



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สัตววิทยา)

ปริญญญา

สัตววิทยา

สัตววิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง วงสืบพันธุ์และการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis*  
(*Limnoscapha*) *desowitzi* (Brandt, 1974) ในอาหารสังเคราะห์

Reproductive Cycle and Culture of Glochidia from the Freshwater Pearl Mussel  
*Hyriopsis* (*Limnoscapha*) *desowitzi* (Brandt, 1974) in Artificial Media

นามผู้วิจัย นางสาวลลิตภัทร ดวงสว่าง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( รองศาสตราจารย์อุทัยวรรณ โกวิทวที, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( รองศาสตราจารย์สมภพ นวิภาพ, วท.ม. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

วงสืบพันธุ์และการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด  
*Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) ในอาหารสังเคราะห์

Reproductive Cycle and Culture of Glochidia from the Freshwater Pearl Mussel  
*Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) in Artificial Media

โดย

นางสาวลลิตภัทร ดวงสว่าง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตววิทยา)

พ.ศ. 2553

ลลิตภัทร ดวงสว่าง 2553: วงสืบพันธุ์และการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลคิเดียของหอย  
มุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) ในอาหารสังเคราะห์  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตววิทยา) สาขาสัตววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ, Ph.D.  
58 หน้า

ศึกษาวงสืบพันธุ์โดยตรวจดูเซลล์ที่เจริญไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (germ cells) ระยะต่างๆใน  
อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gonad) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และการเจริญของตัวอ่อน  
ระยะโกลคิเดียใน marsupia โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ marsupia ของหอยมุกน้ำจืด  
*Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ทุกเดือนตลอดทั้งปี พบการเจริญของ germ cells และตัวอ่อน  
ระยะโกลคิเดียตลอดทั้งปี หอยเพศผู้พบ germ cell morulae 3 ระยะคือ early stage (spermatogonia)  
middle stage (spermatocytes) และ late stage (spermatids และ spermatozoa) ส่วนหอยเพศเมียพบ  
female germ cells 2 ระยะ คือ immature oocytes และ mature oocytes โดยอุณหภูมิไม่มีผลต่อการ  
สร้างเซลล์สืบพันธุ์ แต่มีผลต่อการเจริญของตัวอ่อนระยะโกลคิเดีย อุณหภูมิต่ำกว่า 28 องศาเซล  
เซียส จะพบตัวอ่อนระยะโกลคิเดีย ทั้งเหงือกชั้นนอกและชั้นใน ขณะที่อุณหภูมิสูงกว่า 28 องศา  
เซลเซียส จะพบเฉพาะเหงือกชั้นนอก การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์  
3.5 มิลลิลิตร ประกอบด้วย M199 แหล่งโปรตีน (พลาสมาปลา 3 ชนิดและซีรัมม้า) และยาปฏิชีวนะ/  
ยาป้องกันเชื้อรา ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ความหนาแน่นของโกลคิเดียเท่ากับ 100 ตัว อาหาร  
สังเคราะห์จากแหล่งโปรตีนของพลาสมาปลาในมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุด คือ  $99.6 \pm 0.7$   
การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลคิเดียโดยใช้พลาสมาปลาเป็นอาหารเสริมในความหนาแน่น  
ต่างกัน คือ 50-70, 71-90, 91-110, 111-150 และ 171-230 ตัวต่อจานเพาะเลี้ยงความหนาแน่น 50-  
70 มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตการมีชีวิตรอดสูงสุด คือ  $97.08 \pm 0.9$  อาหารทุกสูตรและทุกความ  
หนาแน่นมีการเปลี่ยนแปลงจากตัวอ่อนระยะโกลคิเดียไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ 100 เปอร์เซ็นต์

Lalipat Duangsawang 2010: Reproductive Cycle and Culture of Glochidia from the Freshwater Pearl Mussel *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) in Artificial Media. Master of Science (Zoology), Major Field: Zoology, Department of Zoology. Thesis Advisor: Associate Professor Uthaiwan Kovitvadhi, Ph.D. 58 pages.

The reproductive cycle and development of glochidia in marsupia of *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* were studied every month throughout the year. Various stages of germ cells from the gonad of both sexes were observed under a light microscope, while development of glochidia in marsupia was recorded as seen from its morphological changes. It was found that germ cells and glochidia development were continuously preceded all year round. Male germ cells morulae were found in 3 stages, i.e., early stage (spermatogonia), middle stage (spermatocytes morulae) and late stage (spermatid morulae and spermatozoa), while female germ cells was found in 2 stages, i.e., immature and mature oocytes. The temperature had no effect to gametogenesis but it played a crucial role on glochidia development. The marsupial in both outer and inner demibranch was found at the water temperature lower than 28 °C whereas outer demibranch could be formed at the temperature higher than 28 °C. Glochidia were cultured in artificial medium containing 3.5 ml of M199 medium, protein sources (different plasma sources from three fish species and horse serum), and antibiotics/antimycotic at a ratio of 2:1:0.5, and a density of 100 glochidia per dish under sterile conditions. Medium supplemented with *Cyprinus carpio* plasma resulted in 99.6±0.7% survival. The glochidia were cultured in medium containing fish *C. carpio* plasma with different densities (50-70, 71-90, 91-110, 111-150 and 171-230 glochidia per dish) under sterile conditions and the density 50-70 is highest in 97.08±0.9% of survival. These studies of the glochidia culture in different plasma sources and density levels of artificial medium, they were found that the percentage of transformation were 100.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำในการศึกษาตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.เขาวลัภณ์ จิตราวมวงศ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และ รศ.ดร.ประทีปย์ ตาบทิพย์วรรณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง ประสานการสอบ ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณมูลนิธิพระบรมราชานุสรณ์พระบาทสมเด็จพระปกเกล้าเจ้าอยู่หัวและสมเด็จพระนางเจ้ารำไพพรรณี สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุนวิจัยมหบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (TRF-MRG) ประจำปี พ.ศ. 2550 ภายใต้โครงการ MRG-WII505S031 รวมทั้งภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สนับสนุนทุนสำหรับทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.กรรณิกา ชัชวาลวนิช ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการจำแนกระยะการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยมุกน้ำจืด และ ผศ.ดร.สาธิต โกวิทวาทิ โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่ให้คำแนะนำการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำ ขอขอบคุณภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่อนุเคราะห์สถานที่สำหรับเลี้ยงหอยมุกน้ำจืดและปลา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้อง ปฏิบัติการภาควิชาสัตววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ ขอขอบคุณ คุณสายยันต์ เวชภัทร ในการเก็บตัวอย่างหอยมุกน้ำจืด และขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ภาควิชาสัตววิทยาและผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบให้แก่ บิดา มารดา ผู้อบรมเลี้ยงดูและให้กำลังใจข้าพเจ้าตลอดมาในทุกเรื่อง รวมทั้งขอมอบแด่ครู อาจารย์ ผู้ประสิทธิ์ประสาทความรู้แก่ข้าพเจ้าทั้งในอดีตและปัจจุบัน

ลลิตภัทร ดวงสว่าง

กุมภาพันธ์ 2553

## สารบัญ

|                            | หน้า |
|----------------------------|------|
| สารบัญ                     | (1)  |
| สารบัญตาราง                | (2)  |
| สารบัญภาพ                  | (3)  |
| คำนำ                       | 1    |
| วัตถุประสงค์               | 2    |
| การตรวจเอกสาร              | 3    |
| อุปกรณ์และวิธีการ          | 18   |
| ผลและวิจารณ์               | 24   |
| ผล                         | 24   |
| วิจารณ์                    | 32   |
| สรุปและข้อเสนอแนะ          | 38   |
| สรุป                       | 38   |
| ข้อเสนอแนะ                 | 38   |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง       | 39   |
| ภาคผนวก                    | 45   |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน | 58   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่                                                                                                                                                           | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 อัตราการเจริญเติบโตของ <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i> เพศผู้ และ เพศเมียที่เลี้ยงในบ่อดินตลอด 1 ปี                                                     | 27   |
| 2 การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมีบริเวณที่เลี้ยง <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i> ในบ่อดิน ระหว่างเดือนมิถุนายน ตลอด 1 ปี                         | 29   |
| 3 เปอร์เซ็นต์การรอดและการเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียไปเป็นหอยระยะ จูวีไนล์ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน 4 ชนิด                            | 30   |
| 4 เปอร์เซ็นต์การรอดและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ โกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์ ที่มีความหนาแน่นต่างกัน โดยพลาสมาปลาเป็นแหล่งโปรตีน                                      | 31   |
| <b>ตารางผนวกที่</b>                                                                                                                                                |      |
| 1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำบริเวณศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จ.ชัยนาท ที่เลี้ยง <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i> ซึ่งมีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ | 46   |
| 2 องค์ประกอบของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในพลาสมาปลาและซีรัมม้า                                                                                                       | 47   |
| 3 ส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์ M199                                                                                                                                | 50   |
| 4 การเจริญเติบโตของ <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i> ที่เลี้ยงในบ่อดินตลอด 1 ปี                                                                            | 51   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่                                                                           | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย                                   | 24   |
| 2 โครงสร้างของ demibranch และ marsupia                                           | 25   |
| 3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญของตัวอ่อนใน marsupial ตลอด 1 ปี                  | 26   |
| 4 เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i> ตลอด 1 ปี | 28   |
| <b>ภาพผนวกที่</b>                                                                |      |
| 1 ลักษณะเปลือกด้านนอกของ <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i>                | 52   |
| 2 ลักษณะภายในตัวของ <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i>                     | 52   |
| 3 วงชีวิตของ <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i>                            | 53   |
| 4 บ่อดินที่ใช้เลี้ยงหอย <i>Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi</i>                 | 53   |

วงสืบพันธุ์และการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะไกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis*  
(*Limnoscapha*) *desowitzi* (Brandt, 1974) ในอาหารสังเคราะห์

Reproductive Cycle and Culture of Glochidia from the Freshwater Pearl Mussel

*Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) in Artificial Media

คำนำ

หอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) จัดอยู่ในวงศ์ Amblesidae อันดับ Unionoida ชั้น Bivalvia ไฟลัม Mollusca เป็นสัตว์น้ำท้องถิ่น (native species) ของประเทศไทย หอยชนิดนี้มีศักยภาพในการผลิตไข่มุกได้เป็นลำดับที่ 3 รองมาจาก *Chamberlainia hainesiana* และ *Hyriopsis (Limnoscapha) myersiana* (อรภาและคณะ, 2549) หอยมุกน้ำจืดมีประโยชน์หลากหลาย เช่น เปลือกนำไปตากแห้งเครื่องเรือน เครื่องประดับ เครื่องใช้ และของที่ระลึก ซึ่งทำให้เกิดมูลค่าทางเศรษฐกิจ ส่วนของเนื้อมีโปรตีนสูงสามารถนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ (อุทัยวรรณ, 2545) นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยช่วยลดตะกอนของแหล่งน้ำ ปัจจุบันในแหล่งน้ำธรรมชาติมีจำนวนหอยลดลง เนื่องจากสภาพแวดล้อมทางน้ำเสื่อมโทรมลง ทำให้ปลาน้ำจืดซึ่งเป็นตัวให้อาศัย (host) ของตัวอ่อนระยะไกลคิเดียลดจำนวนลงและยังส่งผลให้หอยมีจำนวนลดลงตามไปด้วย

ดังนั้นการเพาะเลี้ยงหอยมุกน้ำจืดจึงมีความสำคัญ ปัจจุบันประเทศไทยสามารถเพาะเลี้ยงหอยมุกน้ำจืดหลายชนิดได้ครบวงจรตั้งแต่ระยะไกลคิเดียไปเป็นระยะจูวีไนล์ และจากระยะจูวีไนล์ไปเป็นตัวเต็มวัย ได้แก่ *C. hainesiana* (อรภาและคณะ, 2537) และ *H. (L.) myersiana* (Kovitvadhiet al., 2006) สำหรับหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) desowitzi* ยังไม่มีผู้ใดเพาะเลี้ยงได้ครบวงจร เนื่องจากยังขาดข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะวงสืบพันธุ์และการเจริญของตัวอ่อนของไกลคิเดีย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะหาช่วงเวลาของการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์และระยะเวลาของการเจริญของตัวอ่อนในรอบปี รวมทั้งการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะไกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยง *H. (L.) desowitzi* เพื่อการอนุรักษ์และการพัฒนาเป็นสัตว์ทางเศรษฐกิจต่อไปในอนาคต

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในรอบปี
2. ศึกษาการเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* เพศเมีย ในรอบปี
3. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอดของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* รวมทั้งคุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมี
4. ศึกษาการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนและความหนาแน่นที่แตกต่างกัน

## การตรวจเอกสาร

### อนุกรมวิธานและชีววิทยา

*Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* (Brandt, 1974) ชื่อท้องถิ่น คือ หอยขวานหรือหอยขาว  
แหล่งที่พบ คือ กลุ่มน้ำภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย  
(จุฑามาศ และคณะ, 2550) เป็นหอยกาน้ำจืดซึ่งสามารถนำมาผลิตไข่มุกได้ (อรภา และคณะ, 2549) มี  
การจัดลำดับอนุกรมวิธานตาม Brandt (1974)

|           |                            |
|-----------|----------------------------|
| Kingdom   | Animalia                   |
| Phylum    | Mollusca                   |
| Class     | Bivalvia                   |
| Subclass  | Schizodontida              |
| Order     | Unionoida                  |
| Family    | Amblemidae                 |
| Subfamily | Hyriopsinae                |
| Genus     | <i>Hyriopsis</i>           |
| Species   | <i>Hyriopsis desowitzi</i> |

*H. (L.) desowitzi* เป็นหอยสองฝา ลักษณะของเปลือกด้านนอก (ภาพผนวกที่ 1) เปลือกมี  
ขนาดกลางรูปไข่ ตรงกลางเปลือกค่อนข้างมาทางด้านบนจะมองเห็นได้ชัดเจน เปลือกหนาปาน  
กลาง ฝาทั้งสองข้างมีขนาดเท่ากัน เปลือกทางด้านหน้าและทางด้านหลังมีขนาดไม่เท่ากัน โดย  
เปลือกด้านหน้าจะโค้งแคบกว่าเปลือกทางด้านหลัง เปลือกทางด้านหน้าและด้านหลังจะมีปีกหรือ  
แฉ่งเห็นชัดเจน ปีกด้านหน้า (anterior wing) เล็กกว่าปีกด้านหลัง (posterior wing) มาก เห็นอัมโบ  
(umbo) หรือปีก (beak) เปลือกทางด้านล่างตั้งแต่บริเวณด้านหน้าจนเลยกลางเปลือกมาเพียงเล็กน้อย  
จะมีความหนามากกว่าเพียงเล็กน้อยกับเปลือกทางด้านหลัง แต่จะมีความหนาใกล้เคียงเปลือก  
บริเวณตรงกลางและเปลือกทางด้านบน ไม่สามารถเห็นได้ชัดเจนต้องสัมผัสจึงจะทราบความหนา  
ของเปลือกได้ บริเวณทางด้านหลังจะมีสันอยู่สองสัน ลักษณะเป็นสันยาวจากบริเวณอัมโบไป  
สิ้นสุดทางด้านหลังของเปลือก เห็นชัดเจนโดยสันทางด้านล่างจะเห็นชัดเจนกว่าสันทางด้านบน  
เพริออสเทรคัม (periostracum) มีสีเขียวปนน้ำตาลใกล้เคียงกันตลอดทั้งเปลือก เปลือกชั้นนอกจะ

เห็นเส้นการเจริญเติบโต (growth line) ชัดเจน มีลักษณะเป็นเส้นโค้งจากทางด้านหน้าเปลือกไปสุดทางด้านหลังของเปลือก โดยแต่ละเส้นการเจริญเติบโตจะมีการจัดเรียงตัวเป็นชั้นๆ โดยมีการเรียงตัวจากบริเวณอัมโบจนถึงทางด้านล่างของเปลือก เส้นการเจริญเติบโตบริเวณตั้งแต่สันทางด้านล่างของเปลือกขึ้นไปทางปีกด้านหลังจะเรียงตัวซ้อนกันมีลักษณะเป็นผิวย่นๆ เห็นชัดเจน

ลักษณะของเปลือกด้านใน เปลือกชั้นเนครีซ (nacreous layer) มีความแวววาวมากกว่าเปลือกด้านนอก ด้านในของเปลือกจะมีความแวววาวใกล้เคียงกันตลอดทั้งเปลือก เปลือกทางด้านบนตรงบริเวณด้านบนของฟันแลเทอร์อัล (lateral teeth) ฟันชูโดคาร์ดินัล (pseudocardinal teeth) และภายในปีกจะมีอีลาสติคิกาเมนต์ (elastic ligament) ซึ่งมีสีน้ำตาลปนสีเขียว และมีความแวววาว ทำหน้าที่ช่วยยึดให้เปลือกติดกัน นอกจากนี้ยังมีอินจ์ (hinge) ช่วยยึดเปลือกอีกด้วย อินจ์ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนแรกเป็นฟันแลเทอร์อัล ซึ่งอยู่บริเวณด้านบนของเปลือกใต้อีลาสติคิกาเมนต์ เปลือกด้านขวาจะมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยาวทอดไปทางด้านหลังของเปลือก เปลือกด้านซ้ายจะมีลักษณะเป็นแผ่นแบนยาว 2 แผ่นอยู่ขนานกัน โดยแผ่นทางด้านบนจะเตี้ยและสั้นกว่าแผ่นทางด้านล่างเพียงเล็กน้อย ระหว่างแผ่นจะเป็นร่องยาว เพื่อรองรับฟันแลเทอร์อัลของเปลือกด้านขวา ส่วนที่สองคือ ฟันชูโดคาร์ดินัลมีลักษณะเป็นแผ่นขนาดสั้นกว่าฟันแลเทอร์อัล อยู่บริเวณด้านบนของเปลือกใกล้กับรอยกล้ำเนื้อของเปลือกด้านหน้า โดยเปลือกด้านขวามีลักษณะเป็นแผ่นยื่นออกมา และบางช่วงจะบุ๋มเข้าไป ผิวของฟันชูโดคาร์ดินัลจะมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆตามยาว ส่วนเปลือกด้านซ้ายฟันชูโดคาร์ดินัลจะมีลักษณะเหมือนกับเปลือกด้านขวา อินเทอร์เดนตัม (interdentum) เห็นชัดเจน ช่องปีกเห็นไม่ชัดเจน ร่องรอยของกล้ามเนื้อ (muscle scar) เห็นชัดเจน เปลือกด้านในจะมีร่องรอยของกล้ามเนื้อ 3 รอย ซึ่งมีลักษณะแฉ่งลึกลงไปในเปลือกคือ รอยกล้ามเนื้อแอดดักเตอร์ ส่วนหน้า (anterior adductor muscle) มีขนาดใหญ่ที่สุด อยู่ทางด้านหน้าของเปลือกและทางด้านหน้าของฟันชูโดคาร์ดินัล รอยกล้ามเนื้อฟิคัลรีแทรกเตอร์ส่วนหน้า (anterior pedal retractor) อยู่ใต้ฟันชูโดคาร์ดินัล ถัดจากรอยกล้ามเนื้อแอดดักเตอร์ส่วนหน้ามาทางด้านหลัง และได้รอยกล้ามเนื้อฟิคัลรีแทรกเตอร์ส่วนหน้าจะเป็นรอยกล้ามเนื้อฟิคัลโปรแทรกเตอร์ (pedal protractor) เปลือกด้านหลังจะมีร่องรอยของกล้ามเนื้อ 2 รอย ซึ่งมีลักษณะเป็นแฉ่งแต่ลึกน้อยกว่าร่องรอยของกล้ามเนื้อของเปลือกด้านหน้า คือ รอยกล้ามเนื้อฟิคัลรีแทรกเตอร์ส่วนหลัง (posterior pedal retractor) อยู่ใต้ฟันแลเทอร์อัล สำหรับรอยกล้ามเนื้อแอดดักเตอร์ส่วนหลัง (posterior adductor muscle) ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าอยู่ใต้รอยกล้ามเนื้อฟิคัลรีแทรกเตอร์ส่วนหลัง เส้นแพลเลียล (pallial line) อยู่บริเวณใต้รอยกล้ามเนื้อแอดดักเตอร์ส่วนหน้าแล้วโค้งไปสุดที่ฟันแลเทอร์อัล เปลือกทางด้านล่างตั้งแต่ขอบเปลือกจนถึงเส้นแพลเลียล พบว่าบริเวณด้านหน้าจะนูนลงเปลือกมาเพียง

เล็กน้อยจะมีความหนามากกว่าเปลือกทางด้านหลังเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่ามีความหนาใกล้เคียงกับบริเวณตรงกลางและทางด้านบนของเปลือก (สาธิต และคณะ, 2548)

โครงสร้างภายในของลำตัว ประกอบด้วย แผ่นเท้า (foot) (ภาพผนวกที่ 2) เป็นกล้ามเนื้อหนาแข็งแรงลักษณะคล้ายขวานใช้ในการเคลื่อนที่ อยู่ก่อนมาทางด้านหน้าของเปลือก ท่อนำน้ำ (siphon) เกิดจากแมนเทิลอยู่ทางด้านท้ายของเปลือก แบ่งออกเป็นท่อนำน้ำเข้า (incurrent siphon) อยู่ด้านล่างและท่อนำน้ำออก (excurrent siphon) อยู่ด้านบน แมนเทิลของหอยสองฝา มีขนาดใหญ่ จำนวนสองข้างของเปลือกปกคลุมอวัยวะภายใน (visceral mass) ของหอยไว้ (สุชาติ และคณะ, 2538)

หอยกาน้ำจืดกินอาหาร โดยการกรองจากน้ำ (filter feeding) ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช โดยอาหารจากเข้าทางท่อน้ำเข้า ไปยังเหงือกเกิดการกรองและส่งผ่านมายังส่วน labial palp จะเลือกและส่งอาหารไปยังปากซึ่งอยู่หน้าสุด อาหารจะเคลื่อนไปยังหลอดอาหาร (esophagus) และกระเพาะอาหาร กระเพาะอาหารมีการย่อยภายนอกเซลล์ อาหารจะถูกบดด้วยแผ่นไคตินที่เรียกว่า gastric shield และ crystalline style ที่อยู่ภายใน style sac ซึ่งมีเอนไซม์และสารหล่อลื่นช่วยในการย่อยอาหาร และมี digestive gland ทำหน้าที่ย่อยอาหารภายในเซลล์ โดยจะหลั่งเอนไซม์ amylase, lipase และ proteinase อาหารที่มีอนุภาคขนาดใหญ่จะถูกส่งไปที่ย่อยที่ลำไส้เล็ก ซึ่งส่วนท้ายของลำไส้เล็กมี typhosole ยกตัวสูงขึ้นเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการย่อยและดูดซึมอาหาร อาหารที่ไม่สามารถย่อยได้จะกลายเป็นของเสียผ่านเรคตัมและออกทางทวารหนัก (Ruppert and Barnes, 1994)

### วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์

หอยกาน้ำจืด *H. (L.) desowitzi* มีเพศแยก (ภาพผนวกที่ 3) ตัวเต็มวัยเพศผู้จะปล่อยสเปิร์มออกสู่ภายนอกทางช่องน้ำออก และสเปิร์มปะปนมากับน้ำเข้าสู่ช่องน้ำเข้าของตัวเต็มวัยเพศเมีย ซึ่งไข่ของเพศเมียเมื่อแก่เต็มที่จะถูกเก็บไว้ในที่ที่ท่อน้ำบริเวณเหงือก เกิดการปฏิสนธิกับสเปิร์ม ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจะเจริญอยู่ที่เหงือกชั้นในและชั้นนอกของเพศเมีย (อุทัยวรรณ และคณะ, 2540) บริเวณเหงือกจะพองออกเป็นถุงเรียก “marsupia” หรือ “brood chamber” ตัวอ่อนจะพัฒนาจนกลายเป็นตัวอ่อนระยะ โกลดิเดียที่สมบูรณ์ และถูกปล่อยออกมาทางท่อน้ำออก แล้วเป็นปรสิตในปลาน้ำจืดโดยเกาะอยู่บริเวณเหงือก ครีบและหาง มีการฝังตัว (encystment) ในเนื้อเยื่อบริเวณนั้นจนกระทั่งมีการ

เปลี่ยนแปลงรูปร่างและเจริญเติบโตเป็นหอยระยะจูวีไนล์ จะหลุดจากตัวปลา (excystment) ตกลงสู่พื้นท้องน้ำหากินเป็นอิสระ (Pennak, 1989) และกลายเป็นตัวเต็มวัยต่อไป

สุชาติ และคณะ (2538) การเจริญของเชลล์สืบพันธุ์ของหอยกาบขึ้นกับปัจจัยหลายประการ โดยมีอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดต่อการเจริญของเชลล์สืบพันธุ์และการปล่อยเชลล์สืบพันธุ์ หอยกาบส่วนมากในเขตหนาวจะปล่อยเชลล์สืบพันธุ์ปีละครั้ง ในเขตอบอุ่นปีละสองครั้งและในเขตร้อนอาจมีการปล่อยเชลล์สืบพันธุ์ตลอดทั้งปี นอกจากนี้อัตราการสืบพันธุ์ของหอยกาบขึ้นอยู่กับอิทธิพลจากดวงจันทร์ ความลึกของน้ำ ความหนาแน่นของประชากร ความสมบูรณ์ของแหล่งอาหาร ตลอดจนปรสิตรภายในและปัจจัยอื่นๆ การพัฒนาของไข่เป็นโกลคิเดียใน marsupia จะใช้เวลาแตกต่างกันขึ้นกับชนิดหอยและอุณหภูมิ ในหอยสองฝาวงศ์ Unionacea จากไข่เป็นตัวอ่อนระยะโกลคิเดีย อาจใช้เวลา 4-8 สัปดาห์ ระยะปรสิตรโดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 10-20 วัน

อรภา (2543) ศึกษาความถี่ของการวางไข่และฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยมุกน้ำจืด พบว่าในหอย *Chamberlainia hainesiana* ไข่ใช้เวลาพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนระยะโกลคิเดีย 6-10 วัน หอย *H. (L.) myersiana* ไข่ใช้เวลาพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนระยะโกลคิเดีย 5-9 วัน การสืบพันธุ์ของหอยทั้งสองชนิดพบมากในเดือนธันวาคม อุณหภูมิของน้ำเท่ากับ 24-25 องศาเซลเซียส ไข่เวลาพัฒนาเป็นระยะโกลคิเดีย 9-10 วัน เมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นการพัฒนาไปเป็นระยะโกลคิเดียจะสั้นลง ใช้เวลาประมาณ 5-6 วัน

ธวัชชัย และคณะ (2546) ศึกษาระยะเวลาและความถี่ในการเจริญของตัวอ่อนระยะโกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาจากไข่ที่ปฏิสนธิไปเป็นตัวอ่อนระยะโกลคิเดียมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.67 \pm 1.30$  วัน และสามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่มีระยะพัก โดยระยะเวลามากที่สุดคือ 10 วัน อุณหภูมิ  $26.02 \pm 1.16$  องศาเซลเซียส และระยะเวลาน้อยที่สุดคือ 6 วัน อุณหภูมิ  $30.14 \pm 0.42$  องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิมีผลต่อการเกิด incubation period โดยที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้มีช่วงของ incubation period นานกว่าอุณหภูมิสูงและแบ่งลำดับการพัฒนาไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจนเป็นโกลคิเดียใน marsupia ออกเป็น 6 ระยะ คือ ระยะที่ 0 ไม่มีการพัฒนาของตัวอ่อนและแผ่นเหงือกมีลักษณะแบนบาง ระยะที่ 1 marsupia มีสีขาวแผ่นเหงือกพองขึ้น ระยะที่ 2 marsupia มีสีเหลืองอ่อนแผ่นเหงือกพองขึ้น ระยะที่ 3 marsupia มีสีเหลืองแผ่นเหงือกพองขึ้น ระยะที่ 4 marsupia มีสีน้ำตาลอ่อนแผ่นเหงือกพองขึ้น ระยะที่ 5 marsupia มีสีน้ำตาลหรือแดงแผ่นเหงือกพองขึ้นมากที่สุด

ศิริรัตน์ และ เอกสิทธิ์ (2547) ศึกษาการเจริญของตัวอ่อนระยะไกลโคเดียของหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* พบว่าเกิดขึ้นเฉพาะที่ outer demibranch ซึ่งแบ่งการพัฒนาของ masupia ออกเป็น 7 ระยะ คือ ระยะที่ 0 เหยื่อกลักษณะแบนไม่พบตัวอ่อน ระยะที่ 1 masupia พองขึ้น ตัวอ่อนมีสีขาวหรือขาวอมเหลือง มีการแบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 และ 4 เซลล์ตามลำดับ จากนั้นแต่ละตัวจะมีการแบ่งตั้งแต่ 8 เซลล์ไปจนถึง 32 เซลล์ การเจริญของตัวอ่อนยังไม่พร้อมเพรียงกัน ระยะที่ 2 masupia พองขึ้น ตัวอ่อนมีสีเหลืองอ่อน ตัวอ่อนพัฒนาเป็นระยะ morula และ blastula ระยะที่ 3 masupia พองขึ้น ตัวอ่อนมีสีเหลืองเข้ม ตัวอ่อนพัฒนาเป็นระยะ gastrula ระยะที่ 4 masupia พองขึ้น ตัวอ่อนมีสีน้ำตาลอมเหลือง ตัวอ่อนเริ่มมีการสร้างเปลือกใช้เวลาหน้าหนาวประมาณ 12 ชั่วโมง และหน้าร้อนไม่เกิน 6 ชั่วโมง ระยะที่ 5 masupia พองขึ้น ตัวอ่อนมีสีน้ำตาล ตัวอ่อนพัฒนาอยู่ในระยะ early glochidia เปลือกยังไม่สมมาตร (asymmetry) มีการพัฒนา adductor muscle พบ thread ขดอยู่ 1 เส้น ระยะที่ 6 masupia พองที่สุด ตัวอ่อนมีสีน้ำตาลแดง ตัวอ่อนพัฒนาอยู่ในระยะ mature glochidia เปลือกมีสมมาตร (symmetry) เริ่มมีการขยับตัวของตัวอ่อนระยะไกลโคเดีย

Kondo (1987) ศึกษาในประเทศญี่ปุ่น พบหอยกาบวงศ์ Unionidae 7 ชนิด คือ *Pseudodon omensis*, *Unio douglasiae*, *Inversidens japaensis*, *I. yanagawensis*, *I. brandi*, *Lanceolaria grayana* และ *Anodonta woodiana* พบว่าการฟักตัวอ่อนของ *P. omensis* เริ่มตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน *U. douglasiae* ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงสิงหาคม *I. japaensis* ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงสิงหาคม *I. yanagawensis* ตั้งแต่เดือนกันยายนถึงมกราคม *I. brandi* ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงกันยายน *L. grayana* ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงสิงหาคม และ *A. woodiana* ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม

Fukuhara and Nagata (1988) และ Pennak (1989) ศึกษาหอยกาบน้ำจืด *Anodonta woodiana* และ *Lampsilis ventricosa* เพศเมียพบว่าเกิด marsupia ที่บริเวณเหงือกชั้นนอกของทั้งสองด้าน แต่ใน *L. ventricosa* พบว่าเกิด marsupia ที่บริเวณส่วนท้ายของเหงือกชั้นนอกเท่านั้น

Galinou-Mitsoudi and Sinis (1994) ศึกษาวงสืบพันธุ์และการมีตัวอ่อนของหอย *Lithophaga lithophaga* พบว่าการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของหอยทั้งเพศผู้และเพศเมียส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นพร้อมกันเมื่ออุณหภูมิน้ำลดลงเท่ากับ 27 องศาเซลเซียส ความเค็มมากกว่า 37 เปอร์เซ็นต์ และการละลายออกซิเจนลดลงเป็น 6.5 ppm

Kimura and Sekiguchi (1996) ศึกษาหอย *Musculista senhousia* และ *Limnoperna fortunei kikuchii* พบว่าการพัฒนาของไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิไปเป็นตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียจะเกิดอย่างรวดเร็วและใช้เวลาสั้น เมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 25-30 องศาเซลเซียส และจะพัฒนาช้าลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส

Watter and Scott (1998) ศึกษาระยะเวลาที่มีการปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียเปรียบเทียบกับอุณหภูมิโดยศึกษาในหอย 5 ชนิดได้แก่ *Amblema plicata*, *Elliptio dilatata*, *Lampsilis radiata luteola*, *Leptodea fragilis* และ *Pyganodon grandis* พบว่าแต่ละชนิดมีการปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียในอุณหภูมิที่แตกต่างกันและปล่อยเป็นฤดูกาล ใน *L. radiata luteola* และ *E. dilatata* การปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียเกิดขึ้น 2 ครั้งในรอบปี คือในฤดูหนาวและฤดูร้อน *A. plicata* ปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียสในช่วงเดือนสิงหาคม *E. dilatata* ปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียที่อุณหภูมิ 5 และ 9 องศาเซลเซียสในช่วงเดือนพฤศจิกายนและสิงหาคมตามลำดับ *L. radiata luteola* การปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียเกิดเกือบตลอดทั้งปีโดยเริ่มที่เดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนตุลาคมและอุณหภูมิสูงที่สุดคือ 19 องศาเซลเซียส *L. fragilis* ปล่อยโกลคิเดียที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียสในช่วงเดือนกันยายนจนถึงเดือนพฤศจิกายน และ *P. grandis* ปล่อยโกลคิเดียที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสในช่วงเดือนตุลาคมจนถึงเดือนกุมภาพันธ์

Caroline (2005) ศึกษาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยกาน้ำเค็ม *Crassostrea gigas* ในรอบ 1 ปี โดยควบคุมสภาพแวดล้อมซึ่งทำให้เกิดกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยนางรม ควบคุมสภาพของอุณหภูมิและระยะเวลาของแสง ดูเซลล์สืบพันธุ์โดยทำอุณหภูมิและแสงสว่างให้เป็น 3 แบบ คือ ในธรรมชาติ ถูกเร่งเป็นสองรอบจากอุณหภูมิตามธรรมชาติ และหน้าหนาว (8 องศาเซลเซียส) วิเคราะห์ผลในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของรูปแบบการสืบพันธุ์เปรียบเทียบกับสัดส่วน ทางเนื้อเยื่อและ gonad filling index ซึ่งพบว่า *C. gigas* มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ที่อุณหภูมิต่ำ สูงกว่า 19 องศาเซลเซียส

Chatchavalvanich et al. (2006) ศึกษาโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของการเจริญและพัฒนาของ germ cells ใน *H. bialatus* เพศผู้และเพศเมีย พบว่าเพศผู้มีสองรูปแบบ แบบแรก คือ typical spermatogenesis ประกอบด้วย spermatogonia, primary spermatocytes, secondary spermatocytes, spermatids และ spermatozoa แบบที่สอง คือ atypical spermatogenesis พบ germ cell morulae 3 ระยะ ได้แก่ early stage (spermatogonia), middle stage (spermatocytes) และ late stage (spermatid

และ spermatozoa) ส่วนเพศเมียประกอบด้วย oogonia และ oocytes 5 ระยะ ได้แก่ stage 1 oocytes, stage 2 oocytes, stage 3 oocytes, stage 4 oocytes และ stage 5 oocytes

### สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอดของสัตว์น้ำ

อุณหภูมิ (temperature) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับแสง เมื่อแสงส่องผ่านลงไปใต้น้ำ พลังงานแสงจะถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในแหล่งน้ำจะแปรผันตามความเข้มแสง ถ้าปริมาณความเข้มแสงมากมีผลให้อุณหภูมิน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิน้ำตามธรรมชาติจะผันแปรตามอุณหภูมิอากาศโดยขึ้นกับฤดูกาล อุณหภูมิของแหล่งน้ำในประเทศไทยมีค่าผันแปร 23-32 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับช่วงเวลาของวันและฤดูกาล (ศิริเพ็ญ, 2543)

ความโปร่งใสของน้ำ (water transparency) ข้อมูลที่วัดได้ขึ้นอยู่กับช่วงเวลาของวันและสภาพอากาศ ข้อมูลที่ได้ใช้อ้างอิงร่วมกับข้อมูลอื่นๆของคุณภาพของน้ำและแพลงก์ตอนพืช ความลึกสูงสุดที่พืชสามารถสังเคราะห์แสงได้มีค่าเป็น 2 เท่าของ secchi disc depth (ศิริเพ็ญ, 2543)

ความเป็นกรดด่างของน้ำ (water pH) เป็นตัวควบคุมการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย เหล็ก มีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต ในช่วงที่มีอัตราการสังเคราะห์แสงของพืช น้ำและแพลงก์ตอนสูง ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจะลดลง แต่ปริมาณออกซิเจนในน้ำจะเพิ่มขึ้น ทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้น โดยทั่วไปน้ำธรรมชาติมี pH ระหว่าง 6-9 pH ต่ำสุดในตอนเช้ามืดก่อนดวงอาทิตย์ขึ้น เพราะสิ่งมีชีวิตในน้ำหายใจแล้วปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาในเวลากลางคืน ทำให้น้ำมีกรดคาร์บอนิกมาก ค่า pH จึงต่ำ ส่วนในเวลากลางวันพืชใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสง ทำให้ pH มีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ จนสูงสุดในเวลาบ่าย (ก่อน 18.00 น.) (ศิริเพ็ญ, 2543)

ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) สิ่งมีชีวิตในน้ำสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ด้วยการอาศัยก๊าซออกซิเจนที่ละลายน้ำ ซึ่งได้มาจากการละลายของออกซิเจนจากอากาศและกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยปกติออกซิเจนละลายในน้ำได้น้อยกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ (1:200) ค่าของคาร์บอนไดออกไซด์จะมีค่าผกผันกลับกับปริมาณออกซิเจน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิ อัตราการหายใจ อัตราการสังเคราะห์แสง ความลึกของน้ำ ช่วงเวลาของวันและ

ฤดูกาล เป็นต้น ปริมาณออกซิเจนต่ำสุดที่ไม่ทำให้สัตว์น้ำได้รับอันตรายไม่ควรน้อยกว่า 3 mg/L โดยปกติแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่ปลอดจากมลภาวะมีค่าออกซิเจนเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 5 mg/L (ศิริเพ็ญ, 2543)

ธาตุอาหาร (nutrients) ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส เป็นปัจจัยจำกัดของการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ไนโตรเจน (nitrogen) ในแหล่งน้ำหนึ่งๆมีหลายรูปแบบซึ่งมีความสำคัญต่างกันไป การตรวจพบแอมโมเนียไนโตรเจนในปริมาณที่มากแสดงว่าน้ำได้รับการปนเปื้อนมาใหม่ๆ ในทางกลับกันถ้าพบไนเตรทไนโตรเจนปริมาณมาก แสดงว่าแหล่งน้ำได้รับการปนเปื้อนมานานแล้ว ไนโตรเจนในรูปของไนเตรทไนโตรเจน จะมีปริมาณมากในผิวน้ำและในบริเวณที่ลึกไม่เกิน 15 เมตร ส่วนในระดับที่ลึกมากลงไปจะมีปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจนมาก ระดับแอมโมเนียที่จะไม่เป็นอันตรายต่อปลาไม่ควรเกิน 0.02 mg/L องค์การอนามัยโลก (WHO) กำหนดมาตรฐานของแหล่งน้ำให้แอมโมเนียไม่เกิน 0.5 mg/L ในน้ำสะอาดแอมโมเนียไม่เกิน 0.1 mg/L (กรรณิการ์, 2522 และ เปี่ยมศักดิ์, 2539) ฟอสฟอรัส (phosphorus) ปริมาณฟอสฟอรัสเกินกว่า 0.15 mg/L และไนโตรเจนเกินกว่า 0.3 mg/L มีแนวโน้มทำให้พืชน้ำและแพลงก์ตอน เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว หากมีมากเกินไปจะเกิดความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ หากแหล่งน้ำมีฟอสฟอรัสสูงเกินกว่า 0.01 mg/L จัดว่ามีอาหารธรรมชาติมากเกินไป และแหล่งน้ำที่มีปัญหาจากมลภาวะมักมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงเกิน 0.6 mg/L จึงได้มีการกำหนดมาตรฐานของฟอสฟอรัสว่าไม่ควรเกิน 0.03 mg/L (ศิริเพ็ญ, 2543)

ความเป็นด่างของน้ำ (water alkalinity) เป็นปัจจัยที่บอกให้ทราบถึงปริมาณของเกลือแคลเซียมซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเกลือคาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต ฟอสเฟต (ศิริเพ็ญ, 2543)

ความกระด้างของน้ำ (hardness) เกิดจากตะกอนของแคลเซียมและแมกนีเซียม จะวัดออกมาเป็นปริมาณ calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) ในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยทั่วไปมีค่า hardness น้อยกว่า 1,000 ppm ความกระด้างของน้ำถือเอาปริมาณ  $\text{CaCO}_3$  ที่มีอยู่เป็นเกณฑ์ ได้แก่ น้ำอ่อน 0-75 ppm as  $\text{CaCO}_3$  น้ำค่อนข้างกระด้าง 75-150 ppm as  $\text{CaCO}_3$  น้ำกระด้าง 150-300 ppm as  $\text{CaCO}_3$  น้ำกระด้างมาก มากกว่า 300 ppm as  $\text{CaCO}_3$  ค่า Total hardness หมายถึงผลรวมของความกระด้างเนื่องมาจากแคลเซียมและแมกนีเซียม (ศิริเพ็ญ, 2543) โดยทั่วไปทะเลสาบที่มีค่า total hardness สูงจะมีค่า conductivity, dissolved solids, total alkalinity, total soluble carbon, calcium และ magnesium สูงตามด้วย (Miller *et al.*, 1973)

### สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหอยมุกน้ำจืดในแหล่งน้ำธรรมชาติ

อุทัยวรรณ และคณะ (2541) ศึกษาชีววิทยาของหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) myersiana* บริเวณแม่น้ำแม่กลอง จังหวัดกาญจนบุรี ทำการศึกษา 5 สถานี เก็บตัวอย่างเดือนเว้นเดือน ตั้งแต่เดือนเมษายน 2535 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2536 คุณสมบัติของน้ำทางกายภาพและเคมี บริเวณแหล่งที่เก็บหอยมีความเหมาะสมในการอยู่อาศัยของหอย ยกเว้นปริมาณแอมโมเนีย ฟอสเฟต มีค่าสูงกว่าช่วงที่เหมาะสมโดยมีค่าเท่ากับ  $0.88 \pm 0.2$  และ  $0.88 \pm 2.3$  ppm ตามลำดับ เนื้อดินของบริเวณที่พบหอยส่วนใหญ่เป็นดินร่วนปนทราย มีความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 7.3 ถึง 8.09 จำนวนประชากรเฉลี่ยของหอยที่พบตลอดปีมีค่าระหว่าง 0.2-10.2 ตัวต่อตารางเมตร มีความยาว 2.02-17.94 เซนติเมตร ความกว้าง 0.92-6.3 เซนติเมตร ความสูง 1.34-9.75 เซนติเมตร น้ำหนักรวม 4.0-635 กรัม

สาธิต และคณะ (2548) ศึกษาการคัดเลือกชนิดหอยกาน้ำจืดวงศ์ Amblemidae เพื่อการเพาะเลี้ยงไข่มุกน้ำจืด *H. (L.) desowitzi* ถูกคัดเลือกโดยมีความยาว 8 เซนติเมตรขึ้นไป และความสูงไม่ต่ำกว่า 5 เซนติเมตร นำมาทดลองเลี้ยงบริเวณศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท โดยเลี้ยงในภาชนะ 2 แบบ คือ กระป๋องดาช่าย และตะกร้าทรงกลม แขนงไว้กับแพเลี้ยง เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการรอดตาย พบว่า *H. (L.) desowitzi* ที่เลี้ยงในภาชนะเลี้ยงแบบตะกร้าทรงกลมดาช่ายชั้นบน และล่างไม่มีการตาย ภาชนะเลี้ยงแบบกระป๋องดาช่ายมีอัตราการตาย 13.3 เปอร์เซ็นต์ แต่การเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักและขนาดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) กับภาชนะทุกแบบ การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำ เก็บตัวอย่างน้ำบริเวณที่ทดลองเลี้ยงหอยกาน้ำจืดที่ระดับความลึก 2 เมตร วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำครั้งละ 2 ชั่วโมง ข้อมูลที่ได้มาแสดงผล ดังตารางผนวกที่ 1

Kovitvadhi *et al.* (1998) เลี้ยงหอยมุกน้ำจืดชนิด *C. hainesiana* เริ่มต้นจากหอยอายุ 10 เดือน เลี้ยงเป็นเวลา 1 ปี ที่อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กลอง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าการเจริญเติบโตของหอยจะขึ้นกับปริมาณแพลงก์ตอนพืช คุณสมบัติของน้ำ และรูปแบบของภาชนะที่ใช้เลี้ยง โดยภาชนะแบบกระป๋องที่แขวนในแนวระดับที่ความลึก 2 เมตร เป็นระดับที่มีปริมาณแพลงก์ตอนพืชมากที่สุด หอยมีการมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์และเจริญเติบโตสูงกว่าระดับ 5 เมตร และพื้นที่องน้ำจากขนาดความยาว ความสูง ความกว้าง และน้ำหนักเริ่มต้นเท่ากับ 6.4, 3.8, 2.0 เซนติเมตร และ 28 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 12.49, 7.9, 4.23 เซนติเมตร และ 268.75 กรัม ตามลำดับ โดยมีการเจริญเติบโตสูงในฤดูร้อนและฤดูหนาว

### สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหอยมุกน้ำจืดระยะจูวินัล

สาริต (2550) ศึกษาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* และคุณภาพของน้ำจากระบบเลี้ยง 2 ระบบ คือ ระบบแรก ส่วนแรกใส่วัสดุกรองที่แตกต่างกันคือ โยไนลอน กรวด และเปลือกหอยมุกน้ำจืด น้ำจากส่วนแรกจะไหลมารวมอยู่ในส่วนที่สองซึ่งเป็นที่พักน้ำ น้ำจะไหลผ่านหลอด UV แล้วไปรวมที่ตู้พักน้ำ น้ำจากตู้พักจะถูกปั้มน้ำดูดน้ำขึ้นไปยังกล่องเลี้ยงลูกหอย พื้นกล่องใส่ทรายขนาด <125 ไมโครเมตร น้ำที่ล้นจากกล่องเลี้ยงลูกหอยจะไหลลงสู่ตู้กรองน้ำ ส่วนระบบที่ 2 ส่วนแรกใส่โยไนลอนซึ่งเป็นวัสดุกรองตะกอน น้ำจากตู้กรองจะไหลไปยังส่วนที่สองซึ่งเป็นการกรองน้ำแบบชีวภาพโดยใส่สาหร่ายฉัตร (*Limnophila heterophylla*) ด้านบนของตู้จะให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ น้ำจะไหลไปยังส่วนที่สามเป็นการกรองน้ำแบบชีวภาพโดยใส่ลูกพลาสติก (bioball) จากนั้นน้ำจะไหลไปยังตู้ที่สี่ซึ่งเป็นตู้พักน้ำ ภายในตู้จะมีเครื่องสูบน้ำสองตัว ตัวแรกจะดูดน้ำจากตู้พักน้ำไปยังตู้กรองตู้แรกเพื่อให้เกิดการไหลเวียนของน้ำให้กับระบบตลอด 24 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบค่าสหสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติของน้ำกับเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด ค่าความเป็นกรดและเบส ความเป็นค่ารวม และแคลเซียมเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของจูวินัลที่เลี้ยงทั้งสองระบบ ซึ่งค่าเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์เป็นอย่างมาก และเป็นความสัมพันธ์ในทางบวก ส่วนค่าคาร์บอนไดออกไซด์อิสระจะมีความสัมพันธ์ในทางลบ ส่วนค่าสหสัมพันธ์คุณสมบัติของน้ำในระบบที่ 2 ได้แก่ ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ แอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรท และฟอสเฟตกับ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดจะมีความสัมพันธ์กันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) ซึ่งจะเกิดเนื่องจากคุณสมบัติของน้ำเหล่านี้มีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดการเลี้ยง ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดลดต่ำลง คุณสมบัติของน้ำค่าอื่นๆ ก็จะมีความสัมพันธ์กับอัตราการตายแตกต่างกันไปตามระบบที่เลี้ยง การทดลองควบคุมอุณหภูมิน้ำให้คงที่อยู่ที่ 27-28 องศาเซลเซียส ค่าสหสัมพันธ์ ระหว่างคุณสมบัติของน้ำกับการเจริญเติบโต (ความสูงและความยาวของเปลือก) ในระบบที่ 1 และ 2 แสดงให้เห็นว่าระบบการเลี้ยงจะมีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากในระบบเดียวกันจะมีค่าสหสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตเป็นไปในทิศทางใกล้เคียงกัน

Buddensiek (1995) ศึกษาเปรียบเทียบค่าสหสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติของน้ำกับเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด และการเจริญเติบโตของหอยมุกน้ำจืด *Margaritifera margaritifera* ระยะจูวินัล เพื่อหาแหล่งน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงหอย จาก 4 กลุ่มประชากรจำนวน 460 ตัว จากแม่น้ำ 4 แหล่ง ได้แก่ แม่น้ำ A1 เป็นแหล่งที่พบ *M. margaritifera* เหลืออยู่แหล่งสุดท้ายในตอนเหนือของเยอรมันซึ่งมีคุณภาพของน้ำดีกว่าแม่น้ำ A2 ซึ่งมีมลภาวะสูง แม่น้ำ B และ C เป็นแม่น้ำที่มีคุณภาพ

ของน้ำดีกว่าแม่น้ำ A แม่น้ำ B พบเพียงเปลือกของ *M. margaritifera* ในขณะที่แม่น้ำ C ไม่เคยพบว่า มีหอยมุกอาศัยอยู่เลย โดยเปรียบเทียบแหล่งน้ำสี่แห่งที่มีความแตกต่างทางด้านคุณภาพของน้ำ 12 ค่า คือ อุณหภูมิ น้ำ ปริมาณออกซิเจน การเหนียวน้ำ ไฟฟ้า ความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนียม ไนไตรท์ ไนเตรท ฟอสเฟต โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม การเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอดของลูกหอยระยะจูว์ไนล์ พบว่าค่าสหสัมพันธ์ก็จะแตกต่างกันไปในแต่ละแม่น้ำที่เลี้ยงหอย และอุณหภูมิจะเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของหอยชนิดนี้ในทุกๆ แหล่งน้ำ มีค่าสหสัมพันธ์จะสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แบบความสัมพันธ์ในทางบวก คือ ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมและการมีชีวิตรอดให้ผลที่สอดคล้องกัน และอุณหภูมิเป็นค่าที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดของหอยมุกน้ำจืด

#### การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะไกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์

อรภา และคณะ (2537) เพาะพันธุ์หอยมุกน้ำจืด *C. hainesiana* โดยคัดเลือกหอยเพศเมียที่มีตัวอ่อนระยะไกลคิเดียอยู่ใน marsupia ใส่ไว้ในภาชนะที่มีการเพิ่มออกซิเจนในน้ำ พบว่าตัวอ่อนถูกปล่อยออกมาภายใน 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการกระตุ้นแต่อย่างใด ปลาที่ใช้รวบรวมตัวอ่อนระยะไกลคิเดีย คือ ปลานิล พบว่ามีตัวอ่อนระยะไกลคิเดียเกาะอาศัยมากที่สุดบริเวณเหงือก ปริมาณเฉลี่ยต่อปลา 1 ตัว คือ  $92 \pm 26.15$  ตัว การรวบรวมตัวอ่อนระยะจูว์ไนล์ทำหลังจากเลี้ยงปลาได้ 6-12 วัน โดยรวบรวมได้มากที่สุดในวันที่ 7 รวบรวมตัวอ่อนได้ 88.04 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณ encysted ไกลคิเดีย อุณหภูมิเฉลี่ยระหว่างการเลี้ยง คือ  $24.63 \pm 4.58$  องศาเซลเซียส หอยระยะจูว์ไนล์อนุบาลในกระบะใส่ดินและแขวนเลี้ยงที่แพในอ่างเก็บน้ำชลประทานจนอายุได้ 90 วัน มีความยาวและความสูงเปลือกเฉลี่ย เท่ากับ  $0.797 \pm 0.3$  และ  $0.443 \pm 0.2$  เซนติเมตร ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของลูกหอย เท่ากับ 14.02

อุทัยวรรณ และคณะ (2540) ทำการเลี้ยงตัวอ่อนระยะไกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) desowitzi* โดยใช้อาหารสองสูตร สูตรที่ 1 ประกอบด้วย M199 ซีรัมม้าและยาปฏิชีวนะ สูตรที่ 2 ประกอบด้วย M199 พลาสมาปลานิล และยาปฏิชีวนะ ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ปริมาณของตัวอ่อนระยะไกลคิเดีย 50-100 ตัวต่อ 3.5 มิลลิลิตร ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ  $23 \pm 2$  องศาเซลเซียสและให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ศึกษาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดและเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ของอาหารทั้ง 2 สูตรพบว่า ในสูตรที่ 1 คือ 96.60 และ 89.63 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 2 คือ 93.06 และ 79.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงจากตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ของอาหารทั้ง 2 สูตรเท่ากัน คือ 10-11 วัน

ประภัศร และคณะ (2546) ทำการเพาะเลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *C. hainesiana* ในอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร โดยใช้แหล่งโปรตีนที่แตกต่างกัน คือ พลาสมาปลาโน ปลาอุกอุยเทศ ชีร์มมัว ปลานิล และปลาซวาย โดยใช้อัตราส่วน M199:แหล่งโปรตีน:ยาปฏิชีวนะ คือ 2:1:0.5 เปอร์เซ็นต์ การมีชีวิตรอด เท่ากับ  $96.24 \pm 2.26$ ,  $96.15 \pm 1.64$ ,  $95.97 \pm 3.33$ ,  $94.94 \pm 4.50$  และ  $92.81 \pm 3.85$  ตามลำดับ การเพาะเลี้ยงโดยใช้พลาสมาปลาโนเป็นแหล่งโปรตีนที่ความหนาแน่น 4 ระดับ คือ 65, 130, 260 และ 520 ตัวต่อจานเพาะเลี้ยง มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดเท่ากับ  $92.91 \pm 4.61$ ,  $94.87 \pm 3.22$ ,  $94.55 \pm 1.66$  และ  $93.93 \pm 1.81$  ตามลำดับ อาหารทุกสูตรและทุกความหนาแน่นตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลง คือ 12 วัน

มยุรา และคณะ (2546) ทำการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนในอาหารสังเคราะห์และศึกษาการพัฒนารูปร่างของหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* โดยใช้อัตราส่วนอาหารสังเคราะห์ M199:แหล่งโปรตีน:ยาปฏิชีวนะ คือ 2:1:0.5 เลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียในจานขนาด 3.5 มิลลิเมตร ต่อตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย 50-100 ตัว ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่  $23 \pm 1$  องศาเซลเซียส ให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ในวันที่ 10 ของการเลี้ยง เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงจากตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียเป็นหอยระยะจูว์ไนล์เท่ากับ  $97.36 \pm 2.27$  และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดเท่ากับ  $94.45 \pm 2.37$  นำหอยระยะจูว์ไนล์ที่ได้ไปเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชผสม 4 ชนิด (*Chlorella* sp., *Kirchneriella incuvata*, *navicula* sp. และ unknow) เป็นเวลา 15 วัน จากการศึกษาการพัฒนารูปร่างของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียและหอยระยะจูว์ไนล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าหอยระยะจูว์ไนล์ที่เลี้ยงได้มีการพัฒนาเหงือก เพาะ ระบบย่อยอาหาร และการเพิ่มขนาดของเปลือก ซึ่งบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ที่สมบูรณ์

Isom and Hudson (1982, 1984a, 1984b) ทำการเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยกาน้ำจืด 2 ชนิด คือ *Ligumia recta* และ *Pleurobema cordatum* ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพปลอดเชื้อพบว่าตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ได้ในอาหารสังเคราะห์ที่มีส่วนผสมของพลาสมาปลา channel

catfish และปลา smallmouth buffalo ในเวลา 15-22 วัน และพบว่าตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอย กาบน้ำจืด *Fusconaia ebena* ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีค่า pH 7.3-7.4 โกลคิเดียสามารถ เปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูวีไนล์ได้ในเวลา 18 วัน ถ้าเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีค่า pH 7.8-8.1 ตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียจะมีชีวิตอยู่ได้เพียง 11 วัน จากการทดลองหาเปอร์เซ็นต์ของปลาสม าปลาที่เหมาะสม พบว่าหอยกาบน้ำจืด *F. ebena* ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีเสริมด้วยปลาสม าปลาใน 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นหอยระยะจูวีไนล์ได้มากที่สุด ( $51.2 \pm 3.8$  เปอร์เซ็นต์) และถ้าใช้ปลาสม าปลาในเสริมในอาหารสังเคราะห์ 33 เปอร์เซ็นต์ ตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียจะเปลี่ยนแปลงเป็นหอยระยะจูวีไนล์ได้ใกล้เคียงกับการใช้อาหารสังเคราะห์ที่มีเสริมด้วย ปลาสม าปลาใน 80 เปอร์เซ็นต์

Keller and Zam (1990) ทดลองเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยกาบน้ำจืด *Anodonta imbecilis* ในอาหารสังเคราะห์สูตร Isom and Hudson (1982) เสริมด้วยแหล่งโปรตีนต่างกัน ได้แก่ neonatal calf serum, horse serum, salmon liver, trout liver, fish plasma, rabbit pancreas และ casein โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $23 \pm 2$  องศาเซลเซียส ให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง การเสริมด้วย neonatal calf serum ทำให้ตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียเปลี่ยนแปลงเป็นหอยระยะจูวีไนล์ ได้มากที่สุด ( $91 \pm 1.9$  เปอร์เซ็นต์) เมื่อทดลองกับอาหารสังเคราะห์ ได้แก่ M199 และ DME โดยมี ซีรัมม้าเป็นแหล่งโปรตีน ซึ่งสะดวกต่อการเตรียมมากกว่าอาหารของ Isom and Hudson (1982) พบว่าตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียที่เลี้ยงใน M199 และ DME มีการเปลี่ยนแปลงเป็นหอยระยะจูวีไนล์  $65 \pm 16.7$  และ  $65.4 \pm 12.9$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Kovitvadhi *et al.* (2001) ทำการเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์ของหอย มุกน้ำจืด *H. (L.) myersiana* ในอาหาร 2 สูตร ได้แก่ M199 ซีรัมม้า และยาปฏิชีวนะ กับ M199 ปลาสม าปลานิล และยาปฏิชีวนะ ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ปริมาณของโกลคิเดีย 50-100 ตัวต่อ 3.5 มิลลิลิตร ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ  $23 \pm 1$  องศาเซลเซียสและให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียมีการพัฒนาไปเป็นหอยระยะจูวีไนล์ใช้เวลา 9-10 วัน เปอร์เซ็นต์การมี ชีวิตรอดของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียในปลาสม าปลานิลคือ  $85.3 \pm 3.9$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนในซีรัมม้าการ มีชีวิตรอดของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย คือ  $46.2 \pm 12.7$  เปอร์เซ็นต์ และตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียที่เลี้ยงโดย อาหารที่มีส่วนผสมของปลาสม าปลานิลมีการพัฒนาไปเป็นหอยระยะจูวีไนล์  $84.3 \pm 2.3$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียที่เลี้ยงโดยอาหารที่มีส่วนผสมของซีรัมม้ามีการพัฒนาไปเป็นหอยระยะจู

วีนัล 44.3±8.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแหล่งโปรตีนจากปลาสมาลานิลได้ผลดีกว่าแหล่งโปรตีนจากซีรัมม้า

Kovitvadhi *et al.* (2002) ทำการเปรียบเทียบการเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยมูกน้ำจืด *H. (L.) myersiana* ในอาหารสังเคราะห์ ที่มีส่วนผสมของ M199 ยาปฏิชีวนะ และแหล่งโปรตีนจากปลาสมาลาทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลาไน ปลาดุก ปลาสวาย และซีรัมม้า ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ปริมาณของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย 50-100 ตัวต่อ 3.5 มิลลิลิตร ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 23 ± 1 องศาเซลเซียสและให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแหล่งโปรตีนจากปลาสมาลาไนมีเปอร์เซ็นต์การรอดได้ดีที่สุดคือ 93.77±3.0 เปอร์เซ็นต์ และปลาสวายต่ำสุดคือ 32.42±5.85 เปอร์เซ็นต์ และในปลาสมาลาไนตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูวีนัลได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 9 วัน จากการศึกษาธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบของปลาสมาลาทั้ง 4 ชนิด และซีรัมม้า พบว่า กรดอะมิโนมีผลต่ออัตราการมีชีวิตรอดของโกลคิเดีย ในปลาสมาลาของปลาไนมีอะมิโนกลุ่มที่ 4 คือ leucine, proline, threonine และ alanine มากกว่าจากแหล่งโปรตีนอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.01$ ) citruline และ glutamine มากกว่าแหล่งโปรตีนอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) ดังตารางผนวกที่ 2 จากนั้นใช้ปลาสมาลาไนเป็นแหล่งโปรตีนเพื่อศึกษาความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์โดยแบ่งช่วงความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียดังนี้ 50-100, 150-200, 250-300, 350-400, 450-500 ตัว พบว่า 150-200 ตัวเป็นความหนาแน่นที่มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุด

Kovitvadhi *et al.* (2006) ทำการเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียและหอยระยะจูวีนัลของ *H. (L.) myersiana* พบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย M199 แหล่งโปรตีนจากปลาสมาลาไน และยาปฏิชีวนะ ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ปริมาณของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย 5,000-6,000 ตัวต่อ 10 มิลลิลิตร ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและให้แก๊สคาร์บอนได ออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด 95±2.5 และเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูวีนัลได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หอยระยะจูวีนัลมีรูปร่างเหมือนตัวเต็มวัยเมื่ออายุ 160 วัน และพบเซลล์สืบพันธุ์เมื่ออายุ 360 วัน

Lima *et al.* (2006) ทำการเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยมูกน้ำจืด *Anadota cygnea* ในอาหารสังเคราะห์ โดยใช้ M199 แหล่งโปรตีนจากปลาสมาลาไน และยาปฏิชีวนะ ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 23±1 องศาเซลเซียสและให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5

เปอร์เซ็นต์ โกลกิดียเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูวี่ในลำใช้เวลา 10-11 วัน โกลกิดียมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดเท่ากับ  $34.3 \pm 9.3$



## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมตัวอย่างและการแยกเพศหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

เก็บตัวอย่างหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) desowitzi* จากแม่น้ำป่าสัก ตำบลคลองสะแก อำเภอนครหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา นำหอยที่เก็บได้มาแยกเพศ โดยมีขั้นตอนดังนี้

- 1.1 ใช้เข็มเปิดฝาของหอยให้แยกจากกันประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร
- 1.2 ใช้ลิ้มสอดเข้าไปตรงบริเวณระหว่างเปลือกของฝาทั้งสองข้างเพื่อป้องกันการปิดของเปลือก
- 1.3 ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 21 ติดกับกระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดเอาของเหลวภายใน visceral mass ตรงตำแหน่งที่เป็นอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gonad) (ภาพผนวกที่ 2) ออกมา 0.1 มิลลิลิตร
- 1.4 นำของเหลวที่ได้ตรวจดูเซลล์สืบพันธุ์ของหอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscope) ที่กำลังขยาย 100 เท่า โดยหอยเพศผู้จะพบอสุจิ หอยเพศเมียจะพบเซลล์ไข่
- 1.5 ทำเครื่องหมายแสดงเพศและรหัสประจำตัวหอย

### 2. การเลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

- 2.1 สุ่มหอยจากข้อ 1.5 มาใส่ตะกร้าทรงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 50 เซนติเมตร ตะกร้าละ 20 ตัว (เพศผู้ 10 ตัวและเพศเมีย 10 ตัว) จำนวน 6 ตะกร้า
- 2.2 นำตะกร้าใส่หอยแขวนที่กระชังของบ่อพักน้ำขนาด 5 ไร่ ของภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ระดับความลึก 1 เมตร (ภาพผนวกที่ 4)

### 3. ศึกษาวงสืบพันธุ์ของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในรอบปี

- 3.1 สุ่มตัวอย่างหอยเพศผู้และเพศเมีย จาก ข้อ 2. เพศละ 5 ตัวต่อตะกร้า
- 3.2 เจาะดูการพัฒนาของเซลล์ที่พัฒนาไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (germ cells) ดังข้อ 1.1-1.4 ในทุกเดือนตลอดปี
- 3.3 วัดอุณหภูมิของน้ำในเวลาประมาณ 12.00 น. ของวันที่ทำการศึกษา
- 3.4 บันทึกข้อมูลและภาพ germ cells ทั้งสองเพศ ทุกเดือนตลอดปี (กรกฎาคม พ.ศ. 2549 ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2550)

### 4. ศึกษาการเจริญของตัวอ่อนใน marsupial ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* เพศเมียในรอบปี

- 4.1 นำหอยเพศเมียจากข้อ 2.1 รวม 60 ตัว
- 4.2 ใช้เข็มเปิดฝาของหอยให้แยกจากกันประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร
- 4.3 ตรวจสอบการเกิด marsupia ทุกเดือนตลอดปี
- 4.4 วัดอุณหภูมิของน้ำในเวลาประมาณ 12.00 น. ของวันที่ทำการศึกษา
- 4.5 บันทึกข้อมูลและภาพ marsupial ทุกเดือนตลอดปี (กรกฎาคม พ.ศ. 2549 ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2550)

## 5. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในบ่อดิน

5.1 วัดขนาด (ความยาว ความกว้าง และความหนา) โดยใช้ Vernier caliper และชั่งน้ำหนัก โดยใช้เครื่องชั่งทศนิยมสองตำแหน่ง

5.2 นับจำนวนของ *H. (L.) desowitzi* ทั้งสองเพศที่มีชีวิตอยู่ทั้ง 6 ตะกร้า

5.3 บันทึกข้อมูล และหาค่าเฉลี่ยของขนาด รวมทั้งน้ำหนัก (เลี้ยงหอยตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2549 ถึงมิถุนายน พ.ศ. 2550 โดยเก็บข้อมูลเฉพาะเดือนมิถุนายน ธันวาคม พ.ศ. 2549 และ มิถุนายน พ.ศ. 2550)

## 6. ศึกษาคุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมีบริเวณที่เลี้ยง *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในบ่อดิน

การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำทางกายภาพและทางเคมี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน ธันวาคม พ.ศ. 2549 และ มิถุนายน พ.ศ. 2550 ใช้ Van Dorn Sampler ขนาด 1 ลิตรเก็บตัวอย่างน้ำ ที่ระดับความลึกเดียวกับตะกร้า ที่ใช้แขวนหอยมูกน้ำจืด ทดลอง 2 ซ้ำ นำน้ำมาศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ซึ่งวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้ อุณหภูมิของน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง และ ค่าการเหนี่ยวนำไฟฟ้า (conductivity) โดยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพของน้ำ (YSI 556 MPS) ความโปร่งใสของน้ำวัดด้วย secchi disc ความขุ่นโดยวิธี Spectrophotometer (DR 2000) ออกซิเจนละลายในน้ำโดยวิธี Alkali-iodide azide modification ความเป็นด่างรวมโดยวิธี Titrimetric ความกระด้างวัดโดยวิธี EDTA Titrimetric แอมโมเนียไนโตรเจนรวมโดยวิธี Nesslerization ไนเตรทโดยวิธี Cadmium reduction ไนไตรท์โดยวิธี Diazotization ฟอสเฟตโดยวิธี Ascorbic acid ซิลิกาโดยวิธี Silicomolybdate คาร์บอนไดออกไซด์อิสระโดยวิธี EDTA Titrimetric แคลเซียมโดยวิธี EDTA Titrimetric

## 7. การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ระยะโกลคิเดียมวิธีของ Kovitvadhi *et al.* (2001; 2002)

7.1 การเตรียมอาหารสังเคราะห์สำหรับเพาะเลี้ยงตัวอ่อนหอยมุกน้ำจืดระยะ โกลคิเดียมมีส่วนผสม 3 ส่วน ได้แก่ M199 แหล่งโปรตีน และยาปฏิชีวนะ

### 7.1.1 การเตรียมอาหารสำเร็จรูป (M199)

ใช้อาหารสำเร็จรูปสูตร M199 (M199 powder of life technologies, Inc. no 7, NO.262) (ตารางผนวกที่ 3) 1 ชอง เติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1 ลิตร แล้วใส่  $\text{NaHCO}_3$  2 กรัม ลงไปผสมให้เข้ากัน ปรับพีเอชด้วย 1 M NaOH หรือ 1 M HCl ให้อยู่ในช่วง 7.1-7.3

### 7.1.2 การเตรียมแหล่งโปรตีน

แหล่งโปรตีนที่ใช้จะเป็นซีรัมม้าและพลาสมาปลา ซึ่งปลาที่ใช้มี 3 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลาไน และปลาดุก วิธีการเตรียมพลาสมาปลาดังนี้ ชั่งน้ำหนักและวัดขนาดปลา การเจาะเลือดปลา เริ่มแรกทำให้ปลาสลบโดยใช้ guanidine 100 ไมโครลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ใช้แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เช็ดบริเวณที่จะทำการเจาะเลือดโดยเจาะเส้นเลือด caudal vein ที่บริเวณหาง โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 และหลอดฉีดยาเคลือบด้วย sodium heparin ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บเลือดที่เจาะได้ในหลอดปลอดเชื้อ แช่ในน้ำแข็ง นำเลือดที่ได้ไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 1000 และ 3000 rpm อย่างละ 10 นาที นำเลือดที่ปั่นได้มาใส่หลอดใหม่ แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียสด้วยความเร็ว 3000 rpm อีก 10 นาที แล้วแยกส่วนของพลาสมาซึ่งมีสีเหลืองใส กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน และ 0.20 ไมครอน ตามลำดับ พลาสมาที่ได้จะนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อที่จะใช้เป็นแหล่งโปรตีนเลี้ยงโกลคิเดียมต่อไป

### 7.1.3 การเตรียมยาปฏิชีวนะ และยาป้องกันเชื้อรา

นำ Rifampin 20 มิลลิกรัม Gentamycin sulfate 0.5 มิลลิกรัม Carbenicillin 20 มิลลิกรัม และ Amphotericin B 1.8 มิลลิกรัม ผสมกันและเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 200 มิลลิลิตร

### 7.1.4 การเตรียมอาหารสังเคราะห์สำหรับเลี้ยงโกลดิเดีย

ผสมอาหารสำเร็จรูปสูตร M199 กับแหล่งโปรตีน และยาปฏิชีวนะ ในอัตราส่วน 2:1:0.5 ตามลำดับให้เข้ากันแล้ว นำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 และ 0.22 ไมครอน ตามลำดับ จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

## 7.2 การเตรียมตัวอ่อนระยะโกลดิเดีย

นำแม่หอยมาทำความสะอาดเปลือกภายนอกด้วยน้ำประปา แล้วล้างทำความสะอาดภายในตัวหอยโดยใช้น้ำกลั่น เพศเมียที่มีโกลดิเดียอยู่บริเวณเหงือกโดยสังเกตได้จากส่วนของเหงือกทั้งสองข้างจะบวมขึ้นและมีสีเหลืองอมน้ำตาลมาตรวจดูความสมบูรณ์ของตัวอ่อนระยะโกลดิเดีย ใช้เข็มเบอร์ 18 และกระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตรดูดเอาตัวอ่อนระยะโกลดิเดียออกมา แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยตัวอ่อนระยะโกลดิเดียที่แข็งแรงจะมีการขยับฝาปิดเปิด ทำการดูดตัวอ่อนระยะโกลดิเดียออกมาจากบริเวณเหงือกของหอยตัวแม่โดยใช้เข็มเบอร์ 18 มาใส่บีกเกอร์บรรจุน้ำกลั่นมาเชื้อ แล้วพ่นเบาๆได้นำ ให้ฟุ้งกระจายหลายๆครั้ง เพื่อให้ตัวอ่อนระยะโกลดิเดียหลุดออกจากเมื่อตัวอ่อนระยะโกลดิเดียที่แข็งแรงจะตกลงสู่ก้นของบีกเกอร์ ส่วนเศษเมือก เนื้อเยื่อ และตัวอ่อนระยะโกลดิเดียที่ยังไม่แข็งแรงจะลอยอยู่ด้านบน ใช้หลอดหยดดูดตัวอ่อนระยะโกลดิเดียที่แข็งแรงและสมบูรณ์ออกมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้งเพื่อให้ได้ตัวอ่อนระยะโกลดิเดียที่สะอาดและพร้อมที่จะนำไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

## 7.3 การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลดิเดียในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างชนิดกัน

7.3.1 การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลดิเดีย ใช้หลอดหยดดูดตัวอ่อนระยะโกลดิเดียที่ล้างสะอาดแล้วจากข้อ 7.2 มาใส่จานเพาะเลี้ยงขนาด 35 x 10 มิลลิเมตร ที่บรรจุอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน โดยใช้แหล่งโปรตีนในอาหารสังเคราะห์ชนิดต่างๆชนิดละ 3 จาน โดยใส่

ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตรต่อ 1 งาน ใส่ตัวอ่อนระยะโกลคิเดียประมาณ 100 ตัว ลงในจานเพาะเลี้ยง หมุนจานเพาะเลี้ยงเบาๆเพื่อให้ตัวอ่อนระยะโกลคิเดียกระจายโดยรอบ นำจานเพาะเลี้ยงไปวางไว้ในตู้บ่มอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

7.3.2 เปลี่ยนอาหารสังเคราะห์ เมื่อตัวอ่อนระยะโกลคิเดียอายุครบ 5 วัน เมื่อสังเกตโกลคิเดีย ทุกวันภายใต้กล้องจุลทรรศน์เห็นเยื่อแมนเทิลยื่นออกมาบริเวณขอบเปลือก ปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ให้ เติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1/10 ของ media ลงในจานเพาะเลี้ยงเพื่อกระตุ้นให้ตัวอ่อนระยะโกลคิเดียพัฒนาไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์

7.3.3 บันทึกข้อมูลการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนระยะโกลคิเดียและจำนวนการเปลี่ยนแปลงจากตัวอ่อนระยะโกลคิเดียไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ในจานเพาะเลี้ยงจากแหล่งโปรตีนที่ต่างกันในการอาหารสังเคราะห์ โดยตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า

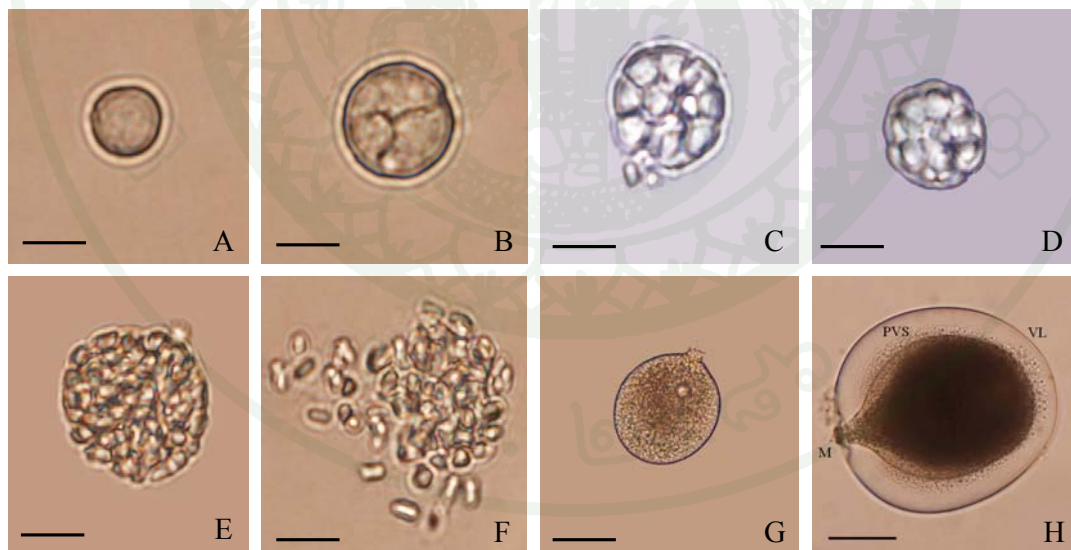
7.4 ศึกษาความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะโกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงจากข้อ 4.3 โดยให้มีความหนาแน่น 50-70, 71-90, 91-110, 111-150 และ 171-230 ตัวต่ออาหารสังเคราะห์ 3.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับวิธีเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลคิเดียทำการทดลองเหมือนข้อ 7.3.1 และ 7.3.2 แล้วบันทึกข้อมูลการมีชีวิตรอดต่อความหนาแน่นและจำนวนการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์

## ผลและวิจารณ์

### ผล

#### 1. วงสืบพันธุ์ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

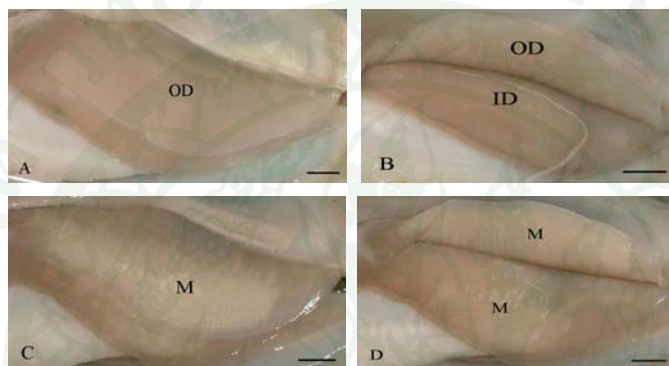
*H. (L.) desowitzi* เพศผู้และเพศเมีย มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตลอดทั้งปี จากการศึกษาโดยทำ whole mount พบว่าภายใน gonad ของ *H. (L.) desowitzi* เพศผู้มี germ cells ที่เจริญและพัฒนาแบบ atypical spermatogenesis ระยะต่างๆ ประกอบด้วย germ cell morulae 3 ระยะคือ early stage (spermatogonia) middle stage (spermatocytes) และ late stage (spermatids และ spermatozoa) เพศเมียพบ female germ cells 2 ระยะ คือ immature oocytes และ mature oocytes (ภาพที่ 1) สามารถพบการเจริญและพัฒนาของ germ cells ระยะต่างๆของทั้งสองเพศเหมือนกันทุกเดือนตลอดปี ดังนั้นการเจริญและพัฒนาของ germ cells ใน *H. (L.) desowitzi* จึงเป็นแบบต่อเนื่องโดยไม่มีฤดูกาลสืบพันธุ์



ภาพที่ 1 เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ประกอบด้วย spermatogonia (A,B), spermatocytes morulae (C,D), spermatids morulae, (E) and spermatozoa (F) เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ประกอบด้วย Immature oocyte (G). Mature oocyte (H). M, micropyle; PVS, perivitelline space; VL, vitelline layer. Bars A-F 20  $\mu$ m; G-H 50  $\mu$ m

## 2. การเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* เพศเมียในรอบปี

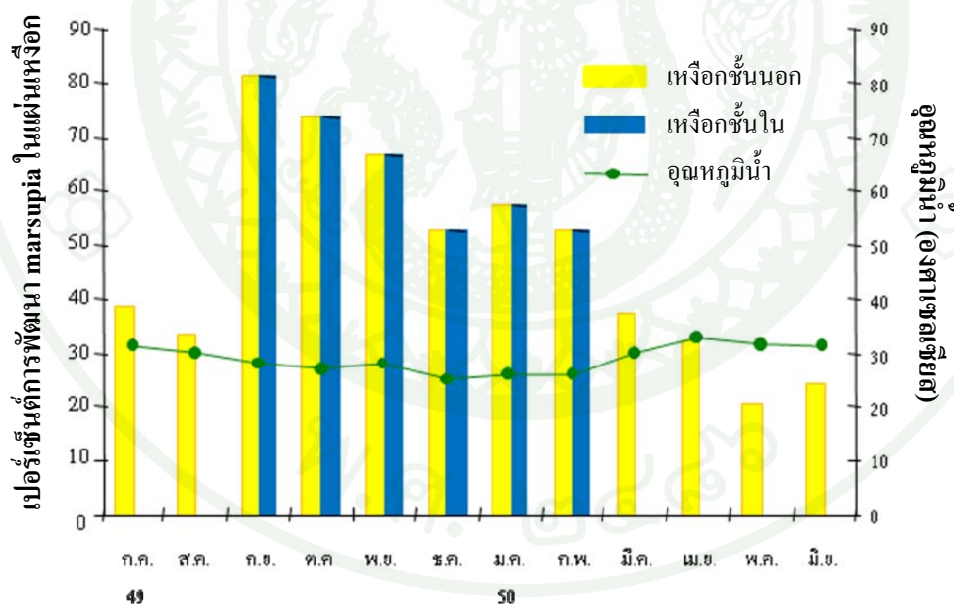
พบการเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของ *H. (L.) desowitzi* เพศเมียตลอดปี ในช่วงเดือนกันยายนถึงกุมภาพันธ์ พบทั้ง outer และ inner demibranch (ภาพที่ 2) ส่วนช่วงเดือนมีนาคมถึงสิงหาคมมีการเจริญ marsupia เฉพาะ outer demibranch



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ demibranch (A,B) และ marsupia (C,D). OD, outer demibranch; ID, inner demibranch; M, marsupia. Bar 3 mm

### 3. ผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์และการเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

พบว่าอุณหภูมิน้ำไม่มีผลต่อกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *H. (L.) desowitzi* ทั้งสองเพศซึ่งสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ตลอดปีโดยอุณหภูมิน้ำในรอบปีอยู่ระหว่าง  $25 \pm 2.5$  ถึง  $32.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมามีผลต่อการเจริญของ marsupia มีค่าเฉลี่ยตลอดปีเท่ากับ  $47.46 \pm 19.5$  เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงสุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 80.95 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิน้ำ 28 องศาเซลเซียส *H. (L.) desowitzi* สามารถพัฒนา marsupia เฉพาะ outer demibranch ระหว่างเดือนมีนาคมถึงเดือนสิงหาคม ที่อุณหภูมิน้ำ  $30 \pm 0.9$  ถึง  $32.5 \pm 0.9$  องศาเซลเซียส แต่ในเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ อุณหภูมิน้ำ  $25 \pm 1.2$  ถึง  $28 \pm 1.2$  องศาเซลเซียส สามารถพัฒนา marsupia ทั้ง outer และ inner demibranch ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ตลอด 1 ปี

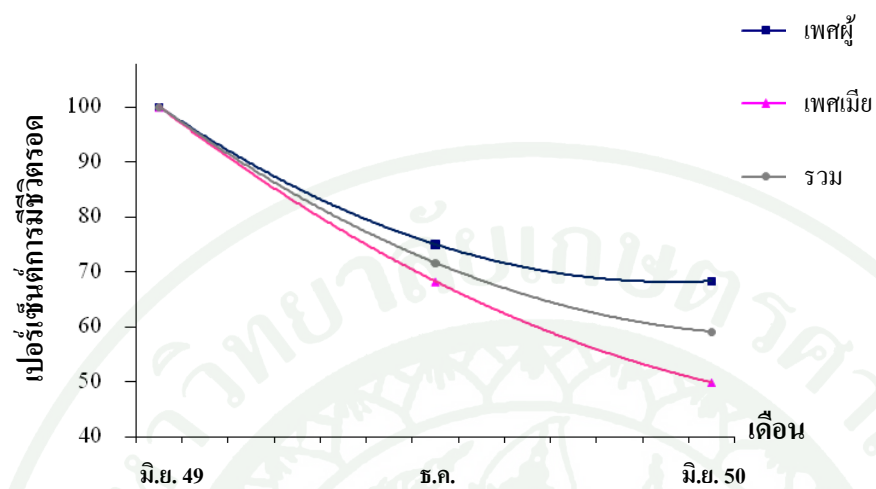
#### 4. อัตราการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในบ่อดิน

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของหอย *H. (L.) desowitzi* เพศผู้ และเพศเมีย เมื่อเลี้ยงครบ 1 ปี พบว่า อัตราการเจริญเติบโต 6 เดือนแรก (เดือนมิถุนายน 2549 ถึง เดือนธันวาคม 2549) และ 6 เดือนหลัง (เดือนธันวาคม 2549 ถึง เดือนมิถุนายน 2550) ของเพศผู้ (ความยาว ความหนา และน้ำหนัก) และเพศเมีย (ความยาว และน้ำหนัก) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) แต่เพศผู้ (ความสูง) และเพศเมีย (ความสูงและความหนา) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 1) (ตารางผนวกที่ 4) เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเพศผู้และเพศเมีย เท่ากับ 68 และ 50 ตามลำดับ (ภาพที่ 4)

**ตารางที่ 1** อัตราการเจริญเติบโตของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* เพศผู้และเพศเมียที่เลี้ยงในบ่อดินตลอด 1 ปี

| ขนาด (มม)/น้ำหนัก (ก)  | มิ.ย. 49 - ธ.ค. 49    |                       | ธ.ค. 49 - มิ.ย. 50    |                       |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                        | เพศผู้                | เพศเมีย               | เพศผู้                | เพศเมีย               |
| ความยาว                | 0.23±0.3              | 0.27±0.3              | 0.21±0.3              | 0.20±0.2              |
| ความสูง <sup>(1)</sup> | 0.37±0.4 <sup>a</sup> | 0.31±0.4 <sup>a</sup> | 0.06±0.2 <sup>b</sup> | 0.05±0.2 <sup>b</sup> |
| ความหนา <sup>(1)</sup> | 0.26±0.1              | 0.38±0.2 <sup>a</sup> | 0.23±0.1              | 0.24±0.1 <sup>b</sup> |
| น้ำหนัก                | 1.99±1.1              | 2.27±1.3              | 1.93±1.8              | 1.73±1.3              |

หมายเหตุ <sup>(1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่ได้ตามตัวอักษรต่างกันภายในแนวนอนเดียวกันของเพศเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )



ภาพที่ 4 เปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ตลอด 1 ปี

## 5. คุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมีบริเวณที่เลี้ยง *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในบ่อดิน

คุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมีในบ่อดินที่เลี้ยง *H. (L.) desowitzi* ตลอด 1 ปี  
 ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมีบริเวณที่เลี้ยง *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ในบ่อดินตลอด 1 ปี

| พารามิเตอร์                                  | เดือน     |           |             | ค่าเฉลี่ย±SD  |
|----------------------------------------------|-----------|-----------|-------------|---------------|
|                                              | มิ.ย. 49  | ธ.ค. 49   | มิ.ย. 50    |               |
| อุณหภูมิอากาศ (°C)                           | 30±0      | 31±0      | 32.5±0      | 31.67±1.3     |
| อุณหภูมิน้ำ (°C)                             | 25±0      | 30.5±0    | 31.2±0      | 28.9±3.4      |
| ความเป็นกรด ค่า                              | 7.75±0    | 8.38±0    | 7.93±0      | 8.02±0.3      |
| การเหนี่ยวนำไฟฟ้า (μS/cm)                    | 351.5±0.7 | 1,462±4.2 | 1,355.5±6.4 | 1,056.3±612.7 |
| ความโปร่งแสง (cm)                            | 34±0      | 27.5±0    | 29.5±0      | 30.3±3.3      |
| ความขุ่น (F.T.U)                             | 17.9±0.7  | 37.5±0.7  | 40.5±4.9    | 31.97±12.3    |
| ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (ppmO <sub>2</sub> )   | 3.33±0    | 3.98±0.3  | 3.33±0.1    | 3.57±0.4      |
| ความเป็นด่าง (ppmCaCO <sub>3</sub> )         | 53.86±0.6 | 55.53±1.8 | 88.93±0     | 66.11±19.8    |
| ความกระด้างรวม (CaCO <sub>3</sub> )          | 226±2.2   | 246.5±3.5 | 219±7.1     | 230.3±14.3    |
| แอมโมเนียไนโตรเจนรวม (ppmNH <sub>4</sub> -N) | 0.12±0.1  | 0.01±0    | 0.05±0      | 0.06±0.1      |
| ไนเตรท (ppm NO <sub>3</sub> -N)              | 0         | 0.4±0     | 1.9±0.3     | 0.77±1.0      |
| ไนไตรท์ (NO <sub>2</sub> -N)                 | 0.02±0.0  | 0.06±0    | 0           | 0.03±0        |
| ฟอสเฟต (ppm PO <sub>4</sub> -P)              | 0         | 0         | 0           | 0             |
| ซิลิกา (ppm SiO <sub>2</sub> )               | 20±1.4    | 17.5±0.7  | 5.7±0.7     | 14.4±7.6      |
| คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ                        | 20±0.7    | 0         | 3±0         | 7.67±10.8     |
| แคลเซียม (ppmCaCO <sub>3</sub> )             | 127±9.9   | 105.5±2.1 | 108±0       | 113.5±11.8    |

## 6. การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดเดียวในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน

ผลจากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนระยะโกลกิดเดียวไปเป็นหอยระยะจูวีในถ้ำในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน 4 ชนิด (ตารางที่ 3) พบว่าจากตัวอ่อนระยะโกลกิดเดียวไปเป็นหอยระยะจูวีในถ้ำในแหล่งโปรตีนที่ได้จากปลาสมาลาไน มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุด  $99.61 \pm 0.66$  โดยแหล่งโปรตีนจากปลาสมาลาไนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) กับปลาสมาลาดุก แต่ปลาสมาลาไนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) กับปลาสมาลาไนลและซีรัมม้า ตัวอ่อนระยะโกลกิดเดียวที่เลี้ยงในทุกแหล่งโปรตีนสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูวีในถ้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงเท่ากัน คือ 10 วัน

**ตารางที่ 3** เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดและการเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนระยะโกลกิดเดียวไปเป็นหอยระยะจูวีในถ้ำที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน 4 ชนิด

| แหล่งโปรตีน | เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด<br>ของตัวอ่อนระยะโกลกิดเดียว |           |                                     | เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง<br>เป็นหอยระยะจูวีในถ้ำ |
|-------------|-------------------------------------------------------|-----------|-------------------------------------|---------------------------------------------------|
|             | ค่าต่ำสุด                                             | ค่าสูงสุด | (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD) <sup>(1)</sup> |                                                   |
| ปลาสมาลาไนล | 89.06                                                 | 94.49     | $92.56 \pm 3.0^a$                   | 100                                               |
| ซีรัมม้า    | 90.79                                                 | 96.51     | $94.67 \pm 2.7^{ab}$                | 100                                               |
| ปลาสมาลาดุก | 95.52                                                 | 100.00    | $97.75 \pm 2.2^{bc}$                | 100                                               |
| ปลาสมาลาไน  | 98.85                                                 | 100.00    | $99.61 \pm 0.7^c$                   | 100                                               |

หมายเหตุ <sup>(1)</sup> ค่าเฉลี่ยที่ได้ตามตัวอักษรต่างกันภายในแนวดังเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

## 7. การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลคิเดียที่ความหนาแน่นต่างกันโดยใช้โปรตีนจากพลาสมาปลา

เปอร์เซ็นต์การรอดของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ที่เสี่ยงในความหนาแน่น แตกต่างกัน พบว่าความหนาแน่น 50-70 ตัวต่อ 3 มิลลิตร มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุด  $97.08 \pm 0.9$  เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ของทุกระดับความหนาแน่น โดยสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นหอยระยะจูว์ไนล์ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) ใช้เวลาเท่ากันของทุกระดับความหนาแน่นเท่ากับ 6 วัน

**ตารางที่ 4** เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย ในอาหารสังเคราะห์ที่มีความหนาแน่นต่างกันโดยพลาสมาปลาเป็นแหล่งโปรตีน

| ความหนาแน่น | เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด<br>ของตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย |           |                      | เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง<br>เป็นหอยระยะจูว์ไนล์ |
|-------------|------------------------------------------------------|-----------|----------------------|--------------------------------------------------|
|             | ค่าต่ำสุด                                            | ค่าสูงสุด | (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD) |                                                  |
| 50-70       | 97.01                                                | 97.14     | $97.08 \pm 0.9$      | 100                                              |
| 71-90       | 93.26                                                | 95.00     | $94.13 \pm 1.2$      | 100                                              |
| 91-110      | 91.33                                                | 96.77     | $94.67 \pm 2.9$      | 100                                              |
| 111-150     | 91.33                                                | 96.03     | $94.66 \pm 2.2$      | 100                                              |
| 171-230     | 90.81                                                | 93.39     | $92.37 \pm 2.2$      | 100                                              |

## วิจารณ์

### 1. วงสืบพันธุ์ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

*H. (L.) desowitzi* มีเพศแยก ตัวเต็มวัยเพศผู้จะปล่อยสเปิร์มออกสู่ภายนอกทางช่องน้ำออก และสเปิร์มปะปนมากับน้ำเข้าสู่ช่องน้ำเข้าของตัวเต็มวัยเพศเมีย ซึ่งไข่ของเพศเมียเมื่อแก่เต็มที่จะถูกเก็บไว้ที่ท่อน้ำบริเวณเหงือก เกิดการปฏิสนธิกับสเปิร์ม (internal fertilization) ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจะเจริญอยู่ที่เหงือกของเพศเมีย (อุทัยวรรณ และคณะ, 2540) เช่นเดียวกับหอยกาน้ำจืด *Chamberlainia hainesiana* *H. (L.) myersiana* และ *H. (H.) bialatus* ในขณะที่หอยกาน้ำจืด เช่น *Crassostrea gigas* มีการปฏิสนธิภายนอก (Caroline *et al.*, 2005) *H. (L.) desowitzi* เพศผู้และเพศเมีย มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ตลอดทั้งปี เช่นเดียวกับ *H. (H.) bialatus* (Chatchavalvanich *et al.*, 2006) ซึ่งต่างจาก *C. hainesiana* จะอยู่ระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์, *H. (L.) myersiana* อยู่ระหว่างเดือนกันยายนถึงพฤษภาคม (อรภา, 2543) ในประเทศญี่ปุ่น พบหอยกาน้ำจืดวงศ์ Unionidae 7 ชนิด คือ *Pseudodon omensis*, *Unio douglasiae*, *Inversidens japaensis*, *I. yanagawensis*, *I. brandi*, *Lanceolaria grayana* และ *Anodonta woodiana* มีการสืบพันธุ์ระหว่างเดือนมีนาคมถึงสิงหาคม (Kondo, 1987) จากการศึกษาโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของการเจริญและพัฒนาของ germ cells ใน *H. bialatus* เพศผู้มีสองรูปแบบ แบบแรก คือ typical spermatogenesis ประกอบด้วย spermatogonia, primary spermatocytes, secondary spermatocytes, spermatids และ spermatozoa แบบที่สอง คือ atypical spermatogenesis พบ germ cell morulae 3 ระยะ ได้แก่ early stage (spermatogonia), middle stage (spermatocytes morulae) และ late stage (spermatid morulae และ spermatozoa) ส่วนเพศเมียประกอบด้วย oogonia และ oocytes 5 ระยะ ได้แก่ stage 1 oocytes, stage 2 oocytes, stage 3 oocytes, stage 4 oocytes และ stage 5 oocytes (Chatchavalvanich *et al.*, 2006) จากการศึกษาโดยทำ whole mount พบว่า germ cells ส่วนใหญ่ของ *H. (L.) desowitzi* เพศผู้มี germ cells ที่เจริญและพัฒนาแบบ atypical spermatogenesis ประกอบด้วยระยะต่างๆของ germ cell morulae 3 ระยะคือ early stage (spermatogonia) middle stage (spermatocytes) และ late stage (spermatids และ spermatozoa) สำหรับเพศเมียพบ female germ cells 2 ระยะ คือ immature oocytes และ mature oocytes สามารถพบการเจริญและพัฒนาของ germ cells ระยะต่างๆของทั้งสองเพศทุกเดือนตลอดปี ดังนั้นการเจริญและพัฒนาของ germ cells ใน *H. (L.) desowitzi* จึงเป็นแบบต่อเนื่องโดยไม่มีฤดูกาลสืบพันธุ์

## 2. การเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* เพศเมีย

ส่วนใหญ่การเกิด marsupia ในหอยเพศเมียจะเกิดที่ outer demibranch เช่น *Anodonta woodiana* (Fukuhara and Nagata, 1988), *Lampsilis ventricosa* (Pennak, 1989), *C. hainesiana*, *H. (L.) myersiana* (อรภา, 2543), *H. bialatus* (ธวัชชัย, 2546; ศิริรัตน์ และ เอกสิทธิ์, 2547) ใน *H. (L.) desowitzi* พบการเจริญ marsupia ของ เพศเมียตลอดปี ในช่วงเดือนกันยายนถึงกุมภาพันธ์ พบทั้ง outer และ inner demibranch ส่วนช่วงเดือนมีนาคมถึงสิงหาคมมีการเจริญ marsupia เฉพาะ outer demibranch โดยสามารถแบ่งเป็นระยะต่างๆ ได้ 6 ระยะ เช่นเดียวกับ ธวัชชัย และคณะ (2546) และ ศิริรัตน์ และ เอกสิทธิ์ (2547) คือ ระยะที่ 0 ไม่มีการเจริญของตัวอ่อน แผ่นเหงือกมีลักษณะแบนบาง ระยะที่ 1 marsupia มีสีขาว แผ่นเหงือกพองขึ้น ระยะที่ 2 marsupia มีสีเหลืองอ่อน ระยะที่ 3 marsupia มีสีเหลือง ระยะที่ 4 marsupia มีสีน้ำตาลอ่อน และระยะที่ 5 marsupia มีสีน้ำตาลหรือน้ำตาลแดงซึ่งเป็นระยะที่ใกล้คลอดเต็มที่ และแผ่นเหงือกมีลักษณะพองมากที่สุด พบว่าตัวอ่อนระยะใกล้คลอดของ *H. (L.) desowitzi* จาก inner demibranch พัฒนาได้ไม่สมบูรณ์แต่ตัวอ่อนระยะ ใกล้คลอดจาก outer demibranch มีความสมบูรณ์ เหมาะสมที่จะนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เนื่องจาก outer demibranch ติดกับ mantle cavity ทำให้สัมผัสกับน้ำได้โดยตรงและเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สที่บริเวณ outer demibranch ได้ดีกว่า inner demibranch

### 3. ผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์และการเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ การเจริญของตัวอ่อนใน marsupia ของหอย ส่วนมากในเขตหนาวจะมีการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ปีละครั้ง เขตอบอุ่นปีละสองครั้ง และในเขตร้อนปีละครั้งหรือตลอดทั้งปี การพัฒนาจากไข่ที่ได้รับการผสม (zygote) ไปเป็นโกลกิดีใน marsupia จะใช้เวลาแตกต่างกันขึ้นกับชนิดหอยและอุณหภูมิ เช่น หอยกาน้ำจืด *Lithophaga lithophaga* และ หอยกาน้ำเค็ม *Crassostrea gigas* จะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และ สูงกว่า 19 องศาเซลเซียส (Galinou-Mitsoudi and Sinis, 1994 and Caroline *et al.*, 2005) ตามลำดับ การทดลองครั้งนี้อุณหภูมิในรอบปีไม่มีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์สำหรับ *H. (L.) desowitzi* ทั้งสองเพศ แต่มีผลต่อการเจริญ marsupia จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการพัฒนาตัวอ่อนใน marsupia ของ *H. bialatus* ธวัชชัย และคณะ (2546) พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาจากไข่ที่ปฏิสนธิไปเป็นตัวอ่อนระยะโกลกิดี ใน marsupia มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.67 \pm 1.30$  วัน และสามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่มีระยะพัก โดยระยะเวลามากที่สุดคือ 10 วัน อุณหภูมิ  $26.02 \pm 1.16$  องศาเซลเซียส และระยะเวลาน้อยที่สุดคือ 6 วัน อุณหภูมิ  $30.14 \pm 0.42$  องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิมีผลต่อการเกิด incubation period โดยที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้มีช่วงของ incubation period นานกว่าอุณหภูมิสูง เช่นเดียวกับรายงานของ อรภา และคณะ (2537) พบว่าการพัฒนาของตัวอ่อนระยะโกลกิดีของ *C. hainesiana* และ *H. (L.) desowitzi* ที่ใช้เวลานาน 9-10 วัน จะพบมากที่สุดในเดือนธันวาคม อุณหภูมิ 24-25 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น การพัฒนาของตัวอ่อนในระยะโกลกิดีจะใช้เวลาสั้นลง และจากการศึกษาของ Kimura and Sekiguchi (1996) ในหอย *Musculista senhousia* และ *Limnoperna fortunei kikuchii* พบว่าการพัฒนาของไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิไปเป็นตัวอ่อนระยะโกลกิดีจะเกิดอย่างรวดเร็วและใช้เวลาสั้น เมื่ออุณหภูมิเท่ากับ 25-30 องศาเซลเซียส และจะพัฒนาช้าลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส

#### 4. เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด และอัตราการเจริญเติบโต ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ *H. (L.) desowitzi* ทั้งสองเพศ พบว่าเพศเมียมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดต่ำกว่าเพศผู้ อาจเนื่องมาจากเพศเมียจะมีการเลี้ยงดูตัวอ่อนภายในเหงือก ซึ่งเป็นระยะที่ค่อนข้างอ่อนแอ สำหรับอัตราการเจริญเติบโตของทั้งสองเพศในช่วงเดือนมิถุนายน 2549 ถึง เดือนธันวาคม 2549 สูงกว่าในช่วงเดือนธันวาคม 2549 ถึง เดือนมิถุนายน 2550 สอดคล้องกับการศึกษาของ Kovitvadhi *et al.* (1998) เลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *Chamberlainia hainesiana* เป็นเวลา 1 ปี พบว่าหอยมีการเจริญเติบโตสูงในช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาว เนื่องจากเป็นช่วงที่มีปริมาณแพลงก์ตอนพืชจำนวนมาก ซึ่งเป็นอาหารหลักที่สำคัญของการเจริญเติบโตของหอย

#### 5. ผลของคุณภาพของน้ำต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดและอัตราการเจริญเติบโต ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดและอัตราการเจริญเติบโต ของการทดลองครั้งนี้ (ตารางที่ 2) กับสาริต และคณะ (2548) (ตารางผนวกที่ 1) ซึ่งศึกษาเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของ *H. (L.) desowitzi* ที่เลี้ยงในแหล่งธรรมชาติ พบว่า ความโปร่งแสง ความขุ่น การเหนียวนำไฟฟ้า ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเป็นกรดด่าง ความกระด้างรวม และแคลเซียม มีค่าแตกต่างกัน ซึ่งคุณภาพของน้ำดังกล่าวอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอดของหอย เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของคุณภาพน้ำ (ศิริเพ็ญ, 2543; กรรณิการ์, 2522; เปี่ยมศักดิ์, 2539) พบว่าค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีค่าระหว่าง 3.2-4 ppm ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐาน (5 ppm) อาจเป็นเพราะแหล่งที่เลี้ยงหอยของการทดลองครั้งนี้มีสภาพเป็นน้ำนิ่ง ซึ่งปริมาณออกซิเจนจะต่ำกว่าแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นน้ำไหล ความกระด้างของน้ำอยู่ระหว่าง 219-246.5 ppm จัดอยู่ในกลุ่มของน้ำกระด้าง ซึ่งเป็นผลรวมมาจากแคลเซียมและแมกนีเซียม โดยค่าความกระด้างของน้ำจะมี *ปฏิกิริยาโดยตรง* กับค่าความเหนียวนำไฟฟ้า (Miller *et al.*, 1973) ค่าของแอมโมเนียและฟอสเฟสอยู่ในระดับปกติ คือ ไม่เกิน 0.1 และ 0.03 ppm ตามลำดับของค่ามาตรฐาน ขณะที่ อุทยวรรณ และคณะ (2541) ศึกษาในเวศวิทยาของหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) myersiana* บริเวณแม่น้ำแม่กลอง จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าค่าแอมโมเนียและฟอสเฟตสูงกว่าค่ามาตรฐาน คือ  $0.88 \pm 0.2$  และ  $0.88 \pm 2.3$  ppm ตามลำดับ จากการศึกษานี้ของ Buddensiek (1995) เมื่อเปรียบเทียบค่าสหสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติของน้ำที่เลี้ยงในแหล่งน้ำต่างกัน พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด และการเจริญเติบโตของหอยมุก *Margaritifera margaritifera*

## 6. การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งโปรตีนต่างกัน

จากการทดลองเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีของ *H. (L.) desowitzi* ในอาหารสังเคราะห์สภาพปลอดเชื้อ โดยใช้อาหาร 4 สูตร ซึ่งแตกต่างกันที่แหล่งโปรตีน คือ พลาสมาปลาไน พลาสมาปลาฉลาม และซีรัมม้า พบว่าโกลกิดีสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นลูกหอยระยะจูวีในอัตรา 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 4 สูตรอาหาร โดยพลาสมาปลาไนมีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของลูกหอยสูงที่สุด คือ 99.61 ซึ่งผลการทดลองเหมือนกับประภัสสร และคณะ (2546) และ Kovitvadh et al. (2002) ซึ่งใช้พลาสมาปลาไนเป็นแหล่งโปรตีนในการเพาะเลี้ยงโกลกิดีของหอยมุกน้ำจืด *C. hainesiana* และ *H. myersiana* พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงเท่ากับ 96.24 และ 93.77 ตามลำดับ และสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นลูกหอยระยะจูวีในอัตรา 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Isom and Hudson (1982, 1984a, 1984b) เพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีของหอยมุกน้ำจืด *Fusconaia ebena* โดยมีพลาสมาปลาไนเป็นส่วนผสมในอาหารสังเคราะห์ 80 เปอร์เซ็นต์ ตัวอ่อนระยะโกลกิดีสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นหอยระยะจูวีในอัตราได้มากที่สุด คือ  $51.2 \pm 3.8$  เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งจากการศึกษาของ Kovitvadh et al. (2002) ได้ทดลองเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีของหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) myersiana* โดยให้เกาะกับปลา 4 ชนิด (ปลาไน ปลาฉลาม ปลาฉลาม ปลาทราย) พบว่าปลาไนมีการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนระยะโกลกิดีไปเป็นหอยระยะจูวีในอัตราสูงสุด  $93.77 \pm 3.0$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปลาไนมีการเกาะของตัวอ่อนระยะโกลกิดีแตกต่างจากแหล่งโปรตีนอื่นๆ และจากการทดลองดังกล่าวได้มีการวิเคราะห์กรดอะมิโนจากพลาสมาปลาทั้ง 4 ชนิด และซีรัมม้า พบว่าในพลาสมาปลาไนมีกรดอะมิโน leucine, proline, threonine และ alanine มากกว่าจากแหล่งโปรตีนอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P \leq 0.01$ ) citrulline และ glutamine มากกว่าแหล่งโปรตีนอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) แต่การทดลองของ Lima et al. (2006) เพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีของหอยมุกน้ำจืด *Anodonta cygnea* ในอาหารสังเคราะห์โดยใช้พลาสมาปลาไนเป็นแหล่งโปรตีนพบว่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดเพียง  $34.3 \pm 9.3$

## 7. การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีที่ความหนาแน่นต่างกันโดยใช้โปรตีนจากพลาสมาปลา

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าความหนาแน่น 50-70 ตัวต่อ 3.5 มิลลิตร มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุด คือ 97.08 ซึ่งสูงกว่า ประภัสสร และคณะ (2546) การเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีของหอยมุกน้ำจืด *C. hainesiana* ที่ความหนาแน่น 4 ระดับ พบว่าที่ระดับความหนาแน่น 130 ตัว มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุดเท่ากับ 94.87 ขณะที่ Kovitvadhi *et al.* (2002) ศึกษาความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงของตัวอ่อนระยะโกลกิดีในหอยมุกน้ำจืด *H. (L.) myersiana* พบว่า 150-200 ตัวเป็นความหนาแน่นที่มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดสูงสุด 92.39 แม้ว่าผลที่ได้จากการศึกษาความหนาแน่นในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะโกลกิดีของ *H. (L.) desowitzi* จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) แต่การเลือกความหนาแน่น 171-230 ซึ่งมีจำนวนโกลกิดีสูงเกินไปเพาะเลี้ยงนั้น ต้องมีการศึกษาต่อไปถึงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของหอยระยะจูวีในลํ้าก่อนว่ามีความแตกต่างกับความหนาแน่น 50-70 หรือไม่ จากการศึกษานี้พบว่า แม่หอยที่ได้จากแหล่งเลี้ยงที่แตกต่างกัน จะมีผลต่อระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนระยะโกลกิดีไปเป็นหอยระยะจูวีในลํ้าระหว่างที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ โดยแม่หอยที่ได้จากการเลี้ยงในบ่อดิน จะมีการพัฒนาตัวอ่อนช้ากว่าแม่หอยที่ได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติประมาณ 4 วัน ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเป็นเพราะว่าแหล่งน้ำธรรมชาติมีความเหมาะสมต่อการพัฒนาตัวอ่อนที่ดีกว่า ดังนั้นเมื่อนำตัวอ่อนระยะโกลกิดีจากแม่หอยมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ จึงส่งผลทำให้มีการพัฒนาตัวอ่อนเร็วกว่า แต่อย่างไรก็ตามหอยมุกน้ำจืด เช่น *H. (L.) myersiana* และ *H. (H.) bialatus* สามารถพัฒนาตัวอ่อนระยะโกลกิดีในบ่อดินได้ (Kovitvadhi *et al.*, 2002; มยุรา และคณะ, 2546) ซึ่งอาจจะเป็นเพราะหอยทั้งสองชนิดมีความสามารถในการปรับตัวได้ดีกว่า *H. (L.) desowitzi*

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย ของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* รวมทั้งการเจริญของ marsupia ในเพศเมียพบทุกเดือนตลอดทั้งปี โดยอุณหภูมิไม่มีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ แต่มีผลต่อการเจริญของ marsupia อุณหภูมิต่ำกว่า 28 องศาเซลเซียสจะพบ marsupia ทั้ง outer และ inner demibranch อุณหภูมิสูงกว่า 28 องศาเซลเซียส จะพบเฉพาะ outer demibranch เพอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเพศผู้และเพศเมีย เท่ากับ 68 และ 50 ตามลำดับ เพศผู้และเพศเมียมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงในเดือนมิถุนายน 2549 ถึง เดือนธันวาคม 2549 และลดลงในเดือนธันวาคม 2549 และ เดือนมิถุนายน 2550 คุณภาพของน้ำในบ่อดินทางกายภาพและเคมีที่สอดคล้องกับแหล่งน้ำธรรมชาติที่เป็นแหล่งอาศัยของ *H. (L.) desowitzi* คือ อุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรดค่าความเป็นด่าง คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ ไนโตรท ไนเตรท และ ฟอสเฟส สำหรับการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียพบว่าพลาสมาปลาเป็นแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมที่สุด โดยความหนาแน่นที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 50-70 ตัวต่ออาหารสังเคราะห์ 3.5 มิลลิลิตร

### ข้อเสนอแนะ

ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของตัวอ่อนใน marsupia จะอยู่ในช่วง 25-28 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในแหล่งน้ำอย่างรวดเร็วจะมีผลต่อการปล่อยตัวอ่อนระยะ โกลคิเดีย บ่อที่ใช้เลี้ยงหอยควรมีการปรับคุณภาพของน้ำให้ใกล้เคียงกับแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของหอย ซึ่งจะส่งผลทำให้มีการเจริญเติบโตที่เหมาะสม การมีชีวิตรอดสูง และการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์ ผลภาวะทางน้ำมีผลต่อจำนวนและการดำรงชีวิตของหอย

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรณีการ สิริสิงห. 2522. เคมี่ของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 2. ประยูรวงศ์, กรุงเทพฯ.

จุฑามาศ จิวาลักษณ์, พิชิต พรหมประศรี และ อรภา นาคจินดา. 2550. หอยกาน้ำจืดของไทย. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ธวัชชัย จินดามงคล. 2546. โครงสร้างทางจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ในวงสืบพันธุ์ของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson, 1900. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

....., อุทัยวรรณ โกวิทวที, สาริต โกวิทวที, อมรา ทองปาน และ กรณีกา ชัชวาลวนิช. 2546. ระยะเวลาและความถี่ในการพัฒนาตัวอ่อนระยะ โกลคิเดียของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson, 1900, น. 171-178. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ประภัศร พลวงค์, อุทัยวรรณ โกวิทวที และ อรภา นาคจินดา. 2546. ชนิดของอาหารเสริมและความหนาแน่นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *Chamberlainia hainesiana* ระยะ โกลคิเดียในอาหารสังเคราะห์. น. 179-186. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต. 2539. แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษประเภทของทรัพยากร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มยุรา อารีกิจเสรี, สาธิต โกวิทวาทิ, อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ, อรุณี อิงคากุล, อมรา ทองปาน, มิ่งขวัญ มิ่งเมือง และ เรณู เวชรัชต์พิมล. 2546. การเพาะเลี้ยงและการพัฒนารูปร่างของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900 ในอาหารสังเคราะห์. ใน รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29. กรุงเทพฯ.

ศิริเพ็ญ ตรีชัยยาพร. 2543. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ศิริรัตน์ ชันยลาภพิทักษ์ และ เอกสิทธิ์ ปิยะแสงทอง. 2547. การพัฒนาตัวอ่อนของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson, 1900. รายงานปัญหาพิเศษ ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาธิต โกวิทวาทิ. 2550. การอนุบาลลูกหอยมุกน้ำจืดในระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด. ใน เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่อง “นวัตกรรมและทิศทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบหมุนเวียนแบบปิดในประเทศไทย”. สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_, อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ และ สนธิพันธ์ ฝาสุชาติ. 2548. การคัดเลือกหอยกาน้ำจืด วงศ์ Amblemidae ในประเทศไทยเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงไข่มุกน้ำจืด. ใน รายงานการวิจัย เรื่อง การพัฒนาการเพาะเลี้ยงไข่มุกน้ำจืดในประเทศไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

สุชาติ อุปถัมภ์, มาลียา เครือตราฐ, ยาวลักษณ์ จิตรามวงศ์ และ ศิริวรรณ จันทเดมิย์. 2538. สังขวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

อรภา นาคจินดา. 2543. การศึกษาเกี่ยวกับหอยมุกน้ำจืดและการเพาะเลี้ยงไข่มุกน้ำจืดในประเทศไทย, น. 63-86. ใน เอกสารเสวนาวิชาการเรื่อง การศึกษาวิชาการหอยปี 2000. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรภา นาคจินดา, วชิระ กิตติมศักดิ์ และ เสน่หา ขุนชัย. 2537. การเพาะพันธุ์หอยมุกน้ำจืด *Chamberlainia hainesiana* (Lea, 1856). ใน เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 4/2537. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_, อ้อมเดือน มีชัย, สาริต โกวิทวที, อุทัยวรรณ โกวิทวที และกรรณิกา ชัชวาลวนิช. 2549. การศึกษาศักยภาพการผลิตไข่มุกจากหอยกาน้ำจืดวงศ์ Amblemidae ในประเทศไทย. ใน เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่อง ไข่มุกน้ำจืด: การพัฒนาเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม. การกิจบริหารจัดการผลงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.), กรุงเทพฯ.

อุทัยวรรณ โกวิทวที. 2545. อนาคตสัตว์น้ำเศรษฐกิจตัวใหม่: ไข่มุกน้ำจืด. น. 1-12. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่อง "การพัฒนาสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทย" ของกองส่งเสริมการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2 กุมภาพันธ์ 2545 ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์. กองส่งเสริมการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_, นฤมล รุจันันท์ และ อรภา นาคจินดา. 2540. การเพาะเลี้ยงหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ระยะไกลโคเดียในอาหารสังเคราะห์. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36. (CD-ROM).

\_\_\_\_\_, บุญช่วย ชาวปากน้ำ, อรภา นาคจินดา, กัญชลี จงรักวิทย์ และ ศิริเพ็ญ กัลยาณมิตร. 2541. นิเวศวิทยาของหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Limnoscapha) myersiana* (Lea, 1856) บริเวณแม่น้ำแม่กลอง จังหวัดกาญจนบุรี. เกษตรศาสตร์ 32: 1-12.

\_\_\_\_\_, และ สาริต โกวิทวที. 2545. การรวบรวมและการจำแนกชนิดหอยกาน้ำจืด วงศ์ Ambelmidae ในลุ่มน้ำมูล เพื่อการเพาะเลี้ยงไกลโคเดียในอาหารสังเคราะห์. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปี 2543. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Brandt, R.A.M. 1974. The Non-Marine Aquatic Mollusca of Thailand. *Arch. Molluskenkunde* 105 (104): 1-423.

- Buddensiek, V. 1995. The culture of juvenile freshwater pearl mussels *Margaritifera margaritifera* in cages: a contribution to conservation programmes and the knowledge of habitat requirements. **Biological conservation** 74: 33-40.
- Caroline, F., A. Huvet, P. Le Souchu, M. Le Pennec and S. Pouvreau. 2005. Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. **Aquaculture** 250: 458-470.
- Chatchavalvanich, K., P. Jindamongkon, U. Kovitvadhi, A. Thongpan and S. Kovitvadhi. 2006. Histological structure of gonads in the freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson, 1900. **Invertebrate Reproduction and Development** 49 (4): 245-253.
- Fukuhara, S. and Y. Nagata. 1988. Frequency of the incubation of *Anodonta woodiana* in small pond. **Venus** 47 (4): 271-277.
- Galinou-Mitsoudi, S. and A. I. Sinis. 1994. Reproductive cycle and fecundity of the date mussel *Lithophaga lithophaga* (Bivalvia: Mytilidae). **J. Moll. Stud.** 60: 371-385.
- Isom B.G. and R. G. Hudson. 1982. *In vitro* culture of parasitic freshwater mussel glochidia. **The Nautilus** 96: 147-151.
- \_\_\_\_\_, and R. G. Hudson. 1984a. Freshwater mussel and their fish hosts physiological aspects. **J. Parasitol.** 70: 318-319.
- \_\_\_\_\_, and R. G. Hudson. 1984b. Culture of freshwater mussel glochidia in an artificial habitat utilizing complex liquid growth media. **U.S. patent 4,449,480**. 18 pp.

- Kimura, T. and H. Sekiguchi. 1996. Effects of temperature on larval development of two mytilid species and their implication. **Venus: The Japanese Journal of Malacology** 55(3): 215-222.
- Keller, A. E. and S. G. Zam. 1990. Simplification of in vitro culture techniques for freshwater mussels. **Environ. Toxicol. And Chem.** 9: 1291-1296.
- Kondo, T. 1987. Breeding seasons of seven species of unionid mussels (Bivalvia: Unionidae) in a small creek. **Venus** 46 (4): 227-236.
- Kovitvadhi, S., U. Kovitvadhi, P. Sawanwong, A. Thongpan and J. Machado. 2006. Optimization of diet and culture environment for larvae and juvenile freshwater pearl mussels, *Hyriopsis (Limnoscapha) myersiana* Lea, 1856. **Invertebrate Reproduction and Development** 49 (1-2): 61-70.
- \_\_\_\_\_, Nagachinta, A., Natenaramitdee, N. and Kovitvadhi, S. 1998. Effects of density and depth level on growth rate of freshwater pearl mussel *Chamberlainia hainesiana* (Lea, 1856). **The 15 th International Congress on Medical and Applied Malacology, Chiangmai. Thailand**: 45-46.
- \_\_\_\_\_, N. Noparatnaraporn and J. Machado. 2001. Culture of glochidia of the freshwater pearl mussel *Hyriopsis myersiana* (Lea, 1856) in artificial media. **Aquaculture** 195: 61-69.
- \_\_\_\_\_, P. Pakkong, N. Noparatnaraporn, L. Vilarinho and J. Machado. 2002. Study of a suitable fish plasma for in vitro culture of glochidia *hyriopsis myersiana*. **aquaculture** 209: 197-208.
- Lima, P., U Kovitvadhi, S. Kovitvadhi and J. Machado. 2006. *In vitro* culture of glochidia from the freshwater mussel *Anadota cygnea*. **Invertebrate Biology** 125 (1): 34-44.

- Miller, B. S., R. I. Derby and H. B. Trimbo. 1973. A pictorial explanation for the increase in viscosity of a heated wheat starch- water suspension. **Cereal Chem.** 50: 271-280.
- Pennak, R.W. 1989. Fresh-Water Invertebrate of the United States: Protozoa to Mollusca. 3<sup>rd</sup> ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Ruppert, Edward E. and Robert D. Barnes. 1994. **Invertebrate Zoology**. 6<sup>th</sup> ed. Saunders College Publishing, Harcourt Brace and Company, Orlando, Florida.
- Watters, G. T. and S. H. O'Dee. 1998. Glochidial release as a function of water temperature: Beyond bradyticty and tachyticty. **Proceedings of the Conservation, Captive Care, and Propagation of Freshwater Mussels Symposium** 135-140.



ภาคผนวก

**ตารางผนวกที่ 1** คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำบริเวณศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด  
จ.ชัยนาท ที่เลี้ยง *Hyriopsis (Limnoscapha) dezowitzi* ซึ่งมีการรอดชีวิต 100  
เปอร์เซ็นต์

| การวิเคราะห์                                       | ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD |
|----------------------------------------------------|--------------------|
| อุณหภูมิอากาศ ( $^{\circ}\text{C}$ )               | 32.0 $\pm$ 1.67    |
| อุณหภูมิน้ำ ( $^{\circ}\text{C}$ )                 | 28.67 $\pm$ 1.17   |
| ความเป็นกรดเป็นด่าง                                | 7.31 $\pm$ 0.29    |
| การเหนี่ยวนำไฟฟ้า ( $\mu\text{m}$ )                | 185.83 $\pm$ 4.1   |
| ความโปร่งแสง (cm)                                  | 41.17 $\pm$ 16.67  |
| ความขุ่น (FAU)                                     | 46.33 $\pm$ 7.28   |
| ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ( $\text{ppmO}_2$ )          | 4.13 $\pm$ 0.76    |
| ความเป็นด่าง ( $\text{ppmCaCO}_3$ )                | 66.33 $\pm$ 18.55  |
| ความกระด้างรวม ( $\text{ppmCaCO}_3$ )              | 62.5 $\pm$ 9.5     |
| แอมโมเนียไนโตรเจนรวม ( $\text{ppmNH}_4\text{-N}$ ) | 0.22 $\pm$ 0.21    |
| ไนไตรท์ ( $\text{ppmNO}_2\text{-N}$ )              | 0.62 $\pm$ 0.37    |
| ไนเตรท ( $\text{ppmNO}_3\text{-N}$ )               | 0.03 $\pm$ 0.04    |
| ฟอสเฟต ( $\text{ppm PO}_4\text{-P}$ )              | 0.60 $\pm$ 0.86    |
| ซิลิกา ( $\text{ppm SiO}_2$ )                      | 9.67 $\pm$ 0.82    |
| คาร์บอนไดออกไซด์อิสระ ( $\text{ppmCO}_2$ )         | 5.92 $\pm$ 1.56    |
| แคลเซียม ( $\text{ppm CaCO}_3$ )                   | 59.17 $\pm$ 16.50  |

ที่มา: สถิติ และคณะ (2548)

ตารางผนวกที่ 2 องค์ประกอบของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในปลาสมาลาและซีรัมม้า

| องค์ประกอบของ                       | พลาสมาปลา                       |                                 |                                  | ซีรัมม้า                       | ระดับความ<br>เชื่อมั่น |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| สารอินทรีย์/<br>อนินทรีย์           | ปลาไน                           | ปลานิล                          | ปลาดุก                           |                                |                        |
| Amino acid<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) |                                 |                                 |                                  |                                |                        |
| กลุ่มที่ 1                          |                                 |                                 |                                  |                                |                        |
| ANS                                 | 0 <sup>b</sup>                  | 0 <sup>b</sup>                  | 0 <sup>b</sup>                   | 5.0 $\pm$ 7.1 <sup>a</sup>     | *                      |
| CAR                                 | 0 <sup>b</sup>                  | 0 <sup>b</sup>                  | 0 <sup>b</sup>                   | 9.0 $\pm$ 12.7 <sup>a</sup>    | *                      |
| PEA                                 | 1.0 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>      | 1.67 $\pm$ 2.9 <sup>ab</sup>    | 1.33 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>      | 5.0 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>     | *                      |
| CYS2                                | 9.5 $\pm$ 5.5 <sup>ab</sup>     | 1.33 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>     | 14.7 $\pm$ 6.5 <sup>a</sup>      | 3.0 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>     | *                      |
| ABU                                 | 10.0 $\pm$ 2.2 <sup>ab</sup>    | 5.33 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>     | 9.67 $\pm$ 2.1 <sup>ab</sup>     | 11.5 $\pm$ 3.5 <sup>ab</sup>   | *                      |
| HYP                                 | 14.5 $\pm$ 10.7 <sup>ab</sup>   | 13.33 $\pm$ 11.9 <sup>ab</sup>  | 35.0 $\pm$ 9.5 <sup>a</sup>      | 0 <sup>b</sup>                 | *                      |
| CYSTA                               | 1.0 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>      | 0 <sup>b</sup>                  | 44.67 $\pm$ 20.8 <sup>a</sup>    | 3.5 $\pm$ 4.9 <sup>b</sup>     | **                     |
| กลุ่มที่ 2                          |                                 |                                 |                                  |                                |                        |
| ORN                                 | 74.5 $\pm$ 26.2 <sup>a</sup>    | 21.0 $\pm$ 9.9 <sup>b</sup>     | 40.67 $\pm$ 16.1 <sup>b</sup>    | 78.0 $\pm$ 8.5 <sup>a</sup>    | **                     |
| MET                                 | 82.25 $\pm$ 29.1 <sup>a</sup>   | 27.67 $\pm$ 14.7 <sup>b</sup>   | 80.33 $\pm$ 18.9 <sup>a</sup>    | 58.5 $\pm$ 4.9 <sup>ab</sup>   | **                     |
| TYR                                 | 72.0 $\pm$ 18.1 <sup>bc</sup>   | 55.33 $\pm$ 9.9 <sup>c</sup>    | 100.0 $\pm$ 6.1 <sup>a</sup>     | 93.0 $\pm$ 2.8 <sup>ab</sup>   | **                     |
| ILE                                 | 120.25 $\pm$ 26.3 <sup>a</sup>  | 54.67 $\pm$ 4.6 <sup>b</sup>    | 97.3 $\pm$ 16.2 <sup>a</sup>     | 125.0 $\pm$ 4.24 <sup>a</sup>  | **                     |
| SER                                 | 131.75 $\pm$ 37.0 <sup>ab</sup> | 78.67 $\pm$ 48.05 <sup>b</sup>  | 168.0 $\pm$ 35.5 <sup>a</sup>    | 170.5 $\pm$ 12.0 <sup>a</sup>  | **                     |
| AAD                                 | 5.5 $\pm$ 6.8 <sup>b</sup>      | 1.33 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>     | 257.33 $\pm$ 136.65 <sup>a</sup> | 33.0 $\pm$ 26.9 <sup>b</sup>   | **                     |
| VAL                                 | 234.5 $\pm$ 38.2 <sup>a</sup>   | 131.0 $\pm$ 13.9 <sup>b</sup>   | 147.67 $\pm$ 31.5 <sup>b</sup>   | 271.5 $\pm$ 10.6 <sup>a</sup>  | **                     |
| TAU                                 | 320.0 $\pm$ 78.2 <sup>ab</sup>  | 240.0 $\pm$ 266.9 <sup>ab</sup> | 428.0 $\pm$ 137.9 <sup>a</sup>   | 102.0 $\pm$ 25.5 <sup>b</sup>  | *                      |
| GLY                                 | 338.0 $\pm$ 32.1 <sup>b</sup>   | 223.67 $\pm$ 109.7 <sup>b</sup> | 717.33 $\pm$ 198.1 <sup>a</sup>  | 737.0 $\pm$ 203.7 <sup>a</sup> | **                     |
| กลุ่มที่ 3                          |                                 |                                 |                                  |                                |                        |
| βALA                                | 0                               | 0                               | 6.67 $\pm$ 11.6                  | 0                              | ns                     |
| HYL                                 | 0                               | 1.33 $\pm$ 2.3                  | 0.67 $\pm$ 1.2                   | 3.0 $\pm$ 4.2                  | ns                     |
| HCY2/GABA                           | 2.0 $\pm$ 4.0                   | 3.3 $\pm$ 5.8                   | 0                                | 0                              | ns                     |
| PPS                                 | 3.5 $\pm$ 2.9                   | 5.33 $\pm$ 9.2                  | 13.0 $\pm$ 5.6                   | 9.0 $\pm$ 2.8                  | ns                     |
| 3MHIS                               | 9.25 $\pm$ 5.6                  | 9.0 $\pm$ 4.4                   | 4.0 $\pm$ 5.3                    | 16.5 $\pm$ 4.9                 | ns                     |
| 1MHIS                               | 17.25 $\pm$ 23.8                | 3.67 $\pm$ 1.2                  | 2.0 $\pm$ 1.7                    | 3.5 $\pm$ 4.95                 | ns                     |

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

| องค์ประกอบ<br>ของสารอินทรีย์/<br>อนินทรีย์ | พลาสติก                   |                            |                           | ซีรัม                     | ระดับความ<br>เข้มข้น |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|
|                                            | ปลาไน                     | ปลานิล                     | ปลาดุก                    |                           |                      |
| ETN                                        | 16.25±11.7                | 9.67±16.7                  | 9.67±2.1                  | 8.0±2.8                   | ns                   |
| PHE                                        | 87.75±13.2                | 76.0±16.4                  | 71.33±4.9                 | 95.0±5.7                  | ns                   |
| HIS                                        | 83.0±61.4                 | 65.3±24.0                  | 47.33±9.3                 | 74.0±14.1                 | ns                   |
| ARG                                        | 182.0±49.1                | 170.67±130.8               | 162.0±26.23               | 119.0±2.8                 | ns                   |
| ASX                                        | 192.25±166.3              | 119.33±70.8                | 145.0±7.0                 | 65.5±10.6                 | ns                   |
| LYS                                        | 201.0±147.3               | 232.0±152.6                | 265.33±37.3               | 132.5±7.8                 | ns                   |
| กลุ่มที่ 4                                 |                           |                            |                           |                           |                      |
| CIT                                        | 36.75±9.6 <sup>b</sup>    | 8.67±2.5 <sup>c</sup>      | 8.33±5.8 <sup>c</sup>     | 75.0±4.2 <sup>a</sup>     | **                   |
| LEU                                        | 253.25±47.2 <sup>a</sup>  | 118.33±17.62 <sup>c</sup>  | 181.0±26.5 <sup>b</sup>   | 197.0±14.1 <sup>b</sup>   | **                   |
| GLX                                        | 197.25±43.0 <sup>b</sup>  | 61.0±25.9 <sup>d</sup>     | 122.0±17.5 <sup>c</sup>   | 271.5±14.9 <sup>a</sup>   | **                   |
| PRO                                        | 415.25±94.6 <sup>a</sup>  | 73.67±42.1 <sup>b</sup>    | 57.67±23.5 <sup>b</sup>   | 95.0±4.2 <sup>b</sup>     | **                   |
| THR                                        | 331.0±148.3 <sup>a</sup>  | 68.67±13.6 <sup>b</sup>    | 136.67±29.8 <sup>b</sup>  | 185.5±13.4 <sup>b</sup>   | **                   |
| ALA                                        | 537.75±54.6 <sup>a</sup>  | 224.67±62.1 <sup>b</sup>   | 306.67±13.3 <sup>b</sup>  | 314.5±34.7 <sup>b</sup>   | **                   |
| Protein (g/dl)                             | 3.93±1.1 <sup>b</sup>     | 3.86±0.8 <sup>b</sup>      | 3.77±0.3 <sup>b</sup>     | 7.93±1.2 <sup>a</sup>     | **                   |
| Glucose (mg%)                              | 248±83.7 <sup>a</sup>     | 257±107.4 <sup>a</sup>     | 252.70±113.6 <sup>a</sup> | 36.93±19.3 <sup>b</sup>   | *                    |
| Triglyceride<br>(mg/dl)                    | 347.59±120.6 <sup>a</sup> | 286.7±33.9 <sup>a</sup>    | 106.60±8.9 <sup>b</sup>   | 173.03±39.16 <sup>b</sup> | **                   |
| Inorganic<br>elements (mg/g)               |                           |                            |                           |                           |                      |
| Cu <sup>2+</sup>                           | 0.33±0.49                 | 0.27±0.46                  | 0                         | 0.33±0.58                 | ns                   |
| Mn <sup>2+</sup>                           | 3.63±4.0                  | 7.23±4.4                   | 3.73±4.3                  | 0.83±1.44                 | ns                   |
| Ca <sup>2+</sup>                           | 271.73±129.7              | 173.97±21.9                | 182.07±5.7                | 177.76±19.9               | ns                   |
| Mg <sup>2+</sup>                           | 254.17±102.1              | 191.50±35.1                | 256.0±60.9                | 210.13±169.7              | ns                   |
| Na <sup>+</sup>                            | 2713.57±479.8             | 654.93±378.12              | 2403.2±475.3              | 2641.43±234.4             | ns                   |
| K <sup>+</sup>                             | 166.27±33.8 <sup>b</sup>  | 183.80±70.82 <sup>ab</sup> | 264.77±50.5 <sup>a</sup>  | 218.27±26.1 <sup>ab</sup> | *                    |

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

| องค์ประกอบ<br>ของสารอินทรีย์/<br>อนินทรีย์ | พลาสมาปลา                  |                            |                             | ซีรัมม้า                    | ระดับความ<br>เชื่อมั่น |
|--------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|
|                                            | ปลาไน                      | ปลานิล                     | ปลาดุก                      |                             |                        |
| S                                          | 632.30±179.3 <sup>b</sup>  | 531.60±191.4 <sup>bc</sup> | 400.07±25.5 <sup>c</sup>    | 977.07±49.2 <sup>a</sup>    | **                     |
| Cl <sup>-</sup>                            | 3804.23±125.0 <sup>a</sup> | 3962.13±484.1 <sup>a</sup> | 3486.93±200.7 <sup>ab</sup> | 3556.20±120.7 <sup>ab</sup> | *                      |
| Osmolality<br>(mosM)                       | 335.33±67.3                | 365.0±71.2                 | 332.67±50.6                 | 324.33±60.4                 | ns                     |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้ตามตัวอักษรต่างกันภายในแนวนอนเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

\*\* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P \leq 0.01$ )

ns = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ )

ที่มา: Kovitvadhi *et al.* (2002)

### ตารางผนวกที่ 3 ส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์ M199

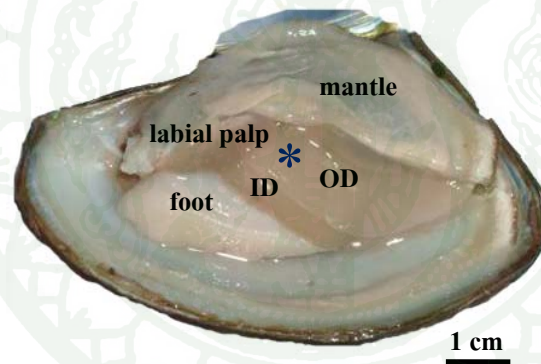
| ส่วนประกอบ                                        | จำนวน (mg/ml) | ส่วนประกอบ                                         | จำนวน (mg/ml) |
|---------------------------------------------------|---------------|----------------------------------------------------|---------------|
| NaCl                                              | 6,800         | Adenine sulphate                                   | 10            |
| KCl                                               | 400           | Guanine HCl                                        | 0.3           |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O | 140           | Hypoxanthine                                       | 0.3           |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O               | 200           | Thymine                                            | 0.3           |
| CaCl <sub>2</sub>                                 | 200           | Uracil                                             | 0.3           |
| D-Glucose                                         | 1,000         | Xanthine                                           | 0.3           |
| Phenal red                                        | 17            | ATP Na <sub>2</sub>                                | 1             |
| NaHCO <sub>2</sub>                                | 2,200         | AMP                                                | 0.2           |
| DL-Alanine                                        | 50            | Ascorbic acid                                      | 0.05          |
| L-Arginine                                        | 70            | Biotin                                             | 0.01          |
| DL-Aspartic acid                                  | 60            | Calciferol                                         | 0.1           |
| L-Cystine HCl                                     | 0.1           | D-Ca-Pantothenate                                  | 0.01          |
| L-Cystine                                         | 20            | Choline chloride                                   | 0.5           |
| L-Glutamine                                       | 100           | Folic acid                                         | 0.01          |
| L-Glutamic acid H <sub>2</sub> O                  | 150           | i-Inositol                                         | 0.05          |
| Glycine                                           | 50            | Menadione                                          | 0.01          |
| L-Histidine HCl                                   | 20            | Nicotinic acid                                     | 0.025         |
| L-Hydroxyproline                                  | 10            | Nicotinamide                                       | 0.025         |
| DL-Isoleucine                                     | 40            | p-Amino benzoic acid                               | 0.05          |
| DL-Leucine                                        | 120           | Pyridoxal HCl                                      | 0.025         |
| DL-Lysine HCl                                     | 70            | Pyridoxine HCl                                     | 0.025         |
| DL-Methionine                                     | 30            | Riboflavin                                         | 0.01          |
| DL-Phenylalanine                                  | 50            | Thiamine HCl                                       | 0.01          |
| L-Proline                                         | 40            | DL- $\alpha$ -Tocopherol Phosphate Na <sub>2</sub> | 0.01          |
| L-Serine                                          | 50            | Vitamin A                                          | 0.01          |
| DL-Threonine                                      | 60            | Cholesterin                                        | 0.2           |
| DL-Tryptophane                                    | 20            | 2-Desoxy-D-Ribose                                  | 0.5           |
| L-Tyrosine                                        | 40            | D-Ribose                                           | 0.5           |
| DL-Valine                                         | 50            |                                                    |               |
| Glutathione                                       | 0.5           |                                                    |               |
| Sodium acetate                                    | 50            |                                                    |               |
| Fe (NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                | 0.1           |                                                    |               |
| Tween 80                                          | 20            |                                                    |               |

ตารางผนวกที่ 4 การเจริญเติบโตของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* ที่เลี้ยงในบ่อดิน  
ตลอด 1 ปี

| เดือน    | เพศผู้     |           |           |             | เพศเมีย    |           |           |             |
|----------|------------|-----------|-----------|-------------|------------|-----------|-----------|-------------|
|          | ยาว (มม)   | สูง (มม)  | หนา (มม)  | น้ำหนัก (ก) | ยาว (มม)   | สูง (มม)  | หนา (มม)  | น้ำหนัก (ก) |
| มิ.ย. 49 | 86.00±14.8 | 43.42±7.9 | 30.97±5.8 | 66.45±23.0  | 84.76±17.5 | 43.16±9.8 | 30.81±7.7 | 63.88±30.8  |
| ธ.ค. 49  | 87.38±14.6 | 45.64±7.5 | 32.53±5.7 | 78.51±23.1  | 86.38±17.4 | 45.01±9.3 | 33.09±7.4 | 77.52±32.4  |
| มิ.ย. 50 | 88.60±14.6 | 45.98±7.6 | 33.95±5.6 | 90.13±23.4  | 87.60±17.4 | 45.28±9.5 | 34.55±7.5 | 87.99±32.6  |



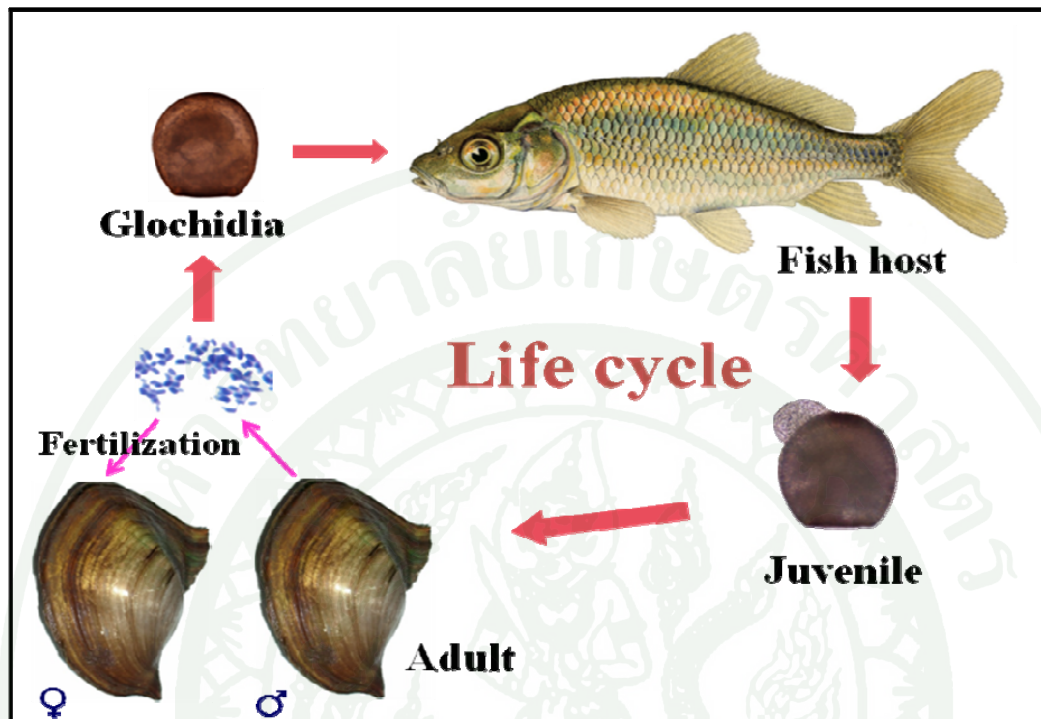
ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะเปลือกด้านนอกของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*



ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะภายในตัวของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi* OD: outer demibranch;

ID: inner demibranch

\* คือ ตำแหน่งที่ใช้เจาะเพื่อศึกษาเซลล์สืบพันธุ์ใน visceral mass



ภาพผนวกที่ 3 วงชีวิตของ *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*



ภาพที่ผนวก 4 บ่อเลี้ยงที่ใช้เลี้ยงหอย *Hyriopsis (Limnoscapha) desowitzi*

## วิธีการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำ

### Dissolved Oxygen (Azide Modification Method)

1. เก็บตัวอย่างน้ำใส่ในขวด BOD
2. เติมสารละลาย manganous sulfate 1 มล. ในขวด BOD
3. เติมสารละลาย alkaline iodide azide 3 มล. ในขวด BOD
4. เติม  $H_2SO_4$  เข้มข้น 2 มล. ในขวด BOD เขย่าให้ตะกอนละลาย
5. ตวงน้ำตัวอย่างในขวด BOD 200 มล. ใส่ขวด flask ขนาด 500 มล.
6. หยดน้ำแป้ง 5 หยด จะได้สารละลายสีน้ำเงิน
7. ไตเตรตด้วย sodium thiosulfate จนสีน้ำเงินจางหายไป ได้สารละลายใส
8. ปริมาณไตเตรตด้วยสารละลาย sodium thiosulfate (มล.) คือปริมาณ Dissolved Oxygen ( $ppmO_2$ )

### Ammonia Nitrogen (Indophenol Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วใส่ในขวดตัวอย่างวิเคราะห์จำนวน 25 มล.
2. เตรียมสารละลาย oxidizing solution เติมสารละลาย alkaline citrate 10 มล. และ 5% sodium hypochloride 2.5 มล. ลงในขวด oxidizing solution ให้หมดขวด ตามลำดับ
3. เติมสารละลาย phenol solution 1 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง
4. เติม sodium nitroprusside 1 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง
5. เติม oxidizing solution จำนวน 2.5 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง
6. นำสารละลายที่ได้ไปหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrometer DR2000 640 nm (ปริมาณน้ำที่ใช้ 10 มล.) โดยมีน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองเป็น blank
7. นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณแอมโมเนียจากสมการมาตรฐาน

$$ppm NH_4 = A - 0.0018 / 0.5708$$

### Nitrite (Diazotization Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วใส่ในขวดตัวอย่างวิเคราะห์จำนวน 50 มล.
2. เติมสารละลาย sulfanilamide 1 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที
3. เติมสารละลาย NED 1 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปหาการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrometer DR2000 585 nm (ปริมาณน้ำที่ใช้ 10 มล.) โดยมีน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองเป็น blank
5. นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณไนไตรท์จากสมการมาตรฐาน

$$\text{ppm NO}_2 = A - 0.001556 / 3.48$$

### Nitrate (Cadmium Reduction Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วใส่ในขวดตัวอย่างวิเคราะห์จำนวน 10 มล.
2. เติม cadmium เคลือบ copper จำนวน 0.01 ก.
3. เติมสารละลาย sulfanilamide 1 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที
4. เติมสารละลาย NED 1 มล. ในขวดน้ำตัวอย่าง เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
5. นำสารละลายที่ได้ไปหาการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrometer DR2000 500 nm (ปริมาณน้ำที่ใช้ 10 มล.) โดยมีน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองเป็น blank
6. นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณไนเตรทจากสมการมาตรฐาน
7. จะค่าได้ในเตรท มีหน่วยเป็น ppm NO<sub>3</sub>-N

### Hardness (EDTA Titrimetric Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว ใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. จำนวน 50 มล.
2. เติมสารละลาย buffer จำนวน 2 มล. ในขวด flask
3. หยดสารละลาย indicator จำนวน 6 หยด จะได้สีม่วงแดง
4. ไตเตรทด้วยสารละลาย EDTA จากแดงม่วงเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินด้วย burette
5. ปริมาณที่ไตเตรทด้วย EDTA (มล.) คูณด้วย 20 = Total Hardness (ppmCaCO<sub>3</sub>)

### Phosphorus (Ascorbic Acid Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วใส่ในขวดตัวอย่างวิเคราะห์จำนวน 50 มล.
2. เตรียมสารละลาย ascorbic acid solution
3. เติม mixture 8 มล. ลงในขวดน้ำตัวอย่าง ทิ้งไว้ 10 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrometer DR2000 890 nm (ปริมาณน้ำที่ใช้ 10 มล.) โดยมีน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองเป็น blank
5. นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสจากสมการมาตรฐาน

$$\text{ppm PO}_4^{3-} = A - 0.00057 / 0.6457$$

### Calcium (EDTA Titrimetric Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว ใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. จำนวน 50 มล.
2. เติมสารละลาย NaOH 2 มล. ใน flask
3. เติม murexide จำนวน 0.2 ก. ลงในขวด flask (ถ้ามี calcium จะเป็นสีชมพู)
4. ไตเตรตด้วยสารละลาย EDTA จากสีชมพูเปลี่ยนเป็นสีม่วงด้วย burette
5. ปริมาณที่ไตเตรตด้วย EDTA (มล.) คูณด้วย 20 = ปริมาณแคลเซียม (ppm CaCO<sub>3</sub>)

### Free CO<sub>2</sub> (Titrimetric Method)

6. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว ใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. จำนวน 50 มล.
7. หยดสารละลาย phenolphthalein จำนวน 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน ถ้าเป็นสีชมพูแสดงว่าไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ ถ้าได้สารละลายใสให้ไตเตรตต่อ
8. ไตเตรตด้วย Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.0454 N จนได้เป็นสีชมพูด้วย burette
9. ปริมาณที่ไตเตรตด้วย Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.0454 N (มล.) คูณด้วย 5 = Free carbon dioxide (ppmCO<sub>2</sub>)

### Alkalinity (Titration Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว ใส่ในขวด flask ขนาด 250 มล. จำนวน 100 มล.
2. หยดสารละลาย phenolphthalein จำนวน 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน ถ้าเป็นสีชมพูให้ไทเทรตกรด กำมะถัน .02 N จนสีชมพูหายไป บันทึกปริมาณที่ใช้กรดกำมะถันไป (มล.) ให้เป็นค่า P
3. หยดสารละลาย methyl orange จำนวน 4 หยด
4. ไทเทรตด้วย 0.02 N  $H_2SO_4$  (มล.) จากสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีส้ม บันทึกปริมาณที่ใช้กรดกำมะถันไป (มล.) ให้เป็นค่า M
5. ปริมาณที่ไทเทรตด้วยสารละลาย 0.02 N  $H_2SO_4$  คูณด้วย 8.35 (P+M) = total alkalinity (ppm  $CaCO_3$ )

### Silica (Molybdosilicate Method)

1. นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วจำนวน 50 มล.
2. เติมนามอนียม โมลยบเดต 2 มล. เขย่า
3. เติม HCl 1 มล. เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
4. เติม oxalic acid 1 มล. เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที
5. นำสารละลายที่ได้ไปหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrometer DR2000 452 nm (ปริมาณน้ำที่ใช้ 25 มล.) โดยมีน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองเป็น blank
6. ได้ค่า silica มีหน่วยเป็น ppm  $SiO_2$

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

|                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ –นามสกุล                  | นางสาวลลิตภัทร ดวงสว่าง                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด           | วันที่ 15 กันยายน 2525                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| สถานที่เกิด                    | เชียงใหม่                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| ประวัติการศึกษา                | ระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์<br>สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล                                                                                                                                                                                                                                                     |
| ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน   | ครูวิชาการสาขาชีววิทยา                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน           | โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ ต.ศาลายา จ.นครปฐม 73170                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | ปี พ.ศ. 2548 รางวัลโปรดอร์ดีเด่น นิทรรศการ โครงการ<br>วิทยาศาสตร์ ครั้งที่ 6<br>คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล                                                                                                                                                                                                    |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ           | ทุนมูลนิธิพระบรมราชานุสรณ์พระบาทสมเด็จพระปกเกล้าเจ้าอยู่หัวและสมเด็จพระนางเจ้ารำไพพรรณี<br>(พ.ศ. 2550)<br>สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และคณะวิทยาศาสตร์<br>มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายใต้ทุนวิจัยมหัศจรรย์<br>สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (TRF-MRG)<br>ภายใต้โครงการ TRF-MAG MRG-WII505SI031<br>(พ.ศ. 2550) |