

# รายงานวิจัย

## ชุดโครงการวิจัย

### โครงการวิจัยหอยหวาน

#### Research on Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link (1807)

#### คณะผู้วิจัย:

รศ. จินตมาศ สุวรรณจรัส

รศ. ดร. กิจการ สุขมาตย์

รศ. ดร. อมรรัตน์ พงศ์คารา

ดร. สุราพร วงศ์วิชรานนท์

อาจารย์ชินวัฒน์ พิทักษ์สาลี

อาจารย์สุพัฒน์ คงช่วง



คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

## บทคัดย่อ

โครงการวิจัยหอยหวานได้ศึกษาครอบคลุมความรู้พื้นฐานทางวิชาการในหลายมิติ จากการศึกษาในเวศวิทยาบางประการและการประมงหอยหวาน *Babylonia areolata* ในพื้นที่ จังหวัดสงขลาและปัตตานี ระหว่างเดือนมีนาคม-กันยายน 2549 พบว่า จำนวนหอยหวานที่พบในพื้นที่จังหวัดสงขลามากกว่าจังหวัดปัตตานี ความชุกชุมของหอยหวานแตกต่างกันตามเดือน และระดับความลึกอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ ) พบหอยหวานมากที่สุดในเดือนมีนาคม และเมษายน โดยความชุกชุมแปรผันแบบผกผันกับความลึก ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความชุกชุมของหอยหวานอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ ) คือ อุณหภูมิพื้นผิวน้ำ ความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) คือ ปริมาณอินทรีย์สารในดิน อุณหภูมิ ปริมาณของแข็งละลายน้ำรวม ส่วนปัจจัยที่มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ ) อุณหภูมิผิวน้ำ ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ ความเค็มและความลึกของน้ำ เมื่อศึกษาความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่นที่จับได้พร้อมหอยหวาน 22 ชนิด พบว่า กลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สัมพันธ์กับหอยหวานเชิงบวกคือ ปูทะเล ปูเสฉวนและกุ้ง ส่วนสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์เชิงลบคือ ดาวทะเล น้ำ สำหรับลักษณะสีเปลือกหอยหวานที่ศึกษาพบว่า ประกอบด้วยเปลือกแฉกสีน้ำตาล 46.2% เปลือกแฉกสีส้ม 34.1% และเปลือกสีครีม 19.7% ทั้งนี้สามารถแยกสายพันธุ์ของแต่ละสีออกจากกันด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ ITS1 การศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยหวาน *B. areolata* ด้วยวิธีวิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological analysis) ของอวัยวะสืบพันธุ์ในรอบปี ตั้งแต่เดือน มกราคม ถึง ธันวาคม 2549 จากทะเลอ่าวไทย 2 บริเวณ คือที่เขตอ่าวไทยตอนบน และอ่าวไทยตอนล่าง พบว่าหอยหวานจากสองบริเวณมีวงจรสืบพันธุ์ไม่แตกต่างกันมาก โดยหอยหวานจากเขตอ่าวไทยตอนบน มีฤดูปล่อยไข่และไข่พร้อมกันสูงสุดที่เดือนเมษายน และสิงหาคม ส่วนอ่าวไทยตอนล่าง มีฤดูปล่อยไข่และไข่พร้อมกันสูงสุดที่เดือนเมษายน และมิถุนายน ฤดูกาลแพร่พันธุ์ของหอยหวานบริเวณอ่าวไทยเกิดขึ้นตั้งแต่เดือน มกราคม ถึงมิถุนายน โดยที่อ่าวไทยตอนบนพบยาวนานถึงเดือนสิงหาคม สอดคล้องกับจากการศึกษาค่าดัชนีเจริญพันธุ์ (GI) พบว่าได้ว่าหอยหวานเพศเมียความสมบูรณ์เพศสูงตลอดปี แต่หอยหวานเพศผู้มีความสมบูรณ์เพศผันแปร คือทั้งอ่าวไทยตอนบนและตอนล่าง เพศผู้มีความสมบูรณ์เพศในช่วง 6 เดือนแรกของปีโดยเริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงมิถุนายน และลดลงตลอดจนถึงเดือนธันวาคม สัดส่วนเพศของหอย

หอยในเขตทะเลอ่าวไทยตอนบนเท่ากับ 0.62 : 1 (male: female) ซึ่งแตกต่างจาก 1:1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $x^2$  test,  $P < 0.05$ ) ส่วนหอยหวนจากอ่าวไทยตอนล่างมีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียไม่แตกต่าง แต่เมื่อวิเคราะห์สัดส่วนเพศรวมทั้งสองบริเวณ พบเพศเมียมีอัตราส่วนมากกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $x^2$  test,  $P < 0.05$ ) การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษากระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของหอยเพศเมียและเพศผู้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบว่ามีกระบวนการพัฒนามีลักษณะโครงสร้างพื้นฐานของเซลล์สืบพันธุ์เช่นเดียวกับหอยฝาเดียวทั่วไป การศึกษาครั้งนี้ได้แจกแจงรายละเอียดของโครงสร้างแต่ละชั้นตอนที่เกิดขึ้นในเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียของหอยหวนเปรียบเทียบกับหอยฝาเดียวชนิดอื่นที่มีความใกล้เคียงทางสายวิวัฒนาการ สำหรับระบบนิวโรเอนโดครีน (neuroendocrine system) ของหอยหวน ในเบื้องต้นพบว่าหอยหวนมี ปมประสาทจำนวนทั้งหมด 5 คู่ และ 1 ปม ได้แก่ ปมประสาทบัคเคิล (buccal ganglion) เซรีบรัล (cerebral ganglion) พีเคิล (pedal ganglion) พลูรัล (pleural ganglion) และพารีทัล (parietal ganglion) ทั้งหมดอย่างละ 1 คู่ และวิสเซอร์ล (visceral ganglion) 1 ปม การวิจัยได้ศึกษาและบรรยายรายละเอียดของโครงสร้างภายในของปมประสาทและการกระจายของสารสื่อประสาทในปมประสาทดังกล่าวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา และแบบ TEM จากการศึกษาสันนิษฐานว่านิวโรซีคร์ทอรีเซลล์มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์

นอกจากนี้การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาชนิดและปริมาณเชื้อปรสิตและแบคทีเรียประจำถิ่นในหอยหวนปกติจากธรรมชาติปลายปี 2548 ถึงกลางปี 2549 บริเวณทะเลฝั่งอ่าวไทย จ. ปัตตานี และฟาร์มเลี้ยง อ. สะกอม และ อ. สทิงพระ จ. สงขลา ไม่พบการติดเชื้อปรสิตทั้งจากตัวอย่างสดและวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยา ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมและเชื้อไวรัสรวมที่ศึกษาด้วยวิธีเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบมากในดับและลำไส้ ตามลำดับ ชนิดของแบคทีเรียที่ศึกษาด้วยเทคนิค Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) ในหอยหวนจากธรรมชาติและฟาร์มเลี้ยง มีความหลากหลายของชนิดมากกว่าหอยที่ป่วยเป็นโรค จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย คือปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำ ระดับความเค็มต่ำ ปริมาณสารอินทรีย์สูง และความหนาแน่นของหอยหวนสูง พบว่าการเลี้ยงหอยหวนในอัตราความหนาแน่นสูงหรือปริมาณออกซิเจนต่ำเป็นปัจจัยที่มีผลให้หอยหวนติดเชื้อแบคทีเรียได้ง่ายและมีอัตราการตายสูงกว่าปัจจัยอื่นๆ อย่างชัดเจน

## Abstract

The basic knowledge of Spotted Babylon *Babylonia areolata* was studied in various aspects. Ecological study during March to September 2006 revealed a significantly greater abundant of babylonia population in Songkla Province than Pattani Province ( $P < 0.01$ ). A monthly significant difference of abundance was observed with the greater abundance in March and April. A highly significant difference of abundance was also observed at different depths ( $P < 0.01$ ) with the greatest at the most shallow zone and declined substantially with the increasing depth. Significantly positive correlations between abundance and some factors including % of clay and water pH were detected ( $P < 0.05$ ) and significantly negative correlations were found with soil organic matter, soil organic carbon, % of sand and total dissolved solid ( $P < 0.01$ ). Together with collections of *Babylonia*, 22 groups of animals were also found. The occurrence of small crabs, hermit crabs and shrimps showed a significantly positive correlation with the assemblage of *Babylonia* while the occurrence of sea star showed a significantly negative correlation with *Babylonia*. Shell color of *B. areolata* collected varied with black stripe, orange tripe and total-cream of 46.2%, 34.1 % and 19.7% respectively. The genetic variation showed 520 base pairs of the internal transcribed space (ITS1) sequence being distinguished between the shell color of this species. Gonad of *B. areolata* was histological analysis for the annual reproductive cycle at the northern and southern Gulf of Thailand between January and December 2006. Reproductive cycle of *B. areolata* in both areas was partly similar with the spawning peak in April and August at the northern part and April and June at the south. In male, the values of maturation and spawning decreased from July to December. The gonad index (GI) of females was greater than that of males in both population and the GI of male was above 2 from January to June

then continuously decreased in July through December implied the sexual inactive of male. Results suggested that the breeding season of *B. areolata* at both areas was in the same period occurring from January to May (in northern part) or June (in southern part). The sex ratio of northern *B. areolata* was 0.62:1 (M:F), significantly more female where as that of southern area was close to 1:1 ( $\chi^2$  test,  $P>0.05$ ). However, the sex ratio of pulled samples from both areas was significantly more female ( $\chi^2$  test,  $P<0.05$ ). The ultrastructure of gametogenesis in male and female *B. areolata* studied by TEM was described. Spermiogenesis in male gonad consisted of 3 main stages: 1) nuclear condensation 2) acrosome formation and 3) midpiece formation. The premeiotic, previtellogenesis and vitellogenesis stage during oogenesis were investigated. Result revealed the basic structure during gametogenesis of *B. areolata* was mostly similar to those of other related gastropods. Neuroendocrine system controlling the growth and reproduction was investigated as well. It comprised a pair of each ganglion that included buccal, cerebral, pedal, pleural, parietal ganglions and a visceral ganglion. The cell types in the ganglion explored by light and electron microscope were described. The neurosecretory cells containing dense secretory granules of the cerebral, petal, pleural and parietal ganglion were increased during mature and spawning stage of reproductive cycle, suggesting the role of being involved in controlling reproductive system.

Moreover, the endemics parasites and bacteria in wild and cultured *B. areolata* in Southern Thailand were qualitative and quantitative studied between 2005 to mid 2006. There was no parasitic infestation in the fresh samples and in the histological examination. The bacteriological study of total bacteria and total *Vibrio* sp. in nature wild and cultured specimens showed the pervasion of bacteria and vibro spp in liver and digestive tract respectively. Identification of bacteria isolated from the *B. areolata* samples using Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique

showed greater bacterial diversity in uninfected samples from wild and farms than in infected specimens. The laboratory study of associated factors involved in the infection by virulent bacteria showed greater vulnerability to infection when there existed low dissolved oxygen levels, high organic contents, or lower water salinity, high culture density and higher degree of pollution in the feed were contributing factors, particularly in the situation of high culture density or low dissolved oxygen which were most detrimental to the infections and mortality.