

## ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานโรควิบริโอ (Vibriosis) ในกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*)

ฉันทน์ พันภัย<sup>1</sup> นรสิงห์ เพ็ญประไพ<sup>2</sup> ชีรุฒิ เลิศสุทธธิชาวล<sup>3</sup> หิรัญ กังแฮ<sup>1</sup>  
และ กิจการ สุขุมมัตย์<sup>4</sup>

### Abstract

Ponpai, T.<sup>1</sup>, Penprapai, N.<sup>2</sup>, Lerssutthichawal, T.<sup>3</sup>, Kanghae, H.<sup>1</sup> and Supamattaya, K.<sup>1</sup>  
Effect of betaine on growth performance and resistance on Vibriosis in  
white shrimp (*Penaeus vannamei*)  
Songklanakar J. Sci. Technol., 2007, 29(5) : 1275-1282

Effects of betaine fortified in the feed on growth performance and resistance to Vibriosis was conducted in *P. vannamei* of average initial weight 2 gram. In the 6-week feeding trial different feed formulae were tested. Formula 1 feed control was without betaine fortification while in formula 2 through 5 contained betaine at 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 percent, respectively. Determination of weight gain was carried out at 2 week

<sup>1</sup>Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand. <sup>2</sup>Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang campus, Trang, 92150 Thailand. <sup>3</sup>Faculty of Fisheries, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakornsithammarat Campus, Nakhon Si Thammarat, 80110 Thailand.

<sup>1</sup>วท.ม. (วาริชศาสตร์) <sup>4</sup>Dr.rer.Nat. (Aquatic Animal Disease) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112 <sup>2</sup>วท.ม (วิทยาศาสตร์การประมง) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง จังหวัดตรัง 92150 <sup>3</sup>Ph.D. (Fish Parasitology) คณะประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

Corresponding e-mail: kidchakan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 2 พฤศจิกายน 2549      รับลงพิมพ์ 11 เมษายน 2550

intervals. The results showed that there was no significant difference among treatments in survival, feed conversion ratio or feed intake although average individual weight gain showed a difference with higher weight gain in those given 4 percent fortified feed compared with control. A similar result was obtained for specific growth rate, which was higher for 4 percent betaine than the control. The feed with 4 percent betaine fortification resulted in the best performance on immune response while the best capacity to eliminate *V. harveyi* in plasma was noted in the treatment with 3 percent betaine supplementation. In conclusion, betaine has been shown to be effective in its application to enhance growth and immunity, and this might help support the sustainability of the shrimp industry.

**Key words :** betaine, white shrimp, *Penaeus vannamei*, growth performance, disease resistance

### บทคัดย่อ

รัชชนนท์ พันภัย นรสิงห์ เพ็ญประไพ ธีรวิมล เลิศสุทธิขวาล ธีรวิญ กังแฮ และ กิจการ สุขมาตย์  
ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานโรควิวรีโอในกุ้งขาว

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2550 29(5) : 1275-1282

ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานโรควิวรีโอในกุ้งขาวน้ำหนักเฉลี่ย 2 กรัม ที่ได้รับอาหารทดลองที่ไม่เสริมบีเทน (สูตรที่ 1) ขณะที่อาหารทดลองสูตรที่ 2-5 ให้อาหารที่เสริมบีเทน 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0% ตามลำดับ โดยสุ่มชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กักกินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งมีความแตกต่างทางสถิติ ( $p<0.05$ ) โดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งที่ได้รับบีเทน 4% มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า  $12.23\pm 0.14$  กรัม และ  $11.36\pm 0.43$  กรัม ตามลำดับ สำหรับเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งมีความแตกต่างทางสถิติ ( $p<0.05$ ) โดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งที่ได้รับบีเทน 4% มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า  $440.33\pm 9.07$  และ  $404.00\pm 17.52$  ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งมีความแตกต่างทางสถิติ ( $p<0.05$ ) โดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งที่ได้รับบีเทน 4% มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า  $4.01\pm 0.06$  และ  $3.85\pm 0.08$  ตามลำดับ ส่วนผลความต้านทานโรคของกุ้งที่ได้รับบีเทน 4% มีแนวโน้มที่จะต้านทานโรคได้ดีกว่าสูตรอาหารกลุ่มอื่น และความสามารถในการกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในน้ำเลือดของกุ้งพบว่า กุ้งที่ได้รับบีเทน 3% มีความสามารถในการกำจัดเชื้อได้ดีกว่ากุ้งในชุดควบคุม โดยมีค่า  $0.04\pm 0.01$  และ  $1.33\pm 0.26$  ( $\times 10^4$  โคโลนี/มล.) ตามลำดับ ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสามารถประยุกต์ใช้บีเทนในการเลี้ยงกุ้ง เพื่อการเจริญเติบโตที่ดีและมีความต้านทานโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพเพื่อช่วยให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งอยู่อย่างยั่งยืนต่อไป

ประชากรของมนุษย์โลกมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นตามลำดับ ทำให้มีความต้องการบริโภคอาหารมากขึ้น ซึ่งสัตว์น้ำเป็นแหล่งอาหารที่มีโปรตีนปริมาณสูงและราคาถูก ส่งผลให้มีความต้องการบริโภคสัตว์น้ำสูงขึ้นเป็นเงาตามตัว กุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการเลี้ยงอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะบริเวณละตินอเมริกา อเมริกาใต้และหลายประเทศในทวีปเอเชีย โดยประเทศไทยเริ่มมีการเลี้ยงตั้งแต่ พ.ศ. 2541 แต่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งไม่ได้ให้ความสนใจมากเหมือนกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ อีกทั้งปัญหาอีกประการหนึ่งคือ กุ้งขาวแพ้ง่าย โดยเมื่อมีการนำสารเคมีที่ใช้กับกุ้งกุลาดำ

มาใช้กับกุ้งขาวจะก่อให้เกิดความเสียหายมาก (ภิญโญ, 2545) นอกจากนี้การจัดการที่ไม่เหมาะสมอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ประกอบกับการเลี้ยงกุ้งที่ความหนาแน่นสูง มักส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง ทำให้ติดโรคได้ง่าย จึงมีการนำยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่างๆ มาใช้ในระบบการเลี้ยง ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและเกิดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะและสารเคมีในสัตว์น้ำรวมถึงแหล่งน้ำใต้ดินที่สุด ทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อที่ก่อโรค ทำให้ยากแก่การควบคุมและการรักษาโรคในอนาคต บีเทนเป็นสารประกอบชีวภาพที่พบครั้งแรกในหัวบีท

(sugar beet) พันธุ์ *Beta vulgaris* ในศตวรรษที่ 19 แต่ก็พบได้ในสัตว์และจุลินทรีย์ (Rhodes and Hanson, 1993; Zeisel et al., 2003) รวมทั้งในพืชบางชนิด (Blunden et al., 1996; Blunden et al., 1999; Adrian-Romero and Blunden, 2001; Blunden et al., 2001; Blunden et al., 2003; Blunden et al., 2005) โดยมีชื่อเรียกได้หลากหลาย เช่น trimethylglycine, N-trimethylglycine, glycine betaine, glycocoll betaine, oxyneurine และ lycine ซึ่งเป็นสารที่มีการนำมาผสมในอาหารสัตว์ เพื่อให้สัตว์บกและสัตว์น้ำให้มีการเจริญเติบโตที่ดียิ่งขึ้น โดยบีเทนมีสมบัติในการดึงดูดการทออาหารของสัตว์น้ำ โดย Coman และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาระดับความเข้มข้นของกรดอะมิโนผสมและกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ (ทอรีน, เซอรีน, ไอโซลูซีน, ไกลซีน, กลูตามีน, อาร์จินีน, อะลานีน), บีเทน และ AMP (Adenosinemonophosphate) พบว่า ระดับความเข้มข้นของบีเทนและกรดอะมิโนผสมที่ระดับสูงกว่า 10-2 M ทำให้กุ้งกุลาดำมีความต้องการอาหารได้มากกว่ากลุ่มอื่นส่งผลให้กุ้งมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น ส่วน Felix และ Sudharsan (2004) รายงานว่ากุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารผสมบีเทนที่ระดับ 0.5 กรัม/กก. เป็นเวลา 60 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการตายสูงที่สุด (80%) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม ส่วนในการทดลองของ Marja และ Erkki (1993) ได้ใช้โคเมทิลไกลซีนและโคเมทิลไกลซีน (Betaine) เปรียบเทียบการตอบสนอง ระบบภูมิคุ้มกันในปลาแซลมอนโดยฉีดเชื้อ *V. anguillarum* เข้าไปหลังได้รับอาหาร พบว่าระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงสูงขึ้นกว่าชุดควบคุม

ในการศึกษารุ่นนี้เพื่อประยุกต์ใช้บีเทนในอุตสาหกรรมอาหารกุ้งขาวที่ใช้ในการกระตุ้นความต้องการอาหารและความต้านทานโรคแบคทีเรีย ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งลงได้อีกทั้งเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มคุณภาพของอาหารกุ้งและทำให้อุตสาหกรรมอาหารเกิดการขยายตัวมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นการส่งผลให้การเลี้ยงกุ้งมีความยั่งยืนต่อไปในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. กุ้งทดลอง

เตรียมกุ้งทดลองที่ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียโดยใช้กุ้งขาวนาไม่อายุ 35-45 วัน (น้ำหนักประมาณ 2-3 กรัม) จำนวน 3,000 ตัว นำมาพักในกระชังก่อนนำมาคัดขนาดและทำการชั่งน้ำหนักกุ้งเริ่มต้นให้มือน้ำหนักกุ้งเริ่มต้น 2-3 กรัม จำนวน 50 ตัว/กระชัง จำนวน 20 กระชัง เลี้ยงในกระชังทดลองและให้อาหารในชุดควบคุมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้สัตว์ทดลองคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำในบ่อที่ใช้มีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) เท่ากับ 80-120 ppm และพีเอชอยู่ในช่วง 7.5-8.5

### 2. ชุดการทดลอง

ใช้กระชังขนาด 1x1x1.5 เมตร โดยแขวนกระชังในบ่อดินที่มีความลึกประมาณ 1.7 เมตร ซึ่งเลี้ยงที่ความเค็ม 10 ppt แบ่งชุดการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำจะใช้กุ้งจำนวน 50 ตัว โดยเปลี่ยนน้ำหนักของกุ้งต่อกระชังให้เท่ากันทุกกระชัง และมีการให้อาหารโดยใช้ใบพัดตีน้ำในบ่อตลอดระยะเวลาการเลี้ยงพร้อมกับให้อาหารวันละ 4 ครั้งครั้งละ 3 ถึง 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

### 3. อาหารทดลอง

ในการทดลองนี้ใช้อาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งทั้งหมด 5 สูตรแตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นของบีเทน โดยคำนวณสูตรอาหารให้มีระดับคุณค่าทางโภชนาการเท่ากันทุกชุดการทดลอง แต่ละสูตรมีระดับโปรตีน 32% ไขมัน 8% เกล็ด 6% ความชื้น 7% พลังงานประมาณ 370 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม โดยมีความแตกต่างของบีเทน 4 ระดับคือ 1, 2, 3 และ 4% และรวมชุดควบคุมที่ไม่ได้ผสมบีเทน ซึ่งบีเทนได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทยูโรเทค นิวทริชั่น จำกัด ประเทศไทย ใช้แป้งสาธิตเป็นตัวเจือจางเพื่อให้บีเทนกระจายตัวได้ดี และให้แต่ละสูตรมีระดับความเข้มข้นตามที่คำนวณไว้ จากนั้นผสมแร่ธาตุผสม วิตามินผสม แป้งสาธิต และบีเทน ตามที่คำนวณไว้แต่ละสูตรอาหารในถุงพลาสติกใส ผสมให้เข้ากันแล้วผสมรวมเข้ากับวัตถุดิบอาหารอื่นๆ ที่ชั่งไว้ตามสูตร

Table 1. Composition of the test diet

| Raw material (g / kg <sup>-1</sup> )      | Diet |      |      |      |      |
|---|------|------|------|------|------|
|   | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Fish meal                                 | 150  | 150  | 150  | 150  | 150  |
| Squid meal                                | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   |
| Wheat gluten                              | 30   | 30   | 30   | 30   | 30   |
| Soybean meal                              | 260  | 260  | 260  | 260  | 260  |
| Wheat flour                               | 385  | 375  | 365  | 355  | 345  |
| Fish oil                                  | 40   | 40   | 40   | 40   | 40   |
| Lecitin                                   | 10   | 10   | 10   | 10   | 10   |
| Vitamin and mineral mixtures <sup>1</sup> | 25   | 25   | 25   | 25   | 25   |
| Rice flour                                | 50   | 50   | 50   | 50   | 50   |
| Betaine                                   | 0    | 10   | 20   | 30   | 40   |
| Total                                     | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |

<sup>1</sup> Vitamin and mineral mixture supplemented per kilogram feed: Thiamine (B<sub>1</sub>) 10 mg; Riboflavin (B<sub>2</sub>) 20 mg; Pyridoxine (B<sub>6</sub>) 10 mg; Cyanocobalamin (B<sub>12</sub>) 2 mg; Retinal (A) 4,000 IU; Cholecalciferol (D<sub>3</sub>) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K<sub>1</sub>) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; DL-alpha-tocopherol (E) 50 IU; Choline chloride 6,000 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg; Biotin 1 mg; NaCl 0.25 g; MgCO<sub>3</sub> 3.75 g; FeSO<sub>4</sub> 0.72 g; (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> Ca.5H<sub>2</sub>O 0.88 g; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.088 g; MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O 0.040 g; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O 0.008 g; CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 0.00025 g; KIO<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0.00075 g

(Table 1) ในเครื่องผสมอาหารจนเข้ากันดี หลังจากนั้นนำมาอัดเม็ดอาหารแล้วนำมาหนึ่ง 5 นาที ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 60°C จนแห้งดี เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C

#### 4. การเก็บรวบรวมข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980) ซึ่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยน้ำหนักทั้งหมดของแต่ละกระชังมาซึ่งน้ำหนักพร้อมทั้งสังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร จากนั้นเก็บรวบรวมข้อมูลและทำการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต ดังนี้

4.1 อัตรารอด (%) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)

$$= \frac{\text{จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งที่เริ่มทดลอง}}$$

4.2 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (food conversion rate: FCR) ตามวิธีการของ Felix และ Sudharsan (2004)

$$= \frac{\text{จำนวนอาหารที่ให้ทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

4.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR) ตามวิธีการของ Ziaei-Nejad และคณะ (2006)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100}{\text{เวลา (วัน)}}$$

4.4 น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (เปอร์เซ็นต์ weight gain) ตามวิธีการของ Tapia-Salazar และคณะ (2004)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักกุ้งสุดท้าย} - \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}) \times 100}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}}$$

4.5 ปริมาณอาหารที่กึ่งกิน (กรัม/ตัว/วัน)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กึ่งกินทั้งหมด/จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{เวลา (วัน)}}$$

#### 5. การศึกษาผลของบีเทนต่อความต้านทานโรค Vibriosis

ศึกษาความต้านทานโรคแบคทีเรียเรืองแสงตามวิธีการของมะลิ และคณะ (2543) โดยทำการฉีดเชื้อ *V. harveyi* บริสุทธิ์ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ปริมาณความเข้มข้น 107 โคโลนี/มล. เข้ากุ้งทดลองบริเวณกล้ามเนื้อปล้องที่ 6 ตัวละ 0.1 มล.

ชุดการทดลองละ 10 ตัว (4 ซ้ำ) บันทึกการตายของกุ้งในแต่ละชุดการทดลองหลังจากฉีดเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน

## 6. ความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียของน้ำเลือด (clearance ability of bacteria)

เตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียโดยนำเชื้อ *V. harveyi* ที่แยกบริสุทธิ์นำมาเลี้ยงบนอาหาร TSA ผสมเกลือ 1.5% บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำเชื้อมาละลายในน้ำเกลือปลอดเชื้อ 1.5% และวัดความทึบแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.07-0.09 นำไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ผสมเกลือ 1.5% โดยวิธีการ drop plating ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เพื่อนับจำนวนเซลล์เริ่มต้น แล้วนำสารละลายที่เตรียมได้ฉีดเข้าบริเวณกล้ามเนื้อปล้องที่ 6 ตัวละ 0.1 มล. หลังจากฉีดเชื้อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการดูดเลือดบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 จากกุ้งทดลองตัวละประมาณ 0.2 มล. และทำการเจือจางเลือดกุ้งแต่ละตัวด้วยสารละลายเกลือ 1.5% เป็น 1/2 1/4 และ 1/8 เท่า แล้วนำมานับปริมาณเชื้อแบคทีเรียตามวิธีข้างต้น ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นับปริมาณเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเทียบกับชุดควบคุมและปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่นับได้ ตามวิธีการของ กิจการ และคณะ (2543)

### ผลการทดลอง

#### 1. การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว

##### 1.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทนทั้ง 5 สูตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง (Table 2) กุ้งขาวเริ่มต้นการทดลองถึงสัปดาห์ที่ 4 มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด ( $12.23\pm 0.14$  กรัม) แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ )

1.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กิน

ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และ ปริมาณอาหารที่กิน (Table 3) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมบีเทน 4% ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีค่า  $440.33\pm 9.0$  เปอร์เซ็นต์ และ  $4.01\pm 0.06$  เปอร์เซ็นต์/วัน เทียบกับ  $404.00\pm 17.52$  เปอร์เซ็นต์ และ  $3.85\pm 0.08$  เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ แต่ในส่วนของอัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่กิน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p>0.05$ ) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม โดยมีค่า  $98.00\pm 3.46$  เปอร์เซ็นต์  $1.83\pm 0.08$  และ  $0.43\pm 0.01$  กรัม/ตัว/วัน เทียบกับ  $98.67\pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์  $1.79\pm 0.09$  และ  $0.39\pm 0.02$  กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ

#### 1.3 ผลของบีเทนต่อความต้านทานโรควิบริโอ และความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือด (clearance ability of bacteria)

ผลของบีเทนต่อความต้านทานโรควิบริโอกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร เป็นระยะเวลา 13 วัน (Table 4) พบว่า อัตราการรอดตายของกุ้งขาวอยู่ในช่วง  $23.33\pm 15.27$  -  $56.67\pm 11.55$  เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) โดยอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่ผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะมีความต้านทานโรคได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่น ส่วนความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ฉีดเข้าตัวกุ้งลดลงภายในเวลา 3 ชั่วโมง จากปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น  $6.1\times 10^6$  โคโลนี/มล. โดยจะลดลงอยู่ในช่วง  $0.04\pm 0.01$  -  $2.70\pm 1.40$  ( $\times 10^4$  โคโลนี/มล.) (Table 4) ซึ่งพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมบีเทน 3 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียดีกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุม คือ  $0.04\pm 0.01$  ( $\times 10^4$  โคโลนี/มล.) และ  $2.70\pm 1.40$  ( $\times 10^4$  โคโลนี/มล.) ตามลำดับ

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเจริญเติบโต และความต้านทานโรค

**Table 2. Growth performance of white shrimp fed test diet supplemented with betaine<sup>1</sup>**

| Treatment     | Period (Weeks)         |                        |                        |                          |
|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
|               | 0                      | 2                      | 4                      | 6                        |
| 1. Control    | 2.25±0.01 <sup>a</sup> | 5.09±0.26 <sup>a</sup> | 8.65±0.55 <sup>a</sup> | 11.36±0.43 <sup>a</sup>  |
| 2. Betaine 1% | 2.25±0.01 <sup>a</sup> | 5.66±0.32 <sup>a</sup> | 9.21±0.32 <sup>a</sup> | 11.83±0.11 <sup>ab</sup> |
| 3. Betaine 2% | 2.26±0.01 <sup>a</sup> | 5.44±0.37 <sup>a</sup> | 8.58±0.29 <sup>a</sup> | 11.73±0.94 <sup>ab</sup> |
| 4. Betaine 3% | 2.24±0.01 <sup>a</sup> | 5.37±0.52 <sup>a</sup> | 9.04±0.59 <sup>a</sup> | 11.79±0.55 <sup>ab</sup> |
| 5. Betaine 4% | 2.25±0.01 <sup>a</sup> | 5.36±0.23 <sup>a</sup> | 8.64±0.91 <sup>a</sup> | 12.23±0.14 <sup>b</sup>  |

<sup>1</sup>Mean ± standard deviation of 4 replications.

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

**Table 3. Weight gain (%), specific growth rate, survival rate, feed conversion ratio and feed consumption of white shrimp fed test diet for 6 weeks<sup>1</sup>**

| Treatment     | Weight gain (%)            | Specific growth rate (% / day) | Survival rate (%)       | Feed conversion ratio  | Feed consumption (g/shrimp/day) |
|---------------|----------------------------|--------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------------|
| 1. Control    | 404.00±17.52 <sup>a</sup>  | 3.85±0.08 <sup>a</sup>         | 98.67±1.15 <sup>a</sup> | 1.79±0.09 <sup>a</sup> | 0.39±0.02 <sup>a</sup>          |
| 2. Betaine 1% | 420.00±5.29 <sup>ab</sup>  | 3.92±0.03 <sup>ab</sup>        | 94.67±7.57 <sup>a</sup> | 1.85±0.18 <sup>a</sup> | 0.42±0.04 <sup>a</sup>          |
| 3. Betaine 2% | 420.00±2.65 <sup>ab</sup>  | 3.91±0.02 <sup>ab</sup>        | 99.33±1.15 <sup>a</sup> | 1.75±0.09 <sup>a</sup> | 0.39±0.02 <sup>a</sup>          |
| 4. Betaine 3% | 425.00±24.02 <sup>ab</sup> | 3.94±0.11 <sup>ab</sup>        | 98.00±2.00 <sup>a</sup> | 1.77±0.14 <sup>a</sup> | 0.40±0.03 <sup>a</sup>          |
| 5. Betaine 4% | 440.33±9.07 <sup>b</sup>   | 4.01±0.06 <sup>b</sup>         | 98.00±3.46 <sup>a</sup> | 1.83±0.08 <sup>a</sup> | 0.43±0.01 <sup>a</sup>          |

<sup>1</sup>Mean ± standard deviation of 4 replications.

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

**Table 4. Disease resistance and clearance ability of bacteria in white shrimp<sup>1</sup>**

| Treatment     | Disease resistance (%survival) | Clearance ability of bacteria (x10 <sup>4</sup> CFU/ml) |
|---------------|--------------------------------|---|
| 1. Control    | 23.33±15.27 <sup>a</sup>       | 1.33±0.26 <sup>b</sup>                                  |
| 2. Betaine 1% | 36.67±20.81 <sup>a</sup>       | 2.70±1.40 <sup>c</sup>                                  |
| 3. Betaine 2% | 50.00±10.00 <sup>a</sup>       | 0.37±0.35 <sup>ab</sup>                                 |
| 4. Betaine 3% | 43.33±30.55 <sup>a</sup>       | 0.04±0.01 <sup>a</sup>                                  |
| 5. Betaine 4% | 56.67±11.55 <sup>a</sup>       | 0.23±0.19 <sup>ab</sup>                                 |

<sup>1</sup>Mean ± standard deviation of 4 replications.

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

แบบที่เรียในกุ้งขาว โดยใช้อาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า เมื่อเริ่มทำการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) อยู่ใน

ช่วง 2.24±0.01 - 2.26±0.01 กรัม และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักเฉลี่ย/ตัวสูงที่สุด (12.23±0.14) และมีความแตกต่างกับชุดควบคุม (p<0.05)

สอดคล้องกับการทดลองของ Felix and Sudharsan (2004) รายงานว่ากุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารผสมบีเทนที่ระดับ 0.5 กรัม/กก. เป็นเวลา 60 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ ปริมาณอาหารที่กิน อัตรารอดตายสูงสุด (80 เปอร์เซ็นต์) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับการทดลองของ Harpaz (1997) ที่มีการนำบีเทนมาผสมในอาหารเพื่อศึกษาพฤติกรรมกรหาอาหารของกุ้งก้ามกรามและการเจริญเติบโต พบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของบีเทนสามารถดึงดูดความสนใจในการหาอาหารของกุ้งก้ามกรามได้ดี ทำให้กุ้งก้ามกรามมีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Yilmaz (2005) ที่เปรียบเทียบอาหารที่แตกต่างกัน 5 ชนิด (TS-trout starter, ATS-artemia and trout starter, AS-alanine supplemented, BS-betaine supplemented และ ABSD-alanine and betaine supplemented diet) ผสมในอาหารเลี้ยงลูกปลากัดแอฟริกันอายุ 10 วัน โดยเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าลูกปลากัดแอฟริกันที่ได้รับอาหารผสม BS-betaine supplemented และ ABSD-alanine and betaine supplemented diet มีน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตรารอดตาย และอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะสูงกว่าชุดควบคุม

ด้านผลของบีเทนต่อความต้านทานโรคในกุ้งขาวพบว่ากุ้งขาวที่กินอาหารที่ผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มของอัตราการรอดตายสูงกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม สอดคล้องกับการทดลองของ Marja และ Erkki (1993) ได้ศึกษาการใช้โดเมทิลไกลซีน และ ไตร เมทิลไกลซีน (betaine) เพื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันของปลาแซลมอนโดยฉีดเชื้อ *V. anguillarum* เข้าไป พบว่าระบบภูมิคุ้มกันสูงขึ้นกว่าชุดควบคุม โดยการตรวจหาระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจงในร่างกายของปลาแซลมอน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อ รวมทั้งความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่ผสมบีเทน 3 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับการทดลองของ Cosquer และคณะ (2004) ที่ได้ทดลองใช้บีเทนในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 15 สายพันธุ์ และแบคทีเรียแกรมลบโดยเปรียบเทียบองค์ประกอบของบีเทน 4 องค์ประกอบ พบว่ามี 2 องค์ประกอบที่สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลงได้ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้

ว่ามีผลกระทบต่อไนโตรเบนซิล อัลดีไฮด์ (nitrobenzyl aldehyde) จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของบีเทน

จากผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อกุ้งขาวได้รับอาหารที่ผสมบีเทน มีผลทำให้การเจริญเติบโตและความต้านทานโรคมึ้นแนวโน้มที่ดีขึ้น ซึ่งการใช้บีเทนในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำนั้นเป็นการช่วยนำผลิตภัณฑ์เศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยนำมาผสมในอาหารเพื่อเป็นการลดต้นทุนของอาหารสัตว์น้ำ และลดการใช้ยาและสารเคมีอื่นจะก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในสัตว์น้ำได้

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานประมาณ ปีงบประมาณ 2550 ทุนอุดหนุนงานวิจัยบางส่วนจากบัณฑิตวิทยาลัย และกองทุนวิจัยคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคุณมีชัย แก้วศรีทอง คุณสุเชษฐ์ หมูสิเกะเกร์ และนายธวัชชัย อาหนาย ที่มีส่วนช่วยในระหว่างการทดลอง

### เอกสารอ้างอิง

- กิจการ สุภมาศย์ อุษณีย์ เอกปณิธานพงศ์ Toshiaki Itami และ จิราพร เกษรจันทร์. 2543. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : IV. เทคนิคในการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันโรคและองค์ประกอบเลือดในกุ้งกุลาดำ. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 22 (ฉบับพิเศษ): 567-580.
- ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแอลล.วานาไม (Practical Technology for *Litopenaeus vannamei* Culture). สำนักพิมพ์เมืองเกษตรแม่กกาซีน สมุทรปราการ. 120 หน้า
- มะลิ บุญยรัตผลิน กิจการ สุภมาศย์ และชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2543. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : VIII. ผลของสารสี (astaxanthine) ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันโรคและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 22 (ฉบับพิเศษ): 633-639.
- Adrian-Romero, M., Blunden, G. 2001. Betaine distribution in the Bromeliaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29: 305-311.

- Blunden, G., Yang, M., Yuan, Z., Smith, B. E., Patel, A., Cegarra, J. A., Mathe, I. and Janicsak, G. 1996. Betaine distribution in the Labiatae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 24: 71-81.
- Blunden, G., Yang, M., Janicsak, G., Mathe, I. and Carabot-Cuervo, A. 1999. Betaine distribution in the Amaranthaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 27: 87-92.
- Blunden G., Patel A.V., Armstrong N. J., Gorham J. 2001. Betaine distribution in the Malvaceae. *Phytochemistry*. 58: 451-454.
- Blunden, G., Patel, A.V. and Armstrong, N. 2003. Betaine distribution in the Scrophulariaceae and some previously included families. *Biochemical Systematics and Ecology*. 31: 359-365.
- Blunden, G., Patel, A. V., Armstrong, N., Romero, M. A. and Melendez, P. 2005. Betaine distribution in Angiosperms. *Biochemical Systematics and Ecology*. 33: 904-920.
- Coman, G.J., Sarac, H.Z., Fielder, D. and Thorne, M. 1996. Evaluation of crystalline amino acid, betaine and AMP as food attractants of the Giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 3: 247-253.
- Cosquer, A., Ficamos, M., Jebbar, M., Corbel, J.-C., Choquet, G., Fontenelle, C., Uriac, P. and Bernard, T. 2004. Antibacterial activity of glycine betaine analogues: involvement of osmoporters. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 14: 2061-2065.
- Felix, N. and Sudharsan, M. 2004. Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition*. 10: 193-197.
- Harpaz, S. 1997. Enhancement of growth in juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*, through the use of a chemoattractant. *Aquaculture*. 156: 221-227.
- Marja, M. and Erkki, V. 1993. Effect of dimethylglycine and trimethylglycine (Betaine) on the response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts to experimental *Vibrio anguillarum* infection. *Fish and shellfish Immunology*. 3: 439-449.
- Rhodes, D., Hanson, A.D. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulphonium compounds in higher plants. *Annual Review of plant physiology and Plant Molecular Biology*. 44: 357-384.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. principle and procedures of statistics. 2<sup>nd</sup> edition. New York : McGraw Hill. 633 pp.
- Tapia-Salazar, M., Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Pike, I.H., Smith, T.K., Harris, A., Nygard, E. and Opstvedt, J. 2004. Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* fed practical diets. *Aquaculture*. 242: 437-453.
- Yilmaz, E. 2005. The effects of two chemo-attractants and different first feeds on the growth performances of african catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) at different larval stages. *turkish J. of Veterinary and Animal Sciences*. 29: 309-314.
- Zeisel, S.H., Mar, M.H., Howe, J.C. and Holden, J.M. 2003. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *American Society for Nutritional Science*. vol. 133: 1302-1307.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A-R. and Shakouri, M. 2006. 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.