ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การประมง ชีววิทยาประมง

สาขา **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Effects of Activate DA on Growth, Survival and Population of *Vibrio harveyi* in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

นามผู้วิจัย นายวรวุฒิ วัลลา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ชลอ ลิ้มสุวรรณ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล, ปร.ด.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์อนงค์ จีรภัทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Effects of Activate DA on Growth, Survival and Population of *Vibrio harveyi* in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

โดย

นายวรวุฒิ วัลลา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วรวุฒิ วัลลา 2555: ผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชลอ ลิ้มสุวรรณ, Ph.D. 104 หน้า

การศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopeneaus vannamei*) ในห้องปฏิบัติการ แบ่งการทดลองเป็น 7 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลองละ 5 ซ้ำ) โดยนำกุ้งขาวระยะโพสลาวาร์ 12 จำนวน 50 ตัว เลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร ควบคุมความเค็มที่ 25 ส่วนในพันส่วน ให้อาหารวันละ 4 มื้อ โดยให้อาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 และ 1.6 % เลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 % มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 6.87 $\pm$ 0.27 กรัม มากกว่าชุดการทดลองที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.6 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อัตราการรอดตายเฉลี่ยของกุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2% มีค่าเท่ากับ 95.60 $\pm$ 3.58 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA 1.6% อัตราแลกเนื้อของกุ้งที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2% มีค่าเท่ากับ 0.76 ซึ่งต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง ส่วนปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในลำไส้ของกุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2% มีปริมาณ (5.48$\pm$1.74)x 10^2 และ (2.90 $\pm$0.85) x 10^2CFU/กรัม ตามลำดับ น้อยกว่าชุดการทดลองที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกุ้งในชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA 1.6% การศึกษาผลของ Activate DA ต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (3-4 กรัม) ในห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 7 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 และ 1.6 % ชุดการทดลองละ 8 ถัง ปล่อยกุ้งในอัตราความหนาแน่น 30 ตัวต่อถัง หลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 7 วัน เติมเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* 10^3 CFU/มิลลิลิตร จำนวน 4 ถัง และ *V. harveyi* 10^4 CFU/มิลลิลิตร อีกจำนวน 4 ถัง หลังจาก 10 วันกลุ่มที่เติม *V. harveyi* 10^3 CFU/มิลลิลิตร พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2% มีปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดเท่ากับ (24.50 $\pm$ 1.22) x 10^7และ (1.38$\pm$0.13) x 10^4 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง เมื่อเวลาผ่านไป 20 วัน พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2% มีปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดเท่ากับ (21.14 $\pm$ 0.91)x 10^7 และ (0.81 $\pm$ 0.10)x 10^4 CFU/มิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2% มีปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดเท่ากับ (19.81 $\pm$ 1.00)x 10^7 และ (0.39 $\pm$ 0.07) x 10^4 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง ในชุดการทดลองที่ใส่เชื้อ *V. harveyi* 10^4 CFU/มิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 30 วันพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2% มีปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดเท่ากับ (32.79 $\pm$ 0.85) x 10^7 และ (0.39 $\pm$ 0.07) x 10^4 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง การศึกษาครั้งนี้พบการใช้ Activate DA ผสมกับอาหารสามารถเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และความต้านทานต่อเชื้อ *V. harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Worrawut Walla 2012: Effects of Activate DA on Growth, Survival and Population of *Vibrio harveyi* in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Master of Science (Fisheries Science), Major Field: Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor: Associate Professor Chalor Limsuwan, Ph.D. 104 pages.

A study of the effects of Activate DA on growth and survival of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) was conducted under laboratory conditions. Tests in seven treatments (five replicates/treatment). Postlarvae 12 (PL12) were stocked into 500-liter fiberglass tanks at the density of 50 PL/tank. Salinity was 25 ppt. Shrimp were fed four times daily with pelleted feed containing graded levels of 0% (control), 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.8%, 1.2% and 1.6% of Activate DA. After 60 days of dietary administration, shrimp fed with 1.2% of Activate DA had an average body weight of 6.87 $\pm$ 0.27g significantly higher ($P<0.05$) than the control group, 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.8% of Activate DA but not significantly higher ($P>0.05$) than 1.6% of Activate DA. Survival rate of shrimp fed with 1.2% of Activate DA had 95.60 $\pm$ 3.58% significantly higher ($P<0.05$) than other groups but not significantly higher ($P>0.05$) than the group fed with 1.6%. Feed conversion ratio of shrimp fed with 1.2% of Activate DA (0.76%) lower than the other groups. Total bacteria and Total *Vibrio* spp. in intestine of shrimp fed 1.2% of Activate DA had $(5.48\pm1.74) \times 10^2$ CFU/g and $(2.90 \pm 0.85) \times 10^2$ CFU/g, respectively. A study of the Activate DA on survival of *L. vannamei* juvenile (3-4 g) exposed to population of the pathogenic bacteria *Vibrio harvey* under laboratory conditions. Test was carried out in Seven treatments, 0% (control), 0.1% , 0.2% , 0.4% o, 0.8%, 1.2% and 1.6% of Activate DA with eight replicates per treatment. Each replicate consisted of 30 shrimp of Pacific white shrimp. After 7 days of experiment, *V. harveyi* were added to final concentration of 10^3 CFU/ml for 4 tanks and 10^4 CFU/ml for 4 tanks. After 10 day in treatment group challenged with *V. harveyi* 10^3 CFU/ml, shrimp fed with 1.2% of Activate DA had total bacteria $(24.50 \pm 1.22) \times 10^7$ CFU/ml and total *Vibrio* spp. In hemolymph $(1.38\pm0.13) \times 10^4$ CFU/ml was significantly lower ($P<0.05$) than each group. After 20 days of challenged, shrimp fed with 1.2% of Activate DA had had total bacteria $(21.14 \pm 0.91) \times 10^7$ CFU/ml and total *Vibrio* spp. $(0.81 \pm 0.10) \times 10^4$ CFU/ml was significantly lower ($P<0.05$) than each group. After 30 days of challenged, shrimp fed with 1.2% of Activate DA had total bacteria $(19.81 \pm 1.00) \times 10^7$ CFU/ml and total *Vibrio* spp. $(0.39 \pm 0.07) \times 10^4$ CFU/ml was significantly lower ($P<0.05$) than each group. After 30 days of challenged with *V. harveyi* 10^4 CFU/ml, shrimp fed 1.2% of Activate DA had total bacteria $(32.79 \pm 0.85) \times 10^7$ CFU/ml and total *Vibrio* spp. In hemolymph $(0.39 \pm 0.07) \times 10^4$ CFU/ml was significantly lower ($P<0.05$) than each group. in this study indicated that oral administration of Activate DA could increase the growth, survival and preventing *V. harveyi* in rearing Pacific white shrimp.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ชลอ ลิ้มสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิติ ชูเชิด และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ช่วยให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการทำการทดลอง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบริษัท Novus (ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณจุรีย์ฟาร์ม ที่สนับสนุนและเอื้อเฟื้อกุ้งขาวแวนนาไมที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณเพื่อนปริญญาโทและพี่ปริญญาเอกทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่าง ๆ เป็นอย่างดีในระหว่างทำการทดลอง

และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา รวมทั้งญาติพี่น้อง ที่ให้การสนับสนุนทางด้านการศึกษา ตลอดจนเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

วรวุฒิ วัลลา

เมษายน 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	28
ผลและวิจารณ์	41
สรุปผล	77
ข้อเสนอแนะ	78
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	79
ภาคผนวก	94
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	104

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับ ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลา 20, 40 และ 60 วัน	41
2	การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลา 20, 40 และ 60 วัน	44
3	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 0, 30 และ 60 วัน	46
4	อัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 0, 30 และ 60 วัน	48
5	ปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	50
6	ปริมาณแบคทีเรียปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	53
7	แสดงคุณสมบัติของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 60 วัน	55
8	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร	57
9	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้ม 10^3 CFU/มิลลิลิตร	59

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^3$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30	61
11	ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม *V. harveyi* ($\times 10^3$ CFU/มิลลิลิตร)ในวันที่ 10, 20 และ 30	64
12	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร	66
13	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร	68
14	ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30	70
15	ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย	
16	แสดงคุณสมบัติของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน	72 76

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ถังไฟเบอร์กลาสทดลองในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	38
2	ลักษณะของกรดอินทรีย์ Activate DA	38
3	อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar	39
4	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับ	39
5	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	43
6	การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	45
7	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	47
8	อัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	49
9	ปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	51
10	ปริมาณแบคทีเรียปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน	54
11	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร	58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
12	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้ม 10^3 CFU/มิลลิลิตร	60
13	ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^3$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30	62
14	ปริมาณแบคทีเรียสกุล Vibrio ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^3$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30	65
15	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย V. harveyi ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร	67
16	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร	69
17	ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30	71
18	ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30	73

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Effects of Activate DA on Growth, Survival and Population of *Vibrio harveyi* in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

คำนำ

การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลได้กลายมาเป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญทั่วโลก โดยเมื่อปี ค.ศ. 1999 ผลผลิตของกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงคิดเป็น 28 เปอร์เซ็นต์จากผลผลิตกุ้งทั่วโลก (Weidner and Rosenberry, 1992) สำหรับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ถือว่าเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจสำคัญ ที่สามารถสร้างรายได้เข้าประเทศปีละหลายหมื่นล้านบาท เนื่องจากกุ้งชนิดนี้มีการพัฒนาสายพันธุ์มาเป็นระยะเวลานาน ทำให้เลี้ยงง่าย และเจริญเติบโตดี ดังนั้นในปัจจุบันส่วนใหญ่การเลี้ยงกุ้งขาวจึงเป็นการเลี้ยงแบบพัฒนา (intensive culture) ที่เกษตรกรจะปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูง และมีการให้อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูงในปริมาณมาก จึงมักมีการสะสมของสารอินทรีย์ที่เกิดจากอาหารที่เหลือและของเสียจากการขับถ่ายของกุ้ง รวมทั้งสารอินทรีย์ที่เกิดจากซากแพลงก์ตอน และตะกอนเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเลี้ยง ทำให้สภาพแวดล้อมในบ่อเสื่อมโทรม คุณสมบัติของน้ำไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอ แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค โดยเฉพาะแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ที่ก่อให้เกิดโรคแบคทีเรียเรืองแสง ซึ่งเป็นปัญหากับฟาร์มเลี้ยงหอย ปลา และโดยเฉพาะฟาร์มกุ้งซึ่งบางครั้งพบว่ามีอัตราการตายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Pass *et al*., 1987; Alvarez *et al*., 1998; Lavilla-Pitogo *et al*., 1998; Diggles *et al*., 2000) ผลผลิตที่ได้จึงต่ำกว่าเป้าหมายและประสบปัญหาขาดทุน ดังนั้น จากปัญหาที่เกิดขึ้นจึงมีการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันและรักษาโรค (Moriarty, 1999) โดยเฉพาะยากลุ่มซัลโฟนาไม และออกซีเตตร้าไซคลินที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งถ้าหากมีการใช้ยาอย่างไม่ถูกต้องจะมีผลทำให้เกิดการดื้อยา (Teo *et al*., 2000) และในที่สุดยาปฏิชีวนะนั้นจะใช้ไม่ได้ผล (Karunasagar *et al*., 1994) นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นเวลานานโดยไม่มีระยะงดที่นานเพียงพอ อาจก่อให้เกิดสารตกค้างในเนื้อกุ้งขาวได้ ซึ่งสารบางชนิดเมื่อเข้าไปในร่างกายแล้วอาจถูกเปลี่ยนไปเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงกว่าสารตั้งต้น หรืออาจเป็นสารก่อมะเร็ง (วลัยพร, 2544) ทำให้มีผลต่อการส่งออกกุ้งไปยังตลาดต่างประเทศ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยเฉพาะประเทศสหรัฐอเมริกา กลุ่มประเทศสหภาพยุโรป และญี่ปุ่น ซึ่งเป็นผู้ซื้อที่สำคัญของประเทศไทย ที่มีความเข้มงวดในการตรวจวัดสารตกค้างในผลิตภัณฑ์กุ้ง ดังนั้นกรมประมงและภาคเอกชน ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิต จึงได้มีการประชาสัมพันธ์และรณรงค์ไม่ให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะหรือยาต้านจุลชีพในการผลิตทุกขั้นตอนตั้งแต่โรงเพาะฟัก ฟาร์มเลี้ยงกุ้ง รวมทั้งห้องเย็น เพื่อป้องกันผลกระทบต่อการส่งออกผลผลิตกุ้งไปขายยังตลาดต่างประเทศ

จากสาเหตุดังกล่าวข้างต้นเกษตรกรและภาคเอกชนในหลาย ๆ ประเทศ รวมทั้งประเทศไทยจึงได้หันมาให้ความสำคัญในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulants) เพื่อทำให้กุ้งมีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ และมีการใช้โพรไบโอติก (probiotic) ในการป้องกันการเกิดโรคแบคทีเรีย (Fuller, 1989)ในกุ้ง รวมทั้งในปัจจุบันมีการใช้กรดอินทรีย์ (organic acids) ในการผสมกับอาหารแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ เนื่องจากกรดอินทรีย์จะทำให้ค่าพีเอชในกระเพาะอาหารลดลง และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคได้

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดที่มาจากกรดอินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วย fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid (HMTBa) ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นโดย บริษัท Novus ประเทศสหรัฐอเมริกา ภายใต้ชื่อทางการค้า Activate DA เพื่อศึกษาผลของสารดังกล่าวต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ อัตราการรอดตาย และปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและทำให้เกิดการตายในกุ้งขาวแวนนาไม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และ อัตราการรอดตาย ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

2. เพื่อศึกษาผลของ Activate DA ต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาผลของ Activate DA ต่อความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) หรือกุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) เป็นกุ้งพื้นเมืองที่สามารถพบได้ทั่วไปในทวีปอเมริกาใต้ (Holthuis, 1980) พบมีการเลี้ยงตั้งแต่บริเวณชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันออก จากทางตอนเหนือของประเทศเม็กซิโกจนถึงตอนเหนือของประเทศเปรู และนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในประเทศเอกวาดอร์ เม็กซิโก เปรู ปานามา ฮอนดูรัส โคลอมเบีย บราซิล (Holthuis, 1980; Rosenberry, 1993) กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งที่มีการพัฒนาสายพันธุ์มาเป็นเวลานาน ทำให้เลี้ยงง่าย และการเจริญเติบโตดี จึงมีการนำกุ้งชนิดนี้ไปเลี้ยงในหลายประเทศ ซึ่งในทวีปเอเชียมีการนำเข้ากุ้งชนิดนี้มาเลี้ยงเป็นครั้งแรกที่ไต้หวันในปี พ.ศ. 2539 และประเทศจีนในปี พ.ศ. 2541 สำหรับประเทศไทย กรมประมงได้อนุญาตให้นำพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่ปลอดเชื้อ (specific pathogen free, SPF) จากต่างประเทศเข้ามาทดลองเลี้ยงในปี พ.ศ. 2545 โดยสามารถนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากแหล่งที่กรมประมงรับรองแล้วเท่านั้น (มาลินี และสมยศ, 2548) และเป็นช่วงเวลาเดียวกันที่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในประเทศไทยประสบปัญหากุ้งโตช้า และเกิดโรคระบาด เกษตรกรส่วนใหญ่จึงประสบปัญหาขาดทุน (ชลอ และพรเลิศ, 2547) เกษตรกรบางส่วนที่ได้ทำการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าให้ผลค่อนข้างดี เลี้ยงง่าย ให้ผลผลิตสูง ทำให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมากขึ้น

2. ระบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทย

ชลอ และพรเลิศ (2547) กล่าวถึงรูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทย โดยแบ่งความเค็มของน้ำเป็น 2 แบบ คือ

1. การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยน้ำความเค็มต่ำ

การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยน้ำความเค็มต่ำส่วนมากจะเป็นการเลี้ยงในเขตพื้นที่น้ำจืดและพื้นที่ภาคกลางซึ่งจะใช้น้ำที่มีความเค็มต่ำมาก โดยจะใช้น้ำเค็มความเข้มข้นสูงจากนาเกลือซึ่งมีความเค็ม 100-200 พีพีที เติมในน้ำจืดเพื่อให้ได้ระดับความเค็มประมาณ 3-4 พีพีที ทำการเลี้ยงในระบบปิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีการถ่ายน้ำน้อย ส่วนใหญ่จะกั้นคอกก่อน โดยใช้พลาสติกพื้นที่ประมาณ 100-150 ตารางเมตร ความลึกประมาณ 80 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำจากนาเกลือเข้าไปให้ได้ความเค็มประมาณ 8-10 พีพีที หลังจากนั้นก็จะใช้ลูกกุ้งซึ่งปรับความเค็มจากโรงเพาะฟักมาแล้ว โดยลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา 10-12 (พี 10-12) มาปล่อยในคอก อนุบาลประมาณ 3-4 วัน ก็เปิดคอกออกมา จะไม่อนุบาลนานเกินไป เพราะกุ้งขาวว่ายน้ำเก่งและว่ายน้ำตลอดเวลา อาจจะทำให้มีการกินกันเอง อีกวิธีคือไม่กั้นคอก เตรียมน้ำความเค็มประมาณ 3-5 พีพีที แล้วให้ทางโรงเพาะฟักปรับลดความเค็มของลูกกุ้งอยู่ที่ความเค็มต่ำที่สุดประมาณใกล้เคียงกับที่ปล่อยในบ่อ แล้วนำลูกกุ้งมาปล่อยโดยตรง ชลอ และพรเลิศ (2547) กล่าวว่าระดับความเค็มเริ่มต้นสำหรับปล่อยลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำไม่ควรจะต่ำกว่า 5 พีพีที

2. การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยน้ำความเค็มปกติ

การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยน้ำความเค็มปกติเป็นการเลี้ยงกุ้งขาวในพื้นที่ชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะทางภาคใต้และภาคตะวันออก ซึ่งน้ำจะมีความเค็มตั่งแต่ 10 พีพีทีขึ้นไป การเลี้ยงแบบนี้ส่วนใหญ่จะมีการปล่อยลูกกุ้งอย่างหนาแน่นมากกว่า 120,000 ตัวต่อไร่ ผลผลิตของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้ประมาณ 2 ตันต่อไร่ อัตราการรอดตาย 80 เปอร์เซ็นต์ การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยความเค็มปกตินั้นจะได้ผลดีกว่าน้ำความเค็มต่ำ เนื่องจากจะมีการถ่ายน้ำในปริมาณมากในช่วงท้ายของการเลี้ยง

3. คุณภาพน้ำต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

คุณภาพน้ำ หมายถึง คุณสมบัติทางกายภาพ ชีวภาพ และเคมีของน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ สีของน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง (พีเอช) ความโปร่งแสง ปริมาณแอมโมเนียและไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น (วรวิทย์, 2531) คุณภาพน้ำจัดเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการการเพาะเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ถ้าการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งไม่ดีจะส่งผลต่อการกินอาหารของกุ้ง เกิดโรคได้ง่ายขึ้นและมีอัตราการรอดตายต่ำ (Boyd and Fast, 1992) โดยค่าที่บ่งชี้คุณภาพน้ำที่ควรสนใจในการเลี้ยงกุ้ง ได้แก่

1. อุณหภูมิ (temperature)

อุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการเจริญเติบโตของสัตว์ โดยทั่วไปกุ้งขาว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แวนนาไมสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิระหว่าง 26-30 องศาเซลเซียส (Brock and Main, 1994) ซึ่งอุณหภูมิจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับแสง โดยที่อุณหภูมิจะเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานความร้อน และการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในน้ำจะผันแปรตามความเข้มแสง ถ้าปริมาณความเข้มแสงมากมีผลทำให้อุณหภูมิน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิของน้ำตามธรรมชาติจะผันแปรตามอุณหภูมิอากาศ โดยขึ้นกับฤดูกาล ระดับความสูง กระแสลม ความลึก ความเร็วของกระแสน้ำ และสภาพแวดล้อมทั่วไปของแหล่งน้ำ นอกจากนี้อุณหภูมิยังเป็นปัจจัยที่ควบคุมปฏิกิริยาเคมีในน้ำ รวมทั้งควบคุมอัตราการสังเคราะห์แสง อัตราการหายใจ อัตราการย่อยสลายและมีอิทธิพลโดยตรงต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (ศิริเพ็ญ, 2543) อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการกินอาหารการย่อยอาหารและกระบวนการการทำงานต่าง ๆ ในร่างกายของสัตว์น้ำ หากอุณหภูมิของน้ำเหมาะสมจะทำให้สัตว์น้ำสามารถย่อยอาหารได้ดี ถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำทำให้กระบวนการทำงานต่างๆ ของสัตว์น้ำต่ำลง (กรมประมง, 2547) อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำและกุ้งขาวแวนนาไมอยู่ระหว่าง 28-30 องศาเซลเซียส (ชลอ และพรเลิศ, 2547) ตามปกติถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส กุ้งจะกินอาหารลดลงและทำให้การเจริญเติบโตลดลง (ยนต์, 2539)

2. ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ (พีเอช)

พีเอชจะเป็นค่าที่แสดงความเป็นกรด-ด่างของน้ำ เป็นตัวควบคุมการละลายของคาร์บอนไดออก ไซด์ แอมโมเนียอิออน อิออนของเหล็กและพวก trace element นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลโดยตรงต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งในช่วงกลางวันที่มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ละลายในน้ำลดลง เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสง แต่ปริมาณออกซิเจนในน้ำเพิ่มขึ้นทำให้พีเอชของน้ำสูงขึ้น แต่ถ้าอัตราการสังเคราะห์แสงต่ำ คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมาก ค่าพีเอชต่ำลง และจะพบคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในรูปกรดคาร์บอนิคมาก เมื่อค่าพีเอชสูงขึ้นกรดคาร์บอนิคจะแตกตัวให้ไบคาร์บอเนตมากขึ้น ถ้าพีเอชสูงมากกว่า 10 จะพบคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปคาร์บอเนตเท่านั้น และเกิดการตกตะกอนของเกลือแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) รวมทั้งแมกนีเซียมคาร์บอเนต ($MgCO_3$) ซึ่งจะมีผลทำให้น้ำขุ่น (ศิริเพ็ญ, 2543) โดยทั่วไปในทางปฏิบัติน้ำจะมีค่ากลางเป็น 7 ซึ่งถ้าค่าพีเอชต่ำกว่า 7 แสดงว่าน้ำอยู่ในสภาพเป็นกรด หรือพีเอชมากกว่า 7 แสดงว่าอยู่ในสภาพเป็นด่าง ดังนั้นค่าพีเอชจึงอยู่ระหว่าง 0-14 และพีเอชของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีค่าประมาณ 7-8.5 (Brock and Tuker, 1998)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ความเค็ม (salinity)

Boyd (1982) ให้ความหมายของความเค็มของน้ำ หมายถึง ปริมาณความเข้มข้นทั้งหมดของอิออนที่ละลายในน้ำ ประกอบด้วย โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ ซัลเฟตและไบคาร์บอเนต มีหน่วยเป็นส่วนในพันส่วน (parts per thousand: ppt) มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำมาก โดยจะมีผลต่อการควบคุมปริมาณน้ำภายในร่างกาย เป็นผลมาจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติกภายในร่างกายของสัตว์น้ำกับน้ำภายนอก ถ้าความเค็มของน้ำเปลี่ยนแปลงมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 2-3 นาที สัตว์น้ำไม่สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้สัตว์น้ำตายได้ (Boyd and Tucker, 1998) ความเค็มยังมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคต่างๆ ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอีกด้วย เช่น แบคทีเรียพวก *Vibrio* sp. ซึ่งส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีที่ระดับความเค็มตั้งแต่ 20 พีพีทีขึ้นไป ส่วนแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* sp. จะเจริญที่ความเค็มต่ำประมาณ 10 พีพีที (Buchanan and Gibbons, 1974) กุ้งขาวแวนนาไมสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 0-35 พีพีที แต่ถ้าต้องการผลผลิตที่ดีความเค็มของน้ำไม่ควรต่ำกว่า 3 พีพีที ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ส่วนความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมอยู่ระหว่าง 5-35 พีพีที (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

4. ค่าความเป็นด่าง (alkalinity)

ความเป็นด่าง หมายถึง ความสามารถของน้ำที่จะรับไฮโดรเจนอิออน (H^+) เพื่อทำให้กรดเป็นกลาง น้ำที่มีค่าพีเอชมากกว่า 4.3 แสดงว่าในน้ำมีค่าความเป็นด่างอยู่ ยิ่งค่าพีเอชสูงก็จะมีค่าความเป็นด่างมากขึ้น สารประกอบที่ทำให้เกิดความเป็นด่างมี 3 ชนิด คือ ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไฮดรอกไซด์ (OH^-) น้ำที่มีองค์ประกอบตัวใดตัวหนึ่งใน 3 ชนิดดังกล่าวจะเป็นน้ำที่มีความเป็นด่างอยู่ด้วย ดังนั้นพีเอชของน้ำถือว่าเป็นตัวกำหนดชนิดของสารละลายด่างที่อยู่ในน้ำ คือน้ำมีค่าพีเอชเป็นกลางจนถึง 8.3 จะมี HCO_3^- มากน้ำมีค่าพีเอชตั้งแต่ 8.3 ขึ้นไปจะเริ่มมี CO_3^{2-} น้ำมีค่าพีเอชระหว่าง 9.5-10.5 จะเริ่มมี CO_3^{2-}มาก น้ำมีค่าพีเอช 11 หรือมากกว่าจะมี OH^- มาก ค่าความเป็นด่างมีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้งทะเลทุกชนิด Boyd (1982) กล่าวว่า ความเป็นด่างของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำควรอยู่ในช่วง 100-120 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชลอ และพรเลิศ, 2547) น้ำที่มีค่าความเป็นด่างต่ำประมาณ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีพีเอชต่ำกว่า 7.5 ลูกกุ้งจะลอกคราบไม่ออกและตาย เนื่องจาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริมาณแคลเซียมในน้ำไม่เพียงพอ หากน้ำมีความเป็นด่างที่สูงมากและพีเอชของน้ำเกิน 8.3 จะพบว่าพีเอชในตอนบ่ายจะสูงขึ้นอีก กุ้งในบ่อจะเป็นตะกรันตามเปลือกและเจริญเติบโตช้ากว่าปกติมาก การควบคุมความเป็นด่างให้คงที่นั้นจะใช้วัสดุปูนในกลุ่มคาร์บอเนต ส่วนการเพิ่มความเป็นด่างโดยใช้โซเดียม- ไบคาร์บอเนตหรือโซเดียมคาร์บอเนตขึ้นอยู่กับระดับพีเอชของน้ำประกอบกันด้วย (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

5. ความกระด้าง (hardness)

ค่าความกระด้างของน้ำเกิดจากตะกอนของแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และแมกนีเซียมอิออน (Mg^{2+}) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะวัดออกมาเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) โดยปริมาณความกระด้างรวม หมายถึง ผลรวมของความกระด้าง เนื่องมาจากผลรวมความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียม (ศิริเพ็ญ, 2543) ในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยทั่วไปมีค่าความกระด้างน้อยกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร การแบ่งความกระด้างของน้ำจะถือเอาปริมาณ $CaCO_3$ ที่มีอยู่เป็นเกณฑ์สามารถแบ่งความกระด้างของน้ำได้ดังนี้

น้ำอ่อน 0-75 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$
น้ำค่อนข้างกระด้าง 75-150 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$
น้ำกระด้าง 150-300 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$
น้ำกระด้างมาก >300 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$

ความกระด้างของน้ำมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นด่างและพีเอชและยังช่วยลดความเป็นพิษหลายชนิดโดยเฉพาะพวกโลหะ ดังนั้นน้ำกระด้างปานกลางหรือสูงจึงมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ น้ำอ่อนโดยเฉพาะน้ำฝนไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528) ปลาและสัตว์น้ำในกลุ่มปู-กุ้งต้องการแคลเซียมในการสร้างกระดูกและเปลือกโดยจะดูดซับแคลเซียมจากน้ำระหว่างการลอกคราบจึงต้องมีปริมาณแคลเซียมในน้ำระดับที่พอเพียงอ (Fieber and Lutz, 1982)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. แอมโมเนีย (ammonia)

แอมโมเนียเป็นสารประกอบของไนโตรเจน unionized ammonia, NH_3ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และรูปแบบที่แตกตัว ionized ammonia, NH_4^+ จะไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ปริมาณการแตกตัวของแอมโมเนียทั้งหมดในน้ำจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพีเอชของน้ำ โดยพีเอชของน้ำจะมีอิทธิพลมากกว่าอุณหภูมิของน้ำ ถ้าในน้ำมีค่าพีเอชสูงความเป็นพิษของแอมโมเนียจะมากกว่าในน้ำที่มีพีเอชต่ำ เนื่องจากเมื่อค่าพีเอชสูงความเข้มข้นของแอมโมเนียในรูปที่แตกตัวได้จะลดลง โดยจะเปลี่ยนรูปไปเป็นแอมโมเนียในรูปที่ไม่แตกตัว ทำให้เป็นพิษสูงขึ้นในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ความทนทานของสัตว์น้ำต่อแอมโมเนียนั้นขึ้นอยู่กับชนิด สรีระของสัตว์น้ำและปัจจัยของสิ่งแวดล้อม (Boyd, 1989) โดยปริมาณแอมโมเนียที่สูงมากจะทำลายเหงือก ทำให้หายใจและแลกเปลี่ยนออกซิเจนไม่เป็นปกติ พุทธ (2544) รายงานความเป็นพิษของแอมโมเนียอิสระต่อกุ้งทะเล เนื่องจากกุ้งจะขับแอมโมเนียออกจากร่างกายทางเหงือก ถ้าในน้ำมีระดับแอมโมเนียน้อยก็จะทำให้กุ้งขับถ่ายแอมโมเนียได้และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี และในทางตรงกันข้ามถ้ามีปริมาณแอมโมเนียมาก แอมโมเนียจะสามารถแพร่ย้อนกลับเข้าไปในเลือดได้ ทำให้เกิดการสะสมแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อส่งผลให้พีเอชของเลือดเพิ่มขึ้นและมีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ แอมโมเนียจะทำให้การใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อสูงขึ้น เหงือกถูกทำลายและความสามารถในการขนส่งออกซิเจนลดลงส่งผลให้กุ้งอ่อนแอติดโรคได้ง่าย (ชลอ และพรเลิศ, 2547) ระดับแอมโมเนียอิสระน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้ง ถ้าอยู่ระหว่าง 0.1-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตช้า และถ้ามากกว่า 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กุ้งโตช้า กินอาหารน้อยลงเกิดอาการเครียดหรืออาจตายได้ (พุทธ, 2544) ปริมาณแอมโมเนียรวมที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมควรต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Brock and Main, 1994)

7. ไนไตรท์ (nitrite)

ไนไตรท์เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำอย่างมากเช่นเดียวกันกับแอมโมเนีย ซึ่งเกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชั่นของแอมโมเนียในสภาพที่มีออกซิเจนโดยแบคทีเรียกลุ่ม Nitrosomonas เป็นตัวย่อยสลายและเกิดจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชั่นหรือไนเตรทรีดักชั่นของไนเตรทในสภาพขาดออกซิเจน (ยนต์, 2539) โดยปริมาณไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจะมีในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรท แต่ในบ่อเลี้ยงสัตว์ทะเลที่มีพีเอชสูงจะทำให้การเติบโตของแบคทีเรียที่เปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนเตรทหยุดชะงักลง ทำให้เกิดการสะสมของ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไนไตรท์ในบ่อ ความเป็นพิษของไนไตรท์ขึ้นอยู่กับระดับความเค็ม ในน้ำจืดไนไตรท์จะมีระดับความเป็นพิษที่สูงกว่าในน้ำเค็ม ซึ่งจะเป็นพิษกับสัตว์น้ำที่เม็ดเลือดมีฮีโมโกลบิน (haemoglobin) โดยสามารถแย่งออกซิเจนจับกับเม็ดเลือดทำให้เกิดการขาดออกซิเจน แต่กุ้งมีฮีโมไซยานิน (haemocyanin) ไนไตรท์จะเข้าจับได้น้อยกว่าจึงมีความเป็นพิษต่อกุ้งน้อย แต่มีผลทำให้เลือดของกุ้งไม่สามารถเข้าจับกับออกซิเจนเกิดภาวะเลือดเป็นพิษ กุ้งขาดออกซิเจนทำให้ระดับโปรตีนและค่าพีเอชของเลือดกุ้งลดลงเกิดการสะสมของยูเรียในเลือดกุ้ง ระบบสมดุลเกลือแร่เกิดการเปลี่ยนแปลง คือดูดซึมน้ำมากเกินไป (พุทธ, 2544; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ปริมาณไนไตรท์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมควรต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Brock and Main, 1994)

8. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen; DO)

ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำมีผลต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโตและสุขภาพกุ้ง โดยค่าของออกซิเจนในน้ำจะต่ำสุดตอนเช้ามืด เนื่องจากออกซิเจนจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการการหายใจของสิ่งมีชีวิต และกระบวนการย่อยสลายของเสียในแบคทีเรีย ส่วนในช่วงตอนกลางวันจะมีค่าออกซิเจนสูงสุด เพราะแพลงก์ตอนพืชจะทำการสังเคราะห์แสงทำให้มีปริมาณออกซิเจนมากขึ้น ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเค็ม พบว่าน้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นความสามารถในการละลายของออกซิเจนลดลง (พุทธ, 2544; Boyd, 1989) ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งต้องมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กุ้งเจริญเติบโตดีและสารอินทรีย์สลายตัวเร็ว ถ้าปริมาณออกซิเจนน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กุ้งตาย (พุทธ, 2544; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ปริมาณออกซิเจนยังมีผลต่อการย่อยอาหาร ดังนั้นหากมีปริมาณออกซิเจนต่ำทำให้กุ้งกินอาหารลดลง (กรมประมง, 2547)

9. ความโปร่งแสง (transparency)

ความโปร่งแสง คือ ค่าความลึกที่สามารถมองเห็นวัตถุแผ่นกลม (Secchi disc) ที่หย่อนลงในน้ำจนถึงระดับความลึกที่มองไม่เห็นวัตถุดังกล่าว (ศิริเพ็ญ, 2543) ค่าความโปร่งแสงจะบอกถึงลักษณะและสภาพของแหล่งน้ำ ซึ่งค่าความโปร่งแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณแพลงก์ตอนและตะกอนดินในแหล่งน้ำนั้น ๆ เป็นอย่างมาก ซึ่งถ้าค่าความโปร่งแสงมีค่าน้อยเกินไปหมายถึงแหล่งน้ำจะมีความขุ่นมาก ทำให้แสงส่องลงไปไม่ถึงก้นบ่อ และจะลดการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำ แต่ถ้าความโปร่งแสงมากแสดงว่าอาหารธรรมชาติมีไม่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพียงพอ ควรใส่ปุ๋ยเพื่อเพิ่มปริมาณแพลงก์ตอน แต่หากแพลงก์ตอนพืชมีในปริมาณที่หนาแน่นเกินไปจะทำให้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงเนื่องจากการสังเคราะห์แสงลดลง การหายใจเพิ่มขึ้น และการย่อยสลายเมื่อแพลงก์ตอนตายลงพร้อมกัน สำหรับค่าความโปร่งแสงที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมควรอยู่ระหว่าง 25-50 เซนติเมตร (Brock and Main, 1994)

10. ค่าความนำไฟฟ้า (electrical conductivity หรือ EC)

ความนำไฟฟ้าคือ ความสามารถในการนำไฟฟ้าของน้ำหรือของเหลวอื่น ซึ่งประสิทธิภาพการนำไฟฟ้าของน้ำขึ้นกับปริมาณและความเข้มข้นของอิออน การเคลื่อนที่ของประจุ อุณหภูมิ และคุณสมบัติของน้ำหรือของเหลวอื่น ๆ ซึ่งของเหลวที่มีคุณสมบัติเป็นกรดด่างและเกลือของอนินทรียสารจะเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี โดยค่าความนำไฟฟ้าที่น้อยกว่า 1 มิลลิซิเมนต์ต่อเซนติเมตรจะไม่มีความเค็ม ส่วนค่าความนำไฟฟ้าที่อยู่ในช่วง 5-8 มิลลิซิเมนต์ต่อเซนติเมตร มีความเค็มปานกลางและค่าความนำไฟฟ้ามากกว่า 9 มิลลิซิเมนต์ต่อเซนติเมตร มีความเค็มสูง ค่าความนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์กับปริมาณธาตุชนิดต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทะเล (สมเจตน์ และคณะ, 2529) ถ้าค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายและปริมาณของแข็งที่ละลาย (dissolved solids) มีปริมาณมาก แสดงว่ามีปริมาณอนินทรียสารละลายในน้ำสูง และค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายลดลง แสดงว่าปริมาณอนินทรียสารที่ละลายน้ำลดลง (APHA *et al*., 1995) ที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ค่าความนำไฟฟ้าสูงขึ้นเพราะจะทำให้เกิดการแตกตัวเป็นอิออนของเกลือมากยิ่งขึ้น และค่าพีเอชที่มากกว่า 9 หรือน้อยกว่า 5 จะมีผลทำให้ค่าความนำไฟฟ้าสูงขึ้น เพราะน้ำหรือของเหลวที่เป็นกรดและด่างแก่มีปริมาณ H^+ และ OH^- มาก ซึ่งมีผลทำให้ค่าการเคลื่อนที่ของปริมาณอิออนสูง

4. แบคทีเรียสกุล *Vibrio*

แบคทีเรียสกุลวิบริโอ (*Vibrio* spp.) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ อยู่ในกลุ่ม facultative anaerobic จัดอยู่ในวงศ์ Vibrionaceae (Baumann *et al*., 1971) รูปร่างเป็นแท่งโค้ง (cruved rods) หรือตรง มีขนาดความกว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4-2.6 ไมโครเมตร (Inglis *et al*., 1993) ใช้แฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ในอาหารเหลว (liquid media) ใช้ monotrichous flagella ในการเคลื่อนที่เมื่อเจริญในอาหารแข็ง (solid media) สร้าง lateral flagella จำนวนไม่มาก ไม่สร้าง endospore หรือ microcyst อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 18-37 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่ฉวยโอกาส ทำให้เกิดโรคแบบ secondary infection (ลิลา และคณะ, 2540; Austin and Austin,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1987) ทุกสายพันธุ์เป็น chemoorganotroph ต้องการ sodium ion เป็นตัวกระตุ้น สำหรับการเจริญเติบโต โดยการเข้มข้นที่เหมาะสมกับการเจิญเติบโตอยู่ในช่วง 5-7 mM สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปที่มีการเติมเกลือ 1.5-3.5 เปอร์เซ็นต์ (ชลอ, 2528) แต่ลักษณะที่เกิดขึ้นไม่ต่างจากแบคทีเรียกลุ่มอื่น จึงยากต่อการจำแนกชนิด จึงมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะต่อแบคทีเรียสกุลนี้ (selective media) คือ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) หรือ Bromthymol Blue Salts Teepol (BTBST) แบคทีเรียชนิดนี้เมื่อเจริญจะมีโคโลนีเขียวหรือเหลือง ขนาดปานกลาง-ใหญ่ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการใช้น้ำตาลซูโครสของแต่ละสายพันธุ์ (Cowan, 1957) ทุกชนิดเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบได้ในช่วงความเค็มค่อนข้างกว้าง พบได้ทั่วไปในทะเล และบริเวณชายฝั่งรวมทั้งผิวลำตัว และในลำไส้ของสัตว์ทะเล บางชนิด จะพบในแหล่งน้ำจืด หลายชนิดเป็นเชื้อที่ก่อโรคในคนเช่นเดียวกับสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง และไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล

Yasuda and Kito (1980) พบว่าในระบบทางเดินอาหารของกุ้ง *Penaeus japonicus* ในช่วงระยะซูเอี๊ยจะพบแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* เป็นชนิดที่เด่นที่สุด Ruangpan and Kitao (1991) รายงานว่ากุ้งกุลาดำที่ป่วยเมื่อนำมาแยกเชื้อ พบแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ดังนี้ *V. vulnificus*, *Vibrio* spp. *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. fluvialis* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของกุลวรา (2534) พบแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งป่วยคือ *V. harveyi, V. alginolyticus*, *Vibrio* ssp. และ *Pseudomonas* sp. อมรชัย (2536) พบเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* จำนวน 74 สายพันธุ์ที่แยกจากตับและตับอ่อนของกุ้งกุลาดำที่ป่วยจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ปรากฏว่า *V. parahaemolyticus* เป็นเชื้อที่พบมากที่สุด รองลงมาคือ *V. vulnificus*, *V. harveyi*, *V. fluvialis*, *V. damsela* และ *V. alginolyticus* ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียสกุล *Vibrio* มีอย่างน้อย 25 ชนิดดังนี้ คือ *V. alginolyticus, V. anguillarum, V. camphelii, V. carchariae, V. cholera, V. costecola, V. damsela, V. fischeri, V. fluviaris, V. gazogenes, V. harveyi, V. logei, V. marinus, V. methnikovii, V. natriegens, V. nereis, V. nigripulchritudo, V. ordalii, V. pelagius 1, V. pelagius 2, V. parahaemolyticus, V. proteolyticus, V. proteus, V. samonicida, V. splenidus 1, V. splenidus 2, V. vulnificus* และ *Vibrio* spp. (Austin and Austin, 1987)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชนิดของแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ที่มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล

1. *Vibrio harveyi*

โรคต่างๆ ที่พบในลูกกุ้งทะเลนั้นจะเกิดจาการติดเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะที่มีสาเหตุมาจาก *V. harveyi* ซึ่งสร้างความเสียหายอย่างมากต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ Ruangpan (1995) ได้อธิบายอาการที่ปรากฏในลูกกุ้งที่ติดเชื้อว่า ลูกกุ้งจะไม่ว่องไว การเคลื่อนที่จะช้าและกล้ามเนื้อช่วงท้องจะมีสีขาวขุ่น ในกรณีที่ลูกกุ้งใกล้จะตาย ลูกกุ้งจะจมลงสู่ก้นบ่อและตายภายใน 1-2 วัน อัตราการตายจะเริ่มจาก 20 เปอร์เซ็นต์ จนอาจถึงตายหมดบ่อ การตรวจวินิจฉัยสามารถสังเกตได้จากลูกกุ้งในบ่อช่วงเวลากลางคืนจะเห็นจุดสีเขียวระยิบระยับคล้ายแสงหิ่งห้อยลอยขึ้นลงตามการเคลื่อนไหวของลูกกุ้ง เรียกว่าโรคเรืองแสง หรือ โรคเพชรพลอย (Luminous หรือ Diamond Disease) เป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส (opportunistic bacteria หรือ facultative pathogen) คือ เมื่อร่างกายของสัตว์อ่อนแอจากความเครียดจะเข้าทำอันตรายได้ ทำให้เกิดโรคแบบ secondary infection (ลิลา และคณะ, 2540; Austin and Austin, 1987) ลักษณะอาการกุ้งในบ่อเลี้ยงที่ป่วยจะขึ้นมาอยู่ที่บริเวณริมบ่อ หรือตามผิวน้ำ ลำตัวสีเข้ม บางตัวอาจจะมีสีค่อนข้างแดง รยางค์กร่อนดำ กินอาหารลดลง ตัวหลวม ตับมีสีซีดลง เซลล์เหงือกตาย เวลากลางคืนจะเห็นการเรืองแสง (กุลวรา, 2534; ชลอ, 2543)

2. *Vibrio vulnificus*

แบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเสี้ยนดำในกุ้ง (black splint หรือ melanosis) ซึ่งจะไม่ทำให้เกิดการตายอย่างรุนแรงแต่สามารถทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจพอสมควร เนื่องจากกุ้งที่เป็นโรคเสี้ยนดำจะมีการสะสมเม็ดสี (melanin) ฝังลงไปในกล้ามเนื้อ เมื่อนำไปผ่านการประกอบอาหารเช่นต้มสุก จะทำให้เห็นเป็นสีดำแทรกอยู่ไม่น่ารับประทานและไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Limsuwan, 1993) ซึ่งอาการเสี้ยนดำที่เกิดขึ้นมักจะพบที่บริเวณกล้ามเนื้อส่วนท้อง การติดเชื้อเป็นแบบเรื้อรังทำให้กุ้งมีการตอบสนองโดยการสร้างสารสีดำขึ้นในบริเวณนั้น (พรเลิศ และคณะ, 2537) แบคทีเรียชนิดนี้พบได้น้อยในน้ำที่มีความเค็มสูง (Chanratchakool, 1992)

ชลอ (2531) รายงานการเกิดโรคเสี้ยนดำในปลายปี พ.ศ. 2531 ในหลาย ๆ พื้นที่ของการเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะฟาร์มที่เลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำ จะได้รับความเสียหายค่อนข้างสูง ซึ่งกุ้งที่เป็นโรคจะเห็นเสี้ยนสีน้ำตาลดำแทรกอยู่ในส่วนของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะด้านล่างของแพนหาง และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนที่เชื่อมระหว่างปล้องบางตัวพบจุดสีดำหรือสีน้ำตาลที่บริเวณ carapace เส้นผ่านศูนย์กลาง ขนาด 0.1-0.5 เซนติเมตร และผลการตรวจ สอบพบว่าโรคดังกล่าวมีสาเหตุมาจากเชื้อ *V. vulnificus* การศึกษาทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อพบว่ามีการสะสมของเม็ดเลือดและเกิดเมลานิน โดยมีกลุ่มของแบคทีเรียจำนวนมากบริเวณรอบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณที่เกิดเสี้ยนดำ และยังสามารถพบที่เหงือกและตับ รวมทั้งตับอ่อนได้เช่นกัน นอกจากนี้ผลจากการฉีดเชื้อดังกล่าวที่แยกได้จากกุ้งที่ป่วยเข้าไปในกุ้งปกติ พบว่าเนื้อกุ้งบริเวณที่ฉีดและบริเวณส่วนปลายของรยางค์ต่างๆ จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูภายใน 1 ชั่วโมง และบางตัวก็แสดงอาการตายให้เห็นและจะแสดงอาการเสี้ยนดำให้เห็นอย่างชัดเจน ภายหลังได้รับเชื้อแล้วในวันที่ 4 โดยที่อาการดังกล่าวจะไม่แสดงในชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าการควบคุมการเกิดโรคสามารถทำได้โดยการผสมอ๊อกซี่เตตราไซคลิน 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กุ้งที่ป่วยกินในระยะเริ่มแรกของการเกิดโรค และการเพิ่มความเค็มให้สูงสามารถความรุนแรงของโรคนี้ได้

3. *Vibrio parahaemolyticus*

มีรูปร่างโค้ง มีขนาดความกว้าง 0.4-0.5 และความยาว 1-3 ไมโครเมตร สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 2-4 เปอร์เซ็นต์ โคโลนีทึบแสง จุดกลางโคโลนีสีเข้ม เชื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 5-45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37.5 องศาเซลเซียส พีเอช 5-11 และช่วงที่เหมาะสมคือ 7.5-8.8 เจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน พบอาศัยอยู่ในแหล่งต่างๆ ทั้งในส่วนของสภาพแวดล้อมชายฝั่งทะเล เขตน้ำกร่อย ตะกอนดิน รวมทั้งปลาทะเล หอยและสัตว์ในกลุ่มครัสตาเซียนทั้งหลายๆ พื้นที่ทั่วโลก (Sakasaki, 1968; Twedt, 1969; Beuchat, 1974) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว *V. parahaemolyticus* สามารถสร้าง flagella ที่มีเยื่อหุ้มขนาดใหญ่ 1 เส้น ติดอยู่กับส่วนของ outer membrane ของเซลล์ เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ แต่เมื่อเลี้ยงในอาหารแบคทีเรียจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน หลังจากการถูกถ่ายจากอาหารเหลวสู่อาหารแข็ง แบคทีเรียจะหยุดการแบ่งเซลล์และเริ่มยืดขยายตัวออก ขนาดประมาณ 30 ไมโครกรัม เป็น 40 ไมโครกรัม พร้อมสร้าง flagella จำนวนมาก ซึ่งมีโครงสร้างต่างกับ polar flagella โดยพบว่าไม่มีส่วนห่อหุ้ม เรียกว่า lateral flagella เรียงรายอยู่รอบเซลล์ ซึ่งทำหน้าที่เคลื่อนที่บนผิวในอาหารแข็ง (Shinoda and Okamoto, 1977) ในทางตรงกันข้ามเมื่อย้ายเซลล์ไปเลี้ยงในอาหารเหลวแบคทีเรียจะเริ่มแบ่งเซลล์ พร้อมกับสร้าง lateral flagella จะหยุดลง และส่วนที่เหลือจะถูกสลัดให้หลุดออกไปในสภาพแวดล้อมดังกล่าว (Belas and Colwell, 1982)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

V. parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) แต่ทุกสายพันธุ์ไม่ได้เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค สายพันธุ์ที่สามารถทำให้เกิดโรคได้นั้นต้องมีความสามารถในการทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) เนื่องจากเชื้อชนิดนี้มีการสร้างสารฮีโมไลซินที่ทนต่อความร้อน (heat-stable hemolysin) มีสมบัติในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ได้ฮีโมไลซินนี้เป็นสารจำพวกโปรตีนที่ทนต่อความร้อน มีขนาดโมเลกุลประมาณ 23 kDa มีชื่อเรียกเฉพาะว่า thermostable direct hemolysin (TDH) ซึ่ง TDH นี้จัดเป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรค (virulence factor) ของเชื้อชนิดนี้ (Ray, 1996) การระบาดของโรคจาก *V. parahaemolyticus* พบเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1950 ที่เมืองโอซากา ประเทศญี่ปุ่น ในครั้งนั้นมีผู้ป่วยจำนวน 272 ราย และมีผู้เสียชีวิตถึง 20 ราย สาเหตุเกิดจากการรับประทานปลาซาร์ดีนที่มีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว (Su and Liu, 2007)

V. parahaemolyticus มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคของกุ้งชนิดต่างๆ เช่น โรคติดเชื้อกับกุ้ง *P. aztecus* (brown shrimp) บริเวณอ่าวเม็กซิโก (Vanderzant *et al*., 1970) เช่นเดียวกับการเกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมในบริเวณพื้นที่อ่าว Guayaquil ประเทศเอกวาดอร์ อมรชัย (2536) รายงานว่า *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียที่พบมากในตับและตับอ่อนของกุ้งกุลาดำที่ป่วยในฟาร์มเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย การศึกษาของ Chanratchakool (1992) และ Ruangpan (1995) พบว่า *V. parahaemolyticus* จัดเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำมากที่สุดจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย

4. *Vibrio alginolyticus*

V. alginolyticus เป็นแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอที่พบว่ามีการกระจายตัวกว้างขวางในทะเล และมักพบจากการแยกเชื้อในปลา หอย และจากอาหารทะเลหลายชนิด (Chan *et al*., 1989) สามารถแยกได้จากกุ้งที่ป่วยเสมอ (กุลวรา, 2534; สุภชัย, 2538) และยังพบว่าสาเหตุของการเกิดโรคกุ้งขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ ซึ่งสามารถตรวจพบแบคทีเรียชนิดนี้มากในส่วนของตับและตับอ่อน และน้ำเลือดจากตัวอย่างกุ้งที่ป่วย (Ruangpan, 1995)

ธนาทิพย์ และคณะ (2537) ทำการศึกษาพบว่า *V. alginolyticus* ที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง คือ 5.1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่พบว่ามีการเกิด nodules จำนวนมากล้อมรอบบริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย โดยมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เม็ดเลือด (hemocyte) เข้ามารวมกลุ่มเพื่อกำจัดเซลล์ที่ถูกทำลายและมีการสะสมของเม็ดสี (melanization) บริเวณที่เกิดบาดแผล นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *V. alginolyticus* ยังเป็นสาเหตุของการเกิดเชื้อโรคในกุ้งกุลาดำที่ประเทศมาเลเซีย (Anderson *et al*., 1988) และกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในบ่ออนุบาลในประเทศเอกวาดอร์ (Mohney *et al*., 1994)

5. *Vibrio damsela*

Vibrio damsela มีลักษณะและคุณสมบัติเป็น facultative anaerobic bacteria ย้อมติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้เล็กน้อย สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หรือในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการผสมเกลือ 1-6 เปอร์เซ็นต์ สร้างจากกรด D-glucose แต่ไม่ได้สร้างจาก D-adonotol, cellobiose, dulcitol, erythritol, melibiose, raffinose, L-rhamnose, D-sorbitol, trehalose หรือ D-xylose DNA ประกอบด้วย Guanine และ Cytosine 43 เปอร์เซ็นต์ (Austin, 1993) Renault *et al*. (1994) รายงานว่าพบ *V. damsela* เป็นสาเหตุการตายของปลากะพงขาวที่มีการเพาะเลี้ยงในตาฮิติ (Tahiti) เป็นครั้งแรก และยังสามารถแยกเชื้อ *V. damsela* ได้จากฟาร์มเลี้ยงปลา rainbow trout ในเดนมาร์กเป็นครั้งแรก (Pederson *et al*., 1987) สำหรับประเทศไทย อมรชัย (2536) สามารถแยก *V. damsela* จากกุ้งกุลาดำได้เป็นครั้งแรก นอกจากนี้ยังพบ *V. damsela* ปนเปื้อนอยู่ในอาหารทะเลที่ประเทศบราซิลอีกด้วย (Landgraf *et al*., 1996)

6. *Vibrio anguillarum*

รูปร่างเป็นแท่งตรงหรือโค้ง ขนาด 0.5 × 1.0-2.0 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ด้วย flagella 1 เส้น ไม่เป็น acid-fast และไม่มีการสร้างสารสี เจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปที่มีเกลือ 1-1.5 เปอร์เซ็นต์ (Egusa, 1992) เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปลาชนิดแรกที่สามารถแยกได้ในห้องปฏิบัติการ โดยแยกจากปลาไหล ในปี ค.ศ. 1974 และยังเป็นแบคทีเรียชนิดแรกที่ได้ระบุชื่อลงไปใน The European Literature อีกด้วย (Frerichs and Millar, 1993) *V. anguillarum* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้ปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยทั่วไปเป็นโรค โดยเฉพาะแหล่งที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งและในทะเล ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาเป็นโรควิบริโอซิส ถ้ามีอยู่ในตัวปลาหรือรอบๆ ตัวปลาในไม่ช้าจะทำให้เกิดโรคได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. *Vibrio fischeri*

V. fischeri มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ขนาด 0.5-1.0 × 1.5 ไมโครเมตร พบทั้งที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวและเป็นคู่ มีขอบเซลล์เรียบ ปลายมน แกนกลางตรงหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา ที่มีลักษณะเป็นพู่อยู่บริเวณขั้วเซลล์ 2-8 เส้น ให้โคโลนีสีเหลืองใน MA ที่ผสม yeast extract 0.05 เปอร์เซ็นต์ เจริญที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 4 องศาเซลเซียส ต้องการอนุมูลโซเดียมแต่ไม่ต้องการสารอินทรีย์ในการเจริญ สามารถผลิตเอนไซม์ lipase เพื่อการย่อยไขมันแต่ไม่สามารถย่อย gelatin หรือแป้งได้ และสามารถใช้ประโยชน์จาก glucose, D-mannose, cellulose และ D-manitol แต่ไม่สามารถใช้ประโยชน์จาก surcrose, arabinose, lactose, D-glucose, sorbitol และ inosital

5. โรคแบคทีเรียเรืองแสง

โรคแบคทีเรียเรืองแสงเกิดจากเชื้อ *Vibrio harveyi* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในน้ำเค็มและน้ำกร่อย (พรเลิศ และคณะ, 2537) เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีการแพร่ระบาดได้เป็นบริเวณกว้างทั่วทุกมุมโลก (Lavilla-Pitogo *et al*., 1998) เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม microflora พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและบ่อเลี้ยงกุ้ง (Sindermann, 1990) เป็นแบคทีเรียที่ฉวยโอกาส (opportunistic bacteria) ซึ่งแบคทีเรียจะเข้าทำอันตรายเมื่อกุ้งเครียดและอ่อนแอก่อให้เกิดโรคแบบ secondary infection ทำให้กุ้งป่วยและตายในที่สุด โดยเชื้อชนิดนี้สามารถย่อยสลายสารพวก chitin ในเปลือกของสัตว์พวก crustacean แล้วแพร่กระจายภายในร่างกาย ถ้ากุ้งแข็งแรงจะสามารถกำจัดแบคทีเรียนี้ได้หรือกลายเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง (chronic infection) เชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* สามารถปรับตัวให้ทนต่อสถาพของอุณหภูมิและความเค็มได้ในช่วงกว้าง (Baumann *et al*., 1984; Jiravanichpaisan *et al*., 1994; Suwanto *et al*., 1998) โดยช่วงความเค็มและอุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่ระหว่าง 0-40 พีพีที และ 25-35 องศาเซลเซียส (ชลอ, 2534; สุภฎา และคณะ, 2543) จึงเป็นเหตุให้ช่วงฤดูร้อนมีปริมาณเชื้อมากกว่าในฤดูฝนหรือฤดูหนาว (Buchanan and Gibbons, 1974)

ลักษณะแบคทีเรีย *V. harveyi*

เชื้อ *V. harveyi* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้น ๆ มีขนาดกว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4-2.6 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ flagella เติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) (สุภฎา และคณะ, 2543) เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เชื้อนี้สามารถให้แสงสีเขียวแกมเหลืองออกมา โดยปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดจากเอนไซม์ luciferase โดยสารตั้งต้นเป็น long chain aldehyde (tetradecanal) สารดังกล่าวได้มาจากการสังเคราะห์ของกรดไขมัน ระหว่างปฏิกิริยาการออกซิไดซ์ของ aldehyde และการรีดิวซ์ของ flavin ($FMNH_2$) โดยเอนไซม์ luciferase จะทำให้เกิดการเรืองแสงของแบคทีเรียขึ้น สามารถเรืองแสงได้ในที่มืด (Prosser *et al*., 1996) ดังสมการ

$$RCHO + O_2 + FMNH_2 \xrightarrow{\text{Luciferase}} RCOOH + FMN + H_2O + light$$

(ความยาวคลื่น 490 nm) (Schmetterer *et al*., 1986)

หมายเหตุ: RCHO คือ อัลดีไฮด์คาร์บอนอะตอมต่อกันเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 7-9 คาร์บอนอะตอม (straight-alphatic moiety)

เชื้อ *V. harveyi* สามารถสร้างสารพิษชนิด endotoxin ที่ร้ายแรงมากอยู่ภายในไซโทพลาซึมของเซลล์และละลายปนไปกับน้ำเลือด แบคทีเรียในสกุลนี้มีความต้องการโซเดียมอิออนในการกระตุ้นการเจริญเติบโต เชื้อสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีความเค็ม sea water agar (SWA) และมีสภาพพีเอชเท่ากับ 9 อาหารเฉพาะของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS agar) พบโคโลนีของเชื้อเป็นสีเขียว ความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* ไม่ขึ้นกับลักษณะทางพันธุกรรม แต่ขึ้นอยู่กับ plasmid หรือ lysogenic bacteriophage โดยมีการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างกันโดยผ่านทาง mobile element ซึ่งได้แก่ plasmid ในกระบวนการเจริญเติบโต (Pizzutto and Hirast, 1995) โดยส่วนของ bacteriophage ช่วยเพิ่มความรุนแรงของเชื้อ (Ruangpan *et al.,* 1999) เชื้อ *V. harveyi* ชนิด (isolate) ที่มีการเรืองแสงมีการดื้อต่อสารปฏิชีวนะสูงกว่าชนิดที่ไม่เรืองแสง (Abraham *et al*., 1997)

พฤติกรรมภายนอกของกุ้งที่ติดเชื้อ *V. harveyi*

กุ้งที่ติดเชื้อเริ่มแสดงอาการเซื่องซึม ว่ายน้ำตามขอบบ่อ หรือลอยตามผิวน้ำ เรืองแสงในที่มืดและเริ่มมีการตายมากขึ้นตามระยะเวลาการติดเชื้อ ลักษณะเด่นภายนอกของกุ้งที่มีการติดเชื้อ คือ ตัวหลวม กุ้งมีสีเข้ม มีลำตัวสีแดง (จรีพร และคณะ, 2546) บางตัวพบลักษณะตัวขาวขุ่น ว่ายน้ำไม่สะดวก เหงือกมีสีแดงหรือน้ำตาล มีจุดสีดำบนเปลือกและรยางค์กร่อน กุ้งที่ติดเชื้ออย่างรุนแรงจะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พบอัตราการตายสูงโดยเฉพาะระยะโพสลาร์วา (postlarva) ในโรงเพาะฟักและกุ้งที่มีขนาดเล็กในบ่อเลี้ยง (juvenile) (Lightner, 1988; Graindorge and Flegel, 1999) กุ้งที่ป่วยจะมีลักษณะตัวเรืองแสงมองเห็นชัดในที่มืด กุ้งที่ติดเชื้อรุนแรงจะพบบริเวณขอบบ่อ (ชลอ, 2534)

ชลอ (2543) รายงานว่า การแสดงอาการของกุ้งที่ป่วยโดยการติดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* คือ กุ้งมักจะอยู่ตามขอบบ่อ หรือลอยตามผิวน้ำ มีตั้งแต่กุ้งตัวสกปรก มีตะกอนตามผิวตัว กุ้งตัวสีส้ม จับดูตัวหลวม ตามลำตัวสกปรก หางมักจะกร่อน บางลักษณะจะพบว่าตามลำตัวมีจุดดำขนาดเล็ก บริเวณแผ่นปิดเหงือกบวม หรือตามเปลือกจะมีจุดขาว เมื่อนำมาเขี่ยเชื้อจากตับและตับอ่อน หรือน้ำเลือด จะมีเชื้อแบคทีเรียจำนวนมาก ตับและตับอ่อนมักจะมีขนาดเล็กลงกว่าปกติ กุ้งที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในลักษณะที่กล่าวมาแล้วนั้นไม่สามารถทำการรักษาโดยใช้ยาปฏิชีวนะได้ เนื่องจากกุ้งลักษณะอาการเหล่านี้มีการป่วยมาเป็นเวลานานจนถึงระยะที่กุ้งไม่กินอาหาร ดังนั้นการรักษาจึงไม่ได้ผล

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรค

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรคคือ ปริมาณของแบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำ การเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร และการเกิดสารพิษ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ทำให้กุ้งเกิดความเครียดและการเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรมต่าง ๆ (Egidius, 1987) มักเกิดจากการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นติดต่อกันเป็นเวลานานทำให้เกิดมลพิษ และปัญหาเรื่องโรค แบคทีเรียชนิด *Vibrio* เป็นแบคทีเรียที่ทำลายเนื้อเยื่อภายใน ปกติจะไม่พบในน้ำเลือดของกุ้ง แต่จะพบเมื่อกุ้งเกิดอาการเครียดและเกิดบาดแผล โดยแบคทีเรียจะเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลแล้วแพร่กระจายไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ทางระบบเลือดและของเหลวในร่างกาย ซึ่งการทำให้เกิดโรคแบคทีเรียเรืองแสงของแบคทีเรียชนิดนี้ ทำให้เกิดสภาวะโลหิตเป็นพิษ เนื่องจากมีการปล่อย endotoxin เป็น lipopolysaccharide ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จะถูกหลั่งออกมาเมื่อเซลล์ตาย ส่วน exotoxin เป็นโปรตีนที่สร้างขึ้นขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ของแบคทีเรีย (Mackett and Williamson, 1995)

การเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของกุ้งที่ติดเชื้อ *V. harveyi*

จากศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือด กุ้งที่ติดเชื้อ *V. harveyi* พบว่ามีปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนต่ำกว่ากุ้งปกติมาก เนื่องจากเชื้อ *V. harveyi* เมื่อเข้าสู่ตัวกุ้ง เม็ดเลือดกุ้ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จะเข้ามาล้อมรอบเพื่อจับและกำจัดออกนอกตัว ส่งผลให้เม็ดเลือดในระบบไหลเวียนลดลงและเมื่อแบคทีเรียเข้าในกระแสเลือด แบคทีเรียจะใช้เลือดซึ่งมีโปรตีนและสารอาหารต่าง ๆ เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ และในกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) ต่ าง ๆ Luo (1996) ได้ทำการศึกษาในกุ้ง *Penaeus chinensis* ที่ถูกฉีดด้วยเชื้อ *V. harveyi* มีปริมาณกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นและปริมาณของโปรตีนในซีรัมลดลงเล็กน้อย

ลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อกุ้งที่ติดเชื้อ *V. harveyi*

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ในช่วงแรกของการติดเชื้อจะเกิดการฝ่อ (atrophy) tubular lumen ของ hepatopancreas (จรีพร และคณะ, 2546) และต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ขึ้น เซลล์ในส่วนของ hepatopancreas และต่อมน้ำเหลืองจะเกิดการตาย ทำให้การย่อยอาหารไม่เป็นปกติอาหารที่สะสมไว้ใน hepatopancreas ลดลง พบการหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผิวในท่อของ hepatopancreas และภายในลำไส้hepatopancreas จะถูกทำลาย พบเม็ดเลือดเข้ามาล้อมจับเซลล์ที่ตายชัดเจน กุ้งที่ติดเชื้อนาน 7 วัน พบเซลล์ hepatopancreas ต่อมน้ำเหลือง เหงือก และอวัยวะสร้างเม็ดเลือดตายเป็นบริเวณกว้างจะมีเม็ดเลือดเข้ามาล้อมจับมากขึ้น กุ้งจะทยอยตาย กุ้งที่ติดเชื้อนาน 14 วัน เซลล์ของ hepatopancreas และต่อมน้ำเหลืองเกือบทั้งหมดตายเกิดเป็นลักษณะ hepatopancreatic tubular necrosis กุ้งไม่กินอาหารจะอ่อนแอและตายในที่สุด สำหรับ systemic vibriosis จะพบการรวมตัวกันของเม็ดเลือดเป็นชุดกระจายอยู่ทั่วไป (generalized hemocytic nodules) ในส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อ (Jiravanichpaisan *et al*., 1994)

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ส่งผลให้กระบวนการต่างๆ ในร่างกายเปลี่ยนแปลง เพราะการอักเสบของเหงือก แอ่งเลือด อาจทำให้การแลกเปลี่ยนออกซิเจน ความสามารถในการจับออกซิเจนของเม็ดเลือดลดลง มีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอในการเลี้ยงเซลล์หรือในกระบวนการหายใจของเซลล์ ส่วนการอักเสบและการตายของเซลล์ต่าง ๆ ที่เห็นได้ชัด คือ เซลล์ hepatopancreas และต่อมน้ำเหลือง จะทำให้ระบบภูมิคุ้มกันโรคของตัวกุ้งลดลง กินอาหารลดลง อ่อนแอ มีการแทรกซ้อนของเชื้ออื่นได้ง่าย

Lee *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาเชื้อ *V. harveyi* พบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถผลิตสารย่อยสลายเม็ดเลือด (hemolysin) ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดลดลง เมื่อกุ้งได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายเซลล์เม็ดเลือดจะเข้ามาล้อมจับเชื้อโรค ส่งผลให้เซลล์เม็ดเลือดในระบบไหลเวียนลดลงและเมื่อนำกุ้งป่วยมา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แยกเชื้อจาก hepatopancreas หรือจากน้ำเลือดจะพบเชื้อแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก กุ้งป่วยจะมีกล้ามเนื้อขุ่น เลือดแข็งตัวช้า (วรณัฏฐ์, 2545) ในกุ้งที่มีการติดเชื้อแบบเรื้อรังอวัยวะส่วน hepatopancreas มีขนาดเล็กลง (ชลอ, 2534)

ชัยชาญ (2545) ได้ทำการศึกษาในกุ้งกุลาดำ โดยการฉีดเชื้อ *V. harveyi* เข้าสู่กล้ามเนื้อกุ้ง พบว่าที่ 3 และ 6 ชั่วโมงหลังจากฉีดเชื้อกุ้งมีปริมาณเม็ดเลือดต่ำกว่ากุ้งที่ไม่ได้ฉีดเชื้อและตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 เป็นต้นไป จำนวนเซลล์เม็ดเลือดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและมีจำนวนไม่แตกต่างจากกุ้งปกติ

Martin *et al*. (1993) ได้ทำการศึกษาในกุ้ง *Sicyonia ingentis* พบว่าปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการฉีดเชื้อ *V. harveyi* 24 ชั่วโมง

การระบาดของโรคเรืองแสง

การระบาดจะพบมากในพื้นที่ที่มีการปล่อยกุ้งอย่างหนาแน่น มีการให้อาหารมากทำให้ภายในบ่อมีปัญหาเรื่องปริมาณอินทรีย์สารมาก พื้นบ่อสกปรก มีสาหร่ายบริเวณพื้นบ่อเคลือบตามแนวหว่านอาหาร ในบ่อที่ปริมาณแพลงก์ตอนมีการตายบ่อย ๆ เนื่องจากพีเอชของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวันสูง เชื้อสามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว กุ้งที่ติดเชื้อจะได้รับความเสียหายมาก (ชลอ, 2534) ในขณะที่ Lavilla-Pitogo *et al.* (1990) รายงานว่า กุ้งจะเกิดโรคนี้ได้ทุกช่วงอายุโดยความเสี่ยงของการเกิดโรคขึ้นอยู่กับความเครียดที่กุ้งได้รับ

การป้องกันโรคเรืองแสง

การระบาดของโรคเรืองแสงนั้นมักเกิดในช่วงที่อากาศร้อนจัด ซึ่งจะทำให้น้ำมีความเค็มสูงกว่าปกติและเชื้อ *Vibrio harveyi* สามารถเจริญเติบโตได้ดี สำหรับการป้องกันการระบาดของโรคเรืองแสง ผู้เลี้ยงกุ้งควรหลีกเลี่ยงการเลี้ยงกุ้งในช่วงเวลาที่น้ำมีความเค็มสูงมาก ส่วนการเลี้ยงกุ้งในน้ำที่มีความเค็มต่ำหรือในบางพื้นที่ที่สามารถนำน้ำจืดมาเติมในบ่อให้ความเค็มน้ำในบ่อลดลงจะช่วยลดความรุนแรงของโรคนี้ได้ ปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่มีความสำคัญ คือควรให้อาหารในปริมาณที่พอเหมาะไม่ให้มีอาหารเหลือ เพื่อเป็นการลดปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำลง การเปลี่ยนถ่ายน้ำจะช่วยลดปริมาณอาหารที่เหลือรวมทั้งปริมาณสารอินทรีย์ที่สะสมในบ่อได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้ยาในการป้องกันและรักษาโรคในระยะที่กุ้งเริ่มแสดงอาการผิดปกติ แต่ยังไม่ป่วยมากจำเป็นจะต้องทำควบคู่กับการปรับปรุงคุณภาพน้ำและพื้นบ่อด้วยจึงจะได้ผล การใช้ยาในการป้องกันและรักษาจะได้ผลน้อยมากถ้าไม่สามารถควบคุมคุณภาพน้ำและพื้นบ่อให้สะอาดได้ ยาต้านจุลชีพที่ใช้จะต้องเป็นยาที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอนุญาตให้ใช้เท่านั้น และต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของกรมประมงโดยเคร่งครัดเพื่อป้องกันปัญหายาตกค้าง (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

การควบคุมปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยการใช้สารเคมี นนทวิทย์ (2553) ศึกษาการใช้ povidone iodine (PI) ซึ่งเป็นสารประกอบระหว่าง polyvinylpyrolidone กับ iodine พบว่าในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่มีปริมาณ *V. harveyi* ที่ความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร สามารถถูกทำลายให้หมดไปโดยใช้ povidone iodine 1 พีพีเอ็ม ภายใน 30 นาที และเชื้อ *V. harveyi* ปริมาณความเข้มข้น 4.5×10^6 CFU/มิลลิลิตร สามารถถูกทำลายให้หมดไปได้ โดยใช้ความเข้มข้นของ povidone iodine เท่ากับ 2 พีพีเอ็ม ซึ่ง povidone iodine จะมีการทำงานไม่จำเพาะเจาะจงกับแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นผลทำให้ไม่ประสบปัญหาการดื้อยาของแบคทีเรีย สามารถผสมน้ำทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อเตรียมน้ำก่อนจะนำไปเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งสุกิจและคณะ (2531) ศึกษาเกี่ยวกับการป้องกันและรักษาโรคเรืองแสงในกุ้งระยะโพสลาร์วาหรือกุ้งพี โดยใช้กุ้งพี 2 ถึงพี 7 ซึ่งใช้ยาออกซีเตตร้าซัยคลิน 2.68 – 5 พีพีเอ็ม ควบคู่กับฟอร์มาลีน 10 – 15 พีพีเอ็ม แช่ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 วัน จะสามารถหยุดการเรืองแสงได้ และ ธนาทิพย์ (2537) ศึกษาประสิทธิภาพของยาออกโซลินิกแอซิด ในการรักษาโรคแบคทีเรียเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ เมื่อมีการฉีดเชื้อ *V. alginolyticus* ให้แก่กุ้งจำนวนกลุ่มละ 25 ตัว พบว่ากุ้งในชุดที่ให้กินอาหารปกติและมีการฉีดเชื้อแบคทีเรีย *V. alginolyticus* เข้าไปมีอัตราการรอดตายเฉลี่ย 34.67 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ให้กินอาหารผสมยาออกโซลินิก แอซิด และมีการฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าไปมีอัตราการรอดตายเฉลี่ย 73.33 เปอร์เซ็นต์

การใช้วิธีการทางชีวภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อ *Vibrio* จากการรายงานของสุพล (2542) ทำการศึกษาการใช้ *Chlorella* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Vibrio* sp. ซึ่งมีลักษณะโคโลนีสีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS เพื่อควบคุมปริมาณ *V. harveyi* ในระบบอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ พบว่าการใช้ *V. alginolyticus* จำนวน 10^3 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งเป็น *Vibrio* โคโลนีสีเหลืองร่วมกับการใช้น้ำตาลซูโครส 5 พีพีเอ็ม มีแนวโน้มในการป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. harveyi* ซึ่งเป็นสาเหตุในการเกิดโรคเรืองแสงในลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากรายงานของ Kogure *et al*. (1980) พบว่าไดอะตอม (*Skeletonema costatum*) สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของ *Vibrio* และ *Pseudomonas* sp. ได้ และ Lavilla-Pitogo *et al.* (1992) ทำการศึกษาแหล่งของ *V. harveyi* ในโรงเพาะฟักของกุ้งกุลาดำพบว่า *V. harveyi* มาจากเศษขับถ่าย (fecal matter) และจากน้ำในถังที่มีการเพาะเลี้ยงอาร์ทีเมีย และจากการทดลองทำ plate count ของเชื้อแบคทีเรียกับไดอะตอม (*C. calcitrans*, *S. costratum*) จะไม่พบ *V. harveyi*

การป้องกันการเกิดโรคที่ดีที่สุด คือ การควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อกุ้งและการดูแลรักษาพื้นบ่อให้สะอาด โดยมีเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอและการวางตำแหน่งที่สามารถรวมตะกอนบริเวณกลางบ่อได้ มีการจัดการโปรแกรมการให้อาหารที่เหมาะสม จะทำให้กุ้งมีสุขภาพแข็งแรง โอกาสที่กุ้งติดเชื้อก็จะมีน้อย (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

6. Activate DA

Activate DA ถูกพัฒนาขึ้นโดยบริษัท Novus ประเทศสหรัฐอเมริกา (Novus International, INC.) ซึ่งได้ผลิตกรดอินทรีย์เพื่อช่วยเพิ่มสารอาหาร มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid (HMTBa) ทำหน้าที่ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร โดยทำให้พีเอชในกระเพาะอาหารของกุ้งมีค่าลดลงเนื่องจากมีฤทธิ์เป็นกรด สามารถยับยั้งแบคทีเรีย เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายได้

Activate DA มีลักษณะเป็นเม็ดขนาดเล็ก มีสีขาวปนน้ำตาล มีกลิ่นของ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid (HMTBa) ปริมาณรวมของกรดทั้งหมดมี 85 เปอร์เซ็นต์ Activate DA เมื่อผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปจะทำให้อาหารมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในการต่อต้านแบคทีเรียแกรมลบ การผสม Activate DA กับอาหารอย่างสม่ำเสมอทำให้สามารถยับยั้งสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในลำไส้ได้ และนอกจากนี้โปรตีนที่ช่วยในการย่อย เช่นเอนไซม์ต่าง ๆ ยังถูกกระตุ้นโดยการลดลงของพีเอชในลำไส้และกระเพาะอาหาร ซึ่งทำให้พีเอชในกระเพาะอาหารหรือลำไส้มีค่าเป็นกรด

Vázquez *et al.* (2005) รายงานว่ากรดแลคติกสามารถยับยั้งประสิทธิภาพของ *Vibrio alginolyticus, Vibrio pelagicus* และ *Vibrio anguillarum* แสดงว่ากรดอินทรีย์มีประโยชน์มากในการควบคุมโรคแบคทีเรียเรืองแสงในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นอกจากนี้ทางด้านสัตว์ปีกมีรายงานว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรดอินทรีย์สามารถยับยั้งหรือลดจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย Salmonella ในไก่ได้ (Waldroup *et al*., 1995; Van der Wielen *et al*., 2000, Van Immerseel *et al*., 2005)

หน้าที่การทำงานในลำไส้

กรดอินทรีย์ในลำไส้ทำหน้าที่แตกต่างกันสองอย่าง คือทำหน้าที่ในการลดพีเอชในกระเพาะอาหารโดยเฉพาะในลำไส้เล็ก และยังทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบ โดยการสลายตัวของกรด และผลิตผลของกลุ่มอะตอมที่มีประจุลบในเซลล์แบคทีเรียระหว่างช่วงเวลาการให้อาหารในปริมาณสูง เช่น เมื่อสัตว์ยังเล็กอยู่ หรือเมื่ออาหารที่ให้มีโปรตีนสูง ระดับของกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric) ในกระเพาะอาหารจะลดลง ซึ่งมีผลกระทบต่อการกระตุ้นน้ำย่อยของโปรตีนและการย่อยอาหาร ทำให้ระบบการย่อยเสียหาย การทำให้เป็นกรดในอาหาร จะเป็นการช่วยเหลือปัญหาในเรื่องการย่อยได้ (Eidelsburger, 1997) ผลดีที่เกิดขึ้นของกรดอินทรีย์ได้ถูกนำมาสาธิต (Mroz *et al*., 2000) นอกจากนั้นการได้รับอาหารเสริมที่เป็นกรดอินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดการลดลงของพีเอชในส่วนของลำไส้ที่ถัดจากกระเพาะอาหารและคงสภาพของไนโตรเจนและเพิ่มธาตุอาหารในระบบย่อยอาหารด้วย (Øverland *et al*., 2000; Kluge *et al*., 2006)

หน้าที่ในการเผาผลาญ

จำนวนของพลังงานของกรดอินทรีย์เกือบทั้งหมดเป็นสิ่งสำคัญ โดยทั่วไปกรดอินทรีย์จะดูดซึมผ่านลำไส้ใหญ่โดยการแพร่ กรดสายสั้น ๆ สามารถถูกใช้เป็นทางผ่านสำหรับกระบวนการทั่ว ๆ ไปรวมถึงการก่อให้เกิดพลังงาน เช่น กระบวนการผลิต ATP ในวัฏจักรของ citric พลังงานจำนวนมากในกรดอินทรีย์ถูกนำมาใช้เกือบทั้งหมดในการเผาผลาญ จึงเป็นสิ่งสำคัญในการคำนวนพลังงานนี้ในการจัดการอาหาร ตัวอย่างเช่น popionic acid จะมีพลังงานมากกว่าพลังงานที่มีในข้าวสาลี 1-5 เท่า (Diebold and Eidelsburger, 2006)

การทดสอบกรดอินทรีย์ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

กรดสามารถช่วยเก็บรักษาปลาและอวัยวะในช่องท้องของปลา ในปัจจุบันมีการใช้กรดอินทรีย์กันอย่างแพร่หลาย และยังมีการนำกรดอินทรีย์มาใช้ในการผสมกับอาหารเพื่อเลี้ยงปลาด้วย (Åsgård and Austreng, 1981; Gildbert and Raa, 1997) การวิจัยได้ถูกนำมาใช้กับปลาหลายชนิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รวมทั้งปลาที่กินสัตว์เป็นอาหาร rainbow trout, trout (*Oncorhynchus mykiss*), Atlantic salmon (*Salmo salar*) และ arctic charr (*Salvelinus alpinus*) ปลากินพืชเป็นอาหาร และปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ เช่นปลาดุก กุ้ง เป็นต้น

Wet (2005) ได้ทำการศึกษาลูกปลาเรนโบว์ เทราต์ขนาดเล็กที่เลี้ยงโดยการให้อาหารทดลอง 5 ชนิด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อาหารสามชนิดประกอบด้วย การผสมกรดอินทรีย์ 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และอีกหนึ่งชนิดคืออาหารที่มีส่วนผสมของ APG (antibiotic growth promoter) พบว่าอาหารที่ผสมกรดอินทรีย์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนลูกปลาที่ให้ด้วยอาหาร AGP พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกันกับลูกปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมด้วยกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดฟอร์มิก และกรดโพรพิโอนิก ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในฟาร์มเลี้ยงปลาเรนโบว์ เทราต์ประเทศตุรกี

Ramli *et al*. (2005) ได้ทดสอบ potassium diformate ซึ่งเป็นเกลือ potassium ที่ได้จาก formic acid ว่าเป็นตัวช่วยเสริมการเจริญเติบโตในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในประเทศอินโดนีเซีย การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการให้อาหารปลาเป็นจำนวน 85 วัน โดยให้อาหารวันละ 6 ครั้ง โดยอาหารที่ให้ประกอบด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของ potassium diformate แตกต่างกันคือที่ระดับความเข้มข้น 0, 2, 3 และ 5 กิโลกรัม ต่ออาหาร 1000 กิโลกรัม ทำการใส่เชื้อแบคทีเรีย *V. anguillarum* ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 CFU/มิลลิลิตร โดยเริ่มจากวันที่ 10 ของการเลี้ยง เป็นเวลา 20 วัน ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงจากวันที่ 1 ถึงวันที่ 85 พบว่าปลานิลที่ได้รับ potassium diformate มีอัตราการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น และอัตราการรอดที่ดีหลังจากใส่เชื้อ *V. anguillarum* เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง

Owen *et al*. (2006) ได้ทดสอบเกลือโซเดียมของ butyric acid ที่ใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงปลาดุก *Clarias gariepinus* โดยการผสมกับอาหารในอัตราส่วน 2 กิโลกรัมต่ออาหาร 1000 กิโลกรัม โปรตีนหลักในอาหารคืออาหารปลา และโปรตีนรองคือถั่วเหลืองสกัด ไขมัน พบว่าปลาดุกที่เลี้ยงด้วยอาหารปลาที่ผสมกับ sodium butyric มีอัตราการเจริญเติบโตสูง และมีการลดลงของอัตราแลกเนื้อเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียแกรมบวกในกระเพาะอาหารของ *C. gariepinus* ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Tung *et al*. (2006) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ sodium citrate ผสมกับอาหารในการเลี้ยงกุ้ง Kuruma (*Masurpenaeus japonicus*) ในอัตราส่วนของ sodium citrate ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูป จำนวน 5 กิโลกรัมต่ออาหาร 1000 กิโลกรัม พบว่ากุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Christiansen and Lückstädt (2008) ได้ศึกษาเกี่ยวกับ potassium diformate ในการเลี้ยงปลาแซลมอน (Atlantic salmon) โดยนำ potassium diformate ผสมกับอาหารสำเร็จรูปในอัตราส่วน 4 กรัม และ 14 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าปลาในกลุ่มที่ให้อาหารผสมกับ potassium diformate มีอัตราแลกเนื้อลดลง และน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองเช่นเดียวกันกับการทดลองของ Lückstädt (2008) พบว่าปลาแซลมอน (Atlantic salmon) ในกลุ่มทดลองที่ผสม potassium diformate กับอาหารปลามีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Ng *et al*. (2009) ทำการศึกษา potassium diformate ในปลาทับทิม (*Oreochromis* sp.) พบว่าอาหาร 1 กิโลกรัม ผสมกับ potassium diformate ปริมาณ 2 กรัม สามารถลดค่าพีเอชในกระเพาะอาหารและในลำไส้ รวมทั้งปริมาณแบคทีเรียในสิ่งขับถ่ายจากปลานิลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม

อกนิษฐ์ (2553) ศึกษาเกี่ยวกับ MERA ™ Cid ซึ่งมีส่วนประกอบของ formic acid และ popiotic acid ผสมกับอาหารในกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) โดยผสมในอัตราส่วน 10 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมกับ MERA ™ Cid มีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาการให้อาหารที่ผสมกับ MERA ™ Cid ในอัตราส่วน 5 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วันโดยทำการใส่เชื้อ *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน คือ 10^3 CFU/มิลลิลิตร และ 10^5 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วย MERA ™ Cid มีปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และมีการลดลงของแบคทีเรียในลำไส้อย่างต่อเนื่องอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 10, 20 และ 30 ของการเลี้ยงโดยให้อาหารที่ผสมกับ MERA ™ Cid ของทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Jintasataporn *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษา potassium diformate (KDF) ผสมกับอาหารในกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 70 วัน โดยให้อาหารวันละ 3 ครั้ง โดยอาหารที่ให้ประกอบด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของ potassium diformate แตกต่างกันคือ 0, 0.25 และ 0.5 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสม potassium diformate มีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และอัตราแลกเนื้อที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Lückstädt and Kühlmann (2011) ได้ทดสอบ potassium diformate ใช้ผสมอาหารในการเลี้ยงปลาดุก *Pangasius hypophthalmus* โดยการผสมกับอาหารในระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ให้อาหาร 3 มื้อ ต่อวัน พบว่าปลาดุกที่เลี้ยงด้วยอาหารปลาที่ผสมกับ potassium diformate มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี มีอัตราการตายลดลง และมีการอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโตและการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วาในห้องปฏิบัติการ

การศึกษานี้ใช้ผลิตภัณฑ์ Activate DA จากบริษัท Novus ประเทศสหรัฐอเมริกา Activate DA เป็นผงละเอียดขนาดเล็ก มีส่วนประกอบหลัก คือ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid (HMTBa)

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) ทดลองโดยใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร โดยมี 7 ชุดการทดลอง (treatment) แต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำ (replication) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 คือ กลุ่มควบคุม (control) เป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปปกติ

ชุดการทดลองที่ 2 คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 8 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 6 คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 12 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 7 คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 16 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

การเตรียมน้ำ

ก่อนทำการทดลองจะเติมคลอรีนผงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร แช่ทิ้งไว้นาน 1 วัน เพื่อทำการฆ่าเชื้อ หลังจากล้างทำความสะอาด และตากถังให้แห้งประมาณ 2 วัน ส่วนน้ำที่นำมาใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งจะใช้น้ำทะเลความเค็ม 25 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนในระดับความเข้มข้นประมาณ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เปิดเครื่องให้อากาศตลอดเวลาเพื่อกำจัดคลอรีนที่หลงเหลืออยู่ออกจนหมด โดยใช้โพแทสเซียมไอโอไดด์ตรวจสอบน้ำว่าไม่มีคลอรีนหลงเหลืออยู่ และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตในปริมาณที่เหมาะสมก่อนที่จะนำไปใช้

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วา 9 จำนวน 5,000 ตัวจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดฉะเชิงเทรา มาปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลองเป็นระยะเวลา 3 วันในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยนำมาเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร จำนวน 3 ถัง ในน้ำความเค็ม 25 พีพีที เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาวแวนไม เมื่อครบ 3 วันลูกกุ้งเข้าสู่ระยะโพสลาร์วา 12 จึงนำมาเลี้ยงในถังทดลองขนาดความจุ 500 ลิตร บรรจุน้ำความเค็ม 25 พีพีที มีการให้อากาศตลอดเวลาและควบคุมอุณหภูมิโดยใช้ heater ให้อุณหภูมิอยู่ที่ 29±1 องศาเซลเซียส จำนวน 35 ถัง โดยใส่กุ้งจำนวนถังละ 50 ตัว (100 ตัวต่อตารางเมตร)

อาหารและการให้อาหาร

ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยให้อาหาร 4 ครั้งต่อวัน ในเวลา 08.00 น. 11.00 น. 14.00 น. และ 17.00 น. ซึ่งขนาดของเม็ดอาหารจะให้ตามเบอร์ของอาหารที่สัมพันธ์กับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อายุและขนาดของกุ้งตามวิธีการของ ชลอ และพรเลิศ (2547) โดยสิบวันแรกจะให้อาร์ทีเมียระยะนอเพลียสเป็นอาหารลูกกุ้ง อีกสิบหกวันต่อมาให้อาหารเบอร์ 1 ถัดจากนั้นอีกสิบหกวันต่อมาให้เป็นอาหารเบอร์ 2 และอีกสิบเจ็ดวันต่อมาให้อาหารเบอร์ 3 ตามลำดับ ซึ่งจะแบ่งการให้อาหารตามชุดทดลองต่าง ๆ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (control) ให้เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปปกติ (0 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 2 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 1 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (0.1 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 3 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 2 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (0.2 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 4 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 4 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (0.4 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 5 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 8 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (0.8 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 6 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ1.2 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (1.2 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 7 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 36 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ1.6 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (1.6 เปอร์เซ็นต์ Activate DA)

การเตรียมอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม Activate DA ตามระดับของความเข้มข้นที่กำหนดโดยละลาย Activate DA ในน้ำกลั่น แล้วนำไปคลุกกับอาหาร โดยทำการเคลือบ Activate DA กับอาหารด้วยสารเหนียว (guar gum) ในชุดการทดลองและชุดควบคุม มีการปรับอาหารตามน้ำหนักกุ้งตามวิธีของชลอ และพรเลิศ (2547) ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน อาหารที่ใช้ในการทดลองจะมีการเตรียมใหม่ทุกวัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

สุ่มชั่งน้ำหนักกุ้งของทุกกลุ่มการทดลองเพื่อบันทึกการเจริญเติบโตทุกวันที่ 20, 40 และ 60 วันของการทดลอง โดยสุ่มชั่งน้ำหนักกุ้งจำนวน10 ตัวต่อถัง ส่วนการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันจะคำนวณดังสมการต่อไปนี้

$$\text{การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน} = \frac{\text{(น้ำหนักสุดท้าย)-(น้ำหนักเริ่มต้น)}}{\text{จำนวนวัน}}$$

อัตราการรอดตายบันทึกผลทุกวันที่ 30 และ 60 ของการทดลองและคำนวณอัตราการรอดตายกลับจากปริมาณกุ้งที่จับได้เปรียบเทียบกับจำนวนลูกกุ้งที่ปล่อยลงบ่อเลี้ยงดังสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่จับได้}}{\text{จำนวนกุ้งที่ปล่อยเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{ส่วน อัตราแลกเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กินเข้าไป}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

การศึกษาคุณสมบัติของน้ำ

ระหว่างทำการทดลองจะเก็บน้ำจากถังทดลองมาทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทุกสัปดาห์ และมีการระบายตะกอนของเสียออกอย่างสม่ำเสมอ พร้อมทั้งเติมน้ำที่ผ่านการพักและปรับความเค็มใกล้เคียงกับในถังทดลองเข้าไปทดแทน โดยมีการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุกสัปดาห์ดังนี้

- อุณหภูมิ (temperature) วัดโดยใช้เครื่อง YSI DO 200-4M

- ความเค็ม (salinity) วัดโดยใช้เครื่อง YSI 30/10 FT

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- ความเป็นกรดด่าง (pH) วัดโดยใช้เครื่องวัดพีเอชรุ่น Ecoscan pH 5

- ความเป็นด่าง (total alkalinity) วัดโดยใช้วิธี titration (APHA *et al*., 1995)

- ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia-nitrogen) วัดโดยใช้วิธี phenol-hypochlorite method (APHA *et al*.,1995)

- ปริมาณไนไตรท์ (nitrite-nitrogen) วัดโดยใช้วิธี colorimetric method (APHA *et al*., 1995)

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้

หลังจากการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน จะทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ จำนวนชุดการทดลองละ 100 ตัว เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 7 ชุดการทดลอง โดยนำลำไส้กุ้งขาวแวนนาไมในแต่ละชุดการทดลองมาชั่งน้ำหนัก และนำลำไส้บดใน homogenizer ซึ่งใส่น้ำเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว แบ่งสารละลายที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปนับปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose agar (TCBS) โดยหยดสารละลายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ที่เติมเกลือ 1.5 ปอร์เซ็นต์ จำนวน 100 ไมโครลิตร แล้วทำการ spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการตรวจนับปริมาณเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ส่วนสารละลายส่วนที่สองนำไปนับจำนวนแบคทีเรียรวมในลำไส้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โดยหยดสารละลายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่เติมเกลือ 1.5 ปอร์เซ็นต์ จำนวน 100 ไมโครลิตร แล้วทำการ spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการตรวจนับปริมาณเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการแลกเนื้อ และการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (อนันต์ชัย, 2542)

2. การศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) ทดลองโดยใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร ทั้งหมด 56 ถัง โดยแบ่งออกเป็น 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 2 ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* (10^3 และ 10^4 CFU/มิลลิลิตร) โดยให้ความเข้มข้นละ 4 ถัง ต่อหนึ่งชุดการทดลอง แบ่งเป็นชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (control) ให้เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปปกติซึ่งประกอบด้วยโปรตีน 36 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 2 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูในปริมาณ1 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 2 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 4 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 8 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 6 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ12 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 7 ผสม Activate DA ต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ16 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

เริ่มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนัก 3-4 กรัม ด้วยอาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) และอาหารที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์, 1.2 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น 7 วัน เติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ลงไปในถังเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร และ 10^4 CFU/มิลลิลิตร และในวันที่ 10, 20 และ 30 ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งเพื่อการศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และปริมาณแบคทีเรียในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไม

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำกุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 3-4 กรัม จำนวน 5,000 ตัวจากจุรีย์ฟาร์ม จังหวัดจันทบุรี เพื่อปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลองเป็นเป็นระยะเวลา 7 วันในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 3 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 2 ถัง ความเค็มของน้ำ 25 พีพีที เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาวแวนไม โดยให้อาหาร 4 ครั้งต่อวัน เวลา 08.00 น. 11.00 น. 14.00 น. และ 17.00 น. ทำการติดตั้งเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอ เมื่อครบ 7 วัน คัดเลือกกุ้งขาวแวนนาไมที่มีสุขภาพแข็งแรงและขนาดไล่เลี่ยกันมาเลี้ยงในถังทดลองขนาดความจุ 500 ลิตร ความเค็ม 25 พีพีที จำนวน 56 ถัง โดยจะใส่กุ้งถังละ 30 ตัว

อาหารและการให้อาหาร

การศึกษาครั้งนี้ใช้ผลิตภัณฑ์ Activate DA ผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปโปรตีน 36 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกุ้งขาวแวนนาไมในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันตามชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (control) ให้เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปปกติ

ชุดการทดลองที่ 2 ผสม Activate DA อาหารสำเร็จรูปปกติในปริมาณ1 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 3 ผสม Activate DA อาหารสำเร็จรูปปกติในปริมาณ 2 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 ผสม Activate DA อาหารสำเร็จรูปปกติในปริมาณ 4 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 ผสม Activate DA อาหารสำเร็จรูปปกติในปริมาณ 8 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 6 ผสม Activate DA อาหารสำเร็จรูปปกติในปริมาณ1.2 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 7 ผสม Activate DA อาหารสำเร็จรูปปกติในปริมาณ1.6 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ให้อาหาร 3 เวลาต่อวัน คือเวลา 08.00 น. 12.00 น. และ 16.00 น. โดยเตรียมอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม Activate DA ตามระดับของความเข้มข้นที่กำหนดโดยละลาย Activate DA ในน้ำกลั่น แล้วนำไปคลุกกับอาหาร โดยทำการเคลือบ Activate DA กับอาหารด้วยสารเหนียว (guar gum) ในชุดการทดลองและชุดควบคุม ให้อาหารในอัตราส่วน 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวของกุ้งต่อวัน มีการปรับอาหารตามน้ำหนักกุ้งตามวิธีของชลอ และพรเลิศ (2547) ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน อาหารที่ใช้ในการทดลองจะมีการเตรียมใหม่ทุกวัน

การศึกษาการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

สุ่มชั่งน้ำหนักกุ้งและบันทึกอัตราการรอดตายของกุ้งในแต่ละชุดการทดลอง ในวันที่ 10, 20 และ 30 ของการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ

ระหว่างทำการทดลองจะเก็บน้ำจากถังทดลองมาทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทุกสัปดาห์ และมีการระบายตะกอนของเสียออกอย่างสม่ำเสมอ พร้อมทั้งเติมน้ำที่ผ่านการพักและปรับความเค็มใกล้เคียงกับในถังทดลองเข้าไปทดแทน โดยมีการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุกสัปดาห์ดังนี้

- อุณหภูมิ (temperature) วัดโดยใช้เครื่อง YSI DO 200-4M

- ความเค็ม (salinity) วัดโดยใช้เครื่อง YSI 30/10 FT

- ความเป็นกรดด่าง (pH) วัดโดยใช้เครื่องวัดพีเอชรุ่น Ecoscan pH 5

- ความเป็นด่าง (total alkalinity) วัดโดยใช้วิธี titration (APHA *et al*., 1995)

- ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia-nitrogen) วัดโดยใช้วิธี phenol-hypochlorite method (APHA *et al*., 1995)

- ปริมาณไนไตรท์ (nitrite-nitrogen) วัดโดยใช้วิธี Colorimetric Method (APHA *et al*., 1995)

การศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* บริสุทธิ์ มาต่อเชื้อประมาณ 3 วัน แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) และนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเชื้อ Wiseshake รุ่น SHO-2D ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อ *V. harveyi* ผสมด้วยน้ำเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์และนำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณปริมาตรของเชื้อที่ต้องการใส่ลงในถัง ใส่เชื้อแบคทีเรียลงในแต่ละถังในวันที่ 7 และสุ่มกุ้งจากแต่ละถังมาจำนวน 10 ตัว เพื่อทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรีย ในวันที่ 10, 20 และ 30 โดยดูดเลือด 0.5 มิลลิลิตร จากขาว่ายน้ำคู่ที่ 3 หรือแอ่งเลือดทางด้านล่างของลำตัว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(Ventral) ด้วยเข็มฉีดยาที่บรรจุสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด โดยอัตราส่วนเลือดต่อสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant; K-199 + 5% L-cysteine) เท่ากับ 1:1 หลังจากนั้น นำตัวอย่างเลือดมาหยอดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร และใช้วิธีการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar และ NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับจำนวนแบคทีเรีย *V. harveyi* และจำนวนแบคทีเรียรวม สังเกตลักษณะสี จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จดบันทึกผลการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

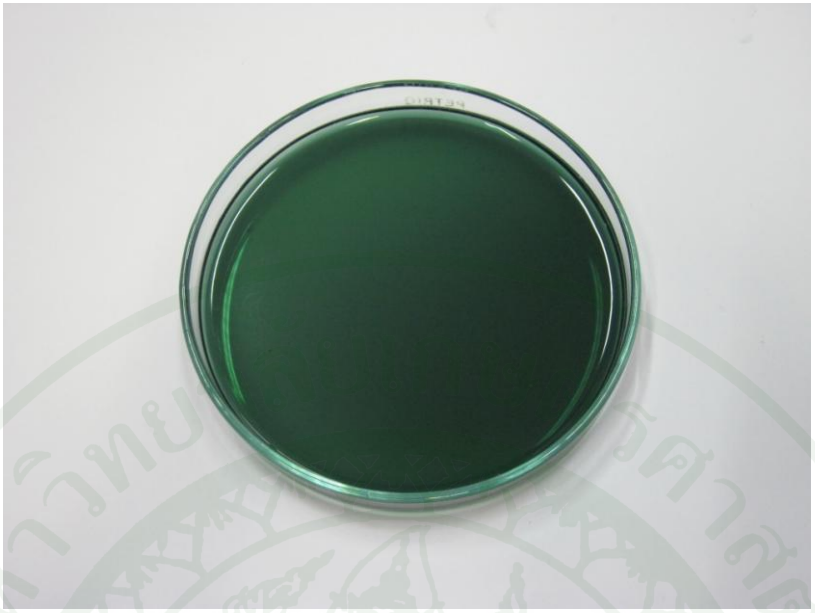
อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. จะใช้วิธีวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (อนันต์ชัย, 2542)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 1 ถังไฟเบอร์กลาสทดลองในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 2 ลักษณะของกรดอินทรีย์ Activate DA

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar

ภาพที่ 4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

1. สถานที่ทำวิจัย

อาคารปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ระยะเวลาทำการวิจัย

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2553 - เมษายน พ.ศ. 2554

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการศึกษานี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อประยุกต์ใช้กรดอินทรีย์ ที่มีส่วนผสมของ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid (HMTBa) ในการผสมกับอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต และป้องกันการเกิดโรคจากแบคทีเรียสกุล *Vibrio* แทนการใช้ยาปฏิชีวนะ

แหล่งทุนสนับสนุน

ได้รับเงินสนับสนุนจากบริษัท Novus International, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต และการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วาในห้องปฏิบัติการ

หลังจากทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วา 12 เป็นเวลา 60 วัน ด้วยอาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาวแวนนาไมปกติ ผสมกับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมตลอดระยะเวลาการเลี้ยง แสดงไว้ในตารางที่ 1 และ ภาพที่ 5

ตารางที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลา 20, 40 และ 60 วัน

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)		
	20 วัน	40 วัน	60 วัน
control	0.32 ± 0.03^{a}	2.14 ± 0.08^{abc}	5.14 ± 0.76^{de}
0.1% Activate DA	0.29 ± 0.02^{a}	1.81 ± 0.11^{c}	4.61 ± 0.47^{e}
0.2% Activate DA	0.29 ± 0.03^{a}	1.89 ± 0.11^{bc}	5.10 ± 0.13^{de}
0.4% Activate DA	0.29 ± 0.02^{a}	2.13 ± 0.15^{abc}	5.42 ± 0.24^{cd}
0.8% Activate DA	0.30 ± 0.03^{a}	2.17 ± 0.10^{ab}	5.92 ± 1.04^{bc}
1.2% Activate DA	0.36 ± 0.04^{a}	2.47 ± 0.12^{a}	6.87 ± 0.27^{a}
1.6% Activate DA	0.34 ± 0.03^{a}	2.39 ± 0.08^{a}	6.47 ± 0.24^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

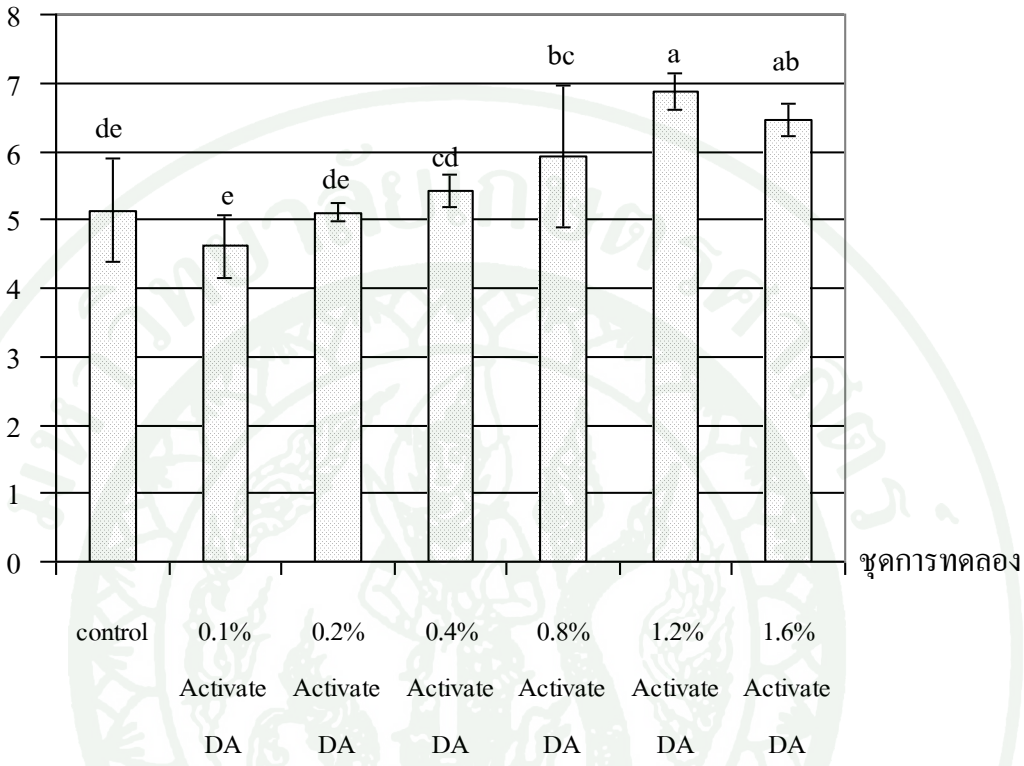
หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 20 วัน น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 7 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) หลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 40 วัน ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 2.47 ± 0.12 กรัม ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 2.14 $\pm$ 0.08 กรัม, 2.13 $\pm$ 0.15 กรัม, 2.17 $\pm$ 0.10 กรัม และ 2.39 $\pm$ 0.08 กรัม ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.81 $\pm$ 0.11 กรัม และ 1.89 $\pm$ 0.11 กรัม ตามลำดับ และหลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 6.87 $\pm$ 0.27 กรัม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 5.14 $\pm$ 0.76 กรัม, 4.61 $\pm$ 0.47 กรัม, 5.10 $\pm$ 0.13 กรัม, 5.42 $\pm$ 0.24 กรัม และ 5.92 $\pm$ 1.04 กรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 6.47 $\pm$ 0.24 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 5) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาในปลานิลและปลาทับทิมที่พบว่ากรดอินทรีย์และเกลือของกรดอินทรีย์ที่ผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปสามารถเพิ่มน้ำหนักเฉลี่ยได้ (Ramli *et al*. 2005, Petkam *et al*. 2008, Zhou *et al.* 2008) กรดอินทรีย์สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตในกุ้งซึ่งเกี่ยวข้องกับลักษณะสรีระภายในทางเดินอาหารของกุ้งและลักษณะทางกายวิภาคของกุ้ง โดยที่กรดอินทรีย์จะสามารถเข้าไปเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในการดูดซึมอาหารได้ดีขึ้น ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง (Roth and Kiechgessner 1998; De Freitas *et al* 2006; Yangomut 2009) เช่นเดียวกับกับรายงานของ Tung *et al*. (2006) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ sodium citrate โดยการผสม sodium citrate กับอาหารสำเร็จรูปในอัตราส่วน 5 กิโลกรัมต่ออาหาร 1000 กิโลกรัม ในการเจริญเติบโตของกุ้ง Kuruma (*Masurpenaeus japonicus*) พบว่ากุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ Jintasataporn *et al.* (2011) พบกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม potassium diformate ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)



ภาพที่ 5 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 20 วัน การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 7 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 40 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงสุด เท่ากับ 0.0618 ± 0.0067 กรัม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.0453 ± 0.0061 กรัม และ 0.0473 ± 0.0061 กรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 0.0534 ± 0.0043 กรัม, 0.0532 ± 0.0083 กรัม, 0.0543 ± 0.0051 กรัม และ 0.0597 ± 0.0044 กรัม ตามลำดับ และหลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พบว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ให้อาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ เติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงสุด เท่ากับ 0.1144 $\pm$ 0.0044 กรัม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน เท่ากับ 0.0856 $\pm$ 0.0127 กรัม, 0.0769 $\pm$ 0.0079 กรัม, 0.0849 $\pm$ 0.0021 กรัม, 0.0903 $\pm$ 0.0040 กรัม และ 0.0986 $\pm$ 0.0173 กรัม ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน เท่ากับ 0.1079 $\pm$ 0.0039 กรัม (ตารางที่ 2 และภาพที่ 6)

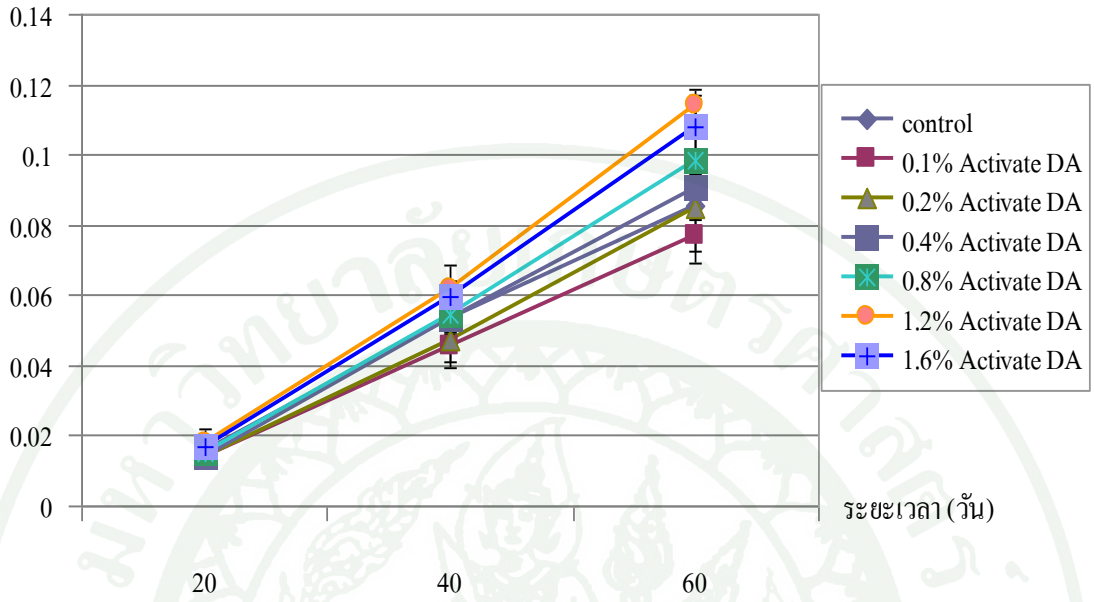
ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลา 20, 40 และ 60 วัน

ชุดการทดลอง	การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)		
	20 วัน	40 วัน	60 วัน
Control	0.0159 ± 0.0031^{a}	0.0534 ± 0.0043^{abc}	0.0856 ± 0.0127^{de}
0.1% Activate DA	0.0143 ± 0.0017^{a}	0.0453 ± 0.0061^{c}	0.0769 ± 0.0079^{e}
0.2% Activate DA	0.0143 ± 0.0031^{a}	0.0473 ± 0.0061^{bc}	0.0849 ± 0.0021^{de}
0.4% Activate DA	0.0143 ± 0.0022^{a}	0.0532 ± 0.0083^{abc}	0.0903 ± 0.0040^{cd}
0.8% Activate DA	0.0149 ± 0.0032^{a}	0.0543 ± 0.0051^{ab}	0.0986 ± 0.0173^{bc}
1.2% Activate DA	0.0178 ± 0.0041^{a}	0.0618 ± 0.0067^{a}	0.1144 ± 0.0044^{a}
1.6% Activate DA	0.0167 ± 0.0037^{a}	0.0597 ± 0.0044^{a}	0.1079 ± 0.0039^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม)



ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลา 20, 40 และ 60 วัน

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 98.00 $\pm$ 1.26 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 94.00 $\pm$ 1.67 เปอร์เซ็นต์, 94.00 $\pm$ 1.85 เปอร์เซ็นต์ 99.00 $\pm$ 0.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 85.20 $\pm$ 1.50 เปอร์เซ็นต์, 84.00 $\pm$ 2.45 เปอร์เซ็นต์ และ 90.00 $\pm$ 1.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่ากุ้งชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ย เท่ากับ 95.60 $\pm$ 3.58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 67.20 $\pm$ 6.73 เปอร์เซ็นต์, 78.80 $\pm$ 5.02 เปอร์เซ็นต์, 80.40 $\pm$ 1.67 เปอร์เซ็นต์, 87.20 $\pm$ 4.60 เปอร์เซ็นต์ และ 88.40 $\pm$ 2.61 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายเฉลี่ย เท่ากับ 92.00 $\pm$ 2.83 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lückstädt (2007) พบว่ากุ้งน้ำกร่อยที่ให้อาหารผสมด้วย clasium formate ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 กิโลกรัมต่ออาหาร 1000 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตายที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลอง และรายงานของอกนิษฐ์ (2553) พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ให้อาหารผสมด้วย MERA ™ Cid ซึ่งมีส่วนประกอบของ formic acid และ popionic acid ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

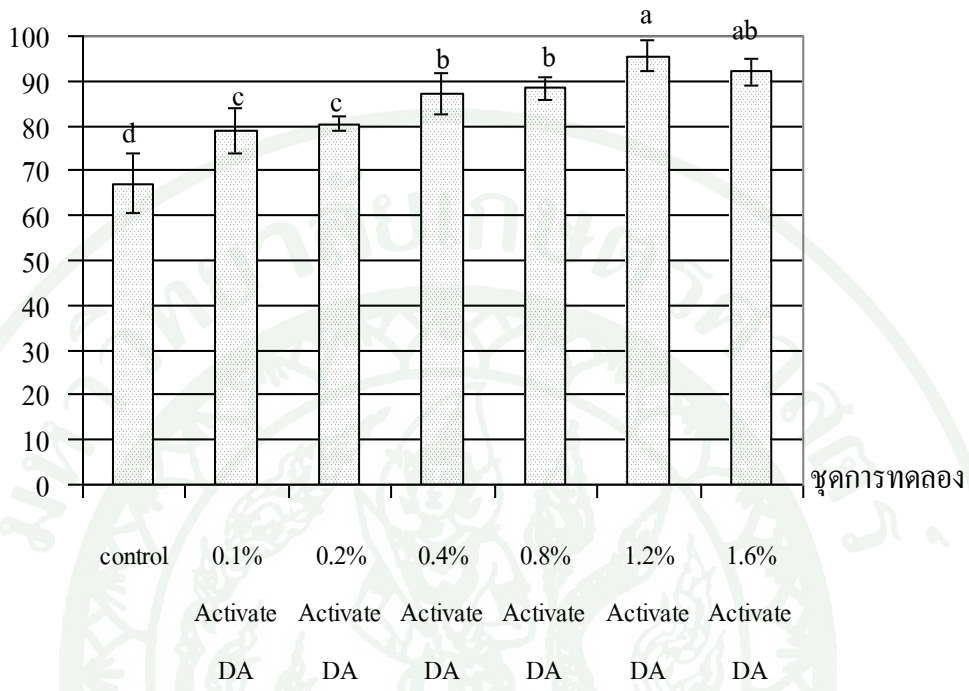
ตารางที่ 3 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

ชุดการทดลอง	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)		
	0 วัน	30 วัน	60 วัน
control	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	85.20 $\pm$ 1.50^{bc}	67.20 $\pm$ 6.73^{d}
0.1% Activate DA	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	84.00 $\pm$ 2.45^{d}	78.80 $\pm$ 5.02^{c}
0.2% Activate DA	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	90.00 $\pm$ 1.67^{bc}	80.40 $\pm$ 1.67^{c}
0.4% Activate DA	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	94.00 $\pm$ 1.67^{abc}	87.20 $\pm$ 4.60^{b}
0.8% Activate DA	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	94.00 $\pm$ 1.85^{ab}	88.40 $\pm$ 2.61^{b}
1.2% Activate DA	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	98.00 $\pm$ 1.26^{a}	95.60 $\pm$ 3.58^{a}
1.6% Activate DA	100.00 $\pm$ 0.00^{a}	99.00 $\pm$ 0.40^{a}	92.00 $\pm$ 2.83^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)



ภาพที่ 7 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 0, 30 และ 60 วัน

หลังจากทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าอัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราแลกเนื้อเท่ากับ 0.76 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้ม 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราแลกเนื้อ เท่ากับ 1.13, 0.91, 0.86, 0.87, 0.85 และ 0.82 ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 8) สอดคล้องกับการศึกษาของ Owen *et al.* (2006) ได้ทดสอบเกลือโซเดียมของกรดบิวทีริกในการเลี้ยงปลาดุก *Clarias gariepinus* โดยการผสมกับอาหารในอัตราส่วน 2 กิโลกรัมต่ออาหาร 1000 กิโลกรัม พบว่าอัตราแลกเนื้อลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการศึกษาของ Christiansen and Lückstädt (2008) พบว่าปลาแซลมอนที่ได้รับอาหารผสม potassium diformate ในอัตราส่วน 4 กรัม และ 14 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลอง รายงานของ Cuvin-Aralar *et al.* (2010) ปลานิลที่ได้รับอาหารผสม potassium diformate

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

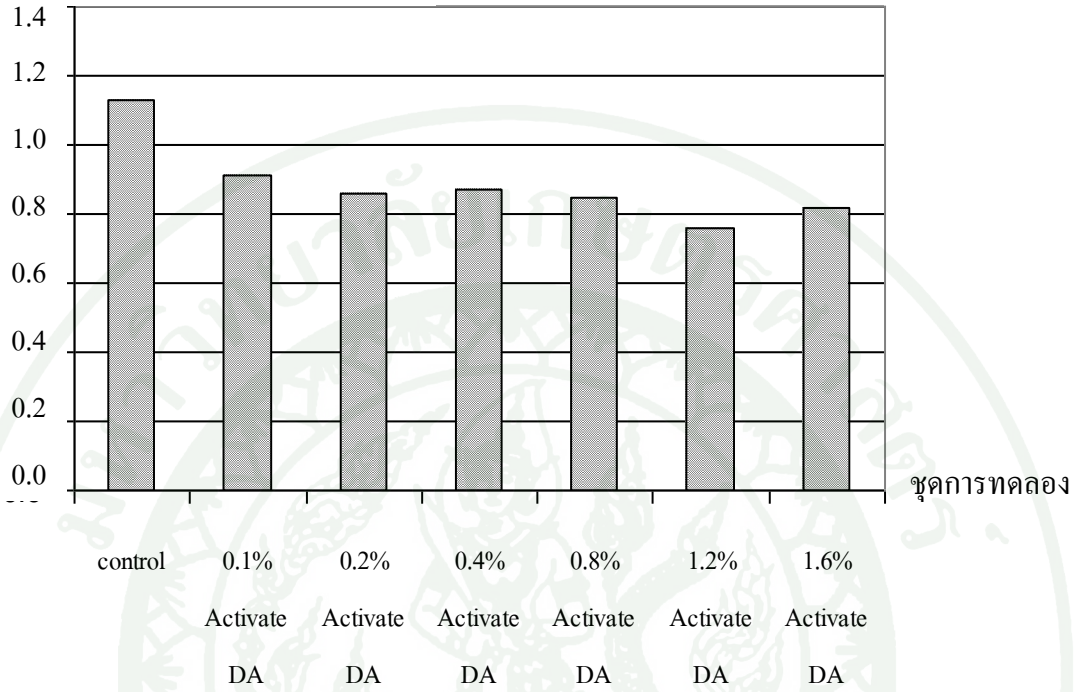
ในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และรายงานของ Jintasataporn *et al.* (2011) พบกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม potassium diformate ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม

ตารางที่ 4 อัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

ชุดการทดลอง	อัตราแลกเนื้อ
Control	1.13
0.1% Activate DA	0.91
0.2% Activate DA	0.86
0.4% Activate DA	0.87
0.8% Activate DA	0.85
1.2% Activate DA	0.76
1.6% Activate DA	0.82

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตราแลกเนื้อ



ภาพที่ 8 อัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วาเป็นระยะเวลา 60 วัน ปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม Activate DA 1.6 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ต่ำสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ $4.53 \pm 1.53 \times 10^2$ CFU/กรัม ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ $5.48 \pm 1.74 \times 10^2$ CFU/กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้เท่ากับ $58.1 \pm 7.81 \times 10^2$ CFU/กรัม, $50.9 \pm 11.4 \times 10^2$ CFU/กรัม, $41.0 \pm 9.82 \times 10^2$ CFU/กรัม, $27.9 \pm 8.15 \times 10^2$ CFU/กรัม และ $19.05 \pm 7.71 \times 10^2$ CFU/กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 9)

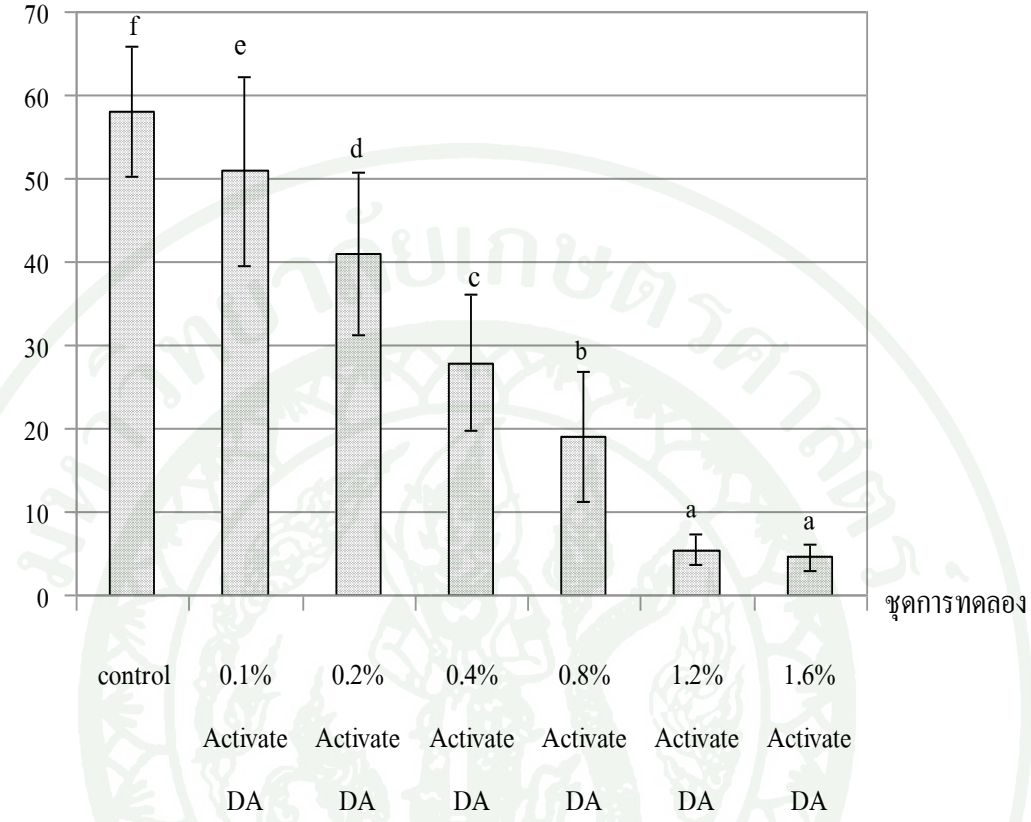
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียรวม ($\times 10^2$CFU/กรัม)
Control	58.1 ± 7.81^{f}
0.1% Activate DA	50.9 ± 11.4^{e}
0.2% Activate DA	41.0 ± 9.82^{d}
0.4% Activate DA	27.9 ± 8.15^{c}
0.8% Activate DA	19.05 ± 7.71^{b}
1.2% Activate DA	5.48 ± 1.74^{a}
1.6% Activate DA	4.53 ± 1.53^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 ปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม Activate DA 1.6 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ต่ำสุดคือ $2.32 \pm 0.87 \times 10^2$ CFU/กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้เท่ากับ $2.90 \pm 0.85 \times 10^2$ CFU/กรัม แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้เท่ากับ $33.17 \pm 11.9 \times 10^2$ CFU/กรัม, $30.3 \pm 8.32 \times 10^2$ CFU/กรัม, $22.7 \pm 5.71 \times 10^2$ CFU/กรัม, $13.7 \pm 4.33 \times 10^2$ CFU/กรัม และ $7.64 \pm 2.17 \times 10^2$ CFU/กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และภาพที่ 10)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ซึ่งจากการศึกษาการทำงานของกรดอินทรีย์บางชนิดต่อกระบวนการเมตตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต โดยผสมกับอาหารให้สิ่งมีชีวิตเหล่านั้นกิน สามารถควบคุมเชื้อโรคในสิ่งมีชีวิตได้ (Franco *et al*., 2005) กรดอินทรีย์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของลำไส้ได้โดยทำให้พีเอชภายในลำไส้ลดลง หรือกรดอินทรีย์เข้าไปภายในเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบโดยการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จะทำให้ไฮโดรเจนอิออนภายในเซลล์ถูกปล่อยออกมาสู่ภายนอกเซลล์ ดังนั้นค่าพีเอชภายในเซลล์ของแบคทีเรียจะลดลงส่งผลต่อสมดุลภายในเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถใช้พลังงานเพื่อการเจริญเติบโตได้ และเซลล์แบคทีเรียตาย (Diebold and Eidelsburger, 2006) สอดคล้องการทดลองของ Baruah *et al.* (2005) พบว่าเมื่อให้อาหารผสมกรดซิตริกในปลาคาร์ฟอินเดีย (*Labeo rothita*) สามารถทำให้พีเอชในลำไส้ของปลาลดลงได้ และการศึกษาของ Ng *et al*. (2009) ทำการศึกษา potassium diformate ในปลาทับทิม (*Oreochromis* sp.) พบว่าอาหาร 1 กิโลกรัม ผสมกับ potassium diformate ปริมาณ 2 กรัม สามารถลดค่าพีเอชในกระเพาะอาหารและในลำไส้ รวมทั้งปริมาณแบคทีเรียในสิ่งขับถ่ายจากปลานิลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม และรายงานของ Vielma amd Lall (1997) เมื่อผสม formic acid กับอาหารให้กับปลาเรนโบว์ เทราต์ (*Oncorhynchus mykiss*) พบว่า formic acid มีผลต่อค่าพีเอชในทางเดินอาหารและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมแมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และแคลเซียมในทางเดินอาหารของปลาเรนโบว์ เทราต์ นอกจากนั้น Zhou *et al.* (2009) พบว่าเมื่อผสม potassium diformate กับอาหารในการเลี้ยงปลาทับทิม สามารถกระตุ้นแบคทีเรียบางชนิดในลำไส้ปลาให้มีความสามารถในการเข้าครอบครองพื้นที่และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียตัวอื่นๆ ในลำไส้ของปลาทับทิมได้ ดังนั้นหลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกรดอินทรีย์ Activate DA โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นที่ 1.2 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

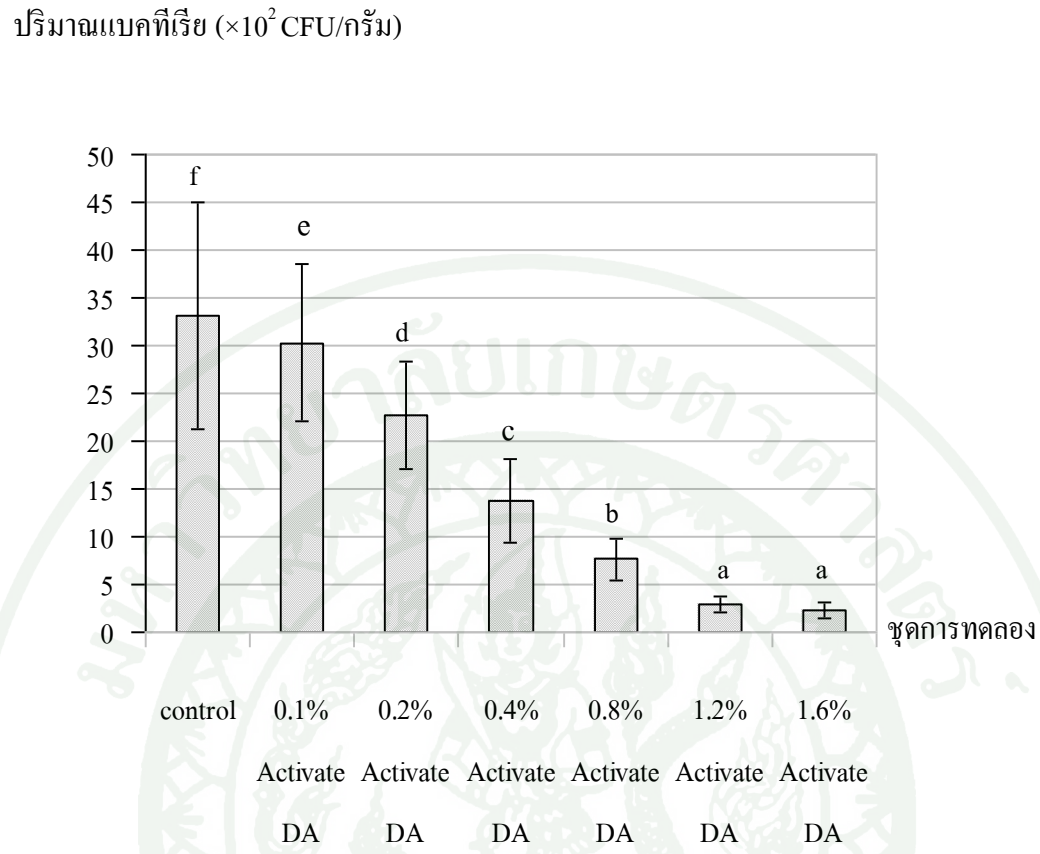
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม(CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ($\times 10^2$CFU/กรัม)
control	33.17 ± 11.9^{f}
0.1% Activate DA	30.3 ± 8.32^{e}
0.2% Activate DA	22.7 ± 5.71^{d}
0.4% Activate DA	13.7 ± 4.33^{c}
0.8% Activate DA	7.64 ± 2.17^{b}
1.2% Activate DA	2.90 ± 0.85^{a}
1.6% Activate DA	2.32 ± 0.87^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/กรัม) ที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

ผลการศึกษาการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองเป็นระยะเวลา 60 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 7 โดยทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุกสัปดาห์ ได้แก่ ค่าความเป็นด่าง ความกระด้าง แอมโมเนียรวม ไนไตรท์ ความเป็นกรดเป็นด่าง หรือ พีเอช ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเค็ม และอุณหภูมิ พบว่าคุณสมบัติของน้ำทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษาทั้งในชุดควบคุมและชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน และอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมตามรายงานของชลอ และพรเลิศ (2547)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 คุณสมบัติของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันตลอดระยะ 60 วัน

คุณสมบัติของน้ำ	ชุดการทดลอง						
	Control	0.1% Activate DA	0.2% Activate DA	0.4% Activate DA	0.8% Activate DA	1.2% Activate DA	1.6% Activate DA
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	137.9 ± 3.13^{b}	142.1 ± 4.84^{b}	139.5 ± 5.97^{b}	138.0 ± 3.34^{b}	121.6 ± 2.16^{a}	133.1 ± 2.41^{b}	119.1 ± 2.38^{a}
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	6107.3 ± 156.6^{b}	6046.6 ±111.2^{ab}	5900.1 ± 86.9^{ab}	5916.5 ± 115.9^{ab}	5735.1 ± 78.3^{a}	5955.1 ± 115.7^{ab}	5797.6 ± 80.7^{ab}
แอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.12 ± 0.01^{ab}	0.15 ± 0.02^{ab}	0.15 ± 0.01^{ab}	0.16 ± 0.01^{ab}	0.17 ± 0.01^{b}	0.12 ± 0.01^{a}	0.14 ± 0.01^{ab}
ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.016 ± 0.002^{b}	0.013 ± 0.001^{b}	0.015 ± 0.001^{ab}	0.014 ± 0.001^{ab}	0.010 ± 0.001^{a}	0.014 ± 0.001^{ab}	0.010 ± 0.001^{a}
พีเอช	7.13 ± 0.04^{a}	7.28 ± 0.07^{a}	7.71 ± 0.06^{a}	7.16 ± 0.09^{a}	7.25 ± 0.06^{a}	7.05 ± 0.11^{a}	7.15 ± 0.05^{a}
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	7.1 ± 0.04^{ab}	6.9 ± 0.07^{a}	7.1 ± 0.06^{ab}	7.1 ± 0.06^{ab}	7.2 ± 0.0^{ab}	7.2 ± 0.06^{ab}	7.2 ± 0.08^{b}
ความเค็ม (พีพีที)	25.1 ± 0.05^{a}	25.1 ± 0.03^{a}	25.1 ± 0.03^{a}	25.1 ± 0.02^{a}	25.2 ± 0.04^{b}	25.0 ± 0.04^{a}	25.1 ± 0.04^{a}
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	29.8 ± 0.09^{ab}	29.9 ± 0.09^{ab}	29.8 ± 0.13^{a}	29.9 ± 0.07^{ab}	30.1 ± 0.04^{b}	29.9 ± 0.06^{ab}	30.0 ± 0.07^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

หลังจากการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนัก 3-4 กรัม ด้วยอาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) และอาหารที่ผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์, 1.2 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ 7 วัน หลังจากนั้น เติมเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ลงไปในถังเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร และ 10^4 CFU/มิลลิลิตร และในวันที่ 10, 20 และ 30 ของการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งเพื่อการศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไม

น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไม 7 ชุดการทดลอง หลังจากเติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ในระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 7.14 ± 0.07 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 6.17 ± 0.08 กรัม, 6.14 ± 0.08 กรัม, 6.38 ± 0.10 กรัม, 6.45 ± 0.08 กรัม, 6.89 ± 0.09 กรัม และ 6.80 ± 0.07 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 8 และภาพที่ 11) ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดกว่าทุกชุดการทดลองตลอดระยะเวลาการเลี้ยง เนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับผสมอาหารในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม จึงทำให้สามารถเพิ่มน้ำหนักตัวได้ ซึ่งหากผสมในอัตราส่วนที่มากเกินไปกุ้งจะมีการกินอาหารที่น้อยลง อาจจะเนื่องมาจาก Activate DA เป็นกรดอินทรีย์ที่มีกลิ่นแรง ถ้าผสมในอัตราส่วนที่มากเกินไปอาจจะส่งผลต่อการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง หรือถ้าให้อาหารผสมกรดอินทรีย์ที่มีปริมาณน้อยเกินไปก็ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ได้ ซึ่งจะส่งผลต่อสุขภาพของกุ้ง รวมทั้งการกินอาหารของกุ้ง ซึ่งทำให้การเจริญเติบโตไม่ดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

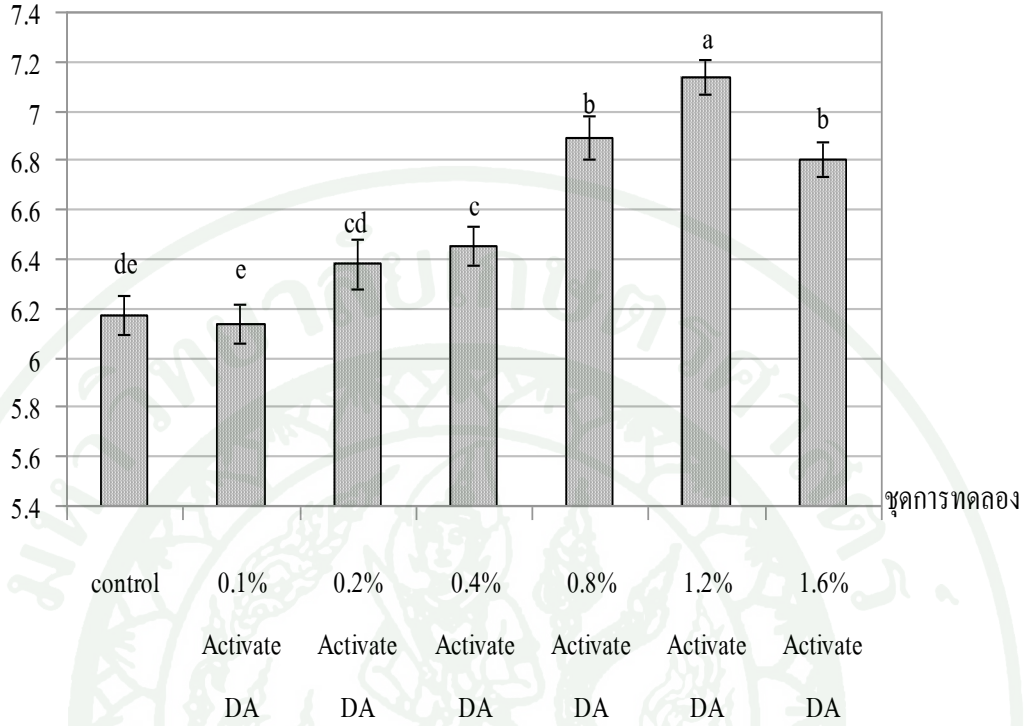
ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)
control	6.17 ± 0.08^{de}
0.1% Activate DA	6.14 ± 0.08^{e}
0.2% Activate DA	6.38 ± 0.10^{cd}
0.4% Activate DA	6.45 ± 0.08^{c}
0.8% Activate DA	6.89 ± 0.09^{b}
1.2% Activate DA	7.14 ± 0.07^{a}
1.6% Activate DA	6.80 ± 0.07^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)



ภาพที่ 11 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร

อัตราการรอดตายเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากเติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ในระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร ของทั้ง 7 ชุดการทดลอง แสดงไว้ในตารางที่ 9 และ ภาพที่ 12 ซึ่งกุ้งในชุดที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยสูงสุด คือ 68.33 $\pm$ 1.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และ ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 48.33 $\pm$ 0.96 เปอร์เซ็นต์, 50.00 $\pm$ 1.36 เปอร์เซ็นต์, 49.17 $\pm$ 1.6 เปอร์เซ็นต์, 59.17 $\pm$ 2.85 เปอร์เซ็นต์, 62.50 $\pm$ 1.6 เปอร์เซ็นต์ และ 62.50 $\pm$ 0.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

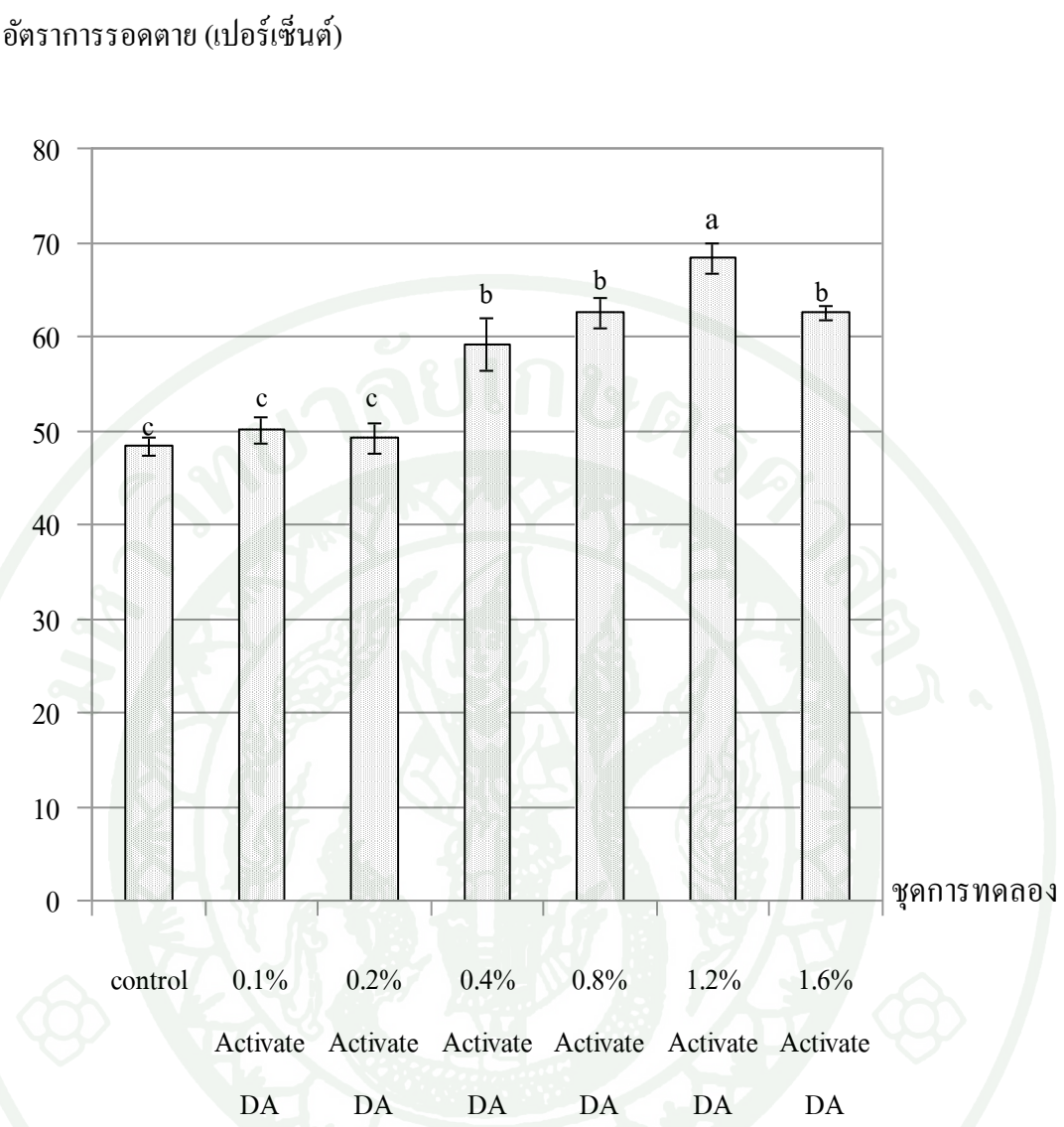
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร

ชุดการทดลอง	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
control	48.33 ± 0.96^{c}
0.1% Activate DA	50.00 ± 1.36^{c}
0.2% Activate DA	49.17 ± 1.60^{c}
0.4% Activate DA	59.17 ± 2.85^{b}
0.8% Activate DA	62.50 ± 1.60^{b}
1.2% Activate DA	68.33 ± 1.67^{a}
1.6% Activate DA	62.50 ± 0.83^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

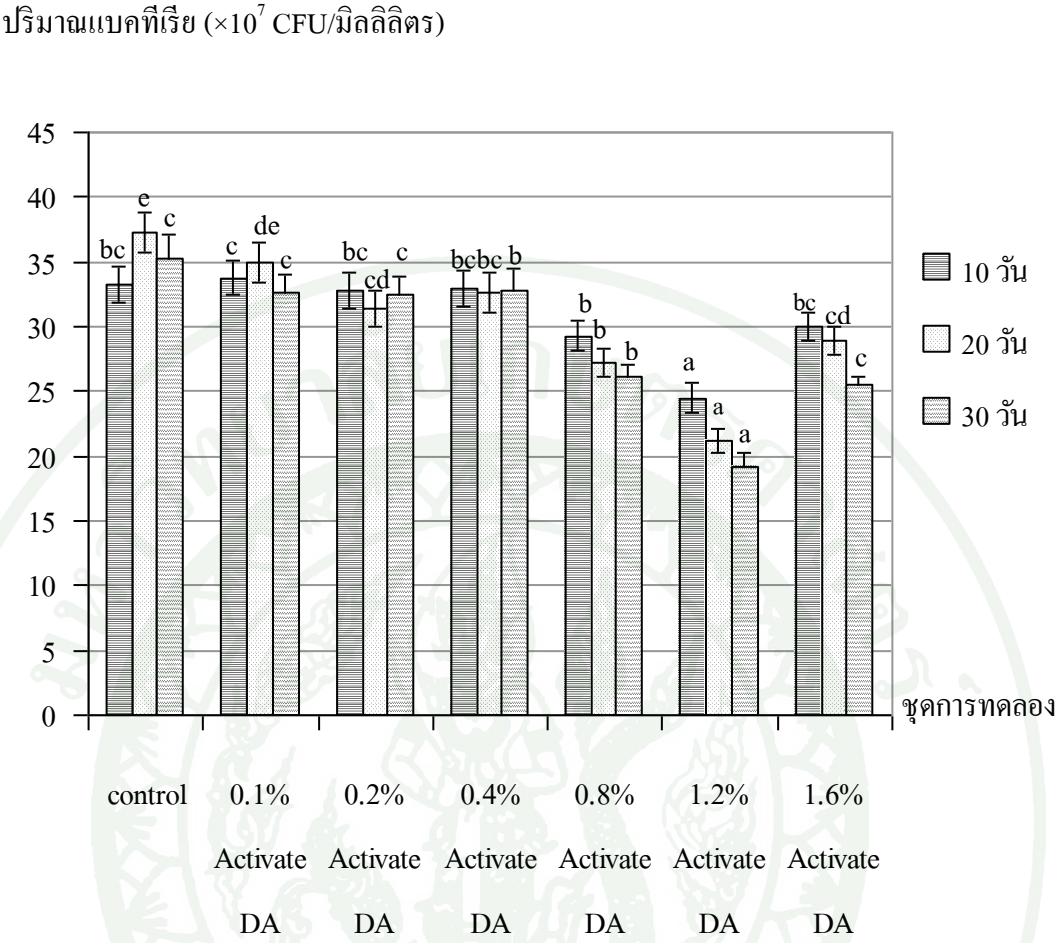
หลังจากเติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ลงไปในถังเลี้ยงกุ้งให้ได้ระดับความเข้มข้น10^3 CFU/มิลลิลิตร ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ โดยในวันที่ 30 ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดกุ้งที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์จะมีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ $19.81 \pm 1.00 \times 10^7$ CFU/มิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 35.20 ± 1.87 CFU/มิลลิลิตร, 32.60 ± 1.45 CFU/มิลลิลิตร, 32.41 ± 1.48 CFU/มิลลิลิตร, 25.51 ± 0.70 CFU/มิลลิลิตร, 26.21 ± 0.85 CFU/มิลลิลิตร และ 32.82 ± 1.73 CFU/มิลลิลิตรตามลำดับ (ตารางที่ 10 และภาพที่ 13)

ตารางที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^3$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือด ($\times 10^7$ CFU/มิลลิลิตร)		
	10 วัน	20 วัน	30 วัน
control	33.25 ± 1.46^{bc}	37.21 ± 1.53^{e}	35.20 ± 1.87^{c}
0.1% Activate DA	33.76 ± 1.35^{c}	34.99 ± 1.52^{de}	32.60 ± 1.45^{c}
0.2% Activate DA	32.77 ± 1.33^{bc}	31.36 ± 1.38^{cd}	32.41 ± 1.48^{c}
0.4% Activate DA	30.01 ± 1.02^{bc}	28.87 ± 1.06^{bc}	25.51 ± 0.70^{b}
0.8% Activate DA	29.30 ± 1.23^{b}	27.23 ± 1.04^{b}	26.21 ± 0.85^{b}
1.2% Activate DA	24.50 ± 1.22^{a}	21.14 ± 0.91^{a}	19.81 ± 1.00^{a}
1.6% Activate DA	32.97 ± 1.38^{bc}	32.58 ± 1.55^{cd}	32.82 ± 1.73^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 13 ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* (×10^3 CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30

ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดกุ้งของชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ และในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ของทุกชุดการทดลองจะมีปริมาณสูงที่สุดในวันที่ 10 ของการทดลอง หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อย ๆ และจะต่ำสุดในวันที่ 30 ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำออกเป็นบางส่วนในระหว่างที่มีการทดลอง ซึ่งปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ของชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 1.39 ± 0.07 ×10^4 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ $3.61 \pm 0.09 \times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร, $3.19 \pm 0.15 \times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร, $2.25 \pm 0.09 \times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร, $2.29 \pm 0.13 \times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร และ $2.21 \pm 0.1 \times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ $1.46 \pm 0.13 \times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 11 และภาพที่ 14)

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดกุ้งหลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* 10^3 CFU/มิลลิลิตร สอดคล้องกับการทดลองของ อกนิษฐ์ (2553) ซึ่งทำการศึกษาผลของ MERA™ Cid ต่อความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยใช้กุ้งทดลองขนาด 3-4 กรัม กินอาหารผสมกรดอินทรีย์ที่ประกอบด้วย formic acid และ popionic acid เป็นเวลา 30 วัน ซึ่งแบ่งออกเป็นชุดควบคุม และชุดการทดลอง ซึ่งผสม MERA™ Cid กับอาหารสำเร็จรูป ในอัตราส่วน 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าหลังจากเติม *V. harveyi* ลงไปในถังเลี้ยงกุ้งในระดับความเข้มข้น 10^3 CFU/มิลลิลิตร ปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งที่ได้รับอาหารผสม MERA™ Cid 0.5 เปอร์เซ็นต์จะมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งการศึกษาของ อกนิษฐ์ (2553) จะใช้ความเข้มข้นของ MERA™ Cid ผสมอาหารเพียง 0.5 เปอร์เซ็นต์เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้ง จะแตกต่างกับการทดลองนี้ ที่ระดับความเข้มข้นของ Activate DA ผสมกับอาหารที่เหมาะสมและสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความแตกต่างนั้นอาจจะเกิดจากส่วนประกอบที่แตกต่างกันโดย MERA™ Cid จะมีส่วนประกอบหลัก คือ formic acid และ popionic acid ส่วน Activate DA จะมีส่วนประกอบหลัก คือ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid

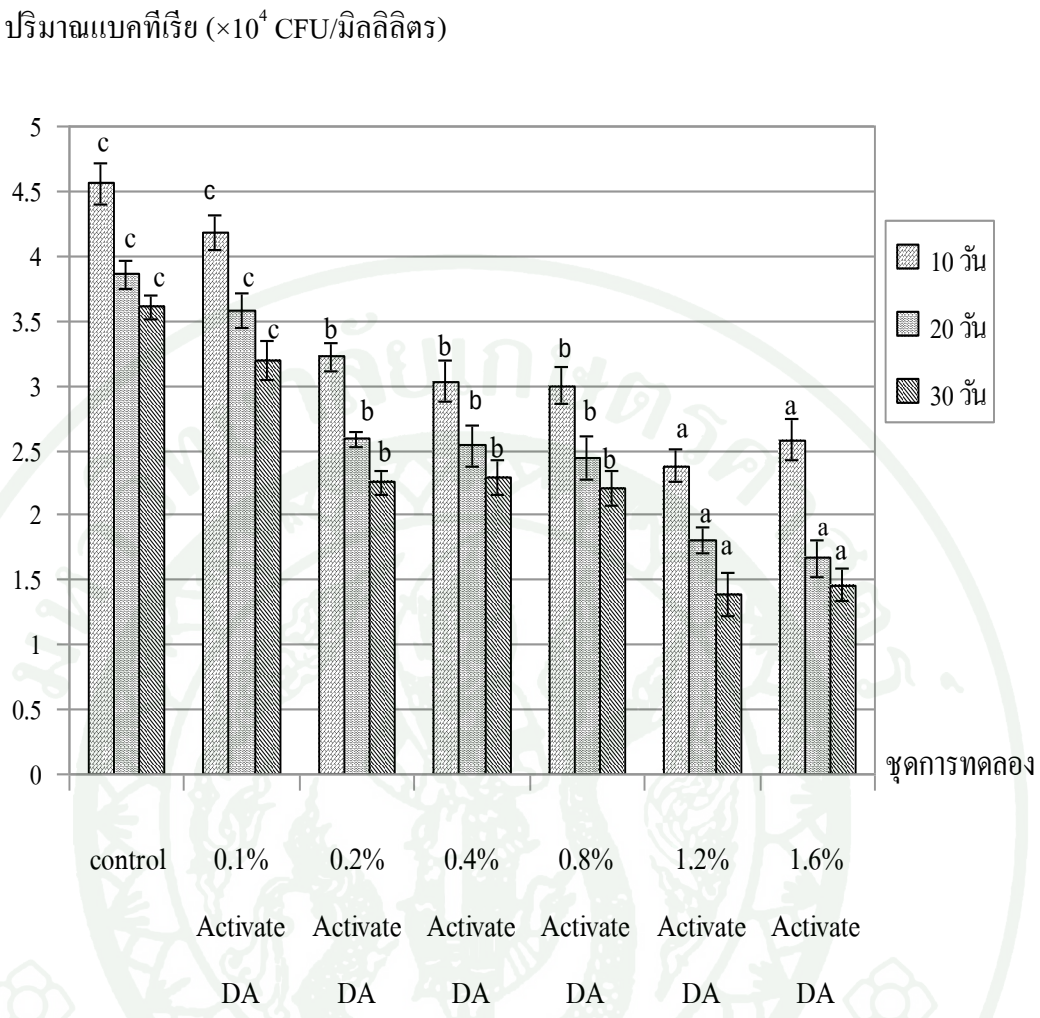
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^3$ CFU/มิลลิลิตร)ในวันที่ 10, 20 และ 30

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในเลือด ($\times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร)		
	10 วัน	20 วัน	30 วัน
control	4.56 ± 0.16^{c}	3.86 ± 0.11^{c}	3.61 ± 0.09^{c}
0.1% Activate DA	4.18 ± 0.13^{c}	3.58 ± 0.13^{c}	3.19 ± 0.15^{c}
0.2% Activate DA	3.22 ± 0.11^{b}	2.59 ± 0.06^{b}	2.25 ± 0.09^{b}
0.4% Activate DA	3.03 ± 0.16^{b}	2.54 ± 0.16^{b}	2.29 ± 0.13^{b}
0.8% Activate DA	3.00 ± 0.14^{b}	2.44 ± 0.17^{b}	2.21 ± 0.13^{b}
1.2% Activate DA	2.38 ± 0.13^{a}	1.81 ± 0.10^{a}	1.39 ± 0.07^{a}
1.6% Activate DA	2.58 ± 0.16^{a}	1.67 ± 0.14^{a}	1.46 ± 0.13^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 14 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* (×10^3 CFU/มิลลิลิตร)ในวันที่ 10, 20 และ 30

น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากเติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ในระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 7.28 $\pm$ 0.07 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 5.89 $\pm$ 0.08 กรัม, 5.90 $\pm$ 0.10 กรัม, 6.35 $\pm$ 0.05 กรัม, 6.35 $\pm$ 0.08 กรัม, 6.43 $\pm$ 0.09 กรัม และ 6.81 $\pm$ 0.08 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 12 และภาพที่ 15)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

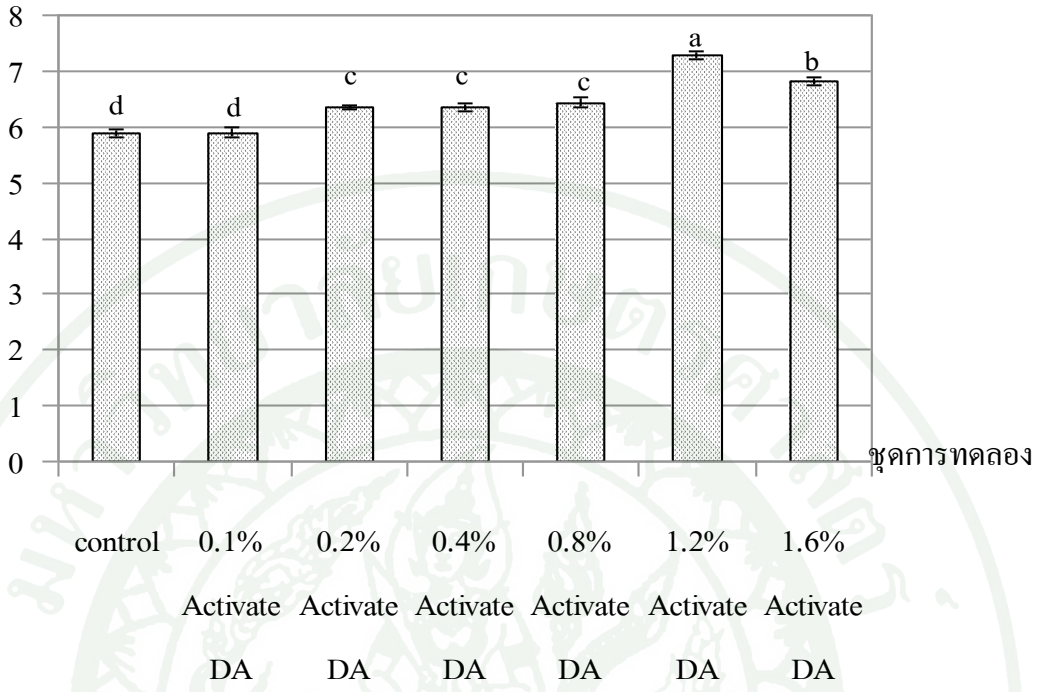
ตารางที่ 12 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร

ชุดทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)
control	5.89 ± 0.08^{d}
0.1% Activate DA	5.90 ± 0.10^{d}
0.2% Activate DA	6.35 ± 0.05^{c}
0.4% Activate DA	6.35 ± 0.08^{c}
0.8% Activate DA	6.43 ± 0.09^{c}
1.2% Activate DA	7.28 ± 0.07^{a}
1.6% Activate DA	6.81 ± 0.08^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)



ภาพที่ 15 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร

อัตราการรอดตายเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากเติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ในระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายสูงสุดเท่ากับ 63.33 $\pm$ 1.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 35.00 $\pm$ 1.67 เปอร์เซ็นต์, 36.67 $\pm$ 1.92 เปอร์เซ็นต์, 38.33 $\pm$ 2.15 เปอร์เซ็นต์, 46.67 $\pm$ 1.36 เปอร์เซ็นต์, 53.33 $\pm$ 1.36 เปอร์เซ็นต์ และ 56.67 $\pm$ 1.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 13 และภาพที่ 16)

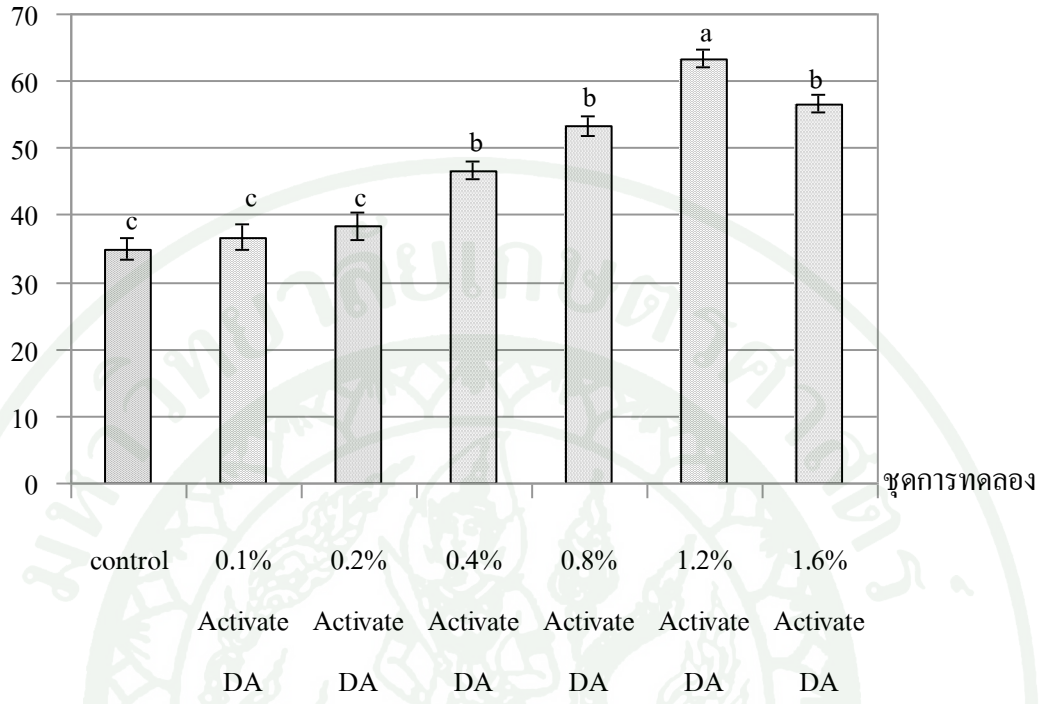
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร

ชุดทดลอง	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
control	35.00 ± 1.67^{c}
0.1% Activate DA	36.67 ± 1.92^{c}
0.2% Activate DA	38.33 ± 2.15^{c}
0.4% Activate DA	46.67 ± 1.36^{b}
0.8% Activate DA	53.33 ± 1.36^{b}
1.2% Activate DA	63.33 ± 1.36^{a}
1.6% Activate DA	56.67 ± 1.35^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 16 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร

หลังจากเติมแบคทีเรีย *V. harveyi* ลงไปในถังเลี้ยงกุ้งให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/มิลลิลิตร ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์จะมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในวันที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดกุ้งชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์, 1.6 เปอร์เซ็นต์ และ 1.2 เปอร์เซ็นต์จะมีค่าสูงที่สุด และหลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดกุ้งจะลดลงเรื่อย ๆ และต่ำสุดในวันที่ 30 ของการทดลอง โดยที่กุ้งที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าปริมาณแบคทีเรียรวมต่ำสุด เท่ากับ $32.79 \pm 0.85 \times 10^7$ CFU/มิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

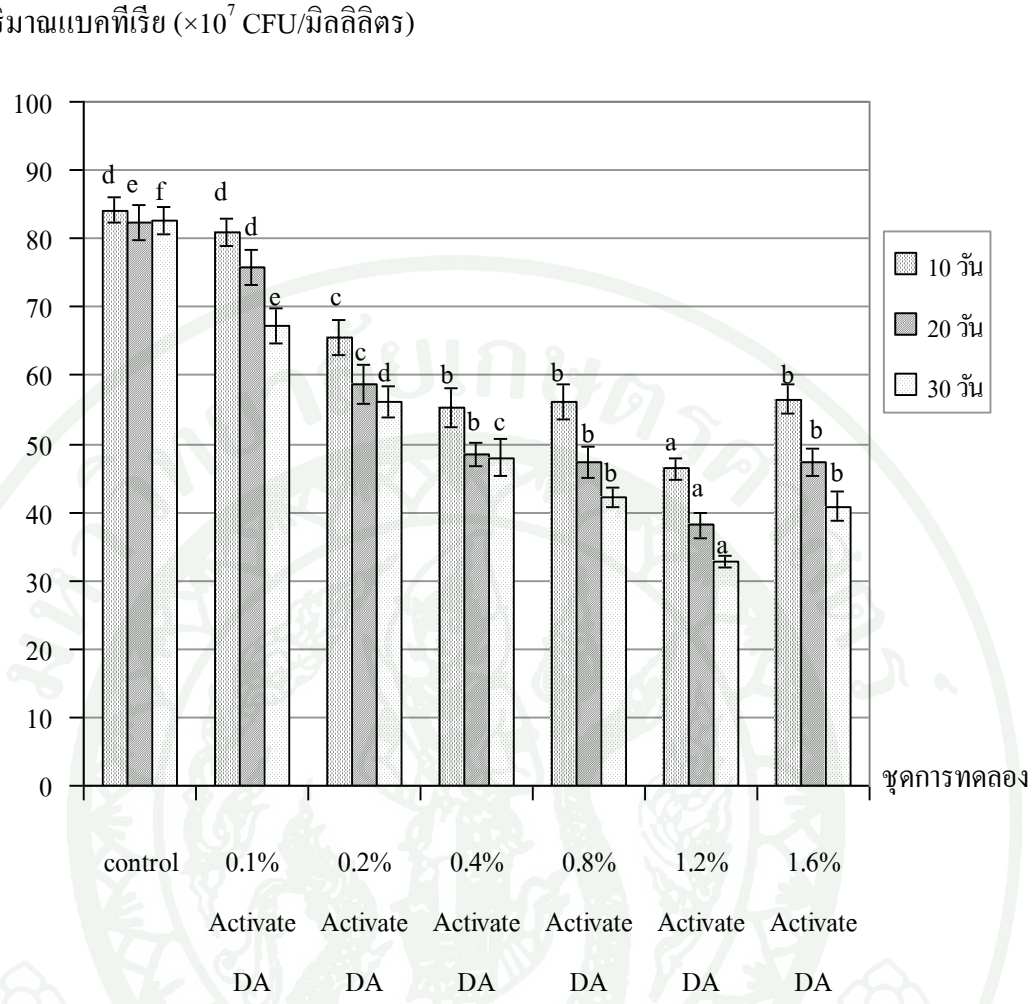
เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดกุ้งเท่ากับ 82.67 ± 1.95×10^7 CFU/มิลลิลิตร, 67.28 ± 2.53 ×10^7 CFU/มิลลิลิตร, 56.10 ± 2.34 ×10^7 CFU/มิลลิลิตร, 47.97 ± 2.65 ×10^7 CFU/มิลลิลิตร, 42.11 ± 1.41×10^7 CFU/มิลลิลิตร และ 40.77 ± 2.13 ×10^7 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 14 และภาพที่ 17)

ตารางที่ 14 ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* (×10^4 CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือด (×10^7 CFU/มิลลิลิตร)		
	10 วัน	20 วัน	30 วัน
control	84.17 ± 1.92^{d}	82.40 ± 2.63^{e}	82.67 ± 1.95^{f}
0.1% Activate DA	80.80 ± 1.99^{d}	75.77 ± 2.48^{d}	67.28 ± 2.53^{e}
0.2% Activate DA	65.41 ± 2.56^{c}	58.68 ± 2.84^{c}	56.10 ± 2.34^{d}
0.4% Activate DA	55.18 ± 2.88^{b}	48.37 ± 1.74^{b}	47.97 ± 2.65^{c}
0.8% Activate DA	56.10 ± 2.53^{b}	47.34 ± 2.33^{b}	42.11 ± 1.41^{b}
1.2% Activate DA	46.34 ± 1.56^{a}	38.10 ± 1.80^{a}	32.79 ± 0.85^{a}
1.6% Activate DA	56.50 ± 2.11^{b}	47.43 ± 2.00^{b}	40.77 ± 2.13^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 17 ปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30

ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ของชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 30 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ของทุกชุดการทดลองจะมีค่าต่ำสุด โดยที่ชุดการทดลองที่ได้รับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ต่ำสุด เท่ากับ $0.39 \pm 0.07 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

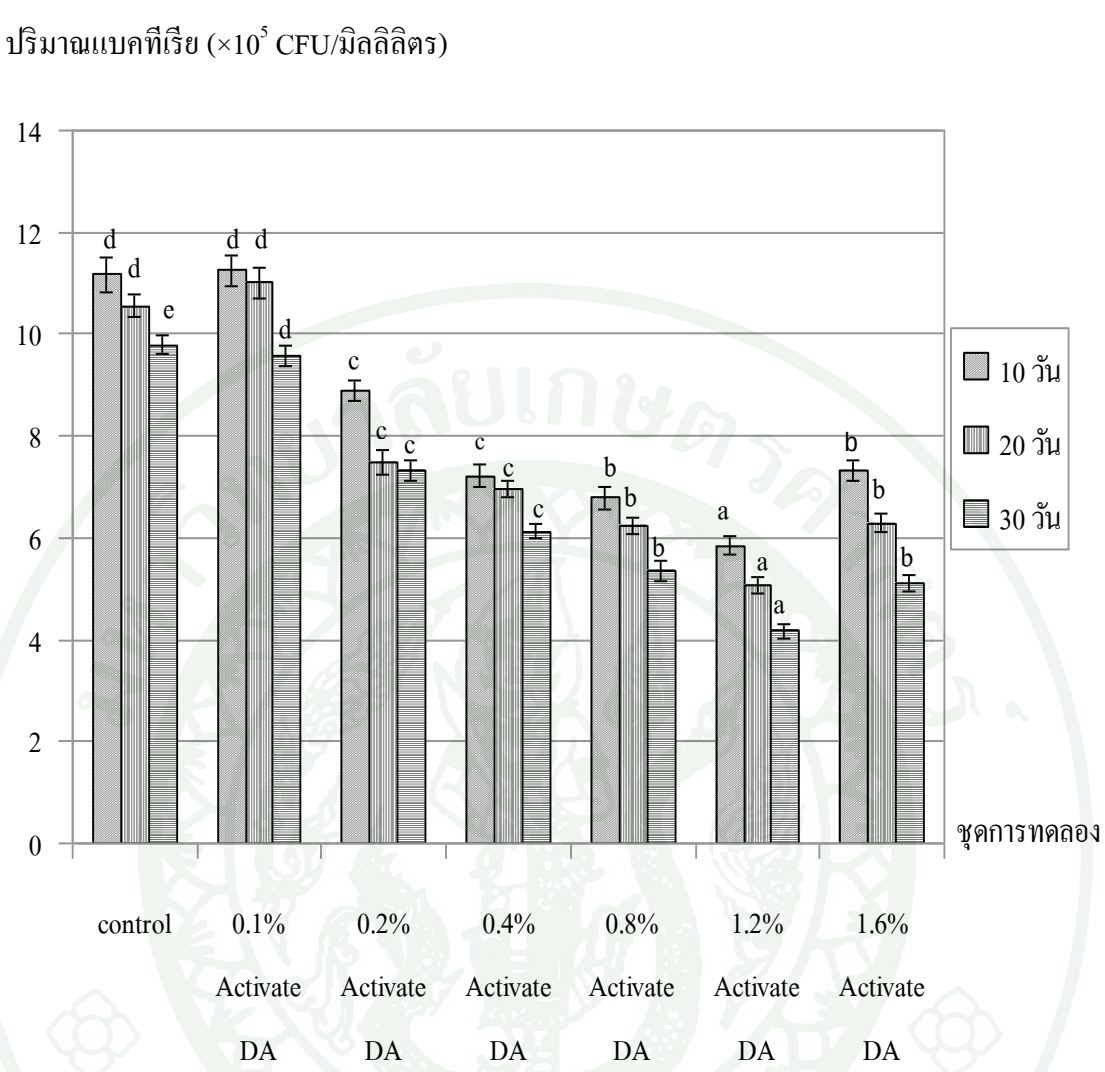
0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* เท่ากับ $3.61 \pm 0.09 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร, $3.19 \pm 0.15 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร, $2.25 \pm 0.09 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร, $2.29 \pm 0.13 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร, $1.21 \pm 0.13 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร และ $1.46 \pm 0.13 \times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 18)

ตารางที่ 15 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ($\times 10^4$ CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในเลือด ($\times 10^5$ CFU/มิลลิลิตร)		
	10 วัน	20 วัน	30 วัน
control	11.17 ± 0.34^a	10.56 ± 0.24^a	9.79 ± 0.19^a
0.1% Activate DA	11.25 ± 0.29^a	11.01 ± 0.31^a	9.59 ± 0.20^a
0.2% Activate DA	8.90 ± 0.21^b	7.49 ± 0.23^b	7.34 ± 0.20^b
0.4% Activate DA	7.22 ± 0.24^c	6.95 ± 0.16^b	6.12 ± 0.14^c
0.8% Activate DA	6.79 ± 0.22^c	6.23 ± 0.16^c	5.34 ± 0.20^d
1.2% Activate DA	5.84 ± 0.18^d	5.06 ± 0.17^d	4.17 ± 0.14^e
1.6% Activate DA	7.32 ± 0.20^c	6.29 ± 0.18^c	5.11 ± 0.18^d

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* (×10^4 CFU/มิลลิลิตร) ในวันที่ 10, 20 และ 30

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการศึกษาผลของ Activate DA ต่อความต้านทานการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อ *Vibrio harveyi* ที่ 10^3 CFU/มิลลิลิตร และ 10^4 CFU/มิลลิลิตร พบว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดน้อยกว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการผสมอาหารกับ Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งที่ช่วยเพิ่มน้ำหนัก อัตราการรอดตาย และจะสามารถป้องกันหรือลดปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแบคทีเรียเรืองแสงและโรคขี้ขาวได้ การผสม Activate DA กับอาหารในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม สามารถทำให้แบคทีเรียรวมและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในเลือดกุ้งขาวแวนนาไมลดลง เนื่องจาก Activate DA มีส่วนประกอบหลัก คือ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดสามารถทำให้พีเอชลดลงและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้งเมื่อมีปริมาณมาก สอดคล้องกับ Ramli *et al*. (2005) ที่ได้ทดสอบ potassium diformate ซึ่งเป็นเกลือ potassium ที่ได้จากกรดฟอร์มิกในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *V. anguillarum* และ รายงานของ Mine and Boopathy (2011) ซึ่งศึกษา formic acid, acetic acid, poiponic acid และ butyric acid ต่อเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi*. ซึ่ง formic acid จะมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ต่อเชื้อ *V. harveyi*. ตามด้วย acetic acid, poiponic acid และ butyric acid ตามลำดับ ซึ่งกลไกที่สำคัญของกรดอินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการเจริญ เติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบว่าการให้กรดอินทรีย์ผสมอาหารในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมสามารถควบคุมโรควิบริโอซิสได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการศึกษาการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองเป็นระยะเวลา 60 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 16 โดยทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำทุกสัปดาห์ ได้แก่ ค่าความเป็นด่าง ความกระด้าง แอมโมเนียรวม ไนไตรท์ ความเป็นกรดเป็นด่าง หรือ พีเอช ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเค็ม และอุณหภูมิ พบว่าคุณสมบัติของน้ำทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษาทั้งในชุดควบคุมและชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน และอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมตามรายงานของชลอและพรเลิศ (2547)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 คุณสมบัติของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการของกุ้งขาวแวนาไมที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 60 วัน

คุณสมบัติของน้ำ	ชุดการทดลอง						
	Control	0.1% Activate DA	0.2% Activate DA	0.4% Activate DA	0.8% Activate DA	1.2% Activate DA	1.6% Activate DA
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	127.7 ± 2.87^{b}	116.6 ± 3.09^{a}	117.8 ± 3.55^{ab}	122.2 ± 3.94^{ab}	120.9 ± 2.22^{ab}	126.2 ± 3.48^{ab}	119.5 ± 2.71^{ab}
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	5703.6 ± 106.7^{b}	5233.2 ± 83.4^{a}	5493.4 ± 102.5^{ab}	5340.0 ± 100.4^{a}	5469.0 ± 107.8^{ab}	5473.0 ± 124.1^{ab}	5385.0 ± 84.8^{a}
แอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.13 ± 0.01^{a}	0.24 ± 0.11^{a}	0.14 ± 0.02^{a}	0.16 ± 0.02^{a}	0.14 ± 0.02^{a}	0.18 ± 0.02^{a}	0.15 ± 0.02^{a}
ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.01 ± 0.001^{a}	0.01 ± 0.001^{a}	0.01 ± 0.002^{a}	0.01 ± 0.001^{a}	0.01 ± 0.001^{a}	0.01 ± 0.001^{a}	0.01 ± 0.0^{a}
พีเอช	6.9 ± 0.08^{ab}	7.1 ± 0.10^{b}	6.9 ± 0.06^{a}	6.9 ± 0.06^{a}	6.9 ± 0.11^{ab}	6.9 ± 0.05^{ab}	7.1 ± 0.06^{ab}
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	6.9 ± 0.08^{ab}	6.9 ± 0.04^{b}	7.0 ± 0.02^{b}	7.1 ± 0.04^{b}	7.0 ± 0.06^{b}	7.0 ± 0.06^{b}	6.8 ± 0.08^{a}
ความเค็ม (พีพีที)	25.0 ± 0.06^{a}	25.1 ± 0.04^{a}	25.1 ± 0.05^{a}	25.1 ± 0.04^{a}	24.8 ± 1.48^{a}	24.9 ± 0.07^{a}	25.1 ± 0.05^{a}
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	30.1 ± 0.02^{ab}	30.1 ± 0.05^{b}	29.9 ± 0.10^{ab}	29.7 ± 0.12^{a}	30.0 ± 0.09^{ab}	29.9 ± 0.05^{ab}	29.9 ± 0.09^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกัน หมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปผล

1. จากการศึกษาผลของ Activate DA (มีส่วนประกอบของ fumaric acid, benzoic acid และ hydroxyl methylthio 2-butanoic acid (HMTBa) ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าอาหารที่ผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผสมอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถเพิ่มน้ำหนัก อัตราการรอดตาย และสามารถลดปริมาณแบคทีเรียรวม และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในลำไส้กุ้งได้ดีกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ผสม Activate DA 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ แต่จะมีค่าใกล้เคียงกับ กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมด้วย Activate DA 1.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อพิจารณาทางด้านต้นทุนการผลิต อาหารที่ผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์จะมีต้นทุนถูกกว่า และสามารถเพิ่มน้ำหนัก อัตราการรอดตาย และสามารถลดปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในลำไส้กุ้งได้ดีเช่นกัน

2. จากการศึกษาผลของ Activate DA ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อกุ้งขาวแวนนาไม ขนาด 3-4 กรัม เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยการใส่เชื้อ *V. harveyi* 10^3 CFU/มิลลิลิตร และ 10^4 CFU/มิลลิลิตร พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสม Activate DA 1.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผสมอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะสามารถเพิ่มน้ำหนัก อัตราการรอดตาย รวมถึงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์, 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.4 เปอร์เซ็นต์, 0.8 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม Activate DA ที่ระดับความเข้มข้น1.6 เปอร์เซ็นต์ ทั้งการทดลองที่ใส่เชื้อ *V. harveyi* ที่ 10^3 CFU/มิลลิลิตร และ 10^4 CFU/มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

1. การใช้กรดอินทรีย์สังเคราะห์ผสมลงในอาหารสำเร็จรูปเพื่อการเลี้ยงกุ้งเป็นอีกแนวทางหนึ่งสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งในการควบคุมโรคติดเชื้อแบคทีเรียในการเลี้ยงกุ้งที่ต้องโดยไม่ต้องอาศัยยาต้านจุลชีพและสารเคมีในระหว่างการเลี้ยง

2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการผสมสาร Activate DA ในผสมกับอาหารสำเร็จรูปในโรงงาน แล้วนำไปทดลองเลี้ยงกุ้งในฟาร์มเลี้ยง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2547. **โครงการประเมินผลกระทบการนำเข้ากุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) เข้าประเทศไทย.** หน่วยงานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพกุ้ง, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

กุลวรา แสงรุ่งเรือง. 2534. **การศึกษาปริมาณแบคทีเรียที่เปลี่ยนแปลงในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2534, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง, กรุงเทพฯ.

จรีพร เรืองศรี, ไมตรี วรรณเดช, สุณีย์ หวันเหล็ม, อนิดา สงนุ้ย, สุพัตรา อรุณรัตน์, นพรัตน์ แท่นมาก, จิราพร เพชรรัตน์ และ กิจการ ศุภมาตย์. 2546. การเกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio harveyi* จากตอนใต้ของไทยในกุ้งกุลาดำ. **ว. สงขลานครินทร์. ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 26 (ฉบับที่ 1)**: 43-54.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2528. **โรคปลา.** ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2531. โรคเสี้ยนดำในกุ้งกุลาดำ. **วารสารการประมง** 41(6): 517-522.

_____. 2534. **คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ**. ฐานเศรษฐกิจ, กรุงเทพฯ.

_____. 2543. **กุ้งไทย 2000 สู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม.** โรงพิมพ์เจริญรัฐการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

_____ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2547. **อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.** บริษัทเมจิค พับบลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ. 206 น.

ชัยชาญ ไตรศรีศิลป์. 2545. **ฟีนอลออกซิเดสที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*.** วิทยานิพน์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธนาทิพย์ แหลมคม, ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2537. **การศึกษาประสิทธิภาพของออกโซลินิค แอซิด ในการป้องกันโรควิบริโอซิสในกุ้งกุลาดำ**, น. 551-516. *ใน* รายงานสัมมนาวิชาการประจำปี 2537. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

นนทวิทย์ อารีย์ชน, สุภาวดี โกยดุล และ นิลุบล กิจอันเจริญ. 2553. ผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อความอยู่รอดของ *Vibrio harveyi*. **วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทยาศาสตร์)** 27: 67-53.

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล, เจ เอฟ เทอร์นบอล และ ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2537. **คู่มือการเลี้ยงและการป้องกันโรคกุ้งกุลาดำ.** สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง เกษตรกลางบางเขน จตุจักร , กรุงเทพฯ. 98 หน้า

พุทธ ส่องแสงจินดา. 2544. **การจัดการสารประกอบไนโตรเจนและออกซิเจนในฟาร์มเลี้ยงกุ้งระบบปิด.** กลุ่มวิจัยวิศวกรรมการเพาะเลี้ยงและสิ่งแวดล้อม. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย กรมประมง, สงขลา. 14 น.

มาลินี วิชชาวุธ และ สมยศ สิทธิโชคพันธ์. 2548. การนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวตามระเบียบกรมประมง. **วารสารการประมง** 58(2): 170-171.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ. 2528. **คุณสมบัติของน้ำและวิธีการวิเคราะห์สำหรับวิจัยทางการประมง.** สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ยนต์ มุสิก. 2539. **คุณภาพน้ำและกำลังผลิตของบ่อปลา**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิลา เรืองแป้น, วารินทร์ ธนาสมหวัง และ กุลวรา แสงรุ่งเรือง. 2540. แบคทีเรียในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อระบบพัฒนา. **วารสารสัตว์น้ำ** 8(91): 141-148.

วรณัฏฐ์ อนันตศิลป์. 2545. **การศึกษาประสิทธิภาพของ *Lactobacillus* ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Vibrio* spp. และความต้านทานโรคของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วรวิทย์ ชีวาพร. 2531. คุณภาพน้ำ-ดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ น. 171-182. *ใน* **การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.** คณะวิทยาศาสตร์ม มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒน์, ชลบุรี.

วลัยพร ทิมบุญธรรม. 2554. **การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร. 2543. **การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 125 น.

ศุภชัย ประพัสศร. 2538. **แบคทีเรียในดินบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำและการดื้อยาของเชื้อ *Vibrio* spp. ต่อยาต้านจุลชีพ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมเจตน์ จันทวัฒน์, สุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, จงรัก จันทร์เจริญสุข, วิโรจน์ อิ่มพิทักษ์ และอัญชลี สุทธิปราการ. 2529. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.** คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุกิจ รัตนวินิจกุล, สรรเสริญ ช่อเจี้ยง, ทวีโรจนสารัมภกิจ และ ไพฑูรย์ ชอบสะอาด. 2531. การทดลองหาแนวทางป้องกันและรักษาโรคที่เกิดกับลูกกุ้งทะเลระยะ P2-P15 ในบ่ออนุบาล. **เอกสารวิชาการ** 13/2531. สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดนครศรีธรรมราช. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สุพล พันธุมะโอกาส. 2542. **การศึกษาการใช้ *Chlorella* sp., *Chaetoceros calcitrans* และ *Vibrio* sp. โคโลนีสีเหลืองเพื่อการควบคุม *Vibrio harveyi* ในระบบการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภฎา คีรีรัฐนิคม, จรีพร เรืองศรี, ไมตรี วรรณเดช, อภิญญา ส่งประดิษฐ์, นเรศ ซ่วยยุก, วีรพงษ์ เทพอักษร และ กิจการ สุภมาตย์. 2543. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อวิบริโอเรืองแสง (*Vibrio harveyi*) ในน้ำทะเล. **ว. สงขลานครินทร์. ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (ฉบับพิเศษ)**: 697-706.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อกนิษฐ์ ญาณโกมุท. 2553. **ผลของ MERA ™ Cid ต่อการเจิญเติบโต อัตราการรอดตาย และความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2542. **หลักการวางแผนการทดลอง**. ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อมรชัย สมเจตน์เลิศเจริญ. 2536. **การศึกษาชนิดของวิบริโอ และการตกค้างของยาออกโซลินิกแอซิดในกุ้งกุลาดำ ที่เลี้ยงในบ่อ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abraham, T.J., R. Manley, R. Palaniappan and K. Dhevendaran. 1997. Pathogenicity and antibiotic sensitivity of luminous *Vibrio harveyi* isolated from diseased penaeid shrimp. **J. Aquacul. Tropics**. 12: 1-8.

Alvarez, J.D., B. Austin, A.M. Alvarez and H. Reyes. 1998. *Vibrio harveyi*: a pathogen of penaeid shrimp and fish in Venezuela. **J. Fish. Dis**. 21: 313-316.

APHA, AWWA. and AWCA. 1989. **Standard Methods for the Examination Water and Wastewater**. 17th ed. United Book Press, Washington.

_____ and AWCA. 1995. **Standard Methods for the Examination Water and Wastewater**. 20th ed. United Book Press, Maryland.

Åsgård, T. and E. Austreng. 1981. Fish silage for salmonids: a cheap way of utilizing waste as feed. **Feedstuffs** 53: 22-24.

Austin, B. 1993. **Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish**. 2nd ed., Ellis Horwood, London.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Austin, B. and D.A. Austin. 1987. **Control of Bacterial Fish Disease.** Ellis Horwood, Chichester.

Baruah, K., A.K. Pal, N.P. Sahu, K.K. Jain, S.C. Mukherjee and D. Debnath. 2005. Dietary protein level, microbial phytase, citric acid and their interactions on bone mineralization of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles. **Aqua. Research.** 36: 803-812.

Baumann, P., L. Baumann and M. Mandel. 1971. Taxonomy of marine bacteria: the genus *Beneckea*. **J. Bacteriol**. 107: 268–294.

_____, A.L. Furniss and J.V. Lee. 1984. Section 5 facultatively anaerobic gram-negative rods. Genus I *Vibrio pacini* 1954, 411^{AL}. 539-545. N.R. Krieg and J.G. Holt (eds.) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Vol 1. Williams and Wilkins. Baltimore

Belas, M.R. and R.R. Colwell. 1982. Scanning electron microscope observation of the swarming phenomenon of *Vibrio parahaemolyticus*. **J. Bacteriol**. 150: 956-959.

Beuchat, L.R. 1974. Combined effect of water activity solute and temperature on growth of *Vibrio parahaemolyticus*. **Appli. Microbiol**. 27: 1075-1081.

Boyd, C.E. 1982. **Water Quality Management for Pond Fish Culture.** Elsevier Sci. Publ. CO., Amsterdam.

_____. 1989. **Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming.** Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series No. 2. Alabama Agriculture Experiment Station, Auburn University, Alabama.

_____ and A.W. Fast. 1992. Pond monitoring and management, pp. 497-513. *In* A.W. Fast and L.J. Lester, eds. **Marine Shrimp Culture. Principles.** Elsevier Science B.V., Amsterdam.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Boyd, C.E. and C.S. Tucker. 1998. **Pond Aquaculture Water Quality Management.** Kluwer Academic Publishers, Massachusettes.

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** 8 thed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Chanratchakool, P. 1992. **Studies on Biology, Pathogenicity and Prophylaxis of Vibriosis in Juvenile Tiger Shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius).** Ph.D. thesis, Univ., Stirling,

Chan, K., M.L. Woo, L.Y. Lenn and G.L. French. 1989. *Vibrio parahaemolyticus* and other halophilic vibrios associated with seafood in Hong Kong. **J. Appl. Bacteriol.** 66:57-64.

Christiansen, R. and C. Lückstädt. 2008. Effect of different dosages of potassium diformate in fishmeal on the performance of Atlantic salmon *Salmo salar* Abstract. **World Aquaculture.** 2008: Busan, Korea.

Cowan, P.J., H. Nagesha, L. Leonard, J.L. Howard and A.J. Pittard. 1957. Characterization of the major promoter for the plasmid-encoded sucrose genes *scrY*, *scrA*, and *scrB*. **J. Bacteriol.** 173:7464–7470.

Cuvin-Aralar, M., K.J. Kühlmann, K. Schroeder and C. Lückstädt. 2010. Effect of potassium-diformate (KDF) on growth performance of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Symposium Fish Nutrition and Feeding. 2010. China, 492.

De Freitas, L.S., D.C. Lopes, A.F. De Freitas, J.D.C. Carneiro, A. Corassa, S.D.M. Pena and L.F. Costa. 2006. Effects of feeding organic acids for piglets from 21 to 49 days. **J. Anim. Sci.** 35:1711-1719.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Diggles, B.K., G.A. Moss, J. Carson and C.D. Anderson. 2000. Luminous vibriosis in rock lobster *Jasus verreauxi* (Decapoda: Palinuridae) phyllosoma larvae associated with infection by Virio harveyi. **Dis. Aquat.** Org. 43: 127-137.

Diebold, G. and U. Eidelsburger. 2006. Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. pp 311-27. *In* Barug D., J. de Jong, A.K. Kies and M.W.S. Verstegen (eds.). **Antimicrobial Growth Promoters.** 1st ed. Wageningen Acadimic Publishers; Wageningen, The Netherlands.

Eidelsburger, U. 1997. Optimierung der Futterqualität t ist nur ein Teilaspekt. **Schwinewelt**. January: 18-21.

Egidius, E. 1987. Vibriosis: pathogenicity and pathology. **Aquaculture** 67: 15-28.

Egusa, S. 1992. **Infectiuos Disease of Fish.** Oxonian press, New Delhi, India.

Fieber, L.A. and P.L. Lutz. 1982. calcium requirements for molting in *Macrobrachium rosenbergii*. **J. World Maricul. Soc.** 13: 21-27

Franco, L.D., M. Fondevila, M.B. Lobera and C. Castrillo. 2005. Effect of combinations of organic acids in weaned pig diets on microbial species of digestive tract contents and their response on digestibility. **J. Animal. Physiol. Animal. Nutr.** 89: 88-93.

Frerichs, G.N. and S.D. Millar. 1993. **Manual for the Isolation and Identification of Fish Bacteria Pathegens.** Pisces Press, Stirling.

Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals: A review. **J. Appl. Bacteriol.** 66: 365-378.

Gildbert, A. and J. Raa. 1997. Properties of a propionic acid/formic acid preservel silage of cod viscera. **J. Sci. Food. Agri.** 28: 647-653.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Graindorge, V., A.D. V. and T.W. Flegel. 1999. **Diagnosis of Shrimp Disease with Emphasis on the Black Tiger Prawn *Penaeus monodon***. Multimedia Asia.

Holthuis, L.B. 1980. FAO Species Catalogue, Vol. 1, **Shrimps and Prawns of the World.** Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Inglis, V., R.J. Roberts and N.R. Bromage. 1993. **Bacterial Diseases of Fish.** Institute of Aquaculture. The University Press, Cambridge.

Jintasataporn, O., K.J. Kühlmann, C. Lückstädt and T. Tankool. 2011. Effect of dietary potassium-diformate (KDF) on growth performance in juvenile white-leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931), under controlled conditions. **Standards for acidifiers.** 109-110 p.

Jiravanichpaisan, P., T. Miyazaki and C. Limsuwan. 1994. Histopathology, biochemistry and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger pawn, *Penaeus monodon*. **J. Aquat. Anim. Health**. 6: 27-35.

Karunasagar, I., R. Pai, G.R. Malahti and I. Karunasagar. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture** 128: 203-209.

Kluge, H., J. Broz and K. Eder. 2006. Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameters of microbial metabolism in piglets. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** 90:316324.

Kogure, K., U. Simidu and N. Taga. 1980. Effect of phytoplankton on the growth of marine bacteria in filterered seawatwr. **Bull. Jpn. Soc. Fish.** 46 (3): 323-326.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Landgraf, M., K.B.P. Leme and M.L. Garcia-Moreno. 1996. Occurrence of emerging pathogenic *Vibrio* spp. in seafood consumed in Sao Paulo city, Brazil. **Revistar de Microbillogao.** 27(2): 126-130.

Lavilla-Pitogo, C.R., L.J. Albright, M.G. Paner and N.A. Sunaz. 1992. Studies on the sources of luminescent *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* hatcheries, pp. 157-164. *In* I.M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Arthur (eds.). **Disease in Asian Aquaculture.** Fish Health Section. Asian Fish Soc. Manila, Philippines.

_____, L.J. Albright and M.G. Paner. 1998. Will microbial manipulation sustain the ecological balance in shrimp (*Penaeus monodon*) hatcheries. pp. 185-192. *In* T.W. Flegel ed. **Advances in Shrimp Biotechnology, Proceedinggs to the Special Session on Shrimp Biotechnology 5 th Asian Fisheries Forum 11-14 November**, Chiang Mai, Thailand.

_____, M.C.L. Baticados, E.R. Cruz-Lacierda and L.D. de la Pena. 1990. Occurrence of luminous bacterial disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. **Aquaculture** 91: 1-13.

Lee, K.K., F.R. Chen and P.C. Lui. 1995. A haemocytolytic assay for tiger prawn, *Penaeus monodon*. **Fish Shellfish Immunol**. 5(5): 385-387.

Lightner, D.V. 1988. Disease of cultured penaeid shrimp and prowns, pp. 8-127. *In* C.S. Sinderman and D.V. Lightner (eds) **Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture,** Elsevier, Amsterdam.

Limsuwan, C. 1993. Disease of black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius in Thailand, pp. 1-23. *In* D.M. Akiyama (eds). **Tech. Bull. Amer. Soybean Assoc.**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lückstädt, C. 2007. Effect of organic acid containing additives in worldwide aquaculture – sustainable production the non-antibiotic way. **Acidifiers in Animal Nutrition.** 71-77 p.

_____. 2008. Effect of dietary potassium diformate on the growth and digestibility of Atlantic salmon *Salmo salar* proceedings of the Thirteenth International Symposium on Fish Nutrition and Feeding Florianopolis, Brazil. 179 p.

_____ and K.J. Kühlmann. Effect of potassium diformate on the growth and health performance of striped catfish *Pangasius hypophthalmus* juveniles applied as feed additive during grow-out under laboratory conditions. **Standards for Acidifiers.** 107-108 p.

Luo, R. 1996. Study on the contents of serum protein and glucose in the hemolymp of the shrimp *Penaeus chinensis*. Oceanol. Limnol. **Sin Haiyang Yu Huzhao**. 27: 476-480.

Mackett, M. and J.D. Williamson. 1995. **Human Vaccins and Vaccination.** Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, UK. 215 p.

Martin, G.G., D. Poole, C. Poole, J.E. Hose, M. Arias, L. Reynolds, N. Mckrell and A. Whang. 1993. Clearance of bacteria injected into the hemolymph of the Penaeid shrimp, *Sicyonia ingentis*. **J. Inver. Pathol**. 62: 308-315.

Mine, S. and R. Boopathy. 2011. Effect of Organic Acids on Shrimp Pathogen, *Vibrio harveyi*. **Curr Microbiol**. 63:1-7.

Moriarty, D.J.W. 1999. **Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria.** pp. 142-153 *In* C.R. Bell, M. Brylinsky and P. Johnson-Green, (eds.), Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th international Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Mroz, Z., W. Krasucki, E. Grela, J. Matras and U. Eidelsburger. 2000. The effect of propionic and formic acids as blend (Lupro-Cid®) in graded dosages on the health, performance and nutrient digestibility (ileal/overall) in sows. **Processdings of the Society of Nutrition Physiology** 9:72.

Ng, W.K., C.B. Koh, K. Sudesh and A. Siti-Zahrah. 2009. Effect of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture Research** 40: 1490-1500.

Owen, M., P. Waines, G. Bradley and S. Davies. 2006. The effect of dietary supplementation of sodium butyrate on the growth and microflora of *Clarius gariepinus* (Burchell 1882), *In* **Proceedings of the XII International Symposium Fish Nutrition and Feeding**, 28 May – 1 June 2006.

Øverland, M., T. Granli, N.P. Kjos, O. Fjetland, S.H. Steien and M. Stockstad. 2000. Effect of dietary formats on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs. **J. anim. Sci.** 78: 1875-1884.

Pass, D.A., R. Dybadahl and M.M. Manion. 1987. Investigations into the causes of mortality in the pearl oyster, *Pinctata maxima* (Jamson), in Western Australia. **Aquaculture** 65: 149-169.

Pederson, K., I. Dalsgaard and M.M. Manion. 1987. Investigations into the causes of mortality in the pearl oyster, *Pinctata maxima* (Jamson), in western Australia. **Aquaculture** 65: 149-169.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Petkam, R., C. Lückstädt., P. Nittayachit., S. Sadao and P. Encarnacao. 2008. **Evaluation of a dietary organic acid blend on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance**. World Aquaculture Society. Busan, Korea.

Pizzutto M. and R.G. Hirast. 1995. Classification of isolates of *Vibrio harveii* virulent to *Penaeus monodon* larvae by protein profile analysis and M 13 DNA fingerprinting. **Dis Aquat. Org.** 21: 61-68.

Prosser, J.I., K. Killham, L.A. Glover and E.A.S. Rattray. 1996. Luminescence-based systems for detection of bacteria in the environment. **Crit. Rev. in Biotech.** 16 (2): 157-183.

Ramli, N., U. Heindl and S. Sunanto. 2005. Effect of potassium-diformate on growth performance of tilapia challenged with *Vibrio anguillarum*. Abstract CD-Rom. **World Aquaculture Society**, May 9-13. Bali, Indonesia.

Ray, B. 1996. **Fundamental Food Microbiology.** CRC Press, Inc., USA.

Renault, T.P. Haffner, C. Malfondet and M. Weppe. 1994. *Vibrio damsela* as a pathogenic agent causing mortalities in cultured sea bass (*Lates calcalifer*). **Bull. Eur. Asso. Fish Pathol.** 14(4): 117-119.

Rosenberry, B. 1993. World Shrimp Farming 1993. **Aquaculture Digest,** December 1993.

Roth, F.X., W. Windisch And M. Kirchgessner. 1998. Effect of potassium diformate (Formi LHS) on nitrogen metabolism and nutrient digestibility in piglets at graded dietary lysine. **Agribiol Res** 51(2): 177-183.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ruangpan, L. 1995. **Studies on Marine *Vibrio* Isolated from Cultured Shrimp (*Penaeus monodon*) In Thailand.** Ph.D. Thesis. Kagoshima University, Japan.

_____ and T. Kito. 1991. Vibrio bacteria isolated form black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. **J. Fish Dis.** 14: 383-388.

Ruangpan, L., Y. Danayadol, S. Direkbusarakom, S. Sriuraiatana and T.W. Flegel. 1999. Bacteriophage implicated in mortality of cultivated *Penaeus monodon* exhibiting teabrowngill syndrome (TBGS). **Dis. Aquat. Org.** 35: 195-201.

Sakasaki, R. 1968. Halophilic Vibrio infection. **Jpn. J. Med. Sci.** Biol. 21(5): 313-324.

Schmetterer, G., C.P. Wolk and J. Elhai. 1986. Expression of luciferase from *Vibrio harveyi* and *Vibrio fischeri* in filamentous cyanobacteria. **J. Bacteriol.** 167(1): 411-414.

Shinoda, S. and K. Okamoto. 1977. Formation and function of *Vibrio parahaemolyticus* lateral flagella**. J. Bacteriol.** 129: 1266-1271.

Sindermann, C.J. 1990. **Principlaldisease of Marine Fish and Shellfish, 2 ed**. Academic Press.

Su, Y.C. and C. Liu. 2007. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. **J. Food Microbiol.** 24:549-558.

Suwanto, A., M. Yahana, E. Herawaty and S.L. Angka. 1998. Genetic of luminous Vibrio isolated from shrimp larvae. pp. 217-224. *In* T.W. Flegel, ed. **Advances in Shrimp Biotechnology**, Proceeding to the Special Session on Shrimp Biotechnology 5th Asian Fisheries Forum 11-14 November, Chieng Mai, Thailand

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Teo, J.W.P., A. Suwanto and C. Laa Poh. 2000. Novel ß-lactamase genes form two environment isolates of *Vibrio harveyi*. **Antimicrob. Agents. Chemother.** 44: 1309-1314.

Tung, H.T., S. Koshio, S. Teshima, M. Ishikawa, T. Ren and N.D.T. Phuong. 2006. Effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* on Kuruma shrimp *Masurpenaeus japonicus* juveniles. **Proceedings of the XII International Symposium Fish Nutrition and Feeding**; 28 May – 1 June. P. 46.

Twedt, R.H. 1969. Morphological cultural biochemical and serological comparison of Japanese strains of *Vibrio parahaemolyticus* with related culture isolated in the United States. **J. Bacteriol.** 98: 511-518.

Van der Wielen, P., S. Biesterveld, S. Notemans, H. Hofstra, B.A.P. Urlings and F. van Knapen. 2000. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 2536-2540.

Vanderzant, C., R. Nickelson and J.C. Parker. 1970. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from gulf coast shrimp. **J. Milk Food Technol.** 33(4): 161-162.

Van Immerseel, F. Boyen, I. Gantonis, L. Timbermont, L. Bohez, F. Haesebrouck and R. Duncatelle. 2005. Supplementation of coated butyric acid in the feed reduced colonization and shedding of *Salmonella* in poultry. **Poultry. Sci.** 84: 1851-1856.

Vázquez, J.A., M.P. González and M.A. Murado. 2005. Effect of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota form fish. **Aquaculture** 245: 149-161.

Vielma, J. and S.P. Lall. 1997. Dietary formic acid enchances apparent digestibility of minerals in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition** 3: 265-268.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yasuda, K. and T. Kitao. 1980. Bacterial flora in the digestive tract of prawns, *Penaeus japonicus* Bate. **Aquaculture** 19: 229-234.

Waldroup, A., S. Kaniawati and A. Mauromoustakos. 1995. Performance-characteristics and microbiological aspects of broilers fed diets supplemented with organic acids. **J. Food Prot**. 58: 482-489.

Weidner, D. and B. Rosenberry. 1992. World shrimp farming. pp. I-21. *In*: J. Wyban (Editor), **Proc. of the Special Session on Shrimp Farming**, 22-24 May 1992, Orlando, FL. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

Wet, L. 2005. Can organic acids effectively replace antibiotic growth promotants in diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* rasised under sub-optimal water temperatures? Abstract CD-Rom. **World Aquaculture Society**. 9-13 May 2005. Bali, Indonesia.

Zhou, Z., Y. Lui., S. He., P. Shi., X. Gao., B. Yao. and E. Ringø. 2009. Effect of dietary potassium difromate (KDF) on growth performance, feed conversion and intestinal bacterial community of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). **Aquaculture** 291: 89-94.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ความเป็นด่างของน้ำ (Tritation Method)

การเตรียมสารเคมี

1. Methyl orange indicator solution

ละลาย Methyl orange 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2. Phenolphthalein indicator solution

ละลาย Phenolphthalein 0.5 กรัม ใน 95 เปอร์เซ็นต์ ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

3. Standard sodium carbonate 0.02 N

ละลาย 1.060 กรัม ของ anhydrous Na_2CO_3 (ที่แห้งสนิทโดยการอบที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นใน dasiccator) ในน้ำกลั่นที่เดือดและเย็นแล้ว จากนั้นทำปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร *สารละลายนี้เตรียมแล้วต้องใช้ภายใน 2-3 ชั่วโมง

4. Standard sulfuric acid 0.02 N

เตรียม 0.1 N H_2SO_4 ก่อน โดยนำ Conc. H_2SO_4 2.8 มิลลิลิตร มาละลายในน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดและเย็นแล้ว ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำ 0.1 N H_2SO_4 จำนวน 200 มิลลิลิตร มาเจือจางในน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดและเย็นแล้วให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร จะได้ 0.2 N H_2SO_4

การวิเคราะห์

1. การวัด Phenolphthalein alkalinity

ตวงตัวอย่างน้ำมา 50 มิลลิลิตร แล้วหยด Phenolphthalein indicator solution 3-4 หยด ถ้าตัวอย่างน้ำมีสีชมพู (pH ของตัวอย่างน้ำมากกว่า 8.3) แสดงว่ามี Phenolphthalein alkalinity ให้ไตเตรทด้วย Standard sulfuric acid 0.02 N จนสารละลายเปลี่ยนจากสีชมพูไปเป็นใสไม่มีสี เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ Methyl orange alkalinity ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การวัด Methyl orange alkalinity

หยด Methyl orange indicator solution 4-5 หยด โดยใช้ตัวอย่างที่วัด Phenolphthalein alkalinity แล้วมาไตเตรทด้วย Standard sulfuric acid 0.02 N จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองมาเป็นสีส้ม

การคำนวณ

$$\text{Phenolphthalein alkalinity (mg/L as } CaCO_3) = \frac{A \times N \times 50 \times 1{,}000}{V}$$

$$\text{Total alkalinity (mg/L as } CaCO_3) = \frac{B \times N \times 50 \times 1{,}000}{V}$$

หมายเหตุ A คือ ปริมาณ Standard sulfuric acid 0.02 N ที่ใช้ไตเตรทจนถึงสิ้นสุดปฏิกิริยา Phenolphthalein (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาณ Standard sulfuric acid 0.02 N ที่ใช้ไตเตรทจนถึงสิ้นสุดปฏิกิริยา Methyl orange (มิลลิลิตร)

N คือ Normality ของกรดซัลฟิวริค

V คือ ปริมาณตัวอย่างน้ำที่ใช้ (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ความกระด้างของน้ำ (EDTA Titrimetric Method)

1. Buffer solution

ละลาย 16.9 กรัม ของ NH_4Cl ใน 143 มิลลิลิตร Conc. NH_4OH จากนั้นละลาย 1.179 กรัม ของ disodium salt ของ EDTA และ 0.644 กรัมของ $MgCl_2 . 6H_2O$ (ถ้าไม่มี $MgCl_2 . 6H_2O$ ให้ใช้ $MgCl_2 . 7H_2O$ ปริมาณ 0.780 กรัมแทน) ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำสารทั้งสองมาเทรวมกันแล้ว ปรับปริมาตรโดยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร (ถ้าไม่มี disodium salt ของ EDTA ให้ใช้ magnesium salt ของ EDTA ปริมาณ 1.25 กรัมแทน แล้วปรับปริมาตร โดยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร)

2. Eriochrome Black T indicator

ผสม 0.5 กรัมของ Eriochrome Black T กับ 100 กรัมของ NaCl ที่บดละเอียด หรือผสม 0.5 กรัมของ Eriochrome Black T กับ 4.5 กรัมของ hydroxylamine hydrochloride แล้วละลายใน 100 มิลลิลิตร ของ 95 เปอร์เซ็นต์ ethyl alcohol

3. Standard calcium solution 0.010 M

ละลาย 1.000 กรัมของ anhydrous $CaCO_3$ (ที่แห้งสนิทโดยการอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แล้วทำให้เย็นในตู้ดูดความชื้น) โดยค่อย ๆ รินกรดเกลือ (HCl) 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ใส่ anhydrous $CaCO_3$ ไว้ แล้วค่อย ๆ คนจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นจำนวน 200 มิลลิลิตร แล้วต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์อิสระประมาณ 5-10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วปรับ pH ให้เป็น 7 โดยใช้ 3 N NH_4OH (ใช้ NH_3 Solution 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมในน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเทสารละลายใส่ volumetric flask แล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ซึ่ง 1 Standard calcium solution = 1 mg $CaCO_3$)

4. Standard EDTA solution 0.01 M

ละลาย 3.723 กรัมของ disodium EDTA ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เพื่อนำไป standardize กับ Standrad calcium solution แล้วคำนวณ Mg $CaCO_3$ ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 1.0 มิลลิลิตร EDTA titrant ออกมา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์

ตวงน้ำตัวอย่างมา 25 มิลลิลิตร (ถ้าน้ำตัวอย่างมีความกระด้างและความเป็นด่างสูง ให้เจือจางตัวอย่างเสียก่อน) ใส่ลงใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Buffer solution จำนวน 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติม Eriochrome Black T แล้วค่อย ๆ ไตเตรทด้วย Standard EDTA solution 0.01 M จนสิ้นสุดปฏิกิริยา ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

สูตรการคำนวณ

$$\text{Hardness (mg/L as } CaCO_3\text{)} = \frac{A \times B \times 1{,}000}{V}$$

หมายเหตุ A คือ mg $CaCO_3$ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 1.0 มิลลิลิตร EDTA titrant

B คือ ปริมาตร Standard EDTA solution 0.01 M ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

N คือ Normality ของกรดซัลฟิวริค

V คือ ปริมาณตัวอย่างน้ำที่ใช้ (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียรวม (Colorimetric Method)

1. Ammonia- free distilled water

ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

2. Oxidizing solution

นำโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมโดยนำสารฟอกสีหรือไฮเตอร์มา 20 มิลลิลิตร ผสมกับ Ammonia-free distilled water 80 มิลลิลิตร) มาปรับ pH จนสารละลายมี pH 6.5-7.0 โดยใช้สารละลายที่เตรียมจากกรดไฮโดรคลอริก 1 ส่วน ผสมกับน้ำกลั่น 3 ส่วน และเตรียมใหม่ทุก ๆ 4-5 วัน

3. Phenate solution

ละลาย 1.25 ของ NaOH และ Phenol (C_6H_5OH) 5 ใน Ammonia- free distilled water 100 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายของเหลือที่ได้มา 30 มิลลิลิตร ไปต้มกำจัดแอมโมเนียออก หลังจากเย็นแล้วเติมแมงกานัสซัลเฟต ($MnSO_4 . 2H_2O$) ลงไป 50 มิลลิลิตร (เท่ากับ 0.005 กรัม) เจือจางจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร (ถ้าไม่มี $MnSO_4 . 2H_2O$ ให้ใช้ $MnSO_4 . H_2O$ จำนวน 45.2 มิลลิลิตร แทนได้)

4. Rochelle salt with Manganous sulfate

ละลายเกลือโรเชลล์ ($KNaC_4H_4O_6 . 4H_2O$) 50 กรัม ใน Ammonia-free distilled water 100 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายของเหลือที่ได้มา 30 มิลลิลิตร ไปต้มกำจัดแอมโมเนียออก หลังจากเย็นแล้วเติมแมงกานัสซัลเฟต ($MnSO_4 . 2H_2O$) ลงไป 50 มิลลิลิตร (เท่ากับ 0.050 กรัม) เจือจางจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร (ถ้าไม่มี $MnSO_4 . 2H_2O$ ให้ใช้ $MnSO_4 . H_2O$ จำนวน 45.2 มิลลิกรัม แทนได้)

การวิเคราะห์

1. กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นนำไปใส่หลอดทดลองปริมาณ 10 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. เติม Rochelle salt with Manganous sulfate ลงไป 1 หยด และเติม Oxidizing solution 0.5 มิลลิลิตร กับ Phenate solution 0.6 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว

3. จากนั้นตั้งสารทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที นำน้ำตัวอย่างวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร โดยปรับการอ่านค่า absorbance ของสารละลายไร้สิ่งตัวอย่างเป็น 0.0 เสียก่อน (set blank) แล้วจึงอ่านค่า absorbance ของตัวอย่างน้ำที่ใส่สาร

4. คำนวณค่าความเข้มข้นของ NH_3-N จากสมการ

$$\frac{C1}{C2} = \frac{A1}{A2}$$

หมายเหตุ C1 คือ ความเข้มข้นของ NH_3-N ในน้ำตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

C2 คือ ความเข้มข้นของสารละลาย NH_3-N มาตรฐาน (ในที่นี้เท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร)

A1 คือ ค่า Absorbance ของน้ำตัวอย่าง

A2 คือ ค่า Absorbance ของสารละลาย NH_3-N มาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ (Colorimetric Method)

1. Deionized distilled water

2. Sulfanilamide reagent

ผสม Conc. HCl จำนวน 50 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่นจำนวน 300 มิลลิลิตร (โดยค่อย ๆ เทให้ติดกับบีกเกอร์) แล้วเติม Sulfanilamide จำนวน 5 กรัม ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร

3. N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride solution

ละลาย 0.500 กรัมของ dihydrochloride ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร (เก็บในขวดสีชาตั้งไว้ในที่มืด และเตรียมสารละลายใหม่ทุก ๆ เดือน หรือเมื่อสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล)

4. Standard nitrite solution

ละลาย 0.4925 กรัมของ $NaNO_2$ (ที่แห้งสนิทโดยการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วทิ้งให้เย็นใน desiccator) (น้ำหนักนี้คำนวณจาก $NaNO_2$ ที่มีความบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ต่างจากนี้ให้คำนวณน้ำหนักใหม่ ถ้าจะให้ถูกต้องที่สุดให้ standardize $NaNO_2$ solution ตามที่ระบุไว้ใน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA et al., 1995)) ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะมีความเข้มข้นของ NO_2^--N มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเก็บในขวดสีชาในที่มืด

การวิเคราะห์

1. กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นนำไปใส่หลอดทดลองปริมาณ 10 มิลลิกรัม

2.เติม Sulfanilamide reagent จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ผสมทิ้งไว้ 2 นาที แต่ไม่เกิน 8 นาที

3.เติม N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride solution จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ผสมทิ้งไว้อย่างน้อง 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง (ถ้าตัวอย่างน้ำมีสีชมพูเข้ม แสดงว่ามีปริมาณไนไตรท์สูง)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. วัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

5. นำค่า absorbance ที่ได้แทนในสมการที่ได้จากการทำ Standard curve จะได้ปริมาณไนไตรท์ของตัวอย่างน้ำ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเตรียมสารเคมีสำหรับดูดเลือดกุ้ง (Anti-coagulant)

1. M-199 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

โดยมีวิธีเตรียมคือ ใช้ M-199 จำนวน 1 ซอง ผสมกับ NaHCO3 ปริมาณ 2.2 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร ในขวดดูแลน แล้วกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร

2. Salt mixture ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

KCl	0.4 กรัม
$MgCl . 6H_2O$	3.3 กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	3.0 กรัม
$NaH_2PO_4 . 2H_2O$	0.05 กรัม

จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดละลายน้ำด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. NaCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ละลาย NaCl จำนวน11 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. $CaCl_2 . 2H_2O$ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ละลาย $CaCl_2 . 2H_2O$ จำนวน 0.9 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

5. L-glutamine ปริมาตร 1 กรัม

6. Hepes จำนวน 0.238 กรัม

7. L-cystein จำนวน 5 กรัม

วิธีการเตรียมสาร Anti-coagulant จำนวน 100 มิลลิลิตร คือนำสารละลายจากข้อ 1-7 ผสมกันตามลำดับ ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นายวรวุฒิ วัลลา
วัน เดือน ปี ที่เกิด	22 กรกฎาคม 2529
สถานที่เกิด	จังหวัดขอนแก่น
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศษสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์