

## Effects of Temperature on Hatching Rate and Incubation Period of Spotted Babylon Snail (*Babylonia areolata*) Egg Capsules

Taufik Hayimad<sup>2,4\*</sup>, Vikrant John Vedamanikam<sup>2</sup>, Ambak Bolong Abol Munafi<sup>1</sup>,  
Noor Azhar Mohd Shazili<sup>3</sup>, Nifareesa Cheloh<sup>4</sup>, and Mhd Ikhwanuddin<sup>1</sup>

### Abstract

A study was conducted to determine the effects of temperature on the hatch rate and incubation period of spotted babylon snail (*Babylonia areolata*) egg capsules. The experiment was conducted with eight treatments, different temperature levels (20°, 22°, 24°, 26°, 28°, 30° C, control without air conditioning (fluctuated between 26-31° and average at 28°C)) and control with air conditioning (average at 21°C) with 3 replicates. Egg capsules held in low temperature treatment (20°C) had the lowest hatch rate (90.30±3.56%) and longest incubation period (7.33±0.58 days), a result which differs significantly from all others. Egg capsules held at control with air conditioning had the highest hatch rate (96.02±1.01%). Egg capsules held at 26°C (5.00±0.00 days) had the shortest incubation period. In the present study, the effect of temperature fluctuation is also discussed.

**Keywords:** Temperature, Spotted babylon, *Babylonia areolata*, embryonic development

### Introduction

Marine benthic organism abundance, distribution and physiological metabolism have always been affected by environmental factors especially the species inhabited in intertidal zone (Furlan et al., 2013; Fitzgibbon et al., 2017). Several factors, such as dissolved oxygen, pH, starvation, and salinity impacted metabolism systems by the period of the aquatic animal was exposed to stress conditions and the nutritional state of the animal all play a part (Hajimad & Vedamanikam, 2013; Newell & Bayne, 1973). Temperature is a crucial environmental factor from both the aquaculture and toxicological point of view owing to this parameter influence the development and settlement to the juvenile stage of many species of marine invertebrate larvae and also could escalate and decline the toxicity of heavy metals (Shieh & Liu, 1999; Vedamanikam & Hayimad, 2014; Bracino et al., 2020). Nevertheless, an increasing temperature technique has been used widespread in aquaculture field and well-documented which could be

<sup>1</sup>Institute of Tropical Aquaculture and Fisheries, Universiti Malaysia Terengganu, Malaysia

<sup>2</sup>Institute of Oceanography and Environment, Universiti Malaysia Terengganu, Malaysia

<sup>3</sup>School of Fisheries and Aquaculture Sciences, Universiti Malaysia Terengganu, Malaysia

<sup>4</sup>Faculty of Agriculture, Princess of Naradhiwas University, Thailand

\*Corresponding author's Email: taufik.h@pnu.ac.th



concluded that the elevation of temperature would increase animal metabolism and food consumption subsequently improve growth rate but this technique could affected the animals smaller size and fragile to the environment (Dubber et al., 2004; Liddy et al., 2004; Perara et al., 2007; Fitzgibbon & Battaglione, 2012). Smith et al. (2002) and Matsuda et al. (2012) supported this principle as well by describing that marine crustacean would grow faster and moult frequently if elevated temperature in grow-out tank and the deformity of the animals could be found if applied at embryonic stage. Thus, effect of temperature on embryonic stage in marine invertebrate is very interesting and need to be investigated in order to develop and increase information on breeding technology, toxicity and aquaculture aspects.

Spotted babylon snail or ivory shell (*Babylonia areolata* Link 1807) is a commercial gastropod consumed and cultured widely throughout Asia, with China, Thailand and Vietnam as the main markets (Ruangsri et al., 2018; Chen et al., 2010; Kritsanapuntu et al., 2007). This snail can be found in natural habitat at seabed 5-15 m depth with muddy or mud sandy bottom throughout Indo - West Pacific coastal region (Petsantad et al., 2020). The importance of *B. areolata* value in world market has been tremendous, with a good taste, high nutritional minerals and price (250-500 Thai baht/kg), fast growth and relatively simple culture techniques make this gastropod has been top commercial marine gastropod in Southeast Asia, consequently, the wild stock of this animal is drastically overexploited (Abol-Munafi et al., 2010; Chen et al., 2010; Petsantad et al., 2020; Di et al., 2020). In present days *B. areolata* culture techniques have been developed and well-documented in various aspects such as larval rearing (Hayimad et al., 2008; Abol-Munafi et al., 2010), juvenile rearing and aquaculture systems (Chaitanawisuti & Kritsanapuntu, 2000; Chaitanawisuti et al., 2001a, 2001b; Kritsanapuntu et al., 2006, 2007; Zhou et al., 2007) polyculture system (Kritsanapuntu et al., 2006, 2008; Dobson et al., 2020) and reproductive biology (Sriwoon & Poonsud, 2019; Di et al., 2020) but egg capsules/embryonic stage information have been scarce.

Egg production of spotted babylon snail has been important subject for selective breeding program supporting aquaculture economic and studied extensively such as chemical composition (Chaitanawisuti et al., 2011; 2019), effect of formulated diets on egg quality (Sangsawangchote et al., 2010). This snail spawns by laying egg cluster around 18-75 egg capsules per spawning, fecundity estimated 170-1850 eggs per egg capsule (Phuc et al., 2001). Research on egg production need to be conducted in order to increase biological data base on this species so this study was determined to assess the hatch rate and incubation period of spotted babylon snail egg capsules and create a data base on temperature experiments.

## Materials and Methods

### Location and Broodstock Acquisition

The present study was conducted at the Institute of Oceanography (for egg incubation experiment) and Institute of Tropical Aquaculture Hatchery (for broodstock rearing and reproduction), Universiti Malaysia Terengganu (UMT), Terengganu, Malaysia. Broodstock of the spotted babylon snail (*Babylonia areolata*) was purchased from Sakom Research and Hatchery Aquatic Animal Unit, Prince of Songkla University and a private gastropod farm in Narathiwat Province, Thailand due to the specimens were not enough from the first site. The broodstock was transferred to UMT immediately after purchasing then stocked in the Marine Hatchery near the Institute of Tropical Aquaculture. Before transferring to a fiber tank (size 1.50 x 0.80 x 0.70 m; length: width: depth), the snails were put together in the aquariums for shell rubbing and then dipped in freshwater for 10-20 seconds to eliminate epifauna organisms attached to the shell (Abol-munafi et al., 2010). They were then acclimated to the new water temperature (27 °C) and salinity (33±1 ppt) for 30 minutes before being deprived of food for 2 days. Observations took place every hour, for 6 hours, to prevent temperature and salinity shocks. Dead animals were removed as soon as found. After two days, spawning was stimulated by maintaining them in a recirculating sea water system and feeding them once a day with various types of food such as fish (*Selaroides leptolapis*), squid (*Sepia* sp.), shrimp (*Litopenaeus venamei*) and crab (*Portunus pelagicus*). Sea water in the recirculating system was evaluated for water quality once a week. If the water level in the culture tank was too low due to leakage or evaporation, the water was replaced.

### Experimental Design

Newly spawned egg capsules of spotted babylon snail (*B. areolata*) were tested with eight treatments and 3 replicates. We used different temperature levels: 20°, 22°, 24°, 26°, 28°, 30°C, control without air conditioning (at average room temperature 28°C) and control with air conditioning (at average room temperature 22°C). Temperature and growth chambers at both institutes mentioned above were used during the experiment to maintain temperature control. We incubated five egg capsules in a 300 ml experimental cup until hatching. Before beginning, the egg capsules (width and length, 0.64±0.07 and 2.17±0.15 cm, respectively) were dipped in fresh water for 10 seconds to eliminate sand or marine copepod and parasites attached on the surface before transferring them to the experimental cup (Abol-Munafi et al., 2010). We then counted the eggs in the egg capsule to determine fecundity and calculate the final hatch rate. Eighty percent of sea water in the experimental cup was changed daily to replenish and maintain element and water quality (the egg capsules were not experienced any changes

temperatures due to the sea water used in changing were stocked in the same growth chamber treatment). The egg capsules were observed daily to determine the incubation period. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD). The statistical significance of differences among treatments was determined using one-way analysis of variance (ANOVA), and Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ) was applied to detect significant differences between means ( $P < 0.05$ )

#### Water Quality Monitoring

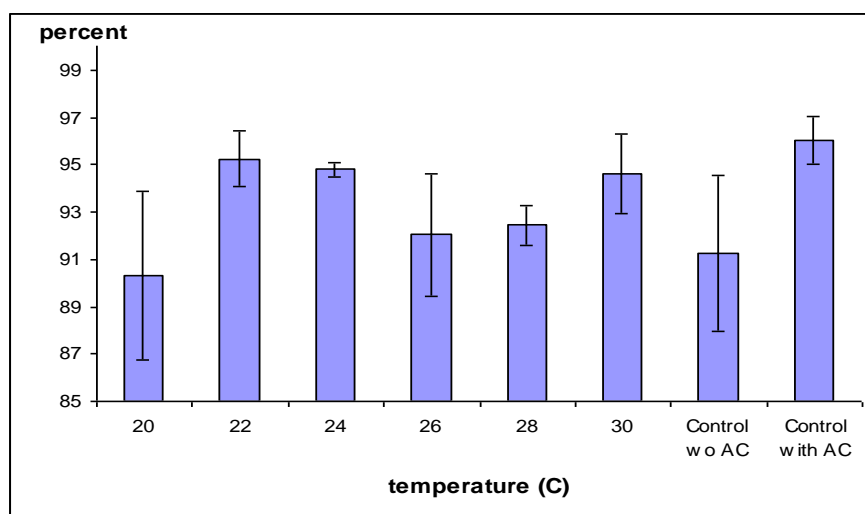
During the experimental period, the treatments were monitored four parameters of water quality: temperature, salinity, pH and dissolved oxygen. We observed these parameters daily by using a YSI 556 multimeter and a YSI 30-10 FT. We occasionally used a refracto-salinometer as the multimeter did not function properly on salinity measurements. All parameters observed in this study were within accepted standards (Kritsanapuntu et al., 2007). Measurements showed salinity  $34.74 \pm 1.34$  ppt, dissolved oxygen  $6.23 \pm 0.88$  mg/L, pH  $8.05 \pm 0.01$ . Temperature in control with air conditioning was  $21.29 \pm 1.12^\circ\text{C}$ . In control without air conditioning it was  $28.30 \pm 1.83^\circ\text{C}$  (fluctuated ranged  $26-31^\circ\text{C}$ ). In other treatment, we monitored temperature of not more or less than  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

#### Results

Table 1 and Figure 1 show the results of the incubation period and hatch rate. Egg capsules at temperature  $26^\circ\text{C}$  showed the fastest period (5 days) of hatching without any deformity (Normal shell, Velum movement). The incubation period of  $26^\circ\text{C}$  treatment was significantly shorter ( $P < 0.05$ ) than  $20^\circ$ ,  $22^\circ$ ,  $24^\circ\text{C}$  treatment (7.34, 6.33 and 6.33 days, respectively) and control with air conditioning (6.67 days), but not significantly different ( $P > 0.05$ ) from the rest of the treatments. The highest hatch rate (96.02%) is found in control with air conditioning treatment (average temperature  $22^\circ\text{C}$ ), a significant difference ( $P < 0.05$ ) from either the  $20^\circ\text{C}$  (90.30%) or control without air-conditioning (91.24%) treatments. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) on incubation period within the remaining treatments ( $22^\circ-30^\circ\text{C}$ ) which showed the same trends (6.00-6.33 days).

**Table 1** The incubation period and hatch rate of the spotted babylon snail (*Babylonia areolata*) egg with different temperatures. Values are means  $\pm$ SD (n = 3) from three replicate. Means in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05).

Temperature (°C)	Incubation period (days)	Hatch rate (percents)
20 $\pm$ 0.37	7.33 $\pm$ 0.58 <sup>c</sup>	90.30 $\pm$ 3.56 <sup>a</sup>
22 $\pm$ 0.52	6.33 $\pm$ 1.15 <sup>bc</sup>	95.24 $\pm$ 1.18 <sup>bc</sup>
24 $\pm$ 0.54	6.33 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>	94.79 $\pm$ 0.30 <sup>bc</sup>
26 $\pm$ 0.48	5.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	92.03 $\pm$ 2.60 <sup>abc</sup>
28 $\pm$ 0.58	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	92.44 $\pm$ 0.85 <sup>abc</sup>
30 $\pm$ 0.73	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	94.62 $\pm$ 1.68 <sup>bc</sup>
Control with air conditioning (21.29 $\pm$ 1.12)	6.67 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>	96.02 $\pm$ 1.01 <sup>c</sup>
Control without air conditioning (28.3 $\pm$ 1.83)	6.00 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	91.24 $\pm$ 3.28 <sup>ab</sup>



**Figure 1** Hatch rate percentage of spotted babylon snail (*Babylonia areolata*) eggs with different temperatures with standard deviation bar (n=3) from three replicate.

## Discussion

Temperature has been subjected to investigate for over decades due to climate changes perspective received much attention and cause various oceanic activities included reproductive performances, growth rate and maturation (Reid et al., 2019). It has been noted that the most benthic marine invertebrate have planktonic larvae stages and this life stage is

susceptible to environmental changing and temperature fluctuation have been a substantial factor which could lead mortality and deformity to the aquatic organisms, especially in embryonic and larval stages (Shieh & Liu, 1999; Zheng et al., 2010). From the experiment, at low temperature (20°C) the spotted babylon snail eggs were highly impacted by reduction of hatch rate and delayed incubation period. Temperature fluctuations also affected hatch rate of egg capsules in control without air conditioning. Average temperature in control without air conditioning treatment was 28°C with daily fluctuations (day time 31°C and night time 26°C), in this temperature treatment showed a lower hatch rate (91.24±3.28%), significantly lower ( $P<0.05$ ) than control with air conditioning (96.02±1.01%). These results could be explained that low temperature and the fluctuation influenced the absorption and conversion ability of the embryo, consequently reduced the hatch rate (Lu et al., 2016). According to Deschaseaux et al. (2011), temperature change could disturb total antioxidation capacity, lysosome integrity membrane stability on three species of intertidal gastropod embryos (*Benbicum nanum*, *Siphonaria denticulate* and *Dorabrifera brazieri*) and cause higher mortality if the temperature and salinity fluctuation occurred at the same time.

Karvonen et al. (2010) implied that aquatic animals exposed to higher temperature level especially in younger stage would have increased metabolism and relatively active in gasses transmission which facilitated fitness and survival. This theory agreed by Lima & Pechenik (1985) who explained that at higher temperatures the gastropod (*Crepidula plana*) egg and larvae were accelerated to hatch and spontaneous metamorphose but *C. plana* larvae did not increase growth rate at 20-25°C. At 30°C the larvae stressed 100%, then mortality followed if temperatures exceeded 30°C. Present study found out that at 22-28°C, there were no significant differences ( $P>0.05$ ) in hatch rate or hatch period, which indicates that these temperatures are optimal for egg incubation of *B. areolata* and the results show the same trend as Lu et al. (2018) who described that *B. areolata* juvenile showed fast growth and high survival rate at 26±1°C. Sriwoon & Poonsud (2019) indicated further that the breeding activity (mating, spawning) of spotted babylon snail was relatively active during summer where the water temperature were in ranged as the present investigation.

We concur with previous findings that temperature fluctuation reduces hatch rate and plays an important role on egg incubation. We further find that the *B. areolata* egg should not be exposed or cultured in temperatures under 20°C, or in fluctuating conditions, to maintain a high hatch rate and reduce the incubation period due to longer the specimens exposed, the degradation in molecular structure keep on going such as thermals changes, gas absorption decreases resulting in death later. The conclusion of this study is the optimum temperature for egg capsules of *B. areolata* is from 22-30°C.

## Acknowledgement

Authors would like to thank the Fundamental Research Grant Scheme (FRGS) vot. no. 59180 for supporting this study. We contribute our gratitude to Prof. Hamza Chaffai Amel, SFAX University, Tunisia and Dr. Faridah Muhamad, Faculty of Science and Technology, Universiti Malaysia Terengganu for guidance during the paper review and Mrs Mary Ann Parham for proofreading for grammatical errors. Finally, we are grateful to the staff of the Institute of Oceanography and Environment and Institute of Tropical Aquaculture for contributions during the experimental period.

## References

- Abol-Munafi, A. B., Pitagsalee, C., Hayimad, T., Norbaizura, S., Normadiha, M. N. & Fong, P. W. (2010). Optimal conditions for larval rearing of spotted babylon (*Babylonia areolata* Link 1807). *Journal of Sustainability Science and Management* 5 (2), 81-88.
- Bracino, A. A., Concepcion, E. P. & Vicerra, R. R. P. (2020). Biofilter for recirculating aquaponics systems: A review. *IEEE 12<sup>th</sup> International Conference on Humanoid, Nanotechnology, Information Technology, Communication and Control, Environment and management (HNICEM)*, pp 1-6.
- Chaitanawisuti, N., & Kritsanapuntu, A. (2000). Growth and production of hatchery-reared juvenile spotted babylon, *Babylonia areolata* Link 1807, culture to marketable size in intensive flow through and semi-closed recirculating water system. *Aquaculture Research* 31, 415-419.
- Chaitanawisuti, N., Kritsanapuntu, A., Natsukari, Y. & Kathinmai, S. (2001a). Effect of feeding rates on the growth, survival and feed utilization of hatchery-reared juvenile spotted babylon *Babylonia areolata* Link 1807 in flow through seawater system. *Aquaculture Research* 32, 689-692.
- Chaitanawisuti, N., Kritsanapuntu, A. & Natsukari, Y. (2001b). Growth trails for the polyculture of hatchery-reared juvenile spotted Babylon, *Babylonia areolata* link 1807, in flow-through seawater system. *Aquaculture* 32, 247-250.
- Chaitanawisuti, N., Sangsawangchote, S., & Piyatiratitivorakul, S. (2011). Differences in fatty acid composition of egg capsules from broodstock spotted babylon, *Babylonia areolata*, fed a local trash fish and formulated diet under hatchery conditions. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 3(5), 89-95.
- Chaitanawisuti, N., Sangsawangchote, S., & Piyatiratitivorakul, S. (2019). Differences in fatty acid composition of egg capsules from broodstock spotted babylon, *Babylonia areolata*,



- fed a local trash fish and formulated diet under hatchery conditions. *African Journal of Fisheries Science* 7 (4), 001-007.
- Chen, F., Luo, X., Wang, D., & Ke C. (2010). Population structure of the spotted babylon, *Babylonia areolata* in three wild populations along the Chinese coastline revealed using AFLP fingerprinting. *Journal of Biochemical Systematics and Ecology* 38, 1103-1110.
- Deschaseaux, E., Taylor, A. & Maher, W. (2011). Measure of stress response induced by temperature and salinity changes on hatched larvae of three marine gastropod species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 397, 121-128.
- Di, G. Wang, N. Shen, M. Huang, M. Fu, J. Pei, C. You, W. & Ke, C. (2020). Spermatozoan morphology of the snails *Babylonia lutosus*, *Babylonia areolata* from parental lines of populations in Hainan and Thailand and hybrid lines. *Aquaculture Research* 1-14.
- Dobson, T. G., Duy, N. D. Q., Paul, N. A. & Southgate, P. C. (2020). Assessing potential for integrating sea grape (*Caulerpa lentillifera*) culture with sandfish (*Holothuria scabra*) and Babylon snail (*Babylonia areolata*) co-culture. *Aquaculture* 1-33.
- Dubber, G. G., Brach, G. M. & Atkinson, L. J. (2004). The effect of temperature and diet on the survival, growth and food uptake of aquarium held postpueruli of the rock lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture* 240, 249-266.
- Fitzbibbon, Q. P., & Battaglione, S. C. (2012). Effect of water temperature on the development and energetic of early, mid and late-stage phyllosoma larvae of spiny lobster *Sagmariasus verreauxi*. *Aquaculture* 244-349, 153-160.
- Fitzgibbon, Q. P., Simon, C. J., Smith, G. G., Carter, C. G., & Battaglione, S. C. (2017). Temperature dependent growth, feeding, nutritional condition and aerobic metabolism of juvenile spiny lobster, *Sagmariasus verreauxi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 207, 13-20.
- Furlan, M., Castilho, A. L., Fernandes-Goes, L. C., Fransozo, V., Bertini, G. & Da Costa, R. C. (2013). Effect of environmental factors on the abundance of decapod crustacean from soft bottoms off southern Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 85(4), 1345-1356.
- Hajimad, T. & Vedamanikam, V. J. (2013). Temperature effects on the toxicity of four trace metals to adult spotted *Babylonia* snails (*Babylonia areolata*). *Toxicological & Environmental Chemistry* 37-41. <http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2013.864450>
- Hayimad, T., Abol-Munafi, A. B. & Pitagsalee, C. (2008). Effect of different diets on the growth and survival of the larvae and juveniles of spotted babylon snail (*Babylonia areolata* Link 1807). *Journal of Sustainability Science and Management* (3), 58-65.



- Karvonen, A., Rintamäki, P., Jokela, J. & Tellervo Valtonen, J. (2016). Increasing water temperature and disease risks in aquatic systems: Climate change increases the risk of some, but not all, diseases. *International Journal for Parasitology* (40), 1483–1488.
- Kritsanapuntu, S., Chaitanawisuti, N., Santhaweesuk, W., & Natsukari, S. Y., (2006). Combined effects of water exchange regimes and calcium carbonate additions on growth and survival of hatchery-reared juvenile spotted babylon (*Babylonia areolata* Link 1807) in recirculating grow-out system. *Aquaculture Research* (37), 664-670.
- Kritsanapuntu, S., Chaitanawisuti, N., Santhaweesuk, W., & Natsukari, S. Y., (2008). Growth performances for monoculture and polyculture of hatchery-reared juvenile spotted babylon, *Babylonia areolata* Link, 1807, in large-scale earthen ponds. *Aquaculture Research* (39), 1556-1561.
- Kritsanapuntu, S., Chaitanawisuti, N., & Natsukari, Y., (2007). Effects of different diets and seawater systems on egg production and quality of the broodstock *Babylonia areolata* L. under hatchery condition. *Aquaculture Research* (38), 1311-1316.
- Liddy, G. C., Phillips, B. F., & Maguire, G. B. (2004). Effects of temperature and food density on the survival and growth of early stage phyllosoma of the western rock lobster, *Panulirus cygnus*. *Aquaculture* 242, 207-215.
- Lima, G. M., & Pechenik, J. A. (1985). The influence of temperature on growth rate and length of larval life of gastropod, *Crepidula plana*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 90, 55-71.
- Lu, W., Shen, M., Fu, J., Li, W., You, W. & Ke, C. (2016). Combined effects of temperature, salinity and rearing density on growth and survival of juvenile ivory shell, *Babylonia areolata* (Link 1807) population in Thailand. *Aquaculture Research* 1-18.
- Matsuda, H., Abe, F. & Tanaka, S. (2012). Effect of photoperiod on metamorphosis from phyllosoma larvae to puerulus postlarvae in the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus*. *Aquaculture* 326-329: 136-140.
- Newell, R. C. & Bayne, B. L. (1973). A review on temperature and metabolic acclimation in intertidal marine invertebrate. *Netherlands Journal of Sea Research*, 421-433.
- Perara, E., Dian-Iglesias, E., Fraga, I., Carrillo, O., & Galich, G. S. (2007). Effect of body weight, temperature and feeding on the metabolic rate in the spiny lobster *Panulirus argus* (Latreille, 1804). *Aquaculture* 265, 261-270.
- Petsantad, P., Sangtanoo, P., Srimongkol, P., Saisavoey, T., Reamtong, O., Chaitanawisutid, N. & Karnchanatat, A. (2020). The antioxidant potential of peptides obtained from the spotted babylon snail (*Babylonia areolata*) in treating human colon adenocarcinoma (Caco-2) cells. *RSC Advance* 10, 25746–25757.

- Phuc, H. N., Thu, N. T. X., Minh, M. D., Hung P. D. & Yen, K. T. (2001). Spawning characteristics of *Babylonia areolata* (Neogastropoda: Buccinidae). Phuket Marine Biological Center Special Publication 25(7), 151-165.
- Reid, G. K., Gurney-Smith, H. J., Flaherty, M., Garber, A. F., Forster, I., Brewer-Dalton, K., Knowler, D., Marcogliese, D. J., Chopin, T., Moccia, R. D., Smith, C. T., & De Silva, S. (2019). Climate change and aquaculture: considering adaptation potential. *Aquaculture Environmental Interaction* 3, 603-624.
- Ruangsi, J., Thawonsuwan, J., Wanlem, S. & Wityachumnarkul, B. (2018). Effect of body size and sub-optimal water quality on some hemato-immunological parameters of spotted babylon snail *Babylonia areolata*. *Fisheries Science* 84, 513-522.
- Sangsawangchote, S., Chaitanawisuti, N., & Piyatiratitivorakul, S. (2010). Reproductive performance, egg and larval quality and egg fatty acid composition of hatchery-reared Spotted Babylon (*Babylonia areolata*) broodstock fed natural and formulated diets under hatchery conditions. *International Journal of Fisheries and Aquaculture* 1 (1), 49-57.
- Shieh, H. Y. & Liu, L. L. (1999). Positive effects of large concentration in culture on the development on the locithotrophic larvae of *Babylonia formosei* (Sowerby) (Prosobranchia: Buccinidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 241, 97-105.
- Smith, G., Ritar, A. J., Thompson, P. A., Dunstan, G. A., & Brown, M. R. (2002). The effect of embryo incubation temperature on indicators of larval viability in Stage I phyllosoma of the spiny lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture* 209, 157-167.
- Sriwong, R., & Poonsud, N. (2019). Growth and reproductive of *Babylonia areolata* Link 1807 in Songkhla and Pattani, the lower part of Gulf of Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 41 (6), 1404-1412.
- Vedamanikam, V. J. & Hayimad, T. (2014). Effect of mixtures of metals on the spotted Babylon snail (*Babylonia areolata*) under different temperature conditions. *Toxicological & Environmental Chemistry* 37-41. <http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2014.881077>
- Zheng, H., Ke, H., Sun, Z., Zhou, S., & Li, F. (2010). Effects of stocking density and algal concentration on survival, growth and metamorphosis of Bobu Ivory shell, *Babylonia formosae habeii* (Neogastropoda: Buccinidae) larvae. *Aquaculture* 42: 1-8.
- Zhou, J. B., Zhou, Q. C., Chi, S. Y., Yang, Q. H. & Liu, C. W. (2007). Optimal dietary protein requirement for juvenile ivory shell, *Babylonia areolata*. *Aquaculture* 270, 186-192.

## คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

### การเตรียมต้นฉบับ

ต้นฉบับพิมพ์เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์เวิร์ด (Microsoft Word) เวอร์ชัน 2003 ขึ้นไป โดยใช้ตัวอักษร (Font) แบบ TH Sarabun PSK ทั้งฉบับ ขนาดตัวอักษร 16 เว้นขอบกระดาษด้านซ้ายและด้านขวา 1 นิ้ว ด้านบนและด้านล่าง 1 นิ้ว โดยความยาวของเรื่องพร้อมตารางและภาพประกอบรวมแล้วไม่เกิน 14 หน้ากระดาษ A4 โดยเว้นระยะห่าง 1 บรรทัด หากต้นฉบับที่จะส่งมีรูปภาพประกอบด้วยให้แทรกรูปภาพดังกล่าวในตำแหน่งที่เหมาะสมในต้นฉบับ ไม่มีการส่งคืนต้นฉบับในกรณีที่ไม่ผ่านการพิจารณาแต่จะแจ้งให้ทราบ

### การจัดเตรียมและส่งต้นฉบับ

1. จัดส่งไฟล์ต้นฉบับ 2 ชุด คือ ไฟล์ MS Word และ ไฟล์ PDF พร้อมระบุเลขหน้า (มุมขวาบน) และ ระบุเลขบรรทัด (Line numbers) กำกับในต้นฉบับทุกหน้า
2. จัดรูปแบบไฟล์โดยแยกส่วนของบทคัดย่อ / Abstract / แยกจากบทนำ รวมทั้ง เอกสารอ้างอิง / รูปภาพ / ตาราง ไว้ส่วนท้าย โดยรูปภาพหรือตาราง ให้โดยระบุลำดับที่ต้องการแทรกไว้ในเนื้อหาและต้องใช้ตัวอักษร (Font) แบบ TH SarabunPSK ทั้งในรูปภาพและเนื้อหาตาราง
3. ระบุ E-mail address ที่สะดวกในการติดต่อประสานงานและติดตามสถานะบทความสำหรับการติดต่อในระบบวารสารฯ ซึ่งไม่จำเป็นต้องเป็นของ Corresponding author

**หมายเหตุ :** กรณีผู้แต่งจัดเตรียมต้นฉบับไม่ครบถ้วนตามข้อกำหนดข้างต้น กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขเรื่องที่จะส่งพิจารณาตีพิมพ์ตามเห็นสมควร และอาจส่งคืนต้นฉบับมายังผู้เขียนเพื่อแก้ไขหรือปรับปรุงเพิ่มเติมหรือไม่รับพิจารณาตีพิมพ์แล้วแต่กรณี

สามารถส่งบทความต้นฉบับเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตรได้ที่ <http://jtiapnu.org>

## องค์ประกอบของบทความวิจัย

1. ชื่อเรื่อง (Title) เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ชื่อเรื่องควรสอดคล้องและสื่อความหมายได้ดีกับเนื้อหาในเรื่อง
2. ชื่อผู้เขียน ผู้ร่วมเขียน และที่อยู่ (Author, co-authors and address) เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่ติดต่อได้สะดวก และกรณียบอก E-mail ของผู้รับผิดชอบ (Corresponding author) เพื่อความรวดเร็วในการติดต่อ
3. บทคัดย่อ (Abstract) มีความยาวไม่เกิน 300 คำ ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
4. คำสำคัญ (Keywords) เป็นคำหรือข้อความสั้นๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการวิจัย ไม่เกิน 5 คำ ระบุอยู่ที่บทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
5. บทนำ (Introduction) บรรยายที่มาและความสำคัญของปัญหา ควรมีการทบทวนวรรณกรรม (Literature review) ประกอบรวมทั้งอธิบายถึงจุดประสงค์ของการวิจัย
6. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) อธิบายเกี่ยวกับวัสดุ อุปกรณ์และวิธีการที่ใช้ในการวิจัย หรือตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา กรณีที่เป็นการคิดค้นขึ้นใหม่ควรอธิบายอย่างละเอียด ถ้าเป็นวิธีการที่ทราบกันอยู่แล้วและเคยมีผู้ตีพิมพ์แล้วควรบรรยายในลักษณะอ้างอิงและอธิบายเฉพาะส่วนที่ดัดแปลงหรือเพิ่มเติมพร้อมทั้งวิธีวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ
7. ผลการทดลอง (Results) บรรยายผลการทดลองให้ละเอียดและเข้าใจง่าย หากเป็นไปได้ควรนำเสนอผลในรูปแบบตาราง รูปภาพ หรือกราฟพร้อมคำอธิบายเหนือตารางและอธิบายรายละเอียดไว้ได้รูปภาพ โดยเรียงตามลำดับให้สอดคล้องกับหมายเลขของรูปภาพและตารางที่นำเสนอ ควรระบุความหมายของสัญลักษณ์ที่ใช้ ในกรณีที่กำหนดเครื่องหมายแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ให้กำกับ P-value ที่ใช้ในการ วิเคราะห์ผลการทดลอง เช่น P-value,  $P < 0.05$  และ  $P > 0.05$
8. วิจารณ์ (Discussion) วิจารณ์ผลการทดลองด้วยหลักการที่ออกมาจากผลการวิจัย และการเปรียบเทียบข้อมูล โดยควรเปรียบเทียบกับผลการทดลอง ของผู้วิจัยอื่น รวมถึงเน้นสิ่งที่ได้ค้นพบ ตลอดจนปัญหาข้อโต้แย้งที่อาจเกิดขึ้น
9. สรุป (Conclusion) สรุปประเด็นสำคัญ แนวทางหรือข้อเสนอแนะในการนำไปใช้ประโยชน์รวมถึงคุณค่าของงานเพื่อผู้อ่านจะได้เข้าใจมากขึ้น
10. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) สำหรับแหล่งทุนสนับสนุนการวิจัย ผู้ให้ความช่วยเหลือหรือความร่วมมือในการสนับสนุนงานค้นคว้าวิจัย (ถ้ามี)
11. เอกสารอ้างอิง (References) เขียนโดยใช้ระบบนาม-ปี เรียงตามลำดับอักษรและเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

## การเขียนเอกสารอ้างอิงใช้ตาม APA style 7th

**1.4.1 การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง (In text citation)** ให้ใช้ระบบนาม-ปี (Author-date citation system) โดยระบุชื่อผู้เขียนและปีที่พิมพ์ไว้ข้างหน้าหรือข้างท้ายข้อความที่ต้องการอ้างอิง เพื่อบอกแหล่งที่มาของข้อความนั้น ซึ่งมีหลักเกณฑ์ดังนี้

1.4.1.1 กรณีอ้างอิงก่อนข้อความ ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนเฉพาะนามสกุล (Last Name) เว้นวรรค ตามด้วยปีที่พิมพ์ภายในวงเล็บ เช่น Fryxell (1995) .....

1.4.1.2 กรณีอ้างอิงท้ายข้อความ ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนเฉพาะนามสกุล (Last Name) ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เว้นวรรคและปีที่พิมพ์ภายในวงเล็บ เช่น (Fryxell, 1995)

1.4.1.3 เรื่องที่มีผู้เขียน 2 คน ให้เชื่อมด้วย & เช่น Falconer & Mackay (1996) ...../ (Falconer & Mackay, 1996)

1.4.1.4 เรื่องที่มีผู้เขียนตั้งแต่ 3 คนขึ้นไป ให้เขียนนามสกุลเฉพาะคนแรกแล้วตามด้วย et al เช่น Komiyama et al. (2014) ...../ (Komiyama et al., 2014)

1.4.1.5 เรื่องที่มีผู้เขียนเป็นหน่วยงานและมีชื่อย่อ เช่น American Psychological Association (APA, 2020) ...../ (American Psychological Association [APA], 2020)

1.4.1.6 เรื่องที่มีผู้เขียนเป็นหน่วยงานไม่มีชื่อย่อ เช่น University of California (2020) ...../ (University of California, 2020)

1.4.1.7 ข้อความที่มีเอกสารอ้างอิงมากกว่าหนึ่งเอกสารให้คั่นระหว่างผู้เขียนด้วยเครื่องหมาย “ ; ” และเรียงตามปี เช่น (Cui et al., 2006; Bagheri Sarvestani et al., 2013)

1.4.1.8 การอ้างอิงที่ไม่ได้อ้างจากต้นฉบับ แต่เป็นการอ้างต่อให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (Cited by) เช่น (Smith et al., 2013 cited by Walker, 2010)

1.4.1.9 กรณีผู้เขียนคนเดียวกัน เสนอเอกสารปีเดียวกัน ให้กำกับตัวอักษรไว้ที่ปี เช่น (Walker, 1998a; 1998b)

## **1.4.2 การอ้างอิงท้ายบทความ (References)**

1.4.2.1 เขียนเรียงรายการอ้างอิงตามตัวอักษรของนามสกุลผู้แต่งคนแรก

1.4.2.2 ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนเฉพาะนามสกุล ตามด้วยตัวอักษรย่อของชื่อหน้า ชื่อกลาง (ถ้ามี) ปีที่พิมพ์ ชื่อบทความ ชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ เลขหน้าและ DOI เช่น

Thongsaiklaing, T., Nipitwattanaphon, M., & Ngrnsisi, L. (2018). The transformer gene of the pumpkin fruit fly, *Bactrocera tau* (Walker), functions in sex determination, male fertility and testis development. *Insect Mol. Biol.* 27(6), 766-779. <https://doi.org/10.1111/imb.12517>

1.4.2.3 กรณีอ้างอิงบทความจากอินเทอร์เน็ต (Internet) ให้ระบุชื่อผู้เขียน วัน เดือนและปีที่เผยแพร่ทางอินเทอร์เน็ต (สืบค้นข้อมูลเมื่อ ปี-เดือน-วัน) ชื่อเรื่อง สำนักพิมพ์ เช่น

Machado, J., & Turner, K. (2020, March 7). The future of feminism. *Vox.*

<https://www.vox.com/identities/2020/3/7/21163193/international-womens-day-2020>

Center for Systems Science and Engineering. (2020, May 6). COVID-19 dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). Johns Hopkins University & Medicine, Coronavirus Resource Center. Retrieved May 6, 2020, from [https:// coronavirus.jhu.edu/map.html](https://coronavirus.jhu.edu/map.html)

1.4.2.4 กรณีอ้างอิงตำรา ให้ระบุชื่อผู้เขียนปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา ครั้งที่พิมพ์และชื่อ บรรณาธิการ (หากมี) สำนักพิมพ์ เช่น

Gilbert, S. F. (2010). *Developmental Biology*. Sinauer Associated, Inc.

Robinson, P. H., Okine E. K., & Kennelly, J. J. (1992). Measurement of protein digestion in ruminants. In: S. Nissen (Ed). *Modern methods in protein nutrition and metabolism*. (p. 121-127). Academic Press.

1.4.2.5 กรณีอ้างอิงจากวิทยานิพนธ์ออนไลน์ ให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อมหาวิทยาลัย และเว็บไซต์ เช่น

Gerena, C. (2015). *Positive Thinking in Dance: The benefits of positive self-talk practice in conjunction with somatic exercises for collegiate dancers* [Master's thesis, University of California Irvine]. University of California, eScholarship. <https://escholarship.org/uc/item/1t39b6g3>

1.4.2.6 กรณีอ้างอิงบทความจากการประชุมวิชาการ (Conference proceedings) ให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อการประชุมวิชาการ สถานที่จัดประชุม วัน-เดือน-ปีที่ประชุม เช่น

Thongsaiklaing T. (2020, February 5-7). Identification of vitellogenin protein in hemolymph of mud crab (*Scylla serrata* Forsskal, 1775) using LC MS/MS technique. The proceedings of the 58th Kasetsart University annual conference "Inno-creation Thailand for sustainable development goals (SDGs)". Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

1.4.2.7 หากเนื้อหาของเอกสารที่นำมาใช้อ้างอิงที่ไม่ใช่ภาษาอังกฤษ ให้เขียนอ้างอิงเป็นภาษาอังกฤษพร้อมระบุภาษาที่ใช้เขียนในบทความนั้นๆ ไว้ในวงเล็บด้านท้ายสุดของรายการเอกสารอ้างอิงนั้น เช่น

Datumada, H., & Thongsaiklaing, T. (2021). 22 bp INDEL mutation polymorphism of *dopamine receptor D2 (DRD2)* gene of Thai native chicken in Narathiwat province. *Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine* 15(2): 189-197. (in Thai)