ผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวาน *Babylonia areolata* (Link 1807)

รุจินาถ ศรีวุ่น[1*] อรนาถ สุวรรณเพ็ชร[2] ศรัญญา จันทรชิว[3] จักรพงษ์ เมืองทรัพย์[4]
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ 15 ถ.กาญจนวณิชย์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
และ อัมรินทร์ ทองหวาน[5]
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี 181 ถ.เจริญประดิษฐ์ ต.รูสะมิแล อ.เมือง จ.ปัตตานี 94000

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของเบนซีนที่มีต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวาน *Babylonia areolata* (Link 1807) ในระยะฝักไข่ ระยะเวลลิเจอร์ ระยะลงเกาะ ระยะวัยรุ่น และระยะตัวเต็มวัย โดยใช้ความเข้มข้นเบนซีน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร และเลี้ยงในระบบน้ำแบบปิด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าฝักไข่ในชุดที่ไม่ใส่เบนซีนมีอัตรารอดตายสูงสุดเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบว่าตัวอ่อนใช้เวลา 48 ชั่วโมงในการพัฒนาเข้าสู่ระยะโทรโคฟอร์ ซึ่งช้ากว่าระยะเวลาปรกติ ดังนั้นเบนซีนมีผลทำให้พัฒนาการของตัวอ่อนในฝักไข่เกิดช้าขึ้น ระยะเวลลิเจอร์ใช้หอยขนาดความยาวเปลือกเฉลี่ย 535.00±20.34 ไมโครเมตร ความหนาแน่น 400 ตัวต่อลิตร ให้ *Chaetoceros* เป็นอาหาร พบว่ามีการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยและอัตรารอดตายสูงสุดในชุดที่ไม่ใส่เบนซีน (p<0.05) สำหรับชุดที่มีเบนซีน 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร พบว่าลูกหอยระยะเวลลิเจอร์ไม่มีการขยับอวัยวะกรองอาหาร ส่งผลให้มีการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยและอัตรารอดตายต่ำ ระยะลงเกาะใช้หอยขนาดความยาวเปลือกเฉลี่ย 1577.22±12.24 ไมโครเมตร ความหนาแน่น 8,000 ตัวต่อตารางเมตร ให้เนื้อปลาข้างเหลืองเป็นอาหาร พบว่าในระยะลงเกาะมีการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยและอัตรารอดตายสูงสุดในชุดที่ไม่ใส่เบนซีนและต่ำสุดในชุดที่มีเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ระยะวัยรุ่นใช้หอยขนาดความยาวเปลือกเฉลี่ย 1.57±0.19 เซนติเมตร ความหนาแน่น 400 ตัวต่อตารางเมตร พบว่าในระยะวัยรุ่นมีการเติบโต โดยความยาวเปลือกเฉลี่ยและน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดในชุดที่ไม่ใส่เบนซีนและต่ำสุดในชุดที่มีเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร (p<0.05) ส่วนอัตรารอดตายไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของพฤติกรรมการฝังตัวในทรายของหอยระยะวัยรุ่นพบว่ามีจำนวนตัวเฉลี่ยสูงสุดในชุดที่มีเบนซีน 1 ไมโครลิตรต่อลิตร ในขณะที่พฤติกรรมการเกาะขอบถัง พบว่ามีจำนวนตัวเฉลี่ยสูงสุดในชุดที่มีเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร อัตราการรอดตายของหอยหวานระยะเต็มวัยเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกชุดการทดลอง เบนซีนมีผลทำให้เซลล์ต่อมสร้างน้ำย่อยในตับมีขนาดเพิ่มขึ้น โดยในชุดการทดลองที่ไม่ใส่เบนซีนในและชุดที่มีเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร พบขนาดเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 4.14 และ 5.09 ไมโครเมตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : *Babylonia areolata* / ลูกหอยระยะเวลลิเจอร์ / เซลล์ต่อมสร้างน้ำย่อย / ปิโตรเลียม ไฮโดรคาร์บอน

---

* *Corresponding Author : rujinard.s@psu.ac.th*

1 *อาจารย์ประจำ หน่วยวิจัยแพลงก์ตอน สถานวิจัยความเป็นเลิศความหลากหลายทางชีวภาพแห่งคาบสมุทรไทย คณะวิทยาศาสตร์ และอาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์*

2 *นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์*

3 *นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์*

4 *นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์*

5 *นักวิจัย ศูนย์วิจัยและเพาะฟักสัตว์น้ำทะเล ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

Effects of Benzene on Growth and Survival Rates of Spotted Babylon *Babylonia areolata* (Link 1807)

Rujinard Sriwoon[1*] Oranart Suwanpetch[2] Saranya Jantarasilw[3] Jakapong Muangsab[4]
Prince of Songkla University, 15 Karnjanavanich Road, Hat Yai, Songkhla 90110
and Ammarin Thongwan[5]
Prince of Songkla University, Pattani campus, 181 Chroenpradit Road, Rusamilae, Mueng, Pattani Province 94000

Abstract

This study determined the effects of benzene concentration on growth and survival rate of spotted babylon (*Babylonia areolata* Link 1807) during the capsule egg, veliger larva, settled juvenile, juvenile and adult stages. Six benzene concentrations, i.e, 0, 1, 5, 25, 50 and 100 µl/L, were tested. Spotted babylon at different developmental stages were cultured in a closed recirculating system for one week. It was found that egg capsules reared in seawater without benzene had the highest survival rate standing at 90%. However, the embryonic development from cleavage to trochophore took 48 hours, which was slower than usual. This suggested that benzene can delay the embryonic development in egg capsules. To determine the effect of benzene on verliger larvae, spotted babylon with average shell length of 535.00±20.34 micrometers, raised at the density of 400 spotted babylons per liter and fed with *Chaetoceros*, was used. It was found that those reared in a treatment without benzene had the highest shell growth and survival rate (p<0.05). In contrast, verliger larvae cultured in seawater at benzene concentrations of 25, 50 and 100 µl/L did not move their vela, resulting in low average shell growth and survival rates. To examine the effect of benzene on initial settled juveniles, spotted babylon with average shell length of 1577.22±12.24 micrometers was raised at the density of 8,000 spotted babylons per m2 and fed with yellow stripe trevally meat. The results showed that those in the treatment without benzene had the highest shell growth and survival rates, while the lowest shell growth and survival rate were noted in the 100 µl/L benzene treatment. For initial juveniles with shell length of 1.57±0.19 centimeters at a density of 400 initial juveniles per liter, it was found that those in treatment without benzene had the highest shell growth and weight gain rates, while the lowest shell growth and weight gain rate was again noted in the 100 µl/L benzene treatment (p<0.05). Nevertheless, the survival rates across different groups were not significantly different. Regarding burrowing behavior of juveniles, the data showed that there was the highest number of juveniles exhibiting such behavior in the 1 µl/L benzene treatment group, while the highest number of juveniles exhibiting attachment behavior was in the 100 µl/L benzene treatment group. In addition, all spotted babylon adults across all treatment groups were found to have 100% survival rate. Furthermore, benzene was found to increase the size of digestive cells in livers. Average cell sizes of digestive cells were 4.14 and 5.09 micrometers in the treatment without benzene and in the 100 µl/L benzene treatment, respectively.

Keywords : *Babylonia areolata* / Veliger Larva / Digestive Cell / Petroleum Hydrocarbon

---

* *Corresponding Author : rujinard.s@psu.ac.th*
1 *Lecturer, Center of Excellence for Biodiversity of Peninsular Thailand, Faculty of Science and Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science.*
2 *Undergrad Student, Department of Biology, Faculty of Science.*
3 *Undergrad Student, Department of Biology, Faculty of Science.*
4 *Undergrad Student, Department of Biology, Faculty of Science.*
5 *Researcher, Marine Hatchery and Research Center, Department of Technology and Industry, Faculty of Science and Technology.*

1. บทนำ

หอยหวานเป็นหอยทะเลฝาเดียว อาศัยบริเวณชายฝั่งที่มีพื้นเป็นทรายหรือทรายปนโคลน ปัจจุบันจำแนกเป็น 3 กลุ่ม [6] คือ (1) หอยหวานพันธุ์เปลือกสีน้ำตาลดำ (*Babylonia areolata* Link 1807) หรือหอยหวานแท้ โดยมีพื้นเปลือกสีขาว และมีลายแต้มบนผิวเปลือกสีน้ำตาลบนดำ จำนวน 3 แถว พบที่จันทบุรี ระยอง ชลบุรี ตราด และฉะเชิงเทรา [15] (2) หอยหวานพันธุ์เปลือกสามสี (*B. areolata austraoceanensis*) มีพื้นเปลือกสีขาวหรือสีครีม มีลายแต้มรูปสี่เหลี่ยมหรือเป็นริ้วๆ สีน้ำตาล สีส้ม สีน้ำตาลปนส้ม สีสนิม เรียงกัน 3 แถว พบที่สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส [15] (3) หอยหวานพันธุ์เปลือกลายหรือหอยหมาก *B. spirata* มีพื้นเปลือกสีขาวหรือสีครีม ลายแต้มเปลือกมีสีส้มหรือสีน้ำตาลเรียงกัน 4 แถว ร่องระหว่างเกลียวเปลือกยักลึกเข้าด้านใน พบที่ระนอง กระบี่ และสตูล

การขยายตัวทางเศรษฐกิจอุตสาหกรรมและชุมชนส่งผลให้มีความต้องการใช้น้ำมันมากขึ้น มีการขุดเจาะสำรวจหาแหล่งน้ำมัน การเพิ่มปริมาณการขนส่งน้ำมันทางเรือส่งผลให้มีแนวโน้มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของน้ำมันปิโตรเลียมสิ่งแวดล้อมสูง สาเหตุการปนเปื้อนน้ำมัน เช่น การขนถ่ายน้ำมันกลางทะเล การขุดเจาะน้ำมันในทะเล การทิ้งหรือการล้างน้ำมันที่ใช้แล้วลงสู่ทะเล โรงกลั่นน้ำมัน น้ำทิ้งจากแผ่นดิน และการเกิดอุบัติเหตุของเรือบรรทุกน้ำมันอับปาง ทำให้ปริมาณน้ำมันจำนวนมหาศาลจะถูกพัดพาเข้าสู่ชายฝั่งและก่อมลพิษต่อสิ่งมีชีวิตทั้งทางตรงและทางอ้อม เกิดความเสียหายต่อระบบนิเวศทางทะเล

ในแง่ของการศึกษาการปนเปื้อนของน้ำมันในแหล่งน้ำ Wattayakorn [19] ศึกษาปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำและดินตะกอนจากอ่าวไทยมีปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนอยู่ในช่วง 0.65-8.30 ไมโครกรัมต่อลิตร พฤติกรรมของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจะมีการแพร่กระจายในมวลน้ำและสามารถตกตะกอนโดยกระบวนการรวมตัวของปิโตรเลียมเหลวกับตะกอนแขวนลอยที่มีอยู่ในมวลน้ำ ทำให้เกิดการสะสมในตะกอนได้ดี การดูดซับกับสารแขวนลอยจะเกิดได้ดีมากเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นและอุณหภูมิของน้ำลดลง ดังการศึกษาของ Khaodon และคณะ [13] ศึกษาการปนเปื้อนและการแพร่กระจายของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนบริเวณอ่าวไทยตอนบนมีค่าเฉลี่ย 5.79 ± 7.80 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างช่วงเปลี่ยนฤดูมรสุม (เดือนเมษายน) ช่วงฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ (สิงหาคม) และช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ (ธันวาคม) มีค่าเฉลี่ย 2.04 ± 0.91, 3.89 ± 5.77 และ 11.6 ± 10.22 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสูงในช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าในช่วงฤดูอื่นของปี

ในช่วงเวลาที่ผ่านมาได้มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับความเป็นพิษของโลหะหนักในหอยหวาน ความเป็นพิษของสารตะกั่วแบบเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันต่อหอยหวาน *B. areolata* พบว่าค่า LD_{50} ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง มีค่า 29.31, 14.64, 12.44 และ 10.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หอยหวานที่ได้รับสารตะกั่ว 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า สารตะกั่วมีการสะสมมากที่สุดในกระเพาะอาหาร รองลงมาคือ หลอดอาหาร เหงือก ลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ต่อมสร้างน้ำย่อย และเท้า [16] ความเป็นพิษของแคดเมียมแบบเฉียบพลันมีต่อหอยหวาน พบว่า ค่ามัธยฐานความเป็นพิษเฉียบพลันที่เวลา 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 0, 13.86, 4.39, 3.35 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคดเมียม และการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของแคดเมียมที่ความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคดเมียม และพบการสะสมของแคดเมียมมากที่สุดในกระเพาะอาหาร (1192.18 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และมีการสะสมลดลงในต่อมย่อยอาหาร เหงือก ทางเดินอาหารส่วนปลาย หลอดอาหาร คอหอย และแผ่นเท้า นอกจากนี้ การศึกษาทางพยาธิสภาพของอวัยวะทางเดินอาหาร ยังแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มจำนวนของมิวคัสแวคิวโอล ซิเลียบนขอบเซลล์ด้านบนมีจำนวนลดลง และมีการขยายขนาดของเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหาร [17] ความเข้มข้นของคอปเปอร์ 0.02, 0.06 และ 0.20 ppm ต่อการเคลื่อนที่และการกินอาหารของหอยหวาน *B. lutosa* เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของคอปเปอร์เพิ่มขึ้นหอยหวานมีการเคลื่อนที่และการยึดเกาะด้วยแผ่นเท้า

ลดลง มีการหดตัวเข้าในเปลือก [7] ผลของสังกะสีและสารเบนซีนต่อการหายใจและการขับถ่ายของตัวอ่อนหอยแมลงภู่ *Perna perna* พบว่า การหายใจและการขับถ่ายแอมโมเนียลดลง การเผาผลาญแบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจเกิดขึ้นในระยะเวลลิเจอร์ อัตราส่วนของออกซิเจนและไนโตรเจนมีค่าต่ำแสดงให้เห็นว่ากระบวนการแคตาบอลิซึม (catabolism) ของหอยแมลงภู่ส่วนใหญ่เป็นโปรตีน [11] หอยจึงเป็นดัชนีชี้วัดระดับความเป็นพิษของสารพิษในสิ่งแวดล้อมได้ อีกทั้งหอยหวานยังจัดเป็นหอยทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่มีมูลค่าและปริมาณความต้องการบริโภคของตลาดทั้งภายในและภายนอกค่อนข้างสูง จึงมีการการเพาะเลี้ยงและจับจากธรรมชาติเพื่อนำมาขายบริโภคกันมากในภาคใต้ ซึ่งอาจส่งผลกระทบในสายใยอาหารได้

การวิจัยครั้งนี้ ศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะฝักไข่ ระยะเวลลิเจอร์ ระยะลงเกาะ ระยะวัยรุ่นและระยะเต็มวัย ผลที่ได้จากการวิจัยจะเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาการเติบโตของหอยหวาน และช่วยให้เข้าใจถึงผลกระทบจากปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในธรรมชาติต่อการลดลงของประชากรหอยหวานธรรมชาติในทะเลอ่าวไทย เพื่อใช้ประกอบหลักเกณฑ์การอนุรักษ์และเพาะเลี้ยงหอยหวานอย่างยั่งยืน

2. วิธีการศึกษา

2.1 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของฝักไข่

แบ่งชุดการทดลอง 6 ชุด โดยให้ความเข้มข้นของเบนซีนที่แตกต่างกัน 0, 1, 5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้ฝักไข่ 10 ฝักต่อน้ำ 10 ลิตร จำนวน 3 ซ้ำ การพัฒนาของเซลล์ไข่ สุ่มฝักไข่จำนวน 3 ฝักโดยในแต่ละฝักไข่จะสุ่มฟองไข่จำนวน 10 ฟองเพื่อวัดขนาดฝักไข่และบันทึกการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไข่ทุกๆ ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในวันที่ 2 สุ่มทุกๆ 3 ชั่วโมงและสุ่มทุกๆ 6 ชั่วโมงจนสิ้นสุดการทดลอง นับจำนวนฝักไข่ที่เสียในแต่ละวันเพื่อหาอัตรารอดตาย

2.2 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะเวลลิเจอร์

แบ่งชุดการทดลอง 6 ชุด โดยให้ความเข้มข้นของเบนซีนที่แตกต่างกัน 0, 1, 5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้หอยหวานระยะเวลลิเจอร์ที่มีขนาด 535±20.34 ไมโครเมตร จำนวน 40,000 ตัว ต่อน้ำ 100 ลิตร (ความหนาแน่น 400 ตัวต่อลิตร) จำนวน 3 ซ้ำ ให้ *Chaetoceros* เป็นอาหาร สุ่มลูกหอยมา 30 ตัวต่อถัง บันทึกความยาวเปลือก และอัตราการขยับของอวัยวะกรองอาหาร (ครั้ง/นาที) ทุกๆ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในวันที่ 2 ถึง 4 สุ่มทุกๆ 6 ชั่วโมงและสุ่มทุกๆ 12 ชั่วโมงจนสิ้นสุดการทดลอง นับจำนวนหอยที่ตายในแต่ละวันเพื่อหาอัตรารอดตาย

2.3 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายหอยหวานระยะลงเกาะ

แบ่งชุดการทดลอง 6 ชุด โดยให้ความเข้มข้นของเบนซีนที่แตกต่างกัน 0, 1, 5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้หอยหวานระยะลงเกาะที่มีขนาดความยาวเปลือก 1577.22±12.24 ไมโครเมตร จำนวน 280 ตัว/ถัง (ความหนาแน่น 8,000 ตัวต่อตารางเมตร) ให้ปลาข้างเหลืองเป็นอาหาร สุ่มลูกหอยมา 30 ตัวต่อถัง บันทึกความยาวเปลือกเมื่อเริ่มทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในแต่ละวันบันทึกจำนวนหอยตายและจำนวนตัวของหอยต่อชิ้นอาหาร เวลาการเคลื่อนที่ต่อนาที เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์

2.4 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะวัยรุ่น

แบ่งชุดการทดลอง 6 ชุด โดยให้ความเข้มข้นของเบนซีนที่แตกต่างกัน 0, 1, 5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้หอยหวานระยะวัยรุ่นที่มีขนาดความยาวเปลือก 1.57±0.19 เซนติเมตร จำนวน 150 ตัว/ถัง (ความหนาแน่น 400 ตัวต่อตารางเมตร) ให้เนื้อปลาข้างเหลืองเป็นอาหาร สุ่มลูกหอยมา 30 ตัวต่อถัง ในแต่ละวันบันทึกความยาวเปลือก น้ำหนักตัว และ

จำนวนตัวของหอยที่เกาะขอบถัง เคลื่อนที่และฝังทราย เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ นับจำนวนหอยที่ตายในแต่ละวัน เพื่อหาอัตรารอดตาย

2.5 การศึกษาผลของเบนซีนต่ออัตรารอดตายขนาดและความหนาแน่นของเซลล์สร้างน้ำย่อยในตับของหอยหวานระยะเต็มวัย

แบ่งชุดการทดลอง 6 ชุด โดยให้ความเข้มข้นของเบนซีนที่แตกต่างกัน 0, 1, 5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้หอยหวานระยะเต็มวัยที่มีอายุ 6 เดือน จำนวน 15 ตัว/ถัง (ความหนาแน่น 60 ตัวต่อตารางเมตร) ที่ความเค็ม 29-30 ส่วนในพัน อุณหภูมิน้ำ 27-29 องศาเซลเซียส และให้เนื้อปลาข้างเหลืองเป็นอาหาร สุ่มหอยมา 15 ตัวต่อถัง ในแต่วันบันทึกจำนวนหอยที่ฝังทราย เกาะขอบถังและเคลื่อนที่บนทรายเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ นับจำนวนหอยที่ตายในแต่ละวันเพื่อหาอัตรารอดตาย

ศึกษาด้านเนื้อเยื่อวิทยา สุ่มหอยหวานระยะเต็มวัยจำนวน 3 ตัวต่อถัง นำมาตัดส่วนตับแช่ในสารละลาย Bouin’s fluid เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อ ประมาณ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นเนื้อดังกล่าวผ่านกระบวนการตามวิธีทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological technique) เพื่อทำ paraffin section และย้อมสีเนื้อเยื่อด้วย Harris’s Hematoxylin and Eosin [3] ตรวจสอบลักษณะทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยดูขนาดเซลล์และความหนาแน่นของเซลล์ต่อพื้นที่

2.6 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์

เก็บข้อมูลเพื่อประเมินการเติบโต โดยการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวเปลือก นับจำนวนลูกหอยทุกวันเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์เพื่อประเมินอัตรารอดในแต่ละชุดการทดลอง ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ

3. ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

3.1 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของฝักไข่

จากผลการศึกษาการเติบโตโดยความยาวฝักไข่เฉลี่ยของหอยหวานทั้ง 6 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 1) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อทดลองผ่านไปเป็นเวลา 48 ชั่วโมงพบว่าไข่เกิดคลีเวจเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีนให้ค่าการเติบโตโดยความยาวฝักไข่เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 294.17 ± 24.52 ไมโครเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 เมื่อทดลองผ่านไป 49 ชั่วโมงตัวอ่อนมีการหมุนรอบตัวเองอย่างช้าๆ โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีน ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวฝักไข่เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 313.33 ± 38.64 ไมโครเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 4 และ 6 เมื่อทดลองผ่านไป 84 ชั่วโมงตัวอ่อนมีการคอดเว้าตรงกลางลำตัว มีการสร้างส่วนหัวและท้าย โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีนให้ค่าการเติบโตโดยความยาวฝักไข่เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 451.67±22.49 ไมโครเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 6 และเมื่อทดลองผ่านไป 120 ชั่วโมงสังเกตเห็นอวัยวะกรองอาหารบริเวณหน้าสุดของตัวอ่อน โดยชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งมีเบนซีน 25 ไมโครลิตรต่อลิตรให้ค่าการเติบโตโดยความยาวฝักไข่เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 555.42±54.71 ไมโครเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 5

ตารางที่ 1 การเติบโตโดยความยาวฝักไข่เฉลี่ย (mean±SD, ไมโครเมตร) ของหอยหวาน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเลี้ยง (ชั่วโมง)			
	ระยะคลีเวจ ชั่วโมงที่ 0-48	โทรโคฟอร์ ชั่วโมงที่ 49-72	โทรโคฟอร์ ชั่วโมงที่ 84-120	โทรโคฟอร์ ชั่วโมงที่ 121-168
1 (control)	$294.17^{a} \pm 24.52$	$313.33^{a} \pm 38.64$	$451.67^{a} \pm 22.49$	$455.83^{c} \pm 53.16$
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$272.92^{b} \pm 29.22$	$290.42^{b} \pm 19.01$	$401.67^{b} \pm 22.49$	$462.92^{c} \pm 60.80$
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$262.50^{c} \pm 14.92$	$291.25^{b} \pm 44.11$	$380.83^{c} \pm 19.18$	$509.58^{b} \pm 74.09$
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$290.83^{a} \pm 26.02$	$310.42^{a} \pm 27.34$	$400.83^{b} \pm 26.43$	$555.42^{a} \pm 54.71$
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$287.92^{a} \pm 18.12$	$293.75^{b} \pm 20.39$	$401.67^{b} \pm 39.56$	$535.83^{b,a} \pm 65.96$
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$294.17^{a} \pm 24.52$	$313.33^{a} \pm 38.64$	$451.67^{a} \pm 22.49$	$455.83^{c} \pm 53.12$

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ไข่พัฒนาเข้าสู่ระยะโทรโคฟอร์ใช้เวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งโดยปกติไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วพัฒนาเป็นลูกหอยระยะโทรโคฟอร์ใช้เวลา 24 ชั่วโมง [5] ดังนั้นเบนซีนมีผลทำให้พัฒนาการของตัวอ่อนในฝักไข่เกิดช้าขึ้น นอกจากนี้จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเอ็มบริโอไม่สามารถพัฒนาเข้าสู่ระยะเวลลิเจอร์ได้ เนื่องจากคราบน้ำมันจะเคลือบรูพรุนผิวไข่ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างตัวอ่อนกับสิ่งแวดล้อมไม่เกิดขึ้น ตัวอ่อนจะเกิดการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน ประสิทธิภาพการย่อยอาหารและการต้านทานสารพิษลดลง ส่งผลให้ระยะเวลาในการฟักตัวจากไข่ช้ากว่าปกติ

อุณหภูมิน้ำที่เหมาะสมต่อการเติบโตของเอ็มบริโอหอยหวานมีค่าอยู่ในช่วง 26 ถึง 28 องศาเซลเซียส [10] แต่จากการศึกษาครั้งนี้มีอุณหภูมิน้ำเฉลี่ย 25.8±0.37 องศาเซลเซียส โดยช่วงระยะที่ศึกษาเป็นช่วงฤดูฝนทำให้อุณหภูมิน้ำค่อนข้างต่ำ ดังนั้นอุณหภูมิอาจส่งผลให้การพัฒนาของเอ็มบริโอล่าช้ากว่าปกติและไม่สามารถพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะเวลลิเจอร์ นอกจากนี้การศึกษาของ Thu และคณะ [18] พบว่า ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพัน ไข่จะพัฒนาเข้าสู่ระยะโทรโคฟอร์ได้แต่เกิดไม่สมบูรณ์และได้ตัวอ่อนระยะเวลลิเจอร์ที่มีรูปร่างผิดปกติ ที่ความเค็ม 30 ถึง 35 ส่วนในพัน ไข่จะพัฒนาเข้าสู่ระยะเวลลิเจอร์ได้ดีที่สุด และที่ความเค็ม 40 ส่วนในพันไข่จะพัฒนาเข้าสู่ระยะโทรโคฟอร์ได้สมบูรณ์ แต่ผลการศึกษาครั้งนี้ฝักไข่ของหอยหวานเติบโตที่ความเค็มระหว่าง 33.6 ถึง 35.9 ส่วนในพัน และไม่พัฒนาเข้าสู่ระยะเวลลิเจอร์

ผลการศึกษาอัตรารอดตายของฝักไข่ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่มีเบนซีน มีอัตรารอดตายสูงสุด เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 1 และ 5 ไมโครลิตรต่อลิตร มีค่าอัตรารอดตายของฝักไข่เท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ สำหรับชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร มีอัตรารอดตายของฝักไข่ เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเบนซีนจะส่งผลให้อัตรารอดตายของฝักไข่ของหอยหวานลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Jiang และคณะ [9] ซึ่งพบว่า คราบน้ำมันส่งผลให้เกิดการบวมของถุงไข่แดงและการสร้างเมมเบรนเกิดขึ้นช้าทำให้ตัวอ่อนในฝักไข่ตายและอัตราการฟักไข่ลดลง

3.2 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะเวลลิเจอร์

จากผลการศึกษาการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยระยะเวลลิเจอร์ทั้ง 6 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 2) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีน ให้ค่าการเติบโตโดยความยาว

เปลือกเฉลี่ยสูงสุด และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยต่ำที่สุด และเมื่อทดลองผ่านไป 6 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีน ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 683.33±17.18 ไมโครเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกต่ำที่สุด เท่ากับ 602.50±46.65 ไมโครเมตร ในชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร พบว่าตัวอ่อนเวลลิเจอร์ไม่มีการขยับซิเลียของอวัยวะกรองอาหาร ไม่สามารถโบกพัดอาหารเข้าสู่ปากได้ และความสามารถในการเคลื่อนที่ว่ายน้ำลดลง ส่งผลทำให้ตัวอ่อนระยะเวลลิเจอร์มีการเติบโตลดลง โดยเบนซีนทำให้เกิดกระบวนการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้เกิดการสะสมกรดแลกติกในกล้ามเนื้อ [11]

อัตราการรอดตายเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ระหว่างชุดการทดลองทั้ง 6 ชุด (ตารางที่ 6) โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีนให้ค่าอัตรารอดตายสูงสุด เท่ากับ 75.88±5.07 และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตรให้ค่าอัตรารอดตายต่ำสุด เท่ากับ 50.92±6.54 การศึกษาครั้งนี้มีการจำกัดอาหารโดยให้ไดอะตอมเป็นอาหารเพียงครั้งเดียว ทำให้ปริมาณอาหารอาจไม่เพียงพอ โดยปกติการอนุบาลลูกหอยในระยะเวลลิเจอร์จะมีการให้อาหารวันละ 2 ครั้งในตอนเช้า-เย็น [5] รวมทั้งไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ เมื่อไดอะตอมตายจะเกิดเมือกและแบคทีเรียในมวลน้ำ ส่งผลต่อการเติบโตและอัตรารอดตายต่ำลง

ตารางที่ 2 การเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย (mean±SD, ไมโครเมตร) ของหอยหวานระยะเวลลิเจอร์

ชุดการทดลอง (ไมโครลิตรต่อลิตร)	ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)						
	1	2	3	4	5	6	7
1 (control)	580.00^{a}±44.24	630.83^{a}±41.88	625.00^{a}±61.24	624.17^{a}±40.20	655.00^{a}±33.73	649.17^{a}±53.53	683.33^{a}±17.78
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	576.67^{a}±24.51	575.83^{b}±40.73	595.00^{b}±27.39	603.33^{a,b}±54.43	610.00^{b,c}±60.74	633.33^{a}±37.91	667.50^{a}±40.02
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	556.67^{b}±29.31	579.17^{b}±41.57	597.50^{b}±63.77	595.00^{b,c}±37.37	620.83^{b}±55.35	630.83^{a}±36.37	630.83^{c}±36.37
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	548.33^{b,c}±33.43	581.67^{b}±35.32	585.00^{b}±41.83	584.17^{b,c}±41.25	614.17^{b}±40.83	628.33^{a}±27.65	628.33^{c}±27.65
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	535.00^{c}±20.34	555.00^{c}±33.73	575.83^{b}±40.73	598.33^{b,c}±35.92	630.00^{b}±40.68	649.17^{a}±34.42	649.17^{b}±34.42
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	544.17^{b,c}±32.62	549.17^{c}±24.11	572.50^{b}±41.18	575.00^{c}±48.24	587.50^{c}±42.93	607.50^{b}±45.56	602.50^{d}±45.65

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

3.3 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะลงเกาะ

จากผลการศึกษาการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยทั้ง 6 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 3) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อทดลองผ่านไปเป็นเวลา 7 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีน ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 1741.39±17.74 ไมโครเมตร และชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 50 ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 1642.52±4.36 ไมโครเมตร โดยเบนซีนมีผลรบกวนกระบวนการสรีระวิทยาและพัฒนาการของหอย [11] จึงทำให้ลูกหอยที่ระดับความเข้มข้นของเบนซีนสูงมีการเจริญช้ากว่าปกติเล็กน้อย รวมทั้งเบนซีนมีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหาร มีผลให้ลูกหอยกินอาหารได้น้อยลง จึงทำให้ลูกหอยระยะลงเกาะมีการเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้นของเบนซีนสูง

ตารางที่ 3 การเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย (mean±SD, ไมโครเมตร) ของหอยหวานระยะลงเกาะ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	
	0	7
1 (control)	1577.22 ± 12.24	1741.39^{a} ± 17.74
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1577.22 ± 12.25	1709.50^{b} ± 6.16
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1577.22 ± 12.26	1702.74^{c} ± 5.70
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1577.22 ± 12.27	1667.00^{d} ± 6.27
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1577.22 ± 12.28	1642.52^{e} ± 4.36
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1577.22 ± 12.29	1644.26^{e} ± 3.42

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

อัตราการรอดตายเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลองทั้ง 6 ชุด (ตารางที่ 6) โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีนให้ค่าอัตรารอดตายสูงสุด เท่ากับ 82.54 ± 1.98 และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าอัตรารอดตายต่ำสุด เท่ากับ 68.96 ± 2.85 โดยลูกหอยระยะลงเกาะมีการเปลี่ยนจากการดำรงชีพแบบแพลงก์ตอนเป็นสัตว์พื้นทะเล และเปลี่ยนจากการกินอาหารแบบกรองเป็นการกินเนื้อเป็นอาหาร [20] ถือเป็นระยะวิกฤต ไม่มีความแข็งแรงพอที่จะทนต่อการรบกวนของสารมลพิษได้ จึงทำให้หอยหวานระยะลงเกาะมีอัตรารอดตายต่ำที่ความเข้มข้นของเบนซีนสูง

ตารางที่ 6 อัตรารอดตาย (mean±SD, เปอร์เซ็นต์) ของหอยหวานระยะเวลลิเจอร์ ระยะลงเกาะและระยะวัยรุ่น

ชุดการทดลอง	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)		
	ระยะเวลลิเจอร์	ระยะลงเกาะ	ระยะวัยรุ่น
1 (control)	75.88^{a} ± 5.07	82.54^{a} ± 1.98	99.75 ± 0.09
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	73.46^{a} ± 5.22	76.46^{a,b} ± 2.07	99.54 ± 0.15
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	73.17^{a} ± 4.68	75.21^{a,b} ± 2.44	99.79 ± 0.09
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	67.96^{a,b} ± 7.30	69.75^{b} ± 3.21	99.58 ± 0.16
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	58.33^{a,b} ± 6.37	71.33^{b} ± 2.57	99.83 ± 0.08
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	50.92^{b} ± 6.54	68.96^{b} ± 2.85	99.38 ± 0.06

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ผลการศึกษาจำนวนตัวหอยหวานระยะลงเกาะต่อชิ้นอาหาร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างชุดการทดลองทั้ง 6 ชุด โดยในชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 1 ไมโครลิตรต่อลิตร มีจำนวนตัวมากที่สุด 39 ตัวต่อชิ้น และ ในชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร มีจำนวนตัวน้อยที่สุด เท่ากับ 24 ตัวต่อชิ้นอาหาร สอดคล้องกับการศึกษาของ Cheung และ Wong [7] พบว่า เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวที่กินอาหารและเวลาที่ใช้ในการกินอาหารของ *B. lutosa* ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของทองแดง แต่เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวของ *B. lutosa* ที่กินอาหารขึ้นอยู่กับความต้องการอาหาร

การเคลื่อนที่ของหอยหวานระยะลงพื้นพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยในชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 1 ไมโครลิตรต่อลิตร จะให้อัตราการเคลื่อนที่มากที่สุด เท่ากับ 41.67 มิลลิเมตรต่อนาที และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร จะให้อัตราการเคลื่อนที่น้อยที่สุด เท่ากับ 15 มิลลิเมตรต่อนาที แสดงให้เห็นว่าเบนซีนมีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของหอยหวานระยะลงเกาะ เมื่อได้รับเบนซีนเข้าสู่ร่างกายจะเกิดการเผาผลาญแบบไม่ใช้ออกซิเจน กระบวนการไกลโคซิสเกิดโดยไกลโคเจนจะสลายเป็นกรดไพรูวิกโดยไม่ใช้ออกซิเจน หลังจากนั้นกรดไพรูวิกจะเปลี่ยนเป็นกรดแลกติกและสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อ กรดแลกติกจะขัดขวางไม่ให้กล้ามเนื้อทำงานต่อไปได้ จึงเป็นเหตุให้หอยหวานระยะลงเกาะเคลื่อนที่ได้น้อยลงเมื่อความเข้มข้นของเบนซีนสูงขึ้น เบนซีนไม่มีผลต่อพฤติกรรมการเกาะขอบถังของหอยหวานระยะลงเกาะ เนื่องจากเป็นพฤติกรรมปกติของลูกหอยระยะนี้ ส่วนจำนวนของหอยหวานที่เกาะขอบถัง ขึ้นอยู่กับพัฒนาการและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเท้า

3.4 การศึกษาผลของเบนซีนต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะวัยรุ่น

จากผลการศึกษาการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยทั้ง 6 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 4) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อทดลองผ่านไปเป็นเวลา 7 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีน ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 1.67±0.01 เซนติเมตร และชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 50 ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ 1.59±0.01 เซนติเมตร

ตารางที่ 4 การเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย (mean±SD, เซนติเมตร) ของหอยหวานระยะวัยรุ่น

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	
	0	7
1 (control)	1.57 ± 0.19	1.67^{a} ± 0.01
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.57 ± 0.19	1.63^{b} ± 0.01
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.57 ± 0.19	1.63^{b} ± 0.01
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.57 ± 0.19	1.61^{c} ± 0.01
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.57 ± 0.19	1.59^{d} ± 0.01
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.57 ± 0.19	1.60^{d} ± 0.01

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

จากผลการศึกษาการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ยทั้ง 6 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 5) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (*p*<0.05) เมื่อทดลองผ่านไปเป็นเวลา 7 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ใส่เบนซีน ให้ค่าการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 1.30±0.03 กรัม และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ 0.19±0.01 กรัม

ตารางที่ 5 การเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย (mean±SD, กรัม) ของหอยหวานระยะวัยรุ่น

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	
	0	7
1 (control)	1.11 ± 0.37	1.30[a] ± 0.03
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.11 ± 0.37	1.26[b] ± 0.01
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.11 ± 0.37	1.26[b] ± 0.01
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.11 ± 0.37	1.20[c] ± 0.01
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.11 ± 0.37	1.19[d] ± 0.01
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	1.11 ± 0.37	0.19[d] ± 0.01

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (*P*<0.05)

จากการศึกษานี้พบว่าเบนซีนไม่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยหวานระยะวัยรุ่น แต่เบนซีนจะไปรบกวนการตรวจจับอาหารของเทนทาเคิลและความสามารถในการเคลื่อนที่เข้าหาอาหารลดลง [1] จากพฤติกรรมการกินอาหารและความสามารถในการเคลื่อนที่เข้าหาอาหารลดลง จึงส่งผลต่อการเติบโตของหอยหวานระยะวัยรุ่น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของหอยสองฝา *Mercenaria mercenaria* ระยะวัยรุ่นมีการเจริญเติบโตลดลง เมื่อได้รับสารไฮโดรคาร์บอน 60 ไมโครกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีการกินอาหารและการดูดซึมลดลง [12] ด้วยเหตุนี้จึงทำให้หอยหวานระยะวัยรุ่นมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อความเข้มข้นของเบนซีนเพิ่มขึ้น

อัตราการรอดตายเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างชุดการทดลองทั้ง 6 ชุด (ตารางที่ 5) โดยอัตรารอดตายของหอยหวานระยะวัยรุ่นอยู่ในช่วงระหว่าง 99.38±0.06 ถึง 99.75±0.09 เบนซีนไม่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของหอยหวานระยะวัยรุ่น เนื่องจากหอยหวานระยะวัยรุ่นมีความแข็งแรงและทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีมาก [20]

ผลการศึกษาพฤติกรรมของหอยหวานระยะวัยรุ่นโดยการฝังตัวในทราย เกาะขอบถังและเคลื่อนที่บนผิวทรายทั้ง 6 ชุดการทดลอง (ตารางที่ 7) พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (*p*<0.05) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 1 ไมโครลิตรต่อลิตร มีพฤติกรรมการฝังทรายโดยจำนวนตัวเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 115.22±4.71 ตัว และชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร มีพฤติกรรมการฝังทรายโดยจำนวนตัวเฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ 90.39±4.71 ตัว ดังนั้นหอยหวานระยะวัยรุ่นมีพฤติกรรมฝังตัวในทรายลดลงเมื่อความเข้มข้นของเบนซีนสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาในหอยหวาน *B. lutosa* เมื่อสัมผัสกับทองแดงจะมีการฝังตัวลดลง [7] และหอยสองฝา *Macoma balthica* จะมีอัตราการฝังทรายลดลงที่ความเข้มข้นไฮโดรคาร์บอน 70, 230, และ 300 ไมโครกรัมต่อลิตร เพื่อหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับตะกอนที่ปนเปื้อน [4]

ตารางที่ 7 พฤติกรรมของหอยหวานระยะวัยรุ่น (mean±SE, ตัว)

ชุดการทดลอง	จำนวนตัวที่แสดงพฤติกรรม		
	ฝังตัวในทราย	เกาะขอบถัง	เคลื่อนที่บนทราย
1 (control)	$114.83^{a} \pm 4.71$	$8.11^{d} \pm 3.25$	$25.56^{b,c} \pm 4.21$
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$115.22^{a} \pm 4.71$	$18.67^{a,b,c} \pm 3.25$	$15.50^{c} \pm 4.21$
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$107.22^{a,b} \pm 4.71$	$21.72^{a,b} \pm 3.25$	$20.89^{b,c} \pm 4.21$
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$106.5^{a,b} \pm 4.71$	$11.72^{c,d} \pm 3.25$	$30.28^{a,b} \pm 4.21$
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$97.61^{b,c} \pm 4.71$	$12.17^{b,c,d} \pm 3.25$	$38.44^{a} \pm 4.21$
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	$90.39^{c} \pm 4.71$	$28.11^{a} \pm 3.25$	$29.78^{a,b} \pm 4.21$

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

สำหรับพฤติกรรมการเกาะขอบถัง พบว่าชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร มีพฤติกรรมการเกาะขอบถังโดยจำนวนตัวเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 28.11±3.25 ตัว และชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่มีเบนซีน มีพฤติกรรมการเกาะขอบถังโดยจำนวนตัวเฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ 8.11±3.25 ตัว สอดคล้องกับการศึกษาในหอยฝาเดียว *Littorina littorea* จะมีการคืบคลานมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรคาร์บอนสูง [8]

สำหรับพฤติกรรมการเคลื่อนที่บนผิวทราย พบว่าชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 50 ไมโครลิตรต่อลิตร มีพฤติกรรมเคลื่อนที่บนทรายโดยจำนวนตัวเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 38.44±4.21 ตัว และชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 1 ไมโครลิตรต่อลิตร มีพฤติกรรมการเคลื่อนที่บนทรายโดยจำนวนตัวเฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ 15.50±4.21 ตัว แต่ไม่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 1

3.5 การศึกษาผลของเบนซีนต่ออัตรารอดตาย ขนาดและความหนาแน่นของเซลล์สร้างน้ำย่อยในตับของหอยหวานระยะเต็มวัย

จากการศึกษาอัตรารอดตายของหอยหวานระยะเต็มวัย เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบว่าไม่มีการตายของหอยหวานในทุกชุดการทดลอง ขณะที่เติมเบนซีนลงบ่อทดลอง หอยหวานที่เกาะขอบถังจะหดแผ่นเท้าเข้าหาตัว และหลุดจากการยึดเกาะผนังอย่างทันที เป็นกลไกการป้องกันตัวเมื่อสัมผัสกับสิ่งแปลกปลอม ทำให้เกิดรีเฟล็กซ์ของกล้ามเนื้อเท้าหรือเกิดความเครียดขึ้น จึงหดกล้ามเนื้อเท้าเข้าไปภายในเปลือก และปิดแผ่นปิดเปลือก [7]

หอยหวานมีพฤติกรรมฝังตัวในทรายมากกว่าเกาะขอบถังและเคลื่อนที่บนทราย ระยะเต็มวัยมีการฝังตัวในทรายเพิ่มขึ้นและลดการเคลื่อนที่ เมื่อความเข้มข้นของเบนซีนเพิ่มขึ้น ซึ่งจะแตกต่างกับ *Littorina littorea* จะมีอัตราการคืบคลานมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสูง (750 ไมโครลิตรต่อลิตร) [8] หรือ *Macoma balthica* มีการฝังทรายลดลงเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรคาร์บอนสูง 70 ไมโครกรัมต่อลิตร [14] ทั้งนี้เพื่อลดโอกาสการสัมผัสกับตะกอนที่ปนเปื้อน ดังนั้นการที่หอยหวานระยะเต็มวัยมีการฝังทรายมากกว่าการเคลื่อนที่ อาจเป็นเพราะเพื่อป้องกันตัวเองจากการสัมผัสกับเบนซีนที่ละลายอยู่ในน้ำ อีกทั้งสารไฮโดรคาร์บอนมีผลลดอัตราการหายใจและทำให้เกิดอาการมึนเมาได้ส่งผลให้หยุดการเคลื่อนที่

พฤติกรรมการกินอาหารของหอยหวานเป็นแบบกลุ่มก้อน จำนวนตัวเฉลี่ย 3-5 ตัวต่ออาหาร 1 ชิ้น ใช้เวลาเฉลี่ย 15-30 นาที อัตราการกินอาหาร พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ระหว่างชุดทดลองทั้ง 6 ชุด โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่มีเบนซีน จะให้อัตราการกินอาหารสูงสุด เท่ากับ 53.33 เปอร์เซ็นต์ และ

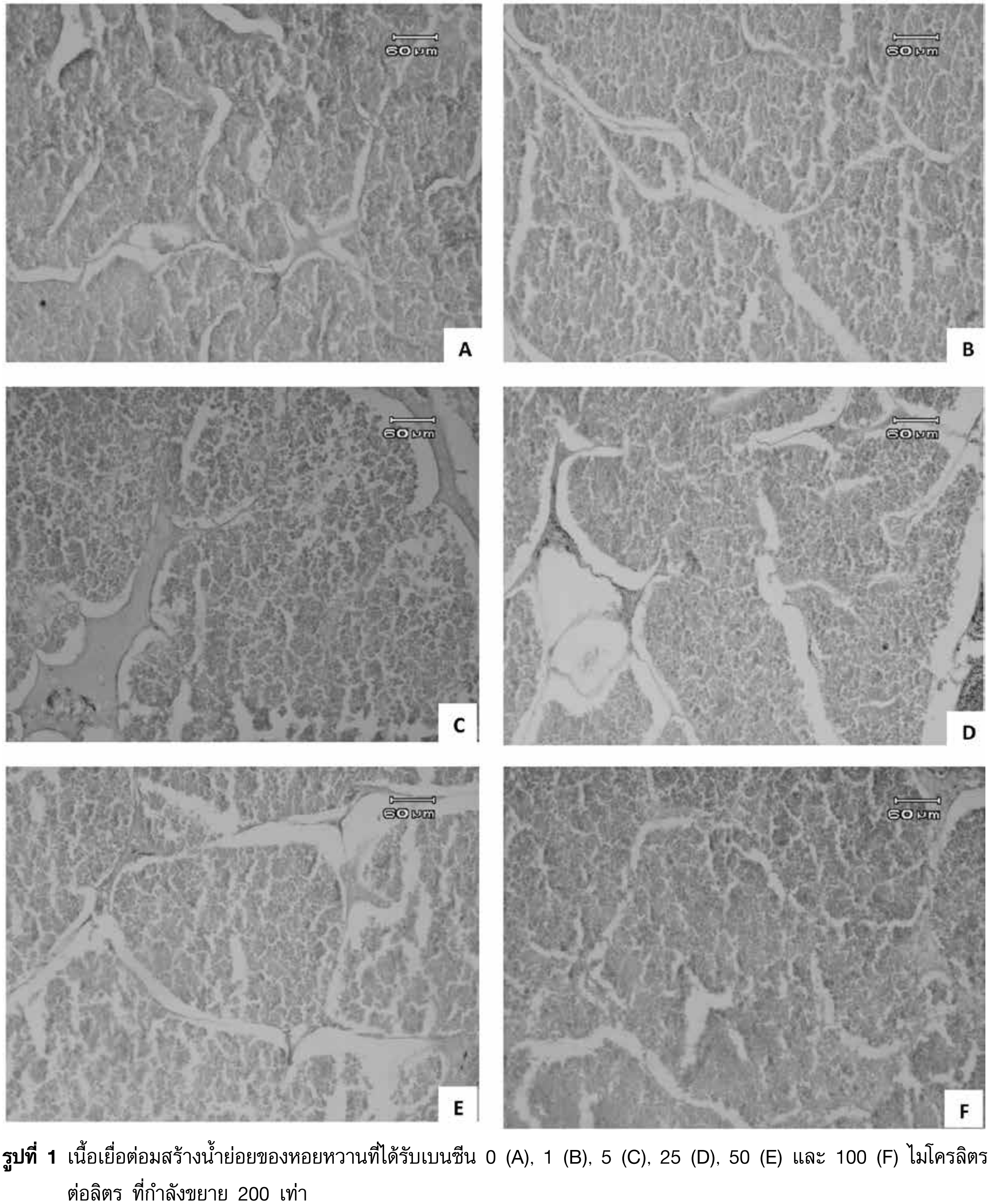
ชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร จะให้อัตราการกินอาหารต่ำสุด เท่ากับ 30.37 เปอร์เซ็นต์ การกินอาหารที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของเบนซีนสูงขึ้น สารไฮโดรคาร์บอนจะรบกวนการทำงานของหน่วยรับสัมผัสทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการค้นหาอาหาร [1] โดยสารไฮโดรคาร์บอนมีกลิ่นสามารถดึงดูดและรบกวนความอยากอาหารได้

ผลการศึกษาขนาดเซลล์สร้างน้ำย่อยในตับ พบว่ามีขนาด 2.5 ถึง 8.75 ไมโครเมตร (ตารางที่ 8, รูปที่ 1) ขนาดเซลล์ที่พบมากที่สุดในทุกชุดการทดลองคือ 5 ไมโครเมตร เมื่อทดลองผ่านไปเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยชุดการทดลอง 6 ซึ่งมีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ให้ค่าขนาดเซลล์เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 5.09 ไมโครเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 3, 4 และ 5 สำหรับชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่มีเบนซีน ให้ค่าขนาดเซลล์เฉลี่ยต่ำสุด เท่ากับ 4.14 ไมโครเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 2 ดังนั้นเบนซีนมีผลต่อการเพิ่มขนาดเซลล์สร้างน้ำย่อย สอดคล้องกับการศึกษาของ Axiak และคณะ [2] พบว่าสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสามารถแพร่และสะสมในต่อมน้ำย่อยของ *Venus verrucosa* ได้อย่างรวดเร็วทำให้เซลล์สร้างน้ำย่อยมีขนาดเพิ่มขึ้นและแวคิวโอลมีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่ทั้งนี้หากได้รับเป็นเวลานาน (100 - 150 วัน) พบว่าเซลล์สร้างน้ำย่อยจะฝ่อและไลโซโซมจะสูญเสียสภาพของเยื่อหุ้ม ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลงได้

ตารางที่ 8 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างน้ำย่อยในเนื้อเยื่อตับ

ชุดการทดลอง	ขนาด (ไมโครเมตร)/จำนวน (เซลล์)								ขนาดเซลล์เฉลี่ย
	2.5	3.125	3.75	5	5.625	6.25	7.5	8.75	
1 (control)	34	1	17	65	1	2	0	0	4.14[b]
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	18	4	18	76	4	0	0	0	4.40[b]
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	16	0	15	77	0	8	4	0	4.68[a]
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	4	5	6	92	0	6	6	1	4.99[a]
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	7	1	10	94	3	0	5	0	4.85[a]
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	8	0	10	83	0	4	14	1	5.09[a]

หมายเหตุ ตัวกลางเลขคณิตที่มีตัวอักษรยกที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)



รูปที่ 1 เนื้อเยื่อต่อมสร้างน้ำย่อยของหอยหวานที่ได้รับเบนซีน 0 (A), 1 (B), 5 (C), 25 (D), 50 (E) และ 100 (F) ไมโครลิตรต่อลิตร ที่กำลังขยาย 200 เท่า

ผลการศึกษาความหนาแน่นของเซลล์สร้างน้ำย่อยในตับ (ตารางที่ 9) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดการทดลองทั้ง 6 ชุด โดยความหนาแน่นอยู่ระหว่าง 19,568±1,565 ถึง 20,876±2,158 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร

ตารางที่ 9 ความหนาแน่นของเซลล์สร้างน้ำย่อย ความหนาแน่น (เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร)

ชุดการทดลอง	ความหนาแน่น (เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร)		
	ความหนาแน่นต่ำสุด	ความหนาแน่นสูงสุด	ความหนาแน่นเฉลี่ย
1 (control)	17,500	24,355	19,868±1,565
2 (1 ไมโครลิตรต่อลิตร)	18,311	23,400	20,018±1,397
3 (5 ไมโครลิตรต่อลิตร)	16,000	25,920	20,240±2,238
4 (25 ไมโครลิตรต่อลิตร)	16,177	25,890	20,876±2,158
5 (50 ไมโครลิตรต่อลิตร)	16,888	25,390	20,236±1,775
6 (100 ไมโครลิตรต่อลิตร)	17,244	25,390	20,201±1,964

หอยหวานระยะเต็มวัยแสดงอาการปกติ คือ เคลื่อนที่ แผ่นเท้าขยายและกินอาหาร ไม่มีพฤติกรรมเครียด เช่น ร่างกายและแผ่นเท้าไม่แผ่ ไม่เคลื่อนที่หรือยึดเกาะไม่ได้ และไม่มีพฤติกรรมอาการผิดปกติรุนแรงโดยร่างกายและแผ่นเท้าถูกเก็บในเปลือก [7]

4. สรุปการศึกษา

เบนซีนมีผลทำให้พัฒนาการของตัวอ่อนในฝักไข่เกิดช้าขึ้น ไข่พัฒนาเข้าสู่ระยะโทรโคฟอร์ใช้เวลา 48 ชั่วโมง อัตรารอดตายของฝักไข่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของเบนซีนสูงขึ้น การเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ยและอัตรารอดตายของหอยหวานระยะเวลลิเจอร์ ระยะลงเกาะและระยะวัยรุ่น มีค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่ไม่มีเบนซีน และมีค่าต่ำสุดในชุดการทดลองที่มีปริมาณเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ในชุดการทดลองที่มีเบนซีน 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อลิตร พบว่าลูกหอยระยะเวลลิเจอร์ไม่มีการขยับซิเลียของอวัยวะกรองอาหารทำให้การเติบโตและอัตรารอดตายต่ำ เบนซีนจะรบกวนการตรวจจับอาหารของเทนทาเคิลทำให้หอยหวานระยะวัยรุ่นและตัวเต็มวัยกินอาหารลดลงส่งผลต่อการเติบโต แม้ว่าเบนซีนไม่ทำให้หอยหวานระยะเต็มวัยตาย แต่พบว่าเบนซีนมีผลต่อการเพิ่มขนาดเซลล์สร้างน้ำย่อย ขนาดเซลล์เฉลี่ยเล็กสุดและใหญ่สุดพบในชุดการทดลองที่ไม่มีเบนซีนและมีเบนซีน 100 ไมโครลิตรต่อลิตร ตามลำดับ ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้ตระหนักว่าการปนเปื้อนเบนซีนในแหล่งน้ำธรรมชาติมีผลต่อการเติบโตและอัตรารอดตายของหอยหวานตั้งแต่ระยะฝักไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย

5. เอกสารอ้างอิง

1. Atema, J., 1976, Sublethal Effect of Petroleum Fractions on the Behaviour of the Lobater, *Homarus americanus*, and the Mud Snail, *Nassarius obsoletus*, in M. Wiley (Ed.), *Estuarine Processes*, Vol. 1, pp. 302-312.

2. Axiak, V., George, J.J. and Moore, M.N., 1988, "Petroleum Hydrocarbons in the Marine Bivalve *Venus verrucosa* : Accumulation and Cellular Responses," *Marine Biology*, 97 (2), pp. 225-230.

3. Bancroft, J.D. and Gamble, M., 2002, Theory and Practice of Histological Technique, 5th ed., Churdchill Livingstone, New York.

4. Bayne, B.L., Widdows, J., Moore, M.N., Salkeld, P., Worrall, C.M., Donkin, P., Dunnet, G.M., Crisp, D.J. and Gray, J.S., 1982, "Some Ecological Consequences of the Physiological and Biochemical Effects of Petroleum Compounds on Marine Molluscs," *Philosophical Transactions of the Royal*

Society of London, series B, 297, pp. 219-239.

5. Chaitanawisuti, N. and Kritsanapuntu, 2002, Manual of Aquaculture of Spotted Babylon, Bangkok, pp. 1-114. (In Thai)

6. Chaitanawisuti, N. and Kritsanapuntu, 2005, "Research and Development on Production and Economic Outputs for Growing-out of Juvenile Spotted Babylon, *Babylonia areolata* Link 1807, to Marketable Size in Ponds and Muddy Flat Using Various Types of Culture Techniques," *Proceedings of National Research Council of Thailand*, Phetburi, pp. 1-78. (In Thai)

7. Cheung, S.G. and Wong, L.S., 1999, "Effect of Copper on Activity and Feeding in the Subtidal Prosobranch *Babylonia lutosa* (Lamarck) (Gastropoda: Buccinidae)," *Marine Pollution Bulletin*, 39 (112), pp. 106-111.

8. Hargrave, B.T. and Newcombe, C.P., 1973, "Crawling and Respiration as Indices of Sublethal Effects of Oil and a Dispersant on an Intertidal Snail, *Littorina littorea*," *Journal of the Fisheries Resource Board of Canada*, 30, pp. 1789-1792.

9. Jiang, Z., Huang, Y., Xu, X., Liao, Y., Shou, L., Liu, J., Chen, Q. and Zeng, J., 2010, "Advance in the Toxic Effects of Petroleum Water Accommodated Fraction on Marine Plankton," *Acta Ecologica Sinica*, 30, pp. 8-15.

10. Jianyong, L. and Jianhui, Z., 2005, Effects of Temperature and Salinity on Embryos Development of Babylonia areolate," *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 25 (1), pp. 1-4.

11. Jorge, R., Lemos, D. and Moreira, G.S., 2007, "Effect of Zinc and Benzene on Respiration and Excretion of Mussel Larvae (Perna perna) (Linnaeus, 1758) (Mollusca; Bivalvia)," *Brazilian Journal of Biology*, 67 (1), pp. 111-115.

12. Keck, R.T., Heess, R.C., Wehmiller, J., and Maurer, D., 1978, "Sublethal Effects of the Water Soluble Fraction of Nigerian Crude Oil on the Juvenile Hard Clams, Mercenaria mercenaria (Line)," *Environmental Pollution*, 15, pp. 109-119.

13. Khaodon, K., Tunkijianukij, S. and Raksasak, W., 2009, "Contamination of Total Petroleum Hydrocarbon in Seawater in the Upper Gulf of Thailand," *Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference : Natural Resources and Environment*, Bangkok, 361 p. (In Thai)

14. Lindén, O., 1977, "Sublethal Effects of Oil on Mollusc Species from the Baltic Sea," *Water Air and Soil Pollution*, 8, pp. 305-313.

15. Piyapattanakorn, S. and Chaitanawisuti, N., 2008, "Genetic Diversity and Population Structure of Spotted Babylon (Babylonia areolata) in Thai Sea," *Proceedings of National Research Council of Thailand*, Suratthani, pp. 1- 27.

16. Supanopas, P., 2003, Acute and Subacute Toxicity of Lead in the Spotted Babylon, *Babylonia areolate* (Neogastropoda : Buccinidae), Master of Science Thesis (Environmental Biology), Mahidol University, pp. 1-136, (In Thai)

17. Tanhan, P., 2000, Acute and Subacute Toxicity of Cadmium in the Spotted Babylon *Babylonia areolata* (Neogastropoda : Buccinidae), Master of Science Thesis (Environmental Biology), Mahidol University, pp. 1-136. (In Thai)

18. Thu, N.T.X., Phuc, H.N. and Tran, T.N., 2001, Salinity Tolerance of Larvae and Adults of the Gastropod *Babylonia areolate*, *Phuket Marine Biological Center Special Publication*, 25 (1), pp. 125-128.

19. Wattayakorn, K., 1987, "Petroleum Hydrocarbon in Seawater and Sediment in Gulf of Thailand," *Proceedings of the 3rd Marine Science Conferences*, Bangkok, pp. 1-12. (In Thai)

20. Wongwiwatanakul, C., Timdee, W. and Phanna, S., 2012, Biology and Aquaculture of Spotted Babylon, *Proceedings of National Institute of Coastal Aquaculture*, pp. 1- 6. (In Thai)