การศึกษาบักเตรีในลำไส้ของหอยทากยักษ์

A Study of Intestinal Bacteria in Giant Snail, *Achatina fulica* (Fer.)

ทวี ญาณสุคนธ์ และ โชคชัย เสนะวงศ์

แผนกวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หอยทากยักษ์ *Achatina fulica* (Fer.) เป็นสัตว์ที่สามารถกินพืชได้หลายชนิดตลอดจนทรากสัตว์และกากขยะพืชด้วย (2,3,6) เนื่องจากความสามารถดังนี้จึงทำให้มีผู้รู้สึกว่า ต่อไปภายหน้าเมื่อมีมากขึ้นก็จะกลายเป็นศัตรู ที่สำคัญต่อการกสิกรรม ในปัจจุบันหอยชนิดนี้พบอยู่เสมอในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับหอยชนิดนี้ยังมีน้อย ส่วนใหญ่มุ่งไปในทางการสำรวจและรายงานการระบาดในที่ต่าง ๆ การทดลองเรื่องนี้มีความประสงค์จะศึกษาเฉพาะเกี่ยวกับจุลินทรีย์บางชนิดที่อาจพบอยู่ในบริเวณกระเพาะและลำไส้ของหอยทากยักษ์ โดยหวังว่าอาจจะพบบักเตรี หรือโปรโตซัวพิเศษที่ช่วยย่อยเซลลูโลสอยู่ในกระเพาะและลำไส้ด้วย

Achatina fulica เป็นหอยที่อยู่ใน family Achatinidae (9) ตามเอกสารภาษาอังกฤษเรียกกันว่า African snail หรือ giant snail หรือ giant African snail (4,5,6) เดิมเป็นสัตว์พื้นเมืองของอาฟริกาตะวันออก และเกาะมาดากาสคาร์และได้ระบาดทั่วไป จะพบหอยพวกนี้เกือบทั่วไปในบริเวณอินโดปาซิฟิกที่อากาศร้อนหรืออบอุ่น ในประเทศไทยสันนิษฐานกันว่าหอยชนิดนี้ระบาดเข้ามาทางมลายู โดยอาจติดมากับรถไฟ ประชาชนมลายูได้นำหอยชนิดนี้มาเลี้ยงเป็ด และก็ระบาดต่อไปจนทั่วประเทศมลายู แล้วเลยเข้ามาในไทยด้วย (2) หอยทากยักษ์นี้ตลอดชีวิตของมันตัวหนึ่ง ๆ จะวางไข่ประมาณ 1,000 ฟอง ไข่มีขนาดเล็กประมาณเมล็ดถั่วเหลืองมีสีนวลเปลือกค่อนข้างแข็งมีสารพวกหินปูน วางไข่ครั้งละประมาณ 140 ฟอง แต่ถ้านำมาเลี้ยงในห้องทดลองจะวางไข่ครั้งละประมาณ 130 ฟอง การวางไข่จะเกิดหลังจากมีการผสมพันธุ์แล้ว 8–20 วัน เป็นสัตว์พวก monoecious แต่อาจจะขยายพันธุ์ได้ทั้งผสมในตัวเอง และผสมข้ามตัวโดยได้ผลเท่า ๆ กัน (3,4) หอยที่ขนาดโตพอสำหรับการผสมพันธุ์ อาจมีขนาดตัวยาวประมาณ 5 เซนติเมตรถึง 7 เซนติเมตร มีวงเปลือกประมาณ $7-7\frac{1}{2}$ วง การวางไข่มักจะวางในระหว่างเดือนตุลาคม และพฤศจิกายน แต่ในระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายนจะไม่วางไข่เลย แสดงว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการวางไข่กับฤดูฝน

วิธีการทดลอง

หอยและการผ่าตัด หอยที่ใช้ในการทดลองได้มาจาก พระนคร ธนบุรี จันทบุรี หอยที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในการใช้ทดลอง มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 17 ซม. ขนาดเล็กที่สุดยาวประมาณ 7 ซม. (เมื่อยืดตัวเต็มที่) หอยทุกตัวมีเปลือกลายเป็นทาง ๆ สีเหลืองคล้ำ ๆ สลับกับสีเขียวจาง ๆ เมื่อได้ตรวจรูปร่างภายนอก อุปนิสัยในการกินอาหารตลอดจนแหล่งที่อยู่อาศัย ตรงกับหอยที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Achatina fulica* (Fer.)

หอยที่ใช้ในการทดลอง ส่วนมากจะทำการผ่าตัดทันทีที่ได้นำมาจากแหล่ง ของมันในธรรมชาติ หรือเลี้ยงไว้ในห้องทดลองไม่เกิน 2 สัปดาห์ขณะรอการทดลอง อาหารที่ใช้เลี้ยง คือผักบุ้ง

ก่อนเริ่มทำการผ่าตัด ทำความสะอาดภายนอกเปลือกหอยทากยักษ์ โดยใช้สำลีชุบสารละลายเมอร์คูริกคลอไรด์แรง 0.1% เช็ดให้ทั่วเปลือก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นทนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เสร็จแล้วค่อย ๆ ทุบเปลือกหอยให้แตกออกจนหมดทั้งตัว นำเนื้อหอยทั้งตัววางลงบนจานแก้วทนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

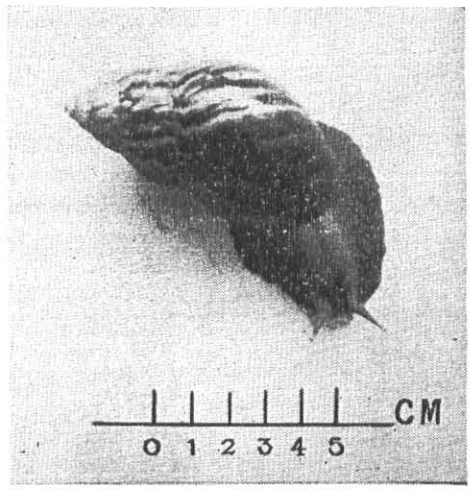
การตรวจหาลำไส้และกระเพาะ ครั้งแรกใช้ไล่จากปากเข้าไป โดยใช้กรรไกรชลิบตามเข้าไปเรื่อย ๆ โดยดูจากเศษสีเขียวของพืชที่หอยกินเข้าไปเป็นหลัก โดยวิธีนี้พบว่ากระเพาะของมันอยู่เบื้องบน มีลักษณะพองออกเป็นถุง ผนังค่อนข้างหนาอยู่ค่อนไปทางปลายของเกลียวลำไส้ของมัน (ดูภาพที่ 2 ประกอบ) ส่วนของ esophagus จะมีสีแดง ถ้าหอยนั้นอดอาหาร หรือมีสีเขียวปนดำ ถ้าการผ่าตัด ทำภายหลัง การให้อาหารใหม่ ๆ เห็นได้ชัดเพราะมีขนาดใหญ่พอสมควร (กว้างประมาณ 4-8 มม. ยาวประมาณ 3-5 ซม. แล้วแต่ขนาดของหอย) ผนังบางใส มีของไหลอยู่ภายในมาก เหมือนกับในกระเพาะอาหาร ส่วนลำไส้จะอยู่ถัดจากกระเพาะอาหารขึ้นไป

อาหารเพาะเชื้อ nutrient agar ที่ใช้เพาะเชื้อโดยทั่ว ๆ ไปตลอดการทดลองใช้สูตรของ Difco ซึ่งประกอบด้วย bacto-peptone 5 กรัม beef extract 3 กรัม bacto-agar 15 กรัม น้ำ 1 ลิตร

Omeliansky's cellulose medium ที่ใช้สำหรับตรวจหาบักเตรีย่อยเซลลูโลส มีส่วนประกอบคือ

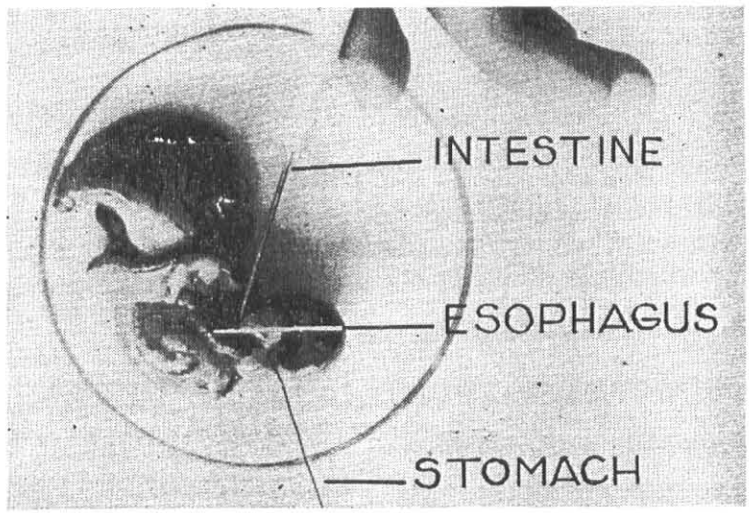
$(NH_4)_2SO_4$	1.0 กรัม
K_2HPO_4	1.0 กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.5 กรัม
NaCl	เล็กน้อย
$CaCO_3$	2.0 กรัม
น้ำ	1 ลิตร

ละลายบรรจุในหลอดทดสอบ แล้วใส่แถบกระดาษกรองกว้างประมาณ 1.5 ซม. ลงไปหลอดละ 2-3 แผ่น ตัดแถบกระดาษ



ภาพที่ 1. แสดงรูปร่างลักษณะภายนอกของหอยทากยักษ์

Fig. 1. Exterior features of a giant snail (*Achatina fulica* Fer.)



ภาพที่ 2. แสดงทางเดินอาหารตอนต้นของหอยทากยักษ์เมื่อทุบเปลือกออกแล้ว

Fig. 2. The anterior portion of a giant snail (*Achatina fulica* Fer.) gastrointestinal tract, with the shell removed

กรองให้ยาวพอ (ประมาณ 5–10 ซม.) จนโผล่พ้นผิวสารละลายในหลอดแก้ว

Cellulose strip-peptone medium ใช้สำหรับทดสอบคุณสมบัติ ในการย่อยเซลลูโลสของบักเตรี เป็นสารละลายเพปโตน และเติมแถบกระดาษกรองลงไป ส่วนประกอบมี peptone 5 กรัม NaCl 5 กรัม น้ำประปา 1 ลิตร

การตรวจหาโปรโตซัว ใช้กรรไกรที่สะอาดค่อย ๆ ขลิบให้ผนังของกระเพาะและลำไส้ขาดออก แล้วใช้บีเปตต์ที่ฆ่าเชื้อแล้วค่อย ๆ ดูดเอาของเหลวในกระเพาะและลำไส้มาหยดลงบนแผ่นสไลด์อย่างละแผ่น แล้วใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้น 0.85% ปริมาณเล็กน้อยค่อย ๆ หยดลงไปบนของเหลวในสไลด์ แต่ละแผ่นปิดทับด้วยกระจกปิด นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์

จากหอยทากยักษ์ที่เก็บจากสถานที่ต่างๆไม่ปรากฏพบสิ่งที่มีชีวิตชนิดที่มีลักษณะใกล้เคียงพอที่จะสงสัยเป็นโปรโตซัวเลย

การตรวจหาบักเตรีที่ช่วยย่อยเซลลูโลส ใช้บีเปตต์ที่ฆ่าเชื้อแล้วค่อยๆดูดเอาของเหลวในกระเพาะ และลำไส้ของหอยทากยักษ์มา inoculate ลงใน Omeliansky's cellulose medium ในปริมาณพอสมควร (0.3–0.5 มิลลิลิตร) คอยสังเกตดูผลในระยะ ๗ วันต่อมา

การตรวจหาบักเตรีชนิดอื่น ๆ ในการตรวจบักเตรีที่เจริญใน aerobic condition นั้นได้นำของเหลวที่ได้จากกระเพาะ และลำไส้มา streak บนผิว nutrient agar ใน petridish โดยใช้เข็มเขี่ย (loop) แตะลงบนบริเวณกระเพาะกับลำไส้ของหอย ที่ขลิบออกด้วยกรรไกร แล้วใช้เข็มเขี่ยนั้นไป streak ใน petridish ที่ใส่ nutrient agar ไว้ หอย 1 ตัวใช้ petridish 4 จาน โดย streak จากกระเพาะ 2 จานและจากลำไส้อีก 2 จาน ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชม. แล้วจึงแยกบักเตรีจากที่ขึ้นในโคโลนีเดี่ยว ๆ มา re-streak ต่อไป แยกที่มีลักษณะโคโลนีต่างกันออกแล้วให้เบอร์ไว้ re-streak จนได้ pure culture ของแต่ละเบอร์นั้น ๆ แล้วจึงนำไปเพาะเลี้ยงลงใน slant agar เก็บไว้ทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ เพื่อการจำแนก (identify)

ผลการทดลอง

ผลการตรวจหาบักเตรีที่ช่วยย่อย cellulose การทดลองครั้งแรกใช้ loop ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วตักเอา fluid ในกระเพาะและลำไส้ของหอยทากยักษ์ไป inoculate ลงในหลอดทดสอบที่บรรจุ Omeliansky's cellulose medium ไว้ 2–3 loop แล้วทิ้งไว้ 7 วัน ก็ไม่ปรากฏว่าแผ่นกระดาษกรองถูกทำลายไป แต่เมื่อใช้ pipette ที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดเอา fluid จำนวน

มากๆ (ประมาณ 0.3–0.5 มิลลิลิตร) ใส่ลงในหลอดทดลองทิ้งไว้ประมาณ 3-4 วันก็พบว่ากระดาษกรองในหลอดเกิดการปะทุพองขึ้นและเปื่อยยุ่ยตกลง ยังก้นหลอดทดลองเป็นตะกอนสีขาว แต่เมื่อทำการย้ายเชื้อจากหลอดทดลองนี้ไปยังหลอดอื่น แล้วทิ้งไว้ถึง 2 สัปดาห์ (การทดลองทั้งหมดทำในอุณหภูมิห้อง) ก็ไม่ปรากฏว่ามีการย่อย cellulose เกิดขึ้นเหมือนหลอดเดิม

เพื่อระบุให้แน่ชัดว่า การที่กระดาษกรองถูกย่อยทำลายลงได้ในหลอดทดลองที่ใส่ fluid จากกระเพาะและลำไส้หอยทากยักษ์ลงในปริมาณที่มากพอนั้น เป็นผลที่เกิดจากการกระทำของบักเตรีชนิดพิเศษหรือไม่ จึงได้นำfluid จำนวนมากมาทำการกรองโดยใช้กระดาษสำหรับกรองบักเตรี เมื่อได้ filtrate มากพอแล้วจึงนำไป inoculate ลงในหลอดทดลองอย่างเดิม ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ประมาณ 3 วันหลังจาก inoculation ปรากฏว่ากระดาษกรองถูกย่อยอีก จึงสงสัยว่า emzyme ในกระเพาะอาหารและลำไส้มีส่วนเกี่ยวข้องด้วย และเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณของ fluid ที่เติมลงในหลอดทดลองเป็นสิ่งสำคัญด้วย คือถ้าเติม fluid ลงไปในปริมาณน้อย ๆ แล้ว ถึงจะทิ้งไว้ 1 เดือนก็ไม่ปรากฏว่าเซลลูโลสถูกทำลาย

ผลการแยกเชื้อบักเตรีใน aerobic condition สามารถแยกเชื้อบักเตรีจากกระเพาะและลำไส้ของหอยทากยักษ์ได้ 10 ชนิด ให้เบอร์ไว้จาก 1 ถึง 10 ตามความแตกต่างของลักษณะโคโลนีเท่าที่จะสามารถทำได้จากการสังเกตดูการขึ้นของบักเตรีทั้ง 10 ชนิดในจานที่ streak ไว้ด้วย fluid ภายในกระเพาะและลำไส้ของหอยทากยักษ์ทุกครั้งที่ทำการstreak พอจะเห็นได้ว่าบักเตรีที่มีจำนวนโคโลนีมากที่สุด คือบักเตรีเบอร์ 10 ส่วนบักเตรีที่มีปริมาณโคโลนีน้อยที่สุดคือบักเตรีเบอร์ 8

สำหรับโคโลนีของบักเตรีที่ขึ้นในจานเพาะเลี้ยงก็ได้ตรวจดูรูปร่างลักษณะต่างๆและทดสอบทางชีวเคมี โดยอาศัยข้อแนะนำตามหนังสือ Manual of Microbiological Methods (8) ผลบางอย่างจากการตรวจสอบได้แสดงไว้ในตารางที่ 1,2,3, และ 4 นอกจากการทดสอบเหล่านี้แล้ว ยังได้ทำการปลูกเชื้อเหล่านี้ลงในหลอดทดลองที่มี cellulose-strip peptone medium เพื่อตรวจหาบักเตรีที่ช่วยย่อยเซลลูโลส์ แต่ผลการทดลองไม่ปรากฏว่ามีบักเตรีชนิดใด สามารถย่อยเซลลูโลส์ได้ เพื่อให้แน่ใจยิ่งขึ้นจึงได้ทดลองปลูกเชื้อบักเตรีทั้ง 10 ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ Omelianusky's cellulose medium ไว้ด้วย แล้วตรวจดูผลภายใน 2 สัปดาห์ ก็ไม่ปรากฏว่ามีการย่อยเซลลูโลส์เกิดขึ้นเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อบักเตรี 10 อย่างที่แยกออกจากกระเพาะและลำไส้หอยทากยักษ์ เพาะเลี้ยงในวุ้นเลี้ยงเชื้อ ณ อุณหภูมิห้องทดลอง

Table 1. Colony characteristics of ten types of giant snail intestinal bacteria grown in nutrient agar at room temperatures

No	Form	Elevation	Surface	Edge	Optical character	Consistency
1	circular	convex	smooth	undulate	opaque	butyrous
2	circular	convex	smooth	undulate	fluorescent or translucent	viscid
3	circular	convex	smooth	entire	opaque	butyrous
4	irregular	flat	contoured	lobate	fluorescent	viscid
5	circular	convex	radiately ridge	undulate	opaque	viscid
6	filamentous	flat	smooth	filamentous	white, opaque	butyrous
7	punciform	convex	radiately ridge	undulate	translucent	butyrous
8	circular	convex	smooth	entire	white, glistening	butyrous
9	circular	convex	smooth	erose	white, opaque	viscid
10	circular	raised	smooth	entire	fluorescent	butyrous

ตารางที่ 2 ลักษณะเซลล์ การติดสี ความสามารถในการเคลื่อนที่ และการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ๆ ของบักเตรี 10 อย่างที่แยกออกจากกระเพาะและลำไส้หอยทากยักษ์ การทดสอบทำ ณ อุณหภูมิห้องทดลอง

Table 2. Cell morphology, staining characteristics, motility, and growth in different nutrient media of ten types of giant snail intestinal bacteria at room temperatures

No	Cell morphology	Gram stain	Endospore	Motility	Flagella	Nutrient broth	Nutrient deep	Slant agar
1	rod	-	-	+	peritrichous	viscid, flaky	filiform	filiform
2	short rod	-	-	+	polar	viscid	filiform	filiform
3	short rod	-	-	+		turbid	filiform	filiform
4	short rod	-	-	+	polar	membranous	filiform	filiform
5	rod	-	-	+	polar	turbid	filiform	filiform
6	rod	+	+	+	peritrichous	ring, granular	villous	echinulate
7	short rod	-	-	+	peritrichous	pellicle	filiform	filiform
8	rod	+	+	+	peritrichous	pellicle, flaky	villous,	echinulate
9	rod	-	-	+	peritrichous	viscid	filiform	filiform
10	rod	-	-	+	polar	no growth	filiform	filiform

ตารางที่ 3 ปฏิกิริยาในน้ำตาลต่างๆ ปฏิกิริยาในน้ำนมเติมลิตมัส และการละลายเยลาติน ของบักเตรี 10 อย่างที่แยกออกจากกระเพาะและลำไส้หอยทากยักษ์ การทดสอบทำ ณ อุณหภูมิห้องทดลอง

Table 3. Sugar fermentations, reactions in lithmus milk, and gelatin liquefaction of ten types of giant snail intestinal bacteria at room temperatures

No	Lactose	Glucose	Sucrose	Lithmus milk	Gelatin
1	base, no gas	acid, gas	acid, gas	acid, proteolysis	+
2	base, no gas	acid, no gas	base, no gas	base	-
3	acid, gas	acid, gas	acid, gas	acid, gas, reduction	-
4	base, no gas	acid, no gas	base, no gas	strong acid	+
5	base, gas	acid, gas	acid, gas	acid, proteolysis	+
6	base, no gas	acid, no gas	acid, no gas	strong acid	+
7	base, (gas?)	acid, gas	acid, no gas	weak base	-
8	acid, no gas	acid, no gas	acid, no gas	acid, proteolysis	+
9	base, no gas	acid, no gas	acid, no gas	base, little proteolysis in 7 days	-
10	base, no gas	base, no gas	base, no gas	acid, reduction	-

\+ liquefaction

\- non-liquefaction

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบบางอย่างทางชีวเคมีของบักเตรีต่าง ๆ ที่แยกออกจากกระเพาะและลำไส้หอยทากยักษ์ การทดสอบทำ ณ อุณหภูมิห้องทดลอง

Table 4. Results of biochemical tests of ten types of giant snail intestinal bacteria at room temperatures

No	M.R. test	V.P. test	Starch hydrolysis	Indole	Citrate	Nitrate reduction	H_2S
1	-	+	+	+	-	+	+
2	-	-	±	-	+	-	-
3	-	+	±	-	+	+	-
4	-	+	-	-	+	+	-
5	-	+	+	+	-	+	+
6	-	-	-	-	-	+	-
7	-	-	-	+	+	+	-
8	-	-	+	-	+	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	+	+	+

ผลการทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของบักเตรีเหล่านี้ ได้ทำการทดลองซ้ำจนเป็นที่แน่ใจว่าถูกต้องดีแล้ว จึงนำผลที่ได้ไปประกอบการจำแนกเชื้อแต่ละชนิดตามหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7th ed. (1) และหนังสือ A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria (7)

ผลของการ identify ปรากฏว่าบักเตรีทั้ง 10 ที่แยกไว้เป็นบักเตรีพวก genus ต่อไปนี้คือ เบอร์ 1 *Aeromonas* เบอร์ 2 *Pseudomonas* เบอร์ 3 *Aerobacter* เบอร์ 4 *Pseudomonas* เบอร์ 5 *Aeromonas* เบอร์ 6 *Bacillus* เบอร์ 7 *Proteus* เบอร์ 8 *Bacillus* เบอร์ 9 *Alcaligenes* เบอร์ 10 *Pseudomonas*

สรุป

ได้มีการทดลองตรวจหาจุลินทรีย์บางชนิด ในกระเพาะและลำไส้ของหอยทากยักษ์ giant snail, *Achatina fulica* (Fer.) ขนาดหอยที่ใช้มีตั้งแต่ยาว 7 ถึง 17 ซม. วิธีการใช้ผ่าตัดหอยทากแล้วนำ fluid ในกระเพาะและลำไส้มาตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์ และ inoculate ลงในอาหารต่างชนิดสำหรับเพาะเลี้ยงบักเตรี

ผลที่ได้สรุปได้ดังนี้

1. ไม่พบโปรโตซัวในกระเพาะและลำไส้ของหอยทากยักษ์ที่ใช้ทดลอง

2. ไม่พบบักเตรีและจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่อาจช่วยในการย่อย cellulose

3. พวกบักเตรี heterotrophic mesophilic ธรรมดาแยกไว้ทั้งหมด 10 culture ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติของบักเตรีทั้ง 10 นี้ และแสดงผลไว้ในการทดลองด้วย บักเตรีทั้งสิบนี้ identify แล้วปรากฏว่าเป็นพวก genus ต่อไปนี้ *Aeromonas*, *Pseudomonas* *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* *Bacillus*, *Proteus*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, และ *Pseudomonas*.

SUMMARY

The microbial population in the stomach and intestine of the giant snail (African giant snail *Achatina fulica* Fer.) was investigated. The snail was dissected and the fluid of the stomach and intestine examined and inoculated into various culturing media for bacteria. No protozoa and no cellulose-digesting bacteria were

found to be natural inhabitants of the snail gut. Ten aerobic heterotrophic mesophilic bacterial cultures were isolated which were the predominating types found in the stomach and intestine of the snail. The ten cultures belong to the following genera: *1. Aeromonas 2. Pseudomonas 3. Aerobacter 4. Pseudomonas 5. Aeromonas 6. Bacillus 7. Proteus 8. Bacillus* 9. *Alcaligenes 10. Pseudomonas.*

LITERATURE CITED

1. Breed, R.S., E.G.D. Murray and N.R. Smith. 1957. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 7th ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
2. Kirtpredi, Saksiri. 1956. African giant snail. Kasikorn 29(6).511-516. In Thai.
3. Lange, W.H., Jr. 1950. Life history and feeding habits of the giant African snail on Saipan. Pacific Sci. 4:323-335. (Biol. Abstr. 25:1951. 1951)
4. Meer, M. and J.C. Vander. 1949. On the reproductive capacity of the African or giant snail, *Achatina fulica* (Fer.). Treubia 20:1-20. (Biol. Abstr. 24:3574. 1950)
5. Morton, J.E. 1960. Molluscs. Harper & Bros., New York.
6. Rees. W.J. 1950. The giant African snail. Proc. Zool. Soc. London. 120:577-598.
7. Skerman, V.B.D. 1959. A guide to the identification of the genera of bacteria. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
8. Society of American Bacteriologists. 1956. Manual of microbiological methods. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York.
9. Suvatti, Chote. 1950. Fauna of Thailand. Dept. Fisheries, Bangkok. In Thai.