รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การตอบสนองทางพฤติกรรมและความทนทานต่อโลหะหนักของหอยโข่ง (*Pila* spp.) ที่เป็นชนิดพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ที่เป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นเพื่อใช้เป็นแนวทางการควบคุมสัตว์น้ำต่างถิ่นที่รุกรานในประเทศไทย (Behavioral responses and heavy metal tolerance of *Pila* spp. (native species) and *Pomacea canaliculata* (invasive alien species): approaches for controlling invasive aquatic animals in Thailand)

นางสาวจันทิมา ปิยะพงษ์

นางศศิธร มั่นเจริญ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2559A10802013

สัญญาเลขที่ 62/2559

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การตอบสนองทางพฤติกรรมและความทนทานต่อโลหะหนักของหอยโข่ง (*Pila* spp.) ที่เป็นชนิดพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ที่เป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่น เพื่อใช้เป็นแนวทางการควบคุมสัตว์น้ำต่างถิ่นที่รุกรานในประเทศไทย (Behavioral responses and heavy metal tolerance of *Pila* spp. (native species) and *Pomacea canaliculata* (invasive alien species): approaches for controlling invasive aquatic animals in Thailand)

นางสาวจันทิมา ปิยะพงษ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

นางศศิธร มั่นเจริญ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

ความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นรุกรานประสบความสำเร็จในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ ดังนั้นผู้วิจัยได้ศึกษาความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมโดยศึกษาจากพฤติกรรมการกินระหว่าง หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila pesmei*) และหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) โดยคาดการณ์ว่าหอยเชอรี่ที่เป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นรุกรานจะทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษได้มากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ในที่นี้สิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษคือตะกั่ว (Pb^{2+}) ซึ่งจัดว่าเป็นโลหะหนักชนิดหนึ่ง อย่างไรก็ตามพบว่าหอยเชอรี่ที่เป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นรุกรานไม่ได้มีความทนทานต่อตะกั่ว (Pb^{2+}) ได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ผลการศึกษานี้ถูกอภิปรายในแง่ของความเข้มข้นของสารละลาย Pb^{2+} และการศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับผลของโลหะหนักต่อทั้งพฤติกรรมการกินและมิญชวิทยาของระบบทางเดินอาหาร

Abstract

Environmental tolerance is one factor which may contribute to the success of the non-native invasive species. Here, we investigated the environmental tolerance (by studying feeding behaviour) between invasive apple snails (*Pomacea canaliculata*) and native apple snails (*Pila pesmei*). It was predicted that the invasive apple snails would be more tolerant to toxic environment (heavy metals: Pb^{2+}) than the native apple snails. However, it was found that the invasive apple snails were not more tolerant to Pb^{2+} than the native apple snails. The results were discussed in terms of Pb^{2+} solution concentration and future studies about effects of heavy metals on both feeding behavior and histology of digestive system.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 62/2559

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บุคลากร เจ้าหน้าที่ และนิสิต ภาควิชาชีววิทยาและภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยเฉพาะ นางสาวปิยะรักษ์ ประดับเพชรรัตน์ นางสาวอารีรัตน์ บุญคน นางสาวพิมพิศา ศิลปสุวรรณ นายสุเมต แสนสร้อย นางสาวจิราพัชร แบนมาก นางสาวกรองทอง ตั้งสิทธิ และนางสาววิกานดา สุวนิชย์ ที่มีส่วนร่วมในการเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล สนับสนุนอุปกรณ์ สถานที่ และจัดพิมพ์รายงาน

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้มีพระคุณที่ไม่ได้เอ่ยนามที่มีส่วนร่วมให้ความช่วยเหลือให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญเรื่อง

เนื้อหา **หน้า**

บทคัดย่อ.....ข
Abstract.....ค
กิตติกรรมประกาศ.....ง
สารบัญเรื่อง.....จ
สารบัญตาราง.....ฉ
สารบัญภาพ.....ช
บทนำ.....1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....2
ขอบเขตของการวิจัย.....2
แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย.....3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....4
วิธีการดำเนินการวิจัย.....5
ผลการศึกษา.....7
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา.....14
บรรณานุกรม.....16
ภาคผนวก.....19
ภาคผนวก ก.....20
ภาคผนวก ข.....22
ภาคผนวก ค.....26

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 ผลการทดลอง (*แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างหอย 5 ตัว).....8
ตารางที่ 2 สภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนบิสมัททรงกลม และทรงแท่ง.....9
ตารางที่ 3 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น.....11
ตารางที่ 4 ลักษณะเด่นในการวิเคราะห์สังกะสี แคดเมียม และตะกั่วด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น.....12
ตารางที่ ข-1 การทดลองซ้ำที่ 1.....23
ตารางที่ ข-2 การทดลองซ้ำที่ 2.....24
ตารางที่ ข-3 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วจากเนื้อหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง.....25

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่ 1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด/วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (SEM/EDX) ของอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลม.....9

ภาพที่ 2 (ก)ภาพถ่ายการเก็บอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลมที่เก็บภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจนในขวดแก้วขนาดเล็ก (vial) ก่อนการนำไปใช้ และ (ข) ขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทที่พัฒนาขึ้น.....10

ภาพที่ 3 ตัวอย่างสแควร์เวฟโวลแทมโมแกรมของการวิเคราะห์สังกะสี (Zn^{2+}) แคดเมียม (Cd^{2+}) และตะกั่ว (Pb^{2+}) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลมที่พัฒนาขึ้น.....10

ภาพที่ 4 (ก) โวลแทมโมแกรมที่ได้จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสังกะสี, แคดเมียม และตะกั่ว, (ข) กราฟมาตรฐานของสังกะสี, (ค) กราฟมาตรฐานของแคดเมียม และ (ง) กราฟมาตรฐานของตะกั่วสภาวะที่ทำการทดลอง: ศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติด -1.4 โวลต์, ระยะเวลาในการเกาะติด 240 วินาที,แอมพลิจูด 25 มิลลิโวลต์ และสเตปโพเทนเชียล 4 มิลลิโวลต์ที่ความเข้มข้นของสังกะสี, แคดเมียม และตะกั่วที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์แอซิเตต พีเอช 4.5.....13

ภาพที่ ก-1 บ่อซีเมนต์เลี้ยงหอยเชอรี่เพื่อปรับสภาพก่อนทำการทดลอง.....21

ภาพที่ ก-2 ตู้ทดลองในการศึกษาพฤติกรรมการกินในความเข้มข้นกึ่งเฉียบพลันของสารละลายตะกั่ว.....21

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยมีสิ่งมีชีวิตชนิดพันธุ์ต่างถิ่น (Alien species) อยู่มากกว่า 3,500 ชนิด และยังมีการนำเข้าชนิดพันธุ์ต่างถิ่นใหม่ๆ อยู่ตลอดเวลาทั้งโดยตั้งใจและไม่ได้ตั้งใจ (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2552) ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นบางชนิดมีประโยชน์ต่อประเทศในด้านเศรษฐกิจ การเกษตร และปศุสัตว์ อย่างไรก็ตามชนิดพันธุ์ต่างถิ่นเหล่านี้บางชนิดถูกนำเข้ามาและสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในระบบนิเวศใหม่และสามารถอยู่รอดและแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วกลายเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกราน (Invasive alien species) โดยทำให้เกิดการครอบครองพื้นที่โดยชนิดพันธุ์เดียว และอาจทำให้ชนิดพันธุ์พื้นเมือง (Native species) สูญพันธุ์ และสร้างผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพไปจนถึงการสาธารณสุข สิ่งแวดล้อม เศรษฐกิจ และสังคมได้ในที่สุด (ณภัทร เฉลิมชุติปภา, 2553)

ปัญหาชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานจัดเป็นปัญหาสำคัญอันดับต้นๆ ที่นำไปสู่การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2552) สหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติและทรัพยากรธรรมชาติ (The International Union for conservation of Nature: IUCN) ได้จัดทำบัญชีรายการชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานอย่างร้ายแรงของโลก 100 ชนิด ซึ่งเป็นชนิดที่มีผลกระทบอย่างร้ายแรงต่อความหลากหลายทางชีวภาพ การเกษตร และมนุษย์ (Lowe *et al*., 2000) เช่น หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) เป็นชนิดพันธุ์หนึ่งซึ่งถูกจัดเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานแล้วในประเทศไทย (ชวลิต วิทยานนท์, 2549; สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2552) เนื่องจากหอยเชอรี่มีอัตราการขยายพันธุ์ที่รวดเร็ว การเจริญเติบโตเร็ว สามารถกินได้ตลอดเวลา ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมหลายประเภท และมีความสามารถในการแข่งขันสูง (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2553) จึงทำให้หอยเชอรี่เพิ่มปริมาณมากและแพร่กระจายไปสู่แหล่งน้ำและนาข้าวในท้องถิ่น (อดิศักดิ์ จุมวงษ์, 2543) กลายเป็นศัตรูพืชที่สำคัญ ส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าว พืชน้ำ และชนิดพันธุ์อื่นๆ รวมถึงยังส่งผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพ โดยเฉพาะหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila* spp.) (Naylor, 1996; Cowie, 2002) ซึ่งผลกระทบของชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานที่มีต่อชนิดพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางพฤติกรรม (Phillips & Suarez, 2012)

หอยเชอรี่อาจแสดงพฤติกรรมต่างๆ เช่น พฤติกรรมการกินอาหาร พฤติกรรมการหนีผู้ล่า พฤติกรรมความกล้าเสี่ยงได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง รวมถึงหอยเชอรี่อาจมีแนวโน้มที่มีความทนทานต่อสารมลพิษ เช่น โลหะหนักต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง จึงทำให้หอยเชอรี่ประสบความสำเร็จในการรุกรานชนิดพันธุ์พื้นเมือง (Chapple *et al*., 2012) ส่งผลให้หอยโข่ง

พันธุ์พื้นเมืองมีจำนวนประชากรลดลง นอกจากนี้ความเป็นพิษของโลหะหนักซึ่งจัดเป็นสารมลพิษชนิดหนึ่งในสิ่งแวดล้อม (Liang *et al*., 2004; Wang *et al*., 2005) อาจส่งผลต่อการตอบสนองทางพฤติกรรมต่างๆ อีกด้วย (Atchison *et al*., 1987; Weis *et al*., 2001; Clotfelter *et al*., 2004; Zala & Penn, 2004) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาปฏิสัมพันธ์ทางพฤติกรรมระหว่างชนิดพันธุ์พื้นเมืองกับชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกราน โดยใช้หอยโข่งที่เป็นชนิดพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ที่เป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานเป็นสัตว์ต้นแบบในการศึกษา รวมถึงการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในหอยที่ศึกษาและแหล่งน้ำบริเวณที่เก็บตัวอย่างเพื่อประเมินความทนทานต่อโลหะหนัก โดยนำผลการศึกษาที่ได้ไปประเมินร่วมกับการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอยดังกล่าว ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพได้ (Lefcort *et al*., 2000) นอกจากนี้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาสถานภาพการกระจายของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ในประเทศไทย เนื่องจากข้อมูลปัจจุบันในเรื่องสถานภาพการแพร่กระจายและขนาดประชากรของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ในประเทศไทยนั้นยังไม่ชัดเจน (IUCN, 2013) ซึ่งข้อมูล ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมปริมาณหรือกำจัดชนิดพันธุ์ต่างถิ่น ที่รุกรานในแหล่งน้ำธรรมชาติไม่ให้ส่งผลกระทบต่อชนิดพันธุ์พื้นเมืองและระบบนิเวศของแหล่งน้ำ (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, 2553) รวมทั้งการสร้างองค์ความรู้พื้นฐานเพื่อใช้ประโยชน์ในการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อประเมินสถานภาพการกระจายของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila* spp.) และหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ในประเทศไทย

2. เพื่อศึกษาปฏิสัมพันธ์ทางพฤติกรรมระหว่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองกับหอยเชอรี่

3. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก เช่น แคดเมียม ตะกั่ว โคบอลต์ และนิกเกิล เป็นต้น ในหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ รวมทั้งแหล่งน้ำที่หอยเหล่านี้อาศัย โดยใช้เทคนิคที่อาศัยหลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

4. เพื่อศึกษาการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีขอบเขตในการศึกษา 2 ประเด็น คือ

1. ขอบเขตเชิงเนื้อหา แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1.1 การศึกษาภาคสนาม ซึ่งจะทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐานพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่เพื่อประเมินสถานภาพการกระจายของหอยดังกล่าวในประเทศไทยเพื่อเปรียบเทียบกับสถานภาพอ้างอิง (baseline)

1.2 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ เป็นการศึกษาปฏิสัมพันธ์ทางพฤติกรรมระหว่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ ได้แก่ พฤติกรรมการกิน พฤติกรรมการหนีผู้ล่า พฤติกรรมความกล้าเสี่ยง การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในหอยที่ศึกษาและแหล่งน้ำบริเวณที่หอยเหล่านี้อาศัยอยู่ รวมถึงการศึกษาการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอย

2. ขอบเขตเชิงพื้นที่ พื้นที่ที่ใช้ในการศึกษาครอบคลุมทุกภาคของประเทศไทย ประกอบด้วยพื้นที่ดังต่อไปนี้

2.1 บึงบัวใน ตำบลหาดนางแก้ว อำเภอกบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี

2.2 หนองน้ำใน ตำบลนาใหญ่ อำเภอสุวรรณภูมิ จังหวัดร้อยเอ็ด

2.3 ร่องน้ำในสวนปาล์ม ตำบลนาขา อำเภอหลังสวน จังหวัดชุมพร

2.4 คลองชลประทานใน ตำบลนาใหญ่ อำเภอสุวรรณภูมิ จังหวัดร้อยเอ็ด

2.5 บึงสีไฟ จังหวัดพิจิตร

2.6 บึงบอระเพ็ด จังหวัดนครสวรรค์

2.7 หนองหานกุมภวาปี จังหวัดอุดรธานี

2.8 พื้นที่ชุ่มน้ำในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าอ่างเก็บน้ำสนามบิน จังหวัดบุรีรัมย์

2.9 พื้นที่ชุ่มน้ำในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี

2.10 บริเวณปากแม่น้ำเวฬุ จังหวัดจันทบุรี

2.11 พื้นที่ชุ่มน้ำในอุทยานแห่งชาติเขาสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

2.12 พื้นที่ชุ่มน้ำในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าบึงฉวาก จังหวัดสุพรรณบุรี

2.13 พื้นที่ชุ่มน้ำในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าวัดไผ่ล้อมและวัดอัมพุวาราม จังหวัดปทุมธานี

2.14 ทุ่งโพธิ์ทองหรือทุ่งคำหยาด จังหวัดอ่างทอง

2.15 พื้นที่ชุ่มน้ำในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง

2.16 บริเวณอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช

แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

หอยเชอรี่อาจแสดงพฤติกรรมต่างๆ เช่น พฤติกรรมการกิน พฤติกรรมการหนีผู้ล่า และพฤติกรรมความกล้าเสี่ยง รวมถึงหอยเชอรี่อาจมีความทนทานต่อสารมลพิษในสิ่งแวดล้อม จึงทำให้ประสบความสำเร็จในการรุกรานชนิดพันธุ์พื้นเมือง ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีสมมติฐานในการศึกษาดังนี้

1. พฤติกรรมการกิน หอยเชอรี่กินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

2. พฤติกรรมการหนีผู้ล่า หอยเชอรี่มีความสามารถในการหนีผู้ล่าได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

3. พฤติกรรมความกล้าเสี่ยง หอยเชอรี่มีความกล้าเสี่ยงมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

4. ความทนทานต่อสารมลพิษในสิ่งแวดล้อม หอยเชอรี่ทนทานต่อสารมลพิษ เช่น โลหะหนักต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

โดยการวิจัยนี้มีกรอบแนวความคิด คือ การศึกษาพฤติกรรมของหอยเชอรี่กับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง โดยเปรียบเทียบพฤติกรรมของหอยทั้งสองชนิดในเรื่องการกินอาหาร การหนีผู้ล่า และความกล้าเสี่ยง นอกจากนี้ยังศึกษาเปรียบเทียบปริมาณโลหะหนักของหอยที่ศึกษาควบคู่กับการวิเคราะห์ความสอดคล้องของปริมาณโลหะหนักในบริเวณแหล่งน้ำบริเวณที่หอยเหล่านี้อาศัยอยู่ เพื่อเป็นแนวทางในการประเมินความทนทานต่อสารมลพิษ (โลหะหนัก) ของหอยชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกราน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสถานภาพการกระจายของหอยโข่ง (*Pila* spp.) ซึ่งเป็นชนิดพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ซึ่งเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นจุดเปรียบเทียบในการประเมินสถานภาพอ้างอิง (baseline) ในอนาคต

2. ทราบปฏิสัมพันธ์ทางพฤติกรรมระหว่างหอยโข่งและหอยเชอรี่

3. ทราบความสัมพันธ์ของปริมาณโลหะหนักในเนื้อเยื่อระหว่างหอยโข่งและหอยเชอรี่

4. ทราบเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยเทคนิคเคมีไฟฟ้าที่อาจจะพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนาม (Portable kit) ได้

5. ทราบการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอยโข่งและหอยเชอรี่

6. ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ ซึ่งอยู่ในฐาน ISI 1 เรื่อง และวารสารในฐาน TCI 3 เรื่อง รวมทั้งได้ผลิตบัณฑิตระดับปริญญาเอก 1 คน

หมายเหตุ เนื่องจากงานวิจัยนี้มีระยะเวลาในการศึกษาเป็นเวลา 2 ปี โดยในปีงบประมาณที่ 1 (2558) ได้ทำการศึกษาแล้วในเรื่อง เกี่ยวกับการประเมินสถานภาพการกระจายของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila* spp.) และหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ในประเทศไทยและปฏิสัมพันธ์ทางพฤติกรรมระหว่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองกับหอยเชอรี่และได้รายงานผลการศึกษาไปแล้ว ดังนั้นในปีงบประมาณที่ 2 (2559) จึงเหลือเพียงการศึกษาการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่และการการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยเทคนิคเคมีไฟฟ้าในห้องปฏิบัติการที่ปรากฏในเนื้อหาของผลการศึกษาในรายงานฉบับนี้

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลองและสถานที่ทำการทดลอง

1.1 นำหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ที่มีขนาดความสูงระหว่าง 30-60 มิลลิเมตร มาจากพื้นที่ชุ่มน้ำ ในอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila pesmei*) ที่มีขนาดความสูงระหว่าง 30-60 มิลลิเมตร มาจากพื้นที่ชุ่มน้ำ ในอำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ มาเลี้ยงปรับสภาพในบ่อซีเมนต์ ขนาด 70x70x40 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในน้ำที่ปราศจากคลอรีนเป็น เวลาอย่างน้อย 7 วัน ก่อนทำการทดลองทางพฤติกรรมในเดือนเมษายน พ. ศ. 2559 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิของน้ำ และให้อาหารด้วยผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) ทุกวัน

1.2 สถานที่ทำการทดลองคือ ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาและภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี

2. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2.1 การเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

- การกำหนดค่าความเข้มข้นของเลดไนเตรตเพื่อใช้เป็นสารละลายที่มีตะกั่วละลายอยู่เป็นต้นแบบในการศึกษาการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักเพื่อใช้ในการศึกษาพฤติกรรมการกินของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง โดยค่าความเข้มข้นของเลดไนเตรตในการศึกษาครั้งนี้กำหนดจากการทบทวนเอกสารงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ทำการศึกษาค่าความเข้มข้นของตะกั่วที่ทำให้หอยตายจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) (Otitoloju & Don- Pedro, 2004; Shuhaimi-Othman *et al*., 2012) และจากการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในภาคสนามเพื่อทำการกำหนดค่าความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันของสารละลายตะกั่ว (Pb^{2+})

- เตรียมสารละลายตะกั่วจากเลดไนเตรต ($Pb(NO_3)_2$) ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และเจือจางสารละลายเป็น 4 ความเข้มข้นของ (Pb^{2+}) คือ (0.000, 0.006, 0.031 และ 0.062 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยใส่สารละลายตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 3,000 มิลลิลิตร ในตู้ทดลองขนาด 30×30×30 เซนติเมตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ เตรียมหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง จำนวนชนิดละ 40 ตัว ความสูงของเปลือกอยู่ระหว่าง 30-60 มิลลิเมตร ใส่หอยในตู้ทดลองชนิดละ 5 ตัวต่อความเข้มข้น งดให้อาหารหอยก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเริ่มการทดลองพฤติกรรมการกินอาหารของหอย โดยใส่ผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) (Bae & Park, 2015) ขนาด 5×5 เซนติเมตร จำนวน 1 ใบ ในแต่ละตู้ทดลอง สังเกตพฤติกรรมการกินทุก ๆ 24 ชั่วโมง จนครบ 96 ชั่วโมง ซึ่งพฤติกรรมการกินอาหารทำได้โดยการบันทึกผลการคำนวณปริมาณอาหารที่เหลือหลังจากทำการให้อาหารครบ 24 ชั่วโมง เนื่องจากหอยเชอรี่กินอาหารหมดภายในเวลาอันรวดเร็ว ดังนั้นผลการศึกษาจะแสดงเฉพาะการกินอาหารหมดหรือไม่หมดเท่านั้น นอกจากนั้น

บันทึกพฤติกรรมการเปิด/ปิด operculum และตำแหน่งที่อยู่ของหอยบริเวณตู้ทดลอง (ในน้ำ/เหนือน้ำ)

- วิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างน้ำ หอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองหลังจากสิ้นสุดการทดลอง โดยนำตัวอย่างน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ใส่ขวดเก็บตัวอย่างน้ำจากแต่ละความเข้มข้นเพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างน้ำพร้อมกับตัวอย่างหอย ในส่วนของตัวอย่างหอยทั้งสองชนิดจำนวน 1 ตัวอย่างจากแต่ละความเข้มข้นในแต่ละซ้ำ นำเนื้อหอยออกจากเปลือก ล้างด้วยน้ำกลั่น หลังจากทำการทดลองผลของสารละลายตะกั่วต่อพฤติกรรมแล้ว นำหอยมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำหอยไปกะเทาะเปลือกด้วยปากกาจับชิ้นงาน แล้วนำเนื้อหอยเชอรี่ใส่ถุงซิปล็อกจำนวน 1 ถุงต่อ1 ตัว แล้วนำไปเก็บรักษาสภาพที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อรอส่งวิเคราะห์ปริมาณการสะสมตะกั่ว (Lead) ในเนื้อหอยเชอรี่ทั้งตัว ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ชลบุรีที่ 6 จังหวัดชลบุรี (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข) วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักด้วยเทคนิค ICP (Inductively coupled plasma)

2.2 การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยเทคนิคเคมีไฟฟ้าในห้องปฏิบัติการ (รายละเอียดตามผลการศึกษา) เนื่องจากการพัฒนาเทคนิคยังอยู่ในขั้นทดลองเพื่อปรับความเหมาะสมยังไม่สามารถใช้งานได้จริง ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วถูกส่งไปวิเคราะห์ตามข้อ 2.1

ผลการศึกษา

1. การเปรียบเทียบพฤติกรรมระหว่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่

1.1 จากการศึกษาพฤติกรรมการกินเปรียบเทียบระหว่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ พบว่าภายใน 1 ชั่วโมง หอยเชอรี่ในทุกความเข้มข้นของ Pb^{2+} กินอาหารหมดอย่างสมบูรณ์ ในขณะที่หอยโข่งกินอาหารไม่หมดหรือไม่กินอาหาร ดังตารางที่ 1

1.2 ในส่วนการตอบสนองของ operculum ของหอยทั้ง 2 ชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยเมื่อทำการสังเกตพฤติกรรมและบันทึกผล หอยทุกตัวที่ทำการทดลองเปิด operculum ดังตารางที่ 1

1.3 สำหรับตำแหน่งที่อยู่ของหอยเพื่อแสดงว่าหอยมีการหนีออกจากพื้นที่ที่มีสารละลายของ Pb^{2+} แตกต่างกันหรือไม่ พบว่าหอยโข่งบางตัวในกลุ่มทดลองที่มีสารละลายของ Pb^{2+} แสดงพฤติกรรมการหนีออกจากพื้นที่ที่มีสารละลายของ Pb^{2+} ถึงแม้ว่าจะเป็นจำนวนน้อยที่แสดงพฤติกรรมนี้ในหอยโข่งแต่ในหอยเชอรี่ทุกกลุ่มการทดลองพบว่าอยู่ในตำแหน่งที่ใต้น้ำทั้งหมด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดลอง (*แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างหอย 5 ตัว)

ชนิดของหอย	ซ้ำการทดลอง	ความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/L)	การตอบสนองของ operculum*		การกินอาหาร		ตำแหน่งที่อยู่ของหอย	
			เปิด	ปิด	กินหมด	กินเหลือ	เหนือน้ำ	ในน้ำ
หอยโข่ง	1	0.000	5	0		/	0	5
หอยโข่ง	1	0.006	5	0		/	0	5
หอยโข่ง	1	0.031	5	0		/	1	4
หอยโข่ง	1	0.062	5	0		/	0	5
หอยเชอรี่	1	0.000	5	0	/		0	5
หอยเชอรี่	1	0.006	5	0	/		0	5
หอยเชอรี่	1	0.031	5	0	/		0	5
หอยเชอรี่	1	0.062	5	0	/		0	5
หอยโข่ง	2	0.000	5	0		/	0	5
หอยโข่ง	2	0.006	5	0		/	1	4
หอยโข่ง	2	0.031	5	0		/	0	5
หอยโข่ง	2	0.062	5	0		/	1	4
หอยเชอรี่	2	0.000	5	0	/		0	5
หอยเชอรี่	2	0.006	5	0	/		0	5
หอยเชอรี่	2	0.031	5	0	/		0	5
หอยเชอรี่	2	0.062	5	0	/		0	5

2. การพัฒนาขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทสำหรับการวิเคราะห์โลหะหนัก

2.1 การพัฒนาขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทสำหรับการวิเคราะห์โลหะหนัก

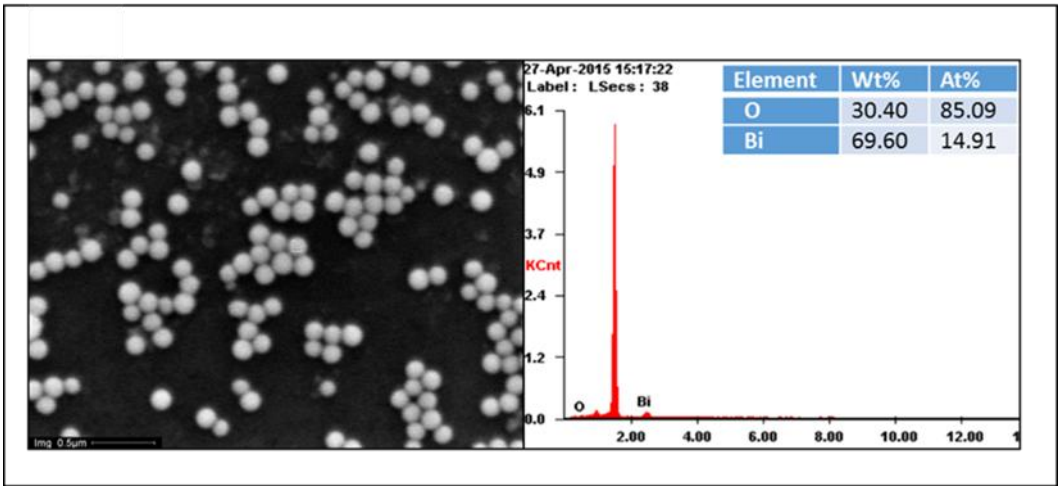
การเตรียมขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลม

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลม

การทดลองนี้ได้นำสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลมจากรายงานวิจัยของจุฑามาศ บุญตั้งแต่ง (2560) โดยสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์แสดงดังตารางที่ 2 และเมื่อนำอนุภาคนาโนบิสมัทที่ศึกษาไปวิเคราะห์ลักษณะรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด/วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (SEM/EDX) และจากผลการศึกษาพบว่าอนุภาคนาโนบิสมัทที่ได้มีลักษณะเป็นทรงกลม และมีขนาดอยู่ที่ 179±19 นาโนเมตร และพบว่าอนุภาคที่สังเคราะห์นี้มีบิสมัทเป็นองค์ประกอบหลักคือร้อยละ 70โดยน้ำหนัก ดังภาพที่ 1 ดังนั้นสภาวะที่เลือกนี้สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนบิสมัท

ตารางที่ 2 สภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนบิสมัททรงกลม และทรงแท่ง

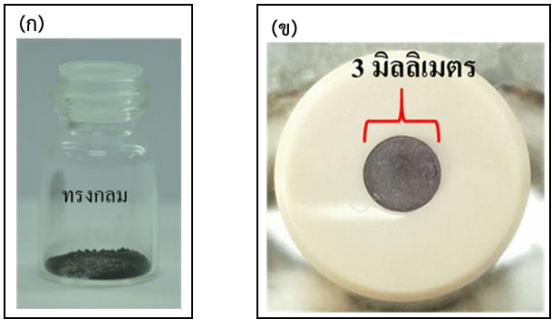
ปัจจัยที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
● อัตราส่วนระหว่าง Bi : PVP	1:5
● ความเข้มข้นของบิสมัทคลอไรด์ ($BiCl_3$)(โมลาร์)	0.005
● ปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (มิลลิกรัม)	32
● อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (องศาเซลเซียสต่อนาที)	6



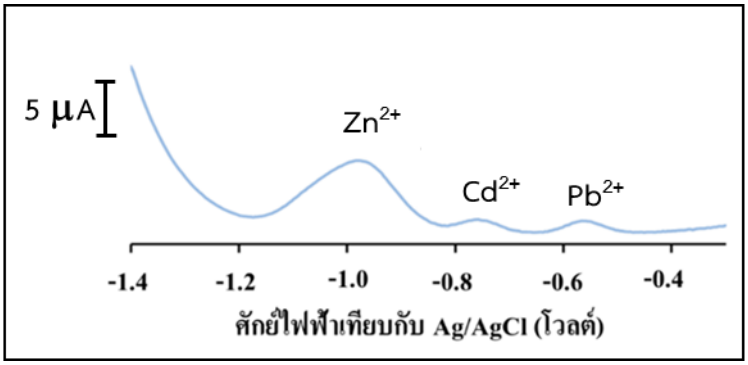
ภาพที่ 1 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด/วิเคราะห์ธาตุเชิงพลังงาน (SEM/EDX) ของอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลม

การสร้างขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลม

การสร้างขั้วไฟฟ้าทำการทดลองโดยนำปิเปตแนฟิออน (nafion) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในอนุภาคนาโนบิสมัทที่ในเอทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตร (เข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร) จากนั้นนำมาหยดลงบนขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอน (glassy carbon) ทิ้งให้แห้ง ดังภาพที่ 2 แล้วนำขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทที่เตรียมขึ้นนี้ไปวิเคราะห์สังกะสี (Zn^{2+}) แคดเมียม (Cd^{2+}) และตะกั่ว (Pb^{2+}) โดยใช้เทคนิคสแควร์เวฟโวลแทม-เมทรี (SWV) แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 2 (ก)ภาพถ่ายการเก็บอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลมที่เก็บภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจนในขวดแก้วขนาดเล็ก (vial) ก่อนการนำไปใช้ และ (ข) ขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทที่พัฒนาขึ้น



ภาพที่ 3 ตัวอย่างสแควร์เวฟโวลแทมโมแกรมของการวิเคราะห์สังกะสี (Zn^{2+}) แคดเมียม (Cd^{2+}) และตะกั่ว (Pb^{2+}) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลมที่พัฒนาขึ้น

สภาวะที่ทำการทดลอง : โดยสภาวะของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสแควร์เวฟโวลแทมเมทรีคือศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติด(Deposition potential) -1.4 โวลต์, ระยะเวลาในการเกาะติด (Deposition time) 180 วินาที, ความถี่ (Frequency) 25 เฮิรตซ์, แอมพลิจูด (Amplitude) 25 มิลลิโวลต์ และสเตปโพเทนเชียล (Step potential) 4 มิลลิโวลต์ ความเข้มข้นของสังกะสี, แคดเมียม และตะกั่ว 50 ไมโครกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์แอซิเตตพีเอช4.5

2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยแอโนดิกสตริปปิงสแควร์เวฟโวลแทมเมทรี

การทดลองนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สังกะสี แคดเมียม และตะกั่วด้วยขั้วไฟฟ้าอนุภาคนาโนบิสมัทชนิดทรงกลม และตรวจวัดด้วยเทคนิคแอโนดิกสตริปปิงสแควร์เวฟโวลแทมเมทรี โดยสภาวะที่ทำการศึกษา ได้แก่ศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติด (deposition potential) ระยะเวลาในการเกาะติด (deposition time), ความถี่ (frequency), แอมพลิจูด (amplitude) และสเตปโพเทนเชียล (step potential) ซึ่งจากการศึกษาได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น

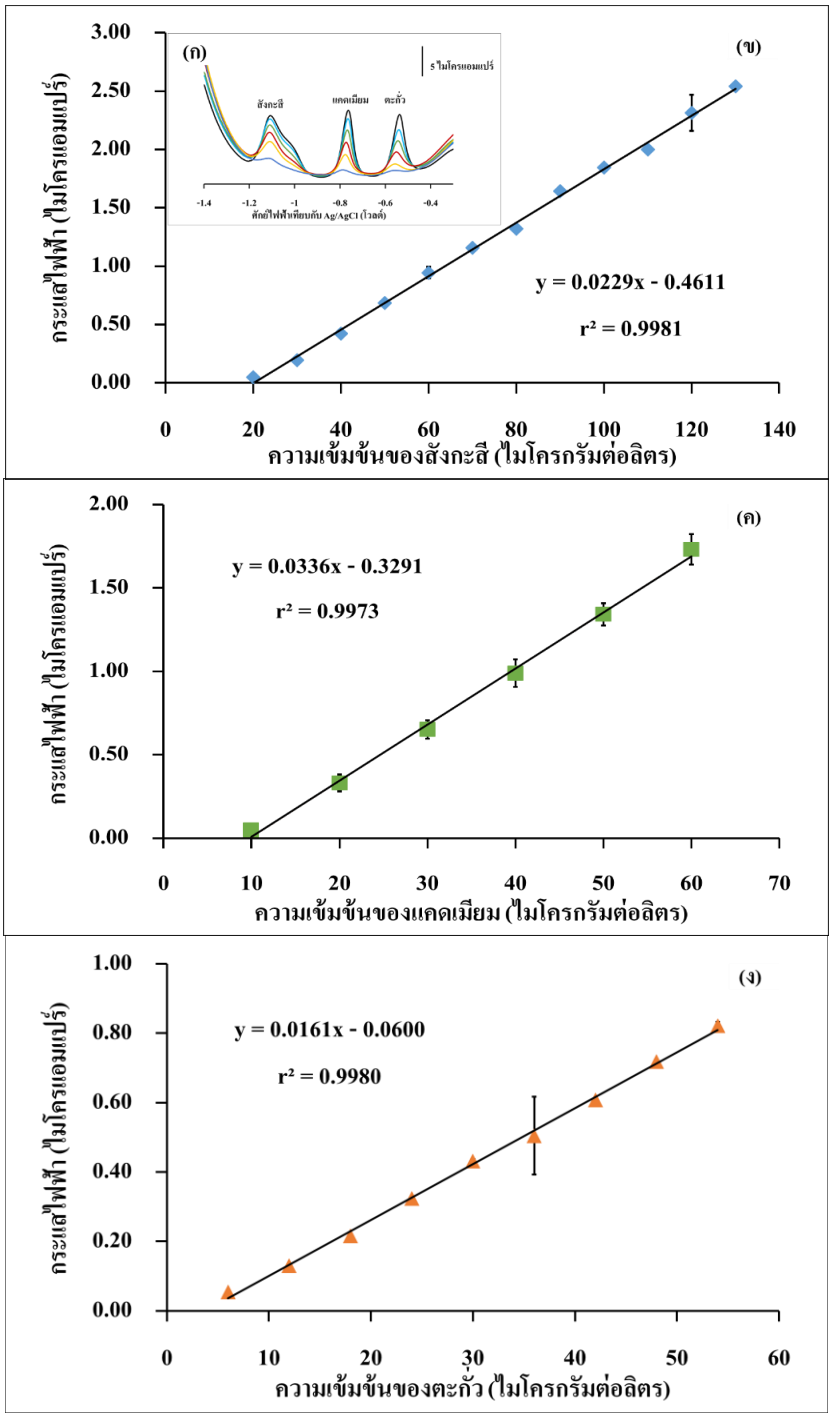
ปัจจัยที่ศึกษา	ช่วงการศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
ศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติด(วินาที)	(-0.8) – (-1.5)	-1.4
ระยะเวลาในการเกาะติด(วินาที)	15-300	240
ความถี่ (เฮิร์ต)	15-50	25
แอมพลิจูด(มิลลิโวลต์)	15-50	25
สเตปโพเทนเชียล(มิลลิโวลต์)	1-10	4

2.3 ลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ (Analytical features)

ปัจจัยที่ศึกษาสำหรับลักษณะเด่นในการวิเคราะห์ได้แก่ ความเป็นเส้นตรง (linearity) ขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (LOQ)ความเสถียรของขั้วไฟฟ้าแสดงด้วยค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ (%RSD) จากผลการศึกษาได้ผลดังตารางที่ 4 และภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างกราฟมาตรฐานที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ 4 ลักษณะเด่นในการวิเคราะห์สังกะสี แคดเมียม และตะกั่วด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ลักษณะเด่นในการวิเคราะห์	**โลหะหนัก**		
	สังกะสี	**แคดเมียม**	**ตะกั่ว**
ความเป็นเส้นตรง (ไมโครกรัมต่อลิตร)	20-130	10-60	6-54
สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2)	0.9972	0.9879	0.9987
สมการเส้นตรง	y = 0.0232x – 0.4799	y = 0.033x – 0.3560	y = 0.0160x- 0.0539
ขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) (ไมโครกรัมต่อลิตร)	2.19	6.40	1.13
ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (LOQ) (ไมโครกรัมต่อลิตร)	6.64	19.41	3.41
ความเที่ยง (%RSD)	5.77 (n=25)	5.58 (n=17)	9.27 (n=14)



ภาพที่ 4 (ก) โวลแทมโมแกรมที่ได้จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสังกะสี, แคดเมียม และตะกั่ว, (ข) กราฟมาตรฐานของสังกะสี, (ค) กราฟมาตรฐานของแคดเมียม และ (ง) กราฟมาตรฐานของตะกั่ว สภาวะที่ทำการทดลอง: ศักย์ไฟฟ้าในการเกาะติด -1.4 โวลต์, ระยะเวลาในการเกาะติด 240 วินาที, แอมพลิจูด25 มิลลิโวลต์ และสเตปโพเทนเชียล4 มิลลิโวลต์ที่ความเข้มข้นของสังกะสี, แคดเมียม และตะกั่วที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์แอซิเตต พีเอช4.5

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาการตอบสนองทางพฤติกรรมของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ต่อปริมาณโลหะหนักโดยใช้สารละลายของ Pb^{2+} เป็นต้นแบบ พบว่าเมื่อเปรียบเทียบภายในชนิดเดียวกันของหอยความเข้มข้นของสารละลาย Pb^{2+} ที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อพฤติกรรมการกิน รวมทั้งการตอบสนองของ operculum ไม่แตกต่างกันระหว่างชนิดด้วย อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าหอยโข่งแสดงพฤติกรรมหนีออกจากพื้นที่ที่มีสารละลายของ Pb^{2+} ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอาจมีแนวโน้มที่มีความทนทานต่อตะกั่วได้น้อยกว่าหอยเชอรี่

จากผลการศึกษาพฤติกรรมการกินระหว่างหอยสองชนิดที่แตกต่างกันนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Pradabphetrat *et al*., 2018 ที่ทำการเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่ด้วยเช่นกัน สาเหตุนี้เนื่องมาจาก หอยเชอรี่อาจแสดงพฤติกรรมต่าง ๆ ได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง เช่น พฤติกรรมการกิน (Morrison & Hay, 2011; Chaichana & Sumpan, 2014) และหอยเชอรี่อาจมีแนวโน้มที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง จึงทำให้หอยเชอรี่ประสบความสำเร็จในการรุกรานชนิดพันธุ์พื้นเมือง(Chaichana & Sumpan, 2015) นอกจากนี้ความเป็นพิษของโลหะหนักซึ่งจัดเป็นสารมลพิษชนิดหนึ่งในสิ่งแวดล้อม (Liang *et al*., 2004) อาจส่งผลต่อการตอบสนองทางพฤติกรรมต่างๆ (Clotfelter *et al*., 2004; Zala & Penn, 2004)

อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้อาจน้อยไปทำให้ไม่เห็นความแตกต่างทางพฤติกรรมในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เป็นไปได้ว่าความแตกต่างทางพฤติกรรมอาจเกิดขึ้นถ้าใช้ความเข้มข้นของสารละลาย Pb^{2+} ที่สูงกว่าที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ หรืออาจเป็นไปได้ว่าพฤติกรรมของสัตว์เป็นการตอบสนองที่เกิดขึ้นทั้งตัวสัตว์แต่ผลกระทบอาจเกิดขึ้นแล้วในระดับเซลล์หรือเนื้อเยื่อ ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในหอย (Kruatachue *et al*., 2011; Dummee *et al*., 2012) ควบคู่ไปกับพฤติกรรมด้วย

การศึกษาการปนเปื้อนหรือการสะสมของโลหะหนัก โดยเฉพาะตะกั่ว เช่น การศึกษาการปนเปื้อนและการสะสมตะกั่วในเนื้อเยื่อของหอยสามารถถูกใช้เพื่อเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำ (Bio-monitoring) ได้ (Liang *et al*., 2004; Yap *et al*., 2009) เพื่อเป็นแนวทางในการติดตามและเฝ้าระวังปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อม นอกจากการใช้เนื้อเยื่อของหอยเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำแล้ว พฤติกรรมสามารถถูกใช้เป็นดัชนีชี้วัดได้เช่นกัน

(Weber, 1993) ซึ่งการทดสอบความเป็นพิษทางพฤติกรรมนั้นมีต้นทุนต่ำและสามารถพัฒนาเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำได้ (Lefcort *et al*., 2000; Clotfelter *et al*., 2004) ดังนั้นงานวิจัยในอนาคตอาจเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการพิจารณาความเป็นไปได้ที่จะใช้หอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเป็นสัตว์ต้นแบบในการเฝ้าระวังผลกระทบจากการปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมต่อไป

บรรณานุกรม

ชวลิต วิทยานนท์. (2549). ชนิดพันธุ์สัตว์น้ำต่างถิ่นที่รุกรานที่สุดในประเทศไทย. ใน *รายงานการประชุมวิชาการ เรื่องชนิดพันธุ์ต่างถิ่น วันที่ 31 สิงหาคม 2549* (หน้า 67-74). กรุงเทพฯ: สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

ณภัทร เฉลิมชุติปภา. (2553). เอเลียน สปีชีส์ บุกทำลายความหลากหลายทางชีวภาพ. *วารสาร Update*, 276, 51-61.

สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2552). *มาตรการป้องกันควบคุมและกำจัดชนิดพันธุ์ต่างถิ่น* (28 หน้า). กรุงเทพฯ: กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

_____ (2553). *รายงานการประชุมวันสากลแห่งความหลากหลายทางชีวภาพ เรื่อง ความหลากหลายทางชีวภาพ: ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกราน* (194 หน้า). กรุงเทพฯ: กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. (2553). ชนิดพันธุ์สัตว์น้ำต่างถิ่น. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

อดิศักดิ์ จุมวงษ์. (2543). มาทำความรู้จักหอยเชอรี่ (Golden apple snails). *แม่โจ้ปริทัศน์*, 1(5), 38-41.

Atchison, G. J., Henry, M. G., & Sandheinrich, M. B. (1987). Effects of metals on fish behavior: a review. *Environmental Biology of fishes*, 18(1), 11-25.

Bae, M. J., & Park, Y. S. (2015). Characterizing the effects of temperature on behavioral periodicity in golden apple snails (*Pomacea canaliculata*). *Ecological Informatics*, 29, 130-138.

Chaichana, R., & Sumpan, T. (2014). The potential ecological impact of the exotic snail *Pomacea canaliculata* on the Thai native snail *Pila scutata*. *Science Asia*, 40, 11-15.

Chapple, D. G., Simmonds, S. M., & Wong, B. (2012). Can behavioral and personality traits influence the success of unintentional species introductions?. *Trends in ecology & evolution*, 27(1), 57-64.

Clotfelter, E. D., Bell, A. M., & Levering, K. R. (2004). The role of animal behaviour in the study of endocrine-disrupting chemicals. *Animal Behaviour*, 68(4), 665-676.

Cowie, R.H. (2002). Apple snails (Ampullariidae) as agricultural pests: their biology, impacts, and management. In Baker, G.M. (Ed.), *Molluscs as Crop Pests*. Wallingford, UK: CABI Publishing, pp. 145-192.

Dummee, V., Kruatrachue, M., Trinachartvanit, W., Tanhan, P., Pokethitiyook, P., & Damrongphol, P. (2012). Bioaccumulation of heavy metals in water, sediments, aquatic plant and histopathological effects on the golden apple snail in Beung Boraphet reservoir, Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 204-212.

IUCN (2013). *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2013.1. http://www.iucnredlist.org. Downloaded on 02 July 2013.

Kruatrachue, M., Sumritdee, C., Pokethitiyook, P., & Singhakaew, S. (2011). Histopathological effects of contaminated sediments on golden apple snail (*Pomacea canaliculata*, Lamarck 1822*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(6), 610-614.

Lefcort, H., Ammann, E., & Eiger, S. M. (2000). Antipredatory behavior as an index of heavy-metal pollution? A test using snails and caddisflies. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 38(3), 311-316.

Liang, L.N., He, B., Jiang, G.B., Chen, D.Y. & Yao, Z.W. (2004). Evaluation of mollusk as biomonitors to investigate heavy metal contaminations along the Chinese Bohai Sea. *Science of the Total Environment*. 324. 105-113.

Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., & De Poorter, M. (2000). *100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database* (p. 12). Auckland,, New Zealand: Invasive Species Specialist Group.

Morrison, W. E., & Hay, M. E. (2011). Are lower‐latitude plants better defended? Palatability of freshwater macrophytes. *Ecology*, 93(1), 65-74.

Naylor, R. (1996). Invasions in agriculture: assessing the cost of the golden apple snail in Asia. *Ambio*, 25(7), 443-448.

Otitoloju, A. A., & Don-Pedro, K. N. (2004). Integrated laboratory and field assessments of heavy metals accumulation in edible periwinkle, *Tympanotonus fuscatus* var radula (L.). *Ecotoxicology and environmental safety*, 57(3), 354-362.

Padabphetrat, P., Aroonsrimorakot, S., Füreder, L., Tosh, C. & Piyapong, C. (2018). A Comparison of Feeding Behaviour and Preferences of Native and Non-native Invasive Apple Snail in Thailand. *Chiang Mai Journal of Science*, 45(6), 2322-2330

Phillips, B.L. & Suarez, A.V. (2012). The role of behavioural variation in the invasion of new areas. In Candolin, U. & Wong, B.B.M. (Eds.), *Behavioural responses to a changing word* (pp. 190-200). United Kingdom: Oxford University Press.

Shuhaimi-Othman, M., Nur-Amalina, R., & Nadzifah, Y. (2012). Toxicity of metals to a freshwater snail, *Melanoides tuberculata*. *The Scientific World Journal*, 2012.

Wang, Y, Liang, L., Shi, J. & Jiang, G. (2005). Study on the contamination of heavy metals and their correlations in mollusks collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea. *Environment International*. 31, 1103-1113.

Weber, D. N. (1993). Exposure to sublethal levels of waterborne lead alters reproductive behavior patterns in fathead minnows (*Pimephales promelas)*. *Neuro Toxicology*, 14(2-3), 347-358.

Weis, J. S., Smith, G., Zhou, T., Santiago-Bass, C., & Weis, P. (2001). Effects of contaminants on behavior: biochemical mechanisms and ecological consequences. *Bioscience*, 51(3), 209-217.

Yap, C. K., Noorhaidah, A., Azlan, A., Azwady, A. N., Ismail, A., Ismail, A. R., & Tan, S. G. (2009). *Telescopium telescopium* as potential biomonitors of Cu, Zn, and Pb for the tropical intertidal area. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2), 496-506.

Zala, S. M., & Penn, D. J. (2004). Abnormal behaviours induced by chemical pollution: a review of the evidence and new challenges. *Animal Behaviour*, 68(4), 649-664.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพแสดงการเลี้ยงและการทดลอง

ภาพแสดงการเลี้ยงและการทดลอง

ภาพที่ ก-1 บ่อซีเมนต์เลี้ยงหอยเชอรี่เพื่อปรับสภาพก่อนทำการทดลอง

ภาพที่ ก-2 ตู้ทดลองในการศึกษาพฤติกรรมการกินในความเข้มข้นกึ่งเฉียบพลันของสารละลายตะกั่ว (Pb^{2+})

ภาคผนวก ข

- ข้อมูลของหอยที่ใช้ในการศึกษาพฤติกรรม
- ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในหอย

— ข้อมูลของหอยที่ใช้ในการศึกษาพฤติกรรม

การทดลองซ้ำที่ 1

ตารางที่ ข-1 การทดลองซ้ำที่ 1

ชนิดของหอย	ลำดับที่	ความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/L)	น้ำหนัก (g)	ความสูง (mm)	ชนิดของหอย	ลำดับที่	ความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/L)	น้ำหนัก (g)	ความสูง (mm)
หอยโข่ง	1	0.00	7.90	32	หอยเชอรี่	1	0.00	9.60	32
หอยโข่ง	2	0.00	18.68	43	หอยเชอรี่	2	0.00	20.09	42
หอยโข่ง	3	0.00	22.60	47	หอยเชอรี่	3	0.00	31.46	48
หอยโข่ง	4	0.00	24.90	49	หอยเชอรี่	4	0.00	29.88	48
หอยโข่ง	5	0.00	27.75	50	หอยเชอรี่	5	0.006	32.88	50
หอยโข่ง	1	0.006	9.56	34	หอยเชอรี่	1	0.006	12.20	35
หอยโข่ง	2	0.006	16.86	41	หอยเชอรี่	2	0.006	15.35	41
หอยโข่ง	3	0.006	31.00	51	หอยเชอรี่	3	0.006	36.61	51
หอยโข่ง	4	0.006	22.99	48	หอยเชอรี่	4	0.006	29.55	48
หอยโข่ง	5	0.006	21.82	46	หอยเชอรี่	5	0.006	26.48	46
หอยโข่ง	1	0.031	7.74	32	หอยเชอรี่	1	0.031	9.45	32
หอยโข่ง	2	0.031	16.75	41	หอยเชอรี่	2	0.031	19.31	40
หอยโข่ง	3	0.031	25.21	47	หอยเชอรี่	3	0.031	30.45	47
หอยโข่ง	4	0.031	28.32	49	หอยเชอรี่	4	0.031	30.52	48
หอยโข่ง	5	0.031	25.18	47	หอยเชอรี่	5	0.031	24.17	46
หอยโข่ง	1	0.062	11.10	36	หอยเชอรี่	1	0.062	14.43	36
หอยโข่ง	2	0.062	13.63	37	หอยเชอรี่	2	0.062	16.37	38
หอยโข่ง	3	0.062	23.02	48	หอยเชอรี่	3	0.062	27.64	48
หอยโข่ง	4	0.062	33.07	53	หอยเชอรี่	4	0.062	36.11	53
หอยโข่ง	5	0.062	31.88	53	หอยเชอรี่	5	0.062	37.38	53

การทดลองซ้ำที่ 2

ตารางที่ ข-2 การทดลองซ้ำที่ 2

ชนิดของหอย	ลำดับที่	ความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/L)	น้ำหนัก (g)	ความสูง (mm)	ชนิดของหอย	ลำดับที่	ความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/L)	น้ำหนัก (g)	ความสูง (mm)
หอยโข่ง	1	0.00	9.19	33	หอยเชอรี่	1	0.00	11.61	34
หอยโข่ง	2	0.00	17.41	43	หอยเชอรี่	2	0.00	22.27	42
หอยโข่ง	3	0.00	26.89	49	หอยเชอรี่	3	0.00	29.09	48
หอยโข่ง	4	0.00	24.97	46	หอยเชอรี่	4	0.00	25.72	46
หอยโข่ง	5	0.00	25.33	49	หอยเชอรี่	5	0.006	27.51	48
หอยโข่ง	1	0.006	9.52	35	หอยเชอรี่	1	0.006	12.62	35
หอยโข่ง	2	0.006	13.38	38	หอยเชอรี่	2	0.006	17.16	38
หอยโข่ง	3	0.006	35.39	52	หอยเชอรี่	3	0.006	40.71	52
หอยโข่ง	4	0.006	35.16	52	หอยเชอรี่	4	0.006	32.29	52
หอยโข่ง	5	0.006	26.30	49	หอยเชอรี่	5	0.006	27.90	48
หอยโข่ง	1	0.031	9.52	33	หอยเชอรี่	1	0.031	9.42	34
หอยโข่ง	2	0.031	16.06	42	หอยเชอรี่	2	0.031	20.28	41
หอยโข่ง	3	0.031	30.65	52	หอยเชอรี่	3	0.031	36.04	52
หอยโข่ง	4	0.031	27.55	49	หอยเชอรี่	4	0.031	28.50	49
หอยโข่ง	5	0.031	25.32	50	หอยเชอรี่	5	0.031	31.55	50
หอยโข่ง	1	0.062	8.39	32	หอยเชอรี่	1	0.062	10.41	33
หอยโข่ง	2	0.062	15.59	42	หอยเชอรี่	2	0.062	18.59	41
หอยโข่ง	3	0.062	21.88	46	หอยเชอรี่	3	0.062	29.70	47
หอยโข่ง	4	0.062	29.39	50	หอยเชอรี่	4	0.062	35.80	49
หอยโข่ง	5	0.062	28.35	50	หอยเชอรี่	5	0.062	32.50	49

— ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในหอย

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วจากเนื้อหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองด้วยเทคนิค Inductively Couple Plasma - Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

จาก ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดชลบุรี

ตารางที่ ข-3 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วจากเนื้อหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

ชนิดของหอย	ตัวที่	ความเข้มข้นของ Pb^{2+} (mg/L)	น้ำหนักของหอย (g)	ปริมาณของตะกั่วที่พบในหอย (mg/kg)
หอยเชอรี่	1	0.00	12.22	ไม่พบ
หอยเชอรี่	2	0.00	10.73	ไม่พบ
หอยเชอรี่	1	0.006	6.74	0.42
หอยเชอรี่	2	0.006	12.71	0.25
หอยเชอรี่	1	0.031	13.81	0.22
หอยเชอรี่	2	0.031	13.24	0.42
หอยเชอรี่	1	0.062	13.09	0.86
หอยเชอรี่	2	0.062	13.16	1.63
หอยโข่ง	1	0.00	0.0073	ไม่พบ
หอยโข่ง	2	0.00	0.0094	ไม่พบ
หอยโข่ง	1	0.006	0.0112	0.12
หอยโข่ง	2	0.006	0.0140	0.12
หอยโข่ง	1	0.031	0.0105	4.02
หอยโข่ง	2	0.031	0.0080	0.29
หอยโข่ง	1	0.062	0.0083	3.56
หอยโข่ง	2	0.062	0.0068	3.54

ภาคผนวก ค

ผลงานที่ได้ตีพิมพ์ในวารสารตลอดทั้งโครงการ