

การใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*  
จากบ่อดิน

Utilization of the earthworms for feeding the female domesticated giant tiger  
shrimp *Penaeus monodon* broodstock

วสิน ยูวานะเตมีย์<sup>1</sup> อูษา เชียงเหนือ<sup>1</sup> วีรศักดิ์ สโมสร<sup>1</sup> และรชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ<sup>1\*</sup>

Vasin Yuvanatemiya<sup>1</sup>, Ausa Chiangnuea<sup>1</sup>, Teerasak Samosorn<sup>1</sup> and Rachanimuk Hiransuchalert<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี 22170

<sup>1</sup>Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus 22170

Corresponding author: rachanimuk@buu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองนำไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแรว์ (*Pheretima peguana*) มาใช้เป็นอาหารสด เพื่อกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดิน โดยทดสอบความสามารถในการทนความเค็มของไส้เดือนดินในระดับความเค็มของน้ำที่ 0, 20, 25, 30 และ 35 ส่วนในพันส่วน จากผลการทดลองพบว่า ไส้เดือนดินสามารถทนอยู่ได้ในช่วง 16-98 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 20 ส่วนในพันส่วน) 10-70 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 25 ส่วนในพันส่วน) 6-10 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 30 ส่วนในพันส่วน) และ 4-12 นาที (ที่ความเค็มของน้ำ 35 ส่วนในพันส่วน) และจากการศึกษาปริมาณไส้เดือนดินที่แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำกินเฉลี่ยต่อวันพบว่า กุ้งกุลาดำมีการกินอาหารเป็น 0.84±0.49 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (กรัม) ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม (อาหารเม็ด) คือ 0.16±0.05 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในการตรวจสอบการพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำพบว่า รังไข่ของกุ้งกุลาดำเพศเมียที่กินไส้เดือนดินมีการพัฒนาจากระยะที่ I เป็นระยะที่ II (GSI = 0.87) คิดเป็น 16.67 เปอร์เซ็นต์ของกุ้งที่ทำการทดลองทั้งหมด ในด้านการเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักลำตัวและความยาวลำตัว พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ระหว่างแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่กินไส้เดือนดินและอาหารเม็ดทั้งก่อนและหลังการทดลอง

**คำสำคัญ** : กุ้งกุลาดำ, ไส้เดือนดิน, รังไข่, การพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์, บ่อดิน

Abstract

This research aimed to use the earthworms (*Pheretima peguana*) as a fresh feed to induce the reproductive development of the female domesticated *Penaeus monodon* broodstock. The salinity tolerance of living earthworms were tested at 0, 20, 25, 30 and 35 part per thousand (ppt) of the water salinity. The result showed that the earthworms could be alive for 16-98 minutes at 20 ppt, 10-70 minutes at 25 ppt, 6-10 minutes at 30 ppt and 4-12 minutes at 35 ppt of the water salinity. In addition, the amounts of the earthworms that female broodstock-sized *P. monodon* consumed per day was 0.84±0.49 percent of body weight (g.). These proportions are significantly higher than those of control (pellets) which was 0.16±0.05 percent of body weight (g.) ( $p < 0.05$ ). The results showed

that 16.67 percent of *P. monodon* that ate the living earthworms developed ovaries from stage I to stage II (GSI = 0.87). For the control groups, the gonad development of *P. monodon* did not show significant difference among the experiments. However, for the growth rate of broodstock - sized *P. monodon* (in term of body weight and body length), there was not significant difference between the before and after the experiments ( $p > 0.05$ ).

**Keywords :** *Penaeus monodon*, Earthworm, ovaries, reproductive development, earthen pond

## บทนำ

การให้อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงอย่างเต็มที่และการให้ฮอร์โมน เป็นทางเลือกสำคัญที่ใช้ในการช่วยกระตุ้นการสมบูรณ์เพศของพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในโรงเรือนเพื่อทดแทนการตัดก้านตา ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพแต่เสี่ยงต่อการตายและการติดโรคของพ่อแม่พันธุ์ แม่เพรียงทรายหรือไส้เดือนทะเล (*Perinereis* sp.) เป็นที่ยอมรับจากเกษตรกรเลี้ยงที่กุ้งกุลาดำ ว่าเป็นอาหารธรรมชาติที่ใช้เสริมให้แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำแล้วช่วยให้เกิดการสร้างไข่ที่ดีที่สุด (Wouters *et al.*, 2001; Meunpol *et al.*, 2007) ทั้งนี้เนื่องจากในแม่เพรียงทรายอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการสูง ทั้งคุณค่าของโปรตีน ไขมัน และแร่ธาตุต่างๆ รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ อีกทั้งประกอบด้วยฮอร์โมนบางชนิด เช่น โพรเจสเตอโรน โพรสเตกาแลนดิน เมธิลฟาร์นิโซเอท ซึ่งฮอร์โมนเหล่านี้มีรายงานว่าช่วยส่งเสริมการเจริญพันธุ์ในกุ้งกุลาดำ (Meunpol *et al.*, 2007) ดังนั้น ความต้องการแม่เพรียงทรายในปัจจุบันยังมีเพิ่มมากขึ้นเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของโรงเพาะพันธุ์กุ้งทะเล จนทำให้ประชากรแม่เพรียงทรายในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแม่เพรียงทรายยังมีต้นทุนสูง และเสี่ยงให้มีอัตราการรอดสูงได้ยาก ส่งผลให้การผลิตลูกพันธุ์กุ้งมีต้นทุนมีราคาสูงตามไปด้วย (Meunpol *et al.*, 2007; Wouters *et al.*, 2001; Techaprempreecha *et al.*, 2011) มีการพัฒนาอาหารเม็ดสำหรับแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำโดยการผสมฮอร์โมน  $17\beta$ -estradiol ปริมาณ 10 mg ต่อกิโลกรัมของอาหารเม็ด พบว่ากุ้งกุลาดำมีการพัฒนาไข่ที่ขึ้นและมีค่าดัชนีรังไข่สูงขึ้นเพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่อวัยวะสืบพันธุ์ยังไม่พัฒนาจนถึงระยะที่กุ้งวางไข่ได้ (Hiransuchalert *et al.*, 2013) การใช้อาหารสดจากแหล่งอื่นที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในต้นทุนต่ำและมีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับแม่เพรียงทราย อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีส่วนช่วยให้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลมีความยั่งยืน

ไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแรว์ (*Pheretima peguana*) เป็นไส้เดือนดินสีแดงที่พบได้ทั่วไปในแถบเอเชียรวมทั้งประเทศไทย ลักษณะพิเศษของไส้เดือนสายพันธุ์นี้ คือมีความตื่นตัวสูงมากเมื่อถูกจับตัวจะดิ้นอย่างรุนแรงและเคลื่อนที่หนีเร็วมาก นอกจากนี้ ยังมีอัตราการแพร่ขยายพันธุ์ได้สูงมากด้วย เนื่องจากเหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยและหาได้ง่ายตามธรรมชาติ ในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงไส้เดือนดินอย่างแพร่หลายโดยใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นอาหารสำหรับไส้เดือนดิน ทำให้ลดต้นทุนการเพาะเลี้ยงได้ปริมาณผลผลิตมาก และยังสามารถนำมูลไส้เดือนดินไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์สำหรับเสริมแร่ธาตุในดินได้ (Tancho, 2007) ไส้เดือนดินเป็นสัตว์ที่มีประโยชน์มากต่อระบบนิเวศ ช่วยในการปรับปรุงโครงสร้างของดิน ทำให้ดินร่วนซุย ช่วยส่งเสริมการละลายธาตุอาหารพืชที่อยู่ในรูปอินทรีย์ที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ให้ใช้

ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ไส้เดือนดินยังเป็นสัตว์ที่มีโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูง (Abowei and Ekubo, 2011) จึงได้รับความนิยมในการนำมาเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ เช่น ปลา ไก่ นก เป็ด เป็นต้น ปัจจุบันมีการพัฒนารูปแบบของไส้เดือนดินทางการค้าที่มีความหลากหลาย เช่น ไส้เดือนที่มีชีวิต ไส้เดือนตากแห้ง ไส้เดือนบด ไส้เดือนอัดแห้ง ฯลฯ โดยไส้เดือนแห้งมีส่วนประกอบของโปรตีนที่มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ครบสมบูรณ์ประมาณ 62 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนประกอบของกรดไขมันที่จำเป็นประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (Tancho, 2007) ปัจจุบันมีการทดลองใช้ไส้เดือนดินเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์บกและสัตว์น้ำ (Hilton, 1983; Sogbesan, *et al.*, 2007; Monebi and Ugwumba, 2013; Dedeke *et al.*, 2013) เนื่องจากมีรายงานว่าไส้เดือนดินมีรูปแบบกรดอะมิโนที่จำเป็นคล้ายกับปลา (Dedeke *et al.*, 2010) นอกจากนี้ไส้เดือนดินมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และของเหลวในช่องว่างลำตัวของไส้เดือนดินบางชนิดยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Tancho, 2007) ซึ่งอาจส่งผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง โดยงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งและการศึกษาการรอดตายของไส้เดือนดินในสภาวะจำกัด เช่น ความเค็ม หรืออุณหภูมิ ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน โดยงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ไส้เดือนดินเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดินเพื่อลดต้นทุนการผลิตลูกพันธุ์กุ้งกุลาดำ

### วิธีการวิจัย

#### การเตรียมไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่

นำไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มเลี้ยงไส้เดือนดิน จังหวัดปทุมธานี มาขยายพันธุ์ในกระบะสี่เหลี่ยมพลาสติกขนาด 20 ลิตร โดยใส่ดินร่วนและปุ๋ยมูลวัว ในอัตราส่วน ดินร่วน 3 ส่วนต่อมูลวัว 1 ส่วน ให้เศษผักและเปลือกไข่เป็นอาหารวันละ 1 ครั้งโดยใช้วิธีฝังกลบ ในระหว่างเลี้ยงพรมน้ำทุกวันให้มีความชื้น ปิดฝาภาชนะเลี้ยงไส้เดือนด้วยผ้าพลาสติกมีการเจาะรูเพื่อระบายอากาศด้านบนของภาชนะที่ใช้เลี้ยง และมีการเจาะรูระบายน้ำบริเวณด้านล่างเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำขัง โดยเลี้ยงในความหนาแน่นเริ่มต้น 100 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 2 เดือน เลือกไส้เดือนดินที่มีขนาดไม่น้อยกว่า 10 เซนติเมตร มีลักษณะสมบูรณ์และยังมีชีวิตมาใช้ในการทดลอง (Figure 1)



Figure 1 The earthworms (*Pheretima peguana*) used in this study

### การศึกษาอิทธิพลของความเค็มของน้ำต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่

ในการทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบระยะเวลาที่ไส้เดือนดินมีชีวิตอยู่ในน้ำทะเลได้ เนื่องจากขณะมีชีวิตเมื่ออยู่ในน้ำไส้เดือนดินจะเคลื่อนที่ไปมาเป็นการกระตุ้นให้กึ่งอยากกินอาหาร และเพื่อเป็นการจำลองสภาวะการให้ไส้เดือนดินที่ยังมีชีวิตแก่พ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ เนื่องจากความเค็มของน้ำทะเลที่เหมาะสมในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งทะเลเพื่อวางไข่ คือ 28-35 ส่วนในพันส่วน (Primavera, 1989) โดยนำไส้เดือนดินที่ผ่านการเพาะขยายมาทำการทดลองหาอัตราการรอดตาย โดยใช้โหลทดลองขนาดความจุ 1.5 ลิตร บรรจุน้ำที่ความเค็มของน้ำแตกต่างกัน ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 20, 25, 30 และ 35 ส่วนในพันส่วน เพื่อให้ระดับความเค็มของน้ำที่ศึกษาครอบคลุมช่วงความเค็มที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ โดยใช้น้ำในปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 15 โหล เริ่มการทดลองโดยใส่ไส้เดือนดินที่มีชีวิตจำนวน 5 ตัวต่อโหล ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replications) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design) และบันทึกอัตราการรอดตายของไส้เดือนดินทุก 2 นาที เป็นเวลา 120 นาที โดยสังเกตจากการเคลื่อนไหวในน้ำ การยืดหดของเพอริสโตเมีย (peristomium) บริเวณปล้องแรกของไส้เดือนดิน และการปล่อยของเหลวภายในลำตัวออกมาจากรูกลางหลัง (dorsal pores) เมื่อไส้เดือนดินเริ่มตาย (Charubhun and Charubhun, 2003) เพื่อคำนวณอัตราการรอดตาย ดังสมการที่ (1)

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนไส้เดือนดินที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนไส้เดือนดินเมื่อเริ่มการทดลอง}} \quad (1)$$

### การเตรียมแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ

ใช้แม่พันธุ์กึ่งกุลาดำจำนวน 14 ตัว โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เพิ่มจำนวนพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำในบ่อดิน (Broodstock Multiplication Center) คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี โดยเป็นกึ่งกุลาดำที่เพาะพันธุ์จากกึ่งกุลาดำที่พัฒนาสายพันธุ์เพื่อการปราศจากโรคจากธรรมชาติแล้ว ด้วยวิธีการผสมเทียม จากศูนย์วิจัยและพัฒนาสายพันธุ์กึ่ง (ศวพก) จังหวัดสุราษฎร์ธานี แล้วนำมาเลี้ยงในบ่อดินที่ศูนย์เพิ่มจำนวนพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำตั้งแต่วัยโพสลาวา 15 จนมีอายุประมาณ 16 เดือน มีน้ำหนักลำตัวและความยาวลำตัวเฉลี่ย  $62.40 \pm 20.15$  กรัม และ  $19.04 \pm 3.16$  (N=14) เซนติเมตร ตามลำดับ จากนั้นนำมาเลี้ยงปรับสภาพเป็นเวลา 7 วัน ในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1000 ลิตร ความเค็มของน้ำประมาณ 25 ส่วนในพันส่วน ที่ฆ่าเชื้อด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) ความเข้มข้นประมาณ 30 ส่วนในล้านส่วน ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์เพื่อให้สลายตัวหมด ก่อนเริ่มการทดลอง

### การศึกษากาไรให้ไส้เดือนดินเป็นอาหารแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำจากบ่อดิน

เลี้ยงกึ่งกุลาดำในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 1000 ลิตร ความเค็มของน้ำประมาณ 25-27 ส่วนในพันส่วน เป็นเวลา 30 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 7 วันของการทดลอง ตรวจสอบคุณภาพน้ำ (อุณหภูมิ, ความเค็ม, ความเป็นกรด-ด่าง และความเป็นต่าง) ทุกวันตลอดการทดลอง แบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง คือ กึ่งกุลาดำชุดควบคุม (ให้อาหารเม็ดสำหรับกึ่งใหญ่ ยี่ห้อสตาร์ฟีด ขนาด 5005 กึ่งใหญ่ ที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 35% ไขมันไม่น้อยกว่า 5% ความชื้นไม่มากกว่า 11% กากไม่มากกว่า 4%) จำนวน 8 ตัว และกึ่งกุลาดำที่กินไส้เดือนดิน

จำนวน 6 ตัว โดยซึ่งน้ำหนักลำตัวและวัดความยาวลำตัวกึ่งกลาดำก่อนเริ่มการทดลอง ใช้ตาข่ายแข็งกันระหว่างกึ่งกลาดำแต่ละตัว (pseudoreplication; Hurlbert, 1984) เพื่อควบคุมปัจจัยและสภาวะการเลี้ยง และสามารถคำนวณปริมาณการกินอาหารของกึ่งกลาดำแต่ละตัวได้ ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 07.00 น. และ 19.00 น. โดยซึ่งน้ำหนักอาหารที่ 5% ของน้ำหนักตัวต่อวัน และให้อาหารที่ล้นจนกึ่งแต่ละตัวไม่เข้ากินอาหาร การให้ไส้เดือนดินจะทำการแยกไส้เดือนดินออกจากดินที่เลี้ยงแล้วทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นอย่างรวดเร็ว และให้กึ่งกินขณะที่ยังมีชีวิต ซึ่งน้ำหนักอาหารเม็ดและไส้เดือนดินที่เหลือในแต่ละวัน และคำนวณปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อวันของกึ่งแต่ละกลุ่มการทดลอง ดังสมการที่ (2)

$$\text{ปริมาณการกินอาหารเฉลี่ย (\% ของน้ำหนักตัว)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยปริมาณการกินอาหารที่กินต่อวัน (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักลำตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)}} \quad (2)$$

ตรวจสอบการพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กึ่งกลาดำก่อนและหลังสิ้นสุดการทดลอง โดยใช้ไฟฉายส่องที่ลำตัวกึ่งกลาดำเพศเมีย และดูแนวไข่ที่พาดตามแนวลำตัวของกึ่งกลาดำ ผ่าเอารังไข่ของกึ่งกลาดำมาชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณค่าดัชนีรังไข่ (Gonadosomatic index) ดังสมการที่ (3)

$$\text{ค่าดัชนีรังไข่ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักรังไข่ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักลำตัว (กรัม)}} \times 100 \quad (3)$$

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของแม่กึ่งกลาดำที่กินอาหารเม็ดและไส้เดือนดิน คำนวณน้ำหนักรังไข่ และค่าดัชนีรังไข่ของแม่กึ่งกลาดำที่กินอาหารเม็ดและไส้เดือนดิน ด้วยการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติแบบไร้พารามิเตอร์ (Nonparametric Statistics) เปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่มการทดลองโดยใช้สถิติแบบ The Kolmogorov-Smirnov Two-Sample Test ที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95%

### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

#### ระดับความเค็มของน้ำต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแ��

จากการทดลองระดับความเค็มต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแ�� โดยทำการทดลองที่ระดับความเค็มต่างๆ คือ 0 (ชุดควบคุม), 20, 25, 30 และ 35 ส่วนในพันส่วน เป็นระยะเวลา 120 นาที พบว่าในระดับความเค็มที่ 0 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินมีอัตราการรอดตาย 100% ตลอดการทดลอง ในระดับความเค็มที่ 20 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 16 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 98 ในระดับความเค็มที่ 25 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 10 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 70 ในระดับความเค็มที่ 30 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 6 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 18 ในระดับความเค็มที่ 35 ส่วนในพันส่วน ไส้เดือนดินเริ่มตายในนาที่ที่ 4 และไส้เดือนดินตายทั้งหมดในนาที่ที่ 12 (Table 1) ความเค็มของน้ำมีผลต่ออัตราการรอดตายของไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแ�� เนื่องจากไส้เดือนดินเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่ไม่มีระดับความเค็มที่สูงและอยู่ในบริเวณที่มีความชื้นค่อนข้างสูง (70-90%) ความ

เป็นกรด-ด่างประมาณ 7.0-8.0 มีการระบายอากาศดี อุณหภูมิไม่แปรปรวนมาก ลักษณะดินที่เหมาะสมคือ เป็นดินร่วนผสมมูลวัว (Tancho, 2007) ส่วนในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กิ้งกูดำที่พร้อมสำหรับการผลิตลูกกิ้ง ควรอยู่ในสภาพที่มีความเข้มแสงไม่เกิน 100 ลักซ์ อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็น กรด-ด่างอยู่ระหว่าง 7.5-8.5 และความเค็มของน้ำอยู่ระหว่าง 28-35 ส่วนในพันส่วน (Primavera, 1989) ซึ่ง ระดับความเค็มของน้ำในช่วงนี้ไส้เดือนดินยังมีชีวิตอยู่และมีการเคลื่อนไหวในน้ำได้เป็นเวลา 4-70 นาที โดย จากผลการทดลองพบว่า และกิ้งกูดำขนาดพ่อแม่พันธุ์จากบ่อดินที่กินไส้เดือนดินนั้นจะใช้ระยะเวลาในการ กินไส้เดือนดิน 1 ตัวประมาณ 3-5 นาที โดยพ่อแม่เลี้ยงมีระดับความเค็ม 25-27 ส่วนในพันส่วน ดังนั้น ไส้เดือนดิน ที่ให้เป็นอาหารสำหรับกิ้งกูดำขนาดพ่อแม่พันธุ์จากบ่อดินจึงยังอยู่ในสภาพมีชีวิตและมีการเคลื่อนไหวใน ขณะที่ถูกจับกิน เป็นการช่วยดึงดูดให้กิ้งกูดำกินอาหารมากขึ้นด้วย

#### ปริมาณไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ที่แม่พันธุ์กิ้งกูดำจากบ่อดินกินเฉลี่ยต่อวัน

จากการหาปริมาณการกินไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ของแม่พันธุ์กิ้งกูดำจากบ่อดิน โดยให้อาหาร กิ้งกูดำเป็นเวลา 30 วัน วันละ 2 ครั้ง โดยแม่พันธุ์กิ้งกูดำมีขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย  $66.80 \pm 25.84$  กรัม (จำนวน 14 ตัว) พบว่ากิ้งกูดำชุดการทดลองที่กินไส้เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่มีการกินอาหารได้มากกว่าชุดควบคุม (อาหารเม็ด) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (Figure 2) โดยแม่พันธุ์กิ้งกูดำกินไส้เดือนดินได้ตั้งแต่ 0.04 ถึง 1.31% ของน้ำหนักตัว (กรัม) มีค่าเฉลี่ยเป็น  $0.84 \pm 0.40\%$  ของน้ำหนักตัว (กรัม) ส่วนแม่พันธุ์กิ้ง กูดำชุดควบคุม (อาหารเม็ด) กินอาหารเม็ดได้ตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.15% ของน้ำหนักตัว (กรัม) มีค่าเฉลี่ยเป็น  $0.05 \pm 0.04\%$  ของน้ำหนักตัว (กรัม) เนื่องจากในการทดลองนี้กิ้งกูดำกินอาหารมากที่สุดเพียง 0.5% และ 1.31% ต่อกรัมของน้ำหนักตัวต่อวันของอาหารเม็ดและไส้เดือนดินตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าปริมาณอาหาร ต่อวันที่แนะนำให้ใช้สำหรับเป็นอาหารพ่อแม่พันธุ์กิ้งกูดำในโรงเพาะฟัก ซึ่งแบ่งให้อาหารเป็น 3-4 มื้อต่อวัน และควรมีปริมาณการให้อาหารเป็น 3.5% และ 10-30% ของน้ำหนักตัวต่อวัน ของอาหารเม็ดและอาหารสด ตามลำดับ (Lumubol *et al.*, 2003; Primavera, 1989) แสดงให้เห็นว่าปริมาณอาหารที่ได้รับไม่เพียงพอต่อ ความต้องการสำหรับการพัฒนาไข่ได้อย่างเต็มที่

Table 1 The survival rates of the earthworms (*Pheretima peguana*) in the different water salinity

Time (minute)	The water salinity				
	0 ppt	20 ppt	25 ppt	30 ppt	35 ppt
2	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00
4	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	75.00 $\pm$ 30.05
6	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	94.44 $\pm$ 9.62	38.89 $\pm$ 31.55
8	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	63.89 $\pm$ 33.68	25.00 $\pm$ 30.05
10	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	94.44 $\pm$ 9.62	58.33 $\pm$ 28.87	13.89 $\pm$ 24.06
12	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	91.67 $\pm$ 14.43	47.22 $\pm$ 19.25	0.00 $\pm$ 0.00
14	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	91.67 $\pm$ 14.43	25.00 $\pm$ 8.33	

Table 1 . (continue)

Time (minute)	The water salinity				
	0 ppt	20 ppt	25 ppt	30 ppt	35 ppt
16	100.00 ±0.00	88.89 ±19.25	83.33 ±28.87	8.33 ±8.33	
18	100.00 ±0.00	88.89 ±19.25	80.56 ±33.68	0.00 ±0.00	
20	100.00 ±0.00	80.56 ±26.79	80.56 ±33.68		
22	100.00 ±0.00	77.78 ±31.55	77.78 ±31.55		
24	100.00 ±0.00	75.00 ±30.05	75.00 ±36.32		
26	100.00 ±0.00	75.00 ±30.05	69.44 ±31.55		
28	100.00 ±0.00	75.00 ±30.05	63.89 ±33.68		
30	100.00 ±0.00	69.44 ±31.55	50.00 ±25.00		
32	100.00 ±0.00	58.33 ±33.33	41.67 ±30.05		
34	100.00 ±0.00	58.33 ±33.33	27.78 ±17.35		
36	100.00 ±0.00	55.56 ±37.58	25.00 ±14.43		
38	100.00 ±0.00	52.78 ±33.68	19.44 ±12.73		
40	100.00 ±0.00	50.00 ±30.05	16.67 ±14.43		
42	100.00 ±0.00	41.67 ±25.00	11.11 ±12.73		
44	100.00 ±0.00	36.11 ±25.46	11.11 ±12.73		
46	100.00 ±0.00	36.11 ±25.46	11.11 ±12.73		
48	100.00 ±0.00	30.56 ±26.79	11.11 ±12.73		
50	100.00 ±0.00	30.56 ±26.79	11.11 ±12.73		
52	100.00 ±0.00	25.00 ±22.05	8.33 ±8.33		
54	100.00 ±0.00	25.00 ±22.05	8.33 ±8.33		
56	100.00 ±0.00	25.00 ±22.05	8.33 ±8.33		
58	100.00 ±0.00	19.44 ±17.35	8.33 ±8.33		
60	100.00 ±0.00	19.44 ±17.35	8.33 ±8.33		
62	100.00 ±0.00	16.67 ±14.43	8.33 ±8.33		
64	100.00 ±0.00	16.67 ±14.43	8.33 ±8.33		
66	100.00 ±0.00	8.33 ±8.33	8.33 ±8.33		
68	100.00 ±0.00	8.33 ±8.33	5.56 ±9.62		
70	100.00 ±0.00	5.56 ±4.81	0.00 ±0.00		
80	100.00 ±0.00	2.78 ±4.81			
90	100.00 ±0.00	2.78 ±4.81			

Table 1 . (continue)

Time (minute)	The water salinity				
	0 ppt	20 ppt	25 ppt	30 ppt	35 ppt
100	100.00 ±0.00	0.00 ±0.00			
110	100.00 ±0.00				
120	100.00 ±0.00				

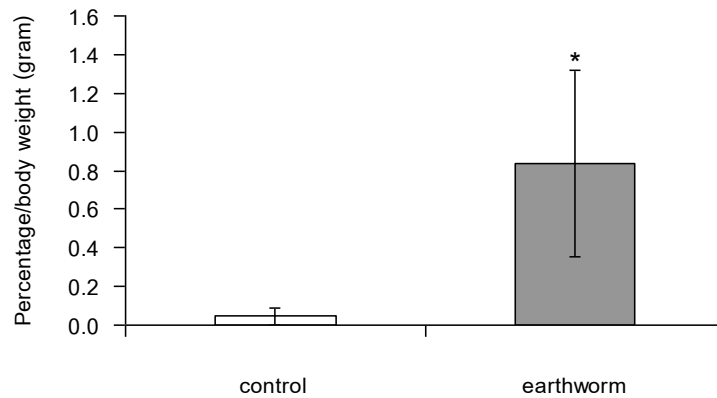


Figure 2 The average feed intake of the female *P. monodon* broodstock (Percentage/gram of body weight). Asterisk shows significantly difference ( $P < 0.05$ ) between group.

นอกจากนี้ จากการทดลองพบว่า แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดินมีการตอบสนองต่อได้เดือนดินซึ่งเป็นอาหารสดได้มากกว่าอาหารเม็ด เนื่องจากกุ้งกุลาดำมีพฤติกรรมการกินอาหารแบบล่าเหยื่อที่มีการเคลื่อนไหว ซ้ำๆ มากกว่ากินซากเน่าเปื่อย โดยใช้ประสาทรับความรู้สึกและกลิ่นที่หนวดบริเวณปาก (Marte, 1980) อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ให้สมบูรณ์ และการผลิตลูกกุ้งที่มีคุณภาพ (Meunpol *et al.*, 2007; Xu *et al.* 1994; Cahu *et al.*, 1994, 1995) จากการศึกษาคุณค่าทางอาหารของไส้เดือนดินพบว่า มีโปรตีนรวมสูง (62-64%) มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ครบสมบูรณ์ และมีส่วนประกอบของกรดไขมันที่จำเป็นประมาณ 9 เปอร์เซ็นต์ (Tancho, 2007) โดย Chakrabarty *et al.* (2010) รายงานว่าการทดลองใช้ไส้เดือนเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาเพื่อผสมในอาหาร ส่งผลให้การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของปลากะตักลาย (*Colisa fasciata*) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการใช้อาหารที่มีขายในท้องตลาด ( $P > 0.05$ ) อย่างไรก็ตาม การใช้อาหารสดเป็นอาหารสำหรับพ่อแม่พันธุ์กุ้งควรคำนึงถึงเรื่อง การฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการเป็นพาหะของโรคจากอาหารสดสู่พ่อแม่พันธุ์กุ้งด้วย



### การพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กิ้งกูดาคำ

ในการตรวจสอบพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กิ้งกูดาคำก่อนเริ่มการทดลอง โดยใช้ไฟฉายส่องที่ลำตัวกิ้งกูดาคำ และสังเกตแนวไข่ที่พาดตามแนวลำตัวของกิ้งกูดาคำเพื่อสังเกตระยะของรังไข่ตามเอกสารของ Rao *et al.* (1995) พบว่ารังไข่ของกิ้งแม่พันธุ์กิ้งกูดาคำที่กินไส้เดือนดินก่อนการทดลองทั้งหมด อยู่ในระยะที่ 1 และพบการพัฒนาการของรังไข่เพิ่มเป็นระยะที่ 2 หลังสิ้นสุดการทดลอง จำนวน 1 ตัว ส่วนระยะการพัฒนาการรังไข่ของแม่พันธุ์กิ้งกูดาคำชุดควบคุม (อาหารเม็ด) พบว่า อยู่ในระยะที่ 1 ทั้งก่อนการทดลองและหลังสิ้นสุดการทดลอง (Table 2) จากการตรวจสอบระยะการพัฒนาของรังไข่หลังสิ้นสุดการทดลองโดยคำนวณค่าดัชนีรังไข่ (GSI) และแบ่งระยะของรังไข่เป็น 4 ระยะ คือ ไข่ไวเทลโลเจนิค (previtellogenic; ระยะที่ 1, GSI < 1.5%), ไข่ไวเทลโลเจนิค (vitellogenic; ระยะที่ 2, GSI >2-4%), ไข่สุก (early cortical rod; ระยะที่ 3, GSI >4-6%) และไข่สุกเต็มที่ (mature; ระยะที่ 4, GSI >6%) ตามลำดับ (Preechaphol *et al.*, 2007) โดยจากงานวิจัยนี้พบว่า รังไข่ของกิ้งกูดาคำขนาดแม่พันธุ์ที่กินไส้เดือนดิน มีการพัฒนาเป็นระยะที่ 2 (vitellogenic) จำนวน 1 ตัว โดยมีค่า GSI เท่ากับ 1.87 ส่วนที่เหลือยังมีการพัฒนาเป็นระยะที่ 1 (previtellogenic) ส่วนแม่พันธุ์กิ้งกูดาคำชุดควบคุม (อาหารเม็ด) หลังสิ้นสุดการทดลองมีระยะรังไข่เป็นระยะที่ 1 (previtellogenic) ทั้งหมด (Figure 3)

Table 2 Determination of maturation stages of the female *P. monodon* broodstock after the experiments

Maturation stages	Percentage	
	control	Earth worm
1	100.00	83.33
2	-	16.67
3	-	-
4	-	-
Ovaries weight (gram)	0.68 ±0.16	0.96±0.43
GSI (%)	0.87 ±0.12	1.21±0.47

วิธีการพื้นฐานสำหรับการเพาะพันธุ์กิ้งทะเลในโรงเพาะฟัก คือการจับกิ้งจากธรรมชาติและตัดก้านตากุ้งเพื่อทำลายฮอร์โมนที่ยับยั้งกระบวนการไวเทลโลเจเนซิส (Hiransuchalert, 2013) และเมื่อมีการให้อาหารอย่างเพียงพอและอยู่ในสภาวะที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติ (Coman *et al.*, 2006) กุ้งจะมีการพัฒนารังไข่ให้เห็นได้ชัดเจนภายใน 3-5 วัน และวางไข่ได้ภายใน 7-10 วัน (Zacharia and Kakati, 2003) อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ส่งผลให้ไม่สามารถรักษาลักษณะพันธุกรรมที่ดีของกุ้งไว้ได้ เนื่องจากกุ้งจะอ่อนแอและตายในไม่ช้า ส่วนการใช้กุ้งที่โตจากบ่อดินเป็นพ่อแม่พันธุ์ควรคำนึงถึงความสมบูรณ์และความพร้อมของกุ้ง รวมถึงสภาวะและ

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพื่อให้กุ้งวางไข่ และการให้อาหารอย่างเพียงพอด้วย (Primavera, 1989; Coman *et al.*, 2005, 2006)

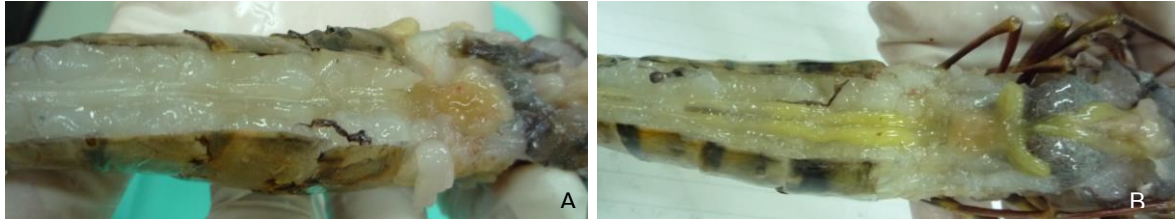


Figure 3 Ovarian developments of the female *P. monodon* broodstock for stage I (A) and II (B) in this experiment

### คุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการทดลอง

จากการตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกวันตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงกุลาดำขนาดพ่อแม่พันธุ์ เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 24.0-27.5 องศาเซลเซียส ค่าความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 25-27 ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 8.72-9.00 และ ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) อยู่ในช่วง 85-136 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแคลเซียมคาร์บอเนต โดยคุณภาพน้ำที่ตรวจสอบ มีความเหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งทะเลในบ่อเลี้ยง (Marine Shrimp Culture Research and Development Institute, 2013) อย่างไรก็ตาม กุ้งกุลาดำขนาดพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ถูกเลี้ยงอยู่ในบ่อดินที่ความเค็มประมาณ 15-20 ส่วนในพันส่วน และนำจากบ่อดินขึ้นมาเลี้ยงในโรงเรือนเพื่อปรับสภาวะให้อยู่ในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่พร้อมสำหรับการผลิตลูกกุ้ง โดยใช้ น้ำทะเลธรรมชาติจากบริเวณหาดแหลมเสด็จ จังหวัดจันทบุรี ที่มีระดับความเค็มประมาณ 25-27 ส่วนในพันส่วน ซึ่งผู้วิจัยต้องการใช้น้ำทะเลจากธรรมชาติที่ไม่มีการปรับแต่งใดๆ เพื่อให้ผลการทดลองที่ได้มาจากปัจจัยที่ต้องการทดลองเพียงอย่างเดียว งานวิจัยนี้จึงใช้น้ำที่มีระดับความเค็มค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเค็มที่เหมาะสมในระบบเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเล ซึ่งควรอยู่ระหว่าง 28-35 ส่วนในพันส่วน และเป็นปัจจัยหนึ่งที่อาจส่งผลให้กุ้งมีการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ได้น้อย (Primavera, 1989)

### สรุปผลการวิจัย

ไข่เดือนดินสายพันธุ์ซีตาแร่ *Pheretima peguana* สามารถทนต่อระดับความเค็มที่ 25-35 ส่วนในพันส่วน ได้ตั้งแต่ 4-98 นาที ซึ่งในระดับความเค็มนี้เป็นระดับที่แนะนำให้ใช้ในระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุลาดำเพื่อการเพาะพันธุ์ลูกกุ้ง โดยแม่พันธุ์กุลาดำจากบ่อดินในงานวิจัยนี้ มีอัตราการบริโภคไข่เดือนดินซึ่งเป็นอาหารสดได้ดีกว่าอาหารเม็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และไข่เดือนดินส่งผลให้กุ้งกุลาดำมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ดีขึ้น แต่ยังไม่สามารถพัฒนาจนถึงระยะวางไข่ได้ (ระยะเวลาเลี้ยง 30 วัน)

### เอกสารอ้างอิง

- Abowei, J. F. N. and Ekubo, A. T. 2011. A Review of Conventional and Unconventional Feeds in Fish Nutrition. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2(4): 179-191.
- Cahu, C. L., Guillaume, J. C., Stéphan, G., and Chim, L. 1994. Influence of phospholipids and highly unsaturated fatty acids on spawning rate and egg tissue composition in *Penaeus vannamei* fed semi-purified diets. *Aquaculture*. 126: 159–170.
- Cahu, C. L., Cuzan, G., and Quazuguel, P. 1995. Effect of highly unsaturated fatty acids, alpha-tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 112: 417–424.
- Chakrabarty, D., Das, S. K., Das, M. K., and Bag, M. P. 2010. Low cost fish feed for aquarium fish: a test case using *Colisa fasciata*. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 8(2): 312-316.
- Charubhun, B. and Charubhun, N. 2003. Invertebrate II (Annelida through Protochordata). Rung Wattana printing, Bangkok. pp 698. [in Thai]
- Coman, G. J., Crocos, P. J., Arnold, S. J., Keys, S. J., Murphy, B., and Preston, N. P. 2005. Growth, survival and reproductive performance of domesticated Australian stocks of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, reared in tanks and raceways. *Journal of the World Aquaculture Society*. 36: 464–479.
- Coman, G. J., Arnold, S. J., Peixoto, S., Coman, F. E., Crocos, P. J., and Preston, N. P. 2006. Reproductive performance of reciprocally crossed wild-caught and tank reared *Penaeus monodon* broodstock. *Aquaculture*. 252: 372–384.
- Dedeke, G. A., Owa, S. O., and Olurin, K. B. 2010. Amino acid profile of four earthworm species from Nigeria. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1: 97-102.
- Dedeke, G. A., Owa, S. O., Olurin, K. B., Akinfe, A. O., and Awotedu O. O. 2013. Partial replacement of fish meal by earthworm meal (*Libyodrilus violaceus*) in diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*. 5(9): 229-233.
- Hilton, J. W. 1983. Potential of freeze dried worm as a replacement for fish meal in trout diet formulations. *Aquaculture*. 32(3-4): 277-283.
- Hiransuchalert, R. 2013. Vitellogenesis: Yolk Synthesis Process in the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *KKU science journal*. 41(2): 281-297. [in Thai]

- Hiransuchalert, R., Iertpattanapaiboon, T., Tippachararoch, P., Donnuea, S., and Piyateratitivorakul, S. 2013. Development of 17 $\beta$ -Estradiol hormone Mixed Diets for Ovarian Maturation of the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) Broodstock in Maturation Tank. *Journal of Fisheries Technology Research*. 7(2): 14-26. [in Thai]
- Hurlbert, S. H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*. 54: 187-211.
- Lumubol, P., Ingkaninun, P., Sanchu, K., Meunpol, O., Khuncharoen, S., Boonmeesuwan, S., Inkong, S., Sopon, A., Wongchinit, S., Thiammueang, D., and Viboonkit, K. 2003. Analysis and synthesizing of marine shrimp research in Thailand. Bangkok. pp 482. [in Thai]
- Marine Shrimp Culture Research and Development Institute. 2013. The guide book: shrimp farming for environmentally friendly. Department of Fisheries. pp 18. [in Thai]
- Marte, C. L. 1980. The food and feeding habit of *Penaeus monodon* Fabricius collected from Makato River, Aklan, Philippines (Decapoda: Natantia). *Crustaceana*. 38(3): 225-236.
- Meunpol, O., Iam-Pai, S., Suthikrai, W., and Piyatiratitivorakul, S. 2007. Identification of progesterone and 17 alpha hydroxyprogesterone in polychaetes (*Perinereis* sp.) and the effect of hormone extracts on penaeid oocyte development in vitro. *Aquaculture*. 270: 485-492.
- Monebi, C. O. and Ugwumba, A. A. A. 2013. Utilization of the earthworm *Eudrilus eugeniae* in the diet of heteroclaris fingerlings. *Int. J. Fish. Aquaculture*. 5(2): 19-25.
- Preechaphol, R., Leelatanawit, R., Sittikankeaw, K., Klinbunga, S., Khamnamtong, B., Puanglarp, N., and Menasveta, P. 2007. Expressed sequence tag analysis for isolation of sex-related transcripts in the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Journal of biochemistry and molecular biology*. 40: 501-510.
- Primavera, J. H. 1989. Broodstock of sugpo, (*Penaeus monodon Fabricius*). 4<sup>th</sup> ed. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Dept., Southeast Asian Fisheries Development Center. 26 pp.
- Rao, L. H., Kathirvel, M., Ravichandran, P., and Sivagnanam, S. 1995. Development of broodstock of tiger prawn *Penaeus monodon* in captivity. *CIBA Bulletin*. 6: 1-10.
- Sogbesan, C. A., Ugwumba, A. A., Madu, C. T., Eze, S. S., and Isa, J. 2007. Culture and utilization of earthworms as animal protein supplement in the diet of *Heterobranchus longifillius* fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 2(6): 375- 386.
- Tancho, A. 2007. Earthworms. 2<sup>nd</sup> ed. National Science and Technology Development Agency, Pathum Thani. pp 259. [in Thai]

- Techaprempreecha, S., Khongchareonporn, N., Chaicharoenpong, C., Aranyakananda, P., Chunhabundit, S., and Petsom, A. 2011. Nutritional composition of farmed and wild sandworms, *Perinereis nuntia*. *Animal Feed Science and Technology*. 169(3-4): 265-269.
- Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J., and Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. *Aquaculture*. 202: 1–21.
- Xu, X. L., Ji, W. L., Castell, J. D., and O'Dor, R. K. 1994. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. *Aquaculture*. 19: 359–370.
- Zacharia, S. and Kakati, V. S. 2003. Effect of eyestalk ablation on ovarian maturation in the banana prawn, *Fenneropenaeus merguensis* de Man under different environmental conditions. *The Indian Journal of Fisheries*. 45(2): 111-114.