ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การประมง	ชีววิทยาประมง
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ผลของโปรไบโอติก (*Lactobacillus* spp.) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด

Effect of Probiotics (*Lactobacillus* spp.) in Rearing Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) in a Closed System

นามผู้วิจัย นางสาววรรณพร ฮุ้ยสกุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลอ ลิ้มสุวรรณ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์อนงค์ จีรภัทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 21 **เดือน** สิงหาคม **พ.ศ.** 2550

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของโปรไบโอติก (*Lactobacillus* spp.) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด

Effect of Probiotics (*Lactobacillus* spp.) in Rearing Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) in a Closed System

โดย

นางสาววรรณพร ฮุ้ยสกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)
พ.ศ. 2550

วรรณพร ฮุ้ยสกุล 2550: ผลของโปรไบโอติก (*Lactobacillus* spp.) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลอ ลิ้มสุวรรณ, Ph.D. 79 หน้า

ปล่อยกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวาร์ 18 ในบ่อดิน ขนาด 5 ไร่ ในอัตราความหนาแน่น บ่อละ 350,000 ตัว (44 ตัวต่อตารางเมตร) ความเค็มของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ระหว่าง 6-39 ส่วนในพันส่วน (พีพีที) กลุ่มทดลองให้อาหารผสมโปรไบโอติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus casei* และ *L. plantarum* จำนวน 0.5 กิโลกรัมจะมีแบคทีเรียทั้งสองชนิดประมาณ 300 ล้านเซลล์ ในกลุ่มทดลองมีจำนวน 3 บ่อ และกลุ่มควบคุมให้อาหารที่ไม่ผสมโปรไบโอติก 3 บ่อ เลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 140 วัน จึงจับกุ้ง ผลการศึกษาพบว่ากุ้งในกลุ่มทดลองมีผลผลิตเฉลี่ย 1,300 กิโลกรัมต่อไร่ มีน้ำหนักกุ้งเฉลี่ย 21.8 กรัม และมีอัตราการรอดตาย 85.4 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีผลผลิตเฉลี่ย 780 กิโลกรัมต่อไร่ น้ำหนักกุ้งเฉลี่ย 15.9 กรัม และมีอัตราการรอดตาย 70.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ และ ตับและตับอ่อน (hepatopancreas) ของกุ้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ thiosulphate citrate bile salt sucrose (TCBS) ในกลุ่มทดลองที่มีอายุ 30, 60, 90 และ 120 วัน โดยมีปริมาณแบคทีเรียในตับและตับอ่อนที่มีโคโลนีสีเหลือง 2.69×10^3, 3.76×10^2, 1.32×10^3 และ 2.15×10^2 โคโลนีต่อกรัม และโคโลนีสีเขียวที่พบในตับมีปริมาณ 1.39×10, 9.27×10, 1.59×10 และ 1.07×10^2 โคโลนีต่อกรัม ส่วนปริมาณโคโลนีสีเหลืองที่พบในลำไส้ 3.01×10^2, 3.14×10^2, 7.81×10 และ 2.79×10^2 โคโลนีต่อกรัม และปริมาณแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีเขียว 0, 7.80×10, 3.60×10 และ 1.65×10^2 โคโลนีต่อกรัม ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียในตับและตับอ่อน ที่มีโคโลนีสีเหลือง 3.24×10^3, 3.86×10^2, 3.86×10^3 และ 1.06×10^4 โคโลนีต่อกรัม และโคโลนีสีเขียวที่พบในตับและตับอ่อนมีปริมาณ 2.89×10, 1.05×10^2, 5.96×10 และ 8.56×10^2 โคโลนีต่อกรัม ส่วนปริมาณโคโลนีสีเหลืองที่พบในลำไส้ 3.43×10^2, 3.73×10^2, 1.52×10^2 และ 2.39×10^2 โคโลนีต่อกรัม และปริมาณแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีเขียว 0, 3.03×10^2, 9.62×10 และ 4.71×10^2 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชนิดของแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อ คือ *Vibrio fluvialis*, *V. vulnificus*, *V. cholerae* (non-01)

คุณสมบัติของน้ำในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันและอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การให้อาหารที่ผสมโปรไบโอติกในระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำสามารถลดปริมาณเชื้อ *Vibrio* ในทางเดินอาหารและตับและตับอ่อน ส่งผลให้กุ้งมีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม

วรรณพร ฮุ้ยสกุล
ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

11 / พ.ค / ๒๕๕๐

Wanaporn Huisakul 2007: Effect of Probiotics (*Lactobacillus* spp.) in Rearing Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) in a Closed System. Master of Science (Fisheries Science), Major Field: Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor: Assistant Professor Chalor Limsuwan, Ph.D. 79 pages.

The efficacy of *Lactobacillus* spp. as a probiotic was investigated in a closed pond culture system of black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Postlarvae (PL) 18 were stocked into six ponds (three experimental ponds and three control ponds) with an area of 8,000 m^2 (5 rai) at a density of 70,000 PL/rai (44 PL/m^2). The salinity levels during the culture period ranged from 6 to 39 parts per thousand (ppt). Spores of *Lactobacillus casei* and *L. plantarum*, 3 $\times 10^8$ cells per 0.5 kg, were mixed with the pelleted feed throughout the culture period. For the control group, only pelleted feed was used during the culture period. The shrimp were harvested after 140 days. The average yield was 1,300 kg/rai, the shrimp weight was 21.8 g and the survival rate was 85.4 % compared with the control ponds, for which the yield was 780 kg/rai, the shrimp weight was 15.9 g and the survival rate was 70.2%, respectively. Bacteria were isolated from hepatopancreas and intestine and cultured on thiosulphate citrate bile salt sucrose agar (TCBS). The number of *Vibrio* spp. bacteria with yellow colonies on TCBS agar from the hepatopancreas in the experimental group were 2.69 x 10^3 , 3.76 x 10^2, 1.32 x 10^3, 2.15 x 10^2 CFU/g, and those with green colonies were 1.39 x 10 , 9.27 x 10, 1.59 x 10, 1.07 x 10^2 CFU/g, respectively. The number of yellow colonies from the intestine were 3.01 x 10^2 , 3.14 x 10^2, 7.81 x 10, 2.79 x10^2 CFU/g, and the number of green colonies were 0, 7.80 x 10 , 3.60 x 10, 1.65 x 10^2 CFU/g. The number of *Vibrio* spp. bacteria with yellow colonies on TCBS agar from the hepatopancreas in the control group were 3.24 x10^3 , 3.86 x 10^2, 3.86 x 10^3, 1.06 x 10^2 CFU/g, and those with green colonies were 2.89 x 10, 1.05 x 10^2, 5.96 x 10, 8.56 x 10^2 CFU/g, respectively. The number of yellow colonies from the intestine were 3.43 x 10^2, 3.73 x 10^2, 1.52 x 10^2, 2.39 x 10^2 CFU/g, and the number of green colonies were 0, 3.03 x 10^2, 9.62 x 10, 4.71 x 10^2 CFU/g, respectively. There was a statistically significant difference between the treatment and control groups ($P<0.05$). *Vibrio* spp. isolated from the hepatopancreas and intestine were identified as *Vibrio fluvialis, V. vulnificus* and *V. cholerae* (non-01).

There was no statistically significant difference ($P>0.05$) in the water quality parameters between the experimental and control ponds. The results of this study indicated that using probiotics during shrimp culture could reduce *Vibrio* spp. bacteria in the intestine and hepatopancreas which resulted in better survival and growth rates.

Wanaporn Huisakul — Student's signature

Chalor Limsuwan — Thesis Advisor's signature

11 / 05 / 2007

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชลอ ลิ้มสุวรรณ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิติ ชูเชิด กรรมการสาขาวิชาเอก ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนะนำในด้านการทดลองและการตรวจแก้ไขข้อมูลต่างๆในการเขียนวิทยานิพนธ์ตลอดจนความช่วยเหลืออื่นๆจนกระทั่งวิทยานิพนธ์สำเร็จด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณกัญญา ปัญญาชาติรักษ์ ที่เอื้อเฟื้อผลิตภัณฑ์และทุนอุดหนุนในการวิจัยและขอขอบคุณ คุณจงกล ผลวงษ์ นักวิชาการที่ดูแลควบคุมการเลี้ยงกุ้งของไพศาลฟาร์ม อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี ที่ให้ความช่วยเหลือและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิจัย ตลอดจนอำนวยความสะดวกต่างๆในการทำวิทยานิพนธ์

ท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่คอยให้กำลังใจและคำแนะนำต่างๆ และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ ที่คอยช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

วรรณพร ฮุ้ยสกุล

เมษายน 2550

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	25
ผลและวิจารณ์	37
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	61
ภาคผนวก	70

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1	แสดงการเปรียบเทียบสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ	10
2	ผลผลิตของบ่อทดลองที่มีการใช้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อควบคุม	38
3	น้ำหนักเฉลี่ยและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในบ่อที่มีการใช้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อควบคุม	39
4	คุณสมบัติของน้ำในบ่อทดลองและบ่อควบคุม	46
5	ปริมาณแบคทีเรียเมื่อทำการเพาะเชื้อ	55
6	ค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	58

ตารางผนวกที่

1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตในบ่อทดลองที่ใช้โปรไบโอติกและบ่อควบคุม	71
2	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำในบ่อทดลองที่ใช้โปรไบโอติกและบ่อควบคุม	72
3	คุณสมบัติของน้ำตลอดการเลี้ยง	73

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการคัดเลือกโปรไบโอติก	18
2	การปล่อยลูกกุ้ง	29
3	การปล่อยลูกกุ้งลงบ่อเลี้ยง (ต่อ)	29
4	บ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	30
5	แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง	32
6	เครื่องชั่งน้ำหนัก	32
7	เครื่องวัดความเค็ม	32
8	ขวดเก็บน้ำ	33
9	Secchi disk	33
10	YSI DO	33
11	การวัดค่าความโปร่งแสง	34
12	การวัดปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิ	34
13	อาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS	34
14	อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA	35
15	การชั่งน้ำหนักกุ้ง	35
16	การวัดความยาวกุ้ง	35
17	การจับกุ้ง	36
18	การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในบ่อที่มีการใช้โปรไบโอติกและบ่อควบคุม	40
19	การเปลี่ยนแปลงความโปร่งแสงของน้ำตลอดการเลี้ยง	47
20	การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำตลอดการเลี้ยง	48
21	การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำในตอนเช้าตลอดการเลี้ยง	48
22	การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำในตอนบ่ายตลอดการเลี้ยง	49
23	การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในตอนเช้าตลอดการเลี้ยง	49
24	การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในตอนบ่ายตลอดการเลี้ยง	50
25	การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในตอนเช้าตลอดการเลี้ยง	50
26	การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในตอนบ่ายตลอดการเลี้ยง	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
27	การเปลี่ยนแปลงความนำไฟฟ้าของน้ำตลอดการเลี้ยง	51
28	การเปลี่ยนแปลงความเป็นด่างของน้ำตลอดการเลี้ยง	52
29	การเปลี่ยนแปลงความกระด้างของน้ำตลอดการเลี้ยง	52
30	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียรวมของน้ำตลอดการเลี้ยง	53
31	การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนของน้ำตลอดการเลี้ยง	53
32	ปริมาณแบคทีเรียในตับและตับอ่อนที่มีโคโลนีสีเหลือง	56
33	ปริมาณแบคทีเรียในตับและตับอ่อนที่มีโคโลนีสีเขียว	56
34	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ที่มีโคโลนีสีเหลือง	57
35	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ที่มีโคโลนีสีเขียว	57
36	ลำไส้กุ้งที่ให้โปรไบโอติกผสมในอาหาร	59
37	ลำไส้กุ้งที่ไม่ได้ให้โปรไบโอติกผสมในอาหาร	59

ผลของโปรไบโอติก (*Lactobacillus* spp.) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด

Effect of Probiotics (*Lactobacillus* spp.) in Rearing Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) in a Closed System

คำนำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากผลผลิตส่วนใหญ่สำหรับการส่งออกและมีมูลค่าสูง ผลตอบแทนจึงอยู่ในระดับที่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบอาชีพการเกษตรอย่างอื่น ทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้รับความสนใจและพัฒนาไปอย่างรวดเร็วในยุคแรกๆ การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา (intensive) จะมีการปล่อยลูกกุ้งในอัตราความหนาแน่นสูง และเลี้ยงในระบบเปิดแต่หลังจากเกิดโรคระบาดเนื่องจากไวรัสหัวเหลือง (yellow-head virus) ในปี พ.ศ. 2533 และไวรัสดวงขาว (white spot syndrome virus) ปี พ.ศ. 2537 ได้ทำความเสียหายแก่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำอย่างรุนแรงทุกพื้นที่ (ชลอ, 2543) ทำให้ผู้เลี้ยงกุ้งต้องพยายามหาวิธีในการเลี้ยงกุ้งเพื่อให้ได้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุน โดยการออกแบบฟาร์มให้มีระบบต่างๆที่ดีได้แก่ มีบ่อพักน้ำ การเตรียมบ่อที่ดี ควบคุมอัตราการปล่อยลูกกุ้งให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมพร้อมกับการจัดการทางด้านวิชาการ และด้านบริหารให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เพื่อที่จะทำให้การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาได้ผลตอบแทนสูงสุด และมีการบำบัดน้ำที่ระบายออกจากบ่อในขณะที่จับกุ้ง ก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เกษตรกรบางส่วนได้ใช้วิธีชีวภาพบำบัด หรือการควบคุมและป้องกันโรคโดยการใช้แบคทีเรียที่มีประโยชน์บางชนิดเพื่อไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคในกุ้ง เช่น การใช้เอนไซม์หรือผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้จากแบคทีเรียเติมลงในน้ำหรือผสมกับอาหารเพื่อป้องกันโรคและเพื่อกระตุ้นให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตได้ดีขึ้น (สินธิ และ ลิลา, 2541) การใช้โปรไบโอติก (probiotic) ได้รับความนิยมจากเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งสูงมาก เนื่องจากการใช้โปรไบโอติกเป็นการใช้เพื่อป้องกันโรคซึ่งแตกต่างจากการใช้สารปฏิชีวนะ (antibiotic) ซึ่งจะใช้สำหรับการรักษาและก่อให้เกิดปัญหายาตกค้างได้ ลักษณะการใช้ โปรไบโอติกเป็นการนำจุลินทรีย์ซึ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เสริมลงในอาหาร เพื่อทำหน้าที่ปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร (Fuller, 1989) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้จัดโปรไบโอติกหรือสารเสริมชีวนะว่าเป็นวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต มีประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ ทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารอยู่ในสมดุลช่วยให้ระบบย่อยอาหารดีขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้นและไม่มี

ปัญหาต่อ สิ่งแวดล้อม การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมรวมทั้งการดื้อยาหรือสารตกค้าง (คนึงนิจ, 2541) จากการศึกษาของ Rengpipat (1998) ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ S11 เป็นโปรไบโอติกใส่ลงในไรสีน้ำตาล (*Artemia* sp.) เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ พบว่า น้ำหนัก ความยาวของลูกกุ้ง และอัตราการรอดตายดีกว่ากลุ่มควบคุมและเมื่อเหนี่ยวนำลูกกุ้งให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม จากการศึกษาของนิตยา (2549) กล่าวว่า การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกชนิด *Bacillus subtillis* และ *B. licheniformis* ปริมาณ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำได้เป็นที่น่าพอใจ โดยควรให้ จุลินทรีย์ดังกล่าวอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเลี้ยง

สำหรับการศึกษาครั้งนี้เพื่อต้องการเปรียบเทียบการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายของกุ้งและปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* sp.ในลำไส้และตับและตับอ่อน (hepatopancreas) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกและในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ผลผลิต และอัตราแลกเนื้อของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกและในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก

2. ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp.ในลำไส้ ตับและตับอ่อน ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกและในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก

การตรวจเอกสาร

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทย

จากประวัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย เริ่มมีการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบธรรมชาติ โดยอาศัยลูกกุ้งจากธรรมชาติในปี พ.ศ. 2473 และหลังจากกรมประมงประสบความสำเร็จในการเพาะพันธุ์กุ้งกุลาดำ ในปี พ.ศ. 2516 จึงเริ่มมีการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำกันอย่างแพร่หลายปี พ.ศ. 2521 (วิทย์, 2525) และต่อมาในปี พ.ศ. 2525 มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงมาเป็นแบบกึ่งพัฒนาโดยปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นประมาณ 15-25 ตัวต่อตารางเมตร มีการใช้เครื่องให้อากาศและการจัดการอื่นๆเพิ่มขึ้น ทำให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นภายหลังจึงเปลี่ยนเป็นการเลี้ยงเป็นแบบพัฒนา โดยเลี้ยงในบ่อที่มีขนาดเล็กลง มีบ่อพักน้ำ มีเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอ มีการใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปและเปลี่ยนถ่ายน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงทำให้การเลี้ยงแบบนี้ให้ปริมาณผลผลิตที่สูงมาก (ชลอ, 2534)

หลังจากประสบปัญหาการระบาดของโรคไวรัสหัวเหลือง ในปี พ.ศ. 2533 และไวรัสดวงขาว ในปี พ.ศ. 2537 ทำให้เกษตรกรต้องเปลี่ยนระบบจากการเลี้ยงระบบเปิดที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำมาก เป็นระบบปิดที่มีการเติมน้ำลงในบ่อเพียงครั้งเดียว หลังจากปล่อยกุ้งไปแล้วจะไม่มีการเติมหรือระบายน้ำออกจากบ่อ การเลี้ยงแบบนี้คันบ่อต้องสามารถกักน้ำได้ดี ไม่รั่วซึม ความเค็มของน้ำทะเลต้องไม่สูงมากหรืออาจเลี้ยงในช่วงที่มีฝนตกติดต่อกันเพื่อช่วยเติมน้ำ และควบคุมสภาพน้ำในบ่อไม่ให้เข้มข้นเกินไป การเลี้ยงแบบนี้ป้องกันโรคได้ดีและลดปัญหาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้มาก แต่เกษตรกรผู้เลี้ยงต้องมีความรู้ความเข้าใจในการจัดการควบคุมคุณภาพน้ำและแพลงก์ตอนได้ดี ปล่อยลูกกุ้งไม่หนาแน่นมาก (ชลอ, 2543; พยุง, 2546)

โรคแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำ

แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้กุ้งกุลาดำป่วยเป็นโรคส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Vibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobic อยู่ในวงศ์ Vibrionaceae รูปร่างเป็นแท่งโค้งหรือตรง มีขนาดความกว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4-2.6 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยการใช้แส้ (flagella) ในอาหารเหลว (liquid media) เคลื่อนไหวโดยการใช้ monotrichous flagella เมื่อเจริญในอาหารแข็ง (solid media) สร้าง lateral flagella จำนวนมาก ไม่สร้าง endospore หรือ microcyst

ต้องการโซเดียมอิออน (Na^+) กระตุ้นการเจริญเติบโต โดยปริมาณที่ต้องการคือ 5-700 มิลลิโมล แตกต่างกันแล้วแต่ชนิด ทุกชนิดสามารถใช้สารอินทรีย์เป็นตัวให้อิเลคตรอน (chemoorganotroph) ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม D-glucose มีการใช้ น้ำตาลแบบ fermentative ได้กรดและส่วนใหญ่ไม่ให้แก๊ส ส่วนใหญ่มีเอนไซม์ oxidase ซึ่งก็คือ cytochrome C ที่ถูกออกซิไดซ์แล้ว พบในแหล่งน้ำที่มีความเค็มช่วงกว้างโดยเฉพาะในทะเล ปากอ่าวและในทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล มีบางชนิดที่พบในบริเวณน้ำจืด อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตคือ 20-30 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีบน marine agar (MA) (Zobell, 1941) และ blood agar (Lee *et al*.,1981) ที่มีเกลือ 0.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำเค็มที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (Beuchat, 1974) เป็นแบคทีเรียที่ฉวยโอกาส (opportunistic bacteria หรือ facultative pathogen) คือเมื่อร่างกายของสัตว์เครียดจะเข้าทำอันตรายได้ ทำให้เกิดโรคแบบ secondary infection (ลิลา และคณะ, 2540; Austin and Austin, 1987) จากศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา, สรีรวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเชื้อชนิดนี้ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และ Tetracycline ที่ใช้ทดสอบ (จิราพร และคณะ, 2530)

จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียสกุล *Vibrio* มีอย่างน้อย 25 ชนิดดังนี้คือ *V. alginolyticus, V. anguillarum, V. camphelii, V. carchariae, V. cholerae, V. costecola, V. damsela, V. fischeri, V. fluviaris, V. gazogenes, V. harveyi, V. logei, V. marinus, V. metchnikovii, V. natriegens, V. nereis, V. nigripulchritudo, V. ordalii, V. pelagius* 1 และ 2, *V. parahaemolyticus, V. proteolyticus, V. proteus, V. salmonicida, V. splendidus* 1 และ 2, *V. vulnificus* และ *Vibrio* spp. (อมรชัย, 2536; Austin and Austin, 1987)

จากผลการสำรวจกุ้งที่ป่วยเป็นโรคพบว่ามีสาเหตุมาจากแบคทีเรียชนิด *V. parahaemolyticus* เป็นชนิดเด่น 23.08 เปอร์เซ็นต์ มักพบบริเวณที่มีสารอินทรีย์สูง *V. anguillarum* 22.27 เปอร์เซ็นต์ , *V. vulnificus* 14.37 เปอร์เซ็นต์ , *V. damsela* 10.32 เปอร์เซ็นต์ , *V. alginolyticus* 4.86 เปอร์เซ็นต์, *Vibrio* spp. 18.02 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียชนิดอื่นๆ 7.08 เปอร์เซ็นต์ (Krantz *et al*., 1969; Baross and Liston, 1970; Luangtongkum and Poonsuk, 1983; Nash *et al*. 1992) ในปี ค.ศ. 1980 พบว่า *V. anguillarum* เพียงชนิดเดียวที่ทำให้เกิดโรคในปลา (Egidius, 1987) และปริมาณที่ทำให้เกิดโรค (pathogenicity) คือ 10^7 โคโลนีต่อกรัม หรือ 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Sakazaki, 1968; ดารุณี และคณะ, 2530)

จากการศึกษาของ Miyamoto *et al*. (1969) พบว่า *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์กับการทำให้เกิดอาการของทางเดินอาหารจึงจัดเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร (enteropathogenic bacteria) เนื่องจากเชื้อนี้สามารถสร้างเอนไซม์ hemolysin ทำให้เกิด hemolysis กับเม็ดเลือดแดงในคนซึ่งจะพบ *V. parahaemolyticus* มากในฤดูร้อนและพบน้อยในฤดูหนาว มักพบในสัตว์ทะเลและแพลงก์ตอนต่างๆ เมื่อสัตว์ทะเลกินแพลงก์ตอนเข้าไป ก็จะทำให้เชื้อแพร่กระจายในตัวสัตว์นั้นด้วย (Fujino *et al*., 1953; Miyamoto *et al*., 1969; Kaneko and Colwell, 1973) แต่สำหรับการเลี้ยงกุ้งจะพบโรควิบริโอซิส (Vibriosis) ได้ตลอดในระหว่างการเลี้ยงเพราะ *Vibrio* เป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ทั่วไปในน้ำกร่อยและจะเข้าทำอันตรายเมื่อกุ้งไม่แข็งแรง ซึ่งมีผลทำให้กุ้งป่วยและตายในที่สุด แต่ถ้ากุ้งแข็งแรงพอก็จะสามารถกำจัดแบคทีเรียนี้ออกไปได้หรือกลายเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง (พรเลิศ และคณะ, 2537) โรคที่เกิดจาก *Vibrio* มีหลายลักษณะเช่น รุนแรงเฉพาะที่หรือเข้าไปในระบบเลือดแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย (septicemia) และตายในที่สุด (Lightner and Redman, 1977; Lightner, 1988) และอาจมีอาการเปลือกกร่อนสีน้ำตาลดำ เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) ออกมาย่อยไคติน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเปลือกกุ้งได้ นอกจากนี้แบคทีเรียยังสามารถทำอันตรายภายในตัวกุ้งได้เป็นแห่งๆ เช่นเกิดบริเวณคล้ายฝีซึ่งมีการอักเสบ (encapsulated abcesses) ที่กล้ามเนื้อ เหงือก และอวัยวะภายใน กุ้งที่ติดเชื้อรุนแรงจะพบบริเวณขอบบ่ออาการอ่อนเพลีย ไม่กินอาหาร สีผิดปกติไปจากกุ้งที่ไม่ป่วย โดยทั่วไปจะเปลี่ยนเป็นสีแดงหรือสีฟ้าอาจพบจุดดำตามลำตัว บริเวณแผ่นปิดเหงือกจะบวม ตามเปลือกจะมีจุดสีขาว (ลิน, 2532) เมื่อนำกุ้งป่วยมาเพาะเชื้อจากบริเวณตับและตับอ่อนหรือจากน้ำเลือด จะพบแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก กุ้งป่วยจะมีกล้ามเนื้อขาวขุ่น การแข็งตัวของเลือดจะช้า มีการรวมตัวกันของเม็ดเลือดในแอ่งเลือด (hemal sinuses) มักจะพบแบคทีเรียและเม็ดเลือดที่ตายแล้วรวมอยู่ในบริเวณนี้ด้วย (Johnson, 1983) เกิดการเปลี่ยนแปลงในตับและตับอ่อน โดยพบว่าการสะสมไขมันและไกลโคเจนมีปริมาณลดลง เซลล์ของตับและตับอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงมาก โดยเฉพาะบริเวณที่ติดกับทางเดินอาหารส่วนกลางจะมีปริมาณของเม็ดเลือด (hemocyte) เพิ่มขึ้น (hemocytic infiltration) ในบริเวณเนื้อเยื่อระหว่างท่อของเซลล์ตับและตับอ่อน (interstitial tissue) มีการตายและลอกหลุดของเซลล์ตับและตับอ่อน (ชลอ, 2530; ชลอ, 2534; Anderson *et al.*, 1988)

ในอเมริกากลางได้มีรายงานเกี่ยวกับโรควิบริโอซิสหลายโรค เช่น bolotos syndrome และ seagull syndrome เป็นต้น ส่วนในประเทศไทยมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไป เช่น โรคเสี้ยนดำเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในตัวกุ้ง โดยมีเซลล์เม็ดเลือดของกุ้งล้อมรอบเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นมีการสร้างเมลานินรอบๆเกิดเป็นสีดำขึ้นมีลักษณะคล้ายเสี้ยนในกล้ามเนื้อกุ้ง มักพบกับ

กุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่ำหรือการเลี้ยงระบบความเค็มปกติแต่เป็นช่วงน้ำจืดหรือหน้าฝน (ชลอ, 2534) โรคกุ้งเรืองแสงหรือโรคเพชรพลอย เป็นโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* พบในกุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกราม โดยส่วนใหญ่จะพบมากในบ่อเพาะฟัก ตั้งแต่ระยะนอเพลียสจนถึงระยะ mysis โดยจะมีอัตราการตาย 70-100 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับขนาดของลูกกุ้ง อาการที่พบจะมีเศษอาหาร ตะกอนดินติดตามรยางค์ ในที่มีแสงสว่างพบอาการตัวขุ่น ว่ายน้ำไม่สะดวก ไม่ค่อยเคลื่อนไหวในกรณีที่ติดเชื้อมาก ๆ ลูกกุ้งจะจมลงไปอยู่ก้นบ่อและตายภายในระยะเวลา 1-2 วัน และเมื่ออยู่ในที่มืดจะเห็นการเรืองแสงมักพบในพื้นที่ริมชายฝั่งทะเล

การควบคุมโรควิบริโอซิส

การเตรียมบ่อที่ดีก่อนการเลี้ยงกุ้งในรอบต่อไปและการป้องกันการเกิดสาหร่ายหรือขี้แดดที่พื้นบ่อ โดยการควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ในระยะเดือนแรกโอกาสที่จะเกิดสาหร่ายบริเวณพื้นบ่อมีน้อย และในระหว่างการเลี้ยงต้องควบคุมการให้อาหาร อย่าให้มีเหลือตกค้างเพราะจะเป็นการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียได้ง่าย การใช้ยาในการป้องกันและรักษาโรคในระยะที่กุ้งเริ่มแสดงอาการผิดปกติแต่ยังไม่ป่วยมากจำเป็นจะต้องทำควบคู่กับการปรับปรุงคุณภาพน้ำและพื้นบ่อด้วยจึงจะได้ผล การใช้ยาในการป้องกันและรักษาจะได้ผลน้อยมากถ้าไม่สามารถควบคุมคุณภาพน้ำไม่ให้แกว่งมากและพื้นบ่อให้สะอาดได้ ยาต้านจุลชีพที่ใช้จะต้องเป็นยาที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอนุญาตให้ใช้เท่านั้น และต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของกรมประมงโดยเคร่งครัดเพื่อป้องกันปัญหายาตกค้าง (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

การใช้จุลินทรีย์เสริมในอาหารสัตว์โดยตรงหรือที่เรียกว่าโปรไบโอติก

โปรไบโอติก (probiotic) มาจากภาษากรีก แปลว่า เพื่อชีวิต และต่อมามีคนให้ความหมายของโปรไบโอติกอีกมากมาย ดังนี้ Lilly and Stellwell (1965) ได้อธิบายถึงโปรไบโอติก คือ สารที่ขับออกมาโดยจุลินทรีย์ซึ่งมีผลต่อการเจริญของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ โดยที่ Parker (1974) ให้คำจำกัดความของโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตและสารซึ่งสนับสนุนให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร ในขณะที่ Fuller (1989) ให้ความหมายของโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ใช้เสริมในอาหารและก่อให้เกิดประโยชน์กับสัตว์เจ้าบ้าน (host) โดยช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของสัตว์เจ้าบ้าน ซึ่งจากคำจำกัดความนี้โปรไบโอติกจะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและให้กับสัตว์เจ้าบ้าน โดยการผสมอาหาร

ลักษณะของโปรไบโอติกที่ดีตามรายงานของ Fuller (1989)

1. ควรเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์ที่ได้รับโปรไบโอติก เช่น เพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์ หรือ ต้านทานการเกิดโรคในสัตว์
2. ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค
3. เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและสามารถเพิ่มจำนวนได้มาก
4. สามารถมีชีวิตอยู่รอดและทำงานได้ในกระเพาะอาหาร
5. มีความคงทนและสามารถรอดชีวิตได้ในสภาพการรักษาและในขณะใช้งาน

สัตว์น้ำจำพวกหอย ปลา หรือกุ้ง เมื่ออยู่ในระยะวัยอ่อนที่จะต้องดำรงชีวิตอยู่อย่างอิสระในสภาพแวดล้อม หรือบ่อเลี้ยงนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องกินอาหารเพื่อการอยู่รอดทันที และมักจะประสบปัญหาเรื่องเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ การติดเชื้อก่อโรคในลำไส้และเกิดภาวะไม่สมดุลระหว่างเชื้อที่มีประโยชน์และไม่มีประโยชน์เกิดขึ้นและสภาวะดังกล่าวมักจะพบว่าเชื้อที่ไม่มีประโยชน์รวมถึงเชื้อก่อโรคต่างๆจะมีมากกว่าเชื้อที่มีประโยชน์หรืออาจเรียกภาวะที่เกิดขึ้นว่า “microbiotassociated disorder” จึงทำให้อัตราการรอดตายของสัตว์เลี้ยงต่ำหรือไม่ได้มากเท่าที่ควร 2 สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดภาวะนี้ก็คือสัตว์น้ำ ประเภทดังกล่าวลำไส้ยังไม่พัฒนาเต็มที่แต่จะต้องมีการใช้งานทันทีเมื่อดำรงชีวิตอิสระในสภาพแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด (Timmermans, 1987) และระบบภูมิคุ้มกันยังพัฒนาไม่สมบูรณ์เต็มที่ (Vadstein, 1997) การเสริมจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในระยะนี้เพื่อทำให้อัตราการรอดตายของสัตว์น้ำสูงขึ้นได้ (Gatesoupe, 1999)

จุลินทรีย์ในลำไส้ส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียสกุล *Vibrio* และ *Pseudomonas* โดดเด่นกว่ากลุ่มอื่นๆ (Yasuda and Kitao, 1980; Mugora, 1987; Sakata, 1990) นั่นก็หมายความว่ากลุ่มโปรไบโอติกที่มีประโยชน์ในสัตว์น้ำก็มีความหลากหลายและอาจจะมีความแตกต่างกับสัตว์บกทั้งในแง่ของชนิด คุณสมบัติและการนำไปใช้ ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้มีการใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ประเภทโปรไบโอติกและกลุ่มที่มีประโยชน์มาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิต จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกมีหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. , *Bacillus* sp., ยีสต์และเชื้อราบางชนิด ซึ่ง ศิริรัตน์ (2540) อธิบายว่ามีการใช้จุลินทรีย์เสริมในอาหารสัตว์เพื่อส่งผลให้เกิดสมดุลในระบบทางเดินอาหารมานานแล้วในทวีปยุโรป ต่อมามีการใช้โปรไบโอติกในสัตว์น้ำ

เช่น Austin (1995) ได้นำโปรไบโอติกมาผสมอาหารให้แก่ปลา และพบว่าปลามีน้ำหนักดีและแข็งแรง ส่วนในประเทศเอกวาดอร์มีผู้ใช้โปรไบโอติกในการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อน ผลที่ได้รับคือกุ้งมีการเจริญเติบโตดี และ Byun (1997) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ *Lactobacillus* sp. DS 12 พบว่า *Lactobacillus* sp. DS 12 สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงปลา *Paralichthys olivaceus* ได้ และยังทนต่อเกลือน้ำดีและกรด รวมทั้งมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาด้วยซึ่ง Shivappa and Chanratchakool (1997) รายงานการใช้แบคทีเรียซึ่งมี *Bacillus* ในสัดส่วนที่สูงใส่ลงในบ่ออนุบาลช่วยให้กุ้งมีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตสูงขึ้นกว่าการใช้ benzalkonium chloride (BKC) เมื่อนำ *Bacillus* มาผสมกับอาหารให้แก่ลูกกุ้งกุลาดำกินในอัตราส่วนต่างๆกันพบว่า ลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *V. harveyi* สูงและมีสุขภาพแข็งแรงการเจริญเติบโตดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก (ลิลา และคณะ, 2540; นิตยา, 2549; Phianphak, 1997)

สินธิ และ ลิลา (2541) นำผิวดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งมาทำการแยกสายพันธุ์ *Bacillus* มี 6 สายพันธุ์โดยมี PO_{25} , PO_{26} และ PO_{27} ผสมในอาหารให้กุ้งกุลาดำกิน พบว่ากุ้งมีอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุม ต่อมา วัชริยา และคณะ (2547) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียแกรมบวกสกุล *Bacillus* ที่แยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำพบว่ามี 3 ชนิด คือ *B. sphaericus, B. pumilus และ B. subtilis* เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* พบว่า *B. pumlius* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. harveyi* และเมื่อทำการศึกษาด้วยกล้อง transmission electron microscope (TEM) พบว่าเชื้อ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิดสามารถที่จะทำลายผนังเซลล์ของ *V. harveyi* ได้และการที่กุ้งได้รับแบคทีเรีย *B. sphaericus* และ *B. subtilis* จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งสูงกว่ากลุ่มควบคุม

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของโปรไบโอติกซึ่งเตรียมจาก lactic acid bacteria 6 สายพันธุ์ พบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกที่เตรียมจาก *Lactobacillus acidophillus*, *L. panthallum*, *L. pentosus* มีอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุม (จตุพงษ์ และคณะ, 2543) และจากการศึกษาของ Rengpipat (1998) ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ S11 เป็นโปรไบโอติกให้ไรสีน้ำตาล (*Artemia* sp.) กินแล้วนำมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ พบว่า อัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุม

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ (Parker, 1974; Fuller, 1989)

โปรไบโอติก	ยาปฏิชีวนะ
คุณสมบัติ	**คุณสมบัติ**
1. เป็นสิ่งมีชีวิต	1. เป็นสารเคมีบริสุทธิ์
2. ไม่ดูดซึมในทางเดินอาหาร	2. ดูดซึมได้ในทางเดินอาหาร
3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพการใช้อาหาร	3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร (ในสัตว์บก)
4. ไม่มีการตกค้างในเนื้อเยื่อ	4. ตกค้างในเนื้อเยื่อได้
5. ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์หรือการดื้อยาของจุลินทรีย์	5. อาจทำให้เชื้ออื่นเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยา
กลไกการออกฤทธิ์	**กลไกการออกฤทธิ์**
1. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อเฉพาะที่	1. ให้ฤทธิ์การต้านเชื้อได้ทั่วร่างกายและออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่างๆได้มากชนิด
2. เจริญได้ในทางเดินอาหารและแย่งอาหารของเชื้อที่ก่อโรค	2. ขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ DNA, RNA และโปรตีน

การเกิดการสร้างโคโลนี (colonization) ของโปรไบโอติกในลำไส้

ศักยภาพของการเกิด colonization ของแบคทีเรียเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องนำมาพิจารณาในการคัดเลือกแบคทีเรียโปรไบโอติก บางครั้งแบคทีเรียโปรไบโอติกอาจเป็นแบคทีเรียที่ไม่ได้เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น แต่อาจเป็นแบคทีเรียที่ให้กับสัตว์เจ้าบ้านในปริมาณมากและให้แบคทีเรียชนิดนั้นอย่างต่อเนื่อง จนพัฒนาไปเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นของสัตว์เจ้าบ้านนั้นๆ

การทดลองการเกิดการยึดเกาะ (adhesion) ของแบคทีเรียโปรไบโอติกโดย Joborn *et al*., 1997 แสดงให้เห็นว่า *Carnobacterium* sp. สามารถยึดเกาะกับผนังลำไส้ของ rainbow trout ได้โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ และ Olsson *et al*., (1992) ทดลองเปรียบเทียบการเกิด adhesion ของแบคทีเรียกับผนังลำไส้ระหว่างแบคทีเรียในทางเดินอาหารกับแบคทีเรียที่อยู่บริเวณผิวหนังของ

ปลา turbot พบว่า แบคทีเรียที่สามารถเกิด adhesion กับผนังของลำไส้ของ turbot จะมีความจำเพาะมาก ดังนั้นแบคทีเรียที่อยู่ในทางเดินอาหารจึงยึดเกาะกับผนังลำไส้ได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ผิวหนังของปลา turbot การเกิด adhesion ของแบคทีเรียโปรไบโอติกกับบริเวณผนังลำไส้ของสัตว์เจ้าบ้านสามารถช่วยป้องกันการติดเชื้อก่อโรคได้ เนื่องจากบริเวณผนังของลำไส้เป็นบริเวณหนึ่งที่สามารถเกิดการติดโรคได้ง่ายและมีรายงานเกี่ยวกับความต้องการเหล็กในรูปอิสระยังมีผลต่อการก่อโรคและความรุนแรงของโรคที่เกิดจาก *Vibrio* sp. ในสัตว์น้ำเค็ม โดยพบว่าการแก่งแย่งเหล็กในรูปอิสระระหว่างแบคทีเรียโปรไบโอติกกับ *Vibrio* sp. มีผลยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* sp. ในปลา turbot วัยอ่อนได้ (Gatesoupe, 1999)

วรรณิกา (2539) ได้นำ *Bacillus* S11 (*Bacillus mycoides*) มาผสมในอาหารกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* S11 จะมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* S11 ส่วน Douillet and Langdon (1994) ทดลองใช้โปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงหอยนางรม (*Crassostrea gigas* Thunberg) โดยเสริมแบคทีเรียสายพันธุ์ CA2 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงหอยนางรม พบว่า หอยนางรมมีการเจริญเติบโตอย่างสม่ำเสมอในแต่ละฤดู

Zani (1998) ทำการศึกษาการผลิตและทดสอบโปรไบโอติก ด้วยเชื้อ *B. cereus* (probiotic CenBiot) นำเซลล์แห้งแล้วจึงนำมาผสมกับแป้งข้าวโพดแล้วให้สุกรกิน พบว่า มีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับ Furazalidone คือช่วยลดอาการท้องร่วงได้มากกว่ากลุ่มควบคุม และ Yeo and Kim (1997) ทดลองให้อาหารซึ่งมีส่วนผสมของ chloroxytetracyclin (antibiotic) 0.1 เปอร์เซ็นต์ , *Lactobacillus casei* (probiotic) 0.1 เปอร์เซ็นต์ หรือ yucca extract 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงไก่ พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกจะมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ลักษณะของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus*

Lactobacillus เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติค มีรูปร่างเป็นท่อน ย้อมติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส (catalase) จัดอยู่ในสกุล *Lactobacillus* เป็นสมาชิกของวงศ์ Lactobacillaceae (Buchanan *et al*., 1974) *Lactobacillus* แบ่งเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ คือ homofermentative bacteria กับ heterofermentative bacteria พวก homofermentative bacteria เป็นแบคทีเรียซึ่งสร้างกรดแลคติคจากน้ำตาลกลูโคสได้ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ยังแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มย่อย ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ กลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เรียกว่า streptobacterium และกลุ่มที่เจริญได้ดีที่ 45 องศาเซลเซียส เรียกว่า thermobacterium ส่วน heterofermentative bacteria เป็นพวกซึ่งเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติก 50 เปอร์เซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ 20-25 เปอร์เซ็นต์ (วิโรจน์, 2522; เพิ่มพงษ์, 2529) *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียที่เป็น normal flora ในท่อทางเดินอาหารของคนและสัตว์ซึ่งชนิดของ *Lactobacillus* ที่พบในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน (Gilliland *et.al*., 1975) ซึ่งเพิ่มพงษ์ (2529) กล่าวถึงแลคติคแบคทีเรีย ที่เหมาะจะนำมาใช้เป็นสารเสริมชีวนะในสุกรว่าต้องมีลักษณะดังนี้ คือ ต้องทนความเป็นกรดเป็นด่างของกระเพาะที่มีพีเอช (pH) ต่ำระหว่าง 4.2-5.1 และทนต่อน้ำดีของตับอ่อนที่บริเวณลำไส้เล็กซึ่งมีพีเอชสูงระหว่าง 6.2-8.0 อีกด้วยเพราะเชื้อจะต้องผ่านกระเพาะแล้วเข้าไปเกาะเจริญในลำไส้ (implantation) ตัวอย่างแลคติคแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าว เช่น *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ *Shirota*, *L. acidophilus*, *L. lactis* และ *L. buchneri*

วิโรจน์ (2522) ทดลองใช้แลคติคแบคทีเรียในรูปเชื้อเหลวเป็นอาหารเลี้ยงสุกร โดยคัดเลือกจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพ ปรากฏว่า เชื้อแลคติคแบคทีเรียเบอร์ 9 ซึ่งแยกได้จากนมเปรี้ยวยาคูลย์ และ *L. buchneri* ATCC 4005 สามารถเจริญอยู่รอดได้ในลำไส้สุกร และเมื่อนำไปทดสอบเลี้ยงสุกรโดยเปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อแลคติคแบคทีเรียเบอร์ 9 มีแนวโน้มทำให้สุกรเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าเชื้อแลคติคแบคทีเรียชนิดอื่นๆ แต่ให้ผลเหมือนกับการใช้ยาปฏิชีวนะในช่วงแรกเกิดถึงหย่านม (อายุ 30 วัน) หรืออาจดีกว่าในช่วง 30-60 วัน (หลังหย่านม) แลคติคแบคทีเรียในนมเปรี้ยวชนิดหนึ่ง คือ *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ *Shirota* เป็นเชื้อที่ผ่านการแยกและคัดเลือกมาอย่างดีจากอุจจาระของทารกที่เลี้ยงด้วยน้ำนมมารดา อยู่ในวงศ์ Lactobacillaceae กลุ่ม homofermentative bacteria มีรูปร่างเป็นท่อนมีขนาดกว้าง 0.7 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.5-5.0 ไมโครเมตร ย้อมติดสีแกรมบวก เจริญได้ดีในสภาพอากาศจำกัด

อุณหภูมิที่เหมาะกับการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี ตายเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส และจะหยุดการเจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

คุณสมบัติพิเศษของ *Lactobacillus casei* ที่แตกต่างจาก *Lactobacillus* ชนิดอื่น ๆ

1. มีความต้านทานต่อกรดได้ดี สามารถเจริญในอาหารที่มีพีเอช 3.1 ได้ถึง 21 วันในขณะที่เชื้อชนิดอื่นๆ เช่น *L. acidophilus* หรือ *L. bulgaricus* ทนได้เพียง 12 ชั่วโมง ความสามารถนี้ทำให้ *L. casei* สามารถมีชีวิตรอดและไปปรากฏในลำไส้ได้มากกว่าเชื้อชนิดอื่นๆที่ผ่านกระเพาะอาหารซึ่งมีความเข้มข้นของกรดเกลือสูง (พีเอช 3.0-4.0)

2. มีความทนทานต่อน้ำดีได้ถึง 15 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *L. bulgaricus* และ *L. fermentum* ถูกทำลายที่ความเข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนแลคติคแอซิดแบคทีเรียที่พบอยู่ประจำในระบบทางเดินอาหาร เช่น *L. casei* และ *L. acidophilus* จะตายในระดับความเข้มข้น 10-12 เปอร์เซ็นต์

3. มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนในลำไส้คนได้ จากการศึกษาพบว่าคนที่ดื่มนมเปรี้ยวที่มีเชื้อที่มีชีวิตเป็นประจำจะมีปริมาณเชื้อในลำไส้เพิ่มขึ้นทีละน้อย จนกระทั่งถึง 2×10^{8} เซลล์ต่ออุจจาระ 1 กรัมในเวลา 1 สัปดาห์ และจะเพิ่มเป็น 7×10^{8} เซลล์ต่ออุจจาระ 1 กรัมในเวลา 2 สัปดาห์ การเพิ่มจำนวนนี้จะสมดุลกับ normal flora ในลำไส้ ในทางตรงข้ามเมื่อหยุดดื่มปริมาณเชื้อจะลดลงจนกระทั่งหมดไปในระยะเวลา 3 สัปดาห์

จากคุณสมบัติข้างต้นที่กล่าวมาแล้ว เพิ่มพงษ์ (2529) ยังได้กล่าวถึงประโยชน์ของ *L. casei* คือ

1. กรดแลคติคซึ่งสร้างขึ้นจะไปมีผลทำให้ลำไส้มีการเคลื่อนตัวช้าลง ทำให้การดูดซึมธาตุอาหารต่างๆได้มากขึ้น

2. สามารถป้องกันโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารซึ่งเกิดจากการติดเชื้อได้อันเป็นผลมาจาก

- สารยับยั้งการเจริญบางอย่าง (antimicrobial substance) ที่เชื้อสร้างขึ้นภายในลำไส้แล้วไปมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคดังกล่าว

- ระดับพีเอชที่ลดลงเนื่องจากปริมาณกรดแลคติคที่เชื้อผลิตขึ้น
- แลคติคแอซิดแบคทีเรียไปช่วยรักษาสมดุลกับเชื้อที่เป็น normal flora ในลำไส้

3. ช่วยป้องกันอาการท้องผูก และการบูดเน่าของอาหารที่ผิดปกติ จากการศึกษาในทารกที่เลี้ยงด้วยนมเปรี้ยว ปรากฏว่าแก๊สที่เกิดในลำไส้ลดลงไปด้วย หนึ่งในสี่ถึงหนึ่งในสามของปริมาณเดิม และอุจจาระของทารกจะอ่อนและมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นด้วย

4. แลคติคแอซิดแบคทีเรียสามารถผลิตวิตามินบี 1, วิตามินบี 2, วิตามินบี 6 และวิตามินบี 12 ได้

5. มีความสามารถในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียที่เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารที่ร้ายแรง เช่น โรคบิด ไทฟอยด์ และอหิวาห์ตกโรค

ความสามารถในการยับยั้งเชื้ออื่นโดยแลคติคแอซิดแบคทีเรีย เกิดจากการที่เชื้อสร้างสารบางชนิดออกมา ซึ่งกลไกการยับยั้งแท้จริงยังไม่สามารถสรุปได้แน่นอน ทั้งนี้อาจเป็นการยับยั้งโดยสารใดสารหนึ่งเพียงชนิดเดียว หรือจากผลร่วมของสารหลายชนิด (อรนุช, 2530)

สารที่แลคติคแอซิดแบคทีเรียผลิตออกมายับยั้งจุลินทรีย์

1. กรดอินทรีย์ (organic acid)

กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก เช่น กรดแลคติค และกรดอะซีติก (acetic acid) โดยที่กรดอะซีติกมีความสามารถในการยับยั้งได้ดีกว่ากรดแลคติค กรดทั้งสองชนิดนี้มีผลทำให้พีเอชของอาหารลดลงเพียงพอที่จะป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถทนกรดได้ เช่น *Bacillus* spp., *E. coli* และ *Pseudomonas* spp.

2. ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide)

แลคติคแอซิดแบคทีเรียสามารถสร้างไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ระหว่างการเจริญเติบโต ได้โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีอากาศโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน อาหารเลี้ยงเชื้อของแลคติคแอซิดแบคทีเรียจะมีปริมาณของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สะสมอยู่มากเพราะแลคติคแอซิดแบคทีเรียไม่มีเอนไซม์คะตะเลส การสะสมของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* และ *Clostridium perfringens* โดยที่ *S. aureus* และ *C. perfringens* จะถูกยับยั้งได้ดีกว่า *S. typhimurium* และ *E. coli* โดยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะเกิดการออกซิไดซ์อย่างรุนแรงภายในเซลล์ทำลายโครงสร้างโมเลกุลของเอนไซม์ภายในเซลล์นอกจากนี้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ และสารต่อต้านจุลินทรีย์ได้ เช่น น้ำนมดิบ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับ endogenous thiocyanate โดยมีเอนไซม์ lactoperoxidase สร้างสารตัวกลาง (intermediate oxidation) ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ ซึ่งขั้นตอนนี้เรียกว่า lactoperoxidase antibacterial system

3. ไดอะซิทิล (Diacityl)

ไดอะซิทิลมีชื่อทางเคมีว่า 2,3-butanedione จัดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายที่แลคติคแอซิดแบคทีเรียสร้างมาจากสารตัวกลาง pyruvate ไดอะซิทิลมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการทำเนย เพราะเป็นสารที่มีกลิ่นหอม และยังจัดอยู่ในบัญชี Generally Recognize As Safe (GRAS) ไดอะซิทิลสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบจะมีความไวต่อไดอะซิทิลมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก กลไกการยับยั้งของไดอะซิทิลคาดว่าเกิดจากการรบกวนตำแหน่งอาร์จินีน โดยทำปฏิกิริยากับอาร์จินีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนหรือเอนไซม์ของแบคทีเรีย

4. คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide)

คาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตโดยแลคติคแอซิดแบคทีเรีย ทำให้พีเอชภายในและภายนอกเซลล์ลดลงได้ อีกทั้งยังสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ได้

5. แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins)

แบคเทอริโอซินเป็นสารเปปไทด์หรือโปรตีนที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน ผลการยับยั้งต่างกันไปทั้งในด้านการทำลายกลไกการทำงาน (mode of action) และการทำลายคุณสมบัติทางเคมี ศรัลยา (2540) ได้แบ่งสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่สร้างโดยแลคติคแอซิดแบคทีเรีย เป็น 2 ประเภทตามลักษณะผลการยับยั้ง โดยประเภทแรกคือ สารต่อต้านจุลินทรีย์สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่มีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อที่สร้าง เช่น แลคติคแอซิดแบคทีเรียและแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด ประเภทที่สองสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่กว้างขึ้นโดยมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Clostridium botulinum* และ *Listeria monocytogenes* นอกจากนี้ *Lactobacillus* สามารถสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากมายหลายชนิด เช่น กรดอินทรีย์, lactoperoxidase, diacetyl และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แต่เมื่อกำจัดผลของสารยับยั้งดังกล่าวพบว่า *Lactobacillus* สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินหลายชนิด เช่น

1. แพลนทาริซิน S (Plantaricin S) เป็นแบคเทอริโอซินที่สร้างโดย *Lactobacillus plantarum* LPCO 10 ที่แยกได้จากการหมัก green-olive แพลนทาริซิน S ถูกทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต, cation- exchange chromatography, hydrophobic interaction และ reversed-phase chromatography พบว่าได้ผลผลิต 91.6 เปอร์เซ็นต์ และมี specific activity เพิ่มขึ้น 352, 617 เท่า และยังพบว่าแพลนทาริซิน S เป็นแบคเทอริโอซินที่มี 2 เปปไทด์ และกิจกรรมในการยับยั้งก็ขึ้นอยู่กับการทำงานของสองส่วนนี้ร่วมกันและจากการศึกษาการเรียงลำดับกรดอะมิโน พบว่าทั้งสองส่วนนี้เป็นเปปไทด์ที่มีการเรียงตัวไม่เหมือนกันเลย

2. แกสเซอริซิน A (Gassericin A) เป็นแบคเทอริโอซินที่สร้างโดย *Lactobacillus gasseri* LA39 ซึ่งเลี้ยงในอาหาร MRS ปรับสูตร เมื่อทำให้บริสุทธิ์โดย reversed- phase chromatography พบว่าได้ผลผลิต 6 เปอร์เซ็นต์ และมี specific activity เพิ่มขึ้น 4,500 เท่าเมื่อผ่าน SDS-PAGE พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 3.8 kDa แกสเซอริซิน A เป็นแบคเทอริโอซินที่ละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่การละลายเพิ่มขึ้นในแอลกอฮอล์และอะซีโตไนตริล และจากการวิเคราะห์ลำดับอะมิโน พบว่า 45.7 เปอร์เซ็นต์ ของกรดอะมิโน 35 ตัวเป็นกรดอะมิโนที่ไม่ละลายน้ำ

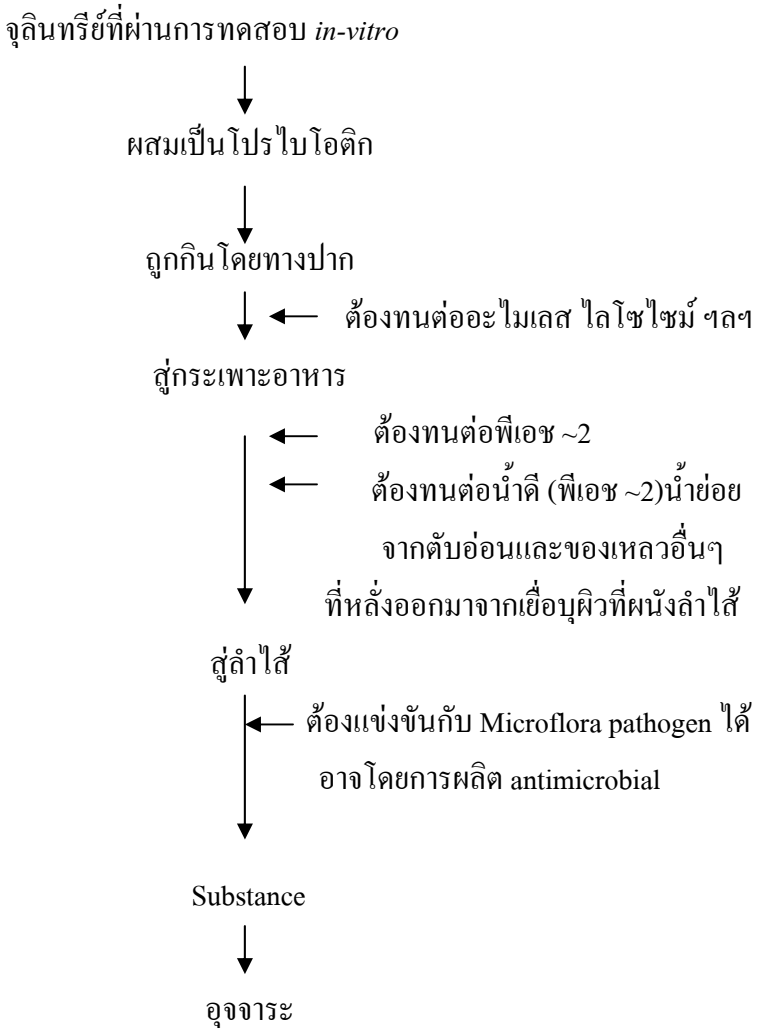
3. ซาคาซิน A (Sakasin A) เป็นแบคเทอริโอซินที่สร้างโดย *Lactobacillus sake* strain 706 ในช่วงตอนกลางหรือตอนปลายของ logarithmic phase เป็นสารที่ทนความร้อนที่ 100 องศา

เซลเซียสนาน 20 นาที เมื่อนำมาทดสอบในอาหารเหลวและแข็ง MRS พบว่า ซาคาซิน A สามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ได้

แลคโตบาซิลลัสจัดเป็นสารเสริมชีวนะ (probiotic) ชนิดหนึ่ง Pollmann (1986) กล่าวว่าสารเสริมชีวนะสามารถแบ่งแยกออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่ ตัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต (viable microbial culture) และผลผลิตมาจากการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ (microbial fermentation products) *Lactobacillus* ชนิดที่มีการศึกษากันมากคือ *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus* และ *L. casei* ซึ่ง Lyons (1987) กล่าวว่าในสัตว์ที่มีสุขภาพดี ระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์อยู่ในสภาพสมดุล ซึ่งในสภาพดังกล่าวระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติค (lactic acid producing bacteria) อยู่เป็นจำนวนมาก เช่น จุลินทรีย์พวก Lactobacilli และ Streptococci ซึ่งสภาพสมดุลนี้จะเสียไปเมื่อสัตว์เกิดความเครียด ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติคลดลงและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค *E. coli* จะเพิ่มขึ้น ซึ่ง Pollmann (1986) ได้อธิบายถึงข้อดีที่ได้จากการให้สัตว์กินสารเสริมชีวนะ ดังนี้

1. ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารและลดปริมาณ *E. coli*
2. เกิดการสร้าง lactate ซึ่งจะลดระดับความเป็นกรดเป็นด่าง (พีเอช)ในลำไส้ลง
3. ทำให้ระบบทางเดินอาหารเกิด adhesion หรือ colonization
4. เกิดการสร้างสารปฏิชีวนะบางอย่าง
5. ลดปริมาณ toxic amines และระดับแอมโมเนียในระบบทางเดินอาหารและกระแสเลือด

\



ภาพที่ 1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการคัดเลือกโปรไบโอติก
ที่มา: ทัศนีย์ (2539)

ประโยชน์ของการใช้โปรไบโอติกผสมในอาหารสัตว์

-ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตแทนสารปฏิชีวนะ และเคมีภัณฑ์ ซึ่งอาจพบปัญหาการดื้อยาและสารตกค้าง

- ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารในสัตว์ดีขึ้น ทำให้การใช้น้ำตาลแลคโตสในนมดีขึ้น

-ใช้ป้องกันโรคต่าง ๆ เนื่องจากโปรไบโอติกทำให้สัตว์มีภูมิคุ้มกันสูงขึ้น ลดการเกิดโรคท้องเสียในสัตว์ เมื่อสัตว์เกิดความเครียดจะมีผลทำให้สูญเสียสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้

- ยับยั้งหรือป้องกันการเกิดเนื้องอก โดยโปรไบโอติกจะช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์เนื้องอก และลดการสร้างน้ำย่อยที่ใช้ในการสร้างสารไนโตรซามีน

คุณภาพน้ำที่สำคัญที่มีผลต่อการเลี้ยงกุ้ง

คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง หมายถึง คุณสมบัติทางชีวเคมีและกายภาพของน้ำ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนในน้ำ สีของน้ำ พีเอช ความโปร่งแสง ปริมาณแอมโมเนีย และไฮโดเจนซัลไฟด์ เป็นต้น (วรวิทย์, 2531) คุณภาพน้ำเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงกุ้งเนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ถ้ามีการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ไม่ดีจะส่งผลต่อการกินอาหารของกุ้ง การเกิดโรคต่างๆได้ง่ายขึ้น และมีอัตราการรอดตายต่ำ (Boyd and Fast, 1992)

1. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolve oxygen, DO)

ค่าของออกซิเจนในน้ำจะต่ำที่สุดตอนเช้ามืดเนื่องจากออกซิเจนถูกใช้ในกระบวนการย่อยสลายของเสียโดยแบคทีเรียและการหายใจของสิ่งมีชีวิตในบ่อ ส่วนในช่วงตอนกลางวันจะมีค่าออกซิเจนสูงสุด เพราะแพลงก์ตอนพืชเริ่มมีการสังเคราะห์แสงทำให้ปริมาณออกซิเจนมากขึ้น ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเค็ม พบว่า น้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นความสามารถในการละลายของออกซิเจนลดลง (พุทธ, 2544) กุ้งมีการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมที่มีออกซิเจนต่างกันออกไป กุ้งที่อยู่ในน้ำที่มีออกซิเจนมากเพียงพอจะแข็งแรง เจริญเติบโตดี แต่ถ้ากุ้งอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีออกซิเจนน้อยกุ้งก็จะเครียด อ่อนแอทำให้ป่วยเป็นโรคง่าย ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งอย่างน้อยต้องมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กุ้งเจริญเติบโตดี และสารอินทรีย์สลายตัวได้เร็วถ้าปริมาณออกซิเจนน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กุ้งตาย (พุทธ, 2544; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ปริมาณออกซิเจนยังมีผลต่อการย่อยอาหาร ดังนั้นหากมีปริมาณออกซิเจนต่ำทำให้กุ้งกินอาหารลดลง (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, 2546)

2. ความเป็นกรดเป็นด่าง หรือ พีเอช (pH)

ความเป็นกรดเป็นด่างหรือพีเอช หมายถึง ความเข้มข้นของไฮโดเจนอิออนในน้ำ โดยทั่วไปในทางปฏิบัติน้ำมีค่ากลางเป็น 7 ซึ่งถ้าค่าพีเอชต่ำกว่า 7 แสดงว่าน้ำอยู่ในสภาพเป็นกรด หรือพีเอชมากกว่า 7 แสดงว่าอยู่ในสภาพเป็นด่าง ดังนั้น ค่าพีเอชจึงอยู่ระหว่าง 0-14 และพีเอชของน้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรอยู่ระหว่าง 7.5 ในตอนเช้าและในช่วงบ่ายอยู่ที่ 8.5 และค่าความแตกต่างของพีเอชในรอบวันไม่ควรมากกว่า 0.5 การเปลี่ยนแปลงของพีเอชในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำขึ้นกับปัจจัยที่หลากหลาย เช่น คุณสมบัติของดิน ค่าความเป็นด่าง การผลิต และการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำซึ่งส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืช (ชลอ, 2543; ชลอ และพรเลิศ, 2547) โดยค่าพีเอชน้อยกว่า 4 มีผลเป็นกรดกุ้งจะตาย พีเอชที่เหมาะสมควรอยู่ระหว่าง 6-9 จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งดีที่สุด ถ้ามากกว่า 11 มีผลเป็นด่างกุ้งจะตาย (Boyd and Tucker, 1998)

3. ค่าความเป็นด่าง (alkalinity)

ค่าความเป็นด่าง หมายถึง ความสามารถของน้ำที่จะรับไฮโดเจนอิออน (H^+) เพื่อทำให้กรดเป็นกลาง น้ำที่มีค่าพีเอชมากกว่า 4.3 แสดงว่าในน้ำมีค่าความเป็นด่างอยู่ ยิ่งค่าพีเอชสูงก็จะมีค่าความเป็นด่างมากขึ้น สารประกอบที่ทำให้เกิดความเป็นด่างมี 3 ชนิด คือ ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไฮดรอกไซด์ (OH^-) น้ำที่มีองค์ประกอบตัวใดตัวหนึ่งใน 3 ชนิดดังกล่าวจะเป็นน้ำที่มีความเป็นด่างอยู่ด้วย ดังนั้นพีเอชของน้ำถือว่าเป็นตัวกำหนดชนิดของสารละลายด่างที่อยู่ในน้ำ คือ

น้ำมีค่าพีเอชเป็นกลางจนถึง 8.3 จะมีHCO_3^- มาก
น้ำมีค่าพีเอชตั้งแต่ 8.3 ขึ้นไปจะเริ่มมี CO_3^{2-}
น้ำมีค่าพีเอชระหว่าง 9.5-10.5 จะมี CO_3^{2-} มาก
น้ำมีค่าพีเอช 11 หรือมากกว่า จะมี OH^- มาก

ค่าความเป็นด่างมีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้งทะเลทุกชนิด ค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำอยู่ระหว่าง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทั่วไปการรักษาระดับความเป็นด่างให้คงที่นั้นจะใช้วัสดุ

ปูนในกลุ่มคาร์บอเนต ส่วนการเพิ่มความเป็นด่างอาจใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตหรือโซเดียมคาร์บอเนต ขึ้นอยู่กับระดับพีเอชของน้ำประกอบกันด้วย (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

4. แอมโมเนีย (ammonia)

แอมโมเนียเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อกุ้งและสัตว์น้ำอื่น ๆ ยกเว้นแพลงก์ตอนพืชและแบคทีเรียที่ใช้แอมโมเนียเป็นอาหาร แอมโมเนียที่พบอยู่ในน้ำจะแบ่งเป็นสองรูปแบบ คือ แอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และแอมโมเนียอิออน (NH_4^+) ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ในการวัดแอมโมเนียทั่วไปจะวัดรวมทั้งสองรูป แอมโมเนียทั้งสองรูปจะเปลี่ยนกลับไปกลับมาตามพีเอชของน้ำและอุณหภูมิของน้ำ โดยเฉพาะพีเอชสูงอัตราส่วนของแอมโมเนียจะสูงขึ้น ทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น แต่ถ้าพีเอชของน้ำลดลง แอมโมเนียในรูปของแอมโมเนียมอิออนจะมีอัตราส่วนมากขึ้น ทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำลดลง เมื่อแอมโมเนียในน้ำปริมาณสูงขึ้น จะมีผลทำให้การขับถ่ายแอมโมเนียของกุ้งทำได้น้อยลงทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อ ส่งผลให้พีเอชของเลือดเพิ่มขึ้นและมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ แอมโมเนียจะทำให้การใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อสูงขึ้น แอมโมเนียจะไปทำลายเหงือก และความสามารถในการขนส่งออกซิเจนและกุ้งอ่อนแอติดเชื้อโรคได้ง่าย ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียทำให้สัตว์น้ำตาย ปกติอยู่ในช่วง 0.4-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ NH_3 แต่แอมโมเนียระหว่าง 0.1-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้กุ้งโตช้า สำหรับระดับที่ปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้งควรน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

5. ไนไตรท์ (nitrite)

ไนไตรท์เป็นสารประกอบระหว่างกลางในกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยทั่วไปไนไตรท์จะไม่สะสมอยู่ในแหล่งน้ำ เพราะไนไตรท์ที่ได้จะเปลี่ยนเป็นไนเตรทอย่างรวดเร็วแต่ในบางสภาวะหากอัตราการออกซิไดซ์แอมโมเนียเร็วกว่าการออกซิไดซ์ไนไตรท์ก็จะเกิดการสะสมของไนไตรท์ขึ้นได้ แหล่งน้ำทั่วไปพบว่ามีความเข้มข้นต่ำเฉลี่ยน้อยกว่า 0.007 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แหล่งน้ำที่รับน้ำเสียพบไนไตรท์ในความเข้มข้นที่สูงกว่า เช่นเดียวกับบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีความหนาแน่นสูง เพราะในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีอัตราการเติมไนโตรเจนในรูปของอาหารเม็ด ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยคอกลงในบ่อ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมักจะต่ำ (น้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) เนื่องจากแอมโมเนียซึ่งเป็นสารตั้งต้นถูกแพลงก์ตอนพืชนำไปใช้ (Boyd and Tucker, 1998) ระดับ

ความเป็นพิษของไนไตรท์จะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำและค่าพีเอชน้ำลดลง นอกจากนี้ ความเป็นพิษของไนไตรท์จะถูกยับยั้งโดยคลอไรด์ในน้ำ ดังนั้นในน้ำทะเลซึ่งมีคลอไรด์สูงความเป็นพิษของไนไตรท์ต่อสัตว์น้ำจึงค่อนข้างต่ำ (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

6. ความเค็ม (salinity)

ความเค็ม หมายถึง ปริมาณความเข้มข้นของอิออนที่ละลายในน้ำ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร หรือส่วนในพันส่วน (parts per thousand: ppt) หรือย่อเป็นพีพีที มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำมากโดยจะมีผลต่อการควบคุมปริมาณน้ำภายในร่างกาย เป็นผลมาจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติกภายในตัวสัตว์น้ำกับน้ำภายนอก ถ้าความเค็มของน้ำเปลี่ยนแปลงมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 2-3 นาที สัตว์น้ำไม่สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ทำให้สัตว์น้ำตายได้ (Lawson, 1995; Boyd and Tucker, 1998) ความเค็มยังมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคต่างๆที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอีกด้วย เช่น แบคทีเรียพวก *Vibrio* sp. ซึ่งส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็มตั้งแต่ 20 พีพีทีขึ้นไป ส่วนแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* sp. จะเจริญที่ความเค็มต่ำ ประมาณ 10 พีพีที (Buchanan and Gibbons, 1974) ชลอ และ พรเลิศ (2547) กล่าวว่า กุ้งกุลาดำสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในช่วงกว้าง ตั้งแต่ 0-45 พีพีที ถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงลดลงหรือเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยกุ้งกุลาดำเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับความเค็ม 15-30 พีพีที (Boyd, 1992)

7. อุณหภูมิของน้ำ (water temperature)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการกินอาหาร การย่อยอาหารและกระบวนการทำงานต่างๆในร่างกายของสัตว์น้ำ หากอุณหภูมิของน้ำเหมาะสมจะทำให้สัตว์น้ำสามารถย่อยอาหารได้ดี ถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำทำให้กระบวนการทำงานต่างๆของสัตว์น้ำต่ำ (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, 2546) Wickins and Lee (2002) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีค่าระหว่าง 24-34 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไป กุ้งจะเกิดอาการตัวงอ เนื่องจากกล้ามเนื้อเกร็งและถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 24 องศาเซลเซียส กุ้งจะหยุดว่ายน้ำและไม่กินอาหาร เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส กุ้งจะตาย (Boyd, 1982)

8. ค่าความนำไฟฟ้า (electrical conductivity หรือ EC)

ความสามารถในการนำไฟฟ้าของน้ำหรือของเหลวอื่น ประสิทธิภาพการนำไฟฟ้าของน้ำขึ้นกับปริมาณไอออน mobility valence และ relative concentration ของน้ำหรือของเหลว ความเค็มสามารถวัดได้โดยค่าความนำไฟฟ้าในดิน และวัดจากความหนาแน่นโดยใช้ hydrometers (Reid, 1961) ค่าความนำไฟฟ้าที่น้อยกว่า 1 มิลลิซิเมนต์ต่อเซนติเมตร จะไม่มีความเค็ม ส่วนค่าความนำไฟฟ้ามากกว่า 9 มิลลิซิเมนต์ต่อเซนติเมตร มีความเค็มสูง ค่าความนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์กับปริมาณธาตุชนิดต่างๆที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทะเล (สมเจตน์ และคณะ, 2529)

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเพิ่มลดการนำไฟฟ้าของน้ำ

1. ถ้าปริมาณของแข็งที่ละลาย (dissolved solids) มีจำนวนมาก จะทำให้ค่าการนำไฟฟ้ามีค่าสูงเพราะปริมาณ dissolved solids จะมีส่วนเพิ่มความสามารถเกี่ยวกับ ionic mobility

2. อุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นจะทำให้ค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้น เพราะอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น จะทำให้การแตกตัวเป็นไอออนของเกลือมากยิ่งขึ้น

3. ปริมาณพีเอชของน้ำที่มากกว่า 9 หรือน้อยกว่า 5 จะมีผลทำให้ค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้น เพราะน้ำหรือของเหลวที่เป็นกรดจะมีปริมาณ H^+ และด่างแก่จะมี OH^- มากซึ่งมีผลทำให้ค่า ionic mobility สูง

9. ความกระด้าง (hardness)

ความกระด้างของน้ำเกิดจากอิออนของโลหะที่มีประจุตั้งแต่ประจุ 2 ขึ้นไป อิออนพวกนี้สามารถทำปฏิกิริยากับสบู่ตกตะกอนและทำปฏิกิริยากับอิออนที่มีประจุลบบางชนิดในน้ำเกิดตะกรัน สาเหตุหลักของความกระด้างของน้ำ คือ อิออนวาเลนซี่สอง ความกระด้างของน้ำอาจแบ่งเป็น 2 ประเภท (ยนต์, 2539)

1. ความกระด้างชั่วคราว (temporary hardness หรือ carbonate hardness) ซึ่งเป็นความกระด้างที่เกิดจากเกลือ คาร์บอเนตหรือไบคาร์บอเนต กับโลหะวาเลนซีสอง เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต หรือแคลเซียมไบคาร์บอเนต

2. ความกระด้างถาวร (permanent hardness หรือ non-carbonate hardness) เป็นความกระด้างที่เกิดจากเกลือของโลหะวาเลนซีสองกับอิออนลบตัวอื่น เช่น คลอไรด์ ซัลเฟต

ปลาและสัตว์น้ำในกลุ่มกุ้ง-ปู (crustacean) ต้องการแคลเซียมในการสร้างกระดูกและเปลือก สัตว์น้ำในกลุ่มกุ้ง-ปู จะดูดซับแคลเซียมจากน้ำระหว่างการลอกคราบ จึงต้องมีปริมาณแคลเซียมในน้ำในระดับที่เพียงพอ (Fieber and Lutz, 1982) ความกระด้างโดยทั่วไปจะสัมพันธ์กับความเป็นด่าง เพราะว่าอิออนลบของความเป็นด่างและอิออนบวกของความกระด้างโดยปกตินั้นได้มาจากการละลายของแร่คาร์บอเนต (Boyd, 1982) ความกระด้างที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำไม่ควรต่ำกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชลอ และคณะ, 2547)

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาในฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่มีประสบการณ์เลี้ยงกุ้งกุลาดำมากกว่า 15 ปี ในอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี ใช้บ่อเลี้ยงกุ้งในการทดลอง 6 บ่อ แต่ละบ่อมีพื้นที่ 5 ไร่ บ่อที่ 1-3 เป็นบ่อทดลองที่มีการให้อาหารสำเร็จรูปผสมกับโปรไบโอติกตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ส่วนบ่อที่ 4-6 เป็นบ่อควบคุมใช้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวตลอดการเลี้ยง

การเตรียมบ่อและน้ำก่อนปล่อยลูกกุ้ง

1. หลังจากจับกุ้งแล้วฉีดเอาเลนออกจากบ่อไปเก็บไว้ในบ่อเก็บเลนตากบ่อจนเกือบแห้ง แล้วสูบน้ำจากบ่อพักน้ำผ่านผ้ากรองที่เป็นตาข่าย 2 ชั้นเพื่อป้องกันตัวอ่อนของสัตว์น้ำต่างๆเข้าไปในบ่อเลี้ยงจนได้ระดับความลึก 1.60 เมตร เปิดเครื่องให้อากาศนาน 2 วันเพื่อให้ไข่ของสัตว์น้ำที่อาจจะเล็ดลอดเข้าไปในบ่อฟักออกเป็นตัวอ่อน แล้วเติมแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ (คลอรีนผง)ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ ในตอนเย็นเปิดเครื่องให้อากาศเต็มที่เพื่อผสมให้คลอรีนผงกระจายทั่วบ่อจึงปิดเครื่องให้อากาศจนกว่าคลอรีนสลายตัวหมดใช้เวลานานประมาณ 3-4 วัน จึงเปิดเครื่องให้อากาศ

2. ใส่กากชาเพื่อปรับสภาพน้ำและกำจัดสัตว์น้ำจำพวกปลาที่หลงเหลืออีกครั้งหนึ่ง (อัตราส่วน 20 กิโลกรัมต่อไร่)

3. ใส่ปูนหอยเผา (CaO) เพื่อปรับความเป็นกรดเป็นด่างหรือพีเอชของน้ำ (อัตราส่วน 250 กิโลกรัมต่อไร่)

4. เติมจุลินทรีย์ที่ทางฟาร์มใช้ในการเตรียมน้ำในทุกรอบการเลี้ยงหลังจากนั้น อีก 7 วัน จึงนำลูกกุ้งมาเลี้ยง

การคัดเลือกลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาร์วา 18 ที่ผ่านการปรับความเค็มจากโรงเพาะฟักเอกชนให้ใกล้เคียงกับความเค็มของน้ำในบ่อเลี้ยง และลูกกุ้งจะต้องผ่านการตรวจสอบคุณภาพด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction: PCR) หรือปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ว่าไม่มีไวรัสดวงขาว (White Spot Syndrome virus : WSSV) ซึ่งเมื่อสังเกตจากภายนอกลูกกุ้งจะต้องมีลักษณะ

ปกติเมื่อลำเลียงลูกกุ้งมาถึงฟาร์มปรับอุณหภูมิของน้ำภายในถุงที่บรรจุลูกกุ้งให้มีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิของน้ำในบ่อก่อนที่จะปล่อยลูกกุ้งลงไปในบ่อในอัตราความหนาแน่น 44 ตัวต่อตารางเมตร

การเลี้ยงและการจัดการระหว่างการเลี้ยง

ใช้อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ปริมาณอาหารที่ให้และปริมาณอาหารที่ใส่ยอในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของกุ้งตามวิธีของชลอ (2534) แต่ในกลุ่มทดลอง เมื่อกุ้งอายุ 30 วันจะใช้โปรไบโอติกผสมอาหารเม็ดสำเร็จรูป ในปริมาณ 1 กรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม ให้กินอาหารวันละ 3 มื้อ จนกระทั่งจับกุ้ง โปรไบโอติกที่ใช้เป็นแบคทีเรียชนิด *Lactobacillus casei* และ *L. plantarum* ซึ่งโปรไบโอติก จำนวน 0.5 กิโลกรัมจะมีแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ปริมาณ 300 ล้านเซลล์ ส่วนการจัดการในระหว่างการเลี้ยงตามวิธีของชลอ (2543)

การศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทุก 10 วันหลังจากปล่อยกุ้งจนกระทั่งจับกุ้ง คุณภาพน้ำที่วิเคราะห์ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าพีเอช อุณหภูมิ ความโปร่งแสง ความเค็ม ปริมาณแอมโมเนียรวม ปริมาณไนไตรท์ ความเป็นด่าง ความกระด้าง และค่าความนำไฟฟ้า โดยคุณสมบัติของน้ำที่สามารถวิเคราะห์ได้ระหว่างการเก็บตัวอย่างจะกระทำในพื้นที่ได้แก่ อุณหภูมิ ความโปร่งแสง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ สำหรับคุณสมบัติของน้ำที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ในพื้นที่จะนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ โดยเก็บรักษาตัวอย่างน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ไว้ในกล่องโฟม แช่เย็นด้วยน้ำแข็งขณะลำเลียงขนส่งที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ก่อนวิเคราะห์นำตัวอย่างน้ำออกจากกล่องโฟม รอจนกระทั่งมีอุณหภูมิของน้ำเท่ากับอุณหภูมิห้องจึงวิเคราะห์ แต่ละตัวอย่างจะวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (disolved oxygen) วัดโดยใช้เครื่อง YSI DO 200-4M
- พีเอชวัดโดยใช้เครื่องวัดพีเอชรุ่น Ecoscan pH 5
- อุณหภูมิ (temperature) วัดโดยใช้เครื่อง YSI DO 200-4M
- ความเค็ม (salinity)วัดโดยใช้เครื่อง YSI 30/10 FT

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

- ปริมาณไนไตรท์ (nitrite-nitrogen) วัดโดยใช้วิธีของ APHA *et al*. (1995)

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

- ความกระด้าง (hardness)วัดโดยใช้วิธี EDTA titrimetric method (APHA *et al*., 1995)

- ความโปร่งแสง (transparency) วัดโดยใช้ Secchi disk

- ค่าความนำไฟฟ้า (electrical conductivity, EC) วัดโดยใช้เครื่อง YSI 30/10 FT

การศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรีย

สุ่มกุ้งกุลาดำจากบ่อทดลองและบ่อควบคุมเมื่อกุ้งมีอายุ 30, 60, 90 และ 120 วันครั้งละ 10 ตัวต่อบ่อเพื่อเพาะเชื้อแบคทีเรียจากลำไส้และตับและตับอ่อน ทำเชื้อให้บริสุทธิ์โดย นำลำไส้กุ้งและตับและตับอ่อนมาบดให้ละเอียดนำมาเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 เพื่อให้ระดับความเข้มข้นเจือจางครั้งละ 10 เท่า (ten-floded dilutions) โดยเจือจาง 3 ความเข้มข้นที่ 10^{0} ,10^{-1} และ 10^{-2} จากนั้น spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี และจดบันทึกเลือกโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS โดยเลือกโคโลนีที่มีรูปร่าง ลักษณะและสี แตกต่างกันมา sub-culture จนกระทั่งได้โคโลนีชนิดเดี่ยว แล้วนำมาเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อโดยใช้ชุดตรวจ API 20 E (Bio Mérieux) ตามวิธีการของ API (1986)

การจับกุ้ง

หลังจากจับกุ้ง นำค่า ผลผลิต อัตราการรอดตาย อัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อและปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp. คุณภาพน้ำจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่มีการใช้โปรไบโอติกมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

สถานที่ทำการวิจัย

1. อาคารปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. ไพศาลฟาร์ม อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี

ระยะเวลาทำการวิจัย

ทำการศึกษาในฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำตั้งแต่เดือนมีนาคม 2549 – เดือนตุลาคม 2549

ภาพที่ 2 การปล่อยลูกกุ้ง

ภาพที่ 3 การปล่อยลูกกุ้งลงบ่อเลี้ยง

บ่อ 1

บ่อ 2

บ่อ 3

ภาพที่ 4 บ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

บ่อ 4

บ่อ 5

บ่อ 6

ภาพที่ 4 (ต่อ)

ภาพที่ 5 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

ภาพที่ 6 เครื่องชั่งน้ำหนัก

ภาพที่ 7 เครื่องวัดความเค็ม

ภาพที่ 8 ขวดเก็บน้ำ

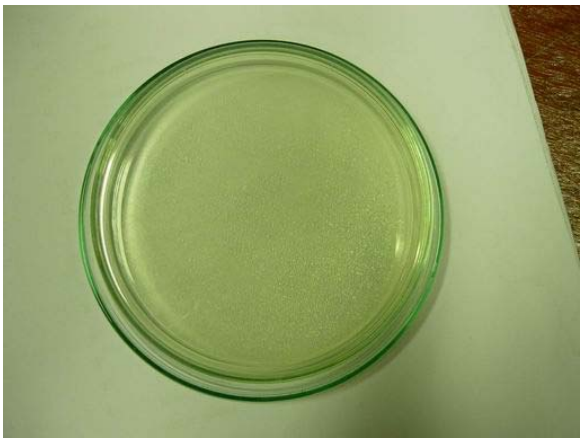
ภาพที่ 9 Secchi disk

ภาพที่ 10 YSI DO

ภาพที่ 11 วัดค่าความโปร่งแสง

ภาพที่ 12 วัดปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิ

ภาพที่ 13 อาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS



ภาพที่ 14 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

ภาพที่ 15 การชั่งน้ำหนักกุ้ง

ภาพที่ 16 การวัดความยาวของกุ้ง

ภาพที่ 17 การจับกุ้ง

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาเปรียบเทียบผลผลิต อัตราการรอดตาย และ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ

ผลการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 140 วัน ในบ่อที่มีการให้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อควบคุมแสดงไว้ในตารางที่ 2 ผลการศึกษาพบว่าบ่อที่มีการให้โปรไบโอติกผสมในอาหารให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,300±45.83 กิโลกรัมต่อไร่ กุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ย 21.8±0.26 กรัม อัตราการเจริญเติบโต 0.16±0.01 กรัมต่อตัวต่อวัน อัตราการรอดตาย 85.4±2.23 เปอร์เซ็นต์และอัตราการแลกเนื้อ 1.63± 0.08 ในขณะที่บ่อควบคุมที่ไม่มีการให้โปรไบโอติกให้ผลผลิตเฉลี่ย 780±28.21 กิโลกรัมต่อไร่ กุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ย 15.9±0.26 กรัม อัตราการเจริญเติบโต 0.11±0.01 กรัมต่อตัวต่อวัน อัตราการรอดตาย 70.2±1.30 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการแลกเนื้อ 1.74±0.02 เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ พบว่า ผลผลิตเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้ง อัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตของบ่อที่ให้อาหารผสมโปรไบโอติกสูงกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนอัตราการแลกเนื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางผนวกที่ 1) สอดคล้องกับการศึกษาของ Shivappa and Chanratchakool (1997) ที่มีการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* ในบ่ออนุบาลช่วยให้กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายสูงขึ้นกว่าการใช้สารเคมี benzalkonium chloride (BKC) และ Phianphak (1997) ใช้ *Bacillus* ผสมกับอาหารเป็นโปรไบโอติกให้แก่ลูกกุ้งกุลาดำกินในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *Vibrio harveyi* สูงกว่าบ่อควบคุมและลูกกุ้งมีสุขภาพแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี นอกจากนั้น วรรณิกา (2539) ทำการแยก *Bacillus* S11 (*Bacillus mycoides*) จากทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำ ซึ่งมีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อทดสอบสายพันธุ์ที่ก่อโรคในคนและกุ้ง นำมาผสมในอาหารกุ้งกุลาดำ และเพาะเลี้ยงในระบบปิดน้ำหมุนเวียนเป็นเวลา 100 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* S11 จะมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดตายมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* S11 อย่างมีนัยสำคัญและสามารถต้านทานการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจาก *V. harveyi* โดยมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* S11

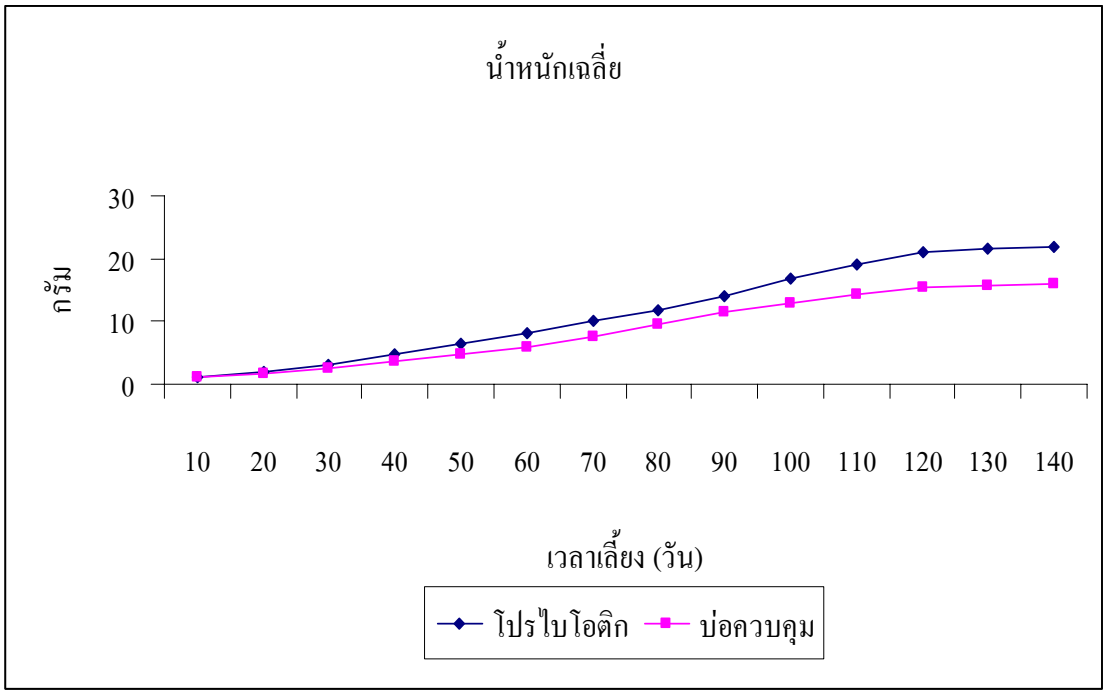
ตารางที่ 2 ผลผลิตของบ่อทดลองที่มีการใช้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อควบคุม

บ่อ	ขนาด (ไร่)	ผลผลิตเฉลี่ย (กิโลกรัมต่อไร่)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการแลกเนื้อ	อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อตัวต่อวัน)
โปรไบโอติก						
1	5	1,260	21.6	87.2	1.62	0.16
2	5	1,350	22.1	86.1	1.68	0.17
3	5	1,290	21.7	82.9	1.52	0.16
เฉลี่ย	5	$1,300 \pm 45.83^{a}$	21.8 ± 0.26^{a}	85.4 ± 2.23^{a}	1.63 ± 0.08^{a}	0.16 ± 0.01^{a}
บ่อควบคุม						
4	5	810	16.2	71.5	1.76	0.10
5	5	776	15.7	68.9	1.72	0.12
6	5	754	15.8	70.2	1.74	0.11
เฉลี่ย	5	780 ± 28.21^{b}	15.9 ± 0.26^{b}	70.2 ± 1.30^{b}	1.74 ± 0.02^{a}	0.11 ± 0.01^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในบ่อที่มีการใช้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อควบคุม

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อที่ใช้โปรไบโอติก		บ่อควบคุม	
	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อตัวต่อวัน)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อตัวต่อวัน)
10	1.0	0.10	1.0	0.10
20	2.0	0.10	1.6	0.06
30	3.2	0.12	2.4	0.08
40	4.7	0.15	3.6	0.12
50	6.5	0.18	4.9	0.13
60	8.2	0.17	6.0	0.11
70	10.0	0.18	7.5	0.15
80	11.9	0.19	9.4	0.19
90	13.9	0.20	11.4	0.20
100	16.8	0.29	13.0	0.16
110	19.2	0.24	14.4	0.14
120	21.0	0.18	15.3	0.09
130	21.6	0.06	15.7	0.04
140	21.8	0.02	15.9	0.02



ภาพที่ 18 การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในบ่อที่มีการใช้โปรไบโอติกและบ่อควบคุม

2. การศึกษาคุณสมบัติน้ำในบ่อทดลองที่มีการใช้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อควบคุม

2.1 ความโปร่งแสง

ความโปร่งแสงของบ่อทดลองที่ใช้โปรไบโอติกมีค่าอยู่ระหว่าง 11-100 เซนติเมตร และมีค่าเฉลี่ย 40.49±34.26 เซนติเมตร ส่วนบ่อควบคุม มีค่าอยู่ระหว่าง 9-100 เซนติเมตร และมีค่าเฉลี่ย 45.85±35.78 เซนติเมตร (ตารางผนวกที่ 3) ค่าเฉลี่ยความโปร่งแสงของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 19) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางผนวกที่ 2) ในระยะแรกๆน้ำจะมีสีส้มและสังเกตเห็นตะกอนสนิมเหล็กมากซึ่งมักสะสมในดินบริเวณป่าชายเลนที่เป็นกรด ซึ่งเกิดจากการสะสมของไพไรท์ ที่เป็นสารประกอบของเหล็กและกำมะถันในชั้นดิน เมื่อสูบน้ำเข้าไปในบ่อจะเห็นได้ชัดว่าน้ำมีสีส้มและมีตะกอนสนิมเหล็กเป็นจำนวนมาก (ชลอ และ พรเลิศ, 2547) พีเอชจะต่ำต้องมีการใช้วัสดุปูนจำนวนมากเพื่อเพิ่มพีเอชของน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม แต่หลังจากเลี้ยงไประยะหนึ่งปริมาณแพลงก์ตอนเริ่มมีมากขึ้น ความโปร่งแสงจะเริ่มลดลงและจะเพิ่มมากขึ้นในช่วงเดือนสุดท้ายเนื่องจากปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมามากทำให้ปริมาณแพลงก์ตอนลดลง

2.2 อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำช่วงเช้าของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 25.1-33.2 องศาเซลเซียสและมีค่าเฉลี่ย 29.29 ± 2.32 องศาเซลเซียส ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 25.1-32.5 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ย 29.29 ± 2.41 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิของน้ำช่วงบ่ายของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 26.0-34.1 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ย 30.32±2.48 องศาเซลเซียส ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 26.0-34.0 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ย 30.35±2.59 องศาเซลเซียส (ตารางผนวกที่ 3) ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิของน้ำในบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 21, 22) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางผนวกที่ 2) เนื่องจากบ่อที่ทำการศึกษาอยู่ในฟาร์มเดียวกันและช่วงเวลาเดียวกันได้รับอิทธิพลจากปัจจัยภายนอกคือแสงแดด อุณหภูมิของอากาศ และปริมาณน้ำฝนและอื่นๆเหมือนกัน ดังนั้นอุณหภูมิของน้ำจากทุกบ่อจึงมีค่าใกล้เคียงกัน Wickins and Lee (2002) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีค่าระหว่าง 24-34 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไป กุ้งจะเกิด

อาการตัวงอ เนื่องจากกล้ามเนื้อเกร็งและถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 24 องศาเซลเซียส กุ้งจะหยุดว่ายน้ำและไม่กินอาหาร เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส กุ้งจะตาย (Boyd, 1982) สำหรับในประเทศไทยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำอยู่ระหว่าง 28-30 องศาเซลเซียส (ชลอ, 2543; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ดังนั้นบางช่วงเวลาในการศึกษาครั้งนี้อุณหภูมิของน้ำในตอนเช้าอุณหภูมิจะต่ำและตอนบ่ายสูงเกินระดับที่เหมาะสมซึ่งจะมีผลต่อการกินอาหารของกุ้งและการเจริญเติบโต (ชลอ, 2543)

2.3 พีเอช

ค่าพีเอชของน้ำช่วงเช้าของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 6.25-7.95 และมีค่าเฉลี่ย 7.18± 0.44 ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 6.18-7.85 และมีค่าเฉลี่ย 7.19±0.46 ค่าพีเอชของน้ำช่วงบ่ายของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 7.18-8.68 และมีค่าเฉลี่ย 8.15±0.32 ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 7.47-8.62 และมีค่าเฉลี่ย8.12±0.31 (ตารางผนวกที่ 3) ค่าพีเอชของน้ำของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 23, 24) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางผนวกที่ 2) ในช่วงสุดท้ายของการเลี้ยงพีเอชตอนบ่ายจะมีค่าต่ำซึ่งสอดคล้องกับความโปร่งแสงที่มีค่าสูงมากเพราะแพลงก์ตอนพืชมีน้อย ในตอนกลางวันแพลงก์ตอนพืชจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งได้จากไบคาร์บอเนตเพื่อการสังเคราะห์แสงทำให้ค่าพีเอชสูงขึ้น ค่าพีเอชของน้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรอยู่ระหว่าง 7-8.5 (ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ตลอดการเลี้ยงจึงมีค่าพีเอชอยู่ในช่วงที่เหมาะสม

2.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำช่วงเช้าของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 3.13-4.90 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 4.12±0.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 3.15-5.72 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 4.14±0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำช่วงบ่ายของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 4.12-6.08 มิลลิกรัมต่อลิตรและมีค่าเฉลี่ย 5.04±0.39 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 3.98-6.66 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 5.05±0.49 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางผนวกที่ 3) ค่าเฉลี่ยปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 25, 26) ไม่มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางผนวกที่ 2) ปริมาณออกซิเจนตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงกุ้งครั้งนี้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากมากกว่า 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (พุทธ, 2544; ชลอ และ พรเลิศ, 2547; Boyd , 1989) เนื่องจากมีการใช้เครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอและมีการวางตำแหน่งอย่างเหมาะสม ทำให้ไม่มีปัญหาทั้งในด้านปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและการรวมตะกอนกลางบ่อ

2.5 ความเค็ม

ความเค็มของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 6.0-36.2 พีพีที และมีค่าเฉลี่ย 21.59±9.08 พีพีที ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 6.0-39.2 พีพีที และมีค่าเฉลี่ย 20.22±10.41 พีพีที (ตารางผนวกที่ 3) ค่าเฉลี่ยความเค็มของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 20) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางผนวกที่ 2) เนื่องจากบ่อทดลองและบ่อควบคุมอยู่ในฟาร์มเดียวกันและเลี้ยงในช่วงเวลาเดียวกันได้รับปริมาณฝนที่ตกลงมาในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน จะเห็นได้ชัดเจนว่าความเค็มของน้ำจะค่อย ๆ ลดลงเนื่องจากมีฝนตกในช่วงระหว่างการเลี้ยง โดยเฉพาะหลังจากประมาณ 30 วันเป็นต้นไป ซึ่งความเค็มจะลดลงจาก 39 พีพีที ลงมาเหลือเพียง 6.0 พีพีที เท่านั้น ในช่วงสุดท้ายก่อนจับกุ้งซึ่ง ชลอ และ พรเลิศ (2547) กล่าวว่า กุ้งกุลาดำสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในช่วงกว้าง ตั้งแต่ 0-45 พีพีที ถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงลดลงหรือเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยกุ้งกุลาดำเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับความเค็ม 15-30 พีพีที (Boyd, 1992)

2.6 ค่าความนำไฟฟ้า

ค่าความนำไฟฟ้าของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 10-60.33 มิลลิซิเมนส์ต่อเซนติเมตร และมีค่าเฉลี่ย 29.68±9.80 มิลลิซิเมนส์ต่อเซนติเมตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 10-65.33 มิลลิซิเมนส์ต่อเซนติเมตร และมีค่าเฉลี่ย 28.31±11.94 มิลลิซิเมนส์ต่อเซนติเมตร (ตารางผนวกที่ 3) ค่าเฉลี่ยความนำไฟฟ้าในบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 27) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางผนวกที่ 2) ค่าความนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์กับความเค็ม(Boyd, 1982; 2002) และมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกันกับเค็มตลอดระยะเวลาในการทดลองคือลดลงเช่นเดียวกับความเค็ม โดยเฉพาะในช่วงสุดท้ายเนื่องจากปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมามากแต่ยังอยู่ในระดับที่เลี้ยงกุ้งได้

2.7 ความเป็นด่างรวม

ค่าความเป็นด่างรวมของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 62.10-134.67 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 95.31±15.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 46.0-115.33 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 81.42±16.31 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางผนวกที่ 3) ค่าความเป็นด่างรวมของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 28) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางผนวกที่ 2) โดยค่าความเป็นด่างรวมทั้งบ่อทดลองและบ่อควบคุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งค่าความเป็นด่างรวมที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีค่าระหว่าง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ในระหว่างการเลี้ยงแม้ว่าจะมีฝนตกค่อนข้างมาก แต่การจัดการภายในฟาร์มทุกครั้งที่มีฝนตกจะมีการเติมวัสดุปูนได้แก่ ปูนมาร์ล ($CaCO_3$) หรือปูนขาว ($CaOH_2$) เพื่อรักษาระดับพีเอชของน้ำให้เหมาะสม ดังนั้นค่าความเป็นด่างรวมซึ่งหมายถึงปริมาณไบคาร์บอเนตอิออน (HCO_3^-) คาร์บอเนตอิออน (CO_3^{2-}) และไฮดรอกไซด์อิออน (OH^-) จึงไม่ต่ำมากซึ่งเกิดจากการเติมวัสดุปูนลงไป

2.8 ความกระด้าง

ค่าความกระด้างของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 1,240-8,010 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 4,087.87±1938.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 1,240-9,020 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 3,750.63±2,100.45 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางผนวกที่ 3) ค่าความกระด้างของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 29) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางผนวกที่ 2) ในการเลี้ยงกุ้งทะเลทั่วไป ชลอ และคณะ(2549) แนะนำว่าความกระด้างของน้ำไม่ควรต่ำกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยค่าความกระด้างรวมทั้งบ่อทดลองและบ่อควบคุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องจากความกระด้างส่วนใหญ่จะเป็นการวัดปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมซึ่งในระหว่างการเลี้ยงมีการเติมวัสดุปูนซึ่งมีแคลเซียมหรือโดโลไมท์ซึ่งมีแคลเซียมและแมกนีเซียม ทำให้ค่าความกระด้างของน้ำไม่ต่ำลงไปมากแม้ว่าจะมีฝนตกในปริมาณมากก็ตาม

2.9 ปริมาณแอมโมเนียรวม

ปริมาณแอมโมเนียรวมของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 0.00-0.53 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 0.14±0.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.00-0.67 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 0.17±0.21 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางผนวกที่ 3) ปริมาณแอมโมเนียรวมของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 30) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) (ตารางผนวกที่ 2) ปริมาณแอมโมเนียรวมของบ่อทดลองและบ่อควบคุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งปริมาณแอมโมเนียรวมที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำต้องมีปริมาณน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (สถาบันวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล, 2542) ปริมาณของแอมโมเนียในระยะแรกค่อนข้างสูงเนื่องจากน้ำที่สูบเข้ามาจากบ่อพักน้ำก่อนจะทำการปล่อยลูกกุ้งปริมาณแพลงก์ตอนยังมีไม่มาก การดึงแอมโมเนียไปใช้จึงมีน้อย แม้ว่าจะมีการเปิดเครื่องให้อากาศเต็มที่และมีสาหร่ายที่พื้นบ่อเนื่องจากน้ำใสเมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตถึงช่วงระยะเวลาหนึ่งก็จะลอยบริเวณผิวน้ำ (หรือที่เรียกว่าขี้แดด) และจมลงพื้นบ่อทำให้เกิดแอมโมเนีย แต่ในระยะเวลาต่อมาเมื่อปริมาณแพลงก์ตอนมีมากขึ้นปริมาณแอมโมเนียจะถูกนำไปใช้จึงมีค่าลดลงและเพิ่มขึ้นอีก ในช่วงสุดท้ายเพราะมีฝนตกมากปริมาณแพลงก์ตอนตายเป็นจำนวนมากซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับความโปร่งแสงในช่วงเวลานั้นจะสูงมาก

2.10 ปริมาณไนไตรท์

ปริมาณไนไตรท์ของบ่อทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 0.001-0.602 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 0.07±0.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบ่อควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.001-3.313 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ย 0.20±0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางผนวกที่ 3) ปริมาณไนไตรท์ของบ่อทดลองและบ่อควบคุม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 31) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางผนวกที่ 2) โดยในช่วงท้ายของการเลี้ยง พบว่า ปริมาณไนไตรท์ทั้งบ่อทดลองและบ่อควบคุมมีปริมาณไนไตรท์อยู่ในระดับที่สูงกว่ามาตรฐานปริมาณไนไตรท์จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับแอมโมเนียเนื่องจากปริมาณแอมโมเนียจะถูกแบคทีเรีย *Nitrosomonas* เปลี่ยนเป็นไนไตรท์ในกรณีที่มีออกซิเจนอย่างเพียงพอและพีเอชเหมาะสม (Boyd, 1989) ซึ่งปริมาณไนไตรท์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ยงยุทธ และ คณิต, 2537) บ่อที่ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำมีโอกาสเกิดไนไตรท์สูงมากแต่ในกรณีการศึกษาในครั้งนี้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่

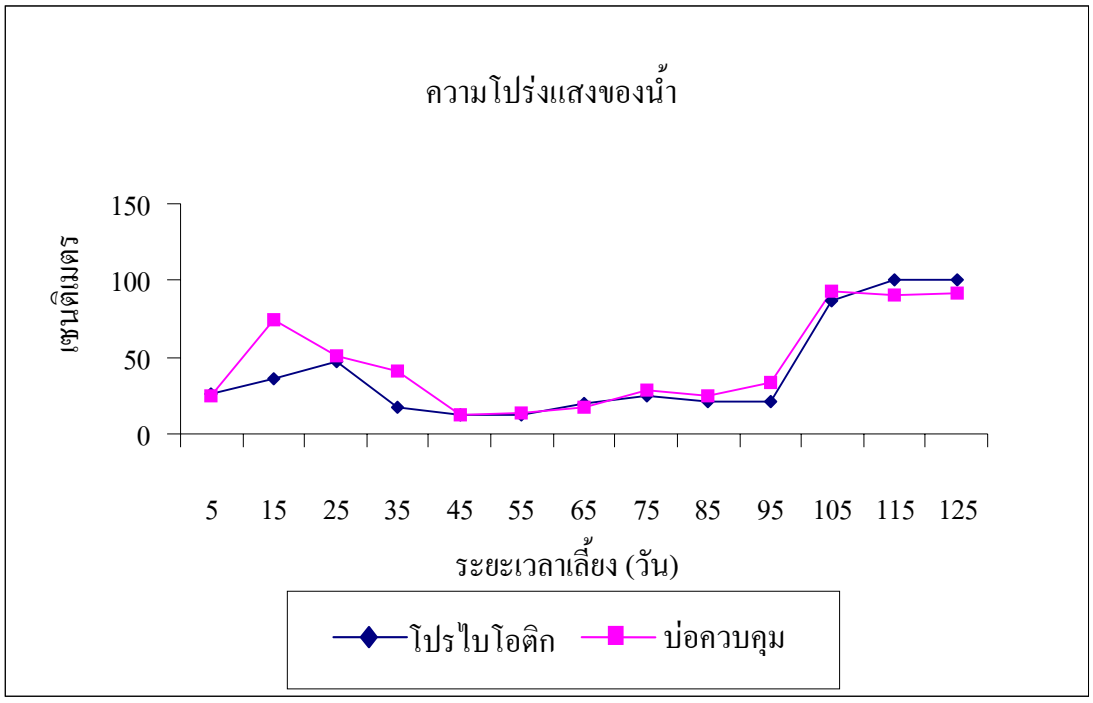
ในระดับที่สูงตลอดเวลา แต่ยังมีไนไตรท์บางช่วงเวลาในระดับที่สูง อาจจะมีสาเหตุจากความไม่สมดุลของปริมาณแบคทีเรียที่เปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรท์และเปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนเตรททำให้มีปริมาณไนไตรท์สูงและเกิดจากการตายของแพลงก์ตอนเป็นจำนวนมากจึงทำให้ปริมาณไนไตรท์ในช่วงปลายของการเลี้ยงมีค่าสูง

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของน้ำในบ่อทดลองและบ่อควบคุม

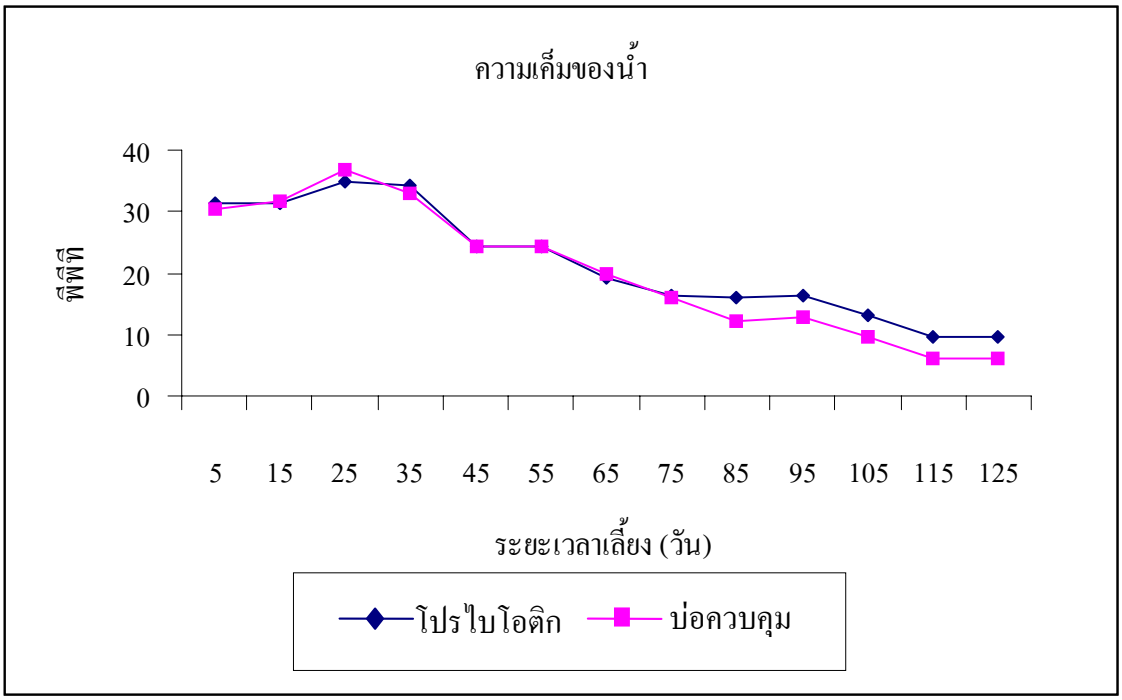
คุณสมบัติของน้ำ		บ่อทดลอง		บ่อควบคุม	
		พิสัย	ค่าเฉลี่ย	พิสัย	ค่าเฉลี่ย
ความโปร่งแสง (เซนติเมตร)		11-100	40.49 ± 34.26 [a]	9-100	45.85 ± 35.78 [a]
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	เช้า	25.1-33.2	29.29 ± 2.32 [a]	25.1-32.5	29.29 ± 2.41 [a]
	บ่าย	26.0-34.1	30.32 ± 2.48 [a]	26.0-34.0	30.35 ± 2.59 [a]
พีเอช	เช้า	6.25-7.95	7.18 ± 0.44[a]	6.18-7.85	7.19 ± 0.46 [a]
	บ่าย	7.18-8.68	8.15 ± 0.32 [a]	7.47-8.62	8.12 ± 0.31 [a]
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ	เช้า	3.13-4.90	4.12 ± 0.38[a]	3.15-5.72	4.14 ± 0.50[a]
(มิลลิกรัมต่อลิตร)	บ่าย	4.12-6.08	5.04 ± 0.39[a]	3.98-6.66	5.05 ± 0.49[a]
ความเค็ม (พีพีที)		6.0-36.2	21.59 ± 9.08 [a]	6.0-39.2	20.22 ± 10.41 [a]
ความนำไฟฟ้า (มิลลิซิเมนส์ต่อเซนติเมตร)		10-60.33	29.68 ± 9.80 [a]	10-65.33	28.31 ± 11.94 [a]
ความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		62.10-134.67	95.31 ± 15.18[a]	46-115.33	81.42 ± 16.31[a]
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)		1,240-8,010	4087.87 ± 1938.99 [a]	1,240-9,020	3750.63 ± 2100.45 [a]
แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		0-0.53	0.14 ± 0.18 [a]	0-0.67	0.17 ± 0.21 [a]
ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		0.001-0.602	0.07 ± 0.14 [a]	0.001-3.313	0.20 ± 0.68 [a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำกับด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

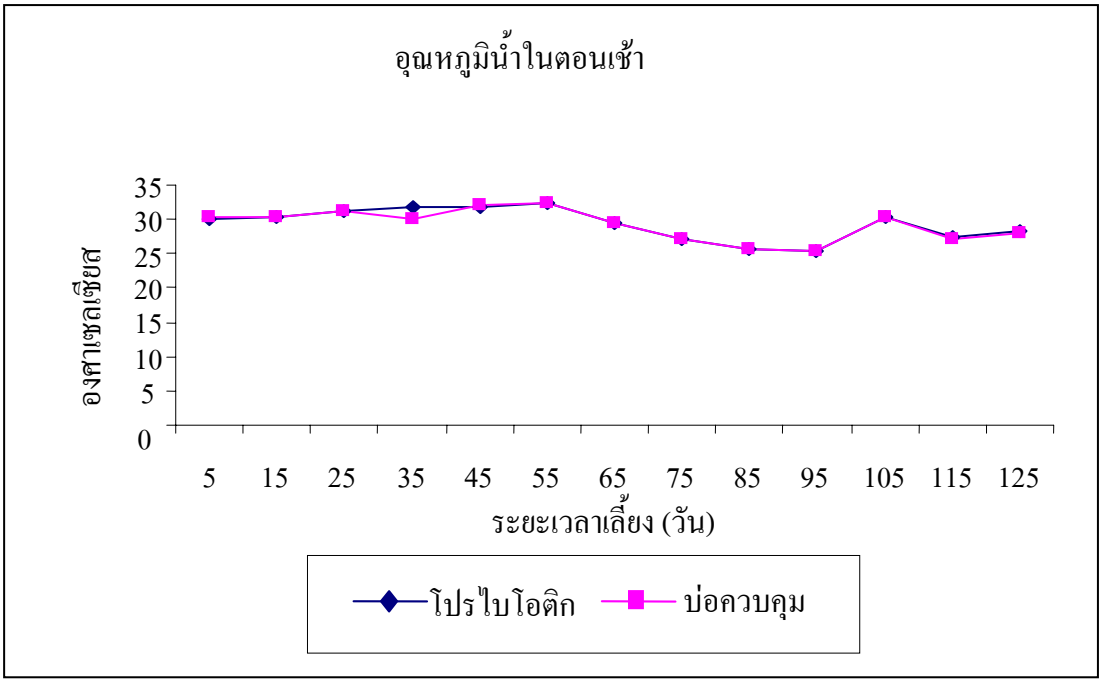
คุณภาพน้ำเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงกุ้งเนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ถ้ามีการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ไม่ดีจะส่งผลต่อการกินอาหารของกุ้ง การเกิดโรคต่างๆได้ง่ายขึ้น และมีอัตราการรอดตายต่ำ (Boyd and Fast, 1992) คุณภาพน้ำโดยภาพรวมแล้วจะต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสมซึ่งคุณสมบัติของน้ำแต่ละอย่างจะมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติของน้ำอื่น ๆ ด้วย เช่นพีเอชจะมีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Boyd, 1989) ส่วนความเป็นด่างที่เหมาะสมนอกจากจะเป็นตัวช่วยควบคุมพีเอชของน้ำไม่ให้แกว่งตัวมากในรอบวันยังมีความสัมพันธ์กับพีเอชด้วยเพราะพีเอชที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งระหว่าง 7.5-8.5 จะทำให้ความเป็นด่างของน้ำส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุม พีเอชของน้ำและเป็นแหล่งให้คาร์บอนไดออกไซด์แก่แพลงก์ตอนพืช เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสงในตอนกลางวัน (ชลอ และ พรเลิศ , 2547)



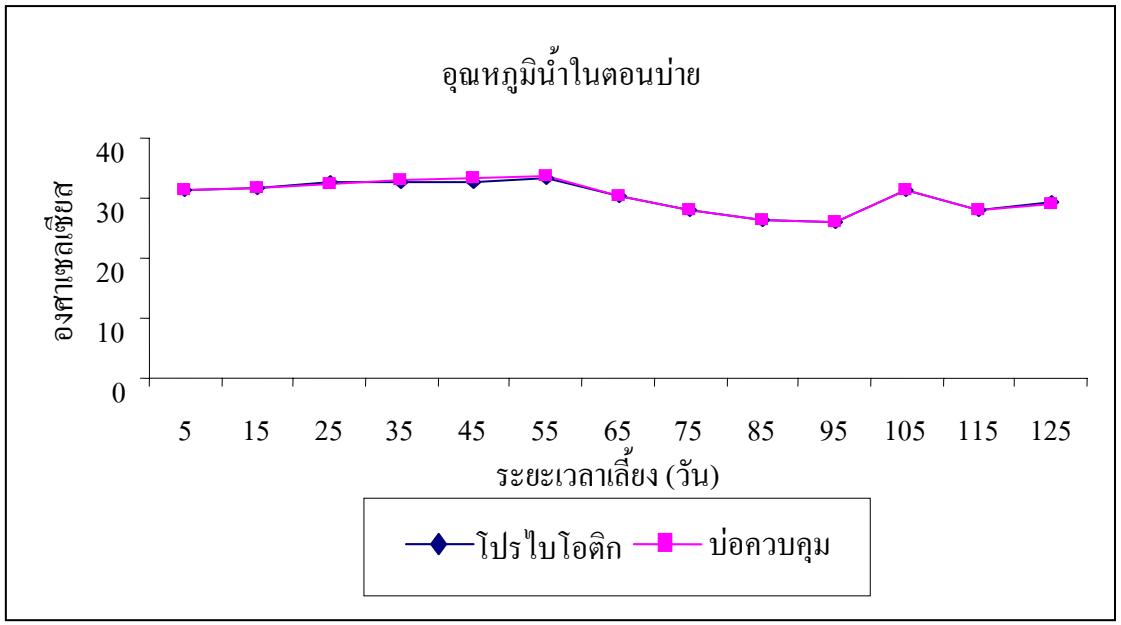
ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงความโปร่งแสงของน้ำตลอดการเลี้ยง



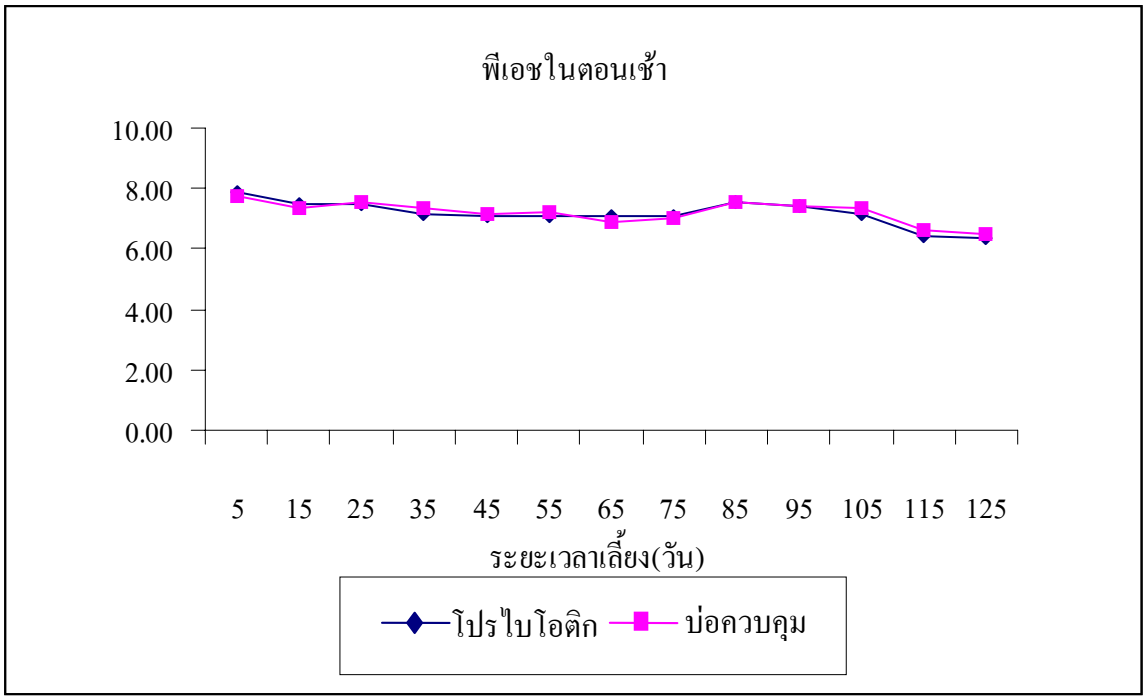
ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำตลอดการเลี้ยง



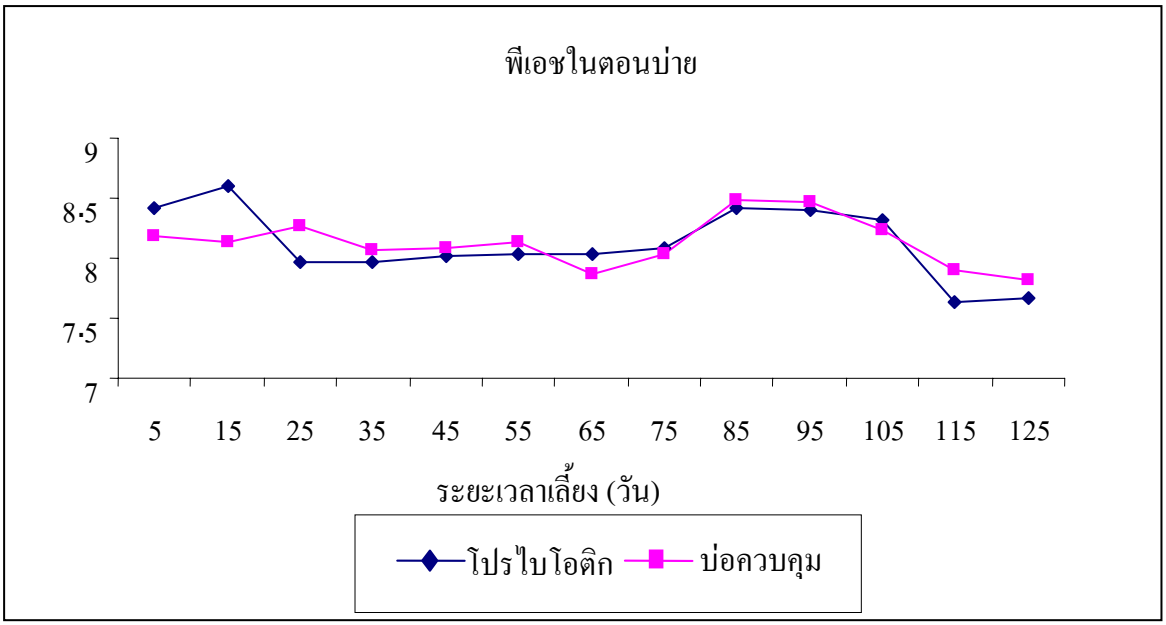
ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำในตอนเช้าตลอดการเลี้ยง



ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำในตอนบ่ายตลอดการเลี้ยง



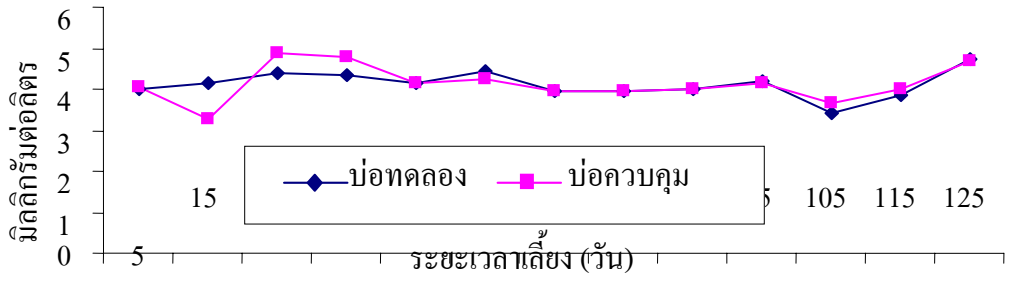
ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในตอนเช้าตลอดการเลี้ยง

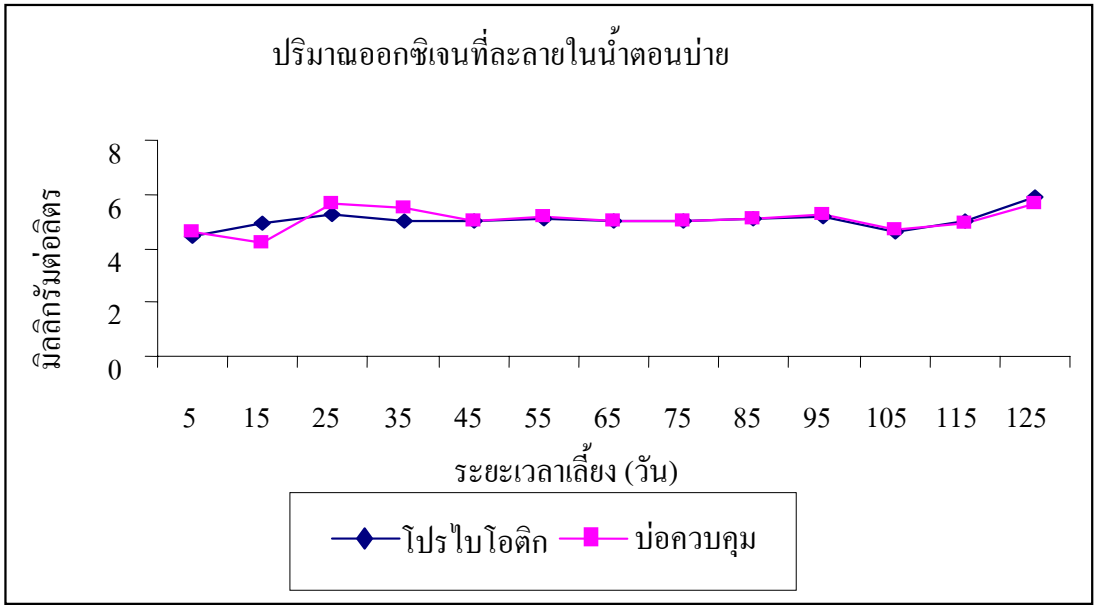


ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในตอนบ่ายตลอดการเลี้ยง

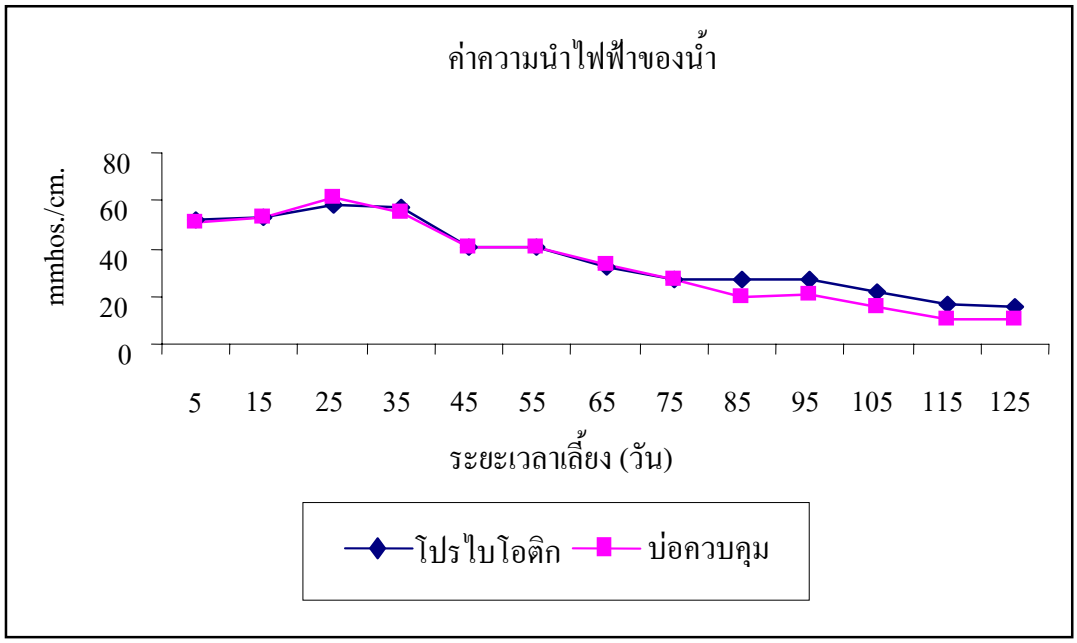
ผิดพลาด!

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำตอนเช้า

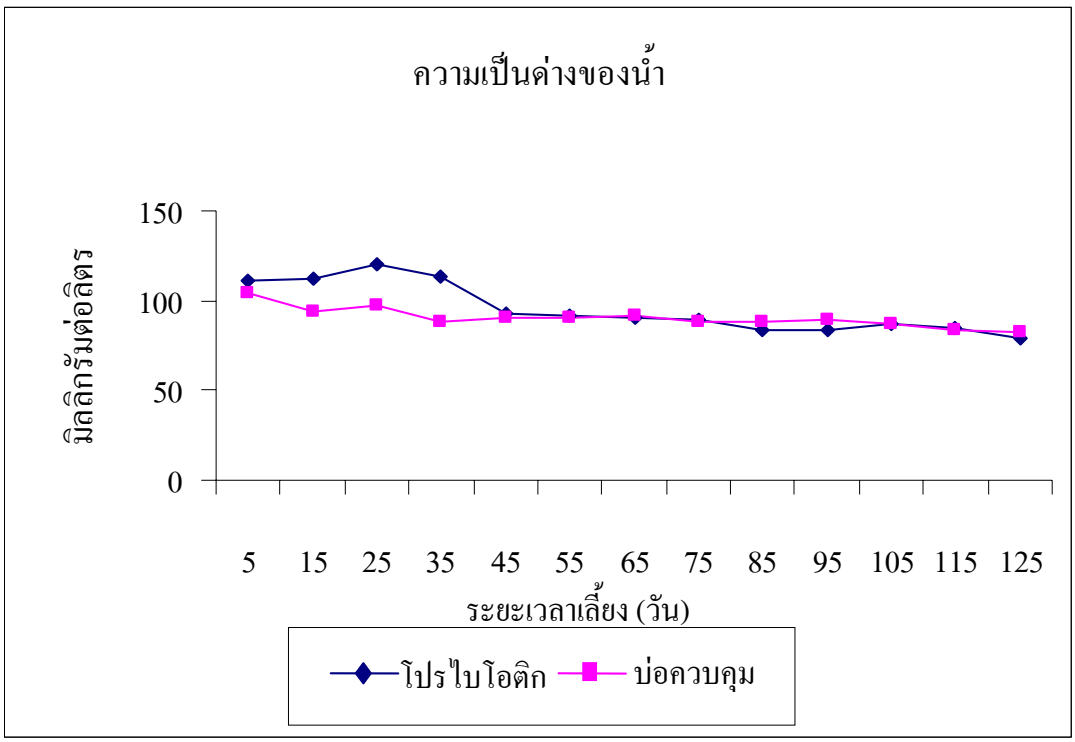




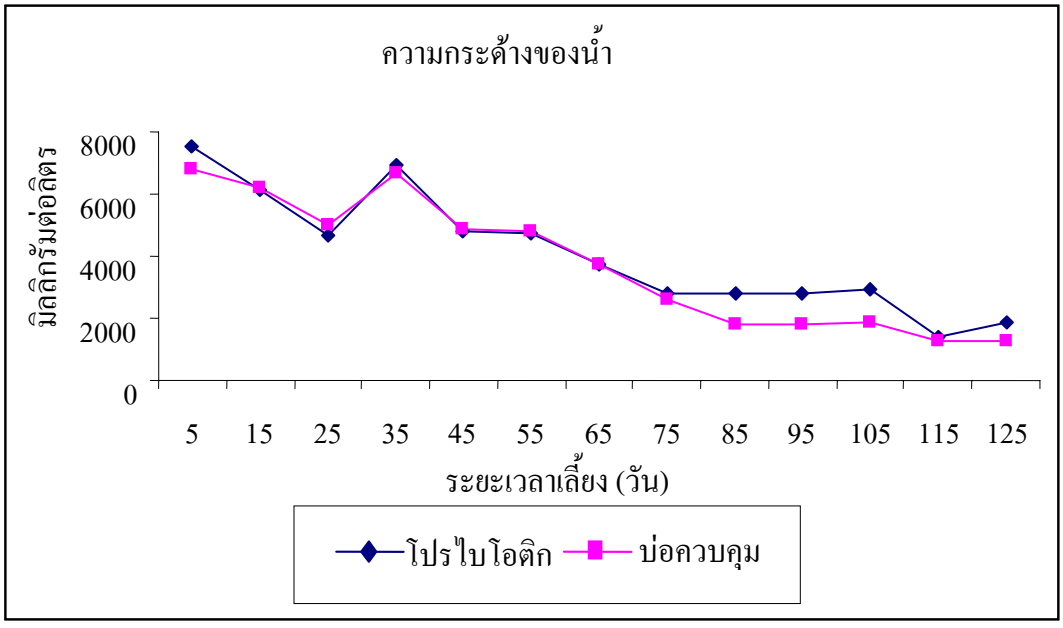
ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในตอนบ่ายตลอดการเลี้ยง



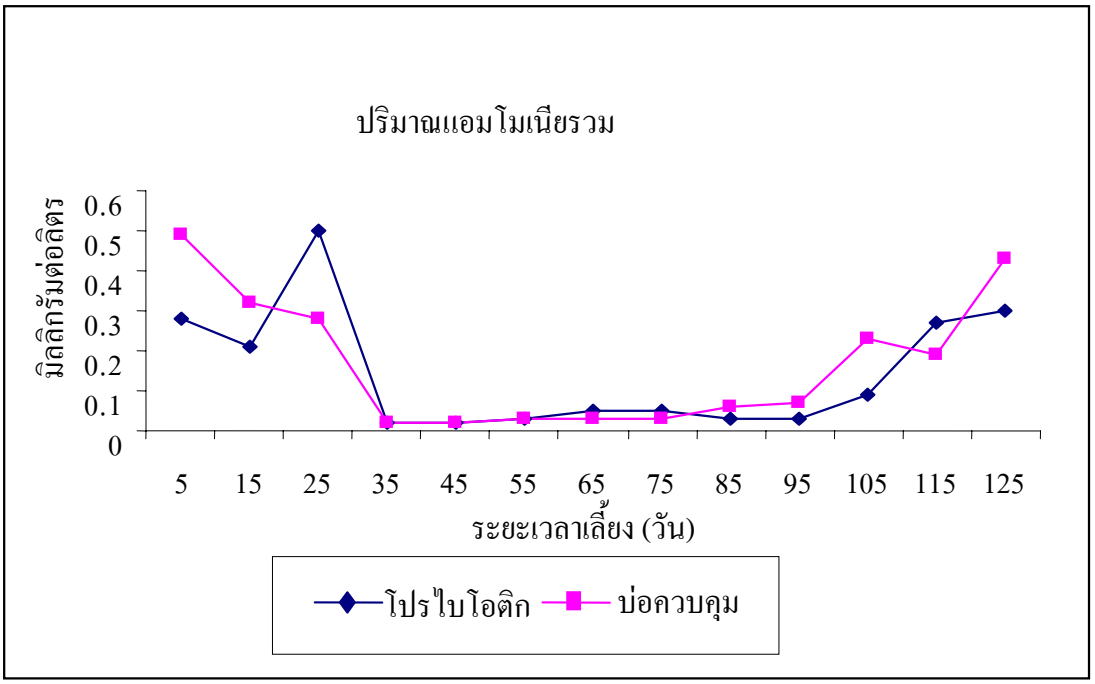
ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงความนำไฟฟ้าของน้ำตลอดการเลี้ยง



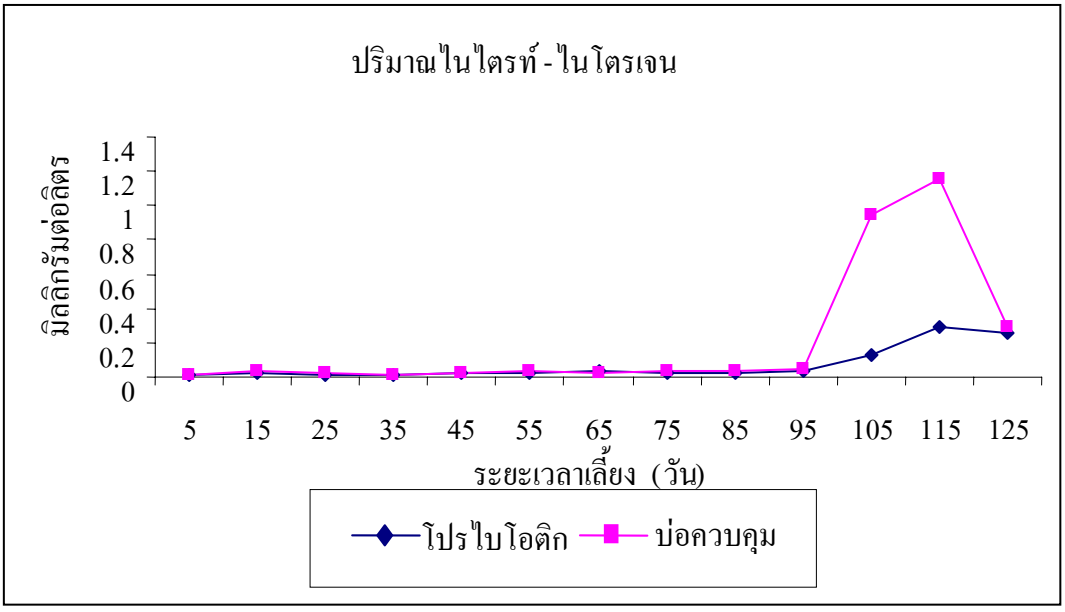
ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลงความเป็นด่างของน้ำตลอดการเลี้ยง



ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงความกระด้างของน้ำตลอดการเลี้ยง



ภาพที่ 30 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียรวมของน้ำตลอดการเลี้ยง



ภาพที่ 31 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนของน้ำตลอดการเลี้ยง

3. การศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ ตับและตับอ่อน

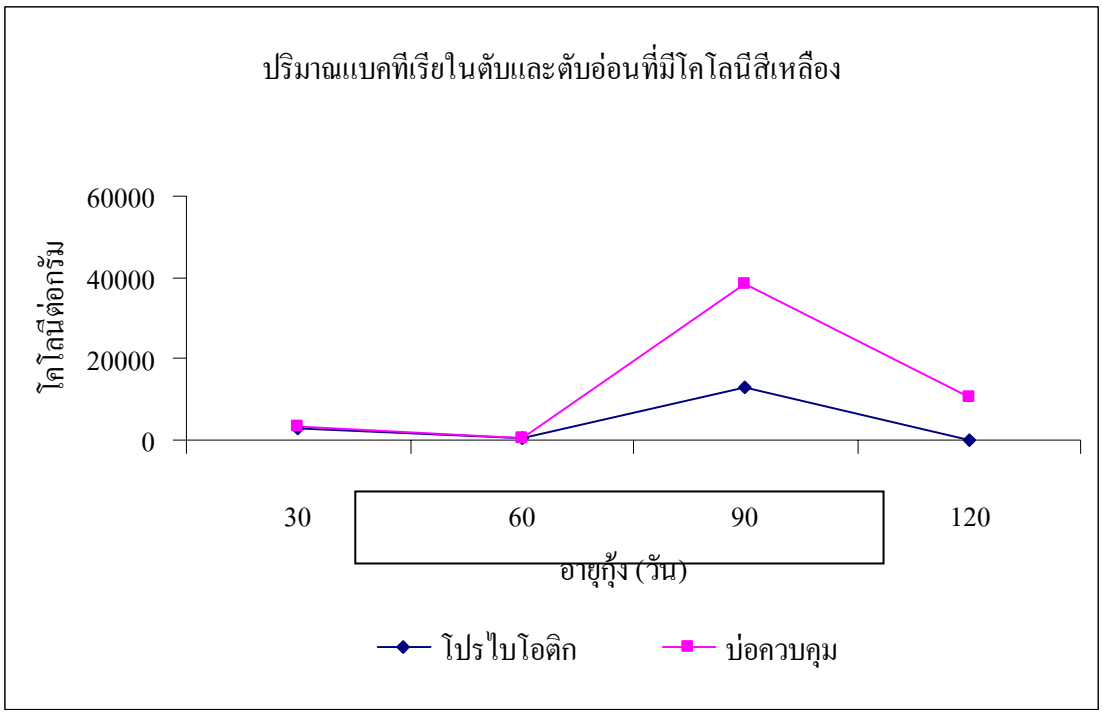
ผลการศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากลำไส้ ตับและตับอ่อน ของกุ้งกุลาดำในกลุ่มทดลองที่ใช้โปรไบโอติกและกลุ่มควบคุมโดยทำการเพาะเชื้อเมื่อกุ้งอายุ 30, 60, 90 และ 120 วัน พบว่าในระยะเวลา 30 วัน หลังจากปล่อยลูกกุ้งที่ยังไม่มีการให้อาหารผสมโปรไบโอติกปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มทดลองและควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อเก็บตัวอย่างกุ้งอายุ 60 , 90 และ 120 วันมาเพาะเชื้อแบคทีเรียพบว่าในกลุ่มทดลองและควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 32, 33, 34, 35 ชนิดของแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อ คือ *Vibrio fluvialis* , *V. vulnificus*, *V. cholerae* (non-01) โดยในกลุ่มทดลองจะมีปริมาณเชื้อ *Vibrio* น้อยกว่าในกลุ่มควบคุมเนื่องจากโปรไบโอติกที่ผสมให้กุ้งกินจะเข้าไปยึดเกาะบนผนังลำไส้ (ภาพที่ 36) และผลิตกรดแลคติกออกมาทำให้ระดับพีเอชในลำไส้ลดลงซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* จึงทำให้มีปริมาณที่ลดลง

บ่อเลี้ยงกุ้งที่มีการเลี้ยงแบบพัฒนา มีการปล่อยลูกกุ้งอย่างหนาแน่น ถ้าการจัดการเรื่องอาหารไม่เหมาะสม เช่น มีการให้อาหารมากเกินไปทำให้มีการสะสมของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์เป็นจำนวนมาก สารเหล่านี้จะเป็นแหล่งอาหารให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี โดย Sung *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรีย *Vibrio* sp. ในบ่อระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบ *V. parahaemolyticus* และ *V. alginolyticus* ร่วมกับเชื้อ *Vibrio* ชนิดอื่น ขณะเดียวกันได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียในตับและตับอ่อน พบว่า 68.2 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อ *Vibrio* ทั้งหมดเป็นเชื้อ *V. harveyi* และจากการศึกษาของ กุลวรา (2534) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากกุ้งป่วยพบว่าเชื้อที่ได้ คือ *V. harveyi* , *V. alginolyticus* และ *Vibrio* sp. สอดคล้องกับการศึกษาของ Tendencia and Dureza (1996) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากส่วนตับและตับอ่อน, antennal gland, haemolymph และ lymphoid organ ในกุ้งที่มีอาการ red disease syndrome พบแบคทีเรีย *V. harveyi* , *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus* และ *Vibrio* sp. นอกจากนี้อมรชัย (2536) ได้ทำการศึกษาโดยแยกเชื้อ *Vibrio* จากตับและตับอ่อนของกุ้งกุลาดำจากที่ป่วยเป็นโรคจากฟาร์มกุ้งทั่วประเทศ พบว่า เป็นเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุดถึง 27.03 เปอร์เซ็นต์

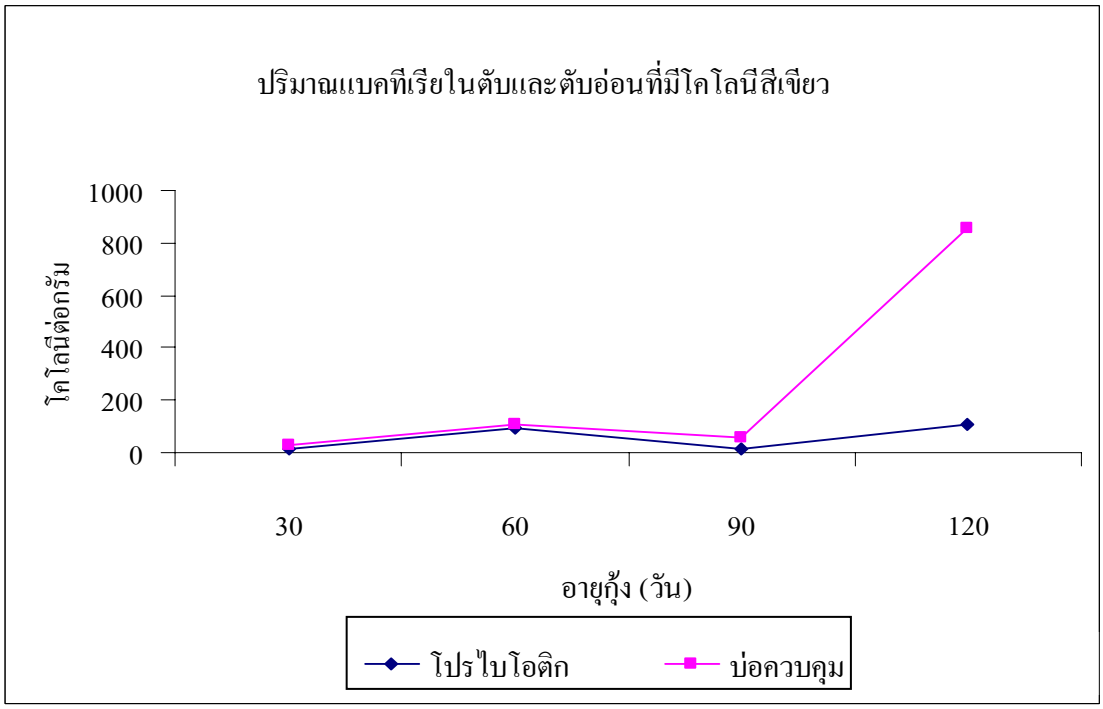
ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียเมื่อทำการเพาะเชื้อ

อายุกุ้ง (วัน)	อวัยวะ	โคโลนี	ค่าเฉลี่ย	
			บ่อทดลอง (โคโลนีต่อกรัม)	บ่อควบคุม (โคโลนีต่อกรัม)
30	ตับและตับอ่อน	สีเหลือง	$2.68 \times 10^3 \pm 543.34^a$	$3.24 \times 10^3 \pm 834.81^a$
	ตับและตับอ่อน	สีเขียว	$1.39 \times 10 \pm 20.28^a$	$2.89 \times 10 \pm 24.21^a$
	ลำไส้	สีเหลือง	$3.02 \times 10^2 \pm 61.95^a$	$3.43 \times 10^2 \pm 40.31^a$
	ลำไส้	สีเขียว	0	0
60	ตับและตับอ่อน	สีเหลือง	$3.76 \times 10^2 \pm 50.03^a$	$3.86 \times 10^2 \pm 72.82^a$
	ตับและตับอ่อน	สีเขียว	$0.93 \times 10^2 \pm 6.73^a$	$1.05 \times 10^2 \pm 16.79^a$
	ลำไส้	สีเหลือง	$3.14 \times 10^2 \pm 34.32^a$	$3.73 \times 10^2 \pm 71.79^b$
	ลำไส้	สีเขียว	$0.78 \times 10^2 \pm 25.18^a$	$3.03 \times 10^2 \pm 31.23^b$
90	ตับและตับอ่อน	สีเหลือง	$1.32 \times 10^4 \pm 147.48^a$	$3.86 \times 10^4 \pm 294.64^b$
	ตับและตับอ่อน	สีเขียว	$1.59 \times 10 \pm 16.04^a$	$5.96 \times 10 \pm 22.98^b$
	ลำไส้	สีเหลือง	$0.78 \times 10^2 \pm 12.37^a$	$1.52 \times 10^2 \pm 46.31^b$
	ลำไส้	สีเขียว	$3.60 \times 10 \pm 13.38^a$	$9.62 \times 10 \pm 38.97^b$
120	ตับและตับอ่อน	สีเหลือง	$0.02 \times 10^4 \pm 67.42^a$	$1.06 \times 10^4 \pm 1{,}145.84^b$
	ตับและตับอ่อน	สีเขียว	$1.07 \times 10^2 \pm 62.18^a$	$8.56 \times 10^2 \pm 787.58^b$
	ลำไส้	สีเหลือง	$0.28 \times 10^3 \pm 236.73^a$	$2.39 \times 10^3 \pm 2{,}353.02^b$
	ลำไส้	สีเขียว	$1.65 \times 10^2 \pm 197.13^a$	$4.71 \times 10^2 \pm 354.28^b$

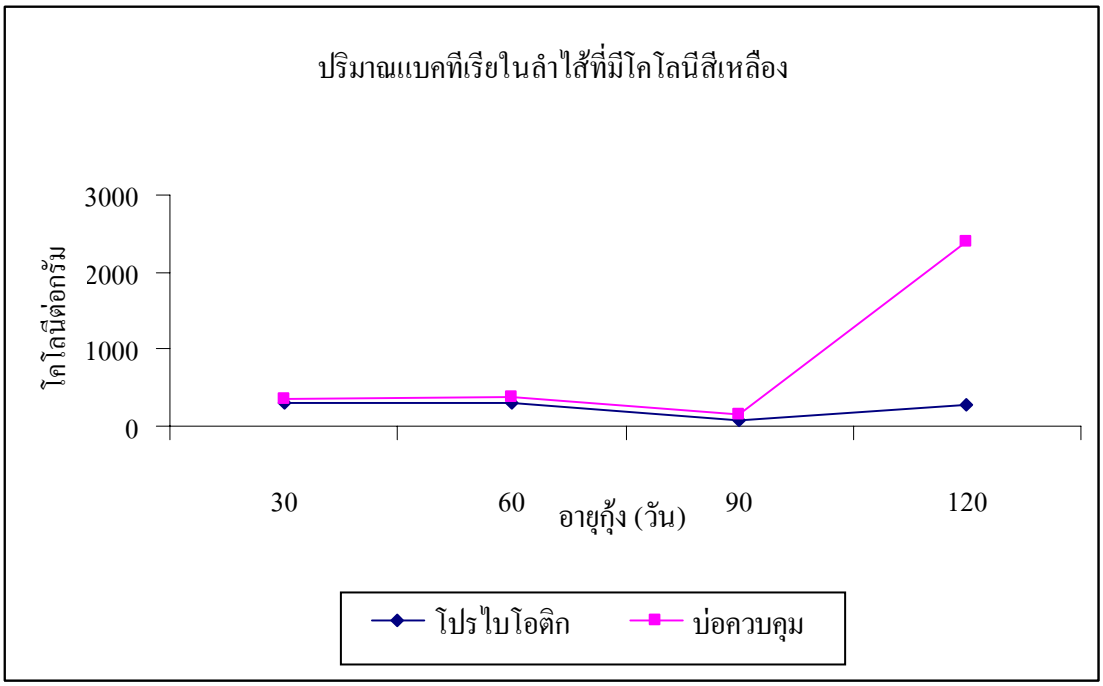
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำกับด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



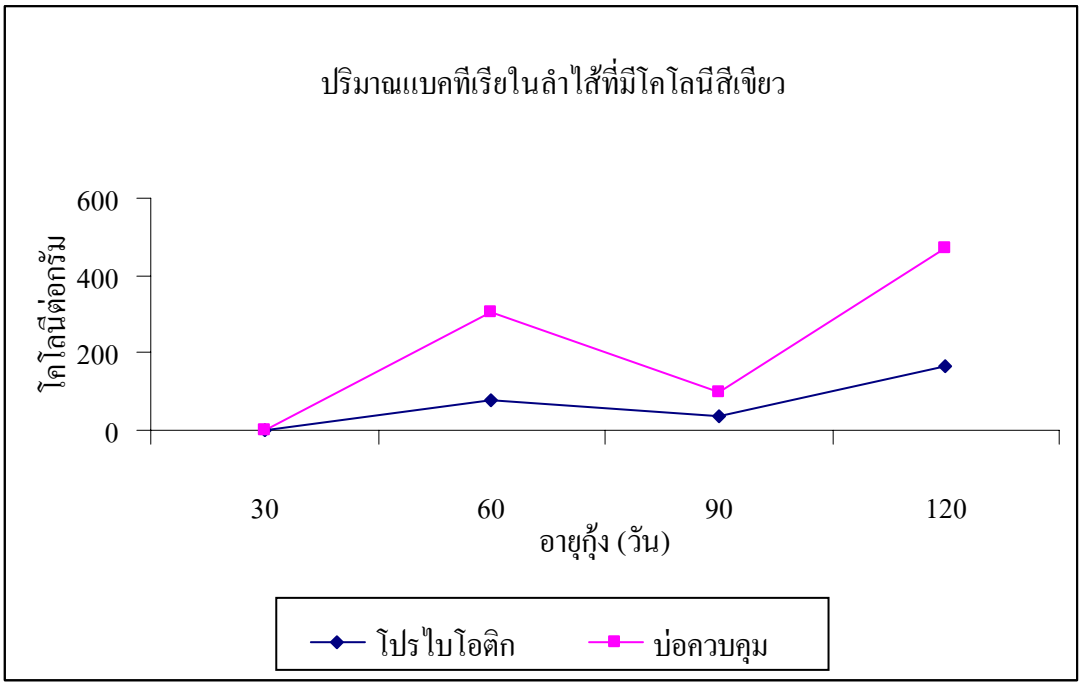
ภาพที่ 32 ปริมาณแบคทีเรียในตับและตับอ่อนที่มีโคโลนีสีเหลือง



ภาพที่ 33 ปริมาณแบคทีเรียในตับและตับอ่อนที่มีโคโลนีสีเขียว



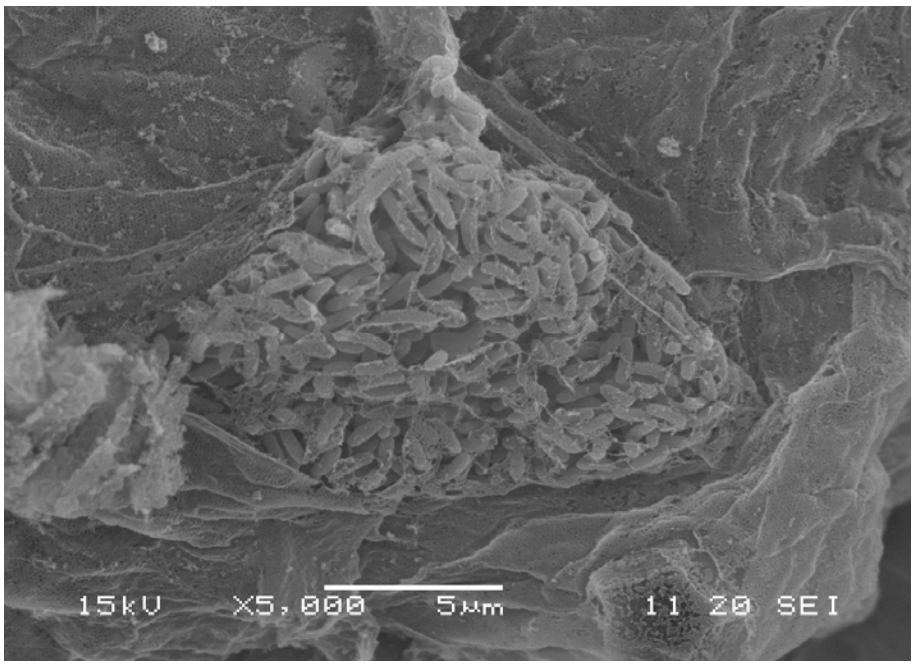
ภาพที่ 34 ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ที่มีโคโลนีสีเหลือง



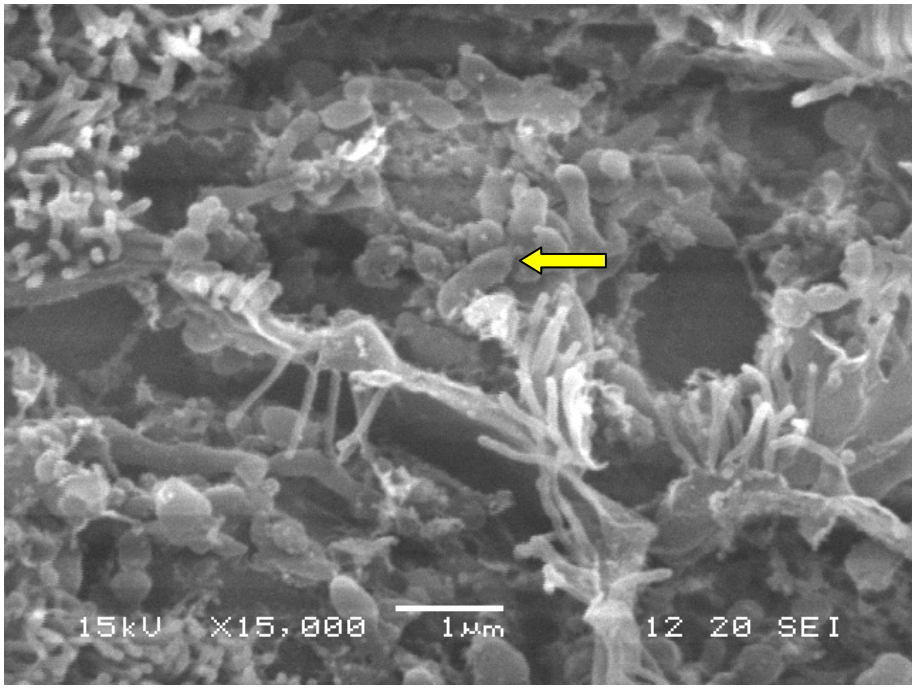
ภาพที่ 35 ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ที่มีโคโลนีสีเขียว

ตารางที่ 6 ค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ต้นทุน	บ่อทดลอง	บ่อควบคุม
ต้นทุนในการเลี้ยง (บาทต่อไร่)	80,000	80,000
ค่าแบคทีเรียโปรไบโอติก (บาทต่อไร่)	33,000	-
ราคาแบคทีเรียโปรไบโอติก (บาทต่อครึ่งกิโลกรัม)	300	-
ต้นทุนทั้งหมด (บาทต่อไร่)	**113,000**	**80,000**
ผลผลิตที่ได้ (กิโลกรัมต่อไร่)	1,300	780
น้ำหนักกุ้ง (ตัวต่อกิโลกรัม)	45	63
ราคากุ้ง (บาทต่อกิโลกรัม)	140	106
รายได้ทั้งหมด (บาทต่อไร่)	**182,000**	**82,680**
ผลกำไร (บาทต่อไร่)	**69,000**	**2,680**



ภาพที่ 36 ลำไส้กุ้งที่ให้โปรไบโอติกผสมในอาหาร



ภาพที่ 37 ลำไส้กุ้งที่ไม่ได้ให้โปรไบโอติกผสมในอาหาร (ลูกศรชี้คือแบคทีเรีย *Vibrio*)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. บ่อที่มีการให้โปรไบโอติกผสมในอาหารทำให้กุ้งมีผลผลิตเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการรอดตาย และอัตราการเจริญเติบโต มากกว่าบ่อที่ไม่มีการให้โปรไบโอติกผสมในอาหาร

2. การให้โปรไบโอติกผสมในอาหารในปริมาณ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กุ้งกุลาดำกินติดต่อกันนาน 110 วัน สามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* ได้

3. คุณภาพน้ำในบ่อที่มีการให้โปรไบโอติกผสมในอาหารและบ่อที่ไม่มีการให้โปรไบโอติกผสมในอาหารนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาผลของการใช้โปรไบโอติกในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เนื่องจากปัจจุบันนี้มีการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์

2. ควรมีการทดลองใช้โปรไบโอติกในปริมาณที่แตกต่างกันเพื่อหาระดับที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำและกุ้งขาวแวนนาไม

3. การใช้โปรไบโอติกเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งที่ต้องการวิธีการเลี้ยงการจัดการโดยไม่มีการใช้ยาต้านจุลชีพและสารเคมีระหว่างการเลี้ยง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์. 2541. **การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพการผลิต การใช้และความต้องการ Probiotic ของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์**. กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์. กรมปศุสัตว์. กรุงเทพ ฯ. 40 น.

จิราพร เกษรจันทร์, สิทธิ บุณยรัตนผลิน และ อุษณีย์ เจษฎาไกรสร. 2530. โรคดาวเรืองในลูกกุ้งก้ามกราม. **เอกสารวิชาการ** ฉบับที่ 67/2530. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง. กรุงเทพฯ.

จตุพงษ์ มณีมัย, จีรวัฒน์ เดชสนธิ, ชัยวัฒน์ แสงสุโพธิ์, ศิริวัฒน์ แต้ปีติกุล, วิศณุ บุญญาวิวัฒน์ และ พิกุล จิรวาณิชไพศาล. 2543. **ผลของ Probiotic bacteria ในการป้องกันการก่อโรคของเชื้อ *Vibrio harveyi* D1526 ในลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา (Protection efficiency of probiotic bacteria agented *Vibrio harveyi* D1526 in black tiger shrimp postlarvae) (*Penaeus monodon*).** คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2530. การใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาโรคสัตว์น้ำ, น. 96-100. *ใน* โรคกุ้งทะเลและการใช้เคมีภัณฑ์. **เอกสารประกอบการสัมมนา** เรื่องการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ครั้งที่ 1, ตุลาคม 2530. ชมรมวิทยาศาสตร์การประมง คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2534. **คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ**. ฐานเศรษฐกิจ, กรุงเทพฯ. 202 น.

_____. 2543. **กุ้งไทย 2000 สู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม**. โรงพิมพ์เจริญรัตน์การพิมพ์, กรุงเทพฯ. 260 น.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2547. **อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย**. สนับสนุนการจัดการพิมพ์โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชเนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 5 ธันวาคม พ.ศ. 2547. บริษัทเมจิคพับบลิเคชั่นจำกัด. 206 น.

ดารุณี แซ่อุ่ย, อนันต์ ตันสุตะพานิช และ ลิลา เรืองแป้น. 2530. *Vibrio harveyi* สาเหตุของโรคแบคทีเรียเรืองแสงของลูกกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*), น. 1-6. *ใน* โรคกุ้งทะเลและการใช้เคมีภัณฑ์. **เอกสารประกอบการสัมมนา** เรื่องการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ครั้งที่ 1, ตุลาคม 2530. ชมรมวิทยาศาสตร์การประมงและคณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทัศนีย์ เชื้อทอง. 2539. โปรไบโอติก. **รายงานประกอบวิชา** Advance in Regulation and Control of Microbial Synthesis. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 68 น.

นิตยา ยิ้มเจริญ. 2549. **การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พยุง ภัทรกุลชัย. 2546. การเลี้ยงกุ้งคุณภาพเพื่อการบริโภคและการส่งออกในพื้นที่น้ำจืด. **เอกสารประกอบการสัมมนา**. สมาคมผู้เลี้ยงกุ้งในพื้นที่น้ำจืด. นครปฐม.

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล, เจ เอฟ เทอร์นบอล และ ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2537. **คู่มือการเลี้ยงและป้องกันโรคกุ้งกุลาดำ**. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง, เกษตรกลางบางเขน, กรุงเทพฯ. 98 น.

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

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. 2529. การใช้ Lactic acid bacteria เสริมแทนยาปฏิชีวนะในอาหารสุกร, น. 123-137. *ใน* **เอกสารประกอบ**การฝึกอบรมหลักสูตรจุลินทรีย์กับการพัฒนาการเกษตร, 3-7 มีนาคม 2529. ศูนย์การปฏิบัติการวิจัย และเรือนปลูกพืชทดลอง ,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ยนต์ มุกสิก. 2539. **คุณภาพน้ำกับกำลังผลิตของบ่อปลา**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 180 น.

ลิน, ซี เค. 2532. ความล้มเหลวในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลของไต้หวัน. **วารสารการประมง**. 42 (3) : 209-215.

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

วรวิทย์ ชีวาพร. 2531. คุณภาพน้ำ-ดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ, น 171-182. **ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, ชลบุรี.

วรรณิภา เพี้ยงภักตร์. 2539. **การใช้แบคทีเรียเสริมในอาหารกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล. 2547. การหาชนิดของแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งกุลาดำที่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ และเพื่อควบคุมคุณภาพสิ่งแวดล้อมในบ่อกุ้ง. **รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์** โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ 2547. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 41 น.

วิทย์ ธารชลานุกิจ. 2525. ประวัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย: **บทความวิชาการและเอกสารประกอบการสอน**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 61 น.

วิโรจน์ วนาสิทธิชัยวัฒน์. 2522. **ผลของการให้กินเชื้อบัคเตรีแลคติคต่อการเจริญเติบโตของสุกร**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศรัลยา แพงไตร. 2540. **การคัดเลือกเชื้อ Lactobacilli ที่สร้าง Bacteriocin จากอาหารประเภทปลาหมัก.** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 31 น.

ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์. 2540. **โปรไบโอติกความหวังใหม่ของการเลี้ยงกุ้งไทย**. สัตว์น้ำ 8(92) : 74-78.

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. 2546. **ระเบียบและการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามตามมาตรฐาน จี เอ พี พ.ศ. 2546**. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ. 102 น.

สินธิ แดงสกุล และ ลิลา เรืองแป้น. 2541. ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกที่ผลิตจาก *Bacillus* เพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. **วารสารประมง** 51(5) : 446-456.

สมเจตต์ จันทวัฒน์, ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา, จงรัก จันทร์เจริญสุข, วิโรจน์อิ่มพิทักษ์ และ อัญชลี สุทธิปราการ. 2529. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น**. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 117 น.

อมรชัย สมเจตน์เลิศเจริญ. 2536. **การศึกษาชนิดของเชื้อวิบริโอและการตกค้างของยาออกโซลินิคแอซิดในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรนุช อุตรภิชาติ. 2530. **การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติคซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาและการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้หมักแหนม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Anderson, I. G., M. N. Shamsudin, M. Shariff and G. Nash. 1988. Bacterial septicemia in juvenile tiger shrimp, *Peneaus monodon*, culture in Malaysia brackishwater ponds. **Asian Fish. Sci.** 2: 93-108.

APHA, AWWA. And WEE. 1995. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th edition United Book Press, Maryland. 1,220 p.

Austin, B. 1995. Biotechnology and diagnosis and control of fish pathogens. **J. Mar. Biotechnol**. 6:1-2.

Austin, B. and D. A. Austin. 1987. **Control of Bacterial Fish Disease**. Eills Horwood, Chichester. 353 p.

Baross, J. and J. Liston. 1970. Occurrence of *Vibrio* infection. **Jpn. J. Med. Sci. Biol.** 21(5) : 111-113.

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

Boyd, C.E. 1982. **Water Quality in Management for Fish Pond Culture**. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, Netherlands. 318 p.

_____. 1992. Shrimp pond bottom soil and sediment management, pp. 16-181. *In* **Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming**. World Aquaculture Society Baton Rouge Louisiana, U.S.A.

_____ 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 and Practices. Elsevier Science B.V.,Amsterdam.

_____ and C.S. Tucker. 1998. **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Kluwer Academic Publishers, Boston. 700 p.

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8th ed.,The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1,268 p.

Byun, T.D., S.C. Park, Y. Benno and T.K. O.h. 1997. **Probiotic effect of *Lactobacillus sp.* DS-12 in flounder (*Paralichthys olivaceus*)**. J. Gen. Appl. Microbiol. 43 : 305-308.

Douillet P.A. and C.J. Langdon. 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). **Aquaculture** 119 : 25-40.

Egidius, E. 1987. Vibriosis : Pathogenicity and pathology : A review. **Aquaculture** 67 : 15-28.

Fieber, L.A. and P.L. Lutz. 1982. Calcium Requirement for Molting in *Macrobranchium rosenbergii*. **J. World Maricul. Soc**. 13 : 21-27.

Fujino, T., J. Okuno, D. Nakada, A. Aoyama, K. Fukai, T. Mukai and T. Vedo. 1953. On the bacteriological examination of Shirasu-food poisoning. **Med. J. Osaka Univ**. 4: 299-304.

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

Gilliland, S.E., M. L. Speck and C. G. Morgan. 1975. **Detection of Lactobacillus acidophilus in feces of humans, pigs and chickens**. Pig News Infrom. 30 : 541-545.

Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture** 180, 147-165.

Joborn, A., Olsson, J.C., Westerdahl, A., Conway, P.L. and Kjelleberg, S. 1997. Colonization in the fish intestinal tract production of inhibitory substances in intestinal mucus and faecal extracts by Carnobacterium sp. Strain K1. **J. Fish Dis** 20: 383-392.

Johnson, P. T. 1983. Diseases caused by viruses, rikettsiae, bacteria and fungi, pp. 1-78. *In* A. J. Provenzana, Jr. (ed.). **The Biology of Crustacea**. Vol. 6. Academic Press, New York.

Kaneko, T. and R. Colwell. 1973. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesaspeak Bay. **J. Bacteriol.** 113:24-32.

Krantz, G. E., R. R. Colwell and E. Lovelace. 1969. *Vibrio parahaemolyticus* from the blue crab (*Callinectes sapidus*) in Chesaspeak Bay. **Science** 164 : 1286-1287.

Lawson, T.B. 1995. **Fundamentals of Aquaculture Engineering**. Chapman and Hall, New York. 355 p.

Lee, J. V.,P. Shread, A. L. Furniss and T. N. Bryant. 1981. Taxonomy and description of Vibrio fluvialis Nov. (synonym group EF-6). **J. Appl. Bacteriol**. 50 : 73-94.

Lightner, D. V. 1988. Vibrio disease of penaeid shrimp, pp. 42-46. *In* C. L. Sindermann and D. V. Lightner (eds.). **Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture**. Elsevier Science Publishers. Amsterdam.

_____, D. V. and R. M. Redman. 1977. Histochemical demonstration of melanin in cellular inflammatory process of penaeid shrimp. **J. Invert. Pathol**. 30 : 298-302.

Lily, D.M. and Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. **Science** 147: 747-748.

Luangtongkum, S. K. and K. Poonsuk. 1983. Investigation of *Vibrio* sp. In marine animals**. J. Vet. Res.** 14 : 157-158.

Lyons, T. P. 1987. Probiotic : an alternative to antibiotics. **Pig News Infrom**. 8(2) : 157-164.

Miyamoto, T., T. Katoa, Y. Obara, S. Akiyama, K. Takizawa and S. Yamai. 1969. *In vitro* haemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus* its close correlation with human pathogenicity. **J. Bacteriol**. 100 : 1147-1149.

Mugora, K., M. Higashi and H. Ketioku. 1987. The isolation of intestinal microflora of farmed red seabream (*Pagrus major*) and black seabream (*Acanthopagrus schleqeli*) at larvae and juvenile stages. **Aquaculture** 65 : 79-88.

Nash, G., C. Nithimathachocke, C. Tungmundi, A. Arkarajamorn, P. Prathanpipat and P. Ruamthaveesub. 1992. Vibriosis and its control in pond- reared *Penaeus monodon* in Thailand, pp. 143-155. *In* I. M. Shariff, R. P. Subasinghe and J. R. Arthur (eds.). **Disease in Asian Aquaculture I**. Fish Healt Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

Olsson, J. C., A. Westerdahl, P. L. Conway, and S. Kjelleberg**.** 1992. Intestinal colonization potential of turbot (*Scophthalmus maximus*)- and dab (*Limanda limanda*)-associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. **Appl. Environ. Microbiol**. 58:551-556

Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. **Animal Nutrition and Haelth**. 29:4-8.

Phianphak, W., S. Piyatirativarakul, p. Menasveta and S. Rengpipat. 1997. **Use of Probiotic in *Penaeus monodon***. Abstract of poster session, 2nd Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference 1997. Phuket, Thailand. 116 p.

Pollmann, D. S. 1986. Probiotics in pig diets, pp. 193-205. *In* W. Haresign and D. J. A. Cole (eds.). **Recent Advance in Animal Nutrition-1986**. Butterworth.

Reid, G.H. 1961. **Ecology of Inland Water and Esturaine**. Reingold Pulb.Co., New York. 375 p.

Rengpipat S,S. Rukpratanporn, S. Piyatiratitivorakul, P. Menasveta. 1998. Probiotic in Aquaculture : A Case Study of Probiotic for larvae of the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). pp. 177-181. *In* T.W. Flegel (ed.) **Advance in shrimp biotechnology**. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.

Sakata, T., 1990. **Microbiology in Poecilotherms**. Elsevier, Amsterdam, pp. 176.

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

Shivappa, R.B. and P. Chanratchakool. 1997. Efficiency of probiotics and disinfectant in controlling *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* larvae under normal and stress conditions. **Proceedings of the seminar on Biotechnology**. NSTDA, Bangkok. 314 p.

Timmermans, L.P.M., 1987. **Early development and differentiation in fish**. Sarsia 72: 331-339.

Vadstein, O., 1997. The use of immunostimulation in marine larviculture: possibilities and challenges. **Aquaculture** 155: 401-417.

Wickins, J.F. and D.C. Lee. 2002. **Crustacean Farming (second edition)**. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 392 p.

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

Yeo, J. and K.L.Kim. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or Yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. **Poulty Science** 76 : 381-385.

Zani, J.L., F.G. Weykamp, A.S Ferites and C. Gill-Turnes. 1998. Effect of probiotic Cen Biot on the control of diarrhhoea and feed efficiency in pigs. **J. of Appl. Microbiol**. 84: 68-71.

Zobell, C. E. 1941. Studies on marine bacteria I. The cultural requirements of heterotropics aerobes. **J. Mar. Res**. 4 : 42-75.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตในบ่อทดลองที่ใช้โปรไบโอติกและบ่อควบคุมหลังจาเลี้ยงนาน 140 วัน

	ค่าเฉลี่ย				
	บ่อทดลองที่ให้โปรไบโอติก	บ่อควบคุม	t	df	P
ผลผลิตเฉลี่ย (กิโลกรัมต่อไร่)	1,300 ± 45.83	780 ± 28.21	10.392	4	<0.05
น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	21.8 ± 0.26	15.9 ± 0.26	27.312	4	<0.05
อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อวัน)	0.16 ± 0.01	0.11 ± 0.01	2.449	4	<0.05
อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	85.4 ± 2.23	70.2 ± 1.30	10.186	4	<0.05
อัตราการแลกเนื้อ	1.63 ± 0.08	1.74 ± 0.02	-2.774	4	>0.05

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำในบ่อทดลองที่ใช้โปรไบโอติกและบ่อควบคุม

		ค่าเฉลี่ย				
		บ่อทดลองที่ให้โปรไบโอติก	บ่อควบคุม	t	df	P
ความโปร่งแสง (เซนติเมตร)		40.49 ± 34.26	45.85 ± 35.78	-0.676	76	>0.05
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	เช้า	29.29 ± 2.32	29.29 ± 2.41	0.019	76	>0.05
	บ่าย	30.32 ± 2.48	30.35 ± 2.59	-0.058	76	>0.05
พีเอช	เช้า	7.18 ± 0.44	7.19 ± 0.46	-0.354	76	>0.05
	บ่าย	8.15 ± 0.32	8.12 ± 0.31	0.328	76	>0.05
ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เช้า	4.12 ± 0.38	4.14 ± 0.50	-0.246	76	>0.05
	บ่าย	5.04 ± 0.39	5.05 ± 0.49	-0.209	76	>0.05
ความเค็ม (พีพีที)		21.59 ± 9.08	20.22 ± 10.41	0.621	76	>0.05
การนำไฟฟ้า (มิลลิซิเมนส์ต่อเซนติเมตร)		35.98 ± 15.14	33.69 ± 17.35	0.620	76	>0.05
ความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		95.31 ± 15.18	81.42 ± 16.31	1.834	76	>0.05
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)		4,087.87 ± 1,938.99	3,750.63 ± 2,100.45	0.737	76	>0.05
แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		0.14 ± 0.18	0.17 ± 0.21	-0.551	76	>0.05
ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		0.07 ± 0.14	0.20 ± 0.68	-1.237	76	>0.05

ตารางผนวกที่ 3 คุณสมบัติของน้ำตลอดการเลี้ยง

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
5	1	25	29.8	31.0	7.93	8.61	4.15	4.83	34.1	56.83	106.00	8,010.00	0.000	0.014
	2	27	30.3	31.5	7.85	8.31	3.98	4.25	30.0	50.00	108.67	7,450.00	0.042	0.003
	3	27	30.4	31.6	7.85	8.33	3.83	4.15	30.0	50.00	118.00	7,150.00	0.410	0.011
	4	25	29.9	31.1	7.56	8.01	3.83	4.03	30.0	50.00	60.00	6,070.00	0.520	0.012
	5	25	30.2	31.3	7.81	8.22	3.95	4.64	31.0	51.67	115.33	9,020.00	0.430	0.001
	6	25	30.5	31.5	7.85	8.34	4.35	5.03	30.0	50.00	105.00	5,215.00	0.520	0.013
15	1	25	30.1	31.2	7.95	8.61	4.12	4.70	34.4	57.33	107.00	6,600.00	0.000	0.012
	2	58	30.4	31.8	7.23	8.50	4.05	4.84	30.0	50.00	120.00	6,740.00	0.120	0.014
	3	25	30.3	31.8	7.25	8.68	4.25	5.18	30.1	50.17	109.00	5,120.00	0.520	0.052
	4	100	30.2	31.1	7.13	7.90	3.43	3.98	30.3	50.50	51.00	6,620.00	0.500	0.093
	5	100	30.7	31.9	7.82	8.42	3.15	4.22	30.1	50.17	100.00	6,680.00	0.170	0.013
	6	25	30.3	31.8	7.17	8.07	3.24	4.48	35.1	58.50	59.00	5,360.00	0.000	0.012

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
25	1	100	30.8	32.3	7.65	8.39	4.90	5.70	36.2	60.33	114.67	5,286.67	0.450	0.013
	2	15	31.7	33.2	7.30	8.31	3.98	4.84	34.3	57.17	112.00	4,720.00	0.520	0.014
	3	28	30.9	32.2	7.41	8.47	4.32	5.20	34.5	57.50	134.67	4,046.67	0.530	0.015
	4	17	31.1	32.1	7.82	8.43	5.72	6.66	36.0	60.00	55.33	4,633.33	0.000	0.025
	5	100	31.2	32.6	7.78	8.33	4.43	5.07	35.0	58.33	108.00	5,813.33	0.430	0.011
	6	37	31.3	32.8	7.13	8.03	4.56	5.20	39.2	65.33	64.00	4,573.33	0.420	0.013
35	1	15	32.1	33.0	7.14	7.89	3.87	4.68	34.0	56.67	103.33	6,600.00	0.010	0.011
	2	25	31.1	32.5	7.53	8.05	4.26	5.03	34.0	56.67	110.00	7,000.00	0.030	0.006
	3	13	32.4	33.0	6.85	7.97	4.83	5.30	34.1	56.83	126.00	7,240.00	0.010	0.011
	4	12	32.2	33.3	6.95	7.50	5.13	6.04	32.5	54.17	46.00	6,680.00	0.020	0.002
	5	100	31.9	33.0	7.68	8.14	4.25	5.04	36.2	60.33	86.00	6,680.00	0.010	0.012
	6	9	32.1	33.0	7.42	8.53	4.97	5.49	30.1	50.17	68.67	6,700.00	0.020	0.018

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
45	1	12	31.4	32.5	6.93	7.90	4.32	5.05	23.0	38.33	98.20	4,500.00	0.010	0.021
	2	12	31.5	32.8	7.42	8.20	4.14	5.03	25.0	41.67	89.70	4,925.00	0.040	0.009
	3	13	32.1	33.2	6.98	7.95	4.03	4.99	25.1	41.83	88.95	5,015.00	0.020	0.025
	4	11	31.8	33.0	7.25	8.10	4.45	5.10	24.1	40.17	97.50	4,750.00	0.020	0.009
	5	15	32.5	34.0	7.31	8.15	3.95	4.98	24.1	40.17	85.30	4,825.00	0.020	0.024
	6	10	32.1	33.3	6.95	7.98	4.05	5.04	24.5	40.83	89.02	5,920.00	0.030	0.035
55	1	13	33.2	34.1	7.41	8.12	4.68	5.04	23.5	39.17	89.95	4,475.00	0.020	0.015
	2	11	32.4	33.5	6.93	7.98	4.31	5.12	24.1	40.17	92.50	4,825.00	0.050	0.010
	3	13	31.8	32.9	6.95	7.99	4.34	5.14	25.3	42.17	91.70	4,925.00	0.030	0.030
	4	14	32.5	33.8	7.45	8.15	3.98	4.97	25.3	42.17	90.25	4,675.00	0.020	0.009
	5	12	32.2	33.7	7.31	8.25	4.27	5.20	25.2	42.00	91.30	4,763.00	0.030	0.031
	6	15	32.3	33.4	6.83	7.98	4.51	5.25	22.2	37.00	89.99	4,950.00	0.040	0.040

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
65	1	13	29.5	30.2	7.04	7.95	4.87	4.79	20.0	33.33	87.95	3,580.00	0.020	0.017
	2	20	29.4	30.4	7.03	8.02	4.01	5.04	19.0	31.67	92.18	3,750.00	0.080	0.015
	3	25	29.1	30.4	7.13	8.15	4.03	5.10	19.0	31.67	91.30	3,850.00	0.050	0.051
	4	12	29.4	30.3	6.98	7.80	3.93	4.98	19.2	32.00	95.10	3,595.00	0.020	0.010
	5	14	29.3	30.4	6.95	7.90	3.94	4.95	20.0	33.33	89.15	3,810.00	0.040	0.035
	6	25	29.4	30.3	6.79	7.90	4.02	5.08	20.5	34.17	90.05	3,815.00	0.040	0.010
75	1	25	26.7	27.8	6.87	7.98	3.68	4.97	17.1	28.50	91.50	2,890.00	0.010	0.009
	2	25	27.1	28.1	7.21	8.12	4.05	5.01	15.3	25.50	88.70	2,812.00	0.060	0.009
	3	26	27.2	28.2	7.24	8.15	4.13	5.12	16.4	27.33	89.10	2,630.00	0.070	0.040
	4	30	26.8	27.9	6.93	8.01	3.67	4.98	16.7	27.83	89.30	2,560.00	0.010	0.025
	5	28	26.9	27.9	7.13	8.10	4.01	5.02	15.5	25.83	87.65	2,751.00	0.030	0.030
	6	27	27.3	28.1	6.99	7.99	4.21	5.13	16.1	26.83	89.25	2,512.00	0.040	0.060

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
85	1	25	25.8	26.5	7.51	8.60	3.79	4.98	12.0	20.00	90.62	1,730.70	0.000	0.028
	2	20	25.8	26.3	7.52	8.32	4.03	5.14	16.5	27.50	75.60	3,298.90	0.000	0.001
	3	20	25.7	26.2	7.61	8.31	4.12	5.08	19.2	32.00	85.59	3,352.82	0.100	0.035
	4	25	25.7	26.4	7.53	8.61	3.81	4.99	12.0	20.00	90.48	1,745.60	0.010	0.035
	5	25	25.7	26.5	7.41	8.35	4.02	5.12	12.1	20.17	90.52	1,810.35	0.010	0.024
	6	25	25.6	26.0	7.71	8.48	4.21	5.10	12.0	20.00	71.50	1,892.05	0.150	0.069
95	1	25	25.1	26.0	7.54	8.60	4.20	5.10	12.2	20.33	90.67	1,726.67	0.000	0.039
	2	18	25.2	26.0	7.41	8.30	4.14	5.20	17.2	28.67	74.67	3,353.33	0.000	0.001
	3	20	25.4	26.2	7.35	8.31	4.23	5.30	19.1	31.83	86.00	3,366.67	0.100	0.039
	4	25	25.2	26.1	7.56	8.62	4.21	5.42	12.5	20.83	90.58	1,730.45	0.010	0.042
	5	50	25.1	26.0	7.32	8.30	4.12	5.18	13.0	21.67	90.45	1,800.50	0.010	0.025
	6	25	25.4	26.0	7.42	8.50	4.15	5.10	12.5	20.83	72.67	1,900.00	0.200	0.073

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
105	1	100	30.3	31.2	7.31	8.30	3.72	4.84	9.2	15.33	88.00	1,773.33	0.000	0.259
	2	70	30.1	31.5	7.16	8.37	3.13	4.79	15.2	25.33	72.70	3,613.33	0.010	0.028
	3	90	30.2	31.4	7.08	8.25	3.36	4.12	15.0	25.00	98.70	3,373.33	0.250	0.104
	4	100	30.2	31.3	7.25	8.25	3.80	4.92	9.0	15.00	86.50	1,810.20	0.010	0.054
	5	80	30.1	31.4	7.37	8.28	3.75	4.83	10.3	17.17	90.20	1,825.15	0.020	0.032
	6	100	30.4	31.6	7.35	8.15	3.48	4.36	9.3	15.50	72.70	1,920.00	0.670	2.749
115	1	100	26.8	27.7	6.51	7.72	4.28	5.15	6.0	10.00	78.00	1,240.00	0.400	0.561
	2	100	27.9	27.9	6.39	7.98	3.72	5.09	11.9	19.83	83.30	1,413.33	0.310	0.039
	3	100	27.4	28.4	6.41	7.18	3.61	4.80	11.3	18.83	94.02	1,468.00	0.090	0.290
	4	90	26.9	27.8	6.43	7.54	4.08	5.05	6.1	10.17	81.20	1,310.00	0.250	0.092
	5	80	27.3	28.2	6.45	7.62	3.81	4.95	6.5	10.83	82.40	1,315.00	0.300	0.045
	6	100	26.8	28.2	6.18	7.54	4.13	4.74	6.0	10.00	64.70	1,240.00	0.010	3.313

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

เวลาเลี้ยง (วัน)	บ่อ	Trans. (cm.)	Temp. (°C)		pH		D.O. (mg/l)		Salinity (ppt)	EC. (mS/cm)	Tot. Alk (mg/l)	Hardness (mg/l)	TAN (mg/l)	Nitrite (mg/l)
			เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย	เช้า	บ่าย						
125	1	100	28.2	29.1	6.25	7.37	4.78	5.82	6.0	10.00	62.10	1,243.00	0.320	0.602
	2	100	28.8	29.4	6.51	7.96	4.72	6.08	11.3	18.83	85.30	2,304.00	0.180	0.011
	3	100	28.2	29.6	6.34	7.65	4.68	5.80	11.4	19.00	90.70	2,029.00	0.410	0.169
	4	90	27.8	28.9	6.18	7.52	4.59	5.60	6.1	10.17	63.20	1,300.00	0.300	0.105
	5	85	27.6	28.8	6.3	7.48	4.36	5.48	6.2	10.33	65.40	1,256.00	0.350	0.062
	6	100	28.3	29.1	6.81	7.47	5.09	5.81	6.0	10.00	60.70	1,248.00	0.630	0.706