2014; Neeru *et al.*, 2018). However, the cytogenetics study of this *C. cirrhosus* is inadequate.

The present study aimed for a cytogenetic analysis of *C. cirrhosus*. From the present study, we exhibited the standardization of karyotype and idiogram. This report described the first chromosome staining by conventional staining and Ag-NOR banding techniques in this species. The Ag-NOR banding technique is to reach out the NORs which is the representative location of genes (loci) that function in ribosome synthesis (18S and 28S ribosomal RNA) (Sobit *et al.*, 2002). The NORs could be used to distinguish species with similar karyotypes. The obtained results can provide more cytogenetic information for future studies on taxonomy and evolutionary relationships of this genus and family. Moreover, it provides useful basic information for the conservation and breeding practices. Cytogenetics can provide invaluable insight for the management of threatened species. Matings between individuals characterized by different cytotypes can result in perinatal mortality or,

at a later stage, in reduced fertility of offspring heterozygous for chromosomal rearrangements (Potter and Daekin, 2018).

Materials and Methods

The study of standardized karyotype and idiogram by conventional staining and Ag-NOR banding of mrigal carp (*C. cirrhosus*) was divided into 4 steps including the fish chromosome preparation, chromosome counting, chromosome measuring and chromosome analysis.

1. Fish chromosome preparation: The 10 males and 10 females of *C. cirrhosus* were collected from natural area from Muang district, Ubon Ratchathani, Thailand. The samples were checked by identification key, Roberts (1997) and Kottelat (2001). Chromosome preparation was conducted by the colchicine-hypotonic-fixation-air drying technique, from gill filaments and kidney tissues. The chromosomes were stained with 20% Giemsa staining solution for 30 min and identified for NORs by Ag-NOR staining according to Howell and Black (1980) and Verma and Babu (1995).

2. Chromosome counting: Many pictures of the chromosomes in metaphase cells were taken for counting the number of chromosomes. Twenty metaphase cells of each male and female were measured for length of short arm (Ls) and long arm (LI) chromosomes.

3. Chromosome measuring: The Ls and LI were measured and calculated for the length of total arm chromosomes (LT, $LT=Ls+LI$). Relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) were also calculated. The CI was also computed to classify the shape of chromosomes, respectively according to Chaiyasut (1989) and Tanomtong (2011). All parameters were used in standardized karyotyping and idiogramming.

4. Chromosome analysis: In karyotype formula, the size and type of chromosome were classified, which the symbol "L, M and S" represented large, medium and small chromosomes, respectively. The symbol "m, sm, a and t" represented metacentric, submetacentric, acrocentric and telocentric type of chromosomes, respectively. The fundamental number (NF) was obtained by assigning a value of two to metacentric, submetacentric and acrocentric chromosomes and one to telocentric chromosome.

Results

The general character of mrigal carp (*C. cirrhosus*) is shown on Figure 1. The body is elongated and streamlined or laterally compressed. Dorsal profile is more convex than that of abdomen. Ventral profile is slightly convex. There are grayish or greenish color on the back and silvery at the sides and below. Fins are slightly orange colored in larger specimen. Lateral line is present and complete with about 39-46 scales.

This is the first report on *C. cirrhosus* cytogenetics study. The results revealed the diploid number was 50 and the fundamental number was 72 in both male and female. The type of chromosomes can be defined as 12 large submetacentric, 8 large telocentric, 10 medium metacentric, 14 medium telocentric and 6 small telocentric chromosomes (Table 1). No heteromorphic chromosomes indication sex chromosomes were detected (Figure 2 and 3). Twenty metaphase cells of each male and female were used for Ls, LI, LT, CI, RL, SD, chromosome sizes and types analysis as shown on Table 1. This species has NOR on telomeric region of chromosome pair 6 (Figure 3). The standardized idiogram of *C. cirrhosus* was shown on Figure 5. The karyotype formula can be deduced as: $2n (50) = L_{12}^{sm} + L_8^t + M_{10}^m + M_{14}^t + S_6^t$

Discussion

The cytogenetic studies have been firstly performed on *C. cirrhosus* from Thailand. The results showed that $2n=50$, which is the same as other species on this genus (Table 2). The chromosomal data on *C. reba* was reported earlier by Manna and Khuda-Bukhsh (1977) with $2n=48$ but all later publications on this genus which reported the diploid number is $2n=50$. This may cause by different fish sample or technical error. The NF of *Cirrhinus* genus varied from 70 to 90 (Wu *et al.*, 1989; Zhang and Reddy, 1991; Ren and Yu, 1993; Donsakul and Magtoon, 1997; Nangpure *et al.*, 2001; Donsakul *et al.*, 2007; Biswal *et al.*, 2008; Saravanan *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2013; Bhatnagar *et al.*, 2014; Nadini *et al.*, 2014; Neeru *et al.*, 2018). The NF of *C. cirrhosus* was 72 which similar to *C. mrigala* and *C. caudimaculatus* (Magtoon and Arai, 1993; Donsakul *et al.*, 2007).

The autosome type of *C. cirrhosus* were 12 large submetacentric, 8 large telocentric, 10 medium metacentric, 14 medium telocentric and 6 small telocentric chromosomes. The types of autosome were not related to previous reports (Manna and Khuda-Bukhsh, 1977; Wu *et al.*, 1989; Zhang and Reddy, 1991; Magtoon and Arai, 1993; Ren and Yu, 1993; Donsakul and Magtoon, 1997; Nangpure *et al.*, 2001; Donsakul *et al.*, 2007; Biswal *et al.*, 2008; Saravanan *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2013; Bhatnagar *et al.*, 2014; Nadini *et al.*, 2014; Neeru *et al.*, 2018). The cause of different type of chromosome may be genetic variation between species and populations (Tanomtong, 2011).

No sex chromosomes could be found in the form of heteromorphic pair in the *C. cirrhosus*. Also, the sex chromosome dimorphism was not found in this genus. However, the sex chromosome determination of both XY/XX system and ZZ/ZW system were found in some species of cyprinid fishes. The cyprinid fishes such as, *Acheilognathus cyanostigma*, *A. rhombeus*, *A. tabira*, *Danio rerio*, *Leuciscus aula*, *L. cephalus*, *L. carolitertii*, *L. pyrenaicus*, *L. souffia*, *Rhodeus uyekii*, *Scardinius erythrophthalm*, *Tanakia lanceolate* and *T. limbata* has ZZ/ZW sex determination system (Koehler *et*

al., 1995; Collares-Pereira *et al.*, 1998; Sharma *et al.*, 1998; Kawamura and Hosoya, 2000). However, the XY/XX system was found in *Onychostoma alticorpus* and *O. barbatulum* (Han *et al.*, 2017: online).

From the result, *C. cirrhosus* had the positive Ag-NOR marks on a single pair of homologous chromosomes. The telomeric NOR on the long arm of a pair of the large submetacentric chromosome pair (the sixth pair) was observed. The result showed similarity with *C. mrigala* (Magtoon and Arai, 1993; Nangpure *et al.*, 2001; Neeru, 2014; Neeru *et al.*, 2018).

Acknowledgements

This work was supported by research grants (revenue budget, 2018) from Research and Development Institute, Ubon Ratchathani Rajabhat University.

References

- Bhatnagar, A., Yadav, A.S. and Neeru, K. 2014. Karyomorphology of three Indian major carps from Haryana, India. *Journal of Fisheries Sciences*. 8: 95-103.
- Biswal, J. R., Sahoo, P. K. and Mohanty, P. K. 2008. Chromosomal studies on four cyprinid fishes. *Journal of Aquaculture*. 16: 39-44.
- Chaiyasut, K. 1989. Cytogenetics and Cytotaxonomy of the Genus *Zephyranthes*. Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University. Bangkok. 260 pp. [in Thai]
- Collares-Pereira, M. J., Próspero, M. I., Bileu, R. I. and Rodrigues, E. M. 1998. *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) karyotypes: transect of Portuguese populations. *Genetics and Molecular Biology*. 21: 63-69.
- Donsakul, T. and Magtoon, W. 1997. A chromosome study of *Cirrhinus microlepis*, *Labeo dyocheilus*, *Labiobarbus siamensis* and *Barbonymus gonionotus* from Thailand. *Srinakharinwirot Science Journal*. 13: 30-42. [in Thai]
- Donsakul, T., Rangsiruji, A. and Magtoon, W. 2007. Karyotypes of four cyprinid fishes: *Poropuntius normani*, *Hypsibarbus malcolmi*, *Scaphognathops bandanensis* and *Henicorhynchus caudiguttatus* from Thailand. *Proceedings of 45th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries*. Bangkok, Jan 30 - Feb 1, 2007. 740-748. [in Thai]
- Han, C.C., Yen, T.B., Chen, N.C. and Tseng, M.C. 2017. Cytogenetics of two *Onychostoma* species in Taiwan by Ag-NOR and 18S rDNA profiles. *Zoological Studies*. 56:doi:10.6620/ZS.2017.56-25.
- Howell, W.M. and Black, D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*. 36: 1014-1015.

- Kawamura, K. and Hosoya, K. 2000. Masculinization mechanism of hybrids in bitterling (Teleostei: Cyprinidae). The American Genetic Association. 91: 464-473.
- Koehler, M.R., Neuhaus, D., Engel, W., Scharl, M. and Schmid, M. 1995. Evidence for an unusual ZW/ZW'/ZZ sex-chromosome system in *Scardinius erythrophthalmus* (Pisces, Cyprinidae), as detected by cytogenetic and H-Y antigen analyses. Cytogenetics and Cell Genetics. 71: 356-362.
- Kottelat, M. 2001. Fishes of Laos. WHT Publications, Sri Lanka. 198 pp.
- Magtoon, W. and Arai, R. 1993. Karyotypes and distribution of nucleolus organizer regions in cyprinid fishes from Thailand. Japanese Journal of Ichthyology. 40: 77-85.
- Manna, G.K. and Khuda-Bukhsh, R. 1977. Chromosome analysis in five species of freshwater fishes. Nucleus. 20: 264-271.
- Menon, A. G. K. 1999. Check List Fresh Water Fishes of India. Zoological Survey of India, Calcutta. 366 pp.
- Nadini, S., Arockia, R. J. J. and Sharmila, G. 2014. Karyomorphology of two major carps, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) Buchanan (mrigal) and *Hypophthalmichthys molitrix valenciennes* (silver carp). The International Journal of Science and Technology. 2: 19-25.
- Nagpure, N. S., Kushwaha, B., Srivastava, S. K. and Ponniah, A. G. 2001. Comparative cytogenetic studies in Indian major carps *Labeo rohita*, *Catla catla* and *Cirrhinus mrigala* (Cyprinidae, Pisces). Chromosome Science. 5: 153-158.
- Neeru, K. 2014. A study of Fish Biodiversity and Karyology of Commercially Important Fish Species of Haryana. Thesis in Doctor Philosophy of Science, Kurukshetra University, Haryana.
- Neeru, K. Bhatnagar, A. and Yadav, A. S. 2018. A study of constitutive heterochromatin and NOR banding in three species of Indian major carps from the State of Haryana, India. Journal of Applied and Natural Science. 10: 535-539.
- Potter, S. and Deakin, J. E. 2018. Cytogenetics: an important inclusion in the conservation genetics toolbox. Pacific Conservation Biology. 24: 280-288.
- Ren, X. and Yu, X. 1993. Characterization of nucleolar organizer regions of twelve species of Chinese cyprinid fishes. Caryologia. 46: 201-207.
- Roberts, T. R. 1997. Systematic revision of the tropical Asian labeon cyprinid fish genus *Cirrhinus*, with descriptions of new species and biological observations on *C. lobatus*. Natural History Bulletin of the Siam Society. 45:171-203.
- Saravanan, K., Veeraiyan, G., Sudarsanam, D. and Praveena, P. 2012. Impact of effluent chromium on chromosomology of *Cirrhinus mrigala*. 4: 234-244.

- Sharma, K. K. , Sharma, O. P. and Tripathi, N. K. 1998. Female heterogamety in *Danio rerio* (Cypriniformes: Cyprinidae). Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B, Biological Sciences. 68: 123-126.
- Sobit, R. C. , Obe, G. and Athwal. 2002. Some Aspects of Chromosome Structure and Functions. Narosa Publishing House. New Delhi. 238 pp.
- Tanomtong, A. 2011. Cytogenetics. Khon Kaen University Press. Khon Kaen. 387 pp. [in Thai]
- Verma, R.S. and Babu, A. 1995. Human Chromosomes Principles and Techniques. 2nd ed. McGraw-Hill Inc. New York. 419 pp.
- Wu, G., Chen, K., Lou, J., Xian, C. and Min, L. 1989. Comparison of karyotypes of *Cirrhinus molitorella*, *Cirrhinus mrigala*, *Labeo rohita*. Journal of Fisheries of China. 13: 259-263. [in Chinese]
- Yadav, A.S., Bhatnagar, A. and Kaur, A. 2013. Aberrations in the Chromosomes of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) upon Exposure to Butachlor. Iranian Journal of Toxicology. 7: 858-865.
- Zhang, S.M. and Reddy, P.V.G.K. 1991. On the comparative karyomorphology of three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton) *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). Aquaculture. 97: 7-12.



Figure 1 General characteristics of mrigal carp, *Cirrhinus cirrhosus* (Cyprinidae) from Muang district, Ubon Ratchathani (Scale bars = 2 cm).

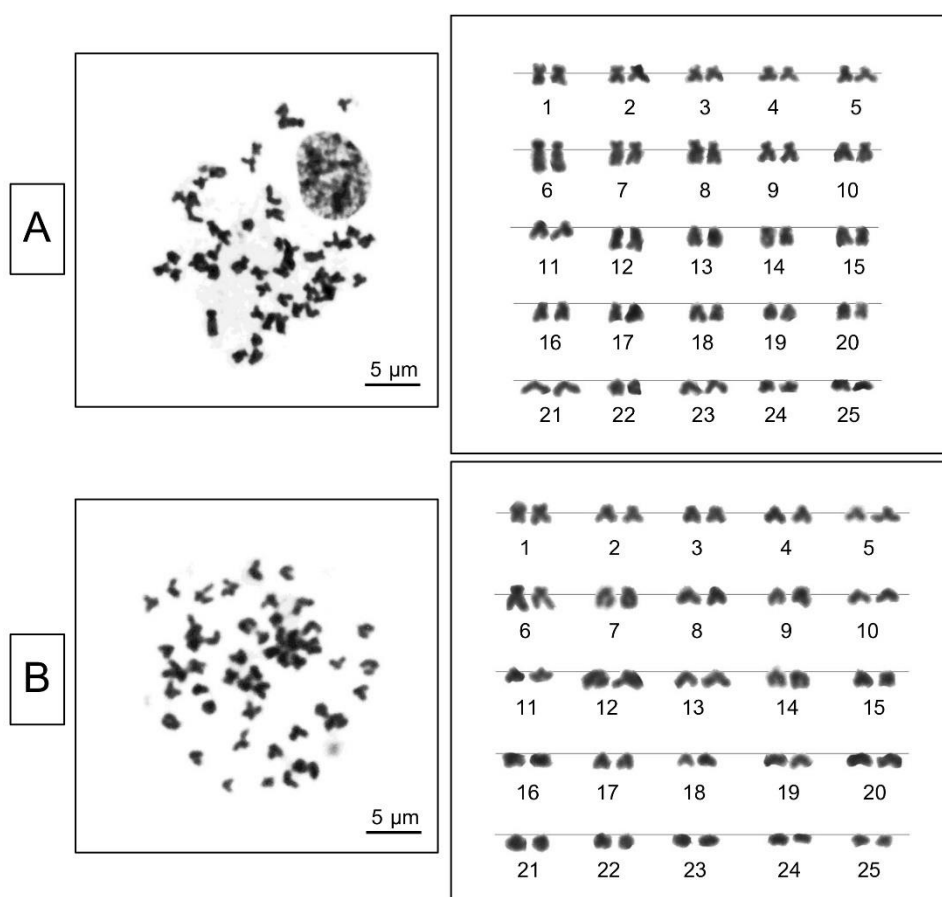


Figure 2 Metaphase plates and standardized karyotypes of male (A) and female (B) mrigal carp, (*C. cirrhosus*) $2n=50$ by conventional staining (Scale bars = 5 μm).

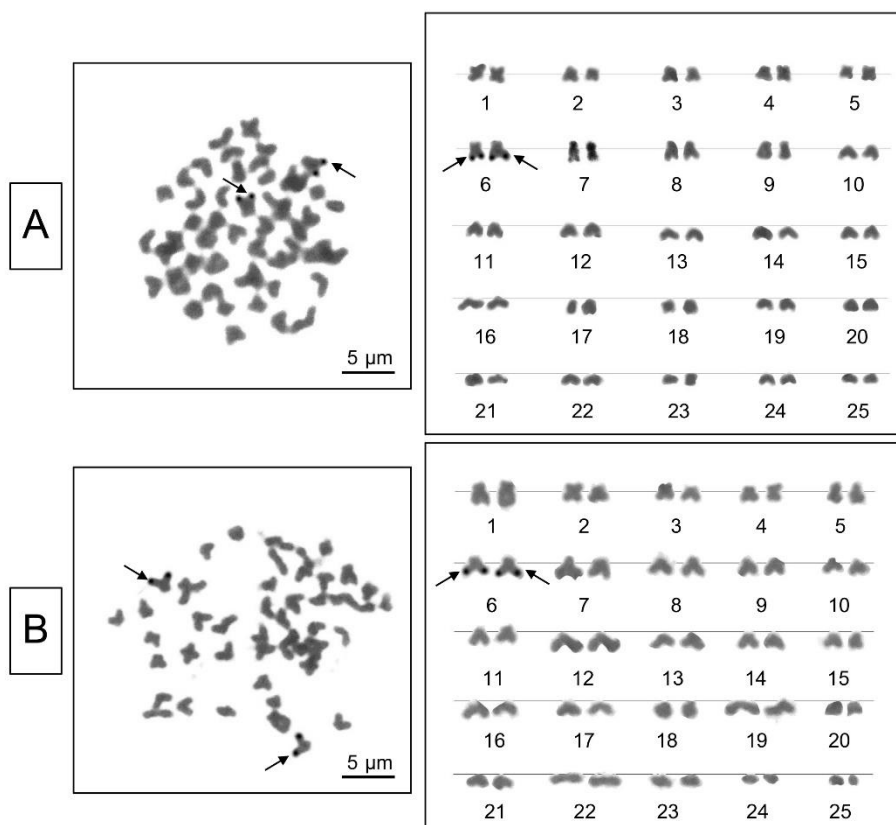


Figure 3 Metaphase plates and standardized karyotypes of male (A) and female (B) mrigal carp, (*C. cirrhosus*) $2n=50$ by Ag-NOR banding, arrows indicate nucleolar organizer regions (Scale bars = 5 μ m).

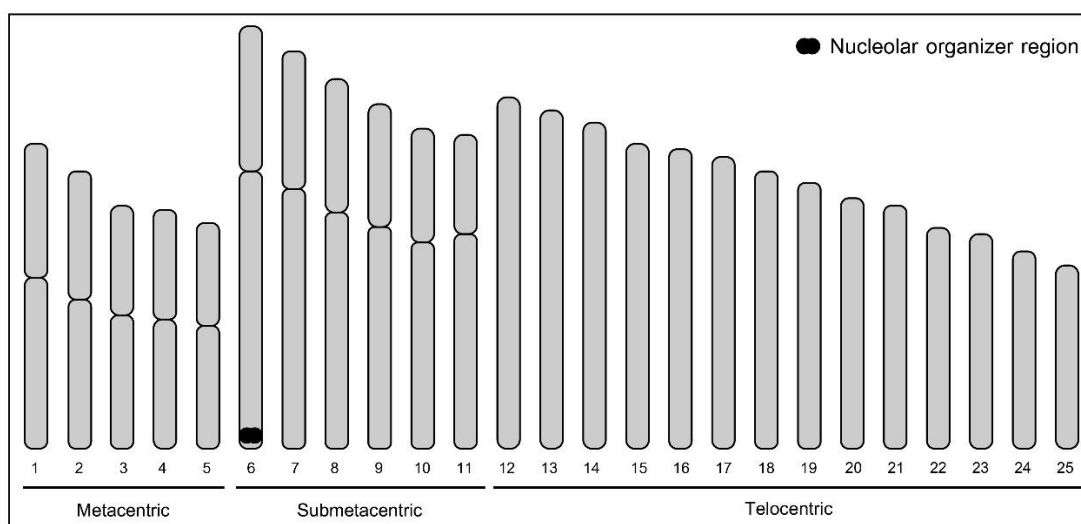


Figure 4 Standardized idiogram of mrigal carp, (*C. cirrhosus*) $2n=50$ by Ag-NOR banding.

Table 1 Mean length of short arm chromosome (Ls), long arm chromosome (LI), total arm chromosome (LT), centromeric index (CI), relative length (RL) and standard deviation (SD) of CI, RL from 40 karyotypes of male and female mrigal carp, (*C. cirrhosus*), 2n=50.

Chromosome pair	Ls (μm)	LI (μm)	LT (μm)	RL±SD	CI±SD	Chromosome size	Chromosome type
1	0.87	1.10	1.97	0.041±0.009	0.559±0.037	Medium	Metacentric
2	0.85	1.01	1.86	0.038±0.009	0.541±0.031	Medium	Metacentric
3	0.71	0.86	1.57	0.032±0.007	0.549±0.036	Medium	Metacentric
4	0.68	0.85	1.53	0.032±0.007	0.557±0.025	Medium	Metacentric
5	0.65	0.79	1.45	0.040±0.007	0.548±0.035	Medium	Metacentric
6	0.99	1.88	2.87	0.059±0.012	0.655±0.028	Large	Submetacentric
7	0.94	1.77	2.71	0.056±0.009	0.653±0.026	Large	Submetacentric
8	0.91	1.60	2.51	0.052±0.008	0.637±0.030	Large	Submetacentric
9	0.79	1.53	2.32	0.048±0.006	0.659±0.026	Large	Submetacentric
10	0.74	1.40	2.14	0.044±0.005	0.654±0.029	Large	Submetacentric
11	0.71	1.43	2.14	0.044±0.005	0.668±0.029	Large	Submetacentric
12	0.00	2.39	2.39	0.049±0.005	1.000±0.000	Large	Telocentric
13	0.00	2.27	2.27	0.047±0.002	1.000±0.000	Large	Telocentric
14	0.00	2.19	2.19	0.045±0.003	1.000±0.000	Large	Telocentric
15	0.00	2.05	2.05	0.042±0.005	1.000±0.000	Large	Telocentric
16	0.00	2.03	2.03	0.042±0.003	1.000±0.000	Medium	Telocentric
17	0.00	1.97	1.97	0.041±0.004	1.000±0.000	Medium	Telocentric
18	0.00	1.85	1.85	0.038±0.005	1.000±0.000	Medium	Telocentric
19	0.00	1.80	1.80	0.037±0.006	1.000±0.000	Medium	Telocentric
20	0.00	1.68	1.68	0.035±0.004	1.000±0.000	Medium	Telocentric
21	0.00	1.62	1.62	0.033±0.003	1.000±0.000	Medium	Telocentric
22	0.00	1.48	1.48	0.031±0.003	1.000±0.000	Medium	Telocentric
23	0.00	1.41	1.41	0.029±0.003	1.000±0.000	Small	Telocentric
24	0.00	1.38	1.38	0.029±0.005	1.000±0.000	Small	Telocentric
25	0.00	1.21	1.21	0.025±0.004	1.000±0.000	Small	Telocentric

Table 2 Cytogenetic publications of the genus *Cirrhinus*

Species	2n	NF	Chromosome type				NOR position	Reference
			m	sm	a	t		
<i>C. reba</i>	48	86	36	2	6	4	-	Manna and Khuda-Bukhsh (1977)
	50	90	18	22	-	10	-	Wu <i>et al.</i> (1989)
	50	-	8	10	6	26	-	Biswal <i>et al.</i> (2008)
<i>C. mrigala</i>	50	76	10	16	16	12	-	Wu <i>et al.</i> (1989)
	50	80	12	18	10	10	-	Zhang and Reddy (1991)
	50	72	10	12	10	18	6q	Magtoon and Arai (1993)
	50	86	12	18	6	14	1 pair (q)	Nangpure <i>et al.</i> (2001)
	50	-	18	12	6	14	-	Saravanan <i>et al.</i> (2012)
	50	80	30	-	-	20	-	Yadav <i>et al.</i> (2013)
	50	70	6	6	8	30	-	Bhatnagar <i>et al.</i> (2014)
	50	-	8	26	-	16	-	Nadini <i>et al.</i> (2014)
	50	-	6	8	22	14	8q	Neeru (2014); Neeru <i>et al.</i> (2018)
<i>C. jullieni</i>	50	90	26	14	4	6	23p	Magtoon and Arai (1993)
<i>C. molitorella</i>	50	-	16	24	10	-	21, 23	Ren and Yu (1993)
<i>C. microlepis</i>	50	80	22	8	8	12	-	Donsakul and Magtoon (1997)
<i>C. caudimaculatus</i>	50	72	12	10	2	26	-	Donsakul <i>et al.</i> (2007)
<i>C. cirrhosus</i>	50	72	10	12	-	28	6q	This study

Remarks: 2n = diploid chromosome, NF = fundamental number, m = metacentric chromosome, sm = submetacentric chromosome, a = acrocentric chromosome, t = telocentric chromosome, p = short arm, q = long arm and - = not available.

ปรสิตภายนอกของปลานิลเลี้ยงในกระชังช่วงฤดูร้อนบริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราช

External parasites of cage-cultured tilapia (*Oreochromis niloticus* Lnn.)
in dry season at Tapi river in Nakhon Si Thammarat province

สุไพล์หมาน หมาดโหยด¹ สุภาพร หนูชู¹ สุรินทร์ บุญรอด¹ และสุวรรณา หมาดโหยด²

Sulaiman Madyod¹ Supaporn Hnuch¹ Surinthon Bunrod¹ and Suwanna Madyod²

¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดนครศรีธรรมราช 80240

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

¹Faculty of Veterinary Science, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhonsithammarat

²Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhonsithammarat

Corresponding author: sulaiman.m@rmutsv.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายของปรสิตภายนอกที่พบในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำตาปี ในพื้นที่ตำบลนาเกาะ อำเภอนาโยง จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยสุ่มเก็บตัวอย่างปลานิลในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - เมษายน 2561 จำนวน 3 ฟาร์ม ๆ ละ 20 ตัว ช่วงอายุปลา 2 เดือน (ขนาด 250-300 กรัม) พบปรสิตภายนอกบริเวณผิวหนัง จำนวน 3 สกุล คือ *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp. และ *Epistylis* sp. และปรสิตที่ตรวจพบบริเวณเหงือก จำนวน 2 สกุล คือ สกุล *Cichlidogyrus* (4 ชนิด) ได้แก่ *Cichlidogyrus halli*, *C. sclerosus*, *C. thurstonae*, *C. mbirizei* และสกุล *Scutogyrus* (1 ชนิด) คือ *Scutogyrus longicornis* โดยมีค่าความชุกดังนี้ *Trichodina* sp. ($90 \pm 8.7\%$), *Gyrodactylus* sp. ($28.3 \pm 23.6\%$), *Epistylis* sp. ($8.3 \pm 2.9\%$), *C. halli* ($50 \pm 21.8\%$), *C. sclerosus* ($23.3 \pm 17.6\%$), *S. longicornis* ($15 \pm 15.0\%$), *C. thurstonae* ($3.3 \pm 5.8\%$) และ *C. mbirizei* ($1.67 \pm 2.9\%$) ส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยปรสิตภายนอกบริเวณผิวหนัง พบ *Trichodina* sp. มีความหนาแน่นเฉลี่ยมากที่สุด (38.7 ± 11.2) ส่วนปรสิตปลิงใสบริเวณเหงือก พบ *C. halli* มีความหนาแน่นเฉลี่ยมากที่สุด (3.2 ± 2.7) แม้ปรสิตภายนอกที่พบจะไม่ใช่สาเหตุหลักที่ส่งผลต่อการตายของปลาที่เลี้ยงในกระชัง แต่ปรสิตเหล่านี้จะชักนำให้เกิดบาดแผลบริเวณที่เกาะและนำไปสู่การติดเชื้อจุลินทรีย์ตามมา

คำสำคัญ: ปรสิตภายนอก ปลานิล แม่น้ำตาปี

Abstract

Diversity of external parasites from cage-cultured tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.) was studied. Twenty fish samples each (2- months old, with 250-300 g. in average size) were each collected from 3 farms, at Tapi river, Nakasha sub district, Chawang district, Nakhon Si Thammarat province, were collected during Feb. – Apr. 2018 in (dry season). Three skin parasite genera *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* spp., *Epistylis* sp. were founded, while 2 monogenean genera were observed on gill filaments, *Cichlidogyrus* (*Cichlidogyrus halli*, *C. sclerosus*, *C. thurstonae*, *C.*

mbirizei) and *Scutogyrus* (*Scutogyrus longicornis*). The result showed that there were different prevalence between these 3 farms, *Trichodina* sp. ($90 \pm 8.7\%$), *Gyrodactylus* sp. ($28.3 \pm 23.6\%$), *Epistylis* sp. ($8.3 \pm 2.9\%$), *C. halli* ($50 \pm 21.8\%$), *C. sclerosus* ($23.3 \pm 17.6\%$), *S. longicornis* ($15 \pm 15.0\%$), *C. thurstonae* ($3.3 \pm 5.8\%$) and *C. mbirizei* ($1.67 \pm 2.9\%$) from gill parasite. *Trichodina* sp. had the highest mean Intensity (38.7 ± 11.2), followed by *C. halli* (3.2 ± 2.7). Although the external parasites founded were not the main cause of death in fish cage culture (secondary infection). The parasites might induce stress and lead to infection followed with other micropathogens.

Keywords: external parasite, tilapia, Tapi River

คำนำ

การเลี้ยงปลาในกระชังในประเทศไทย ได้ดำเนินการกันมาเป็นระยะเวลายาวนาน ทั้งในแหล่งน้ำจืด แม่น้ำ ลำคลอง หนอง บึง อ่างเก็บน้ำ ปากแม่น้ำ และบริเวณชายฝั่งทะเลทั่วไป เป็นอาชีพหนึ่งที่เกษตรกรนิยม กันอย่างแพร่หลายทั้งในระดับเพื่อการยังชีพ และในเชิงพาณิชย์ จำหน่ายเป็นสินค้าทั้งแบบมีชีวิต และแปรรูป ทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ การเลี้ยงปลานิลในกระชังมีการปล่อยเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูง มีการให้อาหารโปรตีนที่มีคุณภาพดี ทำให้ปลาเกิดอาการเครียดได้สูง การเลี้ยงปลานิลจึงเป็นธุรกิจ การเกษตรที่ได้รับความสนใจของประชาชนทั่วไป แม้ว่าปลานิลสามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพทั้งในบ่อดินและใน กระชัง แต่อุปสรรคที่สำคัญของการเลี้ยงปลานิล คือ การเกิดโรคระหว่างการเลี้ยง เนื่องจากการปล่อยเลี้ยง หนาแน่น และขาดการจัดการที่ดี รวมทั้งสภาวะแวดล้อมของแหล่งน้ำที่เปลี่ยนแปลงและเสื่อมลงจากการใช้ ประโยชน์ของแหล่งน้ำหลากหลายประเภท (Ghiraldelli *et al.*, 2006) ประสิทธิภาพนอกที่เกาะบนผิวหนังของปลาก็ เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดผลต่อปริมาณและคุณภาพของปลาเลี้ยง และการเกิดโรคระบาดต่อเนื่อง ตามมา เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส และเนื่องจากปรสิตส่วนมากสามารถเข้าสู่ปลาได้โดยตรงหรืออาจแฝง ตัวมากับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่ปลากินเป็นอาหาร ปรสิตเมื่อเข้าสู่ตัวปลาจะทำให้ปลาป่วยและอ่อนแอ และเกิด โรคอื่นแทรกซ้อนและตายในที่สุด ซึ่งส่วนใหญ่ปรสิตบนตัวปลาจะพบมากเมื่อปลามีอายุได้ 45 วันขึ้นไป หลังจากปล่อยเลี้ยง และจะลดลงในช่วงก่อนจับขาย หรือเมื่อปลาอายุได้ 4 เดือนหลังจากปล่อยเลี้ยง (Thongbamrung and Lerssutthichawal, 2014) ฤดูกาลเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเกาะของปรสิต โดย พบว่าอุณหภูมิจะมีผลโดยตรงกับความชุกของโมโนจีเนียน (Le Roux and Avenant-Oldewage, 2010) และ อุณหภูมิยังส่งผลให้โมโนจีเนียนในบ่อเลี้ยงปลามีความชุกสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากอุณหภูมิจะส่งผลต่อ ระยะเวลาการเจริญเติบโต และระยะเวลาการพัฒนาของตัวอ่อนของโมโนจีเนียน (Modu *et al.*, 2012) ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อตรวจสอบความหลากหลายของปรสิตภายนอกที่พบในปลานิลเลี้ยงในกระชัง บริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราช ในช่วงการเลี้ยงในฤดูร้อน ในปลานิลที่มีอายุประมาณ 2 เดือน หลัง ปล่อยเลี้ยง และเพื่อหาความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตที่ตรวจพบ โดยความชุกและความหนาแน่น ของปรสิตจะเป็นข้อมูลพื้นฐานเชิงนิเวศวิทยาในการจัดการเลี้ยงปลานิลเชิงพาณิชย์ และช่วยในการเฝ้าระวัง

รวมถึงสามารถใช้ประเมินความเสี่ยงของผลผลิตของปลานิล และหากมีการระบาดสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีป้องกัน และกำจัดปรสิตที่เกิดขึ้นในปลานิลเลี้ยงต่อไป

วิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.) ที่ใช้ในการทดลอง ได้จากปลาที่เลี้ยงในกระชังในบริเวณแม่น้ำตาปี พื้นที่ตำบลนาเกาะ อำเภอนาหวาง จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 3 ฟาร์ม ดังนี้

ฟาร์มที่ 1 พิกัดดาวเทียม 47 P 0549962 UTM 0929155

ฟาร์มที่ 2 พิกัดดาวเทียม 47 P 0549874 UTM 0929534

ฟาร์มที่ 3 พิกัดดาวเทียม 47 P 0549690 UTM 0929692

จากนั้นเก็บตัวอย่างปลานิลฟาร์มๆละ 20 ตัว รวมเป็นจำนวน 60 ตัว โดยเป็นปลาที่มีอายุประมาณ 2 เดือน ซึ่งอ้างอิงตามรายงานของ Thongbamrung and Lerssutthichawal (2014) พบว่าปรสิตโมโนจีเนียสจะพบมากในปลาที่มีอายุ 45 วันขึ้นไป และจะลดลงเมื่อเข้าสู่ช่วงจับจำหน่ายประมาณช่วงเดือนที่ 4 หลังจากปล่อยลงเลี้ยง นำตัวอย่างปลานิลมาห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและคลินิกสุภาพสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย และดำเนินการตรวจหาปรสิตตามขั้นตอนและวิธีการของ Thongbamrung and Lerssutthichawal (2014) โดยทำการสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู (Clove Oil) ความเข้มข้น 80 ppm. (Mahawong *et al.*, 2014) (ใช้ 4 หยดในปลาตัวอย่างเพื่อให้มีอาการอ่อนแรง) แล้วนำไปตรวจหาปรสิตภายนอกด้วยเทคนิค Skin scraping โดยการขูดเมื่อบริเวณผิวหนังตัว และครีบท่างๆด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นนำไปวางทับบนกระจกสไลด์ที่มีน้ำอยู่ และนำไปตรวจหาปรสิตภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope

ส่วนการตรวจหาปรสิตโมโนจีเนียสบริเวณเหงือกปลาโดยใช้เทคนิค Gill biopsy โดยการแยกแกนเหงือกออกจากช่องเหงือก จากนั้นนำไปวางบนจานเพาะเชื้อที่มีน้ำสะอาดอยู่ แล้วตัดแกนเหงือกแต่ละแกนให้แยกจากกัน ขูดเมื่อบริเวณเหงือกด้วยเข็มเย็บปลายเฉียง ตรวจหาปรสิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope

การแยกชนิดปรสิตภายนอกที่ตรวจพบ

การแยกปรสิตภายนอกที่พบใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 4x, 10x และ 40x โดยใช้หลักเกณฑ์ในการจำแนกชนิดของปรสิตภายนอกจากรูปร่างลักษณะภายนอกของปรสิตที่ตรวจพบ ตามวิธีการที่มีรายงานก่อนนี้ (Komalamisra, 1983; Srisophaporn, 1995; Noga, 2000; Sirikanchana, 2004; Lerssutthichawal and Supamattaya, 2005) ; Thongbamrung and Lerssutthichawal, 2014: Lerssutthichawal *et al.*, 2016) จากนั้นบันทึกข้อมูลชนิดของปรสิตภายนอกที่ตรวจพบ

การตรวจหาปรสิตภายนอกจากตัวอย่างบริเวณเหงือกปลา เมื่อพบปรสิตโมโนจีเนียนให้ใช้เข็มปลายเฉียงชูดออกมา แล้วดูดด้วยปิเปตขนาดเล็กพิเศษ มาหยดบนแผ่นสไลด์ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ ฝั้นกระจกด้วยน้ำยาเคลือบเล็บที่มุมของกระจก เพื่อเป็นการเก็บรักษาตัวอย่างปรสิตโมโนจีเนียน และเพื่อป้องกันการเคลื่อนของตัวอย่าง จากนั้นเติมน้ำยา ammonium–picrate glycerine ที่ไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อตรึงและรักษาสภาพตัวอย่างปรสิต แล้วทำความสะอาดสไลด์ และเช็ดน้ำยาที่เกินออก เคลือบทับด้วยน้ำยาเคลือบเล็บอีกครั้งจะได้สไลด์กึ่งถาวร (semi-permanent slides) (Lerssutthichawal and Supamattaya, 2005)

การศึกษาชนิดและปริมาณของปรสิต

การศึกษาตัวอย่างปรสิตโมโนจีเนียนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Phase contrast) มีการจำแนกระดับสกุลและชนิดตามวิธีการของ Pariselle and Euze (1996) และนับจำนวนในแต่ละชนิดเพื่อคำนวณค่าความชุก (prevalence) ความหนาแน่นเฉลี่ย (mean intensity) ตามวิธีการของ Margolis *et al.*, (1982) ตามสูตรดังนี้

$$\text{ความชุก (prevalence\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่พบปรสิตชนิดนั้นๆ}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมดที่ทำการตรวจ}} \times 100$$

$$\text{ความหนาแน่นเฉลี่ย (mean intensity)} = \frac{\text{จำนวนทั้งหมดของปรสิตชนิดนั้นๆ}}{\text{จำนวนปลาที่พบปรสิตชนิดนั้นๆ}}$$

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังปลาในแม่น้ำตาปี ฟาร์มละ 2 จุด โดยเก็บบริเวณนอกกระชัง 1 จุด และในกระชังที่เก็บตัวอย่างปลา 1 จุด ในช่วงที่เก็บตัวอย่างปลาในเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนเมษายน พ.ศ. 2561 นำตัวอย่างน้ำที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี ได้แก่ อุณหภูมิ, ความโปร่งแสง, พีเอช (pH), ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO), แอมโมเนีย – ไนโตรเจน และไนไตรท์ – ไนโตรเจน (Clesceri *et al.*, 1998)

ผลการศึกษา

การศึกษาความหลากหลายของปรสิตภายนอกที่พบในปลานิลเลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำตาปี พื้นที่ตำบลนาเกาะ อำเภอดงขาง จังหวัดนครศรีธรรมราช ด้วยวิธี Skin scraping และ Gill biopsy ในครั้งนี้ สามารถพบปรสิตทั้งสิ้น 5 สกุล โดยพบปรสิตภายนอกบนผิวหนังปลา ทั้งหมด 3 สกุล คือ *Trichodina* sp., *Eptylis* sp. และปรสิตโมโนจีเนียน คือ *Gyrodactylus* sp. ส่วนอีก 2 สกุล พบบริเวณเหงือกเป็นปรสิตโมโนจีเนียน คือ *Cichlidogyrus* และ *Scutogyrus* และจากการแยกชนิดของปรสิต (species) สามารถแยกได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Cichlidogyrus halli*, *C. sclerosus*, *C. thurstonae*, *C. mbirizei* และ *Scutogyrus longicornis* (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

ความชุกและความหนาแน่นของปรสิตที่พบในปลานิล

จากการศึกษาความหลากหลายของปรสิตภายนอกที่พบในปลานิลเลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำตาปี ตำบลนาเกาะ อำเภอดง จังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่ามีค่าความชุกที่แตกต่างกัน ดังนี้ *Trichodina* sp. *Gyrodactylus* sp. และ *Epistylis* sp. มีค่าเท่ากับ 90 ± 8.7 , 28.3 ± 23.6 และ $8.3\pm 2.9\%$ ตามลำดับ ส่วนปรสิตโมโนจีเนียนที่ตรวจพบบริเวณเหงือก มีค่าความชุก ดังนี้ *Cichlidogyrus tubicirrus*, *C. sclerosus*, *Scutogyrus longicornis* และ *C. thurstonae* และ *C. mbirizei* มีค่าเท่ากับ 50.0 ± 21.8 , 23.3 ± 17.6 , 15.0 ± 15.0 , 3.3 ± 5.8 และ $1.7\pm 2.9\%$ ตามลำดับ

ส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตภายนอกบริเวณผิวหนัง *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp. มีค่าเท่ากับ 38.7 ± 11.2 , 1.2 ± 0.3 ต่อปลา 1 ตัว ตามลำดับ ส่วน *Epistylis* sp. ไม่สามารถนับเซลล์ได้เนื่องจากเป็นกลุ่มโคโลนีและปรสิตโมโนจีเนียนที่ตรวจพบบริเวณเหงือก คือ *Cichlidogyrus halli*, *C. sclerosus*, *S. longicornis*, *C. thurstonae* และ *C. mbirizei* มีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 3.2 ± 2.7 , 1.6 ± 0.9 , 0.8 ± 1.2 , 0.5 ± 0.9 และ 0.4 ± 0.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

Table 1 Prevalence and mean intensity of external parasites in tilapias at Tapi River, Chawang district, Nakhon Si Thammarat province.

Parasite	Prevalence (%) $\pm$ SD	Intensity $\pm$ SD
<u>Mucus on skin</u>		
<i>Trichodina</i> sp.	90.0 ± 8.7	38.7 ± 11.2
<i>Gyrodactylus</i> sp.	28.3 ± 23.6	1.2 ± 0.3
<i>Epistylis</i> sp.	8.3 ± 2.9	***
<u>Gill</u>		
<i>Cichlidogyrus halli</i>	50.0 ± 21.8	3.2 ± 2.7
<i>Cichlidogyrus sclerosus</i>	23.3 ± 17.6	1.6 ± 0.9
<i>Scutogyrus longicornis</i>	15.0 ± 15.0	0.8 ± 1.2
<i>Cichlidogyrus thurstonae</i>	3.3 ± 5.8	0.5 ± 0.9
<i>Cichlidogyrus mbirizei</i>	1.7 ± 2.9	0.4 ± 0.1

Note: *** *Epistylis* is a sessile, ciliated freshwater protozoan that propagates as colonies, so it could not be reported in number.

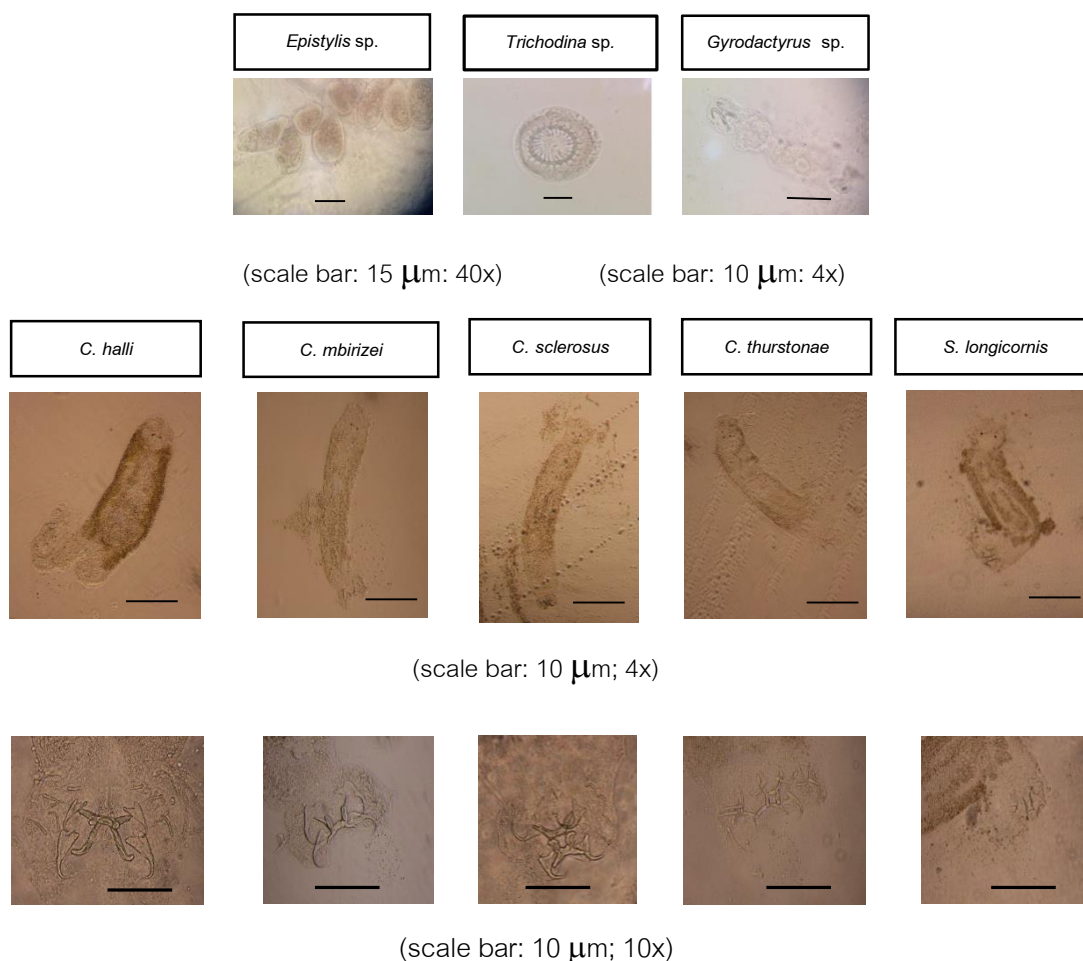


Figure 1 External parasite in mucus on skin and monogenean parasite in the gill of tilapias

อภิปรายผล

การศึกษาค้นหาความหลากหลายของปรสิตภายนอกที่พบในปลาไนที่เลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำตาปี พื้นที่ตำบลชะชะ อำเภอดง จังหวัดนครศรีธรรมราช ครั้งนี้ พบปรสิตภายนอกทั้งหมด 5 สกุล จากเมือกบริเวณผิวหนังจำนวน 3 สกุล ได้แก่ *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp. และ *Epistylis* sp. และบริเวณเหงือกพบปรสิตโมโนจีเนียนจำนวน 2 สกุล ได้แก่ *Cichlidogyrus* และ *Scutogyrus* ซึ่งการพบความหลากหลายของปรสิตโมโนจีเนียนมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Madyod (2014) ซึ่งจำแนกชนิดของปรสิตโมโนจีเนียนในปลาไน (*Oreochromis niloticus* Linn.) ที่เลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราช ได้ 2 สกุล ได้แก่ *Cichlidogyrus* และ *Scutogyrus* แต่ไม่พบ *Gyrodactylus* sp. ที่เกาะบริเวณผิวหนังซึ่งโดยปกติทั่วไปจะพบได้ในปลาเลี้ยงหลากหลายชนิด ดังรายงานของ Wattanamethanont and Puvanan (2013) ที่พบ *Gyrodactylus* sp. และ *Trichodina* sp. บริเวณผิวหนังของปลาไน ปลาตะเพียน ปลาช่อน ปลาดุก ในพื้นที่เพาะเลี้ยงเขตภาคกลางของประเทศไทย และจากการตรวจพบ *C. thurstonae*, *C. halli* ก็สอดคล้องกับการศึกษาของ Thongbamrung and Lerssutthichawal (2014) แต่การศึกษครั้งนี้ไม่พบ *C. tilapiae*, *Cichlidogyrus* sp. และในครั้งนี้นับชนิดของปรสิตโมโนจีเนียนเพิ่มมา คือ *C. mbirizei* ซึ่งหลายรายงานที่ผ่านมา

มาไม่พบปรสิตชนิดนี้แพร่ระบาดในแม่น้ำตาปี ปรสิตชนิดนี้พบการระบาดครั้งแรกในปลานิลแดงเลี้ยง (*O. niloticus* × *O. mossambicus*) ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งในรายงานดังกล่าวระบุว่า การค้นพบ *C. mbirizei* นี้เป็นบันทึกใหม่ของการเป็นปรสิตเจ้าบ้านและปรสิตท้องถิ่นในสถานะโมโนจีเนียนที่ทำให้เกิดโรคใหม่ในประเทศไทย (Lerssutthichawal et al., 2016) นอกจากนี้จากการศึกษาครั้งนี้ *C. mbirizei* สามารถพบในปลานิลสีดำที่เลี้ยงในแม่น้ำตาปี ซึ่งแสดงว่าอาจเคลื่อนย้ายไปในปลานิลสีดำได้ในฐานะเป็นปรสิตเจ้าบ้าน

สำหรับความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตที่พบตามรายงานของ Thongbamrung and Lerssutthichawal (2014) ซึ่งได้ศึกษาปรสิตโมโนจีเนียนในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราช พบความชุกของปรสิตโมโนจีเนียนมากกว่า 50% (*Cichlidogyrus thurstonae*, *C. sclerosus*, *C. tubicirrus* และ *S. longicornis*) แต่ในการศึกษาครั้งนี้ พบ *C. halli* (50%) เพียงชนิดเดียวที่มีค่าความชุกสูงมากที่สุด แต่จากลักษณะของเหงือกปลาเมื่อดูด้วยตาเปล่าไม่พบลักษณะผิดปกติที่บ่งบอกว่าปรสิตปลิงใสสร้างผลกระทบกับตัวปลา ส่วนปรสิตภายนอกที่อาศัยอยู่ที่เมือกบนผิวหนังตัวปลา มีเพียงชนิดเดียวที่มีความชุกมากกว่า 50% คือ *Trichodina* sp. (90%) ซึ่งจากการตรวจด้วยตาเปล่าพบความเข้มของสีผิวหนังปลานิล ซึ่งปรสิตชนิดนี้อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ปลาเกิดความเครียดได้ และจากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในกระชังเลี้ยงปลานิลซึ่งเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติ (ตารางที่ 2) แม้มีการตื่นขึ้นบ้างในบางจุดของพื้นที่การเลี้ยง แต่ในแม่น้ำตาปีมีการถ่ายเทของน้ำอยู่ตลอดเวลา ซึ่งเมื่อเทียบค่ามาตรฐานของกรมประมง พบว่าคุณภาพน้ำยังไม่ส่งผลกระทบต่อระบบการเลี้ยง แต่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นอาจส่งผลกระทบต่อความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ยของปรสิตโมโนจีเนียนบางชนิดก็ได้ เช่น *C. halli* (50%, 3.2) ซึ่งตามรายงานของ Thongbamrung and Lerssutthichawal (2014) พบว่าอุณหภูมิจะส่งผลต่อการเจริญเจริญเติบโต และการพัฒนาของตัวอ่อนของปรสิตโมโนจีเนียน และอาจส่งผลกระทบต่อปรสิตภายนอกชนิดอื่นร่วมด้วยก็ได้ เช่น *Trichodina* sp. ซึ่งมีการเข้าเกาะในปริมาณมาก ตามข้อมูลของความชุกและความหนาแน่นเฉลี่ย (90%, 38.7) ตามรายงานของ Wattanamethanont and Puvanan (2013) พบว่าสภาวะสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปจะส่งผลให้ปลาเครียดและอ่อนแอได้ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่โน้มนำให้ปลาติดเชื้อได้

Table 2 Water quality in these study sites (3 farms)

Parameter	This study	Standard Value***
DO	5.02 ppm	More than 3 ppm
NO ₂	0.0 ppm	below 0.1 ppm
NH ₃	0.0 ppm	below 0.02 ppm
Temperature	28 °C	23-32 °C
Transparency	35 cm	40-80 cm
pH	6.93	6.5-8.5

***Source: Pollution Control Department (2553)

สรุป

การสำรวจปรสิตภายนอกในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในแม่น้ำตาปี พื้นที่อำเภอฉวาง จังหวัด นครศรีธรรมราช ในช่วงการเลี้ยงในฤดูร้อน (กุมภาพันธ์ ถึง เมษายน 2561) พบปรสิตบริเวณผิวหนังและเหงือกของปลานิล โดยปรสิตที่ตรวจพบบริเวณผิวหนังมีทั้งหมด 3 สกุล (Genus) คือ สกุล *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp., *Epistylis* sp. และปรสิตที่ตรวจพบบริเวณเหงือก จำนวน 2 สกุล คือ สกุล *Cichlidogyrus* พบ 4 ชนิด (species) คือ *C. halli*, *C. sclerosus*, *C. thurstonae*, *C. mbirizei* และสกุล *Scutogyrus* พบ 1 ชนิด คือ *S. longicornis* ซึ่งจากความหลากหลายของปรสิตภายนอกเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ ซึ่งเป็นดัชนีของคุณภาพน้ำที่ชี้วัดว่าเข้าสู่ฤดูร้อน พบว่าไม่ได้มีผลต่อการเข้าเกาะของปรสิตภายนอก แต่อาจมีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีผล (*C. halli*) อย่างไรก็ตามอาจมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมด้านอื่นร่วมด้วยที่ทำให้ปลาเกิดความเครียดอย่างรุนแรง ก็อาจจะส่งผลต่อปริมาณของปรสิตภายนอกที่เกาะบนตัวปลาก็ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้เป็นส่วนหนึ่งของการวิจัยเรื่อง การตรวจสอบและยืนยันเชื้อเชื้อปรสิตปลิงใส, *Cichlidogyrus* spp. (Monogenea, Ancyrocephalinae) จากเมือกบริเวณเหงือกปลานิลที่มีการเลี้ยงในจังหวัดนครศรีธรรมราช ด้วยเทคนิคทางพีซีอาร์ โดยได้รับงบประมาณจากงบอุดหนุนการวิจัย ประเภทเงินรายได้หน่วยงาน ขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช (ทุ่งใหญ่) และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ธีรวุฒิ เลิศสุทธิवाल ที่ช่วยแก้ไขและให้คำชี้แนะในการเขียนรายงานรวมถึงการระบุชนิดของปรสิตในปลานิล และขอขอบคุณ นศ.สพ.สุภาภรณ์ ขวัญนิมิต และ นศ.สพ.จารวี ทองชัย นักศึกษาช่วยวิจัย ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่าง และขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในกระชังในแม่น้ำตาปีทุกท่านสำหรับการอนุเคราะห์ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

บรรณานุกรม

- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., and Eaton, A.D. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed., Washington DC: American public health association.
- Ghiraldelli, L., Laterca Martins, M., Barros Adamante, W. and Yamashita, M. 2006. First record of *Trichodina compacta* Van As and Basson, 1989 (Protozoa: Ciliophora) from cultured Nile tilapia in the State of Santa Catarina, Brazil. International Journal of Zoological Research 2: 369–375.
- Komalamisra, C. 1983. *Heterophyid metacercariae* in fresh water fish from Northeast Thailand: A morphological study. Master thesis of science (Tropical Medicine). Mahidol University.
- Le Roux, L.E. and Avenant-Oldewage, A., 2010. Checklist of the fish parasitic genus *Cichlidogyrus* (Monogenea), including its cosmopolitan distribution and host species. Afr. J. Aquat. Sci. 35: 21 – 36.

- Lerssutthichawal, T. and Supamattaya, K. 2005. Diversity and distribution of parasites from potentially cultured freshwater fish in Nakhon Si Thammarat. Songklanakarin J. Sci. Technol. 27: 333 – 345. [in Thai]
- Lerssutthichawal, T., Maneepitaksanti, W. and Purivirujkul, W. 2016. Gill monogeneans of potentially cultured tilapias and first record of *Cichlidogyrus mbirizei* Bukinga et al., 2012, in Thailand. Walailak Journal of Science and Technology (WJST). 13: 543 - 553.
- Madyod, S. 2014. Identification on monogenean parasite in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* from cage culture in Tapi river, Nakorn Si Thammarat Province. RMUTSB Acad. J. 2(2): 97-108. [in Thai]
- Margolis, L., Esch, G.E., Holmes, J.C., Kuris, A.M. and Schad, G.A. 1982. The use of ecological term in parasitology (report of an Ad Hoc committee of the American Society of Parasitologists). The Journal of Parasitology. 68: 131-133
- Mahawong, N., Khachaphichat, M., Apitanakul, P. and Boonprasert, P. 2006. Experiment of using clove oil as an anesthetic in several commercially important freshwater fish. Extension Paper No. 1/2006. Phayao Provincial Fisheries Office, Department of Fishery. Bangkok. 15 p. [in Thai]
- Modu, B.M., Saiful, M., Kartini, M., Kazim, Z., Hassan, M. and Shaharom-Harrison, F.M. 2012. Effects of water quality and monogenean parasite in the gills of freshwater catfish, *Hemibagrus nemurus* Valenciennes 1840. Current Research Journal of Biological Sciences 4: 242 – 246.
- Noga, E.J. 2000. Fish disease: diagnosis and treatment. 1st ed. Iowa State University Press, Ames, USA. 367 p.
- Pariselle, A. and Euzet, L. 1996. *Cichlidogyrus Paperna*, 1960 (Monogenea, Ancyrocephalidae): Gill parasites from West African Cichlidae of the subgenus *Coptodun* Regan, 1920 (Pisces), with descriptions of six new species". Systematic Parasitology. 34: 109 - 124.
- Pollution Control Department. 2553. Green production fish farming guide. Water Quality Management Bureau, Ministry of Natural Resources and Environment. 20 p. [in Thai]
- Sirikanchana, P. 2004. Parasites of aquatic animals. 6th skywards - advertising-ltd. Bangkok. 270 p. [in Thai]
- Srisopaphorn, P. 1995. Diseases and parasite of aquatic animal. 1st edition. Ruakweaw Publisher. Bangkok. 184 p. [in Thai]

- Thongbamrung, W. and Lerssutthichawal, T. 2014. Monogeneans in cage cultured red tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) in Tapi river, Nakhonsithammarat. Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University 16: 32 - 40 [in Thai]
- Wattanamethanont, J and Puvanan, S. 2013. External parasites found in freshwater fish raised in central Thailand during the years 2554-2556. Thai-NIAH E-Journal. 8 (1): 1-11 [in Thai]

ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อโนเบียส

Effect of chlorine dioxide (ClO_2) on sterilization in micropropagation of *Anubias* sp. 'White'

วารangkana กาศัฒ¹ มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ² และนงนุช เลหาะวิสุทธิ์³

Warangkana Kasam¹ Maneerat Wangwibulkit² and Nongnuch Laohavisuti³

¹กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

²ราชการบริหารส่วนกลาง กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

³คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

¹Inland Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries, Bangkok, 10900

²Central Administration Office, Department of Fisheries, Bangkok, 10900

³Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

Corresponding author: tualek07@hotmail.com

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อโนเบียส (*Anubias* sp. 'White') เป็นการขยายพันธุ์วิธีหนึ่งที่ต้องการการปลอดเชื้อทุกขั้นตอน เทคนิคที่มีความสำคัญมากคือ การทำให้ปลอดเชื้อทั้งในอาหารเพาะเลี้ยงและเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ การเติมสารเคมีลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถทำได้เพื่อให้ปลอดเชื้อ ทำการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอดไวท์อโนเบียส 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 mg/L เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการใช้คลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/L เหมาะสมที่สุดในการยับยั้งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ทำให้มีอัตราการรอด 100% สูงกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าคลอรีนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตายอดไวท์อโนเบียส และช่วยเพิ่มความรวดเร็วในการทำงาน โดยลดขั้นตอนในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ ทดแทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ จึงเป็นเทคนิคทางเลือกในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสวยงามชนิดอื่น ๆ ต่อไป

คำสำคัญ: คลอรีนไดออกไซด์, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ไวท์อโนเบียส

Abstract

The micropropagation of aquatic plants is the method for propagation which is sterilized on steps. The most important technique is to sterilize the culture medium and explants. Chemical sterilization in tissue culture media is one of the aseptic methods. Therefore, study on the effect of chlorine dioxide concentrations in culture media was conducted. Using chlorine dioxide (at 0, 5, 25, 50, 75 and 100 mg/L) in MS medium for culture of *Anubias* sp. 'White' was investigated. After 8 weeks, it was found that sterilization with chlorine dioxide at 100 mg/L was the optimum concentration that could inhibit microbial contamination with 100% survival rate and was significantly different ($p < 0.05$). The result showed that chlorine dioxide is effective in eliminating microorganisms and can promote the growth of *Anubias* sp. 'White' tissue. Furthermore, it also

decreased period time of medium preparation for usability of autoclave-sterilization. Using chlorine dioxide in tissue culture media is an alternative sterilization technique for aquatic plant tissue culture.

Keywords: chlorine dioxide, micropropagation, *Anubias* sp. 'White'

คำนำ

พรรณไม้น้ำสวยงามจัดเป็นทรัพยากรประมงชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำไปใช้ประดับตกแต่งตู้ปลาและตู้พรรณไม้น้ำมากขึ้น ชนิดของสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยม เช่น ไวท์อโนเบียส (*Anubias* sp. "White") เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามในสกุลอโนเบียส (*Anubias* spp.) สายพันธุ์ต่างถิ่นที่สามารถเพาะขยายพันธุ์ได้ในประเทศไทย จนกลายเป็นพรรณไม้น้ำเศรษฐกิจที่มีมูลค่าการส่งออกเป็นอันดับต้น ๆ ของประเทศ จากข้อมูลของกรมวิชาการเกษตร พบว่าใน พ.ศ. 2559-2561 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกพรรณไม้น้ำชนิด *Anubias* เป็นอันดับ 1 ของพรรณไม้น้ำที่ส่งออกทั้งหมด (เฉพาะที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช) แต่การนำต้นอโนเบียสมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการในท้องตลาดนั้น มักจะประสบปัญหาทางด้านจุลินทรีย์ที่เข้ามารบกวนในระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเทคนิคที่มีความสำคัญมาก คือ การทำให้ปลอดเชื้อทั้งในอาหารเพาะเลี้ยงและชิ้นเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ นอกจากขั้นตอนการทำให้ปลอดเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) แล้ว การทำให้ปลอดเชื้อด้วยสารเคมีเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากไม่มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและสามารถลดต้นทุนพลังงานได้ สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ คลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide, ClO_2) ซึ่งมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ได้ครอบคลุม (broad spectrum) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้มากมายหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อไวรัส เนื่องจากมีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ทำลายระบบเอนไซม์ และระบบการสังเคราะห์โปรตีนได้ (Huang *et al.*, 1997; Gordon and Rosenblatt, 2005) เริ่มนิยมนำมาใช้ในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตผลทางการเกษตร (Cho-Chin *et al.*, 2011; Van Haute *et al.*, 2017) ใช้สำหรับฆ่าเชื้อในอาหารทะเลแช่แข็ง (Department of Industrial Works, 2008) ใช้ในการฆ่าเชื้อและปรับปรุงคุณภาพของน้ำดื่ม (Yang *et al.*, 2013; Al-Otوم *et al.*, 2016) รวมถึงการใช้คลอรีนไดออกไซด์เพื่อฆ่าเชื้อในอาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ช่วยเพิ่มความรวดเร็วในการเตรียมอาหาร ลดการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่มีระยะเวลาในการฆ่าเชื้อนาน จึงลดการใช้พลังงานมีผลทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง (Cardoso and Silva, 2012) ดังนั้นงานวิจัยจึงต้องการศึกษาความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อโนเบียสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร และผลกระทบที่มีต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อไวท์อโนเบียส จะเป็นประโยชน์ในการช่วยลดขั้นตอนและระยะเวลาในการเตรียมอาหาร รวมทั้งเป็นเทคนิคทางเลือกในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

อุปกรณ์ และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

ศึกษาความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนุเบียส (*Anubias* sp. 'White') วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ที่ 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ดัดแปลงมาจากวิธีของ Srichuay and Te-chato (2014) และ Choopeng *et al.* (2018) ซึ่งแต่ละระดับความเข้มข้นใช้หน่วยทดลองละ 30 ขวด (replication)

การเตรียมพรรณไม้ที่ใช้ในการทดลอง

นำเนื้อเยื่อตายอดไวท์อนุเบียสมาเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ ย้ายลงอาหารใหม่ทุก ๆ 8 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อให้มีจำนวนมากขึ้น และใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการศึกษาทดลองต่อไป

การเตรียมอาหารและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนุเบียส

เตรียมอาหารเหลวสูตร MS ผสมคลอรีนไดออกไซด์ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 5 ระดับ (ชุดการทดลอง) ประกอบด้วย 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ ชุดการทดลองละ 30 ขวด รวมเป็นขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งหมด 150 ขวด จากนั้นนำเนื้อเยื่อส่วนตายอดไวท์อนุเบียสมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ แล้วนำไปไว้ในห้องเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ โดยได้รับแสง 12 ชั่วโมง สลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมง ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการบันทึกอัตราการปนเปื้อน อัตราการรอด จำนวนต้นอ่อน จำนวนใบ จำนวนราก และความสูงต้น รวมทั้งถ่ายภาพการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อไวท์อนุเบียส ทุกๆ สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 14.0 for windows

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไวท์อนุเบียสที่ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเติมคลอรีนไดออกไซด์มีผลต่อการทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าอาหารที่ไม่ได้เติม โดยชุดการทดลองที่ไม่เติมคลอรีนไดออกไซด์เกิดการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อไวท์อนุเบียสภายใน 2 สัปดาห์ และเนื้อเยื่อไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (Figure 1) ซึ่งการเติมคลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

Table 1 The percentage of contamination and survival rate of *Anubias* sp. “White” cultured in MS liquid medium containing various concentrations of chlorine dioxide for 8 weeks

ClO ₂ (mg/L)	contamination (mean±SE)	survival rate (mean±SE)
0	100.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^c
25	20.00±7.72 ^b	80.00±7.42 ^b
50	10.00±5.57 ^{bc}	90.00±5.57 ^{ab}
75	3.33±3.33 ^c	96.66±3.33 ^a
100	0.00±0.00 ^c	100.00±0.00 ^a

Mean values with different superscript letters in column are significantly different ($P < 0.05$)

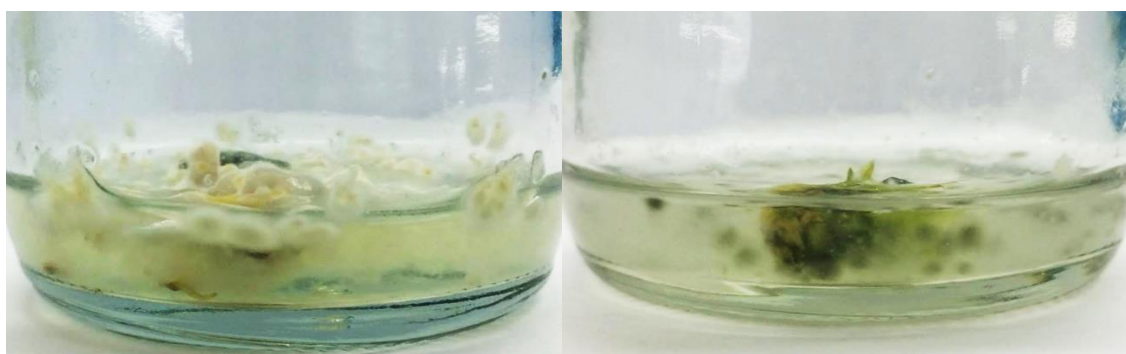


Figure 1 Contamination of *Anubias* sp. “White” cultured in MS liquid media without chlorine dioxide in the second week of the trial

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำให้ปลอดเชื้อด้วยการเติมคลอรีนไดออกไซด์ 25, 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ 3-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยังมีอัตราการรอดมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แต่การเติมคลอรีนไดออกไซด์เข้มข้นสูงสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ดีที่สุดมากกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ สอดคล้องกับการทำให้ปลอดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเยื่อปรี่า (Cardoso and Silva, 2012) และอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรด (Srichuay and Te-chato, 2014) ที่พบว่าการใช้คลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นสูงมีประสิทธิภาพดีกว่าความเข้มข้นต่ำ ซึ่งการใช้คลอรีนไดออกไซด์เป็นสารกำจัดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัสมีประสิทธิภาพในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) กว้าง ตั้งแต่ 3.0-9.0 (Huang *et al.*, 1997) จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ และไม่ผลิตสารคลอรามิน (Chloramine) ที่เป็นพิษกับพรรณไม้น้ำ รวมทั้งคลอรีนไดออกไซด์มีความสามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ดีแม้ใช้ความเข้มข้นต่ำ (Cardoso and Silva, 2012) คลอรีนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่าคลอรีน และสารประกอบคลอรีนชนิดอื่น ๆ (Mahakao, 1993)

การพัฒนาของเนื้อเยื่อตายอดไวท์อนุเบียสตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนไดออกไซด์ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับที่เนื้อเยื่อไวท์อนุเบียสมีการเจริญเติบโตที่ดี และเมื่อเปรียบเทียบการพัฒนาและการเจริญเติบโตของไวท์อนุเบียสที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) (Table 2 and Figure 2) อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นที่ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ดังนั้นคลอรีนไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด เพราะนอกจากสามารถยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีมากแล้ว ยังช่วยให้เนื้อเยื่อตายอดไวท์อนุเบียสมีการพัฒนาได้ดี โดยมีจำนวนต้นอ่อน (0.93 ± 0.17 ต้น/ชิ้นเนื้อเยื่อ) จำนวนใบ (4.00 ± 0.43 ใบ) จำนวนราก (5.60 ± 0.50 ราก) และความสูงต้น (30.99 ± 1.55 มิลลิเมตร) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (Figure 3) สอดคล้องกับรายงานของ Yusoh and Te-chato (2015) ที่ใช้คลอรีนไดออกไซด์ในอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงปลายยอดข้าวหอมกระดังงาปลอดเชื้อ สามารถเพิ่มจำนวนยอด และความสูงของต้นได้ นอกจากนี้คลอรีนในรูปคลอไรด์ไอออน (Cl⁻) มีบทบาทที่สำคัญต่อพืชในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยเฉพาะเกี่ยวข้องกับการแตกตัวของน้ำในปฏิกิริยาแสง รวมถึงช่วยในการเจริญเติบโตของยอดและราก ตลอดจนการสร้างน้ำตาลในพืช (Techapinyawat, 1995)

Table 2 Effect of chlorine dioxide concentrations in MS liquid medium on *Anubias* sp. “White” development for 8 weeks.

ClO ₂ (mg/L)	Shoots (mean±SE)	leaves (mean±SE)	roots (mean±SE)	height (mm) (mean±SE)
0	-	-	-	-
25	0.86 ± 0.18^{ab}	3.96 ± 0.54^{ab}	6.36 ± 0.92^a	22.74 ± 2.43^b
50	0.80 ± 0.16^b	3.73 ± 0.40^b	5.80 ± 0.67^a	24.59 ± 1.86^b
75	1.26 ± 0.15^a	5.13 ± 0.47^a	7.36 ± 0.61^a	27.07 ± 1.35^{ab}
100	0.93 ± 0.17^{ab}	4.00 ± 0.43^{ab}	5.60 ± 0.50^a	30.99 ± 1.55^a

Mean values with different superscript letters in column are significantly different ($P<0.05$)

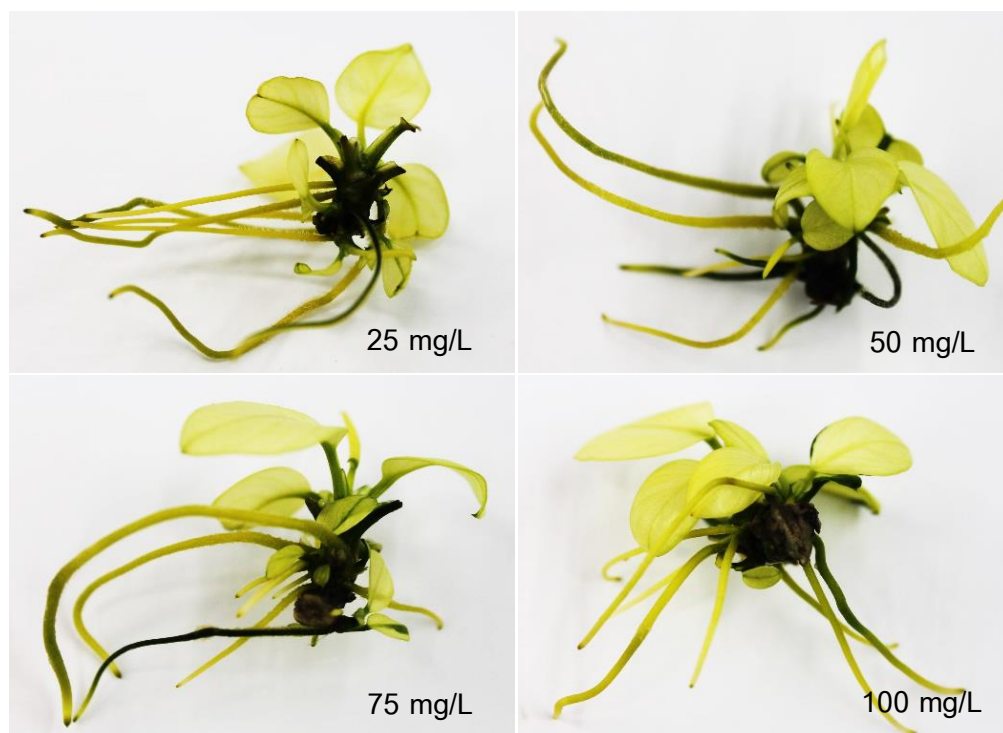


Figure 2 *Anubias* sp. "White" cultured in MS liquid medium containing various concentrations of chlorine dioxide for 8 weeks

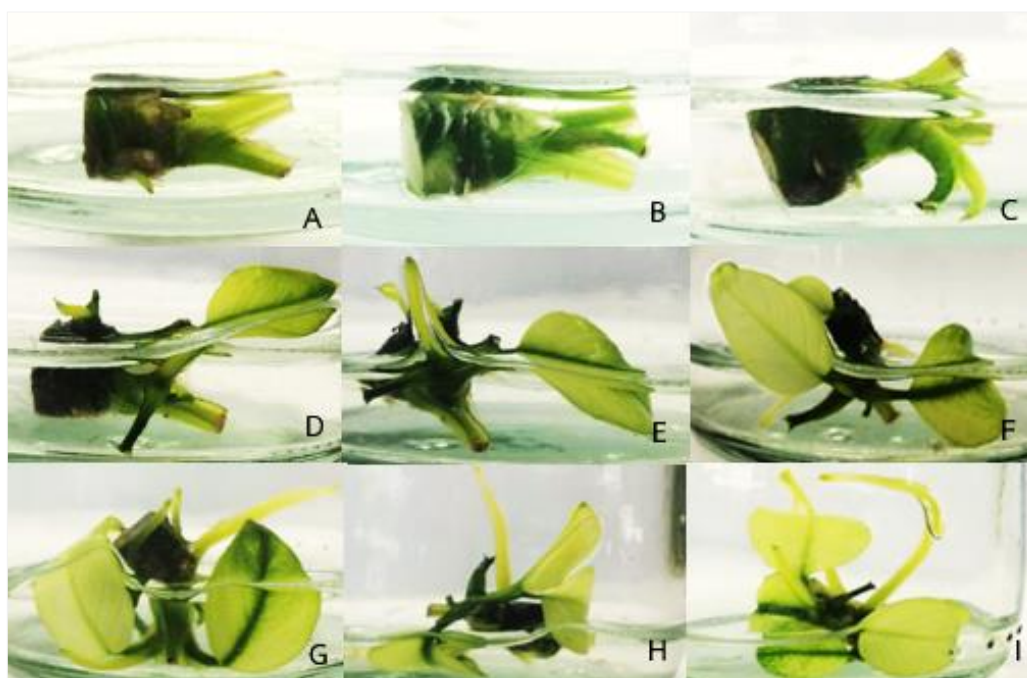


Figure 3 Growth of *Anubias* sp. "White" at 100 mg/L chlorine dioxide (A) week 0 (B) week 1 (C) week 2 (D) week 3 (E) week 4 (F) week 5 (G) week 6 (H) week 7 (I) week 8

สรุปผลการศึกษา

การเติมคลอรีนไดออกไซด์ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถแก้ปัญหาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของไวท์อนุเบียสได้ทั้งหมด นอกจากนี้การใช้สารคลอรีนไดออกไซด์เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังช่วยสร้างสภาวะการปลอดเชื้อจุลินทรีย์โดยไม่จำเป็นต้องใช้พลังงานไฟฟ้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งเพิ่มความรวดเร็วและลดขั้นตอนในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ จึงเป็นเทคนิคทางเลือกที่ดีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Al-Otoun, F., Al – Ghauti, M. A. and Ahmed T, A. 2016. Disinfection by-products of chlorine dioxide (chlorite, chlorate and trihalomethanes): Occurrence in drinking Water in Qatar. *Chemosphere* 164: 649-656.
- Cardoso, J.C. and Silva, J.A.T. 2012. Micropropagation of gerbera using chlorine dioxide (ClO_2) to sterilize the culture medium. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 48: 362–368.
- Chao-Chin, C., Tzou-Chi, H., Chen-Hsing, Y., Feng-Yi, S. and Ho-Hsien, C. 2011. Bactericidal effects of fresh-cut vegetables and fruits after subsequent washing with chlorine dioxide. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology* 9: 107-112.
- Choopeng, S, Patthawaro, S. and Boonrangsri, K. 2018. Application of Chlorine Dioxide to Decontamination for In Vitro Micro propagation of *Bulbophyllum auratum* x Bulb. Tee Strawberry Cheese Cake. *Songklanakarin Journal of Plant Science* 5(2): 8-11. [in-Thai]
- Department of Industrial Works. 2008. Cleaner Technology codes of practice (frozen seafood industry). Cleaner Technology Unit, Industrial Environmental Technology Bureau, Department of Industrial Works, Ministry of Industry. 191 p. [in-Thai]
- Gordon, G. and Rosenblatt, A.A. 2005. Chlorine dioxide: the current state of the art. *Ozone Science and Engineering* 27: 203–207.
- Huang, J., Wang, L., Ren, N., Ma, F. and Ma, J. 1997. Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. *Water Research* 31(3): 607-613.
- Mahakao, S. 1993. Efficiency of chlorine dioxide on the reduction of *Salmonella typhimurium* in frozen chicken process. Master of Science Thesis, Kasetsart University, Bangkok. 115 p. [in-Thai]
- Srichuay, W. and Te-chato, S. 2014. Effect of chlorine dioxide (ClO_2) on sterilization in micropropagation of pineapple cv. Philae by Bioreactor System. *Khon Khen Agriculture Journal* 42(3): 75-80. [in-Thai]

- Techapinyawat, S. 1995. Plant Physiology. Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok. 206 p. [in-Thai]
- Van Haute, S., Tryland, I., Escudero, C., Vanneste, M. and Sampers, I. 2017. Chlorine dioxide as water disinfectant during fresh-cut iceberg lettuce washing: Disinfectant demand, disinfection efficiency, and chlorite formation. Food Science and Technology 75: 301-304.
- Yang, X., Guo, W. and Lee, W. 2013. Formation of disinfection byproducts upon chlorine dioxide preoxidation followed by chlorination or chlorination of natural organic matter. Chemosphere 91(11): 1477-1485.
- Yusoh, A. and Te-chato, S. 2015. Propagation of Hom Kra-Dang-Nga Rice (Indica) through shoot tip culture under bioreactor system. Songklanakarin Journal of Plant Science 2(3):12-15. [in-Thai]

การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ในการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำได้ปลาไหลของไทย เพื่อการอนุรักษ์

Temporary immersion bioreactor for micropropagation of *Barclaya longifolia* Wall.
(1827) for conservation

มนิรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ¹ นงนุช เลหาวิสุทธิ² สมเกียรติ สีสนอง² ชนิกันต์ เชษฐสิงห์³ และวารังคณา กาซัม³
Maneerat Wangwibulkit¹ Nongnuch Laohavisuti² Somkiat Seesanong² Chanikarn Chadthasing³
and Warangkana Kasam³

¹ราชการบริหารส่วนกลาง กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

³กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

¹Central Administration Office, Department of Fisheries, Bangkok, 10900

²Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

³Inland Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries, Bangkok, 10900

Corresponding author: maneeraw@fisheries.go.th

บทคัดย่อ

ได้ปลาไหล *Barclaya longifolia* Wall. (1827) เป็นพรรณไม้น้ำพื้นเมืองของไทยที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ปัจจุบันปริมาณของพรรณไม้น้ำชนิดนี้ลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว จนเริ่มหายากและใกล้สูญพันธุ์ ดังนั้นการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบไบโอรีแอคเตอร์เป็นทางเลือกใหม่ในการอนุรักษ์ได้ปลาไหล โดยทำการศึกษาความถี่ในการให้อาหาร (3, 6, 12 ครั้ง/วัน) ในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวเปรียบเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม (ชุดควบคุม) เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ปลาไหลในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราวโดยให้อาหาร 6 ครั้ง/วัน ครั้งละ 5 นาที สามารถชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนห้วยย่อย (13.00 ± 0.15 ห้วย/ชิ้นเนื้อเยื่อ) และจำนวนใบ (34.00 ± 2.29 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของจำนวนห้วยย่อยคิดเป็น 77.35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระบบไบโอรีแอคเตอร์มีประสิทธิภาพ สามารถเร่งให้เนื้อเยื่อของได้ปลาไหลเกิดการชักนำให้มีจำนวนเซลล์เร็วขึ้น เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้มากกว่าระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม ซึ่งจะเป็แนวทางในการอนุรักษ์พรรณไม้น้ำไทยชนิดอื่นต่อไป

คำสำคัญ: ระบบไบโอรีแอคเตอร์ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้ปลาไหล

Abstract

Barclaya longifolia Wall. (1827) is an indigenous aquatic plant of Thailand which is rare species, so temporary immersion system (TIB) is an alternative tool for *ex situ* conservation. The experiment was conducted to find out the optimum immersion feeding frequency times (3, 6, 12 times a day) compared with traditional systems of tissue culture. After 6 weeks the result showed that the immersion frequency of 6 times a day feeding provided the highest bulblet number, 13.00 ± 0.15 bulblets/explant and 34.00 ± 2.29 leaves/explant ($P < 0.05$). The bulblet number increased to 77.35% compared with control. This study had been found that TIB could increase bulblets of *B. longifolia* better than traditional culture and TIB will be the way to conserve other Thai indigenous aquatic plant in the future.

Keywords: Temporary immersion bioreactor, Tissue culture, *Barclaya longifolia*

คำนำ

พรรณไม้น้ำจัดเป็นทรัพยากรประมงชนิดหนึ่งที่เป็นประโยชน์ต่อระบบนิเวศในน้ำ โดยเป็นที่อยู่อาศัย แหล่งสืบพันธุ์วางไข่ และเป็นอาหารของสัตว์น้ำ พรรณไม้น้ำบางชนิดมีประโยชน์มากมาย ทั้งเป็นอาหาร ยาสมุนไพรรักษาโรค นอกจากนี้บางชนิดยังมีความสวยงาม ทำให้กลายเป็นพรรณไม้น้ำพื้นเมืองที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เป็นที่ต้องการของตลาด โดยนำมาใช้จัดตู้ปลาหรือตู้พรรณไม้น้ำ ในปัจจุบันธุรกิจพรรณไม้น้ำขยายตัวไปมากขึ้น พรรณไม้น้ำส่วนใหญ่ที่นิยมประดับตู้ปลามีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเขตร้อน ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่เป็นแหล่งกำเนิดของพรรณไม้น้ำที่นิยมหลายชนิด เนื่องจากภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และทรัพยากรธรรมชาติค่อนข้างอุดมสมบูรณ์ ทำให้พรรณไม้น้ำสามารถแพร่พันธุ์ได้ดี พรรณไม้น้ำพื้นเมืองของไทยที่สำคัญทางเศรษฐกิจนั้นมีอยู่หลายชนิด โดยเฉพาะต้นไส้ปลาไหล *Barclaya longifolia* Wall (1827) เป็นชนิดที่ต้องการของตลาดต่างประเทศมากกว่า 20 ประเทศ เช่น ประเทศอังกฤษ เยอรมนี และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น ซึ่งจากข้อมูลของกรมวิชาการเกษตร พบว่าใน พ.ศ. 2561 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกพรรณไม้น้ำชนิด *Barclaya* อยู่ในอันดับ 32 ของพรรณไม้น้ำที่ส่งออกทั้งหมด (เฉพาะที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช) แต่มีมูลค่าการส่งออกของไส้ปลาไหลยังน้อยกว่า 1 แสนบาท เนื่องจากส่วนใหญ่ใช้ต้นพันธุ์ที่เก็บรวบรวมจากแหล่งธรรมชาติ ซึ่งมีน้อยมาก เพราะไส้ปลาไหลเป็นพรรณไม้น้ำหายากที่ถูกขึ้นบัญชีเป็นพืชใกล้สูญพันธุ์ของโลก (IUCN Red List) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2011 (Bignoli, 2011) มีสาเหตุมาจากการถูกบุกรุกเก็บรวบรวมต้นพันธุ์มากเกินไปจนกำลังการผลิตของธรรมชาติ แหล่งที่อยู่อาศัยของไส้ปลาไหลถูกทำลายโดยการขุดลอกแหล่งน้ำและเปลี่ยนพื้นที่เป็นปลูกไม้ผลแทน ส่งผลให้ต้นไส้ปลาไหลลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว จนแทบไม่พบไส้ปลาไหลในธรรมชาติอีก นอกจากนี้การนำต้นไส้ปลาไหลมาขยายพันธุ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยนั้นยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร การผลิตต้นไส้ปลาไหลโดยการเพาะเลี้ยงเชิงการค้าจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด

ระบบไบโอรีแอคเตอร์ (temporary immersion bioreactor: TIB) เป็นระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวที่มีการทำงานแบบอัตโนมัติ (Berthouly and Etienne, 2005) ได้รับการพัฒนาขึ้นมาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีระบบการแลกเปลี่ยนอากาศที่ดี ลดการขาดออกซิเจนในพืช ลดการสะสมคาร์บอนไดออกไซด์และเอธิลีน สามารถเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ได้มาก เพราะเนื้อเยื่อพืชสามารถพัฒนาเป็นยอด เป็นหัวขนาดเล็ก หรือเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย (somatic embryogenesis) ได้มากกว่าการเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลวที่ใช้ปกติ (Etienne and Berthouly, 2002) ในเวลาที่เท่ากัน TIB ช่วยลดขั้นตอนและระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น การตัดเนื้อเยื่อ การเตรียมอาหาร การเปลี่ยนถ่ายอาหาร การเตรียมภาชนะและอุปกรณ์ การล้างทำความสะอาด (Alvard *et al.*, 1993) ทำให้การใช้แรงงานลดลง อีกทั้งยังลดพื้นที่ในการเพาะเลี้ยง ส่งผลให้ลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกด้วย ดังนั้นปัจจุบันมีการนำ TIB มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำหลายชนิด เช่น อนุเบียส *Anubias nana* (Saiphattana, 2010) และอะเมซอน *Echinodorus* sp. (Muensumran, 2012) เป็นต้น

ดังนั้นการนำ TIB เข้ามาใช้ในการเพาะขยายพันธุ์ได้ปลาไหล น่าจะช่วยให้เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้มากในระยะเวลาที่สั้นกว่าระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม และทำให้พรรณไม้น้ำเจริญเติบโตได้เร็วกว่าทั้งยังช่วยลดต้นทุนการผลิต เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการผลิตได้ปลาไหลในเชิงพาณิชย์ให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ตลอดจนลดการเก็บรวบรวมจากแหล่งธรรมชาติ ทำให้ได้ปลาไหลเป็นทรัพยากรประมงที่มีคุณค่าของไทยตลอดไป

อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมพรรณไม้น้ำที่ใช้ในการทดลอง

นำชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้นของได้ปลาไหล *Barclaya longifolia* Wall (1827) ส่วนหัวย่อย (bulblets) มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Wangwibulkit and Kasam, 2006) ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ ย้ายเลี้ยงทุก 60 วัน เพื่อเพิ่มปริมาณหัวย่อยได้ปลาไหลให้เพียงพอ ในการใช้เป็นชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้นในการทดลองต่อไป

การเตรียมระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมหัวครว และอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

ในการทดลองนี้ใช้อาหารเหลวสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ในระบบอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม และระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมหัวครวแบบขวดแฝด โดยอาหารกับเนื้อเยื่อได้ปลาไหลแยกกันออกเป็น 2 ส่วน แต่ละส่วนประกอบด้วยภาชนะขนาด 200 มิลลิลิตร ที่มีท่อซิลิโคนเชื่อมอยู่เพื่อให้มีการดันอาหารไป-กลับ ด้วยแรงลมจากปั๊มลม พร้อมชุดกรองอากาศขนาด 0.2 ไมครอน เติมหาอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในภาชนะใส่อาหาร แล้วบรรจุชุดการเลี้ยงแบบขวดแฝดในถุงพลาสติกทึบร้อนเพื่อนำไปนั่งแช่เชื่อมด้วยหม้อน้ำ ความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นอกจากนี้ยังประกอบด้วยเครื่องอัดอากาศ (air pump) หลอดยูวี และเครื่องตั้งเวลา (timer) สำหรับระบบ (Figure 1)

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ในระบบ TIB ใช้ความถี่ในการให้อาหาร 3 ระดับ คือ 3, 6 และ 12 ครั้งต่อวัน ระยะเวลาที่ให้อาหาร 5 นาทีต่อครั้ง แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีจำนวนเนื้อเยื่อเริ่มต้น 6 ชิ้นต่อปริมาณอาหาร 100 มิลลิลิตร การกำหนดความถี่ในการให้อาหารนั้น ดัดแปลงมาจากวิธีของ Saiphattana (2010) และ Muensumran (2012) ที่เป็นการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพรรณไม้น้ำในระบบไบโอรีแอคเตอร์ ส่วนชุดควบคุมทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใส่ปลาไหล 6 ชิ้น ในระบบอาหารเหลวปกติ ปริมาณอาหาร 100 มิลลิลิตร ในภาชนะขนาด 200 มิลลิลิตร

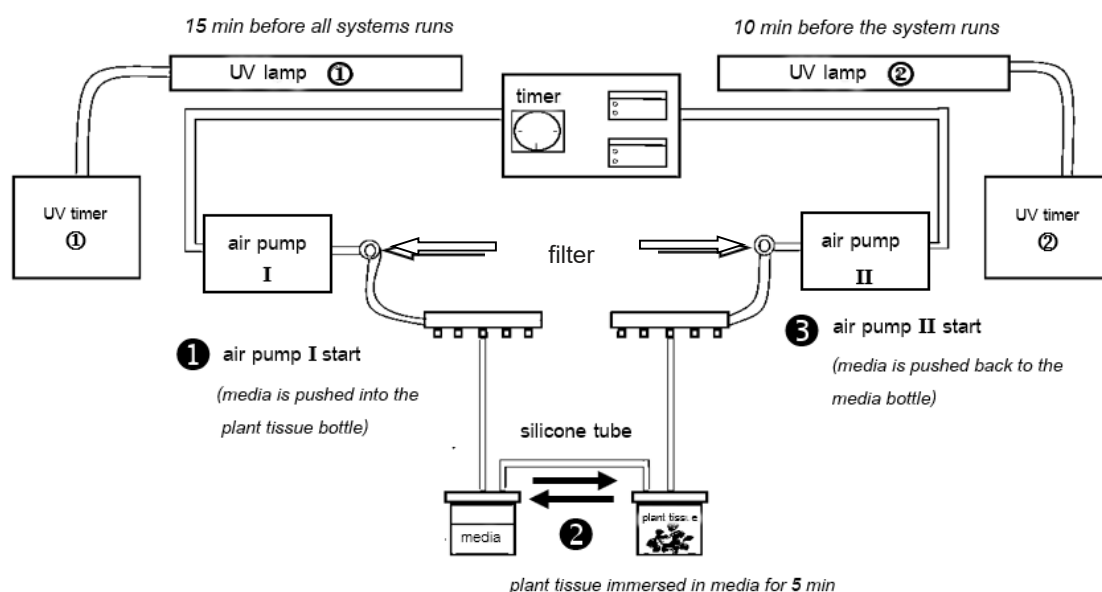


Figure 1 Temporary immersion bioreactor system (TIB)

สภาวะการเพาะเลี้ยง

ชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใส่ปลาไหลทั้งระบบ TIB และระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ โดยได้รับแสง 12 ชั่วโมง สลับกับช่วงมืด 12 ชั่วโมงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกจำนวนหย่อย/ชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของทรงพุ่ม/ชิ้นเนื้อเยื่อ น้ำหนัก/ชิ้นเนื้อเยื่อ และคำนวณดัชนีการเจริญเติบโต (Growth index, GI) ในทุกชุดการทดลอง พร้อมกับบันทึกภาพเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่เวลา 6 สัปดาห์ แล้วนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 14.0 for windows

$$\text{Growth index (GI)} = \frac{\text{Final wet weight} - \text{Initial wet weight}}{\text{Initial wet weight}}$$

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไ้ปลาไหลในระบบ TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหารต่าง ๆ กัน โดยมีชุดควบคุมเป็นระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบดั้งเดิม พบว่าชุดควบคุมมีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น (0.99 ± 0.03 กรัม) ขนาดทรงพุ่ม (2.76 ± 0.18 เซนติเมตร) และดัชนีการเจริญเติบโต (5.82 ± 0.20) สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (Table 1) เนื่องมาจากการเจริญเติบโตของไ้ปลาไหลในชุดควบคุมมีสภาวะการเลี้ยงภายในขวดคงที่ ซึ่งส่วนเนื้อเยื่อไม่ได้รับผลกระทบจากแรงดันลมในระบบ TIB ทำให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนเป็นต้นที่สมบูรณ์ ทั้งขนาดหัวย่อย ขนาดใบ จึงส่งผลต่อขนาดทรงพุ่ม และน้ำหนักที่เพิ่มมากขึ้นกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ (Figure 2) อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเซลล์พืชในระยะแรกนั้น ต้องพิจารณาการเพิ่มจำนวนของเซลล์เนื้อเยื่อเป็นลำดับแรกก่อน ดังนั้นเนื้อเยื่อไ้ปลาไหลของชุดควบคุมยังมีจำนวนเซลล์น้อยกว่าไ้ปลาไหลที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยระบบ TIB ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน เป็นความถี่ที่เหมาะสมที่สุด สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อไ้ปลาไหลเกิดหัวย่อยเฉลี่ยสูงสุด 13.00 ± 0.15 หัว/ชิ้นเนื้อเยื่อ (Figure 3) และจำนวนใบเฉลี่ย 34.00 ± 2.29 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ (Figure 4c) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 1)

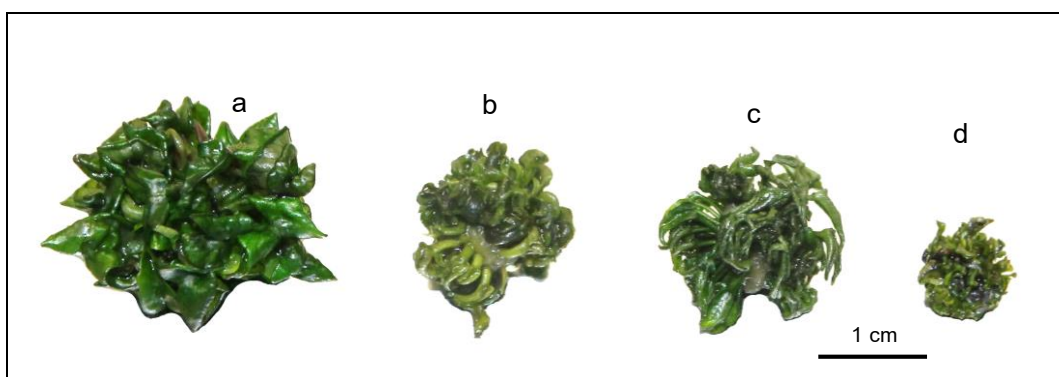


Figure 2 Shrub diameter of *Barclaya longifolia* in (a) control in traditional systems (b) temporary immersion bioreactor (TIB) 3 times a day (c) TIB 6 times a day and (d) TIB 12 times a day

สำหรับการชักนำให้เกิดหัวย่อยในชุดควบคุมพบว่ามีจำนวนหัวย่อยเกิดขึ้นเฉลี่ยเพียง 7.33 ± 0.17 หัว/ชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งจำนวนหัวย่อยเกิดขึ้นน้อยกว่าเนื้อเยื่อไ้ปลาไหลที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน โดยมีอัตราการเพิ่มขึ้นของจำนวนหัวย่อยคิดเป็น 77.35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และหัวย่อยเหล่านี้สามารถเจริญเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ต่อไป ส่วนชุดการทดลองที่ให้อาหาร 12 ครั้งต่อวัน ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่ได้รับอาหารจำนวนครั้งมากที่สุด พบว่าความถี่และแรงดันในการให้อาหารแต่ละครั้งทำให้เนื้อเยื่อของไ้ปลาไหลบางส่วนของบอช้ำและได้รับความเสียหาย เนื้อเยื่อบางชิ้นส่วนไม่สามารถพัฒนาเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ (Figure 4d) การได้รับอาหารในปริมาณที่มากเกินไปถึง 12 ครั้งต่อวัน ส่งผลให้อัตราการเกิดหัวย่อยลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Zhao *et al.* (2009) ที่รายงานว่าปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชใน TIB นั้น คือความถี่ในการให้อาหาร ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีความต้องการปริมาณอาหารไม่

เท่ากัน หากพืชชนิดนั้น ๆ ที่เพาะเลี้ยงใน TIB ได้รับปริมาณอาหารมากเกินไป อาจทำให้อัตราการเกิดต้นลดลงได้

อย่างไรก็ตามผลการศึกษาค้างนี้พบว่าระบบ TIB สามารถชักนำและกระตุ้นให้น้ำเลี้ยงได้ปลาไหลให้พัฒนาไปเป็นหอยได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที ได้ผลดีที่สุด สามารถชักนำให้เกิดหอยได้ 13.0 หัว/ชิ้นเนื้อเยื่อ แตกต่างจากการทดลองของ Saiphattana (2010) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำอเนกประสงค์ *Anubias nana* ในระบบ TIB ที่มีการให้อาหาร 2 และ 4 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที พบว่าการให้อาหาร 4 ครั้งต่อวัน ให้ผลดีที่สุด มีจำนวนต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ 8.3 ต้น ส่วนการทดลองของ Muensumran (2012) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออเมซอน *Echinodorus* sp. ในระบบ TIB ที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที เปรียบเทียบกับระบบการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีจำนวนต้นต่อกลุ่มมากที่สุด 6.3 ต้น จะเห็นได้ว่าอเนกประสงค์และอเมซอนเป็นพรรณไม้น้ำชายน้ำ (marginal plants) ที่มักจะขึ้นตามชายน้ำ ริมตลิ่ง หรือหนองน้ำที่ท่วมขังตื้น ๆ (Sripen, 1987) ซึ่งแตกต่างจากต้นปลาไหลที่เป็นพรรณไม้น้ำใล้น้ำ (emerged plants) โดยมีรากและลำต้นเจริญอยู่พื้นดินใต้น้ำ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลาไหลในระบบ TIB โดยใช้ความถี่ในการให้อาหารมากถึง 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที จึงให้ผลดีกว่า เนื่องจากเนื้อเยื่อได้รับอาหารใกล้เคียงกับสภาพธรรมชาติของต้นปลาไหล ที่รากและลำต้นอยู่ใต้น้ำ ซึ่งสามารถดูดซึมอาหารได้ตลอดเวลา

Table 1 Effect of feeding frequency per day on growth of *Barclaya longifolia* in temporary immersion bioreactor compared to control at 6 weeks

Feeding frequency per day	Bulblets per explant	Leaves per explant	Shrub diameter per explant (cm)	Wet weight per explant (g)	Growth index
control	7.33±0.17 ^c	28.11±1.73 ^a	2.76±0.18 ^a	0.99±0.03 ^a	5.82±0.20 ^a
3	9.93±0.69 ^b	20.80±1.68 ^b	1.09±0.14 ^b	0.30±0.02 ^b	1.75±0.10 ^b
6	13.00±0.15 ^a	34.00±2.29 ^a	1.39±0.14 ^b	0.32±0.03 ^b	1.90±0.16 ^b
12	1.13±0.57 ^d	5.67±2.83 ^c	0.47±0.24 ^c	0.06±0.03 ^c	0.33±0.17 ^c

Different letters in column are different significantly (P<0.05).



Figure 3 Bulblets of *Barclaya longifolia* from TIB feeding 6 times daily for 6 weeks.

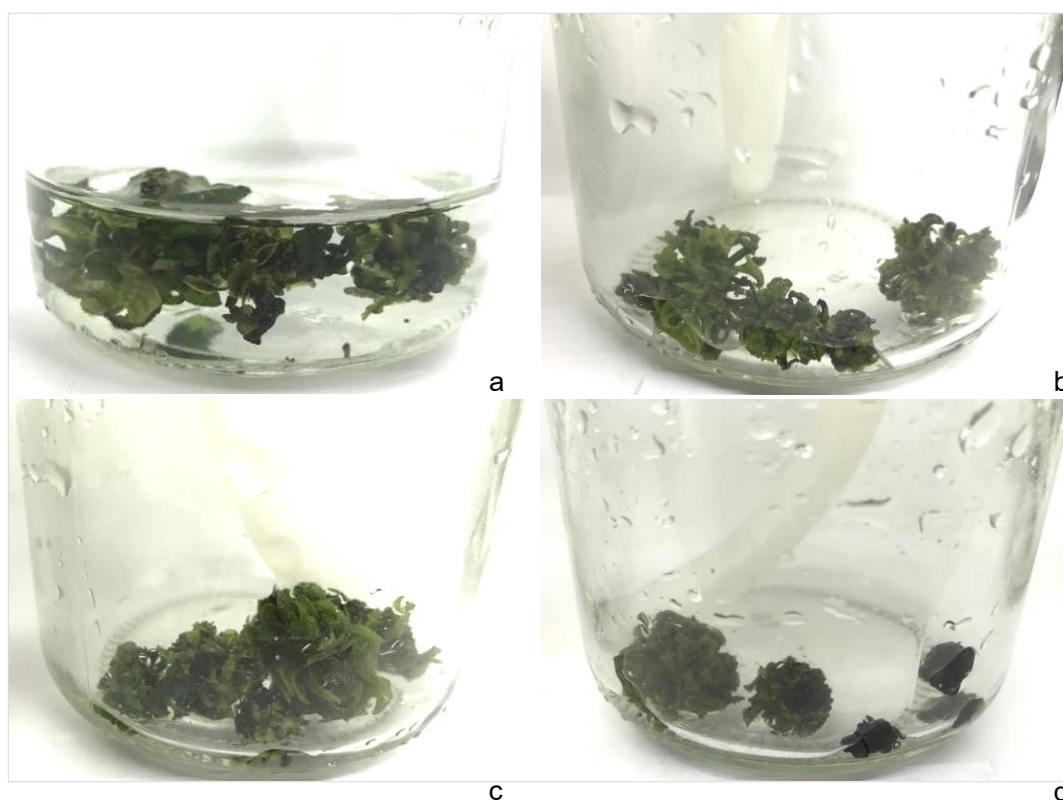


Figure 4 Tissue culture of *Barclaya longifolia* in (a) control in traditional systems (b) temporary immersion bioreactor (TIB) 3 times a day (c) TIB 6 times a day and (d) TIB 12 times a day

นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดลองของ Te-chato *et al.* (2017) ที่ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูก *Lepironia articulata* ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบเติมอากาศ (air bubble bioreactor) โดยการถ่ายอากาศเข้าไปในขวดเพาะเลี้ยงที่มีอาหารและเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงรวมกัน เป็นเวลา 10 นาที ใน 3 ช่วงเวลา คือ 4, 8 และ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุก 4 ชั่วโมง ที่มีการเติมอากาศ หรือเป็นการเติมอากาศ 6 ครั้งต่อวัน

ให้ผลการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.20 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ และความสูงของยอดเฉลี่ย 10.28 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากรูปแบบการเพาะเลี้ยงได้ปลาไหลในการทดลองนี้ เนื่องจากระบบการเพาะเลี้ยงได้ปลาไหลเป็นระบบที่อาหารและเนื้อเยื่อแยกภาชนะกัน (fed-batch) ส่วนกระจุเพาะเลี้ยงในระบบที่อาหารกับเนื้อเยื่ออยู่ในภาชนะเดียวกัน (batch) ดังนั้นรูปแบบของการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จะส่งผลกระทบต่อผลผลิตพืชที่แตกต่างกันออกไป (Sajc *et al.*, 2000; Zobayeda *et al.*, 2004) ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ให้ประสบความสำเร็จนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับรูปแบบหรือระบบการเลี้ยงแล้ว ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพรรณไม้น้ำในระบบ เช่น ความถี่ในการให้อาหาร พืชแต่ละชนิดมีความต้องการปริมาณอาหารไม่เท่ากัน ความถี่ในการให้อาหารที่เพียงพอและเหมาะสมจะทำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเจริญพัฒนาได้ดี แต่หากพืชที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ได้รับความถี่ในการให้อาหารบ่อยทำให้ได้รับปริมาณอาหารมากเกินไป อาจทำให้เกิดการติดต้นลงได้ (Zhao *et al.*, 2009) และปริมาณในการให้อากาศที่เหมาะสม มีความจำเป็นในพืชแต่ละชนิด ต้องมีการปรับระบบการให้อากาศ และแรงดันอากาศในการเลี้ยงอย่างเหมาะสม จากรายงานของ Sajc *et al.* (2000) พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวนั้นหากขาดอากาศจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นพืชขนาดเล็ก นอกจากนี้ความหนาแน่นของต้นพันธุ์เริ่มต้นมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาต้นพืชในระบบ TIB เช่นกัน (Thanh *et al.*, 2014)

สรุปผลการศึกษา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำได้ปลาไหลใน TIB ที่มีความถี่ในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน เป็นความถี่ในการให้อาหารที่เหมาะสมที่สุด สามารถชักนำให้เกิดห้วอยเฉลี่ยสูงสุด (13.00 ± 0.15 ห้ว/ชิ้นเนื้อเยื่อ) และจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด (34.00 ± 2.29 ใบ/ชิ้นเนื้อเยื่อ) นอกจากนี้การนำ TIB มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำนั้น สามารถช่วยลดต้นทุนการผลิต อีกทั้งเพิ่มความรวดเร็วและลดขั้นตอนในการเพาะขยายพันธุ์ จึงเป็นเทคนิคทางเลือกที่ดีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำไทยชนิดอื่น ๆ เพื่อการอนุรักษ์ต่อไป อย่างไรก็ตาม TIB มีความเสี่ยงในการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ง่าย หากจัดการระบบการเลี้ยงไม่ดีพอ นอกจากนี้พืชแต่ละชนิดมีความต้องการปริมาณอาหารไม่เท่ากัน จึงจำเป็นต้องศึกษาลักษณะของพืชแต่ละชนิดก่อนการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะแตกต่างกับระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบปกติ

เอกสารอ้างอิง

- Alrard, D., Cote, F. and Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 32: 55-60.
- Berthouly, M. and Etienne, H. 2005. Temporary Immersion System: A new concept. pp. 165-196. cited in Hvoslef-Eide, A.K. and Preil, W. (eds.) *Liquid culture system for in vitro plant propagation*. Dordrecht: Springer.
- Etienne, H. and Berthouly, M. 2002. Temporary immersion system in plant micropropagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 69(3): 215-231.

- Juffe Bignoli, D. 2011. *Barclaya longifolia*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T194024A8877322. [Online] Available from <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T194024A8877322.en> [2018, August 13].
- Muensumran, W. 2012. Micropropagation of *Echinodorus* sp. by Temporary Immersion Bioreactor. Master of Science in Biotechnology, Maejo University, Changmai. 76 p. [in-Thai]
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.
- Saiphattana, P. 2010. Micropropagation of *Anubias nana* Engler in Temporary Immersion Bioreactor System. Master of Science in Fisheries Technology, Maejo University. Changmai. 92 p. [in-Thai]
- Siripen, S. 1987. Aquatic Plant. Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok. 233 p.
- Sajc, L., Grubisic, D. and Novakovic, G.V. 2000. Bioreactors for plant engineering: an outlook for further research. *Biochemical Engineering Journal* 4: 89–99.
- Te-chato, S., Yuso, A. And Domyoas, P. 2017. Proliferation of *Lepironia articulate* from culturing shoots by air bubble bioreactor. *Princess of Naradhiwas University Journal* 9(2): 83-88. [in Thai]
- Thanh, N.T., Murthy, H.N. and Paek, K.Y. 2014. Optimization of ginseng cell culture in airlift bioreactors and developing the large-scale production system. *Industrial Crops and Product* 60: 343-348.
- Wangwibulkit, M. and Kasam, W. 2006. Micropropagation of *Barclaya longifolia* (Wallich, 1827). In *Proceeding the Conference on Fisheries Development Center*, July 25-27 2006, Department of Fisheries, Bangkok. pp. 417-428. [in Thai]
- Zhao, Y., Sun, W., Wang, Y., Saxena, P.K. and Liu, C.Z. 2009. Improved mass multiplication of *Rhodiola crenulata* shoots using temporary immersion bioreactor with forced ventilation. *Applied Biochemistry Biotechnology* 166: 1480-1490.
- Zobayeda, S.M.A., Murcha, S.J., Rupasingheb, H.P.V. and Saxena, P.K. 2004. In vitro production and chemical characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. cv 'New Stem'). *Plant Science* 166: 333–340.

ผลของอุณหภูมิลมร้อนต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้งและคุณภาพของกุ้งกะต๋อม

Effect of Hot-air Temperature on Drying Kinetics and Quality of Dwarf Prawn

อมมี เบญจมะ* สุธา เกลาจิต และพายัพ มาศนิยม

Ommee Benjama* Sutha Klaocheed and Payap Masniyom

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี 94000

Division of Fishery Technology, Faculty of Science and Technology,

Prince of Songkla University, Muang, Pattani Province, THAILAND, 94000

*Corresponding author: omme.b@psu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิลมร้อนต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้งกุ้งกะต๋อม และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และอัตราการดูดน้ำกลับ การอบแห้งแปรอุณหภูมิลมร้อน 3 ระดับ คือ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และใช้ความเร็วลม 1.5 เมตรต่อวินาที นำข้อมูลจากการทดลองมาคำนวณอัตราส่วนความชื้นที่เวลาในการอบแห้งต่างๆ และใช้วิธีการถดถอยแบบไม่เป็นเส้นตรงทดสอบความสอดคล้องของกราฟการอบแห้งจากการทดลองด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ทั้งนี้แบบจำลองที่อธิบายผลเข้ากันได้ดีกับผลการทดลองประเมินได้จากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) และค่าการลดลงไคสแควร์ (χ^2) ผลการศึกษาพบว่าแบบจำลองของ Midilli *et al.* ให้ผลดีที่สุด

ผลของอุณหภูมิลมร้อนที่มีต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์พบว่า การอบแห้งที่อุณหภูมิลมร้อน 70 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นและค่าวอเตอร์แอกทิวิตีที่น้อยที่สุด และค่า L^* สูงสุด ($P < 0.05$) เมื่อนำกุ้งที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส มาศึกษาการดูดน้ำกลับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ผลพบว่าค่าอัตราการดูดน้ำกลับ ค่าความชื้นและวอเตอร์แอกทิวิตีของกุ้งหลังดูดน้ำกลับไม่แตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) ดังนั้นการอบแห้งกุ้งโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนระหว่าง 50 ถึง 70 องศาเซลเซียส สามารถนำมาใช้เพื่อเก็บรักษากุ้งกะต๋อมได้ โดยส่งผลต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของกุ้งเล็กน้อย ความชื้นและค่าวอเตอร์แอกทิวิตีของกุ้งแห้งเป็นไปตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ TAS 7012-2008

คำสำคัญ: กุ้งกะต๋อม อุณหภูมิลมร้อน แบบจำลองการอบแห้ง คุณภาพ การดูดน้ำกลับ

Abstract

The aim of this research was to investigate the effect of hot-air temperature on drying kinetics of dwarf prawn and quality of products (moisture content, water activity, colour values (L^* , a^* and b^*) and rehydration rate. The prawn was subjected to convective drying at three different temperatures of 50, 60 and 70 °C with a constant air velocity of 1.5 m/s. The moisture ratio (MR) at different drying time was calculated from experimental data. A nonlinear regression procedure was used to fit

experimental drying curves with the most used mathematical models. The highest coefficient of determination (R^2) and the reduced chi-square (χ^2) were used to assess the goodness of fit for the model. It was found that the Midilli *et al.* model gave the best fit.

The influence of air drying temperature on chemical and physical quality of product showed that at 70°C, water activity and moisture content of the product were the lowest while its L^* value was the highest ($P < 0.05$). The dried prawn samples at 50, 60 and 70°C were allowed to rehydrate at 30°C in distilled water for 6 h. The results showed the rehydration ratio, moisture content and water activity of rehydrated samples had no significant values ($P \geq 0.05$). Therefore, the air drying temperature between 50–70°C could be able to preserve dwarf prawn with slightly effect on the quality of products. The moisture content and water activity of dried prawn products were consistent with Thai agricultural standard (TAS 7012–2008 Dried shrimp).

Keywords: dwarf prawn, hot-air temperature, drying models, quality, rehydration

คำนำ

กุ้งกะต๋อม (Dwarf prawn) อยู่ในวงศ์ Palaemonidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Macrobrachium equidens* มีขนาดเล็กความยาวประมาณ 5-6 เซนติเมตร รูปร่างคล้ายคลึงกับกุ้งก้ามกราม แต่ขนาดเล็กกว่า หัวค่อนข้างโตและลำตัวเรียวเล็ก นัยน์ตามีสีดำ กริแหลมหยักเป็นฟันเลื่อย ขาเดินคู่ที่สองมีขนาดใหญ่และยาวกว่าขาเดินคู่อื่นๆ ส่วนปลายเป็นก้ามหนีบ เปลือกที่ปกคลุมค่อนข้างแข็ง มีสีเหลืองเหลืองหรือขาวนวล ลำตัวค่อนข้างใส อาศัยตามชายฝั่งทะเลในที่ตื้น พื้นท้องทะเลเป็นโคลนโดยเฉพาะตามรากของต้นแสม ต้นโกงกาง หรือตามแอ่งน้ำที่น้ำทะเลซัง กินตัวอ่อนของแมลงน้ำเป็นอาหาร นิยมใช้ประกอบอาหารหรือนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพื่อเก็บรักษาให้นานขึ้น เช่น กุ้งหวาน กุ้งต้ม กุ้งแช่แข็ง และกุ้งแห้ง (Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2002) ทั้งนี้สัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นแหล่งของโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด อีกทั้งมีวิตามินและแร่ธาตุ อย่างไรก็ตามสัตว์น้ำหลังจากตายมักเกิดการเน่าเสียได้ง่าย จึงจำเป็นต้องมีการแปรรูปอย่างรวดเร็วภายใน 1 ถึง 2 ชั่วโมง วิธีการที่ไม่ยุ่งยากและประหยัดค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติ คือ การอบแห้ง (Toujani *et al.*, 2013)

การอบแห้งด้วยลมร้อนเป็นวิธีการทำแห้งที่นิยมใช้มากในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร รวมทั้งสาหร่ายและสัตว์น้ำ (Gupta *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2013; Toujani *et al.*, 2013) กระบวนการอบแห้งมีทั้งการถ่ายเทความร้อนและมวลสารพร้อมกัน โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำ ทั้งนี้อุณหภูมิเป็นตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้ง หากอุณหภูมิสูงมีผลต่อการเร่งอัตราการอบแห้ง แต่อาจส่งผลให้เกิดการสูญเสียการยอมรับทางประสาทสัมผัส การเกิดออกซิเดชัน การเปลี่ยนแปลงด้านเนื้อสัมผัส สี รูพรุน (porosity) สมบัติเชิงหน้าที่ ลักษณะการดูดซับ (adsorption) รวมทั้งสูญเสียคุณค่าสารอาหารของผลิตภัณฑ์ (Gupta *et al.*, 2011) ดังนั้นการทราบถึงข้อมูลด้านจลนพลศาสตร์การอบแห้งและผลกระทบต่างๆ ที่เกิดขึ้น สามารถนำไปใช้ในการควบคุมกระบวนการอบแห้งที่เหมาะสม เพื่อ

ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Gupta *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2013) ทั้งนี้แนวทางการศึกษาพฤติกรรมระหว่างการอบแห้งผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ สามารถใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์สำหรับทำนายจลนพลศาสตร์การอบแห้งหรือการถ่ายเทมวลสารของน้ำและการศึกษาไอโซสแตอริกฮีท (isosteric heat) ของการดูดซับ สำหรับแบบจำลองศึกษาจลนพลศาสตร์การอบแห้งของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและสัตว์น้ำที่ใช้กันส่วนมาก เช่น แบบจำลอง Newton, Page, Henderson&Pabis, Logarithmic, Two terms, Diffusion approximation, Verma *et al.* และ Midilli *et al.* (Toujani *et al.*, 2013; Inyang *et al.*, 2018) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์การอบแห้งกุ้งก้ามกรามที่อุณหภูมิลมร้อน 3 ระดับ คือ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยนำผลการทดลองไปวิเคราะห์ความเข้ากันได้ด้วยแบบจำลองคณิตศาสตร์ 10 แบบจำลอง รวมทั้งศึกษาคุณภาพทางเคมีและกายภาพบางประการของกุ้งแห้ง ซึ่งผลจากการศึกษานี้สามารถทราบได้ว่าแบบจำลองใดอธิบายผลเข้ากันได้ดีกับผลการทดลอง อีกทั้งใช้เป็นแนวทางในการควบคุมกระบวนการอบแห้งให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพมาตรฐาน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

กุ้งก้ามกราม (Dwarf prawn) ที่เก็บเกี่ยวจากแหล่งน้ำชายฝั่ง บริเวณตำบลรูสะมิแล อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี นำกุ้งมาทำความสะอาด เอาสิ่งแปลกปลอมออก สุ่มตัวอย่างกุ้งนำมาวัดขนาด น้ำหนักตัว และเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปศึกษาต่อไป

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำกุ้งก้ามกรามมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธี AOAC (2000) และวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตีโดยใช้เครื่องวัดวอเตอร์แอคทิวิตี (Novasina รุ่น AW Sprint)

3. วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 กระบวนการอบแห้งกุ้งก้ามกราม

นำกุ้งก้ามกรามมาทำละลายและล้างทำความสะอาด นำไปลวกในน้ำเดือดนาน 2 นาที และสะเด็ดน้ำ จากนั้นนำไปแช่ใส่ถาด (ขนาด 25X25 ตารางเซนติเมตร) น้ำหนัก 145 ± 2 กรัมต่อถาด เกลี่ยให้ทั่วถาด จำนวน 3 ถาด นำไปศึกษาการอบแห้งโดยใช้ตู้อบแห้งลมร้อน (Tray dryer รุ่น HT02) โดยแปรระดับอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ควบคุมความเร็วลม 1.5 ± 0.1 เมตรต่อวินาที และความชื้นสัมพัทธ์ $65 \pm 5\%$ (ตรวจสอบโดยใช้เครื่องวัดความเร็วลมและความชื้นสัมพัทธ์) ชั่งน้ำหนักกุ้งระหว่างอบแห้งทุก 30 นาที และบันทึกอุณหภูมิลมร้อน โดยอบแห้งจนกระทั่งน้ำหนักของกุ้งมีค่าคงที่หรือเข้าสู่สภาวะสมดุล ชั่งน้ำหนักแห้งของกุ้งและนำไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธีของ AOAC (2000)

3.2 การศึกษาจลนพลศาสตร์การอบแห้งกึ่งกะต้อมจากการทดลองและแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

นำข้อมูลจากการทดลองการอบแห้งกึ่งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส มาคำนวณอัตราส่วนความชื้นของกึ่ง (moisture ratio, MR) ที่เวลาในการอบแห้งต่าง ๆ โดย MR คำนวณจาก

$$MR = (W - W_e) / (W_0 - W_e) \quad (1)$$

เมื่อ W คือ ความชื้นที่เวลาใด ๆ W_e คือความชื้นสมดุล W_0 คือ ความชื้นเริ่มต้น ทั้งนี้ค่าความชื้นคำนวณจากหน่วยกรัม (g) ของน้ำหนักน้ำต่อน้ำหนักของแข็งแห้ง

การศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์กระบวนการอบแห้ง ได้ใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์แบบกึ่งทฤษฎี (semi-theoretical) 10 แบบจำลอง (Table 1) โดยนำผลอัตราส่วนความชื้นของกึ่ง (moisture ratio, MR) ที่เวลาในการอบแห้งจากการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยวิธีการถดถอยแบบไม่เป็นเชิงเส้นเพื่อเลือกสมการที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) และค่าการลดลงไคสแควร์ (χ^2) (Toujani *et al.*, 2013) ที่คำนวณได้จากสมการ

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{\sum_{i=1}^N (\overline{MR}_{exp,i} - MR_{pre,i})^2} \quad (2)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N - m} \quad (3)$$

เมื่อ $MR_{exp,i}$, $MR_{pre,i}$ และ $\overline{MR}_{exp,i}$ คือ อัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการทดลอง การทำนาย และอัตราส่วนความชื้นเฉลี่ยจากการทดลอง ส่วน N และ m คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมดและจำนวนค่าคงที่ในแบบจำลอง ทั้งนี้ $\overline{MR}_{exp,i}$ คำนวณได้จากสมการ

$$\overline{MR}_{exp,i} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N MR_{exp,i} \quad (4)$$

Table 1 Mathematical models of drying kinetic

Model Name	Equation
Newton	$MR = \exp(-kt)$
Page	$MR = \exp(-kt^n)$
Modified Page	$MR = \exp[-(kt)^n]$
Henderson and Pabis	$MR = a \exp(-kt)$
Logarithmic	$MR = a \exp(-kt) + c$
Two terms	$MR = a \exp(-k_0 t) + b \exp(-k_1 t)$
Two-term exponential	$MR = a \exp(-kt) + (1-a) \exp(-kat)$
Diffusion approximation	$MR = a \exp(-kt) + (1-a) \exp(-kbt)$
Verma <i>et al.</i>	$MR = a \exp(-kt) + (1-a) \exp(-gt)$
Midilli <i>et al.</i>	$MR = a \exp(-kt^n) + bt$

Source: Inyang *et al.* (2018)

3.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิอบแห้งต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการดูดน้ำกลับ

3.3.1 ศึกษาคุณภาพทางเคมีและกายภาพของกุ้งกะต๋อมหลังอบแห้งที่อุณหภูมิอบแห้ง 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- ความชื้นของกุ้งหลังอบแห้ง วิเคราะห์โดยวิธีอบแห้ง (AOAC, 2000)
- ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี วัดโดยใช้เครื่องวัดวอเตอร์แอคทิวิตี (Novasina รุ่น AW Sprint)
- ค่าสี วัดสีผิวของกุ้งแห้ง ได้แก่ ค่าความสว่าง (L^*) สีเขียว-แดง (a^*) และสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*) โดยส้อมตัวอย่างกุ้ง 15 ตัว มาวัดด้วยเครื่องวัดสี (HunterLab รุ่น Color Quest XE)

3.3.2 ทดสอบการดูดน้ำกลับ (rehydration test) ของผลิตภัณฑ์โดยนำตัวอย่างกุ้งแห้งประมาณ 5 กรัม นำไปแช่น้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) จากนั้นชั่งน้ำหนักกุ้งในช่วงเวลาต่าง ๆ และคำนวณอัตราส่วนการดูดน้ำกลับจากสมการ

$$\text{Rehydration ratio } (R_o) = W_t / W_d \quad (5)$$

เมื่อ W_t คือ น้ำหนักตัวอย่างกุ้งหลังการดูดน้ำกลับ (กรัม) ที่เวลาใดๆ และ W_d คือ น้ำหนักตัวอย่างกุ้งแห้งก่อนดูดน้ำกลับ (กรัม)

3.3.3 นำตัวอย่างกุ้งหลังทดสอบการดูดน้ำกลับ ไปวิเคราะห์ความชื้นและวอเตอร์แอคทิวิตี

3.3.4 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การอบแห้งกุ้งกะต๋อม

ผลการศึกษาขนาด น้ำหนัก และองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งกะต๋อมสด พบว่า มีขนาดยาว 5.5 – 7.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 1.0 – 1.7 กรัมต่อตัว ความชื้น 78.59 ± 0.19 % โดยน้ำหนักฐานเปียก (wb) หรือ 290.12 ± 8.65 % โดยน้ำหนักฐานแห้ง (db) และมีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี 0.995 ± 0.000 มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 56.91 ± 0.39 3.72 ± 0.39 และ 27.76 ± 0.89 % (db) ตามลำดับ

ผลการทดลองอบแห้งกุ้งกะต๋อมที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ได้แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้น (moisture ratio, MR) กับเวลาในการอบแห้ง (Figure 1) พบว่าช่วงเริ่มต้นปริมาณความชื้นในกุ้งสูง ทำให้มีการถ่ายเทมวลน้ำจากตัวกุ้งไปยังผิวหน้าเกิดขึ้นได้ง่ายและรวดเร็ว เมื่อระยะเวลาอบแห้งยาวนานขึ้น ความชื้นบริเวณผิวและภายในตัวกุ้งจะมีค่าต่ำลง จึงส่งผลให้อัตราการถ่ายเทมวลของน้ำจากตัวกุ้งไปยังผิวหน้าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการอบแห้งปลา silverside (Toujani *et al.*, 2011) และขึ้นปลาแอตแลนติก (Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) (Ortiz *et al.*, 2013) ทั้งนี้อัตราส่วนความชื้นของกุ้งกะต๋อมกับเวลาในการอบแห้งมีความสัมพันธ์ไม่เป็นเชิงเส้นแบบเอกซ์โพเนนเชียล

จากการเปรียบเทียบการอบแห้งกุ้งที่อุณหภูมิร้อนทั้ง 3 ระดับ จากการทดลองพบว่า การอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลานั้นกว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 42.1 และ 10.5% ตามลำดับ (Figure 1) เนื่องจากการใช้อุณหภูมิสูงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ได้รับความร้อนมากกว่าทำให้เกิดอัตราการถ่ายเทมวลของความร้อนออกจากผลิตภัณฑ์ได้เร็ว ดังนั้นจึงมีอัตราการอบแห้งสูงกว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำ

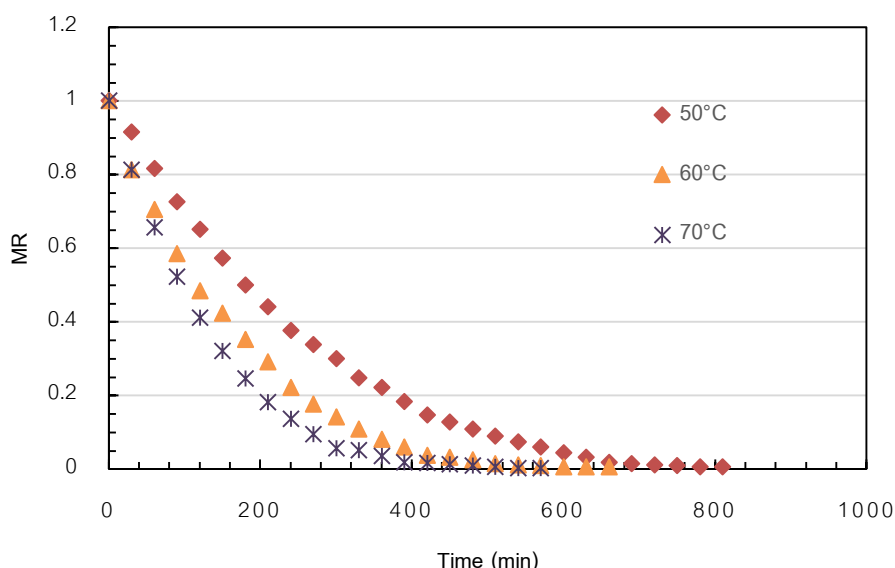


Figure 1 Moisture ratio versus drying time of Dwarf Prawn at different drying temperature

2. จลนพลศาสตร์การอบแห้งกุ้งกะต้อมจากการทดลองและแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้นของกุ้ง (moisture ratio, MR) กับเวลาในการอบแห้งที่อุณหภูมิอบแห้ง 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส จะถูกนำมาเขียนกราฟและศึกษาความเข้ากันได้โดยใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์ 10 แบบจำลอง ซึ่งผลการวิเคราะห์ค่าคงที่ต่าง ๆ ในแบบจำลองที่อุณหภูมิอบแห้งทั้ง 3 ระดับ แสดงใน Table 2 และเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) และค่าการลดลงไคสแควร์ (χ^2) เพื่อประเมินแบบจำลองที่เหมาะสมในการอธิบายจลนพลศาสตร์ของการอบแห้งกุ้งกะต้อม พบว่าแบบจำลอง Midilli *et al.* มีความเหมาะสมที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่า แบบจำลอง Diffusion approximation, Two-term exponential, Logarithmic และ Verma *et al.* สามารถอธิบายจลนพลศาสตร์ของการอบแห้งกุ้งเช่นกัน เนื่องจากมีค่า $R^2 > 0.990$ และมีค่า χ^2 ค่อนข้างต่ำ ซึ่งตัวอย่างกราฟแสดงค่าอัตราส่วนความชื้นของกุ้งอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กับเวลาในการอบแห้งจากการทดลองและแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทั้ง 10 สมการ แสดงดัง Figure 2

3. ผลของอุณหภูมิอบแห้งต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของกุ้งกะต้อม

คุณภาพทางเคมีและกายภาพของกุ้งแห้งแสดงดัง Table 3 พบว่า ผลิตภัณฑ์มีค่าความชื้นและวอเตอร์แอคทิวิตีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกุ้งแห้ง โดยกำหนดให้มีความชื้นไม่เกิน 30% และวอเตอร์แอคทิวิตีไม่เกิน 0.75 (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standard, Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2008) ทั้งนี้กุ้งที่อบแห้งอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีความชื้นและวอเตอร์แอคทิวิตี

แอดคิวิตีที่น้อยที่สุด ส่วนค่าสี (L^* และ b^*) ของกุ้งแห้งที่อบแห้งอุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ซึ่งเป็นผลจากระดับความร้อนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของกุ้งที่แตกต่างกัน

Table 2 Values of the parameters of the models for drying dwarf prawn at 50, 60 and 70°C

Models	T (°C)	Parameters of the models							Statistic parameters	
		k	n	a	b	c	k_0	k_1	g	χ^2 R ²
Newton	50	0.0053								0.003550 0.9534
	60	0.0072								0.001677 0.9700
	70	0.0091								0.000865 0.9841
Page	50	0.0007	1.3236							0.000524 0.9919
	60	0.0018	1.2401							0.000615 0.9944
	70	0.0037	1.1616							0.000168 0.9967
Modified Page	50	0.0036	1.4625							0.003530 0.9534
	60	0.0053	1.3481							0.001635 0.9700
	70	0.0073	1.2526							0.000965 0.9841
Henderson and Pabis	50	0.0057		1.1718						0.002940 0.9682
	60	0.0075		1.1086						0.001740 0.9766
	70	0.0095		1.089						0.000877 0.9886
Logarithmic	50	0.0040		1.1012		-0.064				0.000607 0.9940
	60	0.0056		1.0436		-0.0450				0.000227 0.9977
	70	0.0080		1.0383		-0.0206				0.000241 0.9976
Two terms	50			0.5322	0.5322		0.0047	0.0047		0.001269 0.9880
	60			0.5091	0.5091		0.0064	0.0064		0.000630 0.9939
	70			0.5136	0.5136		0.0085	0.0085		0.000370 0.9962
Two-term exponential	50	0.0061		1.7861						0.000398 0.9960
	60	0.0078		1.5924						0.000289 0.9969
	70	0.0104		1.6186						0.000167 0.9985
Diffusion approximation	50	0.0078		-36.816	0.9821					0.000369 0.9964
	60	0.0094		-32.517	0.9864					0.000278 0.9971
	70	0.0126		-17.322	0.9739					0.000139 0.9986
Verma <i>et al.</i>	50	0.0049		1.112					1.6017	0.000931 0.9909
	60	0.0065		1.0385					0.8739	0.000562 0.9942
	70	0.0089		1.0746					1.2646	0.000269 0.9974
Midilli <i>et al.</i>	50	0.0011	1.2418	0.9864	-1.53E-05					0.000345 0.9968
	60	0.0038	1.0869	0.9824	-3.955E-05					0.000234 0.9978
	70	0.0046	1.1163	0.996	-8.64E-06					0.000182 0.9985

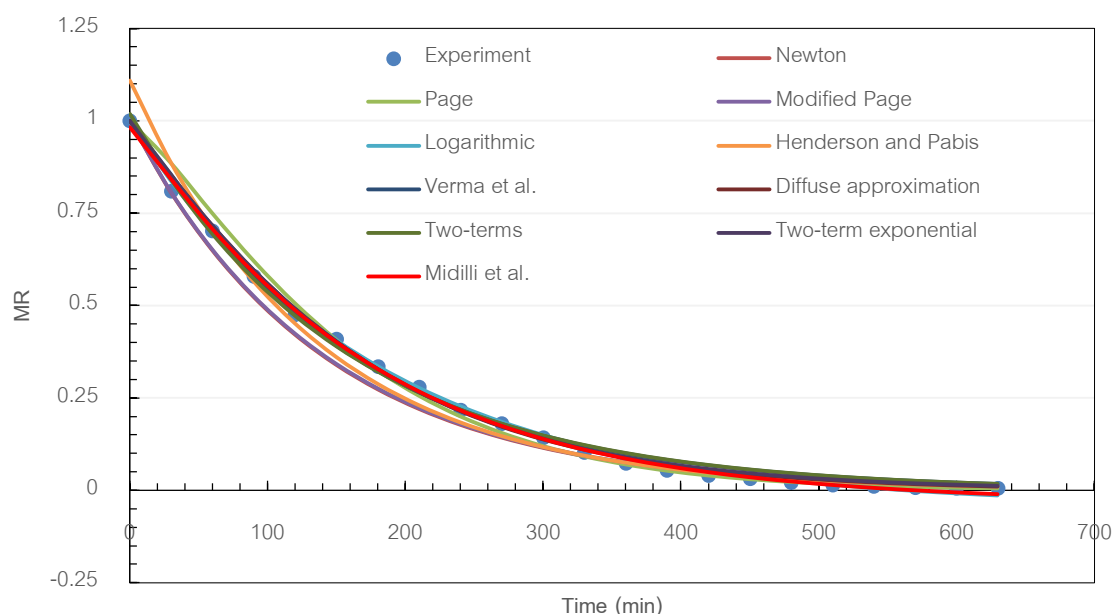


Figure 2 Comparisons of the experimental data and semi-theoretical models for drying dwarf prawn at 60°C

4. ผลการดูดน้ำกลับของกุ้งกะต๋อมแห้ง

ผลการทดสอบการดูดน้ำกลับของกุ้งแห้งทั้ง 3 ทรีทเมนต์ (Figure 3) พบว่า ระยะเวลาที่ทำให้กุ้งมีอัตราการดูดน้ำกลับมากที่สุดใช้เวลาประมาณ 300 นาที (6 ชั่วโมง) ซึ่งหลังทดสอบการดูดน้ำกลับ พบว่า อัตราส่วนการดูดน้ำกลับ ความชื้นและค่าวอเตอร์แอคทิวิตีของกุ้งทั้ง 3 ทรีทเมนต์ มีค่าไม่แตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับอุณหภูมิความร้อน 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ไม่ได้มีผลให้ลักษณะเนื้อเยื่อของกุ้งแห้งแตกต่างกัน ซึ่งอัตราส่วนการดูดน้ำกลับเป็นตัวบ่งชี้ที่ใช้ในการพิจารณาคุณภาพของอาหารแห้งในด้านการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างการอบแห้ง ซึ่งความร้อนในการอบแห้งอาจส่งผลให้การดูดน้ำกลับและความยืดหยุ่นของผนังเซลล์ลดลง เนื่องจากความร้อนทำให้โปรตีนจับตัวกัน ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง การใช้อุณหภูมิอบแห้งที่เหมาะสมจะทำให้เนื้อเยื่อเกิดความเสียหายน้อยและสามารถดูดน้ำกลับได้เร็วกว่า (Ortiz *et al.*, 2013) (Table 3)

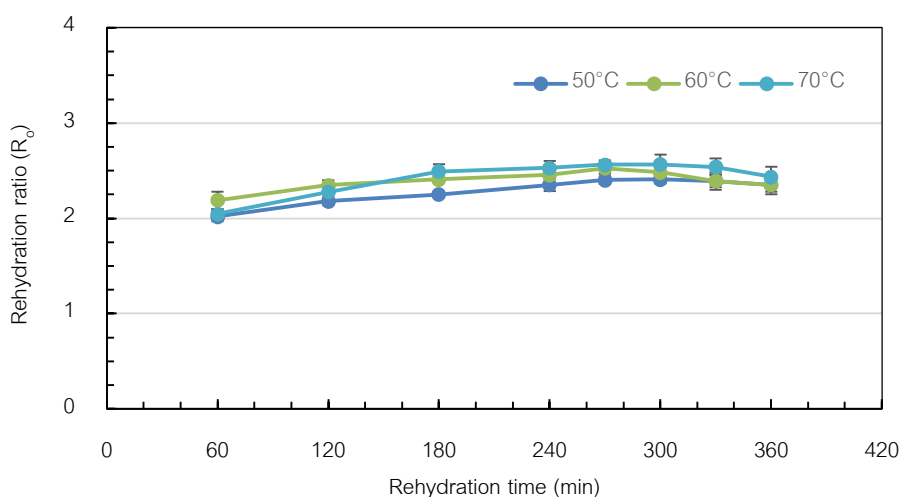


Figure 3 Rehydration ratio (R_0) of dried Dwarf Prawn

Table 3 Chemical and physical quality of dried and rehydrated of dwarf prawn

Quality parameters	Drying Temperature (°C)		
	50	60	70
Dried Sample			
Moisture content (% wb)	10.05±0.07 ^a	9.98±0.14 ^a	7.82±0.20 ^b
Water activity	0.558±0.014 ^a	0.516± 0.013 ^b	0.504±0.010 ^b
Colour L*	52.49±1.44 ^b	53.5±2.46 ^{ab}	55.71±3.18 ^a
a*	5.91±0.67 ^a	7.21±1.67 ^a	6.37±1.38 ^a
b*	14.86±1.76 ^b	17.09± 2.04 ^a	14.27±2.34 ^b
Rehydrated Sample			
Moisture content (% wb)	69.85±0.29 ^a	69.56±0.22 ^a	68.62±0.48 ^a
Water activity	0.991±0.001 ^a	0.992±0.001 ^a	0.992±0.001 ^a

Means with different superscript letters on the same row differ significantly ($P<0.05$)

สรุปผลการศึกษา

การอบแห้งกุ้งกะต๋อมโดยแปรรูปอุณหภูมิมีร้อน 3 ระดับ (50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส) พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้อัตราการอบแห้งเพิ่มขึ้นและใช้เวลาอบแห้งลดลง กราฟลักษณะการอบแห้งกุ้งกะต๋อมพบว่าค่าอัตราส่วนความชื้นกับเวลาในการอบแห้งมีความสัมพันธ์ไม่เป็นเชิงเส้นแบบเอกซ์โพเนนเชียล ซึ่งแบบจำลองที่อธิบายจลนพลศาสตร์ของการอบแห้งได้เหมาะสมมากที่สุด คือ แบบจำลอง Midilli *et al.* การศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งแห้งพบว่า มีค่าความชื้นและวอเตอร์แอคทิวิตีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อทดสอบการดูดน้ำกลับของกุ้งแห้งทั้ง 3 ทรีทเมนต์ พบว่าระยะเวลาที่ทำให้กุ้งมีอัตราการดูดน้ำกลับมากที่สุดใช้เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง โดยอัตราส่วนการดูดน้ำกลับ ความชื้นและวอเตอร์แอคทิวิตีของกุ้งหลังดูดน้ำกลับทั้ง 3 ทรีทเมนต์ มีค่าไม่แตกต่างกัน ($P\geq 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือเพื่อใช้ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington VA, U.S.A.
- Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 2002. Figures of Thai fish and aquatic animals. 4th ed. Business Organization of the Office of Welfare Promotion Commission for Teachers and Educational Personnel. Bangkok. 323 p. [in Thai]
- Gupta, S., Cox, S. and Abu-Ghannam, N. 2011. Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. LWT - Food Science and Technology. 44: 1266–1272.
- Inyang, U., Oboh, I. and Etuk, B. 2018. Kinetic models for drying techniques - Food materials. Advances in Chemical Engineering and Science. 8: 27–48.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standard, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 2008. Thai agricultural standard TAS 7012-2008 Dried shrimp. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Bangkok. 11 p.
- Ortiz, J., Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Puente-Díaz, L., Zura-Bravo, L. and Aubourg, S. 2013. Influence of air-drying temperature on drying kinetics, colour, firmness and biochemical characteristics of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. Food Chemistry. 139: 162–169.
- Toujani, M., Hassini, L., Azzouz, S. and Belghith, A. 2013. Experimental study and mathematical modeling of silverside fish convective drying. Journal of Food Processing and Preservation. 37: 930–938.



ประกาศมหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิเพื่ออ่านผลงานทางวิชาการ

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

เพื่อให้การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการสำหรับลงพิมพ์ในวารสารวิจัยเทคโนโลยี
การประมงเป็นไปด้วยความเรียบร้อย จึงให้ยกเลิกประกาศมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ลงวันที่ ๔ กันยายน
พ.ศ. ๒๕๕๘ และแต่งตั้งคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิเพื่ออ่านผลงานทางวิชาการ ดังต่อไปนี้

๑. ศาสตราจารย์ ดร.ทวนทอง จุฑาเกตุ
๒. ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต
๓. ศาสตราจารย์ ดร.สุทธวัฒน์ เบญจกุล
๔. ศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี จุลละคร
๕. ศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภานิช
๖. ศาสตราจารย์ ดร.สายสมร ลำยอง
๗. ศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร
๘. รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน
๙. รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เณรมวัฒน์
๑๐. รองศาสตราจารย์จำเนียร บุญมาก
๑๑. รองศาสตราจารย์ ดร.จารุมาศ เมฆสัมพันธ์
๑๒. รองศาสตราจารย์ ดร.ชโลบล วงศ์สวัสดิ์
๑๓. รองศาสตราจารย์ณัฐวรรตน์ ปภาวสิทธิ์
๑๔. รองศาสตราจารย์ ดร.ธำรงค์ อมรสกุล
๑๕. รองศาสตราจารย์ ดร.ธนัญญา ทรรพนันท์ ใจดี
๑๖. รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ
๑๗. รองศาสตราจารย์ ดร.นิวุฒิ หวังชัย

๑๘. รองศาสตราจารย์...

๑๘. รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณีต งามเสน่ห์
๑๙. รองศาสตราจารย์ ดร.เฟดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์
๒๐. รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญพรรณ ครีสกุลเดียว
๒๑. รองศาสตราจารย์ ดร.พรศิลป์ ผลพันธุ์ทิน
๒๒. รองศาสตราจารย์ ดร.มารีสา จาตุพรพิพัฒน์
๒๓. รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี ไพรรพพิศาล
๒๔. รองศาสตราจารย์ ดร.วิญญัติ มั่นทะจิตร
๒๕. รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง
๒๖. รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก
๒๗. รองศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ หวังเจริญ
๒๘. รองศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย ชูโชติ
๒๙. รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภมิตร เมฆฉาย
๓๐. รองศาสตราจารย์ ดร.สมพงษ์ คุณจินดาชาพร
๓๑. รองศาสตราจารย์ ดร.อัษฎารัตน์ เปี่ยมสมบูรณ์
๓๒. รองศาสตราจารย์ ดร.อลงกลด แทนออมทอง
๓๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา พยู่หะ
๓๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญญาณัฐ สุนทรประสิทธิ์
๓๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลยา ลีมรุ่งเรืองรัตน์
๓๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ครุฑ ศรีกุลนาถ
๓๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จกมล 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 เลิศสุทธิขวาล

๔๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์...

๔๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ ช้วนยุค
๔๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญ์ดี มนเทียรอาสน์
๕๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ
๕๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุ
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 ภูริวิโรจน์กุล
๕๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันชัย วรวัฒนเมธีกุล
๕๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศราวุธ เจ๊ะโละ
๕๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิจ
๖๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติวัฒน์ พิทักษ์พล
๖๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี
๖๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา เดวิดสัน
๖๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สถาพร ดิเรกบุษราคม
๖๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สำเนาวิ เสาวกุล
๖๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัมพันธ์ จันทร์ดำ
๖๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภินันท์ สุวรรณรักษ์
๖๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สงรักษ์
๖๘. ดร.พุทธ ส่องแสงจินดา
๖๙. ดร.ทัตพร คุณประดิษฐ์
๗๐. ดร.สุดาพร ตงศิริ
๗๑. ดร.อุดมลักษณ์ สมพงษ์

ประกาศ ณ วันที่ ๙ มีนาคม พ.ศ. ๒๕๖๐


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช)
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การเตรียมต้นฉบับ

เรื่องเต็มวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

1. **ต้นฉบับ** พิมพ์ด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรมไมโครซอฟเวิร์ด (Microsoft word) และส่งต้นฉบับ พร้อมสำเนา 1 ชุด และแผ่นบันทึกข้อมูล (CD) 1 แผ่น มาที่บรรณาธิการวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290 (หรือส่งไฟล์ Word และ PDF มาที่อีเมล jfishtech.mju.ac.th ; ซึ่งจะได้อีเมลยืนยันการได้รับเอกสารผลงานจากกองบรรณาธิการแล้วเท่านั้น)

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

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

2. รูปแบบ

2.1 **ตัวอักษร** ใช้ตัวอักษร Cordia New

2.2 **ชื่อเรื่อง** มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พิมพ์ตัวหนาขนาด 18 pt จัดให้อยู่กึ่งกลางหน้า

2.3 **ชื่อผู้วิจัยและผู้ร่วมวิจัย** ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พิมพ์ตัวอักษรหนาขนาด 14 pt จัดให้อยู่กึ่งกลางหน้า

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

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

2.6 **เนื้อหาในบทคัดย่อและเรื่องเต็ม** ให้ใช้ตัวอักษรขนาด 15 pt

2.7 เนื้อหาในเรื่องเต็ม

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

- ผลการวิจัย ควรเขียนให้กระชับและเป็นขั้นตอนที่เหมาะสม ถ้าเป็นไปได้ควรเสนอในรูปแบบของ ตาราง กราฟ หรือรูปภาพ

- **กราฟ รูปภาพและตาราง ให้เขียนคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด**

- **วิจารณ์ผล** ควรประกอบด้วยหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลองที่อาจสนับสนุนหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน ควรเน้นถึงปัญหาหรือโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่วิจัยตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์

- **สรุปผล** อาจรวมกับวิจารณ์ผล โดยสรุปสาระสำคัญของเนื้อหาเพียงสั้น ๆ

- คำขอบคุณ/กิตติกรรมประกาศ อาจมีหรือไม่มีก็ได้

- เอกสารอ้างอิง: วิธีเขียนดูตามตัวอย่าง 2.9

2.8 การตั้งค่าขอบกระดาษ ขอบบน (top) 3.0 ซม. ขอบล่าง (bottom) 2 ซม. ขอบซ้าย (left) 3.0 ซม. ขอบขวา (right) 2.5 ซม.

2.9 เอกสารอ้างอิง ซึ่งได้อ้างอิงในเนื้อเรื่องและบรรณานุกรม ให้เขียนเป็น**ภาษาอังกฤษทั้งหมด** ดังนี้

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

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

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

2.9.2 การอ้างอิงในบรรณานุกรม

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

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

- **เรียงลำดับตัวอักษรและสระ** ตามด้วยจำนวนผู้วิจัย/ผู้เขียน กรณีเป็นคนเดียวกันให้เรียงตามปี

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

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

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

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

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

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

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

144 p.

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

2.10 **ต้นฉบับที่ไม่ได้จัดเตรียมตามคำแนะนำจะถูกส่งคืนกลับเพื่อให้แก้ไขทันที**

3. งานเขียนที่จะได้รับการตีพิมพ์ต้องผ่านการกลั่นกรองและประเมินคุณภาพจากกองบรรณาธิการและผู้ทรงคุณวุฒิ

4. งานเขียนที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ต้องไม่อยู่ในระหว่างการเสนอเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่น หรือตีพิมพ์ที่ใดมาก่อนแล้ว

Guide for Authors

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

Preparation and Submission of Manuscripts

Authors submitting manuscripts for publication must follow the following guidelines.

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

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

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

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

2. Format

2.1 Cordia New font must be applied.

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

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

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

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

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

2.2 Manuscript texts should be prepared single column, with margins (right = 2.5 cm; left = 3.0 cm; top = 3.0 cm; bottom = 2 cm).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Citing documents cited in other documents; Put author's name and year of original document's publication, followed by "cited in" and secondary document's author's name and year of publication; (Choi *et al.*, 2004 cited in Kaewipitoon *et al.*, 2008) Online materials; (Yu and Mott, 1994: online)

2.9.2 Citation in reference list;

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

Reference to a journal article:

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

Reference to article or abstract in conference proceedings:

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

Reference to a book:

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

Reference to an edited book:

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

Reference to an electronic data source):

Yi, Y., Yang, Z., and Zhang, S. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. Environmental Pollution [Online]. Available from <http://www.sciencedirect.com/science/article/S029911100337X>[2011, December 12].

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

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

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

JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

(J. Fish. Tech. Res.)

ISSN 1905-7393

Honorable Consultants:

Maejo University President

Maejo University Vice President for Research

Dean of the Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources

Editor-in Chief: Asst. Prof. Dr. Prachuab Chaibu Maejo University

Editorial Board:

Prof. Dr. Piamsak Menasveta	Chulalongkorn University
Prof. Dr. Tuanthong Jutagate	Ubonratchatani university
Assoc. Prof. Dr. Vipoosit Manthachitra	Burapha University
Assoc. Prof. Dr. Kriangsak Meng-umphan	Maejo University
Assoc. Prof. Dr. Niwooti Wangchai	Maejo University
Asst. Prof. Dr. Samnao Saowakoon	Rajamangala University of Technology Isan
Asst.Prof.Dr. Pongsak Luadee	Prince of Songkla University
Asst. Prof. Dr. Chayakorn Pumas	Chiangmai University

Editorial Secretary: Asst. Prof. Dr. Chanagun Chitmanat Maejo University

Journal of Fisheries Technology Research is a publication of the Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University and is intended to make available the results of technical work in the fisheries, aquaculture, aquatic resources and related biological sciences. It is published twice a year. Contact with the Journal should be addressed

TO.....The Editor,

Journal of Fisheries Technology Research, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources,
Maejo University, Sansai, Chiang Mai 50290, Thailand

Tel: +66-53-87-5100 – 2 Fax: +66-53-87-5103 – 2

E-mail: jfishtech.mju@gmail.com

Web site: http://http://www.fishtech.mju.ac.th/WEB/Journal_FT/main/index.php



วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง

JOURNAL OF FISHERIES TECHNOLOGY RESEARCH

ปีที่ 14 เล่มที่ 1 : มกราคม - มิถุนายน 2563
Volume 14 Number 1 : January - June 2020

สารบัญวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ปีที่ 14 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน พ.ศ. 2563

สารบัญ

บรรณาธิการ

บทความวิจัย

	หน้า
การหมักการำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลานิล	1
เวาริรัตน์ แสนมาโนช	
ผลของความเค็มจากเกลือสินเธาว์ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลาดตะเพียนขาว (<i>Barbonymus gonionotus</i>)	11
ศตพร โนนคู่เขตโขง ขจรเกียรติ ศรีนวลสม ทศนีย์ อนุกุลประเสริฐ ธนสรณ์ รักดนตรี และรักพงษ์ เพชรคำ	
ความแตกต่างของขนาดและดัชนีความสมบูรณ์เพศเมียของกิ้งกั้งแตงสามแถบ (<i>Miyakella nepa</i>) ในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย	22
เพ็ญจันทร์ ละอองมณี มณฑนา สำเภา และชนินุช หิรัญสังจาเลิศ	
จุลกายวิภาคและสรีรวิทยาของอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกาบแหลมในแม่น้ำของกาเลีย ช่วงไหลผ่านอำเภอดงขลับบุรี	33
จังหวัดกาญจนบุรี ประเทศไทย	
ละม้าย ทองบุญ ศิลปชัย เสนารัตน์ เจษฎา เกษตระทัต พิธิษฐ์ พูลประเสริฐ เอสรา มงคลชัยชนะ ณัฐกิตติ์ โตอ่อน	
วิชญ์ ธงไชย และวรรณีย์ จิรธัญญ์กุล	
รายงานพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ครั้งแรกของปลานวลจันทร์เทป (<i>Cirrhinus cirrhosus</i> , Cyprinidae) ด้วยการย้อมสีแบบธรรมดา	44
และการย้อมแบบซิลเวอร์นอร์	
ประวีร์ณ์ สุพรรณอ่วม เชนจิรา มาหา สุขยา วิริยะการุณย์ ศิวพร หอมหวล และปริญญา มุลสิน	
ประสิทธิภาพของปลานิลเลี้ยงในกระชังช่วงฤดูร้อนบริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราช	55
สุไพล์หมาน หมาดโหด สุภาพร หนูชู สุรินทร์ บุญรอด และสุวรรณา หมาดโหด	
ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไรฟโทเนียม	65
วรางคณา กาซิม มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ	
การใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ในการเพิ่มผลผลิตพรรณไม้น้ำได้ปลาไหลของไทยเพื่อการอนุรักษ์	73
มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ นงนุช เลาหะวิสุทธิ สมเกียรติ สีสนอง ชนิกันต์ เซษฐสิงห์ และวรางคณา กาซิม	
ผลของอุณหภูมิมีผลต่อการลดผลผลิตการอบแห้งและคุณภาพของกุ้งก้ามกราม	82
อมมี เบญจมา สุธา เกลาฉิด และพายุพ มาศนิยม	