

ผลของวัสดุเกาะที่แตกต่างกันต่อการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำ

[*Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)]The Effect of Different Substrates on Larvae Settlement in Black Sea Cucumber [*Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)]แขวาลี วิบูลย์กิจ¹ และ ปิยะดา ทวีชศรี^{1*}Kaewalee Viboonkit¹ and Piyada Tavitchasri^{1*}

บทคัดย่อ

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำ (*Holothuria leucospilota*) ด้วยวัสดุเกาะที่เหมาะสมสามารถเพิ่มอัตราการรอดตายได้ วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เป็นการศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำระยะ pentactula บนวัสดุเกาะ 3 ประเภท ได้แก่ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการเพาะพันธุ์ตัวอ่อนระยะ auricularia จากพ่อแม่พันธุ์ธรรมชาติ ทดลองโดยการอนุบาลตัวอ่อน auricularia ในถังที่มีวัสดุเกาะแต่ละประเภทและให้ไดอะตอมเป็นอาหาร เมื่อตัวอ่อนระยะ pentactula ลงเกาะทั้งหมดจะทำการสุ่มนับจำนวนเพื่อหาอัตราการลงเกาะและตรวจสอบระยะเวลาการลงเกาะ ผลการศึกษาการลงเกาะบนวัสดุชนิดแข็ง คือ ทราวยทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม พบว่าตัวอ่อนปลิงดำลงเกาะบนเศษปะการังได้ดีที่สุด ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการลงเกาะ 11.31 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาการลงเกาะ 27.00 ± 0.82 วัน ส่วนการลงเกาะบนสาหร่ายทะเล 5 ชนิด คือ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายฟองอ่อน และสาหร่ายเห็ดหูหนู พบว่าตัวอ่อนมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลได้ดีที่สุด ($P < 0.01$) เท่ากับ 17.50 ± 1.43 เปอร์เซ็นต์ และ 23.33 ± 0.58 วัน ตามลำดับ สำหรับการลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์ 4 ชนิด คือ plastic sheet, plastic film, shading net และ monofilament nylon พบว่ามีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะบน plastic sheet ดีที่สุด ($P < 0.01$) เท่ากับ 53.00 ± 4.38 เปอร์เซ็นต์ และ 22.50 ± 0.58 วัน ตามลำดับ การทดลองแสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนปลิงดำสามารถลงเกาะได้บนวัสดุทั้ง 3 ประเภท และมีแนวโน้มลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์โดยเฉพาะ plastic sheet ได้ดีกว่าวัสดุประเภทอื่น

คำสำคัญ: ปลิงดำ การอนุบาล วัสดุเกาะ อัตราการลงเกาะ ระยะเวลาการลงเกาะ

Abstract

Survival rate of black sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) larvae can be increased by nursing with appropriate substrate. The objective of this experiment was to examine the settlement rate and settlement period of black sea cucumber larvae at pentactula stage with various substrates. The settlement of the larvae was performed on 3 types of substrates, including hard materials, seaweeds and artificial materials. The group of substrates was allotted to the treatments in a completely randomized design. Auricularia larvae were bred from wild broodstock, applied in each treatment of substrates and fed with

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร อ.ปะทิว จ.ชุมพร 86160

¹ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus, Pathio, Chumphon, 86160

* Corresponding author, e-mail address: ktpiyada@yahoo.com

the diatoms. The settlement rate and settlement period were collected. The result revealed that in the group of hard materials, the coral rubble had been used as settlement surface better than sea sand, clay and mixed materials ($P < 0.01$). The settlement rate and settlement period of the black sea cucumber larvae on the coral rubble were 11.31 ± 0.36 percentage and 27.00 ± 0.82 days, respectively. The rate and period of settlement on five species of seaweed, *Ulva rigida*, *Caulerpa taxifolia*, *Halimeda* sp., *Caulerpa lentillifera* and *Padina* sp. showed the best settlement of larvae on *Ulva rigida* ($P < 0.01$). The settlement rate and settlement period on *Ulva rigida* were 17.50 ± 1.43 percentage and 23.33 ± 0.58 days, respectively. For the study of the settlement rate and settlement period on a variety of artificial materials: plastic sheet, plastic film, shading net, and monofilament nylon, it was found that black sea cucumber larvae had the best settling rate (53.00 ± 4.37 percentage) and settling period (22.50 ± 0.58 days) onto the plastic sheet ($P < 0.01$). The results showed that the larvae of black sea cucumber were able to settle on all 3 different substrates. Overall, the data suggested that artificial materials, especially the plastic sheet, were found to be more effective than other substrates at increasing larval settlement.

Keywords: black sea cucumber, nursery, substrate, settlement rate, settlement period

คำนำ

ปลิงดำหรือปลิงทะเลสีดำ [*Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)] เป็นปลิงทะเลหนึ่งใน 92 ชนิด ที่มีการแพร่กระจายในน่านน้ำไทย (Putchakarn et al., 2017) และยังเป็นหนึ่งใน 12 ชนิด ที่นำมาบริโภคและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ (Munprasit, 2008) ปลิงทะเลเป็นอาหารบำรุงกำลังและมีคุณสมบัติทางยาช่วยรักษาสมดุลงของสาร prostaglandin ซึ่งมีส่วนในกระบวนการทำให้กล้ามเนื้ออักเสบ (Hung, 2008) ผังงลำตัวประกอบด้วย collagen และ acidic polysaccharides (Panagos et al., 2014) ที่มีโครงสร้างเป็น fucosylated chondroitin sulfates (Kariya et al., 1990) และ sulfated fucans (Kariya et al., 2004) ปัจจุบันการทำประมงปลิงทะเลทั่วโลก รวมถึงน่านน้ำเขตร้อนและประเทศไทย อยู่ในสถานะที่เกินศักยภาพการผลิต (overfishing) ประชากรปลิงทะเลในธรรมชาติมีปริมาณลดลงและบางชนิดอยู่ในสถานะใกล้สูญพันธุ์ (Abdel-Razek et al., 2005; Kinch et al., 2008) ประเทศไทยมีปลิงทะเลที่อยู่ในสถานภาพถูกคุกคามตาม IUCN จำนวน 43 ชนิด (Putchakarn et al., 2017) นักวิชาการที่เกี่ยวข้องกำลังพยายามหาวิธีการเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว (Purcell, 2004; Toral-Granda et al., 2008) การเพาะขยายพันธุ์และส่งเสริมการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ เป็นอีกหนึ่งแนวทางที่สามารถลดหรือชะลอการเสื่อมโทรมของสายพันธุ์ปลิงทะเลในเขตร้อนได้ (Agudo, 2006; Ivy & Giraspy, 2006; Mercier et al., 2000) ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลิงทะเลในประเทศไทยยังอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาวิจัยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลิงขาว (*Holothuria scabra*) โดยกรมประมงมีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ มาอย่างต่อเนื่อง แต่พบว่าการอนุบาลลูกปลิงทะเลระยะ doliolaria จนถึงระยะวัยรุ่น (juvenile) ยังมีอัตราการรอดตายต่ำมาก เนื่องจากเป็นระยะที่มีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการดำรงชีวิตจากการล่องลอยในมวลน้ำมาลงเกาะกับพื้นผิววัสดุ (Chaichotranunt et al., 2021)

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล โดยเฉพาะชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณหน้าดินซึ่งรวมถึงปลิงทะเล จะมีระยะวัยอ่อนเป็นแพลงก์ตอน (planktonic form) ก่อนที่จะลงเกาะกับพื้นทะเลและเปลี่ยนแปลงรูปร่างจนเป็นตัวเต็มวัย (Li et al., 2010) ระยะลงเกาะเป็นช่วงเวลาวิกฤติในวัฏจักรชีวิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในทะเลเป็นจำนวนมาก (Lainig, 1995) การลงเกาะบนพื้นผิวที่เหมาะสมจะเป็นตัวกำหนดความอยู่รอดในระยะยาวของระยะวัยรุ่นและตัวเต็มวัย (Pearce & Scheibling, 1990) ตัวอ่อนของสัตว์ทะเลบางชนิดอาจชะลอการพัฒนาจนกว่าจะพบพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับการอาศัย (Mladenov, 1985) ซึ่งเป็นผลให้ระยะเวลาการลงเกาะยาวนานขึ้น ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการลงเกาะของตัวอ่อน ได้แก่ ปัจจัยทางกายภาพ เคมี และพฤติกรรม (Devakie & Ali, 2002; Zhao et al., 2003; Kang et al., 2004; Su et al., 2007; Yu et al., 2008; Li et al., 2010) สำหรับการเพาะเลี้ยงปลิงทะเล *Stichopus japonicus* และ *Holothuria scabra* พบว่าการลงเกาะที่ประสบความสำเร็จเกิดจากการเคลือบผิววัสดุด้วยไดอะตอมกลุ่มยึดเกาะ (benthic diatom) แบบที่เรียกที่เกาะตัวเป็นแผ่นฟิล์ม (biofilm) และสารสกัดจากสาหร่าย (Ito & Kitamura, 1997) ซึ่งอาจมีตัวชี้แนะทางเคมีที่ช่วยเหนี่ยวนำและเอื้อต่อการลงเกาะของตัวอ่อน (Li et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าไดอะตอมกลุ่มยึดเกาะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของตัวอ่อนเม่นทะเล *Pseudocrototus depressus* (Rahim et al., 2004) หอยเป่าฮื้อ *Haliotis discus hannai* (Kawamura & Kikuchi, 1992) และปลิงทะเล *Apostichopus japonicus* (Ito & Kitamura, 1997) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการลงเกาะของปลิงทะเลยังมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเมื่อเปรียบเทียบกับเอคโคไคโนเดิร์มกลุ่มอื่นๆ ภายใต้งี้อินโซสเฟลาแวดล้อมของโรงเพาะฟัก การเลือกพื้นผิวที่เหมาะสมจะทำให้การลงเกาะของตัวอ่อนประสบความสำเร็จ มีอัตราการลงเกาะสูง มีพัฒนาการที่ดีทำให้ระยะเวลาการลงเกาะเร็วขึ้น ถือเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการผลิตลูกพันธุ์เชิงอุตสาหกรรม (Smiley et al., 1991; Battaglene et al., 1999; Li et al., 2010)

การศึกษาค้นคว้ามีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกวัสดุเกาะที่มีความเหมาะสมสำหรับการลงเกาะของปลิงดำ โดยคำนึงถึงอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะเป็นสำคัญ การลงเกาะที่ประสบความสำเร็จเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญต่ออัตราการรอดตาย โดยทำการคัดเลือกวัสดุเกาะที่สอดคล้องกับวัสดุในแหล่งอาศัยตามธรรมชาติและการประยุกต์ใช้วัสดุสังเคราะห์ แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอ่อนปลิงดำและวัสดุเกาะ

การเตรียมตัวอ่อนระยะ auricularia

เตรียมตัวอ่อนระยะ auricularia โดยการรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลิงดำจากบริเวณชายฝั่งอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ในช่วงเวลาน้ำลง คัดเลือกเฉพาะปลิงดำที่มีขนาดน้ำหนักประมาณ 250 กรัม และมีความยาวลำตัวประมาณ 20 เซนติเมตร นำมาพักเป็นเวลา 1 คืน เนื่องจากไม่สามารถระบุเพศปลิงทะเลได้จากลักษณะภายนอก การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์และแม่พันธุ์จึงเป็นแบบสุ่ม จำนวนรวม 10 ตัว เพาะพันธุ์โดยการกระตุ้นให้พ่อแม่พันธุ์ปล่อยอสุจิและไข่ออกมาผสมกันในน้ำทะเล วิธีการกระตุ้นเป็นการช็อคด้วยอุณหภูมิต่ำ ตามวิธีของ Laxminarayana (2005) รวบรวมไข่ที่ได้รับการผสมแล้วด้วยวิธีการกักน้ำและกรองผ่านถุงกรองขนาดช่องตา 150 ไมครอน จากนั้นนำไปพักในถังพลาสติกทรงกลมขนาดบรรจุ 200 ลิตร ระดับความเค็มน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน และให้อากาศตลอดเวลา ในระหว่างพักไข่ทำการตรวจสอบการพัฒนาของตัวอ่อนจนกระทั่ง

ฟักออกเป็นตัวอ่อนระยะ auricularia ระยะเวลาการฟักประมาณ 45-48 ชั่วโมง ขนาดความยาวของตัวอ่อนระหว่าง 400-450 ไมครอน ตรวจสอบความหนาแน่นและสัณฐานจำนวนของตัวอ่อน auricularia นำไปอนุบาลตามวัสดุเกาะที่กำหนดต่อไป

การเตรียมวัสดุเกาะ

วัสดุเกาะทุกชนิดจะนำมาล้างทำความสะอาด เพื่อกำจัดสิ่งมีชีวิตที่อาจเกาะติดมากับวัสดุดังกล่าว โดยวัสดุเกาะชนิดแข็ง 4 ชนิด ได้แก่ ทรายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม (ทรายผสมเศษปะการังและโคลน) ทำความสะอาดตามวิธีการของ Mercier et al. (2000) โดยการปล่อยน้ำทะเลให้ไหลผ่านวัสดุดังกล่าวนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์ วัสดุชนิดแข็งเหล่านี้เมื่อนำไปใส่ลงในถังอนุบาลจะมีความหนาแน่นจากพื้นก้นถึง 5 เซนติเมตร โดยมีพื้นที่ผิวหรือพื้นที่หน้าตัด 28.5 ตารางเมตร วัสดุเกาะที่เป็นสาหร่ายทะเล 5 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) สาหร่ายขนนก (*Caulerpa taxifolia*) สาหร่ายใบมะกรูด (*Halimeda* sp.) สาหร่ายพวงอุ้ง (*Caulerpa lentillifera*) และสาหร่ายเห็ดหูหนู (*Padina* sp.) ทำความสะอาดตามวิธีการของ Mercier et al. (2000) โดยการแช่ในน้ำจืดเป็นเวลาประมาณ 30 นาที จากนั้นนำไปแช่ในเมธานอลความเข้มข้น 10% นาน 5 นาที และนำไปแช่ในน้ำจืดอีก 10 นาที ขนาดของสาหร่ายที่ใช้แต่ละชั้นจะมีพื้นที่ผิวประมาณ 0.14 ตารางเมตร และมีพื้นที่ผิวรวมในแต่ละหน่วยการทดลอง 150.00 ตารางเมตร วัสดุสังเคราะห์ คือ plastic sheet, plastic film, monofilament nylon และ shading net จะนำมาแช่ในน้ำทะเลเพื่อให้ปราศจากพิษเนื่องจากเป็นวัสดุสังเคราะห์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ ตามวิธีการของ Li et al. (2010) โดยการนำไปแช่ในด่างทับทิม (potassium permanganate) ความเข้มข้น 20 ส่วนในล้านส่วน นาน 30 นาที ล้างด้วยน้ำจืด และตากให้แห้งก่อนนำไปใช้ โดย plastic sheet จะมีขนาด (กว้างxยาว) เท่ากับ 10x15 เซนติเมตร plastic film มีขนาด 10x15 เซนติเมตร monofilament nylon ขนาด 20x30 เซนติเมตร และ shading net (สีเขียว) ขนาด 10x15 เซนติเมตร วัสดุสังเคราะห์ทุกชนิดมีพื้นที่ผิวด้านละ 1.50 ตารางเมตร วัสดุสังเคราะห์แต่ละชนิดจะนำมาประกอบเป็นช่อ ช่อละ 10 ชิ้น (แต่ละช่อมีพื้นที่ผิว 30.00 ตารางเมตร) แต่ละหน่วยการทดลองใส่วัสดุเกาะจำนวน 5 ช่อ (แต่ละหน่วยการทดลองมีพื้นที่ผิว 150.00 ตารางเมตร) วัสดุเกาะที่เป็นสาหร่ายทะเลและวัสดุสังเคราะห์ทุกชนิดเมื่อทำความสะอาดแล้ว จะนำมาแช่น้ำทะเลในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร พร้อมใส่อาหารสำหรับเลี้ยงตัวอ่อนปลิงดำ ก่อนจะเข้าระยะ pentactula ประมาณ 3-5 วัน เพื่อให้เกิด biofilm แล้วนำไปใส่ในถังทดลอง ส่วนวัสดุชนิดแข็งจะใส่สาหร่ายทะเลบดละเอียดในระหว่างการทดลอง

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำ

ทำการอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำในถังพลาสติกทรงกลมปริมาตร 200 ลิตร ในน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 150 ลิตร แต่ละหน่วยการทดลองจะอนุบาลตัวอ่อน auricularia ที่ความหนาแน่น 200 ตัว ต่อหน้า 1 ลิตร (30,000 ตัวต่อถัง) ในถังทดลองจะใส่วัสดุเกาะตามชุดการทดลองที่กำหนด และเริ่มใส่วัสดุเกาะเมื่อตัวอ่อนปลิงดำพัฒนาเข้าสู่ระยะ late doliolaria การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำสำหรับการทดลองครั้งนี้ใช้วัสดุ 3 ประเภท ได้แก่ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำบนวัสดุชนิดแข็ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีวัสดุเกาะ (ปูพื้น) ชนิดแข็งเป็นสิ่งทดลอง แบ่งเป็น 4 ชนิด ได้แก่ ทรายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม ทำการทดลองแต่ละชนิด 4 ซ้ำ รวม 16 หน่วยทดลอง การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำบนสาหร่ายทะเล วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีชนิดของสาหร่ายทะเล

เป็นวัสดุเกาะ 5 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายพวงอุ้ง และ สาหร่ายเห็ดหูหนู แต่ละชนิดทำการทดลอง 3 ซ้ำ รวม 15 หน่วยทดลอง การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อน ปลิงดำบนวัสดุสังเคราะห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีวัสดุสังเคราะห์เป็นสิ่งทดลอง 4 ชนิด ได้แก่ plastic sheet, plastic film, monofilament nylon และ shading net แต่ละชนิดทำการทดลอง 4 ซ้ำ รวม 16 หน่วยทดลอง อาหารที่ให้ในช่วงก่อนการลงเกาะเป็นแพลงก์ตอนผสมระหว่าง *Chaetoceros calcitrans* และ *Isochrysis galbana* ในอัตราส่วนผสมระหว่าง 1:1 ความเข้มข้นของอาหารที่ให้ประมาณ 20,000-25,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Laxminarayana, 2005) ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 06.00 น. และ 18.00 น. มีการคลุมถังอนุบาลด้วยผ้าใบสีดำให้มืดตลอดเวลาเพื่อลดความเครียดของตัวอ่อน ทำการอนุบาลจนกระทั่งตัวอ่อนปลิงดำลงเกาะทั้งหมด โดยตรวจสอบจากการที่ตัวอ่อนไม่ปรากฏในมวลน้ำ ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้น ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

จำนวนและอัตราการลงเกาะ

เมื่อตัวอ่อนปลิงดำลงเกาะทั้งหมด ทำการสุ่มนับจำนวนปลิงดำระยะ pentactula ที่อยู่บนวัสดุเกาะแต่ละชนิดโดย วัสดุเกาะชนิดแข็งสุ่มเก็บตัวอย่างจากพื้นที่หน้าตัดของถังที่มีขนาด 28.50 ตารางเมตร ทำการสุ่มนับจำนวน 5 จุด จุดละ 1.00 ตารางเมตร รวมพื้นที่สุ่มทั้งสิ้น 5.00 ตารางเมตร วัสดุเกาะที่เป็นสาหร่ายทะเลจะทำการสุ่มนับจำนวนจากสาหร่ายทะเลจำนวน 10 ชิ้น คิดเป็นพื้นที่ทั้งสิ้น 14.00 ตารางเมตร และวัสดุสังเคราะห์ จะสุ่มนับจากวัสดุสังเคราะห์จำนวน 15 ชิ้น แต่ละชิ้นมีพื้นที่ 0.05 ตารางเมตร จากนั้นนำค่าที่สุ่มนับมาคำนวณหาจำนวนตัวอ่อน pentactula ทั้งหมดที่ลงเกาะในแต่ละหน่วยการทดลอง และนำมาคำนวณหาอัตราการลงเกาะ (settlement rate)

$$\text{อัตราการลงเกาะ (\%)} = \frac{\text{จำนวน pentactula ที่ลงเกาะ} \times 100}{\text{จำนวน auricularia เมื่อเริ่มทดลอง}}$$

ระยะเวลาการลงเกาะ

เนื่องจากตัวอ่อนระยะ auricularia ถึงระยะ doliolaria อยู่ในลักษณะที่เป็นแพลงก์ตอนลอยลอยอยู่ในมวลน้ำ ทั้งยังมีลักษณะลำตัวใส และมีขนาดเล็กต้องส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นการตรวจสอบการลงเกาะของตัวอ่อนในที่นี้จะดัดแปลงจากวิธีการของ Mercier et al. (2000) โดยการสุ่มเก็บน้ำในแต่ละหน่วยทดลองปริมาตร 120 มิลลิลิตร มาตรวจสอบและนับจำนวนตัวอ่อน ตรวจสอบจำนวน 3 ซ้ำ ถ้าพบตัวอ่อนในน้ำแสดงว่าตัวอ่อนยังลงเกาะไม่หมด แต่ถ้าไม่พบตัวอ่อนแสดงว่าตัวอ่อนลงเกาะหมดแล้ว การตรวจสอบระยะเวลาการลงเกาะจะนับเริ่มตั้งแต่ปล่อยตัวอ่อน auricularia ลงอนุบาลจนถึงวันที่ตัวอ่อนลงเกาะทั้งหมด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New multiple Range Test (DMRT) ตามวิธีการของ Sukamolson (2017)

“การศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาและได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินงานต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง หนังสือรับรองเลขที่ ACUC-KMITL-RES/2022/011”

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะของตัวอ่อนปลิงดำ

ตัวอ่อนของปลิงดำในช่วงที่ทำการศึกษแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะเวลา auricularia, doliolaria และ pentactula ซึ่งจะมีลักษณะและขนาดแตกต่างกัน ผลการตรวจสอบลักษณะตัวอ่อนเพื่อระบุระยะ ดังแสดงใน Figure 1

ระยะ Auricularia (Figure 1a): เป็นตัวอ่อนระยะแรกพัก มีขนาดอยู่ในช่วง 240-650 ไมครอน หรือเฉลี่ย 363.33 ± 85.55 ไมครอน โดยระยะ early auricularia นั้น โครงสร้างหลักของร่างกายประกอบด้วย ciliary bands, hyaline spheres, buccal cavity, esophagus, intestine, cloaca และ anus เมื่อ auricularia พัฒนาคืบคลานแล้ว จะปรากฏส่วนของ somatocoel (ทางด้านซ้ายและขวา) axohydrocoel และ sphincter (ระหว่างหลอดอาหารและลำไส้) และมีโครงสร้างอื่นเหมือนกับระยะ early auricularia ในขณะที่ระยะ late auricularia จะมีโครงสร้างทั้ง hyaline spheres, esophagus, intestine, somatocoel และ axohydrocoel เห็นได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ในขณะที่ส่วนของ ciliary bands และ buccal cavity ลดรูปลง

ระยะ doliolaria (Figure 1b, 1c): ระยะ doliolaria ที่สมบูรณ์จะมีโครงสร้างประกอบด้วย hyaline spheres, primary tentacle (ส่วนของหนวดที่เริ่มพัฒนา), ciliary bands และ somatocoel ในระยะ doliolaria นี้ ตัวอ่อนจะมีลักษณะเป็นทรงรีตรงกลางโป่งคล้ายถึงเปียร์ ส่วนของ hyaline sphere ขยายขนาดจนเห็นได้ชัดเจน ลำตัวมีสีขาวย่นถึงน้ำตาลออกเหลือง ในช่วงแรกของระยะนี้ส่วนของหนวดจะยังอยู่ภายในลำตัว และยื่นออกมาภายนอกให้เห็นเมื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะ pentactula

ระยะ pentactula (Figure 1d): ระยะนี้เป็นตัวอ่อนระยะสุดท้าย การดำรงชีวิตจะเปลี่ยนจากการล่องลอยอยู่ในมวลน้ำในลักษณะของแพลงก์ตอนมาเป็นยึดเกาะกับพื้น ดังนั้นเมื่อเข้าสู่ระยะนี้หนวดจะยื่นออกมาภายนอกให้เห็นได้ชัดเจน โดยในระยะ early pentactula จะมีหนวดยื่นออกมา 5 เส้น ciliary bands ยังสามารถมองเห็นได้ ซึ่งระยะนี้จะยังไม่ลงเกาะสมบูรณ์ การลงเกาะของตัวอ่อนระยะนี้จะเห็นได้ชัดเมื่อส่วนของ ambulacral podia เริ่มปรากฏทางด้านท้อง ในขณะที่ด้านหลังยังคงมองเห็น hyaline sphere ได้อย่างชัดเจน ตัวอ่อนระยะนี้สังเกตได้ยากที่สุด เนื่องจากมีลำตัวค่อนข้างใสอาจมีสีขาวย่นบ้าง ประกอบกับการลงเกาะกับวัสดุเมื่อยังมีขนาดเล็กมาก ทำให้การนับจำนวนจึงต้องใช้ความละเอียดสูง

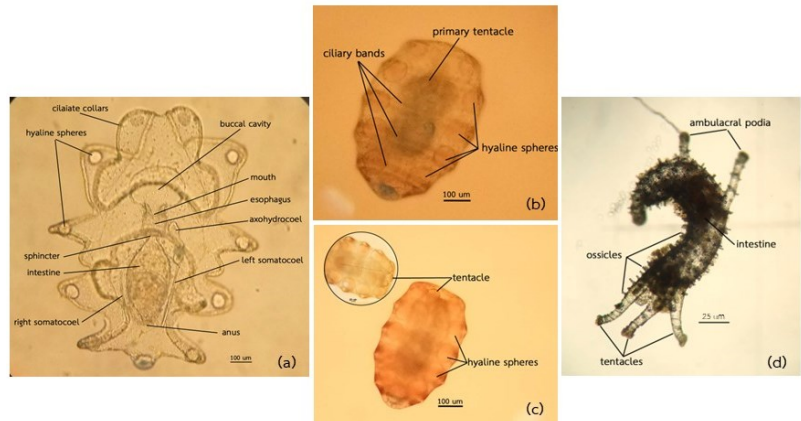


Figure 1 The development of *Holothuria leucospilota* larvae: auricularia stage (a), doliolaria stage (b) & (c), and pentactula stage (d).

การศึกษาการลงเกาะบนวัสดุชนิดแข็ง

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำตั้งแต่ระยะ auricularia จนถึงระยะ pentactula โดยอาศัยวัสดุเกาะชนิดแข็ง (hard substrate) 4 ชนิด ได้แก่ ทราายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ไม่ปรากฏตัวอ่อนระยะ doliolaria ในมวลน้ำ) มีจำนวนตัวอ่อนระยะ pentactula ที่ลงเกาะบนวัสดุ ทราายทะเล เศษปะการัง โคลน และวัสดุผสม เท่ากับ $1,188.85 \pm 75.83$, $3,391.50 \pm 106.54$, 788.03 ± 70.95 และ $2,811.53 \pm 180.09$ ตัว ตามลำดับ ตัวอ่อนปลิงดำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะดังแสดงใน Table 1 โดยพบว่าวัสดุชนิดแข็งมีผลต่ออัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะ ($P < 0.01$) ของตัวอ่อนปลิงดำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเศษปะการังที่มีอัตราการลงเกาะสูงที่สุด ($11.31 \pm 0.36\%$) และมีระยะเวลาการลงเกาะเร็วที่สุด (27.00 ± 0.82 วัน) ในขณะที่โคลนมีอัตราการลงเกาะต่ำที่สุด ($2.63 \pm 0.24\%$) และมีระยะเวลาการลงเกาะช้าที่สุด (30.75 ± 0.96 วัน)

อย่างไรก็ตามอัตราการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำบนวัสดุทั้ง 4 ชนิด ในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าการทดลองของ Mercier et al. (2000) ที่ทำการศึกษาลงเกาะของปลิงขาว (*Holothuria scabra*) บนวัสดุทราย เศษปะการัง และทรายผสมเศษปะการังซึ่งพบว่าอัตราการลงเกาะเฉลี่ยน้อยกว่า 1.5% ในขณะที่ตัวอ่อนของปลิงทะเล *Cucumaria frondosa* ชอบลงเกาะบนกรวดและหิน (Hamel & Mercier, 1996) เศษปะการังมีพื้นที่ผิวมากในการเกิด biofilm ที่เป็นอาหารสำหรับตัวอ่อนระยะ pentactula ในช่วงระยะลงเกาะใหม่ๆ จึงอาจดึงดูดการลงเกาะได้ดีกว่าโคลนที่มีพื้นที่ผิวน้อย โดยทั่วไปตัวอ่อนปลิงทะเลระยะ pentactula และระยะวัยรุ่นมักเกาะบนวัสดุพื้นผิวระนาบหรือสาหร่ายที่มี biofilm มากกว่าพื้นผิวที่อ่อนนุ่มหรือมีความซับซ้อน (Battaglione et al., 1999; Mercier et al., 2000; Toral-Granda et al., 2008) จากการศึกษาความจำเพาะของพื้นทะเลที่เป็นแหล่งอาศัยพบว่าปลิงดำ (*H. leucospilota*) มักพบอาศัยบริเวณพื้นทะเลที่เป็นหินมากกว่าทรายและตะกอนโคลน (Tanita & Yamada, 2019) การศึกษาขนาดอนุภาคตะกอนพบว่าอนุภาคขนาด 1 มิลลิเมตร (ทรายหยาบ) ทำให้ปลิง *Holothuria tubulosa* ระยะวัยรุ่น (ถัดจาก pentactula) มีการเจริญเติบโตดีที่สุด (Tolon et al., 2015) โคลนทะเลเลี้ยงกลายเป็นแหล่งอาหารสำหรับปลิงทะเล *Apostichopus japonicus* ระยะหลังการลงเกาะ (Li et al., 2010) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าวัสดุแข็งที่มีขนาดอนุภาคที่ละเอียดลง อาจเหมาะสมกับปลิงทะเลที่มีอายุเพิ่มขึ้นซึ่งมีการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการกิน

Table 1 The settlement rate and settlement period of pentactula larvae on four substrates of hard materials.

Substrate	Settlement rate (%)	Settlement period (Days)
Sea sand	6.57±0.25 ^c	30.25±1.26 ^a
Coral rubble	11.31±0.36 ^a	27.00±0.82 ^b
Clay	2.63±0.24 ^d	30.75±0.96 ^a
Mixed materials	9.37±0.60 ^b	28.50±1.29 ^{ab}

Note: The means with different superscripts in same column are significant different (P<0.01).

การศึกษาการลงเกาะบนสาหร่ายทะเล

การลงเกาะของตัวอ่อน pentactula บนสาหร่ายทะเล 5 ชนิด คือ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายพวงองุ่น และสาหร่ายเห็ดหูหนู มีจำนวนเฉลี่ย 5,250.00±428.57, 1,250.00±269.64, 2,928.57±376.27, 3,642.86±467.03 และ 1,571.43±123.72 ตัว ตามลำดับ ตัวอ่อนปลิงดำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะดังแสดงใน Table 2 ซึ่งพบว่าชนิดของสาหร่ายทะเลที่แตกต่างกันมีผลต่อการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงทะเล (P<0.01) โดยตัวอ่อนระยะ pentactula มีอัตราการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลสูงที่สุด (17.50±1.43%) และมีระยะเวลาการลงเกาะสั้นที่สุด (23.33±0.58 วัน) สอดคล้องกับ Yamana et al. (2006) ที่พบว่าตัวอ่อนของปลิงทะเล *Apostichopus japonicus* พบหนาแน่นสูงในเขตน้ำขึ้นน้ำลงที่มีการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Ulva* spp. และ *Sargassum* spp. ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ thallus ของสาหร่ายทะเลมีลักษณะเป็นแผ่นแบนกว้างมีพื้นที่ผิวมาก (Hofmann et al., 2010) เหมาะสมต่อการเกิด biofilm ที่เป็นส่วนหนึ่งของสิ่งมีชีวิตอิงอาศัย (epiphyte) ของสาหร่ายและหญ้าทะเล เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา อาร์เคีย ไดอะตอม ไวรัส และโปรโตซัว (Singh & Reddy, 2014; Zhang et al., 2020) นอกจากนี้แล้ว ยังได้รับอิทธิพลจากการหลั่งสารและการสะสมแร่ธาตุบนพื้นผิวของสาหร่าย (Selvarajan et al., 2019)

Table 2 The settlement rate and settlement period of pentactula larvae on substrates from five seaweed species.

Substrate	Settlement rate (%)	Settlement period (Days)
<i>Ulva rigida</i>	17.50±1.43 ^a	23.33±0.58 ^b
<i>Caulerpa taxifolia</i>	4.17±0.90 ^c	24.67±1.53 ^{ab}
<i>Halimeda</i> sp.	9.76±1.25 ^b	27.33±1.53 ^a
<i>Caulerpa lentillifera</i>	12.14±1.56 ^b	26.00±1.00 ^{ab}
<i>Padina</i> sp.	5.24±0.41 ^c	24.00±1.00 ^b

Note: The means with different superscripts in same column are significant different (P<0.01).

สิ่งมีชีวิตอิงอาศัยที่เป็น biofilm เหล่านี้จะกลายเป็นอาหารสำหรับตัวอ่อน pentactula เมื่อลงเกาะ ซึ่งหากมีปริมาณมากก็สามารถดึงดูดให้มีอัตราการลงเกาะสูง โครงสร้าง thallus ของสาหร่ายทะเลส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอิงอาศัยอย่างซับซ้อนคล้ายกับหญ้าทะเล การศึกษาการลงเกาะของปลิงทะเล *Holothuria scabra* บนหญ้าทะเล *Thalassia hemprichii* ทั้งที่มีและไม่มี biofilm พบว่ามีอัตราการลงเกาะสูง 4.8-10.5% (Mercier et al., 2000) ซึ่งต่ำกว่าการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลและสาหร่ายพวงองุ่น แต่เป็นค่าที่ใกล้เคียงกับการลงเกาะของปลิงดำบนสาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด และสาหร่ายเห็ดหูหนู อย่างไรก็ตามปลิงทะเลมีความเกี่ยวข้องกับแหล่งหญ้าทะเลในรูปแบบที่ซับซ้อน (Floren et al., 2021a) การศึกษาในแหล่งหญ้าทะเลฝั่งทะเลอันดามันของประเทศไทยพบว่าหญ้าทะเล *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii* และ *Halophila ovalis* เป็นแหล่งอาหารของปลิงทะเล *Holothuria scabra*, *Holothuria atra* และ *Holothuria leucospilota* สูงถึง 61-70% ของอาหารทั้งหมดที่กิน (Floren et al., 2021b)

การศึกษาการลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์

การลงเกาะของตัวอ่อน pentactula บนวัสดุสังเคราะห์ 4 ชนิด คือ plastic sheet, plastic film, monofilament nylon และ shading net มีจำนวนเฉลี่ย 15,900.00±1,311.49, 10,700.00±115.47, 8,550.00±525.99 และ 12,400.00±365.15 ตัว ตัวอ่อนปลิงดำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะดังแสดงใน Table 3 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าชนิดของวัสดุสังเคราะห์มีผลต่อการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำ ($P<0.01$) โดยอัตราการลงเกาะของ pentactula บน plastic sheet มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด (53.00±4.37%) และมีระยะเวลาการลงเกาะเร็วที่สุด (22.50±0.58 วัน) สอดคล้องกับการลงเกาะของปลิงทะเลชนิด *Apostichopus japonicus* ที่มีการลงเกาะบน plastic sheet แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ plastic film และ monofilament nylon (Li et al., 2010) วัสดุสังเคราะห์ที่เลือกใช้ผลิตมาจากพลาสติก เนื่องจากพบว่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเลชอบลงเกาะบนชิ้นส่วนพลาสติกมากกว่าไม้และคอนกรีต เพราะสูญเสียพลังงานในการเคลื่อนที่น้อย มีพัฒนาการที่ดี และทำให้ตัวอ่อนมีการกระจายตัวอย่างกว้างขวาง (Pinochet et al., 2020) การใช้วัสดุเทียมสามารถเหนี่ยวนำให้ตัวอ่อนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังลงเกาะก่อนที่จะเลือกพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิตต่อไป (Rodriguez et al., 1993)

Table 3 The settlement rate and settlement period of pentactula larvae on four types of artificial substrates.

Substrate	Settlement rate (%)	Settlement period (Days)
Plastic sheet	53.00±4.37 ^a	22.50±0.58 ^b
Plastic film	35.67±0.39 ^c	22.75±0.50 ^b
Monofilament nylon	28.50±1.75 ^d	24.75±0.96 ^a
Shading net	41.33±1.22 ^b	23.00±0.82 ^b

Note: The means with different superscripts in same column are significant different ($P<0.01$).

ระยะลงเกาะเป็นช่วงเวลาวิกฤติในวัฏจักรชีวิตของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในทะเลเป็นจำนวนมาก (Laing, 1995) ขั้นตอนนี้เป็นตัวชี้วัดความสำเร็จของการเพาะเลี้ยง งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนปลิงทะเลระยะ pentactula และระยะวัยรุ่นมักเกาะบนวัสดุพื้นผิวระนาบหรือสาหร่ายที่มี biofilm มากกว่าพื้นผิวที่อ่อนนุ่มหรือมีความซับซ้อน โดยพบได้ทั้งการเลี้ยงในโรงเพาะและในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ (Battaglione et al., 1999; Mercier et al., 2000; Toral-Granda et al., 2008) สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าตัวอ่อนปลิงดำมีแนวโน้มลงเกาะบนวัสดุสังเคราะห์และสาหร่ายทะเลได้ดีกว่าบนวัสดุที่เป็นทราย โคลน เศษปะการัง และวัสดุผสม

เมื่อเปรียบเทียบการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำระหว่างวัสดุแข็งและวัสดุสังเคราะห์ พบว่าวัสดุสังเคราะห์ (อัตราการลงเกาะ 28.50-53.00% และระยะเวลาการลงเกาะ 22.50-24.75 วัน) มีแนวโน้มส่งเสริมการลงเกาะได้ดีกว่าการใช้วัสดุแข็ง (อัตราการลงเกาะ 6.57-11.31% และระยะเวลาการลงเกาะ 27.00-30.75 วัน) ซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการดำรงชีวิตในแต่ละช่วงวัย โดยวัสดุสังเคราะห์อาจเหมาะสมกับการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงดำในช่วงแรก (ระยะลงเกาะ) ส่วนวัสดุที่เป็นวัสดุแข็งจำพวกทราย โคลน เศษปะการัง และวัสดุผสม อาจเหมาะสมกับการดำรงชีวิตในช่วงระยะหลังการลงเกาะ ซึ่งโดยทั่วไปปลิงทะเลจะละทิ้งพื้นผิวที่เคลือบด้วย biofilm หรือโคอะตอมภายในระยะเวลา 3 เดือน และปลิงทะเลวัยรุ่นจะเคลื่อนย้ายไปยังพื้นผิวที่เป็นตะกอนอ่อนนุ่มหรือพื้นผิวที่มีลักษณะผสม เพื่อปรับเปลี่ยนไปกินอาหารที่มีลักษณะเป็นอนุภาค (Yaqing et al., 2000; Purcell, 2004) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงอาหารเพื่อการเจริญเติบโต (Slater et al., 2010) และยังอาจเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการหลีกเลี่ยงผู้ล่า (Mercier et al., 2000; Hamel et al., 2001; Dance et al., 2003) แหล่งอาศัยหลังระยะการลงเกาะจึงอาจเกี่ยวข้องกับโครงสร้างพื้นผิวที่มีความซับซ้อนมากขึ้น เช่น แหล่งสาหร่ายทะเล รากของพรรณไม้ป่าชายเลน ก้อนหิน และเศษซากปะการัง (Yamana et al., 2006) อย่างไรก็ตามระยะที่เริ่มมีการเปลี่ยนหรือเคลื่อนย้ายออกจากวัสดุเกาะจะแตกต่างกันในปลิงทะเลแต่ละชนิด และยังพบว่าการบังคับให้มีการเคลื่อนย้ายในช่วงแรกจะส่งผลกระทบต่อการรอดตายและการเจริญเติบโต (Purcell, 2004; Purcell & Simutoga, 2008)

การศึกษาการลงเกาะของวัสดุทั้ง 3 ประเภท ในครั้งนี้ คือ วัสดุแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ มีการเคลือบผิวของวัสดุให้มีลักษณะเป็น biofilm โดยมีเป้าหมายเพื่อให้มีอาหารสำหรับตัวอ่อนปลิงทะเลเมื่อลงเกาะบนวัสดุดังกล่าว เนื่องจาก biofilm ที่เคลือบผิวของวัสดุจะมีทั้งแบคทีเรียและโคอะตอม ซึ่งมีบทบาทสำคัญหรือเป็นสิ่งกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงทะเล (Zhao et al., 2003; Stott et al., 2004; Li et al., 2010) ตัวอ่อน *Apostichopus japonicas* มีการลงเกาะบน plastic sheet ที่มี biofilm สูงกว่าวัสดุที่ไม่มี biofilm (Li et al., 2010) และยังพบปลิงทะเลชนิด *Australostichopus mollis* ระยะวัยรุ่นอาศัยอยู่อย่างหนาแน่นบนเปลือกหอยที่มีแบคทีเรียและสาหร่าย (Slater et al., 2010)

ผลจากการศึกษาพบว่าตัวอ่อนปลิงดำสามารถลงเกาะได้ดีที่สุดบน plastic sheet เนื่องจากมีพื้นผิวที่กว้าง เรียบ และสม่ำเสมอ ทำให้ง่ายต่อการลงเกาะของตัวอ่อน ประกอบกับลักษณะดังกล่าวยังเอื้อต่อการเกิด biofilm ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการรอดตายของตัวอ่อนก่อนที่จะปรับเปลี่ยนพฤติกรรมไปกินอินทรีย์วัตถุที่ปะปนอยู่บริเวณพื้นทะเล (Purcell, 2004) ผลของอัตราการลงเกาะที่สูงและระยะเวลาการลงเกาะที่เร็วทำให้การอนุบาลตัวอ่อนปลิงดำโดยใช้ plastic sheet เป็นวัสดุเกาะเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้สามารถผลิตลูกพันธุ์ปลิงดำได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น

สรุปผลการศึกษา

การอนุบาลตัวอ่อนปลิงตำระยะ auricularia ถึงระยะ pentactula ด้วยวัสดุเกาะต่างกัน 3 ประเภท คือ วัสดุชนิดแข็ง สาหร่ายทะเล และวัสดุสังเคราะห์ พบว่าตัวอ่อนปลิงตำสามารถลงเกาะได้บนวัสดุทั้ง 3 ประเภท สำหรับประเภทของวัสดุชนิดแข็ง ตัวอ่อนปลิงตำลงเกาะบนเศษปะการังได้ดีกว่าทรายทะเลโคลน และวัสดุผสม ส่วนการลงเกาะบนสาหร่ายทะเล 5 ชนิด คือ สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สาหร่ายใบมะกรูด สาหร่ายพวงองุ่น และสาหร่ายเห็ดหูหนู ตัวอ่อนปลิงตำมีอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะบนสาหร่ายผักกาดทะเลได้ดีที่สุดในส่วนของการศึกษาด้วยวัสดุสังเคราะห์ 4 ชนิด คือ plastic sheet, plastic film, shading net และ monofilament nylon พบอัตราการลงเกาะและระยะเวลาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงตำบน plastic sheet ดีที่สุด การศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อนปลิงตำในวัสดุเกาะที่ต่างกันในครั้งนี้พบว่าตัวอ่อนปลิงตำลงเกาะได้ดีที่สุดบนวัสดุสังเคราะห์กลุ่ม plastic sheet

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Razek, F. A., Abdel-Rahman, S. H., El-Shimy, N. A., & Omar, H. A. (2005). Reproductive biology of the tropical sea cucumber *Holothuria atra* (Echinodermata: Holothuroidea) in the Red Sea coast of Egypt. **Egyptian Journal of Aquatic Research**. 31(2), 383-402.
- Agudo, N. S. (2006). **Sandfish Hatchery Techniques**. New Caledonia: The Australian Centre for International Agricultural Research, Secretariat of the Pacific Community and World Fish Center.
- Battaglene, S. C., Seymour, J. E., & Ramofafia, C. (1999). Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers, *Holothuria scabra*. **Aquaculture**. 178, 293-322.
- Chaichotranunt, S., Liammai, S. & Promrach, W. (2021). Study on nursing of sandfish *Holothuria scabra* Jaeger, 1833 from doliolaria stage to juvenile stage with different diets. **Technical Paper No. 1/2021**. Bangkok: Department of Fisheries.
- Dance, S. K., Lane, I., & Bell, J. D. (2003). Variation in short-term survival of cultured sandfish (*Holothuria scabra*) released in mangrove-seagrass and coral reef flat habitats in Solomon Islands. **Aquaculture**. 220, 495-505.
- Devakie, M. N., & Ali, A. B. (2002). Effective use of plastic sheet as substrate in enhancing tropical oyster (*Crassostrea iredalei* Faustino) larvae settlement in the hatchery. **Aquaculture**. 212, 277-287.
- Floren, A. S., Hayashizaki, K., Puchakarn, S., Tuntiprapas, P., & Prathep, A. (2021a). A review of factors influencing the seagrass-sea cucumber association in tropical seagrass meadows. **Frontiers in Marine Science**. 8. Doi:10.3389/fmars.2021.696134.
- Floren, A. S., Hayashizaki, K., Tuntiprapas, P., & Prathep, A. (2021b). Contributions of seagrasses and other sources to sea cucumber diets in a tropical seagrass ecosystem. **Chiang Mai Journal of Science**. 48, 1259-1270.
- Hamel, J. F., & Mercier, A. (1996). Early development, settlement, growth, and spatial distribution of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 53(2), 253-271.
- Hamel, J. F., Conand, C., Pawson, D. L., & Mercier, A. (2001). The sea cucumber *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata): its biology and exploitation as beche-de-mer. **Advances in Marine Biology**. 41, 129-223.
- Hofmann, L. C., Nettleton, J. C., Neefus, C. D., & Mathieson, A. C. (2010). Cryptic diversity of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) in the Great Bay Estuarine System (Atlantic USA): introduced and indigenous distromatic species. **European Journal of Phycology**. 45(3), 230-239.

- Hung, N. Q. (2008). Sea cucumber fisheries, utilization, and trade in Vietnam. In **Report of the Regional Study on Sea Cucumber Fisheries, Utilization and Trade in Southeast Asia 2007-2008**. (pp. 113-126). Thailand: Southeast Asian Development Center.
- Ito, S., & Kitamura, H. (1997). Induction of larval metamorphosis in the sea cucumber *Stichopus japonicus* by periphytic diatoms. **Hydrobiologica**. 358, 281–284.
- Ivy, G., & Giraspy, D. A. B. (2006). Development of large-scale hatchery production techniques for the commercially important sea cucumber *Holothuria scabra* var. *versicolor* (Conand, 1986) in Queensland, Australia. **SPC Beche-de-mer Information Bulletin**. 24, 28-33.
- Kang, K. H., Kim, B. H., & Kim, J. M. (2004). Induction of larval settlement and metamorphosis of the abalone, *Haliotis discus hannai* larvae using bromomethane and potassium chloride. **Aquaculture**. 230, 249–259.
- Kariya, Y., Mulloy, B., Imai, K., Tominaga, A., Kaneko, T., Asari, A., Suzuki, K., Masuda, H., Kyogashima, M. & Ishii, T. (2004). Isolation and partial characterization of fucan sulfates from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus* and their ability to inhibit osteoclastogenesis. **Carbohydrate Research**. 339, 1339-1346.
- Kariya, Y., Watabe, S., Hashimoto, K., & Yoshida, K. (1990). Occurrence of chondroitin sulfate E in glycosaminoglycan isolated from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus*. **The Journal of Biology Chemistry**. 265(9), 5081–5085.
- Kawamura, T., & Kikuchi, S. (1992). Effects of benthic diatoms on settlement and metamorphosis of abalone larvae. **Suisanzoshoku**. 40, 403–409.
- Kinch, J., Purcell, S., Uthicke, S., & Friedman, K. (2008). Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in the Western Central Pacific. In **Sea Cucumbers: A Global Review of Fisheries and Trade**, V. Toral-Granda, A. Lovatelli, & M. Vasconcellos (eds.). FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 516. Italy: FAO.
- Laing, I. (1995). Effect of food supply on oyster spatfall. **Aquaculture**. 131, 315–324.
- Laxminarayana, A. (2005). Induced spawning and larval rearing of the sea cucumbers, *Bohadschia marmorata* and *Holothuria atra* in Mauritius. **SPC Beche-de-mer Information Bulletin**. 22, 48-52.
- Li, L., Li, Q., & Kong, L. (2010). The effect of different substrates on larvae settlement in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka. **Journal of the World Aquaculture Society**. 41(1), 123-130. doi:10.1111/j.1749-7345.2009.00341.x.
- Mercier, A, Battaglene, S.C., & Hamel, J.F. (2000). Settlement preferences and early migration of the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 249(1), 89–110.
- Mladenov, P. V. (1985). Development and metamorphosis of the brittle star, *Ophiocoma pumila*: evolutionary and ecological implications. **The Biological Bulletin**. 168, 285–295.
- Munprasit, R. (2008). Sea Cucumber Fisheries, Utilization and Trade in Thailand. In **Report of the Regional Study on Sea Cucumber Fisheries, Utilization and Trade in Southeast Asia 2007-2008**. (pp. 95-112). Thailand: The Secretariat Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Panagos, C. G., Thomson, D.S., Moss, C., Hughes, A.D., Kelly, M.S., Liu, Y., Chai, W., Venkatasamy, R., Spina, D., Page, C.P., Hogwood, J., Woods, R.J., Mulloy, B., Bavington, C.D., & Uhrin, D. (2014). Fucosylated chondroitin sulfates from the body wall of the sea cucumber *Holothuria forskali*. **The Journal of Biology Chemistry**. 289(41), 28284–28298.
- Pearce, C. M., & Scheibling, R. E. (1990). Induction of settlement and metamorphosis in the sand dollar *Echinarachnius parma*: evidence for an adult-associated factor. **Marine Biology**. 107, 363–369.

- Pinochet, J., Urbina, M. A., & Lagosa, M. E. (2020). Marine invertebrate larvae love plastics: Habitat selection and settlement on artificial substrates. *Environmental Pollution*. 257. doi:10.1016/j.envpol.2019.113571.
- Purcell, S. W. (2004). Rapid growth and bioturbation activity of the sea cucumber *Holothuria scabra* in earthen ponds. In *Proceedings of Australasian Aquaculture 2004*. (p. 244). Solomon Islands: ICLARM Coastal Aquaculture Centre.
- Purcell, S. W., & Simutoga, M. (2008). Spatio-temporal and size-dependent variation in the success of releasing cultured sea cucumbers in the wild. *Reviews in Fisheries Science*. 16(1-3), 204–214.
- Putchakarn, S., Mucharin, A., Komkham, P., & Pangsuk, B. (2017). *Checklist of Echinoderms in Thailand*. ONEP Biodiversity Series Vol. 23. Thailand: Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning.
- Rahim, S. A. K. A., Li, J. Y., & Kitamura, H. (2004). Larval metamorphosis of the sea urchins, *Pseudocentrotus depressus* and *Anthocidaris crassispina* in response to microbial films. *Marine Biology*. 144, 71–78. doi:10.1007/s00227-003-1171-z
- Rodríguez, S. R., Ojeda, F. P., & Inestrosa, N. C. (1993). Settlement of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*. 97(2), 193-207.
- Selvarajan, R., Sibanda, T., Venkatachalam, S., Ogola, H. J. O., Obieze, C. C., & Msagati, T. A. (2019). Distribution, interaction and functional profiles of epiphytic bacterial communities from the rocky intertidal seaweeds, South Africa. *Scientific Reports*. 9(19835). doi:10.1038/s41598-019-56269-2.
- Singh, R. P., & Reddy, C. R. K. (2014). Seaweed-microbial interactions: Key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*. 88(2), 213–230.
- Slater, J., Cartonb, A. G., & Jeffs, A. G. (2010). Highly localized distribution patterns of juvenile sea cucumber *Australostichopus mollis*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 44(4), 201-216.
- Smiley, S., Mceuen, F., Chaffee, S. & Krishen. S. (1991). Echinodermata: Holothuroidea. In *Reproduction of Marine Invertebrates Echinoderms and Lophophorats*. (pp. 613-750). USA: Boxwood Press.
- Stott, A. E., Takeuchi, T., & Koike, Y. (2004). Testing various substances that have been bound to plastic plates with agar to induce larval settlement and metamorphosis of abalone *Haliotis discus discus* (Reeve). *Aquaculture*. 231, 547–557.
- Su, Z. X., Huang, L. M., Yan, Y., & Li, H. (2007). The effect of different substrates on pearl oyster *Pinctada martensii* (Dunker) larvae settlement. *Aquaculture*. 271(1-4), 377–383.
- Sukamolson, S. (2017). Priori and Posteriori Comparisons for a Research Study. *Academic Journal of Buriram Rajabhat University*. 9(2), 51-70.
- Tanita, I. & Yamada, H. (2019). Distribution of sea cucumbers in relation to sediment characteristics in coral reef lagoons and adjacent waters around Ishigaki Island, southern Japan. *Marine Ecology*. 40(5). Doi:10.1111/maec.12564.
- Tolon, T., Emiroğlu, D., Günay, D., & Saygı, H. (2015). Effect of sediment grain size on growth performance of juvenile sea cucumber (*Holothuria tubulosa*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 15, 55-59. doi:10.4194/1303-2712-v15_2_43.
- Toral-Granda, V., Lovatelli, A. & Vasconcellos, M. (2008). *Sea Cucumbers: A Global Review of Fisheries and Trade*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 516. Italy: FAO.
- Yamana, Y., Hamano, T., & Miki, K. (2006). Distribution of the Japanese sea cucumber *Apostichopus japonicus* in the intertidal zone of Hirao Bay, eastern Yamaguchi Prefecture, Japan—Suitable environmental factors for juvenile habitats. *Journal of National Fisheries University*. 54, 111–120.

- Yaqing, C., Changqing, Y., & Xin, S. (2000). Sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) pond polyculture in Dalian, Liaoning Province, China. In **Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management (ASCAM) Conference**. (pp. 269-272). China: Dalian.
- Yu, X. J., He, W. H., Gu, J. D., He, M. X. & Yan, Y. (2008). The effect of chemical cues on settlement of pearl oyster *Pinctada fucata martensii* (Dunker) larvae. **Aquaculture**. 277, 83–91.
- Zhang, Q., Kühl, M., & Brodersen, K. E. (2020). Effects of epiphytic biofilm activity on the photosynthetic activity, pH and inorganic carbon microenvironment of seagrass leaves (*Zostera marina* L.). **Frontiers in Marine Science**. 9. doi:10.3389/fmars.2022.835381.
- Zhao, B., Zhang, S., & Qian, P. Y. (2003). Larval settlement of the silver- or goldlip pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson) in response to natural biofilms and chemical cues. **Aquaculture**. 220, 883–901.

วันรับบทความ (Received date) : 20 มิ.ย. 65

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 9 ก.ย. 65

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 4 ต.ค. 65