ผลของ *Bacillus* S11 ต่อการเติบโต , การรอดชีวิต และความต้านทานต่อการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในหอยหวาน *Babylonia areolata*

นางสาววาเลนไทน์ อินทิยศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF *Bacillus* S11 ON GROWTH, SURVIVAL AND RESISTANCE TO *Vibrio harveyi* INFECTION IN SPOTTED BABYLON *Babylonia areolata*

Miss Valentine Intiyot

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของ *Bacillus* S11 ต่อการเติบโต, การรอดชีวิต และความต้านทานต่อการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในหอยหวาน *Babylonia areolata*
โดย	นางสาววาเลนไทน์ อินทิยศ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.....กรรมการ

(ดร.ศิราวุธ กลิ่นบุหงา)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วาเลนไทน์ อินทิยศ : ผลของ *Bacillus* S11 ต่อการเติบโต, การรอดชีวิต และความต้านทานต่อการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในหอยหวาน *Babylonia areolata*. (EFFECT OF *Bacillus* S11 ON GROWTH, SURVIVAL AND RESISTANCE TO *Vibrio harveyi* INFECTION IN SPOTTED BABYLON *Babylonia areolata*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ.ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ , 73 หน้า.

ศึกษาผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารเลี้ยงหอยหวานที่แตกต่างกัน 5 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม (Control) เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติ กลุ่มที่เลี้ยงโดยการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 อัตราส่วนเซลล์ *Bacillus* S11 (กรัม) : อาหารหอยหวาน (กรัม) 1:2, 1:5 และ1:10 และกลุ่มอาหารธรรมชาติ (ปลาข้างเหลือง) ต่อการเติบโตและอัตราการรอดของหอยหวาน ทำการเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียนเป็นเวลา 4 เดือน โดยหอยหวานมีความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย 1.14±0.10 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.3±0.1 กรัม ความหนาแน่น 214 ตัวต่อตารางเมตร พบว่าในเดือนที่ 1 และ 2 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม *Bacillus* S11 มีการเติบโตโดยความยาวเปลือกและน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มปลาสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อเลี้ยงครบ 4 เดือน พบว่าการเติบโตโดยความยาวเปลือก น้ำหนัก และอัตราการรอดชีวิตของหอยหวานไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง แต่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของหอยหวานมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) หลังการเลี้ยงหอยหวานเป็นเวลา 4 เดือน นำมาทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคโดยการเหนี่ยวนำด้วยการแช่เชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอัตราส่วน 1:2, 1:5 และ 1:10 มีอัตราการรอด 100%, 100% และ 96.67% ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมและกลุ่มอาหารธรรมชาติมีอัตราการรอด 66.67% และ 70% ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต วาเลนไทน์ อินทิยศ

ปีการศึกษา 2553 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5072461923 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : *Babylonia areolata* / *Bacillus* S11 / *Vibrio harveyi*

VALENTINE INTIYOT : EFFECTS OF *Bacillus* S11 ON GROWTH, SURVIVAL AND RESISTANCE TO *Vibrio harveyi* INFECTION IN SPOTTED BABYLON *Babylonia areolata*. ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D., COADVISOR : ASSOC. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D., 73 pp.

The effects of supplementation *Bacillus* S11, a probiotics diets on spotted babylon were conducted for growth and survival determination. Diets were divided into five different groups: Control diet (non-supplemented), diets with fresh cell of *Bacillus* S11 supplementation at ratios of 1:2, 1:5 and 1:10 (*Bacillus*/diet w/w) and fresh fish *(Selaroides leptolepis)*. The snails with initial average shell length of 1.14 ± 0.10 cm and weight of 0.3 ± 0.1 g were stocked at a density of 214 individuals per m^2 in aquaria with a closed recirculating seawater system for 4 months. The result for 1 and 2 month showed spotted babylon fed with Bacillus S11 has growth in shell length and in body weight of were higher than those of control group and fresh fish significantly ($p< 0.05$). The result for 4 month all treatment groups indicated that growth in shell length, body weight and survival rate were not differences among the treatment. Feed conversion ratio of spotted babylon was significantly different ($p<0.05$). After 4 months feeding trials, spotted babylon were challenged by immersion of *Vibrio harveyi* suspension 10^6 CFU/ml. within 96 hours. The results showed that spotted babylon fed diets with *Bacillus* S11 supplemented ratio 1:2 ,1:5 and 1:10 survived 100%, 100% and 96.67%, respectively whereas the groups fed control diet and fresh fish has survival rate 66.67% and 70% was significant differences ($p<0.05$).

Field of Study : Biotechnology Student's Signature .....

Academic Year : 2010 Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้ด้วยได้รับความกรุณา จากอา จารย์ที่ ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น ช่วยเหลือ แก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และให้กำลังใจมาโดยตลอด ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั้งเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ดร.นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร .ศิรุษา กฤษณะพันธุ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเลี้ยงหอยหวาน รวมทั้งคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิติธรรมยง ดร. ศิราวุธ กลิ่นบุหงา และ รองศาสตราจารย์ ดร. ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ ที่กรุณาเป็นประธาน และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ และ น้องๆ ภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ คุณเสรี ดอนเหนือ ที่ให้ความช่วยเหลือที่ให้ คำแนะนำในการทำอาหาร และจัดหาวัตถุดิบสำหรับทำการวิจัย

ขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์แบบครบวงจร จ.เพชรบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างปฏิบัติ

ขอบคุณสัตว์ทดลองทุกชีวิตที่เสียสละตนในการทดลองครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง เพื่อนๆ และทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจ สนับสนุนทุกสิ่งทุกอย่างด้วยความเมตตา และความรักมาโดยตลอดในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ฏ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 17

3.1 สถานที่วิจัย 17

3.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย 17

3.3 การวางแผนการทดลอง 17

3.4 การเตรียมระบบเลี้ยง 18

3.5 สัตว์ทดลอง 20

3.6 อาหารทดลอง 20

3.7 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร 22

3.8 การเลี้ยงหอยหวาน 24

3.9 การทดสอบความสามารถในการต้านทานโรค 25

3.10 การประเมินผล และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 26

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 28

4.1 จำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกใน อาหารหอยหวาน 28

4.2 การทดสอบคุณค่าทางอาหาร 28

หน้า

4.3 ผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกใน อาหารผสมต่อการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวาน..... 29

4.4 ผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกใน อาหารผสมต่อการ เติบโตโดยน้ำหนักของหอย หวาน..... 30

4.5 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 32

4.6 อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซนต์) 32

4.7 ทดสอบความต้านทานโรคเพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้หอยตาย 50%..... 33

4.8 การทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (challenge test)..... 33

4.9 คุณภาพน้ำทะเล..... 34

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 35

รายการอ้างอิง 39

ภาคผนวก..... 45

ภาคผนวก ก..... 46

ภาคผนวก ข..... 47

ภาคผนวก ค..... 55

ภาคผนวก ง..... 71

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 73

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 อาการของหอยเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปล ง..... 11

ตารางที่ 2 คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติก และสารปฏิชีวนะ 14

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของชนิดและปริมาณสารอาหารที่ใช้ในการทดลอง 21

ตารางที่ 4 จำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 (CFU/g)ในอาหารหอยหวาน 28

ตารางที่ 5 คุณค่าทางอาหารของอาหารทดลอง ทั้ง 5 สูตร..... 28

ตารางที่ 6 ความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร)ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลองเป็นเวลา 4 เดือน..... 29

ตารางที่ 7 อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร) การเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือกและอัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง..... 29

ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ย(กรัม)ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน.... 30

ตารางที่ 9 อัตราการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย(กรัม) การเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนักและอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง 31

ตารางที่ 10 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของหอยหวานในแต่ละ ชุดทดลองเป็นเวลา 4 เดือน..... 32

ตารางที่ 11 อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซนต์) ในแต่ละชุดทดลองเป็นเวลา 4 เดือน 32

ตารางที่ 12 อัตราการรอดชีวิตของหอยหวานหลังทดสอบด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน..... 33

ตารางที่ 13 อัตราการรอดชีวิ ตของหอยหวานหลังทดสอบด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml..... 33

ตารางที่ 14 คุณภาพน้ำทะเลในการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน 34

ตารางที่ 15 Descriptive ความยาวเปลือก เฉลี่ยของหอยหวาน..... 55

ตารางที่ 16 Descriptive ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวาน..... 57

ตารางที่ 17 ANOVAของความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวาน 58
ตารางที่ 18 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเ ฉลี่ย เดือนที่ 1..... 59
ตารางที่ 19 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ย เดือนที่ 2..... 59
ตารางที่ 20 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ย เดือนที่ 3..... 60
ตารางที่ 21 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ย เดือนที่ 4..... 60
ตารางที่ 22 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยความ ยาวเปลือก..... 61
ตารางที่ 23 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเติบโตโดย ความยาวเปลือก..... 61
ตารางที่ 24 Descriptive น้ำหนักตัวเฉลี่ยของหอยหวาน..... 62
ตารางที่ 25 Descriptive ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำห นัก และอัตราการเจริญเติบโตโดย น้ำหนักของหอยหวาน..... 64
ตารางที่ 26 ตาราง ANOVA ของน้ำหนักตัวเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก และอั ตรา การเติบโตโดยน้ำหนักของหอย หวาน..... 65
ตารางที่ 27 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่ 1 66
ตารางที่ 28 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่ 2 66
ตารางที่ 29 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่ 3 67
ตารางที่ 30 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่ 4 67
ตารางที่ 31 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโด ยน้ำหนัก 68
ตารางที่ 32 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเติบโตโดย น้ำหนัก..... 68

หน้า

ตารางที่ 33 Descriptive อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น เนื้อ..... 69
ตารางที่ 34 ตาราง ANOVA ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น เนื้อ..... 70
ตารางที่ 35 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 70
ตารางที่ 36 Descriptive ของอัตราการรอดของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค 71
ตารางที่ 37 ตาราง ANOVA ของอัตราการรอดของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค 72
ตารางที่ 38 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการรอดของ
หอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค 72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 หอยหวาน (*Babylonia areolata*)..... 5
ภาพที่ 2 การกินอาหารของหอยหวานแบบกลุ่ มก้อน..... 6
ภาพที่ 3 ระบบทางเดินอาหารของหอยหวาน 6
ภาพที่ 4 ระบบบ่อเลี้ยงหอยหวาน แบบระบบน้ำทะแลหมุนเวียน 18
ภาพที่ 5 ระบบกรองชีวภาพบ่อเลี้ยงหอยหวาน 19
ภาพที่ 6 แผนผังระบบบ่อเลี้ยงหอยหวาน แบบระบบน้ำทะเล หมุนเวียน..... 19
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร 23
ภาพที่ 8 การเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมแบบกึ่งเปียก 24
ภาพที่ 9 การศึกษาการเติบโตโดยการวัดความยาวเปลือกและน้ำหนักหอยเป็นรายตัว 25
ภาพที่ 10 ความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร)ของหอยหวานในแต่ละชุ ดทดลอง..... 30
ภาพที่ 11 น้ำหนักตัวเฉลี่ย(กรัม)ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลอง 31
ภาพที่ 12 อัตราการรอดชีวิตหลังทดสอบด้วยเชื้อ *V.harveyi* ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml..... 34

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หอยหวานเป็นหอยทะเลฝาเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นิยม บริโภค อย่างแพร่หลาย ส่งผลให้หอยหวานมีปริมาณความต้องการสูงทั้งตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากหอยหวานเป็นสัตว์ที่เนื้อมีรสชาติดี เลี้ยงง่าย ขายได้ราคาสูง (ลือชัย ดรุณชูม และคณะ , 2548) หอยหวานมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 18.9% ซึ่งสูงกว่าปูม้า หมึก และหอยเป๋าฮื้อ แต่มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียง กับกุ้ง ปลาทู ไก่ และหมู หอยหวาน มีกรดอะมิโนโดยเฉพาะ Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) หอยหวานมีปริมาณ กรด ไขมัน อิ่มตัว (Saturated fatty acids) รวม 2.52 กรัม/เนื้อหอย 100 กรัมและมีปริ มาณ กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) รวม 0.54 กรัม/เนื้อหอย 100 กรัม (http://www.thaifeed.net)

หอยหวานแพร่กระจายทั่วไปบริเวณอ่าวไทย ระดับความลึกประมาณ 5-20 เมตร บริเวณพื้นทะเลที่เป็นทรายหรือทรายปนโคลน เดิมผลผลิตหอยหวานส่วนใหญ่ได้ มา จากเครื่องมือ ประมงประเภทลอบดักจากธรรมชาติ ซึ่งการทำประมงอย่างต่อเนื่องส่งผลให้ประชากรหอยหวานในแหล่งน้ำธรรมชาติลดลง หอยหวานที่จับได้มีขนาดเล็กลง ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ส่งผลให้ราคาหอยหวานเพิ่มสูงขึ้น (Panichasuk, 1996; Chaitanawisutiet al., 2002) ดังนั้นการศึกษาพัฒนาการเพาะเลี้ยงหอยหวาน จึงถือเป็นการเพิ่มผลผลิต หอยหวานตอบสนองต่อความต้องการของตลาด ปรับปรุงผลผลิต และป้องกันการประมงที่มีมากเกินศักยภาพการผลิต

ข้อมูลพื้นฐานที่ต้องศึกษาในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ ออาหาร เนื่องจากอาหารเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต สุขภาพ และการรอดชีวิต (Chaitanawisuti et al.,2001) การเพาะเลี้ยงหอยหวานส่วนใหญ่นิยมใช้ปลาสดเป็นอาหาร เนื่องจากราคาถูก สามารถ หาได้ง่าย แต่การให้ปลาสดเป็นอาหารมีข้อจำกัด เช่น ระยะเ วลา ในการ เก็บรักษาสั้น ต้องจัดหาบ่อยครั้ง คุณค่าทางโภชนาการไม่ครบถ้วนตามที่สัตว์น้ำต้องการ เศษอาหารที่เหลือยังก่อให้เกิดมลภาวะในแหล่งน้ำ ทำให้เกิดโรคได้ง่าย (ขนิษฐา แสงงาม, 2540) อีกทั้งการเลี้ยงหอยด้วยปลาข้างเหลือง ปลาเป็ด หรือปลาเลย ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 6-8 เดือน จะประสบปัญหาความไม่เพียงพอของปลาเหยื่อ ขาดแคลนในช่วงมรสุม คุณภาพปลาไม่ดี ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพน้ำในระบบเลี้ยง และการเติบโตของหอยหวานที่ต่ำลง (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์, 2545)

การใช้อาหารสำเร็จรูปแทนการใช้ปลาสดถือเป็นการหลีกเลี่ยงปัญหา ต่างๆ เช่น อาหารสำเร็จรูปมีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน ง่ายต่อการเก็บรักษา อาหารเกิดการเน่าเสียยาก ไม่จำเป็นต้องจัดหาบ่อยครั้ง (Boonyaratpalin, 1991) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีปริมาณสารอา หาร หลัก ครบถ้วนเหมาะ สม กับ ระดับ ความต้องการของหอยหวาน และทำการเสริมสิ่งที่จำเป็นต่อการเติบโต และสุขภาพของหอยหวาน เช่น จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Probiotics) ถือเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เหมาะสมในการหลีกเลี่ยงปัญหา ดังกล่าวในระบบเพาะเลี้ยงหอยหวาน รวมถึงเป็นการเพิ่มคุณภาพของอาหาร และคุณภาพของสัตว์น้ำด้วย

จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อคนและสัตว์ เมื่อเสริมในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยให้เกิดประโยชน์ต่อทางเดินอาหาร โดยจะ ควบคุมชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในบริเวณทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพสมดุล (Dimer และ Gibson, 1998; Zimmer และ Gibson, 1998; Sanders, 1998; Vaughan *et al.,* 1999; Zubillaga *et al.,* 2001; Holzapfel และSchillinger, 2002) มีการใช้โพรไบโอติกอย่างแพร่หลายทั้งในมนุษย์ (Holzapfel และคณะ,1998) และสัตว์บก เช่น สุกร วัว แพะ และไก่ (Fox, 1988; Fuller, 1992)

การใช้โพรไบโอติกในสัตว์น้ำเริ่มมีการศึกษาในปลาซัลมอน โดยมีการนำสาหร่าย *Tetraselmis suecica* (Austin และคณะ, 1992) และ *Vibrio alginolyticus* (Austin และคณะ , 1995) เสริมลงในอาหารผสมที่ใช้สำหรับเลี้ยงปลาซัลมอน พบว่าปลาซัลมอนมีน้ำหนัก ตัว เพิ่มขึ้น และเมื่อทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อก่อโรค *Aeromonas salmonicida* พบว่าปลาซัลมอนมีอัตราการตายลดลง

วรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ทำการคัดแยกแบคทีเรียจากบริเวณทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำได้เชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก จากนั้นนำเชื้อดังกล่าวผสมในอาหารกุ้งกุลาดำ ทำการเพาะเลี้ยงในระบบน้ำ ทะเล หมุนเวียนแบบปิดเป็นเว ลา 100 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 มีอัตรา การเจริญเติบโต การ รอด ชีวิต และมีความสามารถต่อการต้านทานโรคจากเชื้อ *Vibrio harveyi* สูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ ไม่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ธรรมรัตน์ วาจาสัตย์ (2549) มีการใช้โพรไบโอติกที่จำหน่ายในเชิงการค้าสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล นำมาเสริมกับเนื้อปลาสดให้เป็นอาหารแก่หอยห วาน ที่ปริมาณ แตกต่างกัน คือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก การเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก และอัตราการรอดของหอยหวานไม่แตกต่างกันในทุกการทดลอง ($P>0.05$)

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงหอยหวานให้มี อัตรา การ เจริญ เติบโต และการรอดชีวิตสูงขึ้น เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปในการเพาะเลี้ยงหอยหวานในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในสัดส่วนที่เหมาะสมในอาหารผสมต่อการเติบโต และการรอดชีวิตของหอยหวาน
2. ศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อโรคของหอยหวานจากเชื้อ *Vibrio harveyi* ภายหลังจากการเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ดังสัดส่วนที่ได้ในข้อ 1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้อาหารสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงหอยหวานที่เสริมด้วยเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต และการรอดชีวิตของหอยหวาน

ลดความเสี่ยงและโอกาสในการเกิดโรควิบริโอซีสในหอยหวาน จาก การเลี้ยงด้วยอาหารผสมที่เสริมด้วยเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน (Taxonomy)

หอยหวาน (หอยตุ๊กแก หรือหอยเทพรส) มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Spotted - Babylon จำแนกตามหลักอนุกรมวิธาน ดังนี้

Phylum	Mollusca
Class	Gastropoda
Subclass	Prosobranchia
Order	Neogastropoda
Family	Buccinidae
Genus	*Babylonia*
Species	*Babylonia areolata* Link 1807

ลักษณะโดยทั่วไป (General characters)

หอยหวานเป็นหอยทะเลฝาเดียวที่มีเปลือกค่อนข้างหนาทรงไข่ (ovate) ผิวเรียบ เปลือกมีพื้นเป็นสีขาว และแต้มสี่เหลี่ยมสีน้ำตาลปนดำขนาดใหญ่เรียงเป็นแถว 3 แถวบนวงลำตัว (body whorl) บริเวณปลายสุดของเปลือกจะมีลักษณะแหลม โดยส่วนหัวจะขดเป็นเกลียว (spire) และมีร่องที่ไม่ลึกมากนัก มีฝาปิดเปลือก (operculum) เป็นรูปทรงไข่ที่สามารถปิดช่องเปิดลำตัวได้ มีหนวด (tentacle) 1 คู่ และมีตาอยู่ที่ปลายแทนทาเคิล 1 คู่ มีท่อดูดอาหารคล้ายงวง (proboscis) 1 อัน (ภาพที่ 1) (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545)

การแพร่กระจาย (Distribution)

หอยหวานอาศัยอยู่บริเวณพื้นทะเลที่เป็นทรายหรือบริเวณท รายปนโคลน ที่ระดับความลึกประมาณ 5-20 เมตร โดยหอยหวานจะแพร่กระจายทั่วไปบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ได้แก่ จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี กระบี่ ระนอง และสตูล

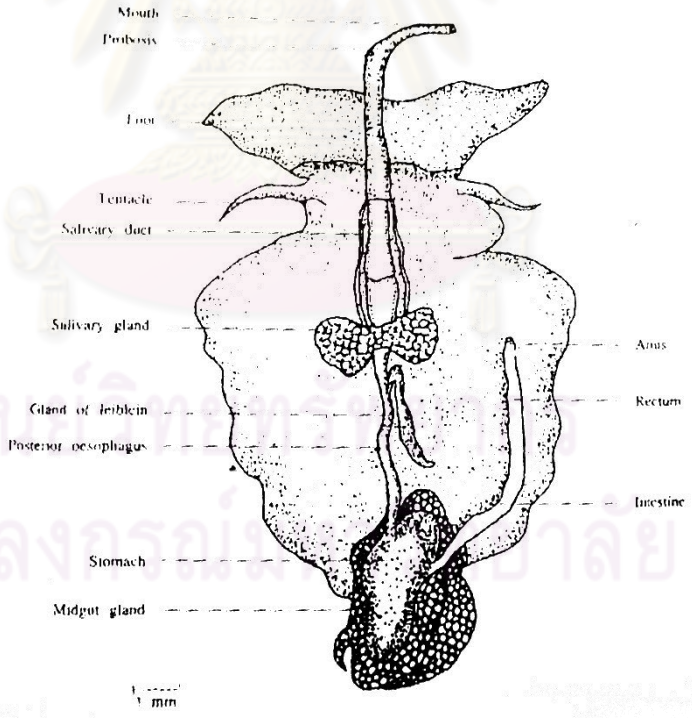
ภาพที่ 1 หอยหวาน (*Babylonia areolata*)

ที่มา; http://kanchanapisek.or.th

การกินอาหาร (Feeding)

พฤติกรรมการกินอาหารของหอยหวานสามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ ตามช่วงชีวิต คือลูกหอยหวานระยะวัยอ่อนจะมีการดำรงชีพแบบแพลงก์ตอน (plankton) ล่องลอยอยู่ในมวลน้ำ และกินอาหารด้วยการกรอง (filter feeder) โดยลูกหอยมีอวัยวะคล้ายแปรง เป็นวงเรียกว่า Velum สำหรับโบกพัดน้ำทะเลเข้าสู่ช่องปากและกรองกินแพลงก์ตอนพืช สำหรับลูกหอยหวานระยะลงพื้นถึงระยะตัวเต็มวัยจะมีการดำรงชีพบนพื้นทรายและกินเนื้อสัตว์ เป็นอาหาร ทั้งในสภาพอาหาร สด และไม่สด โดยลักษณะการกินอาหารจะเป็นการกินแบบกลุ่มก้อน (ภาพที่ 2) โดย หอยหวานจะมีต่อมน้ำลายสำหรับสร้างน้ำย่อยแล ะส่ง น้ำย่อย ออกทางงวง ยาว ที่เรียกว่า Proboscis เพื่อย่อยอาหารภายนอก ร่างกายแล้วจึงดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย โดยงวง สามารถ ยืดยาวประมาณ 8 – 10 เซนติเมตร ดังนั้นหอยหวานจึงไม่มีปัญหาในการกินอาหารแบบกลุ่มก้อน ปกติเมื่อหอยหวานกินอาหารอิ่มแล้วหอยหวานจะเดินออกจากเหยื่อและฝังตัวอยู่ใต้ชั้นทรายทัน ที ระบบทางเดินอาหารของหอยหวานประกอบด้วยปาก หลอดอาหาร กระเพาะ ลำไส้ และทวารหนัก (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 2 การกินอาหารของหอยหวานแบบกลุ่มก้อน
ที่มา; นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์ 2545



ภาพที่ 3 ระบบทางเดินอาหารของหอยหวาน
ที่มา; นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์ 2545

การสืบพันธุ์ (Reproduction)

หอยหวานเป็นสัตว์ที่มีเพศแยก (dioecious) คือเพศผู้และเพศเมียไม่ได้อยู่ ภาย ในตัวเดียวกัน และ ไม่สามารถจำแนกเพศของหอยหวานได้จาก ลักษณะภายนอกของ เปลือ ก การจำแนกเพศของหอยหวานสามารถทำ ได้เมื่อหอย หวาน ยืดตัวออก มาภายนอกเ ปลือก โดยเพศผู้สามารถเห็นอวัยวะสืบพันธุ์ที่เรียกว่า Penis มีรูปร่าง คล้ายติ่งรูปใบไม้ (leaftlet shape) มีสีเหลืองอ่อนอยู่บริเวณโคนหนวดด้านขวา สำหรับเพศเมียจะไม่พบอวัยวะใดในตำแหน่งเดียวกัน ระบบสืบพันธุ์เพศเมียประกอบด้วยรังไข่ (ovary) อยู่บริเวณปลายสุดของเปลือก มีต่อมสร้างไข่ขาว (albumin gland) และมีต่อมสร้างเปลือกหุ้มไข่ (capsule gland) สำหรับระบบสืบพันธุ์ของเพศผู้ ประกอบด้วยอัณฑะ (testis) อยู่บริเวณปลายของส่วนเปลือกเช่นกัน และมี ต่อมสร้างฮอร์โมนเพศ (prostate gland) และท่อส่งสเปิร์ม (sperm duct) และช่องเปิดออกทาง Penis โดยการผสมพันธุ์จะเกิดโดยการจับคู่กันระหว่างหอยหวานเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งไข่จะ ได้รับการผสม กับอสุจิภาย ในท่อนำไข่ เมื่อไข่ที่ได้รับการผสมจะถูกห่อหุ้มด้วยฝักไข่แล้วปล่อยสู่ภายนอกร่างกายเพศเมีย โดย มี pedal gland ที่อยู่บริเวณเท้า ทำหน้าที่ผลิตเมือกสำหรับยึดฝักไข่ให้ติดกับวัสดุอื่น

วงจรชีวิต (Life cycle)

วงจรชีวิตของหอยหวานเริ่มจากไข่ที่ ได้รับการ ปฏิสนธิ ที่เรียกว่า Fertilized eggs พัฒนาเป็นลูกหอยระยะพัฒนาที่เรียกว่า Trocophore ภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลัง จาก การว างไข่ ลูกหอยระยะนี้จะเจริญอยู่ภายในฝักไข่เป็นระยะเวลาประมาณ 4-5 วัน หลังจากนั้น จะได้ ลูกหอยระยะวัยอ่อนที่เรียกว่า Veliger จากนั้นจึงฟักออกจากฝักไข่และดำรงชีพแบบแพลงก์ตอนล่องลอยอยู่ในมวลน้ำ โดยลูกหอยระยะวัยอ่อน นี้จะเจริญเ ข้าสู่ลูกหอยระยะลงพื้น (Settled juveniles) ภายในเวลาประมาณ 14-16 วัน ลูกหอยตัวอ่อนที่ลงเกาะใหม่จะ มีความกว้างและความยาวของเปลือกโดยเฉลี่ย 1.16 และ 1.52 มิลลิเมตร ตามลำดับ อัตราการเติบโตของตัวอ่อนที่ลงเกาะแล้ว มีความยาวและน้ำหนักเพิ่มขึ้น 4.26 มิลลิเมตร/เดือน ตามลำดับ ลูกหอยหวานในระยะนี้จะ มีเปลือกและรูปร่างสมบูรณ์เหมือนพ่อแม่ทุกประการ และ มีการดำรงชีพด้วยการคืบคลานบนพื้นทะเล โดยหอยสามารถเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ (First maturity) ได้เมื่อมีอายุประมาณ 6 เดือนหลัง จาก วางไข่ หรือ มีความยาวเปลือกประมาณ 3.6 เซนติเมตร (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ , 2545; Chaitanawisuti and Kritsanapuntu, 1997)

ระบบการเพาะเลี้ยงหอยหวาน

ปัจจุบันการเลี้ยงหอยหวานระยะวัยรุ่นถึงหอยหวานขนาดตลาดเชิงพาณิชย์ นั้น ระบบน้ำทะเลที่นิยมใช้ได้แก่ระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอด (flow-through seawater system) และระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน (recirculating seawater system) ซึ่งมีลักษณะเป็นระบบปิด (closed system) น้ำทะเลที่ใช้สำหรับการเลี้ยงหอยหวาน ควรมีความเค็มอยู่ในช่วง 28-35 พีพีที อุณหภูมิประมาณ 28 - 30 องศาเซลเซียส และลูกหอยหวานที่เหมาะสมในการนำไปเลี้ยงต่อควรมีความยาวเปลือกเฉลี่ยประมาณ 0.5 - 1.0 เซนติเมตรขึ้นไป เนื่องจากเป็นระยะที่ลูกหอย หวาน มีความแข็งแรงและทนทานการเปลี่ยนแปลงต่อสภาพแวดล้อมได้ดี มีอัตราการรอดตายค่อนข้างสูง เหมาะในการเพาะเลี้ยงเป็นหอยเนื้อขนาดที่ตลาดต้องการ (บังอร ศรีมุกดา และคณะ, 2548)

Chaitanawisuti and Kritsanapuntu (2002) ทำการเลี้ยงหอยหวานระยะวัยรุ่นขนาดเริ่มต้น 15.0 มิลลิเมตร และน้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.5 กรัม ในระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอดระยะเวลา 6 เดือนจนถึงขนาดตลาดต้องการ พบว่าหอยหวานมีความยาวเปลือก 35.0 มิลลิเมตร และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 8.6 กรัม โดยมีอัตราการเติบโต(ความยาวเปลือก) 3.53 มิลลิเมตรต่อเดือน อัตราการเติบโต(น้ำหนักตัว)1.38 กรัมต่อเดือน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 1.8 และ มีอัตราการรอดตาย 96% และเมื่อเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน พบว่า ลูกหอยมี ความยาวเปลือก 31.63 มิลลิเมตร และน้ำหนักตัว 5.98 กรัม โดยอัตราการเติบโต(ความยาวเปลือก) 3.27 มิลลิเมตรต่อเดือน อัตราการเติบโต(น้ำหนักตัว) 0.95 กรัมต่อเดือน มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 2.0 และมีอัตราการรอดตาย 95.4% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลูกหอยมีแนวโน้ม ในการ เจริญ เติบโตเมื่อเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียนใกล้เคียงกับการเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอด

การเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำทะเลแบบไหลผ่านตลอดนั้นมีข้อจำกัดคือ สถานที่เพาะเลี้ยงต้องอยู่ใกล้ชายฝั่งทะเล เนื่องจากต้องการใช้น้ำทะเลปริมาณมาก น้ำทะ เลต้อง มีคุณภาพดี ไม่มีมลพิษทางน้ำ มีความเค็มคงที่ และมีต้นทุนค่าสูบน้ำทะเลสู ง ดังนั้น การเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำทะเลหมุนเวียน จึงเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาและข้อจำกัดดังกล่าว

อาหาร

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์จำเป็นอย่างยิ่งที่ ต้องศึกษา ความต้องการด้านอาหาร เนื่องจากอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ ส่ง ผล โดยตรง ต่อการ เจริญ เติบโตและการรอดชีวิต การที่สัตว์น้ำได้รับอาหารที่มีความสมดุลทางโภชนาการทั้งปริมาณและคุณภาพ ส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตดี อัตรารอดชีวิตสูง ปราศจากโรค และสามารถพัฒนา การเพาะเลี้ยงหอยหวานในเชิงพาณิชย์ให้ประสบความสำเร็จต่อไปได้

ปัจจุบันการเลี้ยงหอยหวานในประเทศส่วนใหญ่นิยมใช้ปลาสด เป็นอาหาร เช่น ปลาเป็ด ปลาข้างเหลือง หรือปลาเลย เนื่องจากปลาสดมีราคาค่อนข้างถูก และสามารถหาได้ง่าย แต่การใช้ปลาสดมีผลเสีย คือ ความไม่เพียงพอของปลาเหยื่อ ขาดแคลนในช่วงมรสุม ไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานจึงต้องมีการจัดหาบ่อยครั้ง คุณค่าทางโภชนาการเปลี่ยนแปลงตามชนิดของปลาเหยื่อและฤดูกาลที่จับ คุณค่าทางอาหารไม่สมดุลต่อความต้องการ ของสัตว์น้ำ และ ขาดสารอาหารที่จำเป็นบางชนิดต่อสัตว์น้ำ เศษอาหารที่เหลือยังก่อให้เกิดมลภาวะในแหล่งน้ำ ส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเติบโตช้า ไม่แข็งแรง และติดโรคได้ง่าย (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์, 2545)

ลือชัย ดรุณชู และคณะ (2548) ได้ศึกษาการเลี้ยงหอยหวาน ด้วยอาหาร 4 ชนิด คือ เนื้อปลาข้างเหลือง อาหารสำเร็จรูปชนิดเปียก เนื้อหอยแมลงภู่ และเนื้อหมึก ระยะเวลา 56 วัน พบว่าอาหารที่แตกต่างกันทั้ง 4 ชนิดให้ผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอด ที่ไม่แตกต่างกัน แต่อัตราการแลกเนื้อของหอยหวานที่กินอาหารสำเร็จรูปที่มีค่าสูงกว่าที่เลี้ยงด้วยอาหารสดทุกชนิด

อาหารสำเร็จรูปจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีข้อดีหลายประการ เช่น ไม่ก่อให้เกิดการเน่าเสียง่าย ระยะเวลาในการ เก็บรักษานาน สามารถรักษาระดับคุณภาพของอาหารให้อยู่ในช่วงที่สัตว์น้ำต้องการได้อย่างเหมาะสม และสามารถเสริมสารอาหาร ที่จำเป็นเช่น วิตามิน หรือแร่ธาตุที่สัตว์น้ำต้องการได้อย่างเพียงพอ สามารถเลี้ยงได้ในพื้นที่ทั่วไป เป็น บริเวณกว้างเนื่องจากขนส่งสะดวก นอกจากนี้ยังช่วยลดต้นทุนการผลิต ทำให้มีผลตอบแทนในการเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น (Boonyaratpalin, 1991)

หอยหวานมีความต้องการสารอาหาร และ แร่ธาตุเพื่อนำไปใช้ในการดำรงชีวิต โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นสารอาหารพื้นฐานที่มีความสำคัญ ต่อ การเจริญเติบโต สุกัญญา จันทร์งาม (2550) พบว่าสูตรอาหารสำเร็จที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหอยหวาน ควรมีระดับปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 36, 10 และ 25% ตามลำดับ

โรคและพาราสิตในหอยหวาน (Disease and Parasite)

โรคในหอยหวานจัดเป็นปัญหาสำคัญในการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเติบโต อัตราการรอด และปริมาณหอยหวานที่เข้าสู่ตลาด

โรคของหอยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ โรคติดเชื้อ และโรคไม่ติดเชื้อ Perkins (2000) กล่าวว่าโรคติดเชื้อที่สำคัญในหอยมีดังนี้

1. ไวรัส (Virus) โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในหอยมีประมาณ 20 ชนิด (Sindermann, 1970) ซึ่งมีชนิดที่สำคัญได้แก่

RNA virus (Birmavirus) ซึ่งทำให้เกิดการบวมน้ำ (edema) บริเวณเนื้อเยื่อรอบกระเพาะอาหาร

Retrovirus-like particle ทำให้หอยเกิดอาการเนื้องอก (disseminated sarcoma หรือ hemic neoplasia)

Iridovirus-like particle เป็นไวรัสที่พบบริเวณเหงือกหอย

Herpes-like virus เป็นไวรัสที่พบบริเวณแอ่งเลือด (hemolymph sinuses) ไวรัสชนิดนี้จะทำให้หอยตาย 18-52%

Oyster velar virus disease(OVVD) เป็นไวรัสที่พบบริเวณปากและหลอดอาหาร โดยทำให้มีการติดเชื้อบวม (swelling) และบริเวณผิวลอกหลุด (detachment)

2. รา (Fungi) เป็นเชื้อที่สามารถพบในบริเวณเปลือกของหอย โดยจะ สร้างเส้นใยและเมื่อมากขึ้นจะลามเข้าไปในเปลือกด้านใน ทำให้บริเวณที่มีการติดเชื้อเกิด อาการระคายเคือง (irritation of the mantle) ทำให้เกิดการสะสมของแคลเซียมส่งผลทำให้เปลือกของหอยบิดเบี้ยวไป (shell distortion)

3. พยาธิ (Parasite) ที่สำคัญจะเป็นพยาธิในกลุ่มสัตว์เซลล์เดียว (protista) เช่น *Perkinsus marinus* และ *Haplosporidia* spp. โดยทำให้หอยตายจำนวนมาก (Perkins, 1990)

4. แบคทีเรีย (Bacteria) โรคที่เกิดจากแบคทีเรียอาจ เกิดจากแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative) หรือแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) เช่นแบคทีเรียในกลุ่ม ของเชื้อ วิบริโอ (*vibrio* sp.) Friedman และ Hedrick (1991) รายงานว่าแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอที่ก่อโรค ได้แก่ *V. anguillarum, V. alginolyticus, V.harveyi* และ *V. tubiashi* ซึ่งทำให้เกิดจุดเนื้อตาย (focal necrosis) หรือทำให้เกิดฝี (abscesses) บริเวณลำไส้ (digestive tract)

ในลูกหอยวัยอ่อน (larval stage) แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอจะทำให้เกิดโรควิบริโอซีส (vibriosis) ซึ่งทำให้ลูกหอยตาย 100% ภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อตรวจคุณภาพน้ำจะพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอมากกว่า 1 แสนเซลล์ต่อมิลลิลิตร ($>10^5$ cfu/mL)

Cheng (2000) กล่าวว่าโรคในหอยที่ไม่เกิดการติดเชื้อมาจากหลายสาเหตุหลายประการ ได้แก่

1. การขาดสารอาหาร (Nutritional deficiencies)

2. ความผิดปกติจากพันธุกรรม (Genetic abnormalities)

3. เนื้องอก (Neoplastic disease)

4. สารพิษ (Toxicological disease) ซึ่ง FAO (1990) รายงานว่าสารอินทรีย์ที่ มีความพิษต่อสิ่งแวดล้อมในน้ำทะเลและทำให้สัตว์น้ำตาย ได้แก่ ยาฆ่าแมลงที่มีส่วนประกอบของ Chlorinated hydrocarbon และ Dichlorodiphenyl trichloroethane(DDT) หรือ Polychlorinated biphenel(PCB) ที่มีโครงสร้างเหมือน DDT อีกทั้งสารพิษที่เกิดจาก inorganic tooricants ได้แก่ ไซยาไนด์ ปรอท ตะกั่ว สารหนู ทองแดง สังกะสี และแคดเมียม ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะ ทำการ สะสมอยู่ภายในตัวหอย และเมื่อถึงระดับหนึ่งจะทำให้หอยตาย

5. คุณภาพน้ำ เช่น แอมโมเนีย ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และปัจจัยอื่นๆ ดัง แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อาการของหอยเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง (Arringnon, 1999)

คุณภาพน้ำ	อาการ						
	ตายทันที	ตายกลางคืน	ตายกลางวัน	เจริญเติบโตช้า	ไม่กินอาหาร	เกิดโรคแทรกจากแบคทีเรีย	ตัวอ่อนตาย
อุณหภูมิน้ำ	*	*	*	*	*	*	*
ความเค็ม	*	*	*	*	*	*	*
ความเป็นกรด-ด่าง	*	*	*		*		
ความกระด้าง				*			
คุณภาพน้ำ	อาการ						
	ตายทันที	ตายกลางคืน	ตายกลางวัน	เจริญเติบโตช้า	ไม่กินอาหาร	เกิดโรคแทรกจากแบคทีเรีย	ตัวอ่อนตาย
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ		*		*	*	*	*
แอมโมเนีย				*	*	*	
ไนไตรท์				*	*	*	
สารพิษในน้ำ	*						*

* แสดงถึงอาการที่เกิดขึ้นเมื่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงมีการเปลี่ยนแปลง

ดังนั้นการสร้างเสริมความแข็งแรงและภูมิต้านทานให้แก่หอยหวาน โดยการ เสริมจุลินทรีย์ที่มี คุณ สมบัติเป็นโพรไบโอติก จึงมีส่วนช่วยทำให้ได้หอยหวานมีการเจริญเติบโตดี มีการรอดชีวิตสูง และได้หอยหวานที่มีคุณภาพ

โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก (Probiotics) เป็นคำซึ่งมาจากภาษากรีกแปลว่า “เพื่อชีวิต ” (for life) (Fuller, 1992)

ในปี 1907 Metchnikoff เป็นผู้ให้กำเนิดโพรไบโอติก จากผลงานตีพิมพ์ในหนังสือ The Prolongation of Life (อ้างถึงใน Fuller, 1992)

จากนั้น โพรไบโอติก ถูกนำไปใช้หลายทางและมีผู้ให้คำจำกัดความ มากมาย เช่น

ในปี 1965 Lilly และ Stillwell ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก หมายถึงสาร ที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งสร้าง /หลั่งออกมา แต่ มีผล ไปกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งการทำงานจะตรงข้ามกับยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด

ในปี 1974 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก หมายถึงจุลินทรีย์หรือสาร ที่จุลินทรีย์ผลิต /หลั่งขึ้นแล้ว มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของสัตว์ชนิดนั้น

ในปี 1989 Fuller ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิต เสริมในอาหารสัตว์ สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ ต่อร่างกายของสิ่งมี ชีวิตที่มันอาศัยอยู่ (host) โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของสัตว์นั้นๆ ให้อยู่ในสภาวะสมดุล

ในปี 1992 Havenaar และ Huis in’t Veld ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียวหรือเป็นส่วนผ สมของจุลินทรีย์หลายชนิด สามารถไปปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของ สัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากขบวนการระเหิดแห้ง (freeze-dried cells) หรือ อาจ อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก นอกจากส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้ว ยังทำให้คนและสัตว์มีสุขภาพดีขึ้นด้วย

จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Fuller, 1989)

จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติ ก เช่น *Bacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Clostridium butyricum, Enterococcus faecium, Escherichia coli*, Yeast and mixed cultures

ลักษณะที่ดีของโพรไบโอติก (Fuller, 1989; Havenaar, 1992)

1. เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์ที่ได้รับ การเสริม โพรไบโอติก นั้นๆ เช่น เพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์ หรือ ต้านทานการเกิดโรคในสัตว์

2. เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกและองค์ประกอบของเซลล์รวมทั้งผลิตภัณฑ์ของเซลล์ ต้องไม่สร้างปฏิกิริยาที่เป็นพิษหรือก่อมะเร็งกับเจ้าบ้าน

3. ต้องอยู่ในลักษณะเซลล์ที่มีชีวิต และเพิ่มจำนวนได้มากพอ

4. สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้

5. สามารถเจริญ ทำงาน และ/หรือ ตั้งรกราก ในระบบทางเดินอาหารได้

6. สามารถรอดชีวิต และทนต่อสภาพการเก็บรักษา ขณะทำการทดลอง

7. เป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ ไม่มีการถ่ายทอดพลาสมิด

ประโยชน์ของ โพรไบโอติก (Fuller, 1989; Havenaar, 1994; perdigon และคณะ , 1995 Ouwehand *et al.,* 1999; Zubillaga *et al.,* 2001; และ Holzapfel, 2002)

- ยับยั้งการเพิ่มจำนวนและการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโทษ โดย จะไปเกาะติดผนังทางเดินอาหาร แย่งอาหาร แย่งพื้นที่จากจุลินทรีย์อื่น หรือทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญ อันเป็นการช่วยลดสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นผลิตขึ้น
- ผลิตสารต้านการเจริญเติบโตและการตั้งถิ่นฐานของจุลินทรีย์ที่ก่อโทษ
- ปรับสมดุลกรด-เบส ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เจ้าถิ่น
- ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่มีประโยชน์ และช่วยลดประสิทธิภาพของเอนไซม์บางชนิด เช่น nitroreductase, azoreductase ที่ปล่อยสารก่อมะเร็งในทางเดินอาหาร
- ผลิตเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยอาหาร เช่น protease, amylase, lipase เป็นต้น
- ผลิตเอนไซม์ที่มีผลในการทำลายสารพิษในอาหาร หรือสารอื่นๆ ที่เชื้อจุลินทรีย์ก่อโทษผลิตขึ้น
- สร้างสารต่อต้านจุลชีพ เช่น สารแบคเทอริโอซิน(bacteriocins), bacteriocin-like substances และสารยับยั้งอื่น เช่น ไฮโรเจนเปอร์ออกไซด์ และกรดอินทรีย์บางชนิด
- ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด
- กระตุ้นให้เกิดภูมิต้านทานต่อโรคของสัตว์ โดยการ เพิ่มระดับแอนติบอดี และเพิ่มประสิทธิภาพของแมคโครฟาจ

Parker (1974) และ Fuller (1989) ได้รวบรวมความแตกต่างของ คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติก และสารปฏิชีวนะ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติก และสารปฏิชีวนะ

โพรไบโอติก (Probiotics)	**สารปฏิชีวนะ** (Antibiotics)
คุณสมบัติ	**คุณสมบัติ**
1. เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต	1. เป็นสารเคมีบริสุทธิ์
2. ไม่สามารถดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหาร	2. สามารถดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหาร
3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร	3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร
4. ไม่มีสามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อ	4. สามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อ
5. ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์หรือดื้อยา	5. อาจทำให้เชื้ออื่นเกิดการกลายพันธุ์และดื้ อยา
กลไกการออกฤทธิ์	**กลไกการออกฤทธิ์**
1. ต้านทานเชื้อเฉพาะบริเวณ เช่น ทางเดินอาหาร	1. ต้านทานเชื้อต่างๆได้ทั่วร่างกาย
2. สามารถเจริญในทางเดินอาหารและแย่งการเจริญเติบโตกับเชื้อก่อโรคได้	2. ส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ DNA RNA และโปรตีนของเชื้อก่อโรค

ที่มา : Rengpipat และคณะ (1998b)

การใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกเสริมในอาหารสัตว์

โพรไบโอติกมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ใช้ได้ผลทั้งในมนุษย์ และ สัตว์บก เช่น

ในปี 1973 Ingram และคณะ ใช้ *Lactobacillus acidophilus* เสริมในอาหารสุกร

ในปี 1973 Tortuero ใช้ *Lactobacillus acidophilus* เสริมในอาหารไก่

ในปี 1977 Muralidhara และคณะ ใช้ *Lactobacillus lactis* เสริมในอาหารสุกร

ในปี 1984a, 1984b, 1984c Han และคณะใช้ *Lactobacillus sporogenes* เสริมในอาหารไก่ และใช้ *Clostridium butyricum* เสริมในอาหารสุกร พบว่าไก่และสุกรมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น และแบคทีเรียทั้งสองสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคคือ *Staphylococcus* sp. และ Coliform bacteria

การใช้โพรไบโอติกในสัตว์น้ำ

ในปี 1992 Austin และคณะ ใช้ *Tetraselmis suecica* เสริมในปลาซัลมอน พบว่าปลาซัลมอนมีน้ำหนักตัวเพิ่มและสุขภาพดี เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *A. Hydrophila, A. salmonicida, V. anguillarum, V. salmonicida, Serratia liguefaciens, Yersinia ruckeri* type I พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ดี

ในปี 1993 Smith และ Davey ใช้ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ F19/3 เสริมในปลาซัลมอน พบว่าปลาซัลมอนมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *A. salmonicida* พบว่าปลาซัลมอนมีอัตราการรอดที่สูงขึ้น

ในปี 1995 Austin และคณะ ใช้ *V. alginolyticus* เสริมในปลาซัลมอน พบว่าปลาซัลมอนมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น และเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *A. salmonicida, V. Ordalii V. Anguillarum* พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ดี

ในปี 1995 Gildberg และคณะ ใช้ *L. plantarum* เสริมในปลาซัลมอน โดยพบว่าปลาซัลมอนมีอัตราการเจริญเติบโต และอัตรารอดชีวิตสูงขึ้น เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *A.salmonicida* พบว่าไม่สามารถควบคุมโรคได้แต่ *L. plantarum* สามารถตั้งรกรากที่ผนังลำไส้ได้

ในปี 1997 Byun และคณะ ใช้ *Lactobacillus* สายพันธุ์ DS12 เสริมในปลา flounder พบว่าปลามีอัตราการเจริญเติบโต และอัตรารอดชีวิตสูงขึ้น

ในปี 1997 Riquelme และคณะ ใช้ *Vibrio* sp. เสริมในหอยแครง (ระยะตัวอ่อน) พบว่าหอยมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตรารอดชีวิตสูงขึ้น เมื่อทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. anguillarum* Related (VAR) pathogen พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ดี

ในปี 1998 Moriarty ใช้ *Bacillus sp.* ทำการเสริมในกุ้งสกุลพีเนียส โดยจะมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโต และเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* พบว่ามีอัตราการรอดสูง

ในปี 1999 Gram และคณะ ใช้ *P. fluorescens* สายพันธุ์ AH2 ในปลา Rainbow trout พบว่าปลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น และเมื่อทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. anguillarum* พบว่ามีอัตราการรอดสูง

ในปี 2003 Lara-Flores และคณะ ใช้ *Streptococcus faecium, Lactobacillus acidophilus* และ *Saccharomyces cerevisiae* เสริมในปลานิล พบว่าปลานิลมีการเติบโตสูงขึ้น

ในปี 2005 Ziaei-Nejad และคณะ ใช้ *Bacillus* spp เสริมในกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดสูง

ในปี 1998a Rengpipat และคณะ ทำการแยกแบคทีเรียออกจากบริเวณทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำ และน้ำจากบ่อเลี้ยง มาคัดแยกแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหารของกุ้ง และคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบบางสายพันธุ์ที่ก่อโรคในคน และก่อโรคในกุ้ง ได้ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 เมื่อนำ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ผสมลงในอาหารกุ้งกุลาดำและเพาะเลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดเป็นเวลา 100 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 จะมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และเมื่อนำมาทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจาก *Vibrio harveyi* เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 จะมีอัตราการรอด ถึง 100% ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 มีอัตราการรอดเพียง 26 %

ในปี 2001 สมบัติ รักประทานพร ศึกษาคุณสมบัติของ Bacillus สายพันธุ์ S11 ต่อการเจริญเติบโตและการเสริมภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ โดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อที่มีระบบน้ำ ทะเลหมุนเวียนเป็นเวลา 90 วัน พบน้ำหนักตัวและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เ กิดโรคด้วย V.harveyi สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 10 วัน กุ้งกลุ่มที่ได้รับ Bacillus สายพันธุ์ S11 เสริมในอาหารมีเปอร์เซนต์การตายสะสม (45.7%) ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก (64.5%) จาก การเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย V.harveyi สายพันธุ์ 1526 มีผลกระตุ้ นภูมิคุ้มกันในกุ้งทั้งสองกลุ่มการทดลอง คือ จำนวนเม็ดเลือดรวมของกุ้งจะลดลง ส่วนเปอร์เซ็นต์ฟาโกไซโตซีส ฟาโกไซติก อินเด็กซ์ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจะสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ในปี 2003 ธรรมรัตน์ วาจาสัตย์ ทำการเสริมโพรไบโอติกที่จำหน่ายในเชิงการ ค้าสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลผสมกับเนื้อปลาสดให้เป็นอาหารแก่หอยหวาน ปริมาณ แตกต่างกัน คือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า หอยหวานมี การเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก ความยาวเปลือก และอัตราการรอดของหอยหวานไม่แตกต่างกันในทุกการทดลอง ($P>0.05$)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่วิจัย

หน่วยปฏิบัติการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการทำฟาร์มเพาะ และเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์ แบบครบวงจร สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดเพชรบุรี และ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย

1. *Bacillus* สายพันธุ์ S11

เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก แยกและคัดเลือกสายพันธุ์จากลำไส้กุ้งกุลาดำที่มีสุขภาพดี โดยวรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ใช้สำหรับเตรียมเซลล์เพื่อเลี้ยงหอยหวาน

2. *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639

จากหน่วยวิจัยกุ้ง CENTEX ประเทศไทย

การวางแผนการทดลอง

ออกแบบการทดลองเป็นแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 5 ชุด ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ (replicates) ดังนี้

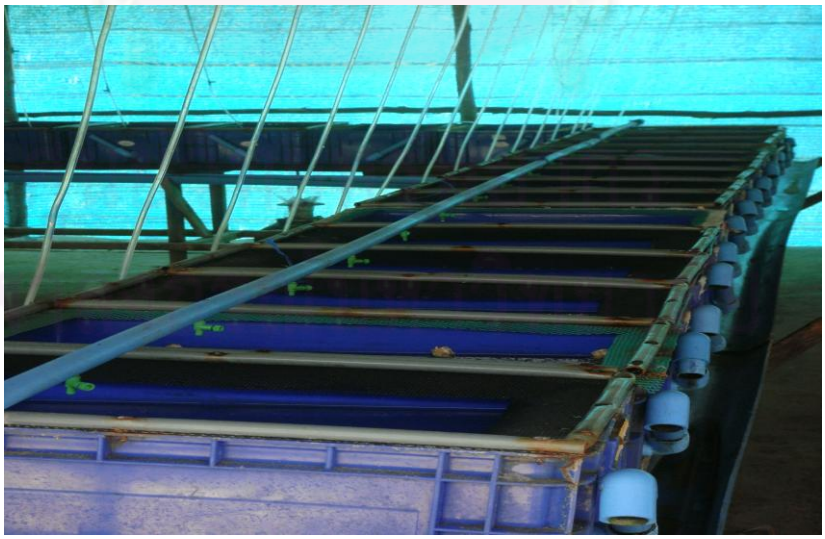
1. กลุ่มควบคุม (Control) ให้อาหารสำเร็จรูป โดยไม่ผสมเซลล์ *Bacillus* S11
2. กลุ่มที่เสริม *Bacillus* S11 โดยใช้อัตราส่วนการผสมเท่ากับ 1:2
   (เซลล์ *Bacillus* S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 2 กรัม)
3. กลุ่มที่เสริม *Bacillus* S11 โดยใช้อัตราส่วนการผสมเท่ากับ 1:5
   (เซลล์ *Bacillus* S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 5 กรัม)
4. กลุ่มที่เสริม *Bacillus* S11 โดยใช้อัตราส่วนการผสมเท่ากับ 1:10
   (เซลล์ *Bacillus* S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 10 กรัม)
5. กลุ่มที่ให้อาหารธรรมชาติ คือ เนื้อปลาข้างเหลือง *Selaroides leptolepis*

การเตรียมระบบเลี้ยง

ทำการ เลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำทะเล แบบ หมุนเวียน (recirculating seawater system) ซึ่งมีลักษณะเป็นระบบปิด (closed system) โดยบ่อเลี้ยงแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ

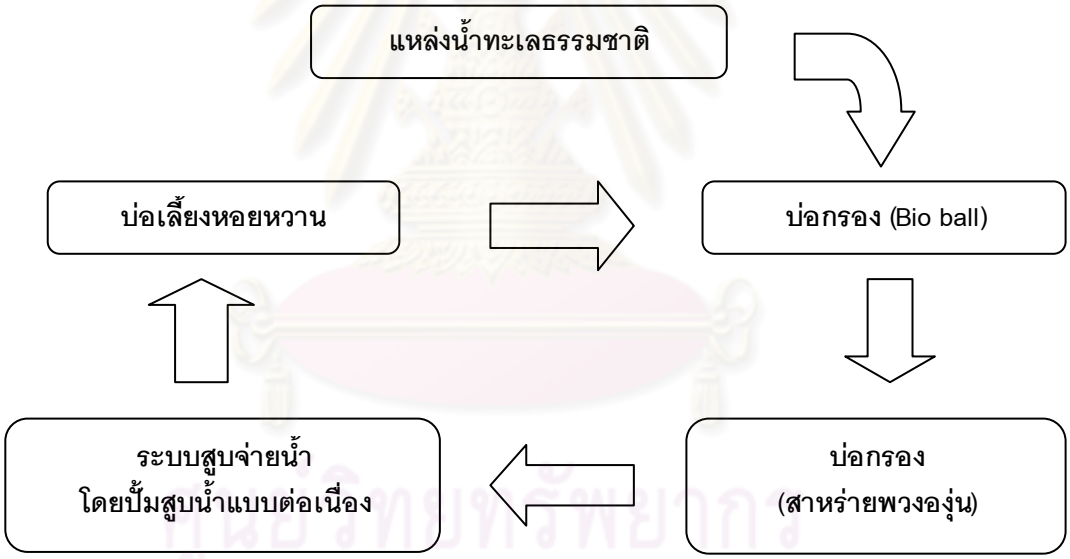
1. บ่อเลี้ยง (Rearing tank) เลี้ยงหอยหวานใน กระบะพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดกว้าง 30 เซนติเมตร x ยาว 48 เซนติเมตร x สูง 17 เซนติเมตร พื้นที่ก้นบ่อ 0.14 ตารางเมตร ภายในบรรจุน้ำทะเล 25 ลิตร และระดับน้ำในบ่อทดลองสูง 12 เซนติเมตร โดยน้ำทะเลที่ใช้เป็นน้ำทะเลธรรมชาติความเค็ม 30 พีพีที ปูพื้นบ่อทดลองด้วยทรายละเอียดหนา 2 เซนติเมตร ติดอวนบริเวณด้านบนของกระบะ เพื่อกันหอยปีนหนี (ภาพที่ 4)

2. บ่อกรองชีวภาพ (Biofilter tank) ใช้ถังไฟเบอร์กลาส ขนาดบรรจุ 350 ลิตร จำนวน 2 ถัง ถังแรกเป็นระบบกรองกายภาพ โดยการใช้ Bio ball บรรจุลงใน ถุงตาข่ายพลาสติก และถังที่สองเป็นระบบกรองชีวภาพโดยการใช้สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) ในถัง มีปั๊มสูบน้ำขนาดแรงสูบ 2,700 ลิตรต่อชั่วโมง เพื่อสูบน้ำเข้าระบบเลี้ยง และมีการให้อากาศตลอดเวลา โดยน้ำทะเลจากบ่อกรองจะผ่านเข้าบ่อเลี้ยง ด้วยการใช้แรงดันอากาศ (airlift) โดยมีอัตราการหมุนเวียนของน้ำทะเลประมาณ 30 ลิตรต่อชั่วโมง และไหลกลับคืนสู่บ่อกรอง หมุนเวียนเช่นนี้ให้อากาศแบบฟองอากาศแรงปานกลางตลอดเวลา มีการเปลี่ยนน้ำใหม่ ทำความสะอาดบ่อเลี้ยง ล้างทราย และตัวกรองชีวภาพ เป็นประจำทุก 15 วัน (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 4 ระบบบ่อเลี้ยงหอยหวาน แบบระบบน้ำทะเลหมุนเวียน

ภาพที่ 5 ระบบกรองชีวภาพบ่อเลี้ยงหอยหวาน



ภาพที่ 6 แผนผังระบบบ่อเลี้ยงหอยหวาน แบบระบบน้ำทะเลหมุนเวียน

สัตว์ทดลอง

การศึกษานี้ได้ใช้หอยหวานระยะวัยรุ่นที่ผลิตจากฟาร์มเอกชนจำนวน 1000 ตัว โดยใช้ลูกหอยหวานที่มาจากชุดการผลิตเดียวกัน ซึ่ง มีอายุ และขนาด ใกล้เคียงกันมากที่สุด เริ่มต้นการทดลองเลี้ยงลูกหอยหวานที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.30 ± 0.1 กรัม และความยาวเปลือกเฉลี่ย 1.14 ± 0.1 เซนติเมตร บ่อทดลองละ 30 ตัว หรืออัตราการปล่อยหนาแน่น 214 ตัวต่อตารางเมตร โดยแบ่งลูกหอยหวานออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารผสมแบบกึ่งเปียก โดยมี วัตถุดิบหลักได้แก่ ปลาป่น กุ้งป่น และกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งโปรตีน แป้งสาลี เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรท น้ำมันทูน่า เป็นแหล่งไขมัน เติมเลซิติน วิตามินรวม และแร่ธาตุรวม โดย มี PMC (Polymethylolcarbamide) เป็นสารประสาน (binder) และใช้ cellulose ชนิด fribulin instant เป็นเยื่อใย (fiber) สำหรับปรับสูตรอาหาร (ภาคผนวก ก) โดยสัดส่วนของวัตถุดิบแสดงในตารางที่ 3

จากนั้นเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในรูปแบบ เซลล์สด (Fresh cells) ในอัตราส่วนผสมเท่ากับ 1:2, 1:5 และ 1:10 (โดยใช้ เซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 2, 5, 10 กรัม ตามลำดับ) กลุ่มควบคุมใช้อาหารผสมที่ไม่ ทำการ เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 และกลุ่มที่ให้อาหารธรรมชาติคือการให้ เนื้อปลาข้างเหลือง *Selaroides leptolepis*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของชนิดและปริมาณสารอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ	สัดส่วน (เปอร์เซนต์)
ปลาป่น	30
กากถั่วเหลืองป่น	30
แป้งสาลี	20
กุ้งป่น	5
น้ำมันทูน่า	5
PMC[1]	5
แร่ธาตุรวม[2]	2
วิตามินรวม[3]	2
Fribullin[4]	0.5
เลซิติน	0.5

[1] PMC หรือ Polymethylolcarbamide ใช้เป็นตัวประสานในอาหาร

[2] แร่ธาตุรวม ประกอบด้วย แคลเซียม14.7% ฟอสฟอรัส 14.7% แมงกานีส 1.0% ทองแดง 0.36% เหล็ก 0.20% ไอโอดีน 0.10% โคบอลท์ 0.10% ซีลีเนียม 0.006%

[3] วิตามินรวม1 กิโลกรัมประกอบด้วย วิตามินเอ 10^7 IU วิตามินดี3 10^6 IU วิตามินอี 0.01% วิตามินเค3 0.001% วิตามินบี1 0.0005% วิตามินบี2 0.005% วิตามินบี6 0.01% วิตามินซี 0.01% โฟเลท0.001% ดีแอลเมทไธโอนิน 0.016%

[4] Fribullin เป็น Cellulose ใช้ในการปรับสูตรอาหาร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

1. จัดเตรียมวัตถุดิบตามสูตรอาหารที่กำหนด (ตารางที่ 3)

2. ร่อนวัตถุดิบ ชั่งน้ำหนัก และผสมวัตถุดิบโดยผสมวัตถุดิบ ที่มีปริมาณมากกับวัตถุดิบปริมาณมาก วัตถุดิบปริมาณน้อยกับวัตถุดิบปริมาณน้อยผสมรวมกัน แล้วจึงนำทั้งสองส่วนผสมให้เข้ากัน โดยการคลุกประมาณ 30 นาที จนเข้ากัน

3. เตรียมเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ที่ทำการ แยกและคัดเลือกจากลำไส้กุ้งกุลาดำสุขภาพดีโดยวรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทริปติกซอย (ภาคผนวก ข ข้อ 1) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการแยกเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 15 นาที นำเซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11ที่ได้ ผสม กับอาหารหอยหวานในอัตราส่วนการผสมที่แตกต่างกัน ดังนี้

- กลุ่มควบคุม (Control) ใช้อาหารสำเร็จที่ไม่ผสมเซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11
- กลุ่มที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 โดยใช้อัตราส่วนการผสมเท่ากับ 1:2

(เซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 2 กรัม)

- กลุ่มที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 โดยใช้อัตราส่วนการผ สมเท่ากับ 1:5

(เซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 5 กรัม)

- กลุ่มที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 โดยใช้อัตราส่วนการผสมเท่ากับ 1:10

(เซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 10 กรัม)

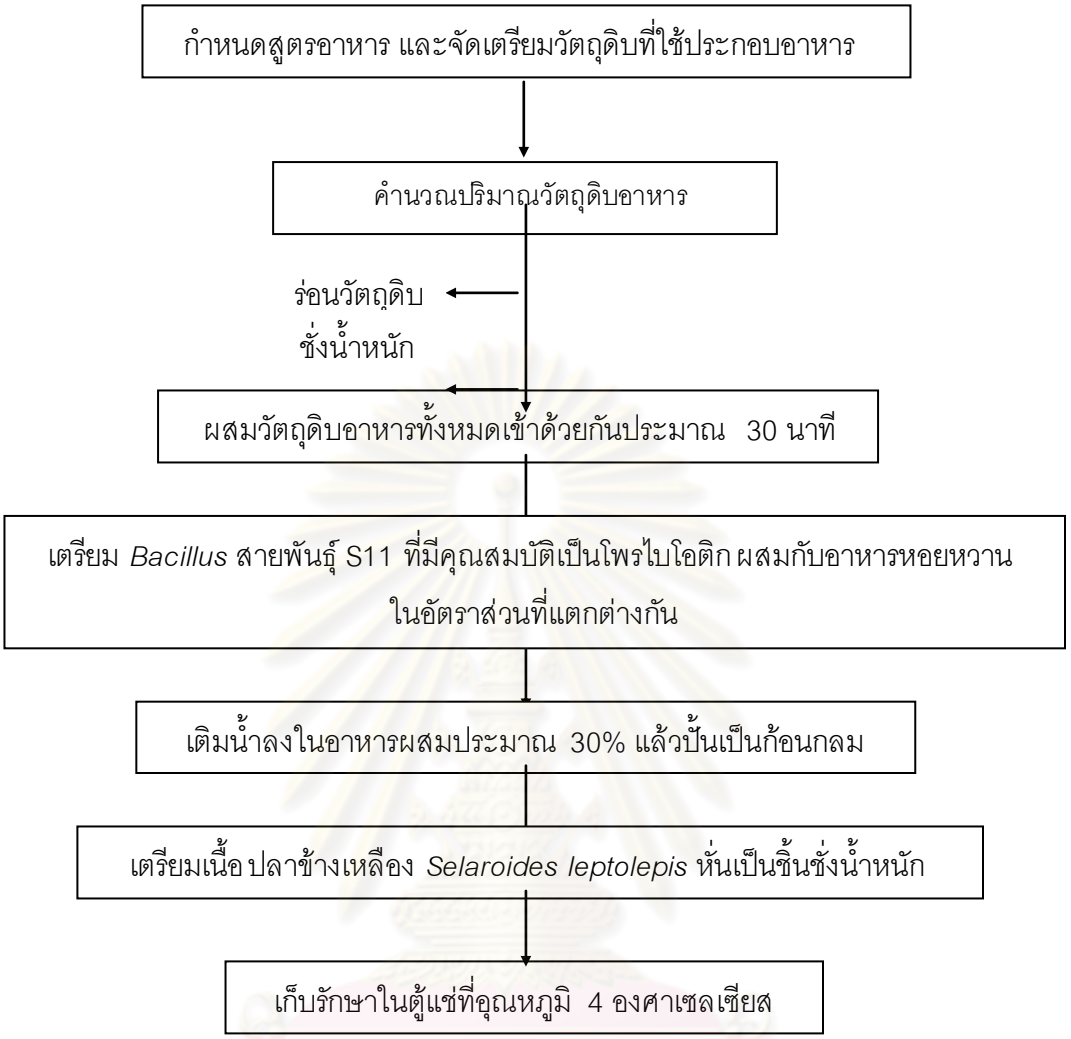
นำมาคลุกให้เข้ากัน ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่ผสมในอาหารหอยหวานสูตรต่างๆ ทันที โดยวิธี total plate counts (CFU/g)

ทำการเตรียม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในรูปเซลล์สดทุกเดือน

4. นำอาหารสูตรต่างๆมาเติมน้ำประมาณ 30% ของน้ำหนักอาหาร คลุกเคล้าให้เข้ากันจนมีลักษณะเป็นอาหารกึ่งเปียก สามารถปั้นเป็นก้อนกลม

5. เตรียมเนื้อปลาข้างเหลือง *Selaroides leptolepis* หั่นเป็นชิ้นชั่งน้ำหนักไว้ก่อน

6. บรรจุอาหารแต่ละชุดการทดลองในภาชนะ ปิด เก็บรักษาไว้ในตู้แช่ ที่อุณหภูมิ 4°C ขั้นตอนการเตรียมอาหารสามารถสรุป ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

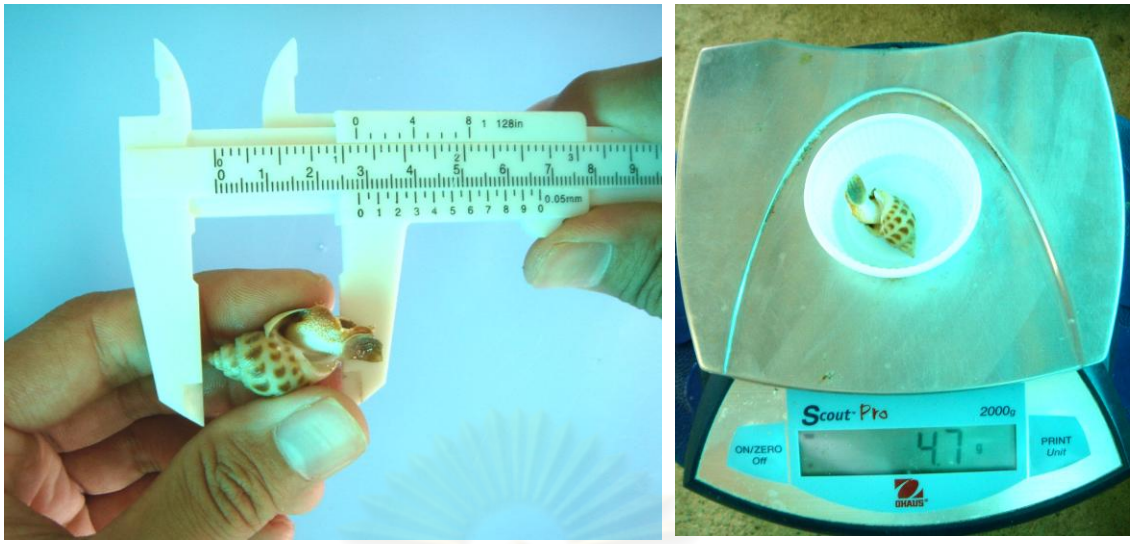
การเลี้ยงหอยหวาน

ทำการให้อาหารหอยหวานเป็นประจำทุกวันวันละหนึ่งครั้งเวลาประมาณ 9.00 น. ลักษณะการให้อาหารเป็นแบบกินจนอิ่ม (apparent satiation feeding) โดยสังเกตจากการที่หอยกินอาหารอิ่มจะฝังตัวที่พื้นทราย โดยให้อาหารในปริมาณ 10%ของน้ำหนักตัว นำอาหาร วาง บนเปลือกหอยเซลล์ เพื่อสะดวกต่อการเก็บอาหารที่เหลือ และป้องกันเศษอาหารตกบนพื้นทราย (ภาพที่ 8) จากนั้นนำอาหารที่เหลือออกมาชั่งน้ำหนักและคำนวณ หาปริมาณอาหารที่หอยกินในแต่ละวัน (ปริมาณอาหารที่กิน = น้ำหนักอาหารก่ อนให้ – น้ำหนักอาหารที่เหลือ) ปรับปริมาณอาหารหอยหวานทุกสัปดาห์โดยคำนึงถึงปริมาณอาหารที่เหลือเป็นเกณฑ์

ศึกษาการเจริญเติบโตของหอยหวานทุก เดือน โดยนำหอย ทุกตัว ในบ่อทดลอง วัดความยาวเปลือก ชั่งน้ำหนักของหอยหวาน และเก็บข้อมูลหอยตายเป็นประจำทุกวัน (ภาพที่ 9)

ภาพที่ 8 การเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารผสมแบบกึ่งเปียก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 9 การศึกษาการเติบโตโดยการวัดความยาวเปลือกและน้ำหนักหอยเป็นรายตัว

การทดสอบความสามารถในการต้านทานโรค (Challenge test)

1. **การเตรียมแบคทีเรีย**

แบคทีเรียที่ใช้ทำการ ทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคคือเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการเพาะเลี้ยง *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทริปติก ซอย (ภาคผนวก ข ข้อ 1) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 2% (น้ำหนัก/ปริมาตร) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ° ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แยกเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 15 นาที ตรวจนับเซลล์ ด้วยวิธี total plate counts โดยใช้อาหารแข็ง Thiosulfate Citrate Bile Salts Media (TCBS) (ภาคผนวก ข ข้อ 2)

2. **ทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้หอยตาย 50%**

ทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคหอยหวาน โดยการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 โดยวิธีการแช่ (immersion challenge) โดยนำหอยหวาน 80 ตัว ที่มีความยาว 2-2.5 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 2.5-3 กรัม ลง ในถังพลาสติก ที่บรรจุ น้ำทะเล ปริมาตร 500 มิลลิลิตร มีระดับความเค็ม 30 พีพีที มีการให้อากาศตลอดเวลา โดยใช้หอยหวาน กลุ่มทดลองละ 10 ตัว แยกเป็ น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ซ้ำ เติมเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่เตรียมจากข้อ 1 ลงในถังทดลองปรับให้มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับใน 3 กลุ่มทดลองและอีก กลุ่มเป็นกลุ่มควบคุมไม่มีการเติมเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 เก็บน้ำตัวอย่างจากทุกถัง เพื่อ

หาจำนวน *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่แน่นอนด้วยวิธี total plate counts โดยใช้อาหารแข็ง Thiosulfate Citrate Bile Salts Media (TCBS)

ตลอดการเลี้ยงทุกกลุ่มการทดลองจะได้รับอาการสำเร็จรูปที่ไม่มีการเสริมเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 บันทึกจำนวนหอยที่ตายในแต่ละกลุ่มทดลองที่เวลา 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

3. การทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (challenge test)

เตรียมเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ตามวิธีในข้อ 1 ปรับ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ให้ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml เติมลงในบ่อเลี้ยง โดยใช้หอยหวาน 150 ตัว เลี้ยงในถังพลาสติกที่บรรจุน้ำทะเลปริมาตร 500 มิลลิลิตร มีระดับความเค็ม 30 พีพีที โดยมีการให้อากาศตลอดเวลา ทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ทดสอบติดตามผล หาอัตราการตายสะสม และทดสอบการตายของหอยหวาน เพื่อยืนยันการติดเชื้อ จาก *Vibrio harveyi* โดยนำหอยหวานออกจากเปลือก ล้างด้วยสารละลาย 0.85% Sterile Normal Saline Solution แล้วทำการสับละเอียดทำการเพาะเชื้อด้วยวิธี spread plate technique

การประเมินผล และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ประเมินผลการเติบโต

ประเมินผลการเลี้ยงจากการเติบโต โดยคำนวณค่าความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น (Shell length increment) น้ำหนักหอยที่เพิ่มขึ้น (body weight gain) อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก (Shell length growth rate) อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (body weight growth rate) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ หรืออัตราการแลกเนื้อ (food conversion ratio, FCR) อัตราการรอดตาย (survival rate)

ความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น (Shell length increment)

ความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น (มิลลิเมตรต่อตัว) = ความยาวเปลือกเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – ความยาวเปลือกเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง

น้ำหนักหอยที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain)

น้ำหนักหอยที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อตัว) = น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง

อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก (Shell length growth rate)

อัตราการเจริญเติบโตโดยความยาวเปลือก (มิลลิเมตรต่อเดือน) = (ความยาวเปลือกเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลอง – ความยาวเปลือกเฉลี่ยเริ่มทดลอง / ระยะเวลาในการเลี้ยง (เดือน)

อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (body weight growth rate)

อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (กรัมต่อเดือน) = (น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง) / ระยะเวลาในการเลี้ยง (เดือน)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = (น้ำหนักรวมของอาหารที่ใช้เลี้ยงหอยตลอดการทดลอง) / (น้ำหนักหอยเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง)

อัตราการรอดตาย (survival rate)

อัตราการรอดตาย % = (จำนวนหอยที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง x 100) / จำนวนหอยเมื่อเริ่มทดลอง

การตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อทดลอง

ตรวจสอบคุณภาพน้ำเป็นประจำทุก 15 วัน โดยพารามิเตอร์ที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิน้ำทะเล ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง อัลคาลินิตี้ ปริมาณออกซิเจนในน้ำ ไนไตรท์ และแอมโมเนียม

การวิเคราะห์คุณภาพอาหาร

วิเคราะห์คุณภาพอาหาร ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น โดยวิธี proximate analysis (AOAC,1995) (ภาคผนวก ค)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทดสอบความแปรปรวน (Analysis of variance) ด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างโดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกใน อาหารหอยหวาน

เมื่อนำ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในรูป Fresh cells มาผสมในอาหารหอยหวานด้วยอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1:2 1:5 1:10 (เซลล์ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 1 กรัม ต่ออาหารหอยหวาน 2, 5, 10 กรัม ตามลำดับ) ทำการตรวจนับเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ทันทีและหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 1 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 (CFU/g) ในอาหารหอยหวาน

ระยะเวลาเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 °C	จำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอาหารหอยหวาน (CFU/g)		
	อัตราส่วน 1:2	อัตราส่วน 1:5	อัตราส่วน 1:10
0 วัน	7.56×10^{10}	3.41×10^{8}	8.92×10^{5}
30 วัน	3.28×10^{10}	1.62×10^{8}	4.13×10^{5}

การทดสอบ คุณค่าทาง อาหาร

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของอาหารทดลอง 5 สูตร โดยวิธี proximate analysis พบว่าระดับโปรตีนและไขมันมีค่าใกล้เคียงกับระดับสารอาหารที่กำหนด โดยจากการวิเคราะห์มีค่าโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 37.19 -37.24 มีค่าไขมันอยู่ในช่วงร้อยละ 10.01-10.13 มีค่าเถ้าอยู่ในช่วงร้อยละ 14.62-14.65 ค่าเยื่อใยอยู่ในช่วงร้อยละ 4.19-34.31 และความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 8.11-8.26 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 คุณค่าทางอาหารของอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร

คุณค่าทางอาหาร	สูตรอาหาร				
	ควบคุม	1:2	1:5	1:10	ปลา
โปรตีน	37.19	37.24	37.21	37.19	19.51
ไขมัน	10.11	10.13	10.01	10.03	1.36
เถ้า	14.65	14.64	14.62	14.65	1.35
เยื่อใย	4.29	4.19	4.20	4.31	-
ความชื้น	8.26	8.19	8.17	8.11	77.78

ผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกใน อาหาร ผสมต่อการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวาน

จากการศึกษาการเติบโตทางด้านความยาวเปลือกของหอยหวาน โดย การเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารผสมที่มีสัดส่วนแตกต่างกัน ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าชุดทดลองที่ทำเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอัตราส่วน 1:2 มีความยาวเปลือกเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก คือ 2.80 ± 0.27 เซนติเมตร 1.67 ± 0.28 เซนติเมตร และ 0.42 ± 0.07 เซนติเมตรต่อเดือน ตามลำดับ ดัง แสดงในตารางที่ 6-7 และภาพที่ 10 (ตารางที่ 15-23, ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 6 ความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร)ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลองเป็นเวลา 4 เดือน

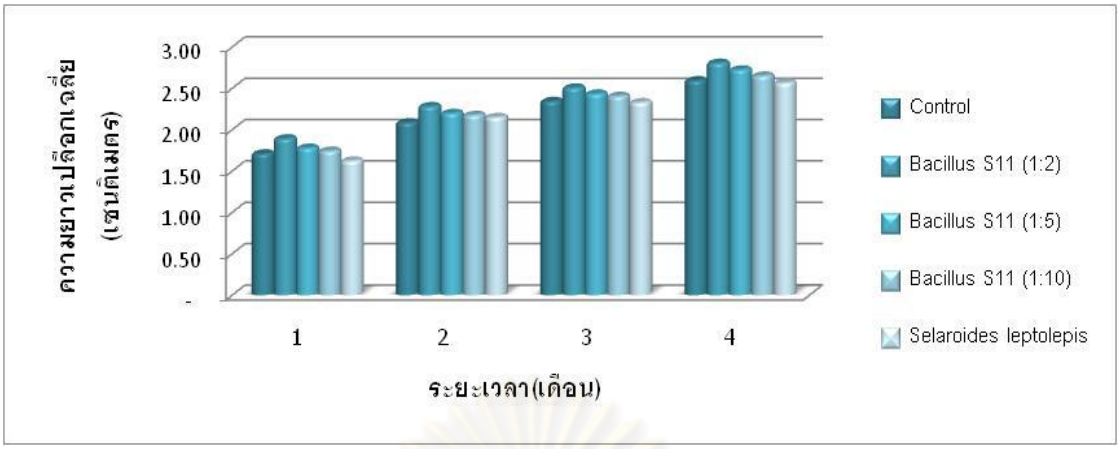
Diet formula	Month				
	0	1	2	3	4
Control	1.14 ^{a} ± 0.10	1.71 ^{ab} ± 0.18	2.09 ^{a} ± 0.20	2.35 ^{a} ± 0.23	2.60 ^{a} ± 0.26
Bacillus S11 (1:2)	1.14 ^{a} ± 0.10	1.89 ^{c} ± 0.18	2.28 ^{b} ± 0.22	2.51 ^{a} ± 0.24	2.80 ^{a} ± 0.27
Bacillus S11 (1:5)	1.14 ^{a} ± 0.10	1.78 ^{b} ± 0.18	2.20 ^{ab} ± 0.21	2.44 ^{a} ± 0.25	2.72 ^{a} ± 0.28
Bacillus S11 (1:10)	1.14 ^{a} ± 0.10	1.75 ^{b} ± 0.18	2.18 ^{ab} ± 0.22	2.41 ^{a} ± 0.24	2.65 ^{a} ± 0.27
Selaroides leptolepis	1.14 ^{a} ± 0.10	1.63 ^{a} ± 0.19	2.15 ^{ab} ± 0.23	2.33 ^{a} ± 0.26	2.57 ^{a} ± 0.29

ตัวเลขที่มีตัวยกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวตั้งเดียวกัน

ตารางที่ 7 อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก เฉลี่ย (เซนติเมตร) การเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือกและอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง

Diet formula	Shell length(cm)			Growth in shell length
	Initial	Final	Increment	
Control	1.14 ^{a} ± 0.10	2.60 ^{a} ± 0.26	1.45 ^{ab} ± 0.27	0.36 ^{a} ± 0.07
Bacillus S11 (1:2)	1.14 ^{a} ± 0.10	2.80 ^{a} ± 0.27	1.67 ^{b} ± 0.28	0.42 ^{b} ± 0.07
Bacillus S11 (1:5)	1.14 ^{a} ± 0.10	2.72 ^{a} ± 0.28	1.59 ^{ab} ± 0.28	0.40 ^{ab} ± 0.07
Bacillus S11 (1:10)	1.14 ^{a} ± 0.10	2.65 ^{a} ± 0.27	1.51 ^{ab} ± 0.27	0.38 ^{ab} ± 0.07
Selaroides leptolepis	1.14 ^{a} ± 0.10	2.57 ^{a} ± 0.29	1.42 ^{a} ± 0.30	0.35 ^{a} ± 0.08

ตัวเลขที่มีตัวยกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวตั้งเดียวกัน



ภาพที่ 10 ความยาวเปลือกเฉลี่ย (เซนติเมตร)ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลอง

ผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกใน อาหารผสมต่อการเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวาน

จากการศึกษาการเติบโตทางน้ำหนักของหอยหวาน โดย เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารปริมาณแตกต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชุดการทดลองที่ เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติ กในอัตราส่วน 1:2 มีการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดย น้ำหนัก และอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักสูงสุด คือ 4.3 ± 0.9 กรัม 4.0 ± 0.9 กรัม และ1.0 ± 0.2 กรัมต่อเดือน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 – 9 และภาพที่ 11 (ตารางที่ 24-32, ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 8 น้ำหนักตัวเฉลี่ย (กรัม) ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน

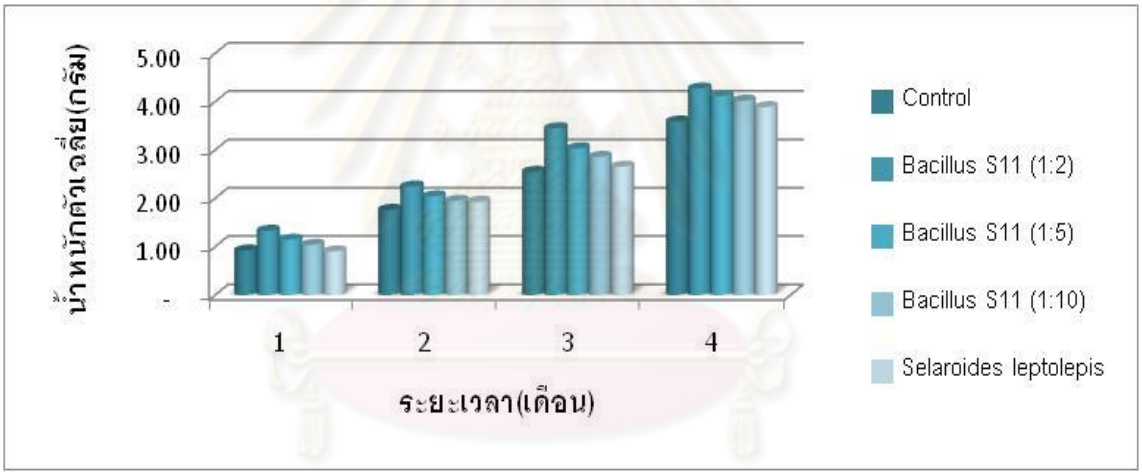
Diet Formula	Month				
	0	1	2	3	4
Control	$0.3^{a} \pm 0.1$	$0.9^{a} \pm 0.2$	$1.8^{a} \pm 0.4$	$2.6^{a} \pm 0.6$	$3.6^{a} \pm 0.8$
Bacillus S11 (1:2)	$0.3^{a} \pm 0.1$	$1.3^{d} \pm 0.2$	$2.3^{c} \pm 0.4$	$3.5^{b} \pm 0.6$	$4.3^{a} \pm 0.9$
Bacillus S11 (1:5)	$0.3^{a} \pm 0.1$	$1.2^{c} \pm 0.2$	$2.0^{bc} \pm 0.4$	$3.0^{ab} \pm 0.7$	$4.1^{a} \pm 0.9$
Bacillus S11 (1:10)	$0.3^{a} \pm 0.1$	$1.0^{b} \pm 0.3$	$2.0^{ab} \pm 0.5$	$2.9^{ab} \pm 0.6$	$4.0^{a} \pm 0.9$
Selaroides leptolepis	$0.3^{a} \pm 0.1$	$0.9^{a} \pm 0.3$	$1.9^{ab} \pm 0.4$	$2.7^{ab} \pm 0.7$	$3.9^{a} \pm 1.0$

ตัวเลขที่มีตัวยกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวตั้งเดียวกัน

ตารางที่ 9 อัตราการเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) การเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก และอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวานแต่ละชุดการทดลอง

Diet formula	Body weight (g)			Growth in body weight
	Initial	Final	Increment	
Control	0.3 [a] ± 0.1	3.6 [a] ± 0.8	3.3 [a] ± 0.8	0.8 [a] ± 0.2
Bacillus S11 (1:2)	0.3 [a] ± 0.1	4.3 [a] ± 0.9	4.0 [a] ± 0.9	1.0 [a] ± 0.2
Bacillus S11 (1:5)	0.3 [a] ± 0.1	4.1 [a] ± 0.9	3.9 [a] ± 0.9	1.0 [a] ± 0.2
Bacillus S11 (1:10)	0.3 [a] ± 0.1	4.0 [a] ± 0.9	3.8 [a] ± 0.8	0.9 [a] ± 0.2
Selaroides leptolepis	0.3 [a] ± 0.1	3.9 [a] ± 1.0	3.6 [a] ± 1.1	0.9 [a] ± 0.3

ตัวเลขที่มีตัวยกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวตั้งเดียวกัน



ภาพที่ 11 น้ำหนักตัวเฉลี่ย(กรัม)ของหอยหวานในแต่ละชุดทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อัตราการเปลี่ยน อาหารเป็นเนื้อ

จากการศึกษาอัตราแลกเนื้อ (Feed Conversion Ratio) ของหอยหวาน โดยการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารปริมาณแตกต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชุดการทดลองที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอัตราส่วน 1:2, 1:5 และ 1:10 มีอัตราแลกเนื้อของหอยหวาน เท่ากับ 1.01, 1.02 และ 0.99 ตามลำดับ ซึ่งมีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าหอยหวานที่ได้รับเนื้อปลาข้างเหลือง และอาหารสูตรควบคุมคือ 1.13 และ 1.28 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 (ตารางที่ 33-35, ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 10 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อข องหอยหวานในแต่ละ ชุดทดลองเป็นเวลา 4 เดือน

Diet formula	Feed intake	Weight gain	Feed Conversion Ratio
Control	113.3	99	$1.13^{b} \pm 0.04$
Bacillus S11 (1:2)	121.7	120	$1.01^{ab} \pm 0.07$
Bacillus S11 (1:5)	117.7	117	$1.02^{ab} \pm 0.12$
Bacillus S11 (1:10)	110	114	$0.99^{a} \pm 0.04$
Selaroides leptolepis	135.7	108	$1.28^{c} \pm 0.03$

ตัวเลขที่มีตัวยกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวตั้งเดียวกัน

อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซ็นต์)

จากการศึกษาอัตราการรอดสุดท้าย (Final survival) ของหอยหวานที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ในอาหารปริมาณ แตก ต่างกันเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าอัตราการรอดตายสุดท้ายไม่มีความแตกต่างทางสถิติทุกชุดการทดลอง โดยทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดตายสุดท้ายเกิน 97% (97.78%-100%) ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 อัตราการรอดของหอยหวาน (เปอร์เซ็นต์) ในแต่ละชุดทดลองเป็นเวลา 4 เดือน

Diet formula	Month				
	0	1	2	3	4
Control	100	100	98.89	98.89	98.89
Bacillus S11 (1:2)	100	100	100	100	100
Bacillus S11 (1:5)	100	100	100	100	100
Bacillus S11 (1:10)	100	100	98.89	98.89	98.89
Selaroides leptolepis	100	100	97.78	97.78	97.78

ทดสอบความต้านทานโรคเพื่อ หาค่าความเข้มข้นที่ทำให้หอยตาย 50%

หลังจากการเลี้ยงหอยหวานเป็นเวลา 4 เดือน ทำการทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 โดยวิธีการแช่หอยหวาน ในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ แบ่งเป็น 4 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 2 ซ้ำ ที่มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับใน 3 กลุ่มทดลอง และอีก 1 กลุ่มเป็นกลุ่มควบคุมไม่มีการเติมเชื้อดังกล่าว ใช้หอยหวาน กลุ่มทดลองละ 10 ตัว แสดงผลอัตราการรอดชีวิตของหอยหวานดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 อัตราการรอดชีวิตของหอยหวานหลังทดสอบด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

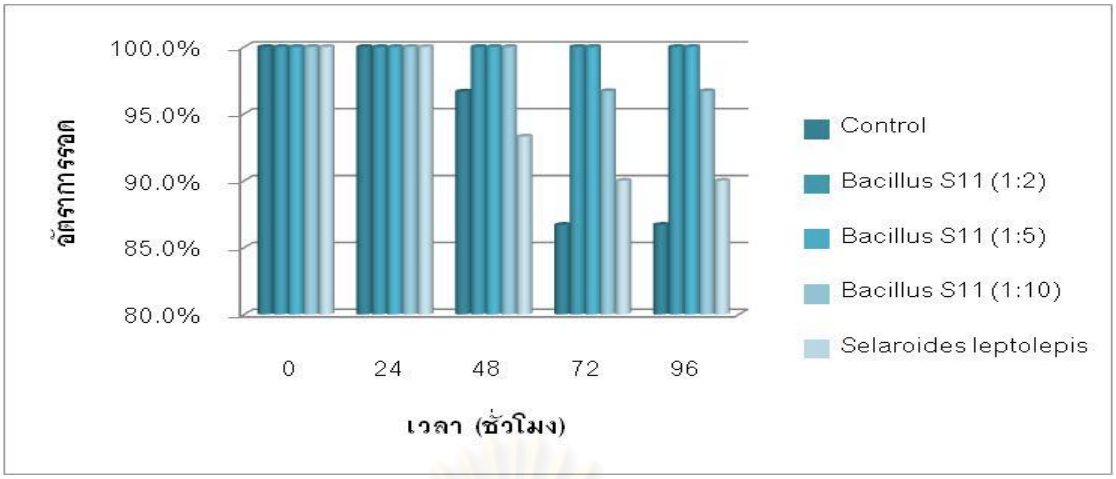
V. harveyi สายพันธุ์ 639 (CFU/ml)	อัตราการรอดชีวิตของหอยหวาน (เปอร์เซ็นต์)				
	0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	96 ชม.
0 (ควบคุม)	100%	100%	100%	100%	100%
3.41×10^5	100%	100%	100%	95%	85%
5.57×10^6	100%	100%	95%	85%	50%
6.92×10^7	100%	100%	90%	75%	45%

การทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (challenge test)

จากการทดสอบความสามารถการทานต่อโรควิบริโอซิสของหอยหวา นจากการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml เป็นเวลา 96 ชั่วโมง (อาการติดเชื้อจะแสดงออกโดยท่อ proboscis มีลักษณะบวมแดง) พบว่าหอยหวานที่ เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอาหารอัตราส่วน 1:2 และ 1:5 มีอัตราการรอดสูงถึง 100% ดังแสดงในตารางที่ 13 (ตารางที่ 36-38, ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 13 อัตราการรอดชีวิตของหอยหวานหลังทดสอบด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml

Diet formula	Survival rate (%)				
	0 hr.	24 hr.	48 hr.	72 hr.	96 hr.
Control	100%	100%	96.66%	86.66%	66.66% [a]
Bacillus S11 (1:2)	100%	100%	100%	100%	100% [b]
Bacillus S11 (1:5)	100%	100%	100%	100%	100% [b]
Bacillus S11 (1:10)	100%	100%	100%	96.66%	96.66% [b]
Selaroides leptolepis	100%	100%	93.33%	90%	70% [a]



ภาพที่ 12 อัตราการรอดชีวิตหลังทดสอบด้วยเชื้อ *V.harveyi* ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml

คุณภาพน้ำทะเล

คุณภาพน้ำของบ่อทดลองที่เก็บระหว่างการเลี้ยงในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียนตลอดระยะเวลา 4 เดือน ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพน้ำมีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างปกติของหอยหวาน ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 คุณภาพน้ำทะเลในการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน

Parameters	Months			
	1	2	3	4
Water temperature ($^{\circ}$C)	25-27	25-27	26-27	26-27
Salinity (ppt)	30	32	30	31
Dissolve Oxygen (mg/l)	6.5-7.0	6.8-7.0	6.5-7.0	6.9-7.0
Ammonia (NH_4-N, mg/l)	0-0.25	0-0.25	0-0.25	0-0.25
Alkalinity (mg/l)	100-110	110-100	110-120	110-120
Nitrite (NO_2-N, mg/l)	0-0.05	0-0.05	0-0.05	0-0.05
pH	7.7	7.8	7.4	7.5

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จำนวนเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารหอยหวาน

เมื่อทำการตรวจนับเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอาหารหอยหวานที่อัตราผสม 1:2 และอัตราผสม 1:5 พบว่ามีปริมาณเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ใกล้เคียงกับอัตราผสม 1:2 และอัตราผสม 1:5 ในอาหารกุ้งกุลาดำของ วรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) คือประมาณ 10^{10} และ 10^{8}CFU/g ตามลำดับ

การทดสอบคุณค่าทางอาหาร

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของอาหารทดลอง 5 สูตร พบว่ามีระดับโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 37.19 -37.24 มีค่าไขมันอยู่ในช่วงร้อยล ะ 10.01-10.13 มีค่าเถ้าอยู่ในช่วงร้อยละ 14.62-14.65 ค่าเยื่อใยอยู่ในช่วงร้อยละ 4.19-34.31 และความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 8.11-8.26 ซึ่งมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตใกล้เคียงกับสูตรอาหารสำเร็จรูปของหอยหวานที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตสูง สุด คือร้อยละ 36, 25 และ 10 ตามลำดับ ของ สุกัญญา จันทร์งาม (2550)

ผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอาหารผสมต่อการเติบโตของหอยหวาน

จากการศึกษาผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารหอยหวานเป็นระยะเวลา 4 เดือน เมื่อสิ้นสุดของการทดลอง พบว่าอาหารแต่ละชุดการทดลองมีอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P>0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของธรรมรัตน์ วาจาสัตย์ (2549) ที่มีการใช้โพรไบโอติกที่จำหน่ายในเชิงการค้าสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลนำมาเสริมกับเนื้อปลาสดให้เป็นอาหารแก่หอยหวานที่ปริมาณแตกต่างกันคือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเติบโตโดยความยาวเปลือก การเติบโตโดยน้ำหนัก และอัตราการรอดของหอยหวานไม่แตกต่างกันในทุกการทดลอง ($P>0.05$) หากพิจารณาหอยหวานที่ได้รับอาหารเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอัตราส่วน 1:2 มีอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักสูงสุดในช่วงเดือนที่ 1-2 ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการ

ทดลองของวรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ที่ทำการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอาหารกุ้งกุลาดำ ทำการเลี้ยง 100 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับการเสริมด้วยเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 มีอัตราการเจริญเติบโต สูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารผสมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และการทดลองของ Chaitanawisuti and Kritsanapuntu (2000) พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงหอยหวานด้วยเนื้อปลาสด เป็นระยะเวลา 6 เดือน ในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน หอยหวานมีการเจริญเติบโตโดยความยาวและน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะ 3 เดือนแรก หลังจากนั้นหอยหวานจะมีการเจริญเติบโตช้าลงใน 3 เดือนหลัง

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เป็นค่าของน้ำหนักของสัตว์ที่เพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยอาหาร แสดงให้เห็นว่าสัตว์ น้ำมีความสามารถในการเปลี่ยนอาหารที่กินเข้าไปเป็นน้ำหนักตัว โดยอาหารที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำควรมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ ผลการทดลองพบว่าอาหารสูตรควบคุม, กลุ่มที่เสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในอาหารหอยหวานที่อัตราผสม 1:2, 1:5 และ 1:10 และกลุ่มที่ได้รับปลาข้างเหลืองเป็นอาหาร มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 1.13 ± 0.04, 1.01 ± 0.07, 1.02 ± 0.12, 0.99 ± 0.04 และ 1.28 ± 0.03 ตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยให้ค่าใกล้เคียงกับการทดลองของชัชรียา เชยชม (2553) และ Chaitanawisuti and Kritsanapuntu (2000) ซึ่งให้เนื้อปลาข้างเหลือง (*Selaroides leptolepis*) เป็นอาหารมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 1.27

อัตราการรอดของหอยหวาน

จากการเลี้ยงหอยหวานด้วยอาหารที่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าไม่มีผลต่ออัตรา การรอดของหอยหวาน โดยหอยหวานมีอัตราการรอดสุดท้าย 97.78%-100% ซึ่งสอดคล้องกับ Chaitanawisuti and Kritsanapuntu (2002) ที่ทำการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน มีอัตราการรอดตาย 95.4% และสอดคล้องกับสุกัญญา จันทร์งาม ซึ่งมีอัตราการรอดตาย 98.52% เนื่องจากลูกหอยที่เริ่มเลี้ยงมีความยาวเปลือก 1.14 ± 0.10 เซนติเมตร ซึ่งหอยหวานที่มีความยาวเปลือกเฉลี่ยประมาณ 0.5 - 1.0 เซนติเมตรขึ้นไปเหมาะสมในการนำไปเลี้ยงต่อ มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมได้ดี จึงมีอัตราการรอดตายค่อนข้างสูง (บังอร ศรีมุกดา และคณะ, 2548)

การทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (challenge test)

แบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio sp.)* สามารถทำให้เกิดโรควิบริโอซีส (Vibriosis) โดยทำให้ลูกหอยตาย 100% ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อตรวจคุณภาพน้ำพบว่ามี ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอมากกว่า 1 แสนเซลล์ต่อมิลลิเมตร ($>10^5$ cfu/ml.) หลังจากการเลี้ยงหอยหวานเป็นเวลา 4 เดือน ทำการทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 โดยการแช่ (immersion challenge) พบว่า *V. harveyi* ที่ความเข้มข้น 5.57×10^6 CFU/ml สามารถทำให้หอยหวานในกลุ่มทดลองมีอัตรารอดชีวิตเพียง 50% ในเวลา 96 ชั่วโมง และเมื่อทดสอบความสามารถในการต้านทานโรควิบริโอซิสของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าหอยหวานที่ทำการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารหอยหวาน ในอัตราส่วน 1:2, 1:5 และ 1:10 มีอัตราการรอดสูงถึง 100%, 100% และ 96.66% ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้ปลาข้างเหลืองเป็นอาหารโดยมีอัตราการรอดเพียง 66.66% และ 70% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ที่ทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจาก *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 จะมีอัตราการรอดถึง 100% ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 มีอัตราการรอดเพียง 26 %

จากการศึกษาผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในสัดส่วนที่เหมาะสมในอาหารผสมต่อการเติบโต และการรอดชีวิตของหอยหวาน พบว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในสัดส่วนของ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 1 กรัมต่ออาหารหอยหวาน 2 กรัม เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงหอยหวานเนื่องจากหอยหวานมีอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก อัตราการเติบโตโดยความน้ำหนัก และอัตราการรอดชีวิตสูงสุดแม้จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีทางสถิติ และพบว่าหอยหวานที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในสัดส่วน 1:2 มีอัตราการรอดชีวิตถึง 100% จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจากเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^6 CFU/ml เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้ปลาข้างเหลืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ทำการเสริมเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกและเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ อาจยังให้ผลต่อการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมมากนัก ดังนั้นหากมีการศึกษาต่อโดยการคัดแยกแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจากทางเดินอาหารของหอยหวานโดยตรงและทำการเสริมลงในอาหารหอยหวานในสัดส่วนที่เหมาะสม เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของอาหารสำเร็จรูปที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงหอยหวาน

2. การทดลองครั้งนี้ทำการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำทะเลแบบหมุนเวียน จึงทำให้เชื้อมีการถ่ายเทไปได้ในทุกชุดการทดลอง ดังนั้นหากมีการเลือกใช้ระบบน้ำแบบอื่นจึงอาจทำให้ลดความคลาดเคลื่อนลงได้

3. การทดลองในครั้งนี้พบว่าอาหารมีการจับกันเป็นก้อนได้ไม่ค่อยดี ควรมีการศึกษาการคงรูปในอาหารเพื่อลดความคลาดเคลื่อนในปริมาณอาหารที่หอยหวานกินเข้าไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ขนิษฐา แสงงาม. 2540. ผลของโปรตีนและไขมันในอาหารกึ่งสำเร็จรูปที่มีต่อการเติบโตของหอยหวาน *Babylonia areolata*. ปริญญานิพนธ์, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชัชรียา เชยชม. 2552. ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการ เติบโต และ อัตรา รอดของหอยหวาน *Babylonia areolata*. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหา บัณฑิต สาขา วิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธรรมรัตน์ วาจาสัตย์. 2549. ผลของการเสริมไบโอติกในอาหารต่อการเจริญและการรอดตายของหอยหวานระยะวัยรุ่นในบ่อเลี้ยงระบบน้ำทะเลหมุนเวียนแบบกึ่งปิด. ปริญญานิพนธ์, คณะเทคโนโลยีและการจัดการ มหาวิท ยาลัยสงขลานครินทร์ สุราษฎร์ธานี.

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์. 2545. คู่มือการเพาะเลี้ยงหอยหวาน หลักการและแนวปฏิบัติ. หนังสือในโครงการจัดพิมพ์เผยแพร่ รายงานการวิจัย ลำดับที่ 8. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บังอร ศรีมุกดา สุรชาติ ฉวีภักดิ์ และวริษฐา หนูปิ่น. 2548. การผลิตลูกหอยหวาน *Babylonia areolata* Link, 1807 เชิงพาณิชย์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 24/2548. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง.

ลือชัย ดรุณชูม เกียรติศักดิ์ เสนะวีณิน และคมคาย ลา วัณยวุฒิ. 2548. การเลี้ยงหอยหวาน *Babylonia areolata* ด้วยอาหารที่แตกต่างกัน. เอกสารวิชาการที่ 34/2548. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วรรนิภา เพี้ยนภักตร์. 2539. การใช้แบคทีเรียเป็นโพรไบโอติกเสริมในอาหารกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญ ามหาบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุกัญญา จันทร์งาม. 2550. ผลของโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ต่อการเติบโต และการรอดของหอยหวาน *Babylonia areolata*. วิทยา นิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมบัติ รักประทานพร. 2542. การเสริมภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ Penaeus monodon ด้วย Bacillus สายพันธุ์ S11. วิทยา นิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชา จุลชีว วิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Arringnon, J. 1999. Management of freshwater fisheries. Science Publishers., USA. 582p.

Austin, B., Baudet, E., and Stobie, M. 1992. Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis suecica*. J. Fish Dis. 15: 55-61

Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Effendi, I., and Griffith, D.R.W. 1995. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. J. Fish Dis. 18: 93-96

Boonyaratpalin, M. 1991. Asian seabass, *Lates calcalifer*. In Handbook of Nutrition Requirements of Finfish. CRC press 5-11.

Byun, J. W., Park, S.C., Benno, Y., and Oh, T. K. 1997. Probiotic effect of *Lactobacillus* sp. DS-12 in flounder (*Paralichthys olivaceus*). J. Gen. Appl. Microbiol. 43: 305-508.

Chaitanawisuti, N., and Kritsanapuntu, A. 1997. Laboratory spawning and juvenile rearing of the marine gastropod Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 (Neogastropoda Buccinidae). In Thailand. Journal of Shellfish Research. 16. 31-37.

Chaitanawisuti, N., and Kritsanapuntu, S. 2000. Growth and production of hatchery reared juveniles Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 cultured to marker size in intensive flowthrough and semi-closed recirculating water systems. Journal of Aquaculture Research. 31. 415-419.

Chaitanawisuti, N., Kritsanapuntu, S., Natsukari, Y., and Kathinmai, S. 2001. Effects of feeding rates on the growth, survival and feed utilization of hatchery-reared juveniles of the gastropod mollusk Spotted Babylon *Babylonia areolata* Link 1807 in flowthrough culture systems. Journal of Aquaculture Research. 32. 689-692.

Chaitanawisuti, N., Kritsanapuntu, S., and Natsukari, Y. 2002. Economic analysis of a pilot Commercial production for spotted babylon, *Babylonia areolata*, of marketable sizes using a flow-through culture system in Thailand. Journal of Aquaculture Research. 33. 1265-1272.

Cheng, T.C. 2000. Noninfectious diseases of marine mollusces. CRC Press, Florida. 289p.

Dimer, C., and Gibson, G.R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. Int Dairy J 8: 473–479.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1990. Review of potentially harmful substances: choosing priority organochlorine for assessment. Report No.42, Rome.

Friedman, C.S., and R.P. Hedrick. 1991. Pacific oyster nocardiosis: isolation of the bacterium and induction of laboratory infections. Journal of Invertebrate Pathology. 57, 109-120.

Fox, S.M.1988. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. Vet. Med. 83: 806-830

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.

Fuller, R. 1992. History and development of probiotics. In Fuller, R. (ed.), Probiotics the scientific basis, 1st ed, pp. 1-8. London: Chapman & Hall.

Gildberg, A., Johansen, A.,and Bogwald, J. 1995. Growth and survival of Atlantic salmon (Salmo salar) fry given diets supplemented with fish protein hydrolysate and lactic acid bacteria during a challenge trial with *Aeromonas salmonicida*. Aquaculture. 138: 23-34.

Gram, L., Melchiorsen, J., Spanggaard, B., Hubber, I., and Nielsen, T.F. 1999. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. Appl. Environ. Microbiol. 65: 969-973.

Han, I.K., Lee, S.C., Lee, J.H., Lee, K.K., and Lee, J.C. 1984a: Studies on the growth effects of probiotics I. The effects of *Lactobacillus sporogenes* in the growing performance and the change in microbial flora of the faeces and intestinal contents of the broiler chicks. Korean J.Anim.Sci. 26:150-157

Han, I.K., et al. 1984b: Studies on the growth promoting effects of probiotics II. The effects of *Clostridium butyricum* ID on the performance and the change in microbial flora of the faeces and intestinal contents of the broiler chicks. Korean J.Anim.Sci. 26:158-165

Han, I.K., et al. 1984c: Studies on the growth promoting effects of probiotics III. The effects of *Clostridium butyricum* ID on the performance and the change in microbial flora of the faeces of growing pigs. Korean J.Anim.Sci. 26:166-171

Havenaar, R., and Huis in't Veld, J.H.J. 1992. Probiotics: a general views. In Wood, B.J.W. (ed.), The lactic acid bacteria in health & disease, 1, pp. 151-170. London: Elsevier Applied Science.

Havenaar, R., and Spanhaak, S. 1994. Probiotics from an immunological point of view. Current Opinion in Biotechnology. 5: 320-325.

Holzapfel, WH., Haberer,P., Snel, J., Schillinger, U., and Huis in't Veld, J.H.J. 1998. Overview of gut flora and probiotics. Int. J. Food Microbiol. 41: 85-101

Holzapfel, WH., and Schillinger, U. 2002. Introduction to preand probiotics. Food Res Int 35: 109–116.

Ingram, S.H., Lennon, A.M., and Albin, R.C. 1973. *Lactobacillus acidophilus* for pigs at weanling. J. Anim. Sci. 36:207

Lilly, D.M., and Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. Science. 147: 744-748.

Lara- Flores, M.; Olvera – Novoa, M.A.; Guzmán– Méndez, B.E., and López-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Aquaculture. 216: 193-201

Metchnikoff, E. 1907. The prolongation of life. London: Heinemann. cited in Fuller, R. (ed.) Probiotics the scientific basis. 1st ed. London: Chapman & Hall, 1992.

Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture. 164:351-358

Muralidhara, K.S., Sheggeby, G.G., and Elliker, P.R. 1977. Effect of feeding *Lactobacilli* on the coliform and *Lactobacillus* flora of intestinal tissue and faeces from piglets. J. Food. Project. 40: 288-215

Ouwehand, AC., Kirjavainen, PV., Shortt, C., and Salminen, S. 1999 . Probiotics: mechanisms and established effects. Int Dairy J 9: 43–52.

Panichasuk, P. 1996. Areolata babylon, *Babylonia areolata* Link 1807. Thai Fishery Gazette, 49: 107-117.

Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim. Nutr. Health. 29: 4-8.

Perkins, F.O. 1990. Haplosporidia. Boston, Jones and Bartlett Publishers Corp. 29p.

Perkins, F.O. 2000. Infectious diseases of mollusks. CRP Press, Florida. 255p.

Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Aguero, G., and Gobbato, N. 1995. Symposium: Probiotic bacteria for human: Clinical systems for evaluation of effectiveness, Immune system stimulation by probiotics. J. Dairy Sci. 78: 1597-1606

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., and Menasveta, P. 1998a. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture. 167: 301-313

Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., and Menasveta, P. 1998b. Probiotic in aquaculture: a case study of probiotics for larvae of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). In Flegel, T.W. (ed.), Advances in shrimp biotechnology, pp. 177-181. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

Riquelme, C., et al. 1997. Potential probiotic strains in. the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). Aquaculture. 154: 17-26.

Sanders, M.E. 1998. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. Int Dairy J 8: 341–347.

Sindermann, C.J. 1970. Principal diseases of marine fish and shellfish. Academic Press, New York. 369 p.

Smith, P., and Davey, S. 1993. Evidence for the competitive exclusion of *Aeromonas salmonicida* from fish with stress-inducible furunculosis by a fluorescent pseudomonad. J. Fish Dis. 16: 521-524

Tortuero, F. 1973. Influence of implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. Poultry. Sci. 52: 197-203

Vaughan, E. E., Mollet, B., and Vos, W.M. 1999. Functionality of probiotics and intestinal lactobacilli: light in the intestinal tract tunnel. Curr Opin Biotechnol. 10: 505–510.

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A., and Shakouri, M. 2005. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture. 252: 516-524.

Zimmer, C.J., and Gibson, G.R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept:perspectives and future strategies. Int. Dairy J. 8: 473-479.

Zubillaga, M., et al. 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutr Res. 21: 569– 579.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดลอง

1. อาหารเหลวทริปติกซอย (Tryptic Soy Broth)

ทริปโตน (Tryptone)	17.0	กรัม
ผงสกัดถั่วเหลือง (Soytone)	3.0	กรัม
เดกซ์โตส (Dextrose)	2.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.5	กรัม

2. อาหารแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลท์ (Thiosulfate citrate bile salt agar)

ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตน เบอร์3 (Proteose peptone No.3)	10.0	กรัม
โซเดียมซิเตรท ($HOC(COONa)(CH_2COONa)_2$)	10.0	กรัม
โซเดียมไทโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)	10.0	กรัม
ออกซ์กอล (Oxgall)	8.0	กรัม
แซคคาโรส	20.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	10.0	กรัม
เฟอริกซิเตรท ($C_6H_5O_7Fe.5H_2O$)	1.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.04	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์คุณภาพอาหารทดลอง

1. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (crude protein) ในอาหารสัตว์

การวิเคราะห์โปรตีนมี 3 ขั้นตอนดังนี้

1. การย่อย (digestion) ตัวอย่างอาหารให้อยู่ในรูปสารละลาย
2. การหาปริมาณโปรตีนโดยการกลั่น (distillation) สารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่าง
3. การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) (titration)

การเตรียมสารเคมี

1. **Protein catalyst เตรียมจาก $CuSO_4$ 7 กรัม ผสมกับ K_2SO_4 100 กรัม**
2. 4% boric acid เตรียมจาก boric acid 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร
3. tashiro indicator เตรียมจาก methyl red : methylyne blue สัดส่วน 3 : 2 โดยละลาย methyl red 1 กรัม ใน NaOH เข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 37 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น ให้มีปริมาตรรวมเป็น 1 ลิตร ผสมกับสารละลาย methylyne blue 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
4. 0.5 N H_2SO_4 เตรียมจากสูตร

$$V = (100 \times M \times N) / a \times p \times d$$

เมื่อ V = ปริมาตรของสารที่ใช้เตรียมสารละลาย 1 ลิตร

M = น้ำหนักโมเลกุลของสาร

N = ความเข้มข้นเป็นนอร์มอล

a = จำนวนโปรตอนของกรดที่ทำปฏิกิริยาได้

p = เปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์

d = ความหนาแน่นของสาร

5. เตรียม 0.5 N Na_2CO_3 โดยชั่ง Na_2CO_3 26.5 กรัม อบที่ 100 °C นาน 2 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การย่อยตัวอย่างอาหาร (Kjeldatherm digestion)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้งประมาณ 2 กรัม ใส่ใน digestion tube
2. เติม catalyst 10.01 กรัม ลงไปแล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น 25 มิลลิลิตร
3. นำ digestion tube ใส่ใน rack แล้วนำ rack ใส่ใน Kjeldatherm digestion block พร้อมทั้งประกอบท่อดูดควันระบบสูญญากาศทิ้งให้เกิดการย่อยจนได้สารประกอบสีดำ ประมาณ 20 นาที
4. เริ่มตั้งอุณหภูมิเครื่อง Kjeldatherm digestion block ไว้ที่ประมาณ 100 °C แล้วเพิ่มอุณหภูมิ 20 °C ทุกๆ 15-20 นาที จนอุณหภูมิถึง 380 °C
5. ปล่อยให้เกิดการย่อยสมบูรณ์ (สังเกตจากสีของสารละลายใน digestive tube จะขึ้นกับชนิดของ catalyst ซึ่งในการย่อยนี้จะได้สีฟ้า)
6. ปล่อยทิ้งไว้ให้สารละลายมีอุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้อง
7. เติมน้ำกลั่นลงใน digestion tube ให้น้ำใน tube มีปริมาณมากพอที่จะนำไปกลั่นได้ (เติมประมาณ 100-150 มิลลิลิตร)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การกลั่นสารละลายเพื่อนำไปหาโปรตีน

วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่องมือ vapodest 1 โยกคันโยกมาอยู่ในตำแหน่ง fill เพื่อปล่อยน้ำเข้าสู่ boiler จนได้ระดับน้ำประมาณ 6/10 ของboiler แล้วโยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง stand by น้ำใน boiler จะเริ่มเดือด ไม่ควรเติมน้ำมากเกินไปเพราะเวลาน้ำเดือดจะล้นเข้ามาอยู่ใน digestion tube
2. เติม 4% boric acid 100 มิลลิลิตร ลงในErlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร หยด tashiro indicator ลงไป 5-6 หยด จะได้สารละลายสีม่วง
3. วาง flask ที่มี boric acid ไว้ในตำแหน่งที่มี drainage tube โดยปล่อยให้ปลาย drainage tube จุ่มอยู่ในสารละลายตลอดเวลา
4. นำ digestive tube ที่มีตัวอย่างที่ dilute แล้ว ไปวางบน clamp โดยให้ส่วนปลายของ tube แนบสนิทกับ cone-shape rubber stopper
5. เมื่อน้ำเริ่มเดือดเป็นไอให้กดปุ่ม “add NaOH” เพื่อให้ 50%NaOH solution ไหลเข้าสู่ digestive tube สารลายใน digestive tube จะเกิดฟองก๊าซเกิดขึ้น กดปุ่ม added NaOH ไปเรื่อยๆ จนไม่เกิดฟอง (ซึ่งสารละลายใน digestive tube จะมีตะกอนขุ่น) เติม NaOH ให้มากเกินพออีกประมาณ 10 มิลลิลิตร ถ้าในตัวอย่างอาหารมีสารประกอบไนโตรเจนมาก สีของสารละลาย boric acid + tashiro indicator จะเริ่มเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว ในขั้นตอนนี้จะต้องปล่อยน้ำไหลเข้า condenser ตลอดเวลา เพื่อให้ก๊าซ NH_3 ควบแน่นไหลเข้าสู่ flask ที่บรรจุ boric acid
6. โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง distillation เพื่อให้ไอน้ำเข้าไปใน digestion tube และปล่อยให้เกิดการกลั่นจนได้สารละลายใน flask ที่มี boric acid จนได้ปริมาตรเป็น 300 มิลลิลิตร แล้วให้โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง stand by จึงถอด digestion tube ออก
7. นำ flask ที่มี boric acid และ tashiro indicator ไปไตรเตรทกับสารละลาย standard H_2SO_4 ความเข้มข้นประมาณ 0.5N จนถึงจุดยุติซึ่งสารละลายใน flask จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอ่อน

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรด H_2SO_4 (Skoog and West, 1986)

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลาย 0.5 N H_2SO_4 และ 0.5 N Na_2CO_3
2. ปิเปต 0.5 N Na_2CO_3 25 มิลลิลิตร ใส่ใน flask หยด methyl orange 2-3 หยด ไตเตรทกับ 0.5 N H_2SO_4 จนถึงจุดยุติ จะได้สีชมพูเหลือง

คำนวณหาความเข้มข้นของ H_2SO_4 จาก

$$N_{acid} = (N_{base} \times V_{base})/V_{acid}$$

โดย N_{acid} = ความเข้มข้นของสารละลาย H_2SO_4 เป็นนอร์มอล

N_{base} = ความเข้มข้นของสารละลาย Na_2CO_3 เป็นนอร์มอล

V_{base} = ปริมาตรของสารละลาย Na_2CO_3 เป็นมิลลิลิตร

V_{acid} = ปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 เป็นมิลลิลิตร

การคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{1400 \times V_s \times N_s \times N_p}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)} \times 1000}$$

โดย V_s = ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรทเป็นมิลลิ ลิตร

N_s = ความเข้มข้นของสารละลาย H_2SO_4 ใช้ในการไตเตรทเป็นนอร์มอล

N_p = conversion factor (มีค่า 6.25)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

ความชื้นของตัวอย่างอาหารสัตว์จะถูกดึงไปโดยการระเหยด้วยความร้อนจนกระทั่งได้น้ำหนักของอาหารที่เหลืออยู่คงที่ ซึ่งน้ำหนักที่สูญหายไปของอาหารก็คือความชื้นของอาหาร

วิธีการทดลอง

1. อบถ้วยอลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้ง(รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียม
3. เผาใน muffer furnace ที่ 105 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
4. ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator)
5. ชั่งน้ำหนักละเอียด
6. คำนวณความชื้น (ร้อยละ) จากสูตร

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักอาหารก่อนอบ} - \text{น้ำหนักอาหารหลังอบ})}{\text{น้ำหนักอาหารก่อนอบ}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

เมื่อนำตัวอย่างอาหารสัตว์ไปเผาไหม้ที่อุณหภูมิ 600 °C สารอินทรีย์ทั้งหมดจะถูกเผาไหม้ ส่วนที่เหลืออยู่คืออนินทรีย์สาร โดยอนินทรีย์สารทั้งหมดที่ไม่ได้ระเหยไปในอุณหภูมิดังกล่าว เรียกว่า เถ้า (ash) ซึ่งเถ้าคือแร่ธาติที่มีอยู่ในอาหาร

วิธีการทดลอง

1. อบ crucible ที่ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งน้ำหนักแห้ง (รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ใส่ใน crucible
3. วาง crucible บน hotplate ปล่อยให้เกิดการ ignite ในตู้ดูดควันจนหมดควัน
4. ย้าย crucible ไปเผาใน muffer furnace ที่ 600 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
5. ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
6. คำนวณร้อยละปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{เถ้า} = \frac{\text{ปริมาณเถ้าที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

อีเทอร์จะถูกระเหยเป็นไอติดต่อกันหลังจากนั้นไอของอีเทอร์กระทบความเย็นจากเครื่องควบแน่นแล้วกลั่นตัวกลับเป็นของเหลว และไหลผ่านตัวอย่างอาหารสัตว์ พร้อมทั้งสกัดสารที่สามารถละลายได้ในอีเทอร์ออกมาด้วยจนกระทั่งกระบวนการเสร็จสิ้นอีเทอร์จะถูกระเหยหรือทำให้แห้งไปจนหมด สิ่งที่เหลืออยู่คือไขมัน (crude fat) หรือที่เรียกว่า ether extract

วิธีการทดลอง

1. อบขวดสกัดไขมันของเครื่องที่ 130 °C ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างแห้ง (รู้น้ำหนักละเอียด) ประมาณ 2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
3. ใส่ตัวอย่างที่ห่อด้วยกระดาษกรองแล้วใส่ใน trimble หลังจากนั้นใส่ trimble ลงในขวดสกัดไขมันของเครื่อง
4. เติม petroleum ether 90 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัดไขมัน (ระวังอย่าให้ trimble แช่อยู่ใน petroleum ether)
5. นำขวดสกัดไขมันไปประกอบกับเครื่อง soxtherm เปิดสวิตช์ oil bath แล้วตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 150 °C แล้วเปิดสวิตช์ที่ pressure control pump เปิด cooler ให้น้ำเย็นไหลเข้าสู่ condernser ของเครื่อง soxtherm
6. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm มายังตำแหน่งที่จะทำให้เกิดการ reflux กลับของ petroleum ether ปล่อยให้เกิดการสกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
7. เลื่อนคันโยกที่เครื่อง soxtherm มายังตำแหน่งที่ทำให้เกิดการกลั่นเก็บของ petroleum ether รอจน petroleum ether แห้งเกือบหมด
8. นำขวดสกัดไขมันไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator)
9. นำขวดสกัดไขมันไปชั่งน้ำหนักละเอียด
10. คำนวณร้อยละของไขมันจากสูตร

$$\text{ไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมัน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย (fiber)

นำอาหารที่สกัดไขมันออกแล้วไปย่อยด้วยสารละลายกรดเจือจาง หลังจากนั้นอาหารจะถูกย่อยต่อไปด้วยสารละลายด่างเจือจาง สารที่ เหลืออยู่ถูกกรองเก็บไว้ในกระดาษกรองใน crucible แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 600 °C ซึ่งน้ำหนักที่สูญหายไปในการเผาคือเยื่อใยทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารนั่นเอง

วิธีการทดลอง

1. อบกระดาษกรองเบอร์ 41 และ crucible ที่ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโหลดูดความชื้น (desicator) จนได้น้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนักละเอียด
2. นำตัวอย่างที่สกัดไขมันออกไปแล้ว (ทราบน้ำหนักละเอียดเริ่มต้นของตัวอย่างก่อนสกัดไขมัน) ใส่ลงใน beaker ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร เติม H_2SO_4 เข้มข้น 0.225N ลงไป 200 มิลลิลิตร ต่อ condenser เข้ากับ beaker เพื่อรักษาระดับของกรดให้คงที่ เปิด heater ให้ความร้อนกับกรดจนเดือด ทำการย่อยต่อเป็นเวลา 30 นาที
3. กรองสารละลายที่ได้จากข้อ 2 ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 จนหมด (ไม่ควรให้มีตะกอนเหลือค้างอยู่ใน beaker) ล้างตะกอนที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองด้วยน้ำ กลั่นจนหมดความเป็นกรด
4. นำส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองใส่ลงใน beaker ในข้อ 2 จนหมด เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.131N ลงไป 200 มิลลิลิตร ใช้สารละลายนี้ล้างสารตัวอย่างบนกระดาษกรองให้หมด แล้วจึงต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที
5. กรองเอาสารละลายจากข้อ 4 ด้วยกระดาษกรองแผ่นเดิมแล้วล้างด้วยตัวอย่างจนหมดความเป็นด่างด้วยน้ำกลั่น ล้างตะกอนด้วย 95% ethyl alcohol ประมาณ 30 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่เหลือบนกระดาษกรองไปอบให้แห้งที่ 100 °C
6. นำตะกอนพร้อมกระดาษกรองไปเผาเพื่อหาเถ้าโดยใส่ไว้ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักละเอียดแล้ว ทิ้งให้เย็นใน desicator แล้วนำไปชั่งน้ำหนักละเอียด
7. คำนวณร้อยละของเยื่อใยจากสูตร

$$\text{เยื่อใย (ร้อยละ)} = \frac{[(\text{น้ำหนักตะกอน} + \text{กระดาษกรอง}) - (\text{น้ำหนักกระดาษกรอง} - \text{ปริมาณเถ้า})]}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} .$$

ภาคผนวก ค

ผลของการเสริม *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในอาหารผสมต่อการเจริญเติบโต

ตารางที่ 15 Descriptive ความยาวเปลือกเฉลี่ยของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Average shell length Month 1	Control	3	1.7100	.06928	.04000	1.5379	1.8821	1.67	1.79
	Bacillus S11 (1:2)	3	1.8933	.04726	.02728	1.7759	2.0107	1.84	1.93
	Bacillus S11 (1:5)	3	1.7800	.07937	.04583	1.5828	1.9772	1.69	1.84
	Bacillus S11 (1:10)	3	1.7467	.03055	.01764	1.6708	1.8226	1.72	1.78
	Selaroides leptolepis	3	1.6267	.03215	.01856	1.5468	1.7065	1.59	1.65
	Total	15	1.7513	.10190	.02631	1.6949	1.8078	1.59	1.93
Average shell length Month 2	Control	3	2.0900	.04000	.02309	1.9906	2.1894	2.05	2.13
	Bacillus S11 (1:2)	3	2.2833	.06506	.03756	2.1217	2.4450	2.22	2.35
	Bacillus S11 (1:5)	3	2.2033	.09292	.05364	1.9725	2.4341	2.10	2.28
	Bacillus S11 (1:10)	3	2.1800	.08544	.04933	1.9678	2.3922	2.09	2.26
	Selaroides leptolepis	3	2.1500	.09849	.05686	1.9053	2.3947	2.04	2.23
	Total	15	2.1813	.09395	.02426	2.1293	2.2334	2.04	2.35

ตารางที่ 15 (ต่อ) Descriptive ความยาวเปลือกเฉลี่ยของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Average shell length Month 3	Control	3	2.3467	.10408	.06009	2.0881	2.6052	2.23	2.43
	Bacillus S11 (1:2)	3	2.5100	.09644	.05568	2.2704	2.7496	2.44	2.62
	Bacillus S11 (1:5)	3	2.4367	.06110	.03528	2.2849	2.5884	2.37	2.49
	Bacillus S11 (1:10)	3	2.4100	.08718	.05033	2.1934	2.6266	2.31	2.47
	Selaroides leptolepis	3	2.3333	.15275	.08819	1.9539	2.7128	2.20	2.50
	Total	15	2.4073	.11061	.02856	2.3461	2.4686	2.20	2.62
Average shell length Month 4	Control	3	2.5967	.11015	.06360	2.3230	2.8703	2.47	2.67
	Bacillus S11 (1:2)	3	2.8033	.05132	.02963	2.6759	2.9308	2.76	2.86
	Bacillus S11 (1:5)	3	2.7233	.11015	.06360	2.4497	2.9970	2.65	2.85
	Bacillus S11 (1:10)	3	2.6533	.13796	.07965	2.3106	2.9960	2.55	2.81
	Selaroides leptolepis	3	2.5700	.16703	.09644	2.1551	2.9849	2.42	2.75
	Total	15	2.6693	.13535	.03495	2.5944	2.7443	2.42	2.86

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 Descriptive ค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือกและอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือกของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Shell length increment	Control	3	1.4533	.12897	.07446	1.1330	1.7737	1.31	1.56
	Bacillus S11 (1:2)	3	1.6667	.03215	.01856	1.5868	1.7465	1.63	1.69
	Bacillus S11 (1:5)	3	1.5867	.08622	.04978	1.3725	1.8008	1.51	1.68
	Bacillus S11 (1:10)	3	1.5100	.11358	.06557	1.2279	1.7921	1.43	1.64
	Selaroides leptolepis	3	1.4233	.16166	.09333	1.0218	1.8249	1.25	1.57
	Total	15	1.5280	.13278	.03428	1.4545	1.6015	1.25	1.69
Growth in shell length	Control	3	.3633	.03055	.01764	.2874	.4392	.33	.39
	Bacillus S11 (1:2)	3	.4167	.00577	.00333	.4023	.4310	.41	.42
	Bacillus S11 (1:5)	3	.3967	.02082	.01202	.3450	.4484	.38	.42
	Bacillus S11 (1:10)	3	.3800	.02646	.01528	.3143	.4457	.36	.41
	Selaroides leptolepis	3	.3533	.04041	.02333	.2529	.4537	.31	.39
	Total	15	.3820	.03299	.00852	.3637	.4003	.31	.42

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 ตารางANOVA ของความยาวเปลือกเฉลี่ยค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก และอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Average shell length Month 1	Between Groups	.115	4	.029	9.377	.002
	Within Groups	.031	10	.003		
	Total	.145	14			
Average shell length Month 2	Between Groups	.061	4	.015	2.409	.118
	Within Groups	.063	10	.006		
	Total	.124	14			
Average shell length Month 3	Between Groups	.062	4	.015	1.407	.300
	Within Groups	.110	10	.011		
	Total	.171	14			
Average shell length Month 4	Between Groups	.109	4	.027	1.842	.197
	Within Groups	.148	10	.015		
	Total	.256	14			
Shell length increment	Between Groups	.119	4	.030	2.311	.129
	Within Groups	.128	10	.013		
	Total	.247	14			
Growth in shell length	Between Groups	.008	4	.002	2.603	.100
	Within Groups	.007	10	.001		
	Total	.015	14			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ยเดือนที่

Formula	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Selaroides leptolepis	3	1.6267		
Control	3	1.7100	1.7100	
Bacillus S11 (1:10)	3		1.7467	
Bacillus S11 (1:5)	3		1.7800	
Bacillus S11 (1:2)	3			1.8933
Sig.		.095	.170	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 19 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ยเดือนที่2

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	3	2.0900	
Selaroides leptolepis	3	2.1500	2.1500
Bacillus S11 (1:10)	3	2.1800	2.1800
Bacillus S11 (1:5)	3	2.2033	2.2033
Bacillus S11 (1:2)	3		2.2833
Sig.		.134	.084

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 20 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ยเดือนที่

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Selaroides leptolepis	3	2.3333
Control	3	2.3467
Bacillus S11 (1:10)	3	2.4100
Bacillus S11 (1:5)	3	2.4367
Bacillus S11 (1:2)	3	2.5100
Sig.		.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 21 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของความยาวเปลือกเฉลี่ยเดือนที่4

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Selaroides leptolepis	3	2.5700
Control	3	2.5967
Bacillus S11 (1:10)	3	2.6533
Bacillus S11 (1:5)	3	2.7233
Bacillus S11 (1:2)	3	2.8033
Sig.		.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 22 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยความยาวเปลือก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Selaroides leptolepis	3	1.4233	
Control	3	1.4533	1.4533
Bacillus S11 (1:10)	3	1.5100	1.5100
Bacillus S11 (1:5)	3	1.5867	1.5867
Bacillus S11 (1:2)	3		1.6667
Sig.		.130	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 23 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Selaroides leptolepis	3	.3533	
Control	3	.3633	
Bacillus S11 (1:10)	3	.3800	.3800
Bacillus S11 (1:5)	3	.3967	.3967
Bacillus S11 (1:2)	3		.4167
Sig.		.100	.147

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 24 Descriptive น้ำหนักตัวเฉลี่ยของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Average weight increase Month 1	Control	3	.9233	.02082	.01202	.8716	.9750	.90	.94
	Bacillus S11 (1:2)	3	1.3333	.03512	.02028	1.2461	1.4206	1.30	1.37
	Bacillus S11 (1:5)	3	1.1500	.05292	.03055	1.0186	1.2814	1.09	1.19
	Bacillus S11 (1:10)	3	1.0400	.07000	.04041	.8661	1.2139	.97	1.11
	Selaroides leptolepis	3	.9100	.04583	.02646	.7962	1.0238	.86	.95
	Total	15	1.0713	.16780	.04332	.9784	1.1643	.86	1.37
Average weight increase Month 2	Control	3	1.7667	.08145	.04702	1.5643	1.9690	1.71	1.86
	Bacillus S11 (1:2)	3	2.2500	.14731	.08505	1.8841	2.6159	2.08	2.34
	Bacillus S11 (1:5)	3	2.0467	.13317	.07688	1.7159	2.3775	1.96	2.20
	Bacillus S11 (1:10)	3	1.9500	.06083	.03512	1.7989	2.1011	1.91	2.02
	Selaroides leptolepis	3	1.9367	.14295	.08253	1.5816	2.2918	1.78	2.06
	Total	15	1.9900	.19194	.04956	1.8837	2.0963	1.71	2.34

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 24 (ต่อ) Descriptive น้ำหนักตัวเฉลี่ยของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Average weight increase Month 3	Control	3	2.5533	.38657	.22318	1.5930	3.5136	2.11	2.82
	Bacillus S11 (1:2)	3	3.4567	.54077	.31221	2.1133	4.8000	2.84	3.85
	Bacillus S11 (1:5)	3	3.0400	.49790	.28746	1.8032	4.2768	2.49	3.46
	Bacillus S11 (1:10)	3	2.8633	.26350	.15213	2.2088	3.5179	2.57	3.08
	Selaroides leptolepis	3	2.6600	.43555	.25146	1.5780	3.7420	2.19	3.05
	Total	15	2.9147	.49428	.12762	2.6409	3.1884	2.11	3.85
Average weight increase Month 4	Control	3	3.5967	.61533	.35526	2.0681	5.1252	2.94	4.16
	Bacillus S11 (1:2)	3	4.2767	.26633	.15377	3.6151	4.9383	3.97	4.45
	Bacillus S11 (1:5)	3	4.1200	.33779	.19502	3.2809	4.9591	3.73	4.32
	Bacillus S11 (1:10)	3	4.0267	.41956	.24223	2.9844	5.0689	3.55	4.34
	Selaroides leptolepis	3	3.8900	.74666	.43108	2.0352	5.7448	3.04	4.44
	Total	15	3.9820	.49200	.12703	3.7095	4.2545	2.94	4.45

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 25 Descriptive ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนักและอัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก ของหอยหวาน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Weight increment	Control	3	3.3367	.70685	.40810	1.5808	5.0926	2.58	3.98
	Bacillus S11 (1:2)	3	4.0200	.35791	.20664	3.1309	4.9091	3.61	4.27
	Bacillus S11 (1:5)	3	3.8633	.42829	.24727	2.7994	4.9273	3.37	4.14
	Bacillus S11 (1:10)	3	3.7700	.51215	.29569	2.4977	5.0423	3.19	4.16
	Selaroides leptolepis	3	3.6333	.83913	.48447	1.5488	5.7178	2.68	4.26
	Total	15	3.7247	.55789	.14405	3.4157	4.0336	2.58	4.27
Growht in weight	Control	3	.8333	.18148	.10477	.3825	1.2841	.64	1.00
	Bacillus S11 (1:2)	3	1.0033	.09074	.05239	.7779	1.2287	.90	1.07
	Bacillus S11 (1:5)	3	.9633	.10693	.06173	.6977	1.2290	.84	1.03
	Bacillus S11 (1:10)	3	.9433	.12662	.07311	.6288	1.2579	.80	1.04
	Selaroides leptolepis	3	.9100	.21166	.12220	.3842	1.4358	.67	1.07
	Total	15	.9307	.14043	.03626	.8529	1.0084	.64	1.07

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 26 ตารางANOVA ของน้ำหนักตัวเฉลี่ย ค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก และอัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Average weight increase Month 1	Between Groups	.371	4	.093	40.469	.000
	Within Groups	.023	10	.002		
	Total	.394	14			
Average weight increase Month 2	Between Groups	.375	4	.094	6.684	.007
	Within Groups	.140	10	.014		
	Total	.516	14			
Average weight increase Month 3	Between Groups	1.523	4	.381	2.006	.170
	Within Groups	1.898	10	.190		
	Total	3.420	14			
Average weight increase Month 4	Between Groups	.794	4	.199	.766	.571
	Within Groups	2.594	10	.259		
	Total	3.389	14			
Weight increment	Between Groups	.802	4	.201	.564	.694
	Within Groups	3.555	10	.356		
	Total	4.357	14			
Growht in weight	Between Groups	.049	4	.012	.542	.709
	Within Groups	.227	10	.023		
	Total	.276	14			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 27 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่1

Formula	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Selaroides leptolepis	3	.9100			
Control	3	.9233			
Bacillus S11 (1:10)	3		1.0400		
Bacillus S11 (1:5)	3			1.1500	
Bacillus S11 (1:2)	3				1.3333
Sig.		.740	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 28 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่2

Formula	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Control	3	1.7667		
Selaroides leptolepis	3	1.9367	1.9367	
Bacillus S11 (1:10)	3	1.9500	1.9500	
Bacillus S11 (1:5)	3		2.0467	2.0467
Bacillus S11 (1:2)	3			2.2500
Sig.		.100	.303	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 29 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่3

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	3	2.5533	
Selaroides leptolepis	3	2.6600	2.6600
Bacillus S11 (1:10)	3	2.8633	2.8633
Bacillus S11 (1:5)	3	3.0400	3.0400
Bacillus S11 (1:2)	3		3.4567
Sig.		.231	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 30 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของน้ำหนักตัวเฉลี่ยเดือนที่4

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	3.5967
Selaroides leptolepis	3	3.8900
Bacillus S11 (1:10)	3	4.0267
Bacillus S11 (1:5)	3	4.1200
Bacillus S11 (1:2)	3	4.2767
Sig.		.163

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 31 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของค่าการเพิ่มขึ้นโดยน้ำหนัก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	3.3367
Selaroides leptolepis	3	3.6333
Bacillus S11 (1:10)	3	3.7700
Bacillus S11 (1:5)	3	3.8633
Bacillus S11 (1:2)	3	4.0200
Sig.		.225

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางที่ 32 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control	3	.8333
Selaroides leptolepis	3	.9100
Bacillus S11 (1:10)	3	.9433
Bacillus S11 (1:5)	3	.9633
Bacillus S11 (1:2)	3	1.0033
Sig.		.231

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 33 Descriptive อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	1.1333	0.04509	0.02603	1.0213	1.2453	1.09	1.18
Bacillus S11 (1:2)	3	1.0067	0.07234	0.04177	0.8270	1.1864	0.96	1.09
Bacillus S11 (1:5)	3	1.0167	0.11504	0.06642	0.7309	1.3024	0.90	1.13
Bacillus S11 (1:10)	3	0.9900	0.04000	0.02309	0.8906	1.0894	0.95	1.03
Selaroides leptolepis	3	1.2800	0.02646	0.01528	1.2143	1.3457	1.25	1.30
Total	15	1.0853	0.12710	0.03282	1.0149	1.1557	0.90	1.30

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 34 ตารางANOVA ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.181	4	0.045	9.900	0.002
Within Groups	0.046	10	0.005		
Total	0.226	14			

ตารางที่ 35 ตารางDuncan's New Multiple Range Test ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

Formula	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Bacillus S11 (1:10)	3	0.9900		
Bacillus S11 (1:2)	3	1.0067	1.0067	
Bacillus S11 (1:5)	3	1.0167	1.0167	
Control	3		1.1333	
Selaroides leptolepis	3			1.2800
Sig.		0.654	0.053	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

อัตราการรอดของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (challenge test)

ตารางที่ 36 Descriptive อัตราการรอดของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	66.6667	15.27525	8.81917	28.7208	104.6125	50.00	80.00
Bacillus S11 (1:2)	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Bacillus S11 (1:5)	3	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Bacillus S11 (1:10)	3	96.6667	5.77350	3.33333	82.3245	111.0088	90.00	100.00
Selaroides leptolepis	3	70.0000	20.00000	11.54701	20.3172	119.6828	50.00	90.00
Total	15	86.6667	18.38737	4.74760	76.4841	96.8493	50.00	100.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 37 ตาราง ANOVA ของอัตราการรอดของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3400.000	4	850.000	6.375	.008
Within Groups	1333.333	10	133.333		
Total	4733.333	14			

ตารางที่ 38 ตาราง Duncan's New Multiple Range Test ของอัตราการรอดของหอยหวานจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Control	3	66.6667	
Selaroides leptolepis	3	70.0000	
Bacillus S11 (1:10)	3		96.6667
Bacillus S11 (1:5)	3		100.0000
Bacillus S11 (1:2)	3		100.0000
Sig.		.731	.743

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววาเลนไทน์ อินทิยศ เกิดเมื่อวันจันทร์ที่ 13 สิงหาคม พ .ศ. 2527 ที่จังหวัด นครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญา บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ -ชีววิทยา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (เกียรตินิยมอันดับ 2) ปีการศึกษา 2548 และศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550 และ สำเร็จการศึกษาในปี 2553

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย