



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการประมง)

ปริญญา

วิทยาศาสตรการประมง

ชีววิทยาประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของโพรไบโอติก (*Bacillus* spp.) และปริมาณน้ำฝนต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Effects of Probiotic (*Bacillus* spp.) and Rain Water on Growth and Survival Rate in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

นามผู้วิจัย นางสาวนฤมล รัตนขันแสง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ชลอ ลี้มสุวรรณ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์อนงค์ จีระภัทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของโพรไบโอติก (*Bacillus* spp.) และปริมาณน้ำฝนต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายใน
การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Effects of Probiotic (*Bacillus* spp.) and Rain Water on Growth and Survival Rate in Rearing of
Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

โดย

นางสาวนฤมล รัตนขันแสง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการประมง)

พ.ศ. 2556

นฤมล รัตนขันแสง 2556: ผลของโพรไบโอติก (*Bacillus* spp.) และปริมาณน้ำฝนต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) สาขาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชลอ ลิมสุวรรณ, Ph.D. 75 หน้า

การศึกษาผลของการใช้โพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาว่า 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 30 ตัวต่อถัง (60 ตัวต่อตารางเมตร) ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่น้ำมีความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ในห้องปฏิบัติการโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่มีการเติมโพรไบโอติก) กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 เป็นกลุ่มที่เติมโพรไบโอติกลงในน้ำด้วยปริมาณ 2, 3 และ 4 ซีซีตามลำดับ โดยมีการเติมโพรไบโอติกในน้ำทุก 2 วันหลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่ากลุ่มที่มีการเติมโพรไบโอติก 4 ซีซีมีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุดคือ 1.10 ± 0.25 กรัม มากกว่ากลุ่มควบคุม คือ 0.76 ± 0.20 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่กลุ่มที่มีการเติมโพรไบโอติก 3 ซีซีมีอัตราการรอดสูงสุดคือ 96.67 ± 1.15 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากลุ่มควบคุม คือ 84.67 ± 1.15 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปริมาณแอมโมเนียรวมของทุกกลุ่มที่มีการเติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การศึกษาผลของปริมาณน้ำฝนและโพรไบโอติกต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาว่า 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 45 ตัวต่อถัง (90 ตัวต่อตารางเมตร) ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ในน้ำความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ในห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกับการทดลองในส่วนที่ 1 โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่มีการเติมโพรไบโอติก และเปลี่ยนถ่ายด้วยน้ำเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 30 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำทั้งหมดทุก 5 วัน) กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 เป็นกลุ่มที่เติมโพรไบโอติกลงในน้ำด้วยปริมาณที่เท่ากัน คือ 4 ซีซี โดยมีการเติมโพรไบโอติกในน้ำทุกๆ 2 วัน ซึ่งกลุ่มทดลองที่ 2 เปลี่ยนถ่ายด้วยน้ำเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 40 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำทั้งหมด กลุ่มทดลองที่ 3 และ 4 เปลี่ยนถ่ายด้วยน้ำฝน ปริมาตร 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า กลุ่มทดลองที่ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.11 ± 0.04 กรัม และมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม คือ 0.86 ± 0.04 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และอัตราการรอดตายของกลุ่มทดลองที่ 2 เท่ากับ 92.56 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากลุ่มควบคุม 91.11 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่า ค่าความเป็นด่างและค่าพีเอชของทุกกลุ่มทดลองที่มีการเติมโพรไบโอติกและมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำฝนมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Narumol Rattanakhansang 2013: Effects of Probiotic (*Bacillus* spp.) and Rain Water on Growth and Survival Rate in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Master of Science (Fisheries Science), Major Field: Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor: Associate Professor Chalor Limsuwan, Ph.D. 75 pages.

Effect of probiotics (*Bacillus* spp.) on growth and survival rate of postlarvae 10 (PL10) of *Litopenaeus vannamei* during rearing was carried out under laboratory condition where postlarvae were stocked in 500-L fiberglass tanks at the density of 30 PLs/tank (60 PLs/m^2) with 25 ppt. sea water salinity. The experiment was divided in 4 treatments, the first treatment was the control (without addition probiotics to the water), the 2nd, 3rd and 4th treatments included the addition of probiotics at a concentration of 2, 3 and 4 ppm., respectively. The probiotics was added in water once after every two days. After rearing the postlarvae for 30 days, the results showed that the shrimp reared with 4 ppm. probiotics had highest average weights $1.10 \pm 0.25 \text{ g}$ which was significantly different ($p < 0.05$) from control group ($0.76 \pm 0.20 \text{ g}$) but shrimp reared with 3 ppm. probiotics had highest survival rate 96.67 ± 1.15 percentage which was significantly different ($p < 0.05$) from control group (84.67 ± 1.15 percentage). The result of water quality after the end of experiment showed that the total ammonia concentrations of all the probiotics treated group was significantly lower ($p < 0.05$) than control group.

Effect of rain water and probiotics (*Bacillus* spp.) on water qualities, growth and survival rate in rearing of PL10 *L. vannamei* were carried out under laboratory condition in which postlarvae were stocked in 500-L fiberglass tanks at density 45 PLs/tank (90 PLs/m^2) in 25 ppt. sea water salinity. The experiment was divided in 4 treatments, the first treatment was the control (without addition of probiotics to the water and water was maintained at 25 ppt., by exchanging sea water 25 ppt. salinity 30%), the 2nd, 3rd and 4th treatments included the addition of probiotics at concentrations of 4 ppm. The probiotic was added in water once after every two days. The 2nd experiment was carried out with water of 25 ppt., by exchanging sea water 25 ppt. salinity 30%, the 3rd and 4th was carried out by exchanging with rain water of 30% and 40%, respectively. After rearing the postlarvae for 30 days, the results showed that the shrimp reared in the 2nd experiment had highest average weights $1.11 \pm 0.04 \text{ g}$ which was significantly different ($p < 0.05$) from control group ($0.86 \pm 0.04 \text{ g}$) and shrimp reared in the 2nd experiment had highest survival rate 92.56 ± 0.58 percentage which was significantly different ($p < 0.05$) from control group (91.11 ± 0.58 percentage). The result of water quality showed that the salinity, alkalinity and pH of all probiotic added experimental groups and with rain water was significantly lower than ($p < 0.05$) the control group.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชลอ ลีมสุวรรณ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนการวิจัยในวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิติ ชูเชิด กรรมการที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาและตรวจแก้ไขทำให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวที่ให้อำลังใจเสมอมา และขอขอบคุณสมาชิก ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และให้อำลังใจตลอดการทำงาน

นฤมล รัตนขันแสง

มีนาคม 2556

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	33
ผลและวิจารณ์ผล	41
สรุปผล	53
ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	55
ภาคผนวก	68
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	75

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน	42
2	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30 วัน	43
3	คุณสมบัติของน้ำระหว่างเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	45
4	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน	47
5	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30	48
6	คุณสมบัติของน้ำระหว่างเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	52

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	การศึกษาผลของการใช้โพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และการศึกษาผลของปริมาณน้ำฝนและโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ในห้องปฏิบัติการ ณ ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน	39
2	ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10)	39
3	ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก (Probiotic) ที่ใช้ในการทดลอง	40
4	ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 1,000 ลิตรสำหรับเก็บน้ำฝน	40
5	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30	42
6	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองหลังจากการเลี้ยง 30 วัน	43
7	อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองหลังจากเวลาการเลี้ยง 30 วัน	47
8	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองหลังจากการเลี้ยง 30 วัน	48
9	อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองหลังจากการเลี้ยง 30 วัน	49
ภาพผนวกที่		
1	ลักษณะที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งด้วยวิธีชมฟัมไบโอเทค	72

**ผลของโพรไบโอติก (*Bacillus* spp.) และปริมาณน้ำฝนต่อการเจริญเติบโต
และอัตราการรอดตายในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)**

**Effects of Probiotic (*Bacillus* spp.) and Rain Water on Growth
and Survival Rate in Rearing of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**

คำนำ

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศไทยที่สร้างรายได้เป็นจำนวนมาก ซึ่งจากปริมาณการส่งออกกุ้งสด แช่เย็น-แช่แข็ง และกุ้งแปรรูปในปี พ.ศ. 2554 มีมูลค่า 3,558.71 ล้านดอลลาร์สหรัฐ คิดเป็นมูลค่าเพิ่มขึ้น 16.08% จากปีที่ผ่านมา มีการส่งออกเพิ่มขึ้นไปประเทศอังกฤษ เกาหลีใต้ ซึ่งมีสัดส่วน การส่งออกในตลาดหลักคิดเป็น 80.89% ประกอบด้วย สหรัฐฯ 45.53% ญี่ปุ่น 20.16% และสหภาพยุโรป 15.20% ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากในช่วงต้นปี พ.ศ. 2554 ผลผลิตทั่วโลกลดลง ส่งผลให้ราคาสินค้า ปรับเพิ่มขึ้นตามความต้องการของตลาดโลก (สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย, 2555)

ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ประสบความสำเร็จ คุณภาพน้ำเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญ นอกเหนือจากคุณภาพของลูกกุ้ง และอาหาร ซึ่งถ้าหากคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงอยู่ในระดับที่ไม่ดี ก็จะทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตช้า อ่อนแอและป่วยเป็นโรคในที่สุด ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง (ชลอ และพรเลิศ, 2547) เนื่องจากการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่จะมีการปล่อยลูกกุ้งในอัตราความหนาแน่นสูง ดังนั้นในระหว่างการเลี้ยงจึงมักจะมีปัญหาทั้งติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคขี้ขาว (มนทกานต์ และคณะ, 2552) ในการแก้ปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียนั้นตามปกติมักจะนิยมใช้ยาต้านจุลชีพ แต่ผลที่ตามมาคือ มีปัญหาการตกค้างในตัวกุ้ง และส่งผลกระทบต่อการส่งออก เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวจึงมีการนำโพรไบโอติก (probiotic) มาใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากการใช้โพรไบโอติกเป็นการป้องกันการเกิดโรค โดยโพรไบโอติกทำหน้าที่ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Fuller, 1989) ซึ่งตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้จัดโพรไบโอติก หรือสารเสริมชีวนะว่าเป็นวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต มีประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ ทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารอยู่ในสภาวะสมดุล ช่วยให้การย่อยอาหารดีขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้นและไม่มีปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม

การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมรวมทั้งการดื้อยาหรือสารตกค้าง (คณินิจ, 2541) นอกจากนั้น โพรไบโอติกหลายชนิดสามารถผลิตกรดทำให้ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลง สามารถป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* (*Vibrio* spp.) ได้ นอกจากนั้นยังมีการนำโพรไบโอติกใส่ลงไปบ่อเลี้ยงโดยตรง เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและป้องกันการติดเชื้อ *Vibrio* ในระหว่างการเลี้ยง

ปัญหาที่พบในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่ในฤดูฝนโดยเฉพาะในช่วงเวลาที่ฝนตกติดต่อกันนานหลายวัน ซึ่งจะมีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำจะอยู่ในระดับที่ไม่สูงหรือค่อนข้างจะต่ำตลอดเวลา ไม่เพียงแต่เท่านั้นกระบวนย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียทำได้น้อยลง ทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนีย และไนไตรท์ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อสุขภาพกุ้งในเวลาต่อมา และเนื่องจากปริมาณออกซิเจนอยู่ในระดับต่ำ ทำให้การกินอาหารของกุ้งลดลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งช้ากว่าปกติ อัตราแลกเปลี่ยนจะสูงทำให้ต้นทุนสูงขึ้น (ชลอ และคณะ, 2551; 2555; 2556)

ในปี พ.ศ. 2555 เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งในหลายพื้นที่ทั่วประเทศ โดยเฉพาะทางภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดระยอง และจันทบุรี ต่างประสบปัญหากุ้งเป็นโรคตายด่วน (Early Mortality Syndrome) หรือ EMS ซึ่งมักจะพบว่า กุ้งที่ป่วยและตายหลังจากปล่อยลูกกุ้งไม่กี่วัน ส่วนใหญ่ระหว่าง 7-30 วัน ซึ่งจนถึงขณะนี้ยังไม่สามารถสรุปสาเหตุของการเกิด EMS ได้ เนื่องจากเมื่อนำกุ้งที่มีอาการป่วยจากบ่อเลี้ยงมาเลี้ยงร่วมกันกับกุ้งปกติในห้องปฏิบัติการไม่พบว่า กุ้งปกติป่วยเป็นโรค (ชลอ และคณะ, 2556) แต่จากการเก็บข้อมูลในแหล่งเลี้ยงกุ้งที่มีการเกิด EMS พบว่า ฟาร์มเลี้ยงกุ้งที่มีปัญหาการเกิด EMS มีการใช้โพรไบโอติกในปริมาณมาก ตั้งแต่เริ่มการเตรียมน้ำก่อนปล่อยลูกกุ้ง และตลอดระยะเวลาในระหว่างการเลี้ยง เพื่อต้องการควบคุมปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* (*Vibrio* spp.) โดยต้องการให้ความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) ของน้ำลดลง จนถึงระดับประมาณ 7.4-7.6 เพื่อให้กุ้งมีการลอกคราบเร็วกว่าปกติ และสามารถป้องกันแบคทีเรีย *Vibrio* ได้ด้วย แต่ในขณะเดียวกันลูกกุ้งที่ต้องลอกคราบเร็วกว่าปกติ อาจจะอ่อนแอ และตายในลักษณะตัวนึ่ม คล้ายกับอาการของ EMS ได้

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ต้องการทราบว่า ถ้ามีการใช้โพรไบโอติกในระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระดับที่มีความเข้มข้นสูงๆ ที่นิยมปฏิบัติกันอยู่แล้วจะมีผลกระทบอย่างไรต่อลูกกุ้งขาวแวนนาไม

ในการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกได้ทำการทดลองเพื่อต้องการทราบว่าการใช้โพไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จะมีผลต่ออัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาړว10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการหรือไม่ ถ้าใช้ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดีและควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง และส่วนที่ 2 นั้นได้ทำการทดลองโดยการใส่โพไบโอติกในระดับที่ให้ผลดีจากการทดลองส่วนแรก ในทุกชุดการทดลอง แต่มีการการเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำฝนในปริมาณที่แตกต่างกันในระหว่างการทดลอง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้น้ำความเค็มปกติเปลี่ยนถ่าย



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของโพธิ์ไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนถ่ายน้ำฝนในปริมาณต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในห้องปฏิบัติการ
3. เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนถ่ายน้ำฝนในปริมาณต่างๆ กัน ต่อคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในห้องปฏิบัติการ

การตรวจเอกสาร

1. กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม ถูกค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 ซึ่งกุ้งชนิดนี้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* และมีชื่อสามัญคือ White-leg shrimp และ Pacific white shrimp โดย FAO รับรองและใช้เรียกกันทั่วโลก ส่วนในประเทศไทย นิยมเรียกกุ้งชนิดนี้ว่า กุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งมีแหล่งกำเนิดมาจากฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก (Holthuis, 1980) ในปี พ.ศ. 2539 มีเกษตรกรบางส่วนได้มีการลักลอบนำกุ้งชนิดนี้จากประเทศไต้หวันเข้ามาทดลองเลี้ยงในประเทศไทย ซึ่งการทดลองเลี้ยงในครั้งนั้นไม่ประสบผลสำเร็จ จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2545 กรมประมงได้อนุญาตให้นำพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวแวนนาไมที่ปลอดเชื้อ (Specific Pathogen Free, SPF) ตามระเบียบของกรมประมง เข้ามาทดลองเลี้ยงในประเทศไทย (มาลินี และสมยศ, 2548) เนื่องจากในขณะนั้น การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ประสบปัญหากุ้งโตช้า ทำให้เกษตรกรจำนวนมากขาดทุน (ชลอ และพรเลิศ, 2547) หลังจากนั้นในเวลาต่อมาเกษตรกรที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำจึงเปลี่ยนมาเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมกันมากขึ้นจนถึงปัจจุบัน

2. ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม

ลักษณะทั่วไปของของกุ้งชนิดนี้ คือ กริ (rostrum) มีความยาวปานกลาง มีฟันกริด้านล่าง 2-4 อัน ในวัยอ่อนกริจะยาวกว่า antennular peduncle และเมื่อโตขึ้นจะมีขนาดสั้นลง บางครั้งอาจมีความยาวเป็นครึ่งหนึ่งของปล้องที่ 2 หนวดคู่ที่ 1 (antennular) บริเวณ carapace มีหนวดคู่ที่ 2 (antenna) และ hepatic spine ชัดเจน ไม่พบ orbital spine และ pterygostomian spine ไม่มี postocular sulcus ส่วน postrostral carina มีหลายขนาด และในบางครั้งอาจพบว่ายาวถึงขอบด้านหลังของเปลือกคลุมตัว ไม่มี branchiocardiac carina, longitudinal sutures และ transverse sutures ลำตัวปล้องที่ 6 จะมีสันเรียงตัวตามขวางของลำตัวด้านบน (cicatrices) 3 อัน ร่องในแนวยาวลำตัวด้านบน (dorsolateral sulcus) แคบมาก หรืออาจไม่มี ส่วนหาง (telson) เรียบ หนวดคู่ที่ 1 (antennules) ไม่มี parapenaeid spine ส่วน antennular flagella สั้นกว่าส่วน carapace มาก แผ่นรยางค์ของ maxilla คู่ที่ 1 ยาว มี 3-4 ปล้อง ส่วนปลายเป็นเส้นเหมือน flagella ischial spine อยู่ปล้องที่ 1 และ basial spine ในปล้องที่ 2 ของขาเดิน (pereopod) คู่ที่ 1 (Perez Farfante and Kensly, 1997; จิราพร, 2547) ลักษณะที่สังเกตได้เด่นชัดของกุ้งขาว *L. vannamei* คือ สีของลำตัวเป็นสีขาว กริ

ด้านบนจะหักและถล่ม ปลายกักรตรง โดยที่มีพื้นกักรด้านล่าง 2 อัน และด้านบน 8 อัน ความยาวของกักรจะยาวกว่าลูกตาไม่มาก และเห็นลำไส้ชัดเจนกว่ากักรอื่นๆ

กุ้งขาวแวนนาไมสามารถปรับตัวเข้ากับสภาวะแวดล้อมภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยงได้ โดยเพาะเลี้ยงได้ในน้ำที่มีระดับความเค็ม 0-35 ppt แต่ระดับความเค็มที่เจริญเติบโตได้ดี คือ 10-22 ppt อุณหภูมิของน้ำในระดับที่เหมาะสมคือ 26-29 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง หรือบริเวณพื้นที่ที่เป็นเขตความเค็มต่ำ (ปิยบุตร, 2546)

3. การแพร่กระจายและแหล่งที่อยู่อาศัยของกุ้งขาว

กุ้งขาวแวนนาไมอาศัยอยู่ตามแนวชายฝั่ง บริเวณที่เป็นพื้นโคลนลงไปจนถึงระดับความลึกประมาณ 72 เมตร หรือ 235 ฟุต พบทั่วไปตามบริเวณชายฝั่งแปซิฟิกตะวันออกจากตอนเหนือของประเทศเม็กซิโก จนถึงตอนเหนือของประเทศเปรู มีการเลี้ยงกันมากในประเทศแถบอเมริกากลางและอเมริกาใต้ ได้แก่ เอกวาดอร์ เม็กซิโก ปานามา ฮอนดูรัส โคลัมเบีย และบราซิล (Dore and Frimodt, 1987; Tseng, 1987; Rosenbery, 1988; Cuzon *et al.*, 2004)

4. การกินอาหารและความต้องการสารอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งชนิดนี้สามารถกินได้ทั้งพืชที่อยู่บริเวณกลางน้ำ พื้นท้องน้ำหรือสัตว์หน้าดิน และซากสิ่งมีชีวิตได้ จะว่ายน้ำเข้าจับอาหารถึงจมถึงลอยทั้งพืชและสัตว์บริเวณกลางน้ำ ส่วนกรณีน้ำตื้นจะหากินถึงว่ายถึงคลาน เคลื่อนไหวอย่างรวดเร็วตามพื้นบ่อ กุ้งชนิดนี้กินอาหารมาก จะกินสาหร่ายหรือสิ่งอื่นๆ ถ้าอาหารไม่พอ (Perez Farfante and Kensly, 1997) สำหรับการให้อาหารในระหว่างการเลี้ยง ให้อาหารสำเร็จรูป ตามอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวของกุ้งที่เพิ่มขึ้น และได้อาหารเสริมจากธรรมชาติ คือ แพลงก์ตอนสัตว์ เช่น โคพีพอด (copepod) โพลีคีท (polychaete) แอมฟิพอด (amphipods) และหอย (mollusks) กุ้งขาวแวนนาไมเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลาจึงต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิตสูงกว่ากุ้งกุลาดำ ระบบการให้อากาศในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจึงต้องเพียงพอต่อความต้องการ (Wyban *et al.*, 1995; Martinez-Cordova *et al.*, 1998)

5. คุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

คุณภาพน้ำคือคุณสมบัติทางชีวเคมีและกายภาพของน้ำ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ สีของน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง (พีเอช) ความโปร่งแสง ปริมาณแอมโมเนียและไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น (วรวิทย์, 2531) คุณภาพน้ำเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงกุ้งเนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ถ้ามีการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งไม่ดีจะส่งผลกระทบต่อโภชนาการของกุ้ง การเกิดโรคต่างๆ ได้ง่ายขึ้นและมีอัตราการรอดตายต่ำ (Boyd and Fast, 1992) โดยค่าที่บ่งชี้คุณภาพน้ำที่ควรสนใจในการเลี้ยงกุ้งได้แก่

1. ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen; DO)

ปริมาณออกซิเจนในน้ำจะต่ำที่สุดตอนเช้ามืดเนื่องจากออกซิเจนถูกใช้ในกระบวนการย่อยสลายของเสียโดยแบคทีเรียและการหายใจของสิ่งมีชีวิตในบ่อ ส่วนในช่วงตอนกลางวันจะมีค่าออกซิเจนสูงสุดเพราะแสงแดดตอนพีชมีการสังเคราะห์แสงทำให้มีปริมาณออกซิเจนมากขึ้นความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเค็ม พบว่าน้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นความสามารถในการละลายของออกซิเจนลดลง (พุทฺธ, 2544; Boyd, 1989) กุ้งมีการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมที่มีออกซิเจนแตกต่างกันไป กุ้งที่อยู่ในน้ำที่มีออกซิเจนมากเพียงพอจะแข็งแรงเจริญเติบโตดี แต่ถ้ากุ้งอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีออกซิเจนน้อยกุ้งก็จะเครียด อ่อนแอ ทำให้ป่วยเป็นโรคร่าย ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งต้องมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กุ้งเจริญเติบโตดีและสารอินทรีย์สลายตัวเร็ว ถ้าปริมาณออกซิเจนน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้กุ้งตาย (พุทฺธ, 2544; ชลอ และพรเลิศ, 2547) ปริมาณออกซิเจนยังมีผลต่อการย่อยอาหาร ดังนั้นหากมีปริมาณออกซิเจนต่ำทำให้กุ้งกินอาหารลดลง (กรมประมง, 2546) โดยปกติปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในบ่อควรอยู่ในระดับ 5-8 มิลลิกรัมต่อลิตร (Chen, 1985)

2. ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (พีเอช)

พีเอชจะเป็นตัวบ่งบอกความเป็นกรด-ด่างของน้ำและเป็นตัวควบคุมการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนียอามอนิออนของเหล็ก และพวก trace element และมีอิทธิพลโดยตรงต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต ในช่วงที่มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูง ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำจะลดลง แต่ปริมาณออกซิเจนในน้ำเพิ่มขึ้น และพีเอชของน้ำ

สูงขึ้น แต่ถ้าอัตราการสังเคราะห์แสงต่ำ คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมาก ค่าพีเอชต่ำลง จะพบ คาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในรูปกรดคาร์บอนิกมาก เมื่อค่าพีเอชสูงขึ้นกรดคาร์บอนิกจะแตกตัวให้ ไบคาร์บอเนตมากขึ้น ถ้าพีเอชสูงมากกว่า 10 จะพบคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปคาร์บอเนตเท่านั้น และเกิดการตกตะกอนของเกลือแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) รวมทั้งแมกนีเซียมคาร์บอเนต (MgCO_3) ซึ่งจะมีผลทำให้น้ำขุ่น (ศิริเพ็ญ, 2543)

โดยทั่วไปในทางปฏิบัติน้ำจะมีค่ากลางเป็น 7 ซึ่งถ้าค่าพีเอชต่ำกว่า 7 แสดงว่าน้ำอยู่ใน สภาพเป็นกรดหรือพีเอชมากกว่า 7 แสดงว่าอยู่ในสภาพเป็นด่างดังนั้นค่าพีเอชจึงอยู่ระหว่าง 0-14 และพีเอชของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีค่าประมาณ 7-9 (Brock and Main, 1994) ส่วน ชลอ และพรเลิศ (2547) แนะนำพีเอชที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่าง 7.5-8.5

3. ค่าความเป็นด่าง (alkalinity)

ความเป็นด่างหมายถึงความสามารถของน้ำที่จะรับไฮโดรเจนไอออน (H^+) เพื่อให้กรด เป็นกลาง น้ำที่มีค่าพีเอชมากกว่า 4.3 แสดงว่าในน้ำมีค่าความเป็นด่างอยู่ ยิ่งค่าพีเอชสูงก็จะมีค่า ความเป็นด่างมากขึ้น สารประกอบที่ทำให้เกิดความเป็นด่างมี 3 ชนิดคือ ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไฮดรอกไซด์ (OH^-) น้ำที่มีองค์ประกอบตัวใดตัวหนึ่งใน 3 ชนิด ดังกล่าวจะ เป็นน้ำที่มีค่าความเป็นด่างอยู่ด้วย ดังนั้นพีเอชของน้ำถือว่าเป็นตัวกำหนดชนิดของสารละลายด่างที่อยู่ใน น้ำคือ

น้ำมีค่าพีเอชเป็นกลางจนถึง 8.3 จะมี HCO_3^- มาก

น้ำมีค่าพีเอชตั้งแต่ 8.3 ขึ้นไปจะเริ่มมี CO_3^{2-}

น้ำมีค่าพีเอชระหว่าง 9.5-10.5 จะเริ่มมี CO_3^{2-} มาก

น้ำมีค่าพีเอช 11 หรือมากกว่าจะมี OH^- มาก

ค่าความเป็นด่างมีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการ รอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้งทะเลทุกชนิด Boyd (1982) กล่าวว่าค่าความเป็นด่างของน้ำที่ เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำควรอยู่ในช่วง 100-120 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมต่ออยู่ในช่วง 50-150 มิลลิกรัมต่อลิตร (Brock and Main, 1994) โดยทั่วไปการรักษาระดับความเป็นด่างให้คงที่นั้น จะใช้วัสดุปูนในกลุ่มคาร์บอเนต ส่วนการเพิ่ม

ความเป็นด่างอาจใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต หรือโซเดียมคาร์บอเนต ขึ้นอยู่กับระดับพีเอชของน้ำ ประกอบกันด้วย (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

4. แอมโมเนีย (ammonia)

การให้อาหารที่มีโปรตีนสูง ของเสียหรือเศษอาหารที่เหลืออยู่จะทำให้ปริมาณ แอมโมเนียในน้ำสูงขึ้น นอกจากนี้แอมโมเนียยังเกิดจากสิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำและการย่อยสลาย ของอินทรีย์วัตถุ โดยแบคทีเรียรูปแบบของแอมโมเนียที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว (unionized ammonia, NH_3) ส่วนรูปที่แตกตัว (ionized ammonia, NH_4^+) จะไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ปริมาณการแตกตัวของแอมโมเนียทั้งหมดในน้ำจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพีเอชของน้ำ โดยพีเอช ของน้ำจะมีอิทธิพลมากกว่าอุณหภูมิของน้ำ ถ้าในน้ำมีค่าพีเอชสูงความเป็นพิษของแอมโมเนียจะ มากกว่าในน้ำที่มีพีเอชต่ำ เนื่องจากเมื่อค่าพีเอชสูงความเข้มข้นของแอมโมเนียในรูปที่แตกตัวได้จะ ลดลง โดยจะเปลี่ยนรูปไปเป็นแอมโมเนียในรูปที่ไม่แตกตัว ทำให้เป็นพิษสูงขึ้น ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ความทนทานของสัตว์น้ำต่อแอมโมเนียนั้นขึ้นอยู่กับชนิดสรีระของสัตว์น้ำและปัจจัยของ สิ่งแวดล้อม (Boyd, 1989) โดยปริมาณแอมโมเนียที่สูงมากจะทำลายเหงือกทำให้หายใจแลกเปลี่ยน ออกซิเจนไม่เป็นปกติ ปริมาณแอมโมเนียรวมที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมควรต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Brock and Main, 1994)

พุทฺธ (2544) รายงานความเป็นพิษของแอมโมเนียอิสระต่อกุ้งทะเลเนื่องจากกุ้งจะขับ แอมโมเนียออกจากร่างกายทางเหงือก ถ้าในน้ำมีระดับแอมโมเนียน้อยก็จะทำให้กุ้งขับถ่าย แอมโมเนียได้และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี และในทางตรงกันข้าม ถ้ามีปริมาณแอมโมเนียมาก แอมโมเนียจะสามารถแพร่ย้อนกลับเข้าไปในเลือดได้ ทำให้เกิดการสะสมแอมโมเนียในเลือดและ เนื้อเยื่อ ส่งผลให้พีเอชของเลือดเพิ่มขึ้น และมีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ แอมโมเนียจะทำให้ การใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อสูงขึ้น เหงือกถูกทำลายและความสามารถในการขนส่งออกซิเจนลดลง ส่งผลให้กุ้งอ่อนแอติดโรคได้ง่าย (ชลอ และพรเลิศ, 2547) ระดับแอมโมเนียอิสระน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้ง ถ้าอยู่ระหว่าง 0.1-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กุ้งมี การเจริญเติบโตช้า และถ้ามากกว่า 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้กุ้งโตช้ากินอาหารน้อยลง เกิดอาการเครียด หรืออาจตายได้ (พุทฺธ, 2544)

5. ไนไตรท์ (nitrite)

ไนไตรท์เป็นสารประกอบไนโตรเจนอีกรูปแบบหนึ่งซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำอย่างมาก เช่นเดียวกับแอมโมเนีย เกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชันของแอมโมเนียในสภาพที่มีออกซิเจน โดยแบคทีเรียกลุ่ม *Nitrosomonas* เป็นตัวย่อยสลายและจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชันหรือไนเตรดักชันของไนเตรทในสภาพขาดออกซิเจน (ยนต์, 2539) โดยปริมาณไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจะมีในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำเนื่องจากถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรทแต่ในบ่อเลี้ยงสัตว์ทะเลที่มีพีเอชสูง จะทำให้การเติบโตของแบคทีเรียที่เปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนเตรทหยุดชะงักทำให้เกิดการสะสมของไนไตรท์ในบ่อ (Wickins, 1985) โดยปริมาณไนไตรท์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมควรต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Brock and Main, 1994)

ความเป็นพิษของไนไตรท์ขึ้นอยู่กับระดับความเค็ม ในน้ำจืดไนไตรท์จะมีระดับความเป็นพิษที่สูงกว่าในน้ำเค็มซึ่งจะเป็นพิษกับสัตว์น้ำที่เม็ดเลือดมีฮีโมโกลบิน (haemoglobin) โดยสามารถแย่งออกซิเจนจับกับเม็ดเลือดทำให้เกิดการขาดออกซิเจน แต่กุ้งมีฮีโมไซยานิน (haemocyanin) ไนไตรท์จะเข้าจับได้น้อยกว่าจึงมีความเป็นพิษต่อกุ้งน้อยแต่มีผลทำให้เลือดของกุ้งไม่สามารถเข้าจับกับออกซิเจนเกิดภาวะเลือดเป็นพิษกุ้งขาดออกซิเจน ทำให้ระดับโปรตีนและค่าพีเอชของเลือดกุ้งลดลงเกิดการสะสมยูเรียในเลือดกุ้งระบบสมดุลเกลือแร่เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ ดูดซึมน้ำมากเกินไป (พุทธ, 2544; ชลอและพรเลิศ, 2547)

6. ความเค็ม (salinity)

ความเค็มหมายถึงปริมาณความเข้มข้นทั้งหมดของไอออนที่ละลายในน้ำประกอบด้วย โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ ซัลเฟต และไบคาร์บอเนต มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร หรือส่วนในพันส่วน (parts per thousand: ppt) หรือย่อเป็นพีพีที มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำมากโดยจะมีผลต่อการควบคุมปริมาณน้ำภายในร่างกายเป็นผลมาจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติกภายในตัวสัตว์น้ำกับน้ำภายนอก ถ้าความเค็มของน้ำเปลี่ยนแปลงมากกว่า 10 เปรอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 2-3 นาทีสัตว์น้ำไม่สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้สัตว์น้ำตายได้ (Lawson, 1995; Boyd and Tucker, 1998) และความเค็มยังมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคต่างๆ ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอีกด้วยเช่นแบคทีเรียพวก *Vibrio* sp. ซึ่งส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่ความเค็มตั้งแต่ 20 พีพีทีขึ้นไป ส่วนแบคทีเรียพวก

Pseudomonas sp. จะเจริญที่ความเค็มต่ำประมาณ 10 พีพีที (Buchanan *et al.*, 1974) โดยกุ้งขาวแวนนาไมสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีระดับความเค็มตั้งแต่ 0-45 พีพีที แต่ความเค็มที่เหมาะสมคือ 10-30 พีพีที (กรมประมง, 2547)

7. อุณหภูมิ (temperature)

อุณหภูมิมีความสัมพันธ์โดยตรงกับแสง โดยจะเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานความร้อนการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในแหล่งน้ำจะผันแปรตามความเข้มแสง ถ้าปริมาณความเข้มแสงมากมีผลทำให้อุณหภูมิน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิของน้ำตามธรรมชาติจะผันแปรตามอุณหภูมิอากาศโดยขึ้นกับฤดูกาล ระดับความสูง กระแสลม ความลึก ความเร็วของกระแสน้ำ และสภาพแวดล้อมทั่วไปของแหล่งน้ำ อีกทั้งยังเป็นปัจจัยที่ควบคุมปฏิกิริยาเคมีในน้ำรวมทั้งควบคุมอัตราการสังเคราะห์แสง อัตราการหายใจ อัตราการย่อยสลาย และมีอิทธิพลโดยตรงต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (ศิริเพ็ญ, 2543) นอกจากนี้ยังเป็นปัจจัยสำคัญหนึ่งที่มีผลต่อการกินอาหาร การย่อยอาหารและกระบวนการทำงานต่างๆ ในร่างกายของสัตว์น้ำ หากอุณหภูมิของน้ำเหมาะสมจะทำให้สัตว์น้ำสามารถย่อยอาหารได้ดี ถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำทำให้กระบวนการทำงานต่างๆ ของสัตว์น้ำต่ำ (กรมประมง, 2546)

เมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นปริมาณออกซิเจนละลายน้ำจะลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงขึ้นยังมีผลทำให้สารพิษประเภทต่างๆ เช่น ยากำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักมีความเป็นพิษรุนแรงมากขึ้น ทั้งนี้ยังจะช่วยเร่งให้มีการดูดซึมและการแพร่กระจายของสารพิษเข้าสู่ร่างกายได้เร็วและจะทำให้แอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ (un-ionized ammonia) แตกตัวเพิ่มมากขึ้น (Boyd, 1982) Wickins and Lee (2002) กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมอยู่ระหว่าง 26-33 องศาเซลเซียสตามปกติถ้าอุณหภูมิของน้ำต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียสก็จะกินอาหารลดลงและทำให้การเจริญเติบโตลดลง (ชนต์, 2529)

8. ค่าความนำไฟฟ้า (electrical conductivity หรือ EC)

สิริ (2528) กล่าวว่าความนำไฟฟ้าคือความสามารถในการนำไฟฟ้าของน้ำหรือของเหลวอื่นประสิทธิภาพการนำไฟฟ้าของน้ำขึ้นกับปริมาณ และความเข้มข้นไอออนการเคลื่อนที่ประจุ อุณหภูมิและคุณสมบัติของน้ำ หรือของเหลวอื่นๆ ซึ่งของเหลวที่เป็นกรดและเกลือของอนินทรีย์สารจะเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี โดยค่าความนำไฟฟ้าที่น้อยกว่า 1 มิลลิซีเมนต์ต่อเซนติเมตร จะไม่มีความสัมพันธ์กับค่าความนำไฟฟ้าที่อยู่ในช่วง 5-8 มิลลิซีเมนต์ต่อเซนติเมตรมีความสัมพันธ์กับค่าความนำไฟฟ้ามากกว่า 9 มิลลิซีเมนต์ต่อเซนติเมตร มีความสัมพันธ์กับค่าความนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์กับปริมาณธาตุชนิดต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทะเล (สมเจตน์ และคณะ, 2529) ถ้าค่าความนำไฟฟ้าของสารละลาย และปริมาณของแข็งที่ละลาย (dissolved solids) มีปริมาณมากแสดงว่า อนินทรีย์สารละลายน้ำสูง ค่าความนำไฟฟ้าของสารละลายลดลงแสดงว่าปริมาณอนินทรีย์สารที่ละลายน้ำลดลง (สุธี, 2543; APHA *et al.*, 1989)

ที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ค่าความนำไฟฟ้าสูงขึ้น เพราะจะทำให้การแตกตัวเป็นไอออนของเกลือมากยิ่งขึ้น และค่าพีเอชที่มากกว่า 9 หรือน้อยกว่า 5 จะมีผลทำให้ค่าความนำไฟฟ้าสูงขึ้น เพราะน้ำหรือของเหลวที่เป็นกรดและด่างแก่มีปริมาณ H^+ และ OH^- มากซึ่งมีผลทำให้ค่าการเคลื่อนที่ของปริมาณไอออนสูง (สุธี, 2543)

9. ความกระด้าง (hardness)

ค่าความกระด้างของน้ำเกิดจากตะกอนของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) เป็นส่วนใหญ่ซึ่งจะวัดออกมาเป็นปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) โดยปริมาณความกระด้างรวมหมายถึงผลรวมของความกระด้างเนื่องมาจากผลรวมความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียม (ศิริเพ็ญ, 2543) ในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยทั่วไปมีค่าความกระด้างน้อยกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรการแบ่งความกระด้างของน้ำจะถือเอาปริมาณ $CaCO_3$ ที่มีอยู่เป็นเกณฑ์สามารถแบ่งความกระด้างของน้ำได้ดังนี้

น้ำอ่อน 0-75 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$

น้ำค่อนข้างกระด้าง 75-150 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$

น้ำกระด้าง 150-300 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ $CaCO_3$

น้ำกระด้างมาก > 300 มิลลิกรัมต่อลิตรในรูปของ CaCO_3

ปลาและสัตว์น้ำในกลุ่มปู-กุ้งต้องการแคลเซียมในการสร้างกระดูกและเปลือกโดยจะดูดซับแคลเซียมจากน้ำระหว่างการลอกคราบจึงต้องมีปริมาณแคลเซียมในน้ำระดับที่พอเพียง (Fieber and Lutz, 1982)

10. ความโปร่งแสง (transparency)

ความโปร่งแสงคือค่าความลึกที่สามารถมองเห็นวัตถุแผ่นกลม (Secchi disc) ที่หย่อนลงในน้ำจนถึงระดับความลึกที่มองไม่เห็นวัตถุดังกล่าว (ศิริเพ็ญ, 2543) ซึ่งค่าความโปร่งแสงจะบ่งบอกถึงลักษณะและสภาพของแหล่งน้ำโดยเมื่อค่าความโปร่งแสงมีค่าน้อยเกินไปคือน้ำมีความขุ่นมากทำให้แสงส่องไม่ถึงก้นบ่อซึ่งจะลดประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชแต่ถ้าความโปร่งแสงมากแสดงว่าอาหารธรรมชาติมีไม่เพียงพอควรใส่ปุ๋ยเพื่อเพิ่มปริมาณแพลงก์ตอน แต่หากแพลงก์ตอนพืชมีในปริมาณที่หนาแน่นเกินไป จะทำให้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงเนื่องจากการหายใจเพิ่มขึ้น และการย่อยสลายเมื่อแพลงก์ตอนตายลงพร้อมกันซึ่งค่าความโปร่งแสงที่เหมาะสมในบ่อเลี้ยงกุ้งควรอยู่ในช่วง 40-60 เซนติเมตร (Boyd, 1989) และความโปร่งแสงที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมควรอยู่ระหว่าง 25-50 เซนติเมตร (Brock and Main, 1994)

6. การลอกคราบของครัสเตเชียน

การลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอด หากเกิดปัญหาการลอกคราบ สัตว์เหล่านี้จะหยุดการเจริญเติบโตและตายในที่สุด การลอกคราบของครัสเตเชียนจะเกิดบ่อยครั้งในระยะแรกของการเจริญเติบโต และความถี่จะลดลงเรื่อยๆ การลอกคราบจะมีการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ รวมทั้งการเจริญเติบโตขึ้นด้วย ในการลอกคราบที่เป็นปกติในแต่ละครั้ง เปลือกเก่าจะถูกสลัดทิ้งไป สัตว์จะตัวบวมเนื่องจากการดูดน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการดื่มเข้าไป หลังจากนั้นเปลือกใหม่จะเริ่มแข็งขึ้น ขนาดของสัตว์จะใหญ่ขึ้น ระยะนี้สัตว์จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจนถึงก่อนจะมีการลอกคราบครั้งต่อไป น้ำค่อยๆ ถูกแทนที่โดยเนื้อเยื่อใหม่ จะทำให้ปริมาณโปรตีนในร่างกายเพิ่มขึ้น คงไว้ตามเดิมแทนที่ของน้ำโดยเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นใหม่นี้ คือว่าเป็นการเจริญเติบโตที่แท้จริง

วงจรการลอกคราบ แบ่งตามวิธีของ Carlisle and Dohrn (1953) แบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

1. ระยะก่อนการลอกคราบ (Premolt stage) การเตรียมตัวเพื่อการลอกคราบ เกิดที่เซลล์ของชั้น epidermal และ hepatopancreas โดยที่ epidermal จะแยกตัวออกจาก cuticle เรียกว่า apolysis ระหว่างที่มีการแยกออกนี้ เซลล์ของชั้น epidermal จะมีการสร้างเปลือกใหม่ขึ้น แคลเซียมจากเปลือกเก่าจะถูกดึงมาเก็บไว้ในน้ำเลือด ทำให้มีความเข้มข้นของแคลเซียมในน้ำเลือด สัตว์จะหยุดกินอาหารและเคลื่อนไหวช้าลงอาหารที่ถูกสะสมไว้ใน hepatopancreas จะถูกนำมาใช้ระยะนี้สิ้นสุดเมื่อเกิดรอยแยกของ cuticle เก่า

2. ระยะการสลัดคราบ (Ecdysis) ระยะสั้นที่สุดของการลอกคราบ มีการสลัดคราบเก่าทิ้ง มีเมแทบอลิซึมไม่กินอาหาร มีการนำน้ำเข้าตัวอย่างรวดเร็ว ให้ลำตัวขยายใหญ่ขึ้น เพื่อดันเปลือกเก่าออกไปด้วย ขนาดลำตัวสัตว์จะใหญ่มากขึ้น 20-25 เปอร์เซ็นต์

3. ระยะหลังการลอกคราบ (Postmolt stage) หลังจากสลัดคราบเก่าทิ้งหรือเพิ่งผ่านการลอกคราบใหม่ๆ เปลือกยังคงอ่อนนุ่มและยืดหยุ่นได้ ยังคงมีการนำน้ำเข้าตัว สัตว์ยังคงไม่กินอาหาร ใช้อาหารสะสมที่ hepatopancreas ผ่านไปครั้งหนึ่ง สัตว์จะเริ่มกินอาหาร และการสร้างเปลือกจะสมบูรณ์ขึ้น โดยการแข็งตัวขึ้น มีการดึงแคลเซียมจากเลือดกลับเข้าสู่เปลือก น้ำในลำตัวจะถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อ พบว่าอัตราการสังเคราะห์โปรตีนจะสูง และสัตว์น้ำมีการนำน้ำบางส่วนออกจากตัว

4. ระยะปกติของสัตว์ (Intermolt) การสร้างเปลือกและเนื้อเยื่อต่างๆ จะเกิดสมบูรณ์สัตว์อยู่ในสภาพปกติ แคลเซียมในเลือดจะต่ำ เนื่องจากส่วนใหญ่ถูกสะสมไว้ที่เปลือก สัตว์จะอยู่ในระยะนี้นานที่สุด

ปัจจัยที่มีผลต่อการลอกคราบ

1. ปัจจัยภายนอก เช่น แสง หรือความเข้มแสงและระยะเวลา อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงการลอกคราบจะเกิดขึ้นเร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม

2. ปังจัยภายใน คือ ระบบประสาท เช่น Y-organ กระตุ้นการลอกคราบ สารอาหารใน hepatopancreas การอดอาหารจะยับยั้งการลอกคราบ ระยะการเจริญเติบโตของรังไข่ในฤดูกาลผสมพันธุ์ กุ้งก็จะหยุดการลอกคราบ การสูญเสียร่างกายก็ทำให้เกิดการลอกคราบ และอายุของสัตว์ ซึ่งจะเห็นว่าตัวอ่อนมีการลอกคราบบ่อยกว่าตัวเต็มวัย เป็นต้น

โครงสร้างของเปลือกกุ้ง ประกอบด้วย

1. Epicuticle (non-chitinous epicuticle) เปลือกชั้นนอกสุด ลักษณะบางและใส ไม่มีองค์ประกอบที่เป็นสารไคติน องค์ประกอบเป็น โปรตีน ลิพิด แคลเซียม อาจอยู่ในรูปของ แคลเซียม ฟอสเฟต แคลเซียมคาร์บอเนต เรียงตัวกันโดยโปรตีนและลิพิดจะรวมกันอยู่ในรูปของ lipoprotein ล้อมรอบแคลเซียม จึงมีความเหนียวแน่นมากกว่าชั้นอื่นๆ อาจมีองค์ประกอบเป็นไขมัน ทำหน้าที่ป้องกันการซึมผ่านเข้าออกของน้ำ ทำหน้าที่จำกัดปริมาณการผ่านเข้า-ออก ของเกลือแร่ และอออนต่างๆ

2. Exocuticle เป็นชั้นที่ทำให้เกิดสีในสัตว์ มีปริมาณเม็ดสี (pigment) สูงที่สุด ได้แก่ เมลานิน พบไคติน โปรตีน ฟีนอล มีไคตินและโปรตีนสานเป็นร่างแห ส่วนเม็ดสีและแคลเซียมจะรวมตัวอยู่ในร่างแห ทำให้ชั้นนี้มีความแข็งแรงมากกว่าชั้นอื่นๆ บริเวณรอยแยกของเปลือกขณะที่มีการลอกคราบจะไม่พบชั้นนี้

1. Endocuticle เป็นชั้นที่หนาที่สุดและมีแคลเซียมสะสมอยู่มากที่สุด แบ่งเป็น 2 ชั้นย่อย คือ

- Calified layer แสดงความหนาของเปลือก ขึ้นกับปริมาณแคลเซียมที่สะสม

- Uncalified layer หรือชั้น membranous layer ไม่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ ชั้นนี้ไม่มีเม็ดสีเมลานิน แต่มีไคตินและโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ความแข็งแรงน้อยกว่า exocuticle เนื่องจากมีแคลเซียมเท่านั้นที่เรียงตัวแทรกอยู่ตามระหว่างร่างแหของไคตินและโปรตีน

2. Epidermis เซลล์มีขนาดใหญ่ อัดกันแน่น ใต้ชั้น epidermis ลงมาจะมีต่อมผิวหนัง (tegumental gland) อยู่ ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีหน้าที่สร้างสารซึ่งสามารถถูกขับออกทางท่อยาวสู่ภายนอกผิว epicuticle พบปลายประสาทที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการรับรู้สิ่งซึ่งเชื่อมโยงไปยังขนเล็กๆ ที่อยู่ด้านบนของ cuticle

7. บทบาทจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง

จุลินทรีย์ในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศภายในบ่อเลี้ยง โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีหน้าที่ในการหมุนเวียนสารอินทรีย์ในวัฏจักรต่างๆ เช่น วัฏจักรไนโตรเจน เพื่อให้เกิดความสมดุลในระบบการเลี้ยงกุ้ง ซึ่งการเลี้ยงกุ้งขาวนั้นจะใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีส่วนประกอบของโปรตีนสูง และกุ้งสามารถนำสารอาหารเหล่านี้มาใช้ในการเจริญเติบโตและกระบวนการเมแทบอลิซึมเพียงบางส่วนเท่านั้น จึงยังเหลือสารตกค้างอยู่ในบ่อเลี้ยงทำให้เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ในน้ำและดินตะกอนพื้นบ่อ โดยอาหารกุ้งจะประกอบด้วยโปรตีนมากที่สุด คือ 35-45 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ คาร์โบไฮเดรตประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6-9 เปอร์เซ็นต์ และเส้นใยอาหาร 3.5 เปอร์เซ็นต์ (มะลิ, 2531) ซึ่งสารอาหารที่เหลือตกค้างจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ให้มีปริมาณที่ลดลง และไม่เกิดการสะสมในบ่อเลี้ยงกุ้งมากเกินไป (โดยประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของสารอาหารจะถูกย่อยสลาย และอีก 40 เปอร์เซ็นต์ ถูกเปลี่ยนเป็นองค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรีย) จนส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและการเจริญเติบโตของกุ้งในบ่อเลี้ยงได้ โดยกระบวนการย่อยสลายสารต่างๆ ของแบคทีเรีย เช่น การย่อยสลายโปรตีนของแบคทีเรียต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส โดยกระบวนการย่อยสลายนี้สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ซึ่งพบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนในสภาพที่มีออกซิเจน ได้แก่ *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Proteus* sp. เป็นต้น และแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ได้แก่ *Clostridium* sp. ซึ่งสารประกอบที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายจะมีกลิ่นเหม็นเน่า เช่น ไฮโดรซัลไฟด์ เป็นต้น (บุญยัติ, 2534; ลักขณา, 2535; สุบัณฑิต และ วีรพงษ์, 2552) และการย่อยคาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น เอนไซม์ชนิดนี้จะสลายพันธะ α -(1,4) glycosidic ทำให้โมเลกุลแป้งสลายลง การย่อยสลายแป้งอย่างสมบูรณ์ของจุลินทรีย์จะได้น้ำตาล D-glucose เพียงชนิดเดียว โดยแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Bacillus* เช่น *B. stearothermophilus*, *B. subtilis* และ *B. licheniformis* เป็นต้น (เรืองลักขณา, 2533; ขจินากูและคณะ, 2540) ส่วนการย่อยสลายไขมันแบคทีเรียต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างออกมาภายนอกเซลล์ โดย

เอนไซม์ไลเปสจะทำลายพันธะของกลีเซอรอลในโมเลกุลของไขมันทำให้ไขมันมีขนาดเล็กลง จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมันได้แก่ *Chromobacterium* spp. และ *Bacillus licheniformis* เป็นต้น (สุริย์, 2533; เรื่องลักษณะ, 2533; ขจนาภและคณะ, 2540)

จุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งมีทั้งกลุ่มที่เป็น autotrophs และ heterotrophs แต่ชนิดที่มีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์คือพวก heterotrophs เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องอาศัยสารอินทรีย์ย่อยให้เป็นสารอนินทรีย์ จากการศึกษาของ Rico-Mora *et al.* (1998) ที่เลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ดีในแหล่งที่สารอินทรีย์ในปริมาณต่ำ และนำแบคทีเรียนั้นลงไปในบ่อเลี้ยงไดอะตอม (diatom) ผลที่เกิดขึ้นคือ แบคทีเรียที่แยกได้นั้นสามารถที่จะแข่งขันกับ *V. alginolyticus* ในการใช้ประโยชน์จากสิ่งขับถ่าย (exudates) ของไดอะตอมได้

8. โพรไบโอติก

โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียว หรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากกระบวนการระเหิดแห้ง (freeze-dried cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมักซึ่งนอกจากไปส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้ว ยังทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้นด้วย

มีผู้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้หลายความหมายดังต่อไปนี้

Fuller (1992) ให้คำจำกัดความไว้ว่า โพรไบโอติกเป็นการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในอาหาร ซึ่งจะไปมีผลต่อการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ซึ่งจากคำจำกัดความนี้โพรไบโอติกจะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และให้กับเจ้าบ้านโดยการผสมอาหาร

Maeda *et al.* (1997) ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยการทำงานแบบ biological control

Moriarty (1998) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะรวมถึงการใส่แบคทีเรียลงในบ่อ หรือถึงเลี้ยงสัตว์น้ำด้วย

Gram *et al.* (1999) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตโดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย โดยที่ไม่จำเป็นที่ต้องให้โพรไบโอติกโดยการผสมอาหาร

Salminen *et al.* (1999) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ซึ่งไม่จำเป็นต้องมีชีวิตแต่ได้มาจากเซลล์จุลินทรีย์ และมีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับโพรไบโอติกเข้าไป

อย่างไรก็ตามโพรไบโอติกต้องไม่เป็นอันตรายต่อเจ้าบ้าน (Salminen *et al.*, 1999) และมีประสิทธิภาพในสภาพที่มีอุณหภูมิและความเค็มหลายๆ ช่วง (Fuller, 1992) ซึ่งอาจให้โดยการผสมอาหาร การแช่ หรือโดยการฉีดเข้าไป นอกจากนี้โพรไบโอติกจะต้องเป็นประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับเข้าไป รวมทั้งสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในระบบทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน

คุณสมบัติที่ดีของโพรไบโอติก (อักรเดช, 2545; Fuller, 1989; Havenaar and Huis in't Veld, 1992)

คุณสมบัติที่สำคัญที่นำมาใช้สำหรับการคัดเลือกแบคทีเรียที่จะนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในสัตว์น้ำนั้น ควรมีคุณสมบัติต่อไปนี้ คือ

1. ควรเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ โดยอาจแสดงผลในหลอดทดลองว่ามีความสามารถในการแข่งขันการใช้สารอาหารหรือผลิตสารเพื่อฆ่าหรือยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค
2. มีความสามารถในการยึดเกาะลำไส้ได้ หรือสามารถอยู่ในลำไส้ได้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง
3. ทำให้เจ้าบ้านแข็งแรงมีความต้านทานโรค โดยมีการยืนยันผลด้วยการทดสอบการต้านทานโรค (challenge test)
4. มีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้

5. ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค จุลินทรีย์โพรไบโอติกและองค์ประกอบของเซลล์ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ของเซลล์ต้องไม่สร้างปฏิกิริยาที่เป็นพิษหรือก่อมะเร็งต่อตัวเจ้าบ้าน

6. ทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น สภาพกรด สภาพปริมาณสารอาหารน้อย และมีความทนทานต่อสารพิษ

7. ผลิตง่าย สามารถทนต่อสภาพการเก็บรักษาก่อนมีการใช้งาน และมีจำนวนเซลล์ที่ออกฤทธิ์คงที่ เช่น ทนต่อสภาพแห้งแล้งในรูปผง

8. เป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะพันธุกรรมคงที่

9. การใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง

การใช้โพรไบโอติก คือ การใช้จุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว หรือการใช้จุลินทรีย์หลายๆ ชนิด ที่ทำการคัดเลือกสายพันธุ์แล้ว นำมาประยุกต์ใช้กับการเลี้ยงกุ้งเพื่อให้เกิดประโยชน์โดยเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำ ตะกอนพื้นบ่อ และสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างมาก มีผลโดยตรงต่อการควบคุมและยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งซึ่งอาจจะใช้ในลักษณะการผสมอาหารให้กุ้งกิน หรือใช้น้ำโดยตรง

นอกจากนี้โพรไบโอติกยังจัดเป็นจุลินทรีย์เพื่อเสริมการเจริญเติบโต และเสริมภูมิคุ้มกันแก่ เพื่อให้เกิดความสมดุลในทางเดินอาหาร ซึ่งปกติจุลินทรีย์ประจำถิ่นมีทั้งดีและไม่ดีต่อตัวกุ้ง เมื่อมีการเสียสมดุลและมีปริมาณแบคทีเรียก่อโรคมักจะทำให้กุ้งเกิดโรคและเป็นสาเหตุการตายในที่สุด

10. การทำงานของโพรไบโอติก

1. การผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโต

กลุ่มของจุลินทรีย์มักจะปล่อยสารเคมีออกมา โดยสารเคมีนั้นจะฤทธิ์เป็นสารฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal) หรือควบคุมแบคทีเรีย (bacteriostatic) ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถเกิดจากการ

แข่งขันในการใช้สารเคมี หรือพลังงาน (Lemos *et al.*, 1991) การที่มีแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตในลำไส้ของเจ้าบ้าน หรือบนพื้นผิว หรือบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จะเป็นการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้ออื่น

การผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ซึ่งบางครั้งมีปัจจัยเดียว หรืออาจเกิดจากหลายๆ ปัจจัยร่วมกันในการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) (Williams and Vickers, 1986) สารต้านทานแบคทีเรีย (bacteriocins) (Bruno and Montville, 1993; Vandenbergh, 1993) lysozymes, proteases, hydrogen peroxide และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จากการผลิตกรดอินทรีย์ (Sugita *et al.*, 1997)

แบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria สามารถผลิตสารหลายชนิด เช่น bacteriocins ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Vandenbergh, 1993) มีการศึกษาหลายรายงานเกี่ยวกับปฏิกิริยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria ซึ่งเกิดปฏิกิริยาโดยสาร bacteriocins แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก (Stoffels *et al.*, 1992)

2. การแข่งขันในการใช้สารเคมี และพลังงาน

ระบบนิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะเป็นการแข่งขันของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลาย โดยแข่งขันในการใช้ทั้งคาร์บอน และแหล่งพลังงาน Rico-Mora *et al.* (1998) ได้เลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ดีในแหล่งที่มีสารอินทรีย์ในปริมาณต่ำ และเติมแบคทีเรียนั้นลงไปในแหล่งเลี้ยง ไคอะตอม และสามารถป้องกันการเจริญของเชื้อ *Vibrio alginolyticus* ได้ ซึ่งแบคทีเรียที่เติมลงไปในน้ำสามารถแข่งขันกับ *V. alginolyticus* ในการใช้ประโยชน์จากสิ่งขับถ่าย (exudates) ของไคอะตอม

3. การแข่งขันในการใช้แร่ธาตุ

จุลินทรีย์ทุกชนิดนั้นต้องการแร่ธาตุในการเจริญเติบโต (Reid *et al.*, 1993) โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคส่วนใหญ่จะมีความต้องการไอออนสูง Pybus *et al.* (1994) ได้ทำการทดสอบ *Vibrio anguillarum* 30 สายพันธุ์ ในการเป็นโปรไบโอติกต่อเชื้อ *Vibrio ordalii* ซึ่งเป็นเชื้อ

ก่อโรคในปลาชดมอน โดยศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโต พบว่า สายพันธุ์ *Vibrio anguillarum* VL4335 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. ordalii* ได้ โดยเชื้อก่อโรคชนิดนี้จะหยุดการเจริญเมื่อไม่มีการเติมอาหารลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. การแข่งขันในการยึดเกาะ

กลไกหนึ่งที่เป็นไปได้ในการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค คือการแข่งขันในการยึดเกาะบนผิวทางเดินอาหารหรือบนเนื้อเยื่อของเจ้าบ้าน ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าความสามารถในการยึดเกาะบนเมือก หรือบนพื้นผิวจำเพาะต่อแบคทีเรียที่เจริญในลำไส้ของสัตว์น้ำ (Olsson *et al.*, 1992; Onarheim and Raa, 1990; Westerdahl *et al.*, 1991) เมื่อแบคทีเรียมีการยึดเกาะบนผิวของเนื้อเยื่อจะเป็นระยะแรกของการติดเชื้อ (Krovacek *et al.*, 1987) การแข่งขันในการยึดเกาะกับเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค จึงนับว่าเป็นกลไกการทำงานแรกของโพรไบโอติก (Montes and Pugh, 1993) ในการใช้โพรไบโอติกในมนุษย์ สายพันธุ์ที่สามารถแข่งขันในการยึดเกาะนั้นถือว่าเป็นสายพันธุ์ที่จะพิจารณาในการนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกเป็นอันดับแรก (Salminen *et al.*, 1997)

การยึดเกาะนั้นไม่จำเป็นต้องมีความจำเพาะ อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพ ทางเคมีหรือมีความจำเพาะเจาะจง รวมถึงโมเลกุลที่ทำหน้าที่ในการยึดเกาะบนพื้นผิวของแบคทีเรีย และโมเลกุลบริเวณที่เป็นตัวรับ (receptor molecules) บนผิวเซลล์ การยับยั้งการยึดเกาะของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบนผิวของเซลล์ในมนุษย์ และในสัตว์อื่น ได้มีการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยนักวิจัยหลายท่าน (Bernet *et al.*, 1994; Blomberg *et al.*, 1993) แต่การศึกษาในสัตว์น้ำนั้น กลไกของโพรไบโอติกในการแข่งขันในการยึดเกาะนั้นเป็นเพียงสมมติฐานซึ่งยังไม่มีมีการวิจัยเพื่อพิสูจน์สมมติฐานนี้

นิตยา และคณะ (2549) ได้ทำการทดลองใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* เป็นโพรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ โดยหลังจากเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารผสมแบคทีเรีย *Bacillus* เป็นระยะเวลา 1 เดือน จึงนำลำไส้ไปตรวจหาเชื้อแบคทีเรียโดยใช้กล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อประเมินบทบาทและการดำรงอยู่ของแบคทีเรียภายในลำไส้ พบว่ามีแบคทีเรียรูปร่างแท่งยาว ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าจะเป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* โดยแบคทีเรียรูปร่างแท่งยาวนี้จะเกาะอยู่ในลำไส้ และพบว่าในลำไส้กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. มีลักษณะเป็นแท่งยาว ประมาณ 1 ไมโครเมตร ในลำไส้สั้นกว่ากลุ่มควบคุม และมี *Bacillus* spp. ซึ่งมีลักษณะเป็นแท่งยาว ขนาดประมาณ 1.5-3 ไมโครเมตรมากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *Bacillus* สามารถดำรงชีวิตอยู่ในลำไส้ได้จริงโดยเข้าไปแย่งพื้นที่แย่งอาหารรวมทั้งปัจจัยอื่นๆ จากแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อสร้างตัวเองให้โดดเด่นขึ้นมา

การยึดเกาะของเชื้อที่เป็นโพรไบโอติกบนผนังลำไส้ หรือเนื้อเยื่อไม่ได้เป็นเพียงกลไกเดียวในการทำงานของโพรไบโอติก นอกเหนือจากการยึดเกาะแล้วยังต้องมีความสามารถในการเพิ่มจำนวนด้วย เนื่องจากในผนังลำไส้ของสัตว์น้ำจะมีการป้องกันตัวมันเองโดยการหลั่งสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วย

5. คุณสมบัติในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

การใช้โพรไบโอติกนั้น บางครั้งสารที่นำมาใช้จะรวมถึงส่วนประกอบของผนังเซลล์ของจุลชีพ (Salminen *et al.*, 1999) ซึ่งสารนั้นสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ โดยมีการศึกษามากมายที่กล่าวถึงเซลล์หรือส่วนประกอบของเซลล์จุลชีพที่นำมาเป็นสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้ด้านทานต่อเชื้อที่ทำให้เกิดโรค

เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งเป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง ไม่มีความทรงจำที่จะสร้างแอนติบอดีได้เหมือนสัตว์ชั้นสูง ดังนั้นการทำงานจึงเป็นลักษณะชั่วคราว จำเป็นต้องได้รับการกระตุ้นเพื่อให้เกิดความพร้อมตลอดเวลา การกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายส่วนใหญ่เป็นการทำงานของเม็ดเลือด ซึ่งเป็นการทำงานร่วมกันเพื่อดักจับกินสิ่งแปลกปลอม โพรไบโอติกที่ผสมในอาหารกุ้งอาจจะประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด และเมื่อตายลงก็พร้อมที่จะเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจะพบสาร peptidoglycan

6. กระตุ้นการเจริญเติบโต

มีรายงานการใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* เป็นโพรไบโอติก ในการผสมอาหารสำหรับเลี้ยงกุลาดำ มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว ความยาว และอัตราการเจริญเติบโต (สิทธิและลีลา, 2541; ศิริรัตน์ และคณะ, 2547; Rengpipat *et al.*, 1998a, 1998b)

7. คุณสมบัติในการปรับปรุงคุณภาพน้ำของโพรไบโอติก

คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ คุณสมบัติโดยรวมทั้งในด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง เพื่อความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของกุ้ง โดยสารประกอบไนโตรเจน เช่น แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท ที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ซึ่งแอมโมเนียเป็นสารประกอบที่เกิดจากการปล่อยของเสียของกุ้งและการย่อยสลายของอาหารกุ้งที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก แอมโมเนียจะมีอยู่ 2 รูป คือ แอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ แอมโมเนียเป็นพิษต่อกุ้ง เพราะสามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของกุ้งได้ กลไกของการเกิดความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อกุ้งพบว่า เมื่อแอมโมเนียในน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ปริมาณออกซิเจนในเลือดลดลงเหลือเพียง 1 ใน 7 ของสภาวะปกติ (Brockway, 1950; Hampson, 1976; Boyd, 1979)

ไนไตรท์มีความเป็นพิษน้อยกว่าแอมโมเนีย โดยความเป็นพิษของไนไตรท์ขึ้นอยู่กับความเค็ม คือ ความเป็นพิษของไนไตรท์จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเค็มลดลง ไนไตรท์จะมีความเป็นพิษเมื่ออยู่ในรูป un-ionized และ non-polar (NO_2^-)

ไนเตรทเป็นสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่พืชและแพลงก์ตอนพืชนำไปใช้ได้ ความเป็นพิษของไนเตรทในบ่อเลี้ยงกุ้งยังไม่แน่ชัด เพราะกุ้งสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติในน้ำที่มีไนเตรทสูง 300 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไนเตรทสามารถถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอมโมเนียและไนไตรท์ที่เป็นพิษต่อกุ้งได้ (บรรจง, 2542)

การใช้โพรไบโอติกในการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย ซึ่งมักใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำ *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถที่จะเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยดูจากเปอร์เซ็นต์ที่สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในบริเวณที่มีแบคทีเรียอาศัยอยู่ (Stanier *et al.*, 1963; Balcazar *et al.*, 2006) ซึ่งเป็นเหตุผลว่าในบ่อที่มีปริมาณแบคทีเรียแกรมบวกสูงจะพบว่ามีปริมาณสารอินทรีย์ต่ำในระหว่างการเลี้ยง และเกิดการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืช เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Scura, 1995) นอกจากนี้มีผลการศึกษาของ *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. firmus* และ *B. marinus* ต่อการย่อย

สลายสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ที่มีอาหารเหลือและสิ่งขับถ่ายตกค้างอยู่ในบ่อมาก มีผลให้คุณภาพน้ำแยลง พบว่าแบคทีเรียเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายขี้กุ้งและสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงได้ดี และทำให้กุ้งมีอัตราการรอดสูงกว่าบ่อที่ไม่เติมแบคทีเรีย (ชลิต, 2535; รัตนวดี, 2535; เปรมสุตา, 2539; Dalmin *et al.*, 2001) และมีหลายงานวิจัยที่แสดงถึงผลของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวและการอนุบาลลูกกุ้ง ที่พบว่า กลุ่มทดลองที่มีปริมาณแอมโมเนีย ในไตรท์ และไนเตรตต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (มนทกานต์, 2552; มนทกานต์ และคณะ, 2552; Lakshmanan and Soundarapandian, 2008; Rajinikanth *et al.*, 2010) และในระหว่างการเลี้ยงถ้ามีแบคทีเรียแกรมบวกในปริมาณที่สูงจะช่วยลดปริมาณของสารอินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในรูปสารแขวนลอยและรูปที่ละลายน้ำได้ (Balcazar *et al.*, 2006)

11. การทดลองการใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง

สมาน (2538) ได้ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย 2 ชนิด คือ ชนิดเข้มข้นที่มีแบคทีเรีย *Bacillus polymyxa*, *B. megaterium* และ *B. subtilis* และชนิดผงที่มีแบคทีเรีย *B. subtilis*, *Nitrosomonas* sp. และ *Nitrobacter* sp. ในอัตรา 4 ลิตรต่อไร่ และ 1 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนัก 10 กรัม ในถังไฟเบอร์กลาสในอัตราความหนาแน่น 30 ต่อต่อตารางเมตร ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำไม่แตกต่างกันจากกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับที่ สรรเสริญ และทวี (2539) ได้ทดลองใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ *B. subtilis* ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาร์วา-22 ในบ่อดินขนาด 800 ตารางเมตร ในอัตราความหนาแน่น 50 ตัวต่อตารางเมตร ในอัตรา 1 กิโลกรัมต่อไร่ ก่อนปล่อยลูกกุ้ง และในอัตรา 250-500 กรัมต่อไร่ ทุกๆ 7-15 วัน ระหว่างการเลี้ยงกุ้ง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นเวลา 135 วัน พบว่า กุ้งมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายไม่แตกต่างจากบ่อที่ไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ แต่คุณสมบัติของน้ำโดยเฉพาะปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์ในบ่อที่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ต่ำกว่าบ่อที่ไม่เติมจุลินทรีย์ 32.18 และ 9.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การศึกษาของ วิจิตรา และสมหมาย (2541) ที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จำนวน 5 สายพันธุ์ ควบคุมคุณภาพน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำและความคุมโรคเรื้อรังที่เกิดจากแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* มาทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่า น้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่เติม *B. subtilis* สายพันธุ์

ABS-D18 10^3 CFU/มิลลิลิตร เป็นเวลา 34 วัน มีปริมาณแอมโมเนีย ในไตรท์ ไนเตรท และพีเอชไม่แตกต่างกันจากชุดควบคุม แต่ *B. subtilis* จำนวน 4 ใน 5 สายพันธุ์ สามารถควบคุมโรคเรืองแสงได้

Rengpipat *et al.* (2000) พบว่ากุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสม *Bacillus* S11 มีอัตราการรอดและการเจริญเติบโตดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* S11 โดย *Bacillus* S11 มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกระบวนการ phagocytosis ซึ่งทราบได้จากการวัดเปอร์เซ็นต์ phagocytosis และ phagocytic index (PI) ส่วนกิจกรรม phenoloxidase และกิจกรรมของน้ำเลือดกุ้งในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activities) มีค่าสูงขึ้นหลังจากการใช้โปรไบโอติกเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 90 วัน และเมื่อทำการทดสอบความคุ้มโรคด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* เป็นเวลา 10 วัน กุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกมีอัตราการรอดดีกว่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยอัตราการรอดของกุ้งที่ให้อาหารผสมโปรไบโอติก คือ 54.3 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ได้อาหารผสมโปรไบโอติกมีอัตราการรอด 35.5 เปอร์เซ็นต์ และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่ได้รับเชื้อ *V. harveyi* เป็นเวลา 10 วัน ในกลุ่มที่ให้อาหารผสมโปรไบโอติกมีค่า PI เท่ากับ 2.7 ± 0.8 ส่วนกลุ่มควบคุมมีค่า PI เท่ากับ 0.6 ± 0.3

จันทสิงห์ (2544) ได้ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 5.96 กรัม ในบ่อพลาสติก ขนาด 130 ลิตร ในอัตราความหนาแน่น 20 ตัวต่อบ่อ ให้อาหารสำเร็จรูปที่เติมแบคทีเรีย *Bacillus* S11 และเติมแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. firmus* ในน้ำให้มีจำนวนไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU/มิลลิลิตร ตลอดการเลี้ยง เปรียบเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงโดยไม่เติมแบคทีเรียทั้งในอาหารและน้ำ พบว่า คุณภาพน้ำ และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งใน 2 ชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน แต่กุ้งในชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียมีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุม และเมื่อนำไปทดลองเลี้ยงกุ้งระยะโพสทาร์ว 25 ในบ่อดินขนาด 900 ตารางเมตร ในอัตราความหนาแน่น 33 ตัวต่อตารางเมตร เป็นเวลา 100 วัน พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตสูงกว่ากุ้งในชุดควบคุม และมีค่าพีไอดี ปริมาณแอมโมเนียรวม ไนไตรท์ ไนเตรท และออร์โธฟอสเฟตของน้ำ และปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดการทดลอง

Gullian *et al.* (2004) คัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกโดยแยกจากลำไส้ และ hepatopancreas ของกุ้งจากธรรมชาติ ได้ 3 ชนิด คือ *Vibrio* P62, *Vibrio* P63 และ *Bacillus* P64 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio harveyi* (S2) ได้ นำมาผสมอาหารให้กุ้งขาว *Penaeus vannamei* กิน พบว่า กุ้งขาวกลุ่มที่กินอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 3 ชนิดมีน้ำหนักตัวสูงกว่ากลุ่ม

ควบคุม และ *Bacillus* P64 มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดีและสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวได้สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

นิตยา และคณะ (2549) ทำการทดลองใช้ *Bacillus subtilis* และ *B. licheniformis* เป็นโพรไบโอติก ซึ่งแยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำผสมอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการใช้ *B. subtilis* ร่วมกับ *B. licheniformis* ในอัตราส่วน 1:1 ที่ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีผลทำให้ระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกทุกกลุ่มทดลอง มีจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมพบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกชนิด *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทุกวันเป็นระยะเวลา 1 เดือน มีระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับวันเว้นวัน และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกทุกกลุ่มทดลอง มีจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบว่าระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดหลังจากหยุดให้ 1 สัปดาห์แล้วค่อยๆ ลดลงเท่ากับกลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 2 และเมื่อให้อาหารผสมโพรไบโอติกอีกครั้งพบว่ากุ้งมีระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้มีจำนวนลดลง จากการศึกษครั้งนี้พบว่าการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด *B. subtilis* ร่วมกับ *B. licheniformis* ที่ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำได้เป็นที่น่าพอใจ โดยควรให้จุลินทรีย์ดังกล่าวอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเลี้ยง

วารุณี (2549) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้จุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* sp. ต่อคุณภาพน้ำและผลผลิตกุ้งกุลาดำ พบว่า ในบ่อที่เติมจุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* sp. มีปริมาณแอมโมเนียรวมและปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจน ต่ำกว่าบ่อที่ไม่เติมจุลินทรีย์ ส่วนปริมาณผลผลิตของบ่อที่มีการเติมจุลินทรีย์มีค่ามากกว่าบ่อที่ไม่เติมจุลินทรีย์แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้โพรไบโอติกในกลุ่ม *Lactobacillus* spp. ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยผสมในอาหารในปริมาณ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กุ้งกุลาดำกินติดต่อกันนาน 110 วัน สามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* รวมทั้งมีผลผลิตเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการรอดตาย และอัตราการเจริญเติบโต มากกว่าบ่อที่ไม่มีการให้โพรไบโอติกผสมในอาหาร (วรรณพร, 2550)

วัชรียา (2549) พบว่า การใช้ *Bacillus subtilis* ซึ่งแยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำเป็นโพรไบโอติก โดยการผสมอาหารที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นระบบ

ภูมิคุ้มกันต่างๆ ของกุ้งกุลาดำ ได้แก่ กิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase การผลิต superoxide anion ความว่องไวในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งกุลาดำ และความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคจากระบบไหลเวียนได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้ *Bacillus* ชนิดต่างๆ ในรูปของเชื้อผสม ได้แก่ เชื้อผสมของ *B. pumilus* + *B. sphaericus* เชื้อผสมของ *B. pumilus* + *B. subtilis* เชื้อผสมของ *B. sphaericus* + *B. subtilis* และเชื้อผสมของ *B. pumilus* + *B. sphaericus* + *B. subtilis* สามารถเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase ความว่องไวในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดและความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคจากระบบไหลเวียนได้เช่นเดียวกัน นอกเหนือจากคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแล้ว เชื้อ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิด ยังสามารถลดปริมาณของแบคทีเรียก่อโรค *Vibrio* spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำได้ และจากการศึกษาการแข่งขันในการใช้สารอาหารระหว่างเชื้อ *Bacillus* และเชื้อ *V. harveyi* โดยวิธี broth co-culture assay โดยเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม พบว่า *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิด สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้

Li *et al.* (2007) ศึกษาการเจริญได้ของเชื้อ *Bacillus licheniformis* ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาว และผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน พบว่า *B. licheniformis* สามารถเจริญได้อย่างต่อเนื่องในลำไส้ของกุ้งขาว และลดจำนวน *Vibrio* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีเชื้อ *B. licheniformis* มีปริมาณเม็ดเลือดรวม ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase และปริมาณ superoxide สูงกว่ากุ้งขาวในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Balcazar *et al.* (2007) แยกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจากทางเดินอาหารของกุ้งขาวได้ 4 ชนิด คือ *Vibrio alginolyticus* UTM 102, *Bacillus subtilis* UTM 126, *Roseobacter gallacensis* SLV03 และ *Pseudomonas aestumarina* SLV22 ทำการทดลองใน *in vitro* พบว่ามีความสามารถในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Vibrio parahaemolyticus* PS-017 และเมื่อนำมาผสมอาหารให้กุ้งกิน พบว่า กุ้งที่กินอาหารผสมโพรไบโอติกทั้ง 4 ชนิด มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และกุ้งที่กินอาหารผสมโพรไบโอติกมีความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ดี

Tseng *et al.* (2009) ใช้ *Bacillus subtilis* E20 ที่แยกได้จากถั่วเหลืองหมัก มาใช้เป็นโพรไบโอติก เพื่อศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ความทนโรคของกุ้งขาวแวนนาไม โดยให้อาหารผสมโพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นเชื้อ คือ 10^6 , 10^7 และ 10^8 CFU ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่า

กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกระดับดังกล่าว มีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น 13.3, 16.7 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Vibrio alginolyticus* (clearance efficiency) แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Li and Tan (2009) ทดลองใช้ *Bacillus* OJ (*B. megaterium*) เป็นโพรไบโอติกร่วมกับ isomaltooligosaccharides เพื่อประเมินผลประชากรแบคทีเรียในลำไส้ ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไม โดยการให้ผสมอาหาร พบว่า กุ้งในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกความเข้มข้นสูงมีระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้น มีอัตราการรอดสูงเมื่อได้รับเชื้อไวรัส WSSV และมีปริมาณ *Vibrio* ในลำไส้ต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ

ปาจริย์ (2554) ได้ทำการแยกแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Brevibacillus parabrevis*, *Bacillus velezensis*, *B. amyloliquifaciens*, *B. subtilis* และ *B. megaterium* และนำมาทดสอบความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* พบว่าแบคทีเรียแต่ละชนิด ทั้ง 5 ชนิด และ *Bacillus* รวมทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ได้ดี และเมื่อนำ *Bacillus* sp. แต่ละชนิดและการรวมกันของแบคทีเรียสร้างสปอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth ที่เติมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การรวมกันของแบคทีเรียสร้างสปอร์ *Brevibacillus parabrevis*, *Bacillus velezensis*, *B. amyloliquifaciens*, *B. subtilis* และ *B. megaterium* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *V. harveyi* ได้ และเมื่อใช้โพรไบโอติก *Bacillus* ผสมกับอาหารสำเร็จรูปในอัตราส่วนโพรไบโอติก 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กุ้งขาวแวนนาไมกินเป็นเวลา 60 วัน พบว่ากุ้งที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการตายสูงกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

12. ข้อดีและข้อเสียของการใช้โพรไบโอติก

ข้อดีของการใช้โพรไบโอ ที่ ปาจริย์ (2554) ได้อธิบายไว้ดังนี้

โพรไบโอติกจะช่วยกำจัดเศษอาหารเหลือที่เป็นของเสีย รวมทั้งตะกอนสารอินทรีย์ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำให้เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถละลายน้ำได้ และแบคทีเรียบางชนิดสามารถเปลี่ยนสารพิษให้อยู่ในรูปที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำได้ เช่น เปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นไนเตรท เปลี่ยนไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้เป็นซัลเฟตได้ ซึ่งการใช้โพรไบโอติกสามารถช่วยให้สภาพแวดล้อมในบ่อ

เลี้ยงกุ้งมีความเหมาะสม ไม่มีการสะสมของเลนมากนัก และยังช่วยลดและควบคุมปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในกุ้ง เช่น *Vibrio* sp.

ข้อเสียของการใช้โพรไบโอติก

บ่อเลี้ยงกุ้งที่มีสารอินทรีย์ตกค้างมากๆ เนื่องจากการให้อาหารมากเกินไป เมื่อมีการเติมจุลินทรีย์ลงไปปริมาณมาก จุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต้องใช้ออกซิเจน ทำให้ปริมาณออกซิเจนในบ่อลดลง ถ้าในบ่อนั้นมีเครื่องให้อากาศไม่เพียงพอ โดยเฉพาะในเวลากลางคืน ซึ่งเป็นผลให้กุ้งเกิดการเครียด อ่อนแอ มีโอกาสติดเชื้อและป่วยเป็นโรคได้

13. ผลกระทบของปริมาณน้ำฝนต่อการเลี้ยงกุ้ง

ในช่วงฤดูฝนหรือมรสุมจะมีฝนตกในปริมาณมาก บางครั้งติดต่อกันนานหลายวัน การเลี้ยงกุ้งมักจะมีปัญหามากกว่าฤดูปกติ ชลอ และคณะ (2556) ได้อธิบายถึงปัญหาต่างๆ ที่มักจะพบในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงฤดูฝน ดังนี้

1. ทำให้สภาพในบ่อไม่ดี ซึ่งตามปกติการเลี้ยงกุ้งในช่วงที่มีสภาพอากาศดีคือ มีแสงแดดในตอนกลางวันหลังจากเริ่มมีแสงแดด แพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งจะทำการสังเคราะห์แสงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกดึงไปใช้เพื่อการสังเคราะห์แสง ผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์แสงคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในช่วงกลางวันจะสูงขึ้น จะทำให้สภาพในบ่อดีขึ้น การย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อโดยจุลินทรีย์ก็เป็นไปได้ดี ของเสียที่สะสมในบ่อในรูปของสารอินทรีย์หรือรูปร่างอื่น ๆ จะถูกบำบัดโดยจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ออกซิเจนในการสลาย หลังจากไม่มีแสงแดดหรือในเวลากลางคืน กระบวนการสังเคราะห์แสงจากแพลงก์ตอนพืชไม่มี แต่กระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตซึ่งเกิดขึ้นตลอดเวลา จะใช้ออกซิเจนที่สะสมอยู่ในบ่อ ซึ่งส่วนใหญ่มาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช และเครื่องให้อากาศที่มีอยู่แล้วอย่างเพียงพอ บ่อที่มีการจัดการที่ดี พบว่าปริมาณออกซิเจนจะค่อยๆ ลดลงหลังจากประมาณ 21.00 น. จนถึงจุดต่ำสุดตอนเช้ามืด แต่เมื่อมีแสงแดดของวันใหม่ กระบวนการที่กล่าวมาแล้วนี้ก็จะเกิดขึ้นหมุนเวียนไปเรื่อยๆ การเลี้ยงกุ้งก็จะมีปัญหา ในทางตรงกันข้ามถ้าอากาศมีดึกครึ้มไม่มีแสงแดด หรือมีฝนตกปริมาณมากๆ กระบวนการการสังเคราะห์แสงจะไม่เกิดขึ้นเลย มีแต่การใช้ออกซิเจนจากจุลินทรีย์

ในกระบวนการย่อยสลายของเสีย กระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตทั้งกุ้งและแพลงก์ตอนในบ่อกุ้ง ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่เกิดขึ้นในบ่อได้มาจากเครื่องให้อากาศเพียงอย่างเดียว ซึ่งพบว่าในช่วงเวลาที่ฝนตกติดต่อกันนาน ปริมาณออกซิเจนในน้ำจะอยู่ในระดับที่ไม่สูงหรือค่อนข้างจะต่ำตลอดเวลา ไม่เพียงแต่เท่านั้นกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ของแบคทีเรียทำได้น้อยลง ทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนีย และไนไตรท์ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อสุขภาพกุ้งในเวลาต่อมา

2. สีนํ้าล้น หรือแพลงก์ตอนบางส่วน หรือส่วนใหญ่จะตาย เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากปริมาณน้ำฝนที่ตกลงไปในบ่อ ในกรณีที่ในบ่อมีสีน้ำเข้ม หรือปริมาณแพลงก์ตอนมีอย่างหนาแน่นก่อนที่จะฝนจะตกหนัก มักจะพบว่าหลังจากฝนตกติดต่อกันนานๆ แพลงก์ตอนส่วนใหญ่จะตาย น้ำจะขุ่น บ่อยครั้งจะพบว่ากุ้งมีเหงือกสีเข้มขึ้นจากตะกอนหรือซากแพลงก์ตอนเข้าไปอุดตันในเหงือก กุ้งที่อ่อนแอบางส่วนจะเริ่มเกาะตามขอบบ่อ และทยอยตาย

3. กุ้งกินอาหารลดลง กุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็น อุณหภูมิของร่างกายเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิของน้ำ ตามปกติกุ้งจะกินอาหารได้ดีที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ในขณะที่ฝนตกหนัก น้ำฝนมีอุณหภูมิประมาณ 24 องศาเซลเซียส ดังนั้นเมื่อฝนตกลงไปในบ่อมีผลทำให้อุณหภูมิของน้ำในบ่อลดลงเรื่อยๆ ถ้าฝนตกติดต่อกันนานหลายวัน อุณหภูมิน้ำจะลดลงถึง 24 องศาเซลเซียส แม้ว่าเป็นช่วงฤดูกาลปกติก็ตาม อุณหภูมิของน้ำที่ลดลงจาก 28-30 องศาเซลเซียส ลงมาที่ 24-25 องศาเซลเซียส มีผลทำให้การกินอาหารของกุ้งลดลงประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ (ชโล และคณะ, 2551) ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ไม่เพียงเท่านั้น อาหารที่เหลือเนื่องจากกุ้งกินไม่หมด เกิดการย่อยสลาย ทำให้ปริมาณแอมโมเนียสูงขึ้นในเวลาต่อมา ซึ่งทำให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพกุ้ง

4. มีการเจริญเติบโตช้า จากการที่กุ้งกินอาหารลดลง ในขณะที่น้ำมีอุณหภูมิต่ำจากปริมาณน้ำฝน ซึ่งบางฟาร์มจะ ไม่มีการให้อาหารถ้าช่วงเวลาที่จะให้อาหารมีฝนตกหนัก ดังนั้นเมื่อมีฝนตกติดต่อกันหลายๆ วัน จะมีผลทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ อัตราแลกเนื้อจะสูงทำให้ต้นทุนสูงขึ้น

5. กุ้งเป็นโรคได้ง่าย เกษตรกรผู้เลี้ยงมักจะสังเกตเห็นว่าเมื่อไรก็ตามที่มีฝนตกติดต่อกันหลายวัน มักจะมีกุ้งป่วย ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นโรคดวงขาวหรือโรคอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อน้ำมีอุณหภูมิต่ำ ภูมิคุ้มกันของกุ้งจะลดลงเพราะกุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็นภูมิคุ้มกันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่ไวรัสหลายชนิดจะเพิ่มความรุนแรงเมื่ออุณหภูมิลดลง โดยเฉพาะไวรัสดวงขาว ซึ่ง

มักจะพบว่ามีภาระอย่างรุนแรงในช่วงอุณหภูมิต่ำ ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เมื่อฝนตกติดต่อกันหลายวันกุ้งจะเป็นโรคดวงขาวได้มากกว่าช่วงการเลี้ยงปกติ

6. เกิดแผลตามลำตัวมากกว่าปกติ เกษตรกรที่นิยมการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมอย่างหนาแน่น พบว่าการเลี้ยงกุ้งขาวผ่านช่วงเวลาที่ฝนตกติดต่อกันนานๆ หรือฤดูฝน กุ้งอาจจะมีแผลตามลำตัวมากกว่าฤดูกาลปกติ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อมีฝนตกติดต่อกันนานๆ ปริมาณน้ำฝนซึ่งมีพีเอชต่ำและค่าความเป็นด่าง (alkalinity) ต่ำมาก หรืออาจเป็นศูนย์ จะมีผลทำให้พีเอชของน้ำต่ำลง ค่าความเป็นด่างลดต่ำลงไปด้วย เป็นการกระตุ้นทำให้กุ้งขาวแวนนาไมมีการลอกคราบมากกว่าปกติ ในขณะที่ปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม คลอไรด์ โซเดียม และซัลเฟต จะลดต่ำลงกว่าปกติเนื่องจากถูกเจือจางด้วยน้ำฝน ปริมาณแร่ธาตุที่สำคัญเหล่านี้ โดยเฉพาะแคลเซียมและแมกนีเซียมจะมีความสำคัญต่อการสร้างเปลือกกุ้ง ตามปกติกุ้งจะพยายามรักษาสมดุลของปริมาณแร่ธาตุในเลือดให้คงที่ตลอดเวลา ดังนั้นเมื่อปริมาณแร่ธาตุที่สำคัญในน้ำลดต่ำลง กุ้งต้องใช้พลังงานมากขึ้นในการดึงแร่ธาตุต่างๆ ในน้ำเข้าสู่ร่างกาย ทำให้กุ้งอ่อนเพลียและมีโอกาสที่ป่วยหรือตายหลังจากการลอกคราบได้ ซึ่งมักจะพบในบ่อเลี้ยงกุ้งที่น้ำมีความเค็มต่ำในช่วงฤดูฝนหลังจากมีฝนตกติดต่อกันนาน พบกุ้งตายมีลักษณะตัวนิ่มมาก ทำให้อัตรารอดลดลง เนื่องจากกุ้งกินกันเอง ส่วนในกรณีการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในน้ำเค็มความปกติ ซึ่งมีปริมาณแร่ธาตุที่กล่าวมาพอเพียงใน เริ่มต้นการเลี้ยง แต่เมื่อมีการเลี้ยงกุ้งหนาแน่น กุ้งมีการเจริญเติบโต แร่ธาตุในน้ำจะค่อยๆ ลดลง แม้ว่าแร่ธาตุบางส่วนจะได้มาจากอาหาร เมื่อมีฝนตกติดต่อกันนานๆ หรือในปริมาณมาก ปริมาณแร่ธาตุในน้ำจะลดลงมาก ดังนั้นหลังจากการลอกคราบในขณะที่เปลือกยังไม่แข็งสมบูรณ์ เนื่องจากแร่ธาตุลดลงตามที่กล่าวมาแล้ว เมื่อในบ่อมีกุ้งในอัตราความหนาแน่นสูง ในขณะที่ยังมีพื้นที่จำกัด โอกาสที่จะเกิดบาดแผลจากกริ๊ง เนื่องจากการเคลื่อนไหวไปมาของกุ้งในบ่อจึงมีสูงตามไปด้วย

แนวทางในการแก้ปัญหา ที่ชลอ และคณะ (2556) ได้อธิบายไว้มีดังนี้

ผู้ประกอบการเลี้ยงกุ้งจะต้องประเมินสถานการณ์การเลี้ยงว่าในรอบการเลี้ยงต่อไปว่า จะต้องเผชิญกับอะไรบ้าง โดยดูจากข้อมูลที่ผ่านมาในรอบปีก่อน และคาดหวังว่าปริมาณน้ำฝนจะมากกว่าปีก่อนด้วย แนวทางการเลี้ยงกุ้งช่วงฤดูฝนมีดังนี้

1. ปล่อยลูกกุ้งในอัตราความหนาแน่นน้อยกว่ารอบการเลี้ยงปกติ เพื่อรองรับปริมาณฝนที่คาดว่าจะมีมากกว่าปกติ

2. ควรเพิ่มเครื่องให้อากาศมากขึ้น เนื่องจากเตรียมไว้ชดเชยปริมาณการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนที่ลดลง เนื่องจากฝนตก

3. ควรเสริมแร่ธาตุอย่างสม่ำเสมอมากกว่าปกติ โดยเฉพาะในช่วงก่อนกุ้งลอกคราบและช่วงที่ฝนตกหนัก เพื่อเสริมแร่ธาตุที่สำคัญในน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม สำหรับกุ้งที่ใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนั้นควรเติมวัสดุปูนเพื่อควบคุมพีเอชของน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เพราะน้ำฝนมีพีเอชต่ำ ประมาณ 6.8 – 6.9

ถ้าผู้ประกอบการเลี้ยงกุ้งมีการเตรียมความพร้อมและประเมินสถานการณ์ล่วงหน้าว่าจะเกิดอะไรขึ้น โดยมีระบบรองรับความเสี่ยงโดยเฉพาะการป้องกันโรค เช่น มีรั้วล้อมรอบบ่อเลี้ยงเพื่อป้องกันปู มีเชือกขึงกันนก มีการฆ่าเชื้อและพาหะในน้ำก่อนปล่อยลูกกุ้ง และที่สำคัญที่สุดคือใช้ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดีจากโรงเพาะฟักที่เชื่อถือได้ และผ่านการตรวจเชื้อไวรัสที่เป็นอันตรายต่อการเลี้ยงกุ้ง อาหารคุณภาพดี รวมทั้งการจัดการที่ดีตามที่กล่าวไปแล้วก็จะทำให้สามารถเลี้ยงกุ้งผ่านช่วงฤดูฝนได้ และประสบความสำเร็จได้ผลผลิตตามเป้าหมายที่ตั้งไว้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ผลของการใช้โพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) โดยมีทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่มีการใช้โพรไบโอติก

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้โพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้น 2 พีพีเอ็ม

ชุดการทดลองที่ 3 ใช้โพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้น 3 พีพีเอ็ม

ชุดการทดลองที่ 4 ใช้โพรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้น 4 พีพีเอ็ม

1.1 การเตรียมน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง

ทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 500 ลิตร จำนวน 12 ถัง โดยในแต่ละชุดการทดลองจะมี 3 ถัง ดังภาพที่ 1 น้ำเค็มที่ใช้เลี้ยงและเปลี่ยนถ่าย เตรียมโดยใช้น้ำเค็มความเข้มข้นสูง ประมาณ 100 ส่วนในพันส่วนจากนาเกลือ ผสมกับน้ำประปาที่พักจนคลอรีนสลายตัวหมดแล้ว ให้ได้ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (พีพีที) ในระหว่างการเลี้ยงมีการให้อาหารอย่างเพียงพอ

1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) (ภาพที่ 2) จากโรงเพาะฟักเอกชนในจังหวัดฉะเชิงเทรา มาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำมาตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งก่อนการทดลองโดย สุ่มตัวอย่างลูกกุ้งขาว 30 ตัวมาทดสอบความเครียดโดยนำลูกกุ้ง

มาแช่ในน้ำจืดทิ้งไว้ 30 นาที หลังสิ้นสุดการทดลองตรวจนับอัตราการตายของลูกกุ้งโดยลูกกุ้งที่แข็งแรงอัตราการรอดตายต้องมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

ลูกกุ้งที่ผ่านการทดสอบความทนทานในน้ำจืดที่กล่าวไปแล้ว จะนำมาตรวจสอบคุณภาพด้วยวิธีซีรุมฟิโบโอเทค (กรรณวิท และคำรณ, 2546) ดังวิธีการต่อไปนี้

การตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งโดยวิธีซีรุมฟิโบ โอเทค

สุ่มตัวอย่างกุ้งมาวัดความยาวและชั่งน้ำหนัก จดบันทึก หลังจากนั้นนำมาตรวจให้คะแนนความสมบูรณ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบ่งออกเป็น 5 เกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้ อัตราการกลืนเนื้อต่อลำไส้ (M:G ratio) ความสมบูรณ์ของรยางค์ ปรสิตรภายนอก ปริมาณเมือกไขมันในตัวกุ้ง และความสมบูรณ์ของตับของลูกกุ้ง จากนั้นสรุปผลการให้คะแนนเป็นเปอร์เซ็นต์ สำหรับมาตรฐานของลูกกุ้งที่ได้รับการยอมรับภายใต้การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ควรมีคะแนนตั้งแต่ 85 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจึงถือว่าผ่านเกณฑ์

สุ่มตัวอย่างลูกกุ้งขาวจำนวน 100 ตัวเพื่อตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียวิบริโอ โดยนำมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมงสำหรับลูกกุ้งที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานต้องมีโคโลนีแบคทีเรียไม่เกิน 100 โคโลนีและต้องไม่พบแบคทีเรียวิบริโอกลุ่มเรืองแสง ซึ่งรายละเอียดของการตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งโดยวิธีซีรุมฟิโบ โอเทคอยู่ในภาคผนวกหน้า 69

1.3 นำลูกกุ้งที่ผ่านการตรวจคุณภาพและคัดเลือกลูกกุ้งที่มีความแข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันปล่อยลงเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 500 ลิตร ที่ความหนาแน่น 30 ตัวต่อถัง (60 ตัวต่อตารางเมตร)

1.4 การให้อาหารและการใช้โปรไบโอติก

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับลูกกุ้งระยะโพสลาอ์วา (กลุ่มควบคุม) จะให้อาหารสำเร็จรูปอย่างเดียวนั่น

ชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา และใส่โปรไบโอติกลงไปในน้ำเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเข้มข้น 2, 3 และ 4 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

ในการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับลูกกุ้งระยะโพสลาร์วาจะให้ 4 มื้อต่อวัน (8.00 น., 12.00 น., 16.00 น. และ 20.00 น.) ส่วนโปรไบโอติก (ภาพที่ 3) จะใช้โดยการใส่ลงไปในน้ำเลี้ยงกุ้งโดยตรง ทุกๆ 2 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 2, 3 และ 4 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

1.5 เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 4 ชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยทำการชั่งน้ำหนักทุก 10 วัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 5 วัน ในปริมาณที่เท่ากันทุกชุดการทดลอง ซึ่งก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำจะวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ สำหรับอัตราการรอดตายนั้นจะทำการนับเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

1.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำระหว่างการเลี้ยง

ในระหว่างการเลี้ยงเก็บตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์คุณภาพน้ำในห้องปฏิบัติการทุก 5 วัน โดยมีค่าพารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

- พีเอช (pH) วัดโดยใช้เครื่องวัดพีเอชไฟฟ้าของ HANNA รุ่น HI 9318
- ความเป็นด่าง (total alkalinity) ใช้วิธี titration (APHA *et al.*, 1995)
- แอมโมเนียรวม (total ammonia-nitrogen) วิเคราะห์โดยใช้วิธี phenol-hypochlorite method (APHA *et al.*, 1995)
- ไนไตรท์ (nitrite-nitrogen) วิเคราะห์โดยใช้วิธีของ APHA *et al.* (1995)

1.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นับจำนวนกุ้งที่เหลือแต่ละชุดการทดลอง นำมาคำนวณอัตราการรอดตายและนำค่าเฉลี่ยของน้ำหนักกุ้งแต่ละตัวที่ทำการชั่งน้ำหนักกุ้งด้วยเครื่องชั่งดิจิทัล และค่าคุณภาพน้ำที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการรอด อัตราการเจริญเติบโต และค่าคุณภาพน้ำ ระหว่างชุดการทดลองและกลุ่มควบคุมโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (อนันต์ชัย, 2542) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

2. ผลของการเปลี่ยนถ่ายน้ำฝนในปริมาณต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของ ลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) โดยมีทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง ได้แก่

ชุดการทดลอง ที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่มีการใช้โพไบโอติก เปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำความเค็ม 25 พีพีที ปริมาตร 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในถัง

ชุดการทดลองที่ 2 เป็นกลุ่มทดลองโดยใช้โพไบโอติกในปริมาณ 4 พีพีเอ็ม เปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำความเค็ม 25 พีพีที ปริมาตร 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในถัง

ชุดการทดลองที่ 3 เป็นกลุ่มทดลองโดยใช้โพไบโอติกในปริมาณ 4 พีพีเอ็ม เป็นกลุ่มทดลองที่มีการเปลี่ยนถ่ายโดยใช้น้ำฝน ปริมาตร 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในถัง

ชุดการทดลองที่ 4 เป็นกลุ่มทดลองโดยใช้โพไบโอติกในปริมาณ 4 พีพีเอ็ม เป็นกลุ่มทดลองที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำฝน ปริมาตร 40 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในถัง

2.1 การเตรียมน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง

ทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมภายในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยใช้ถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 500 ลิตร จำนวน 12 ถัง โดยในแต่ละชุดการทดลองจะมี 3 ถัง การเตรียมน้ำความเค็ม 25 พีพีที เช่นเดียวกับในการทดลองที่ 1 ส่วนน้ำฝนเก็บในช่วงที่มีฝนตกหนักติดต่อกันหลายวัน ไว้ในถังไฟเบอร์กลาสในปริมาณที่เพียงพอที่จะใช้เปลี่ยนถ่ายน้ำตลอดระยะเวลาในการทดลอง โดยน้ำฝนที่เก็บไว้นั้นมีค่าพีเอช 6.8 และค่าความเป็นด่าง 5 พีพีเอ็ม และความเค็ม 0 พีพีที ดังภาพที่ 4

2.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะพี10 (ภาพที่ 2) จากโรงเพาะฟักเอกชนในจังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ได้จากฟาร์มเอกชน มาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำมาตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งก่อนการทดลองโดย วิธีชมพู่ไบโอเทค (กรรณวิท และคำรณ, 2546) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.3 นำลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่ผ่านการตรวจคุณภาพและคัดเลือกลูกกุ้งที่มีความแข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันปล่อยลงเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 500 ลิตร ที่ความหนาแน่น 45 ตัวต่อถัง (90 ตัวต่อตารางเมตร)

2.4 การให้อาหาร และการเปลี่ยนถ่ายน้ำ

ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา 4 มื้อต่อวัน (8.00 น., 12.00 น., 16.00 น. และ 20.00 น.) ส่วนโพรไบโอติกจะใช้โดยการใส่น้ำโดยตรง ทุกๆ 2 วัน และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 5 วัน ในปริมาตร 30-40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำในถัง จนถึงสิ้นสุดการทดลองนาน 30 วัน

2.5 เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 4 ชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยทำการชั่งน้ำหนักทุก 10 วัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 5 วัน ซึ่งก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำจะวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำสำหรับอัตราการรอดตายนั้นจะทำการนับเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

2.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำระหว่างการเลี้ยง

ในระหว่างการเลี้ยงเก็บตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์คุณภาพน้ำในห้องปฏิบัติการทุก 5 วัน โดยมีค่าพารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

- ความเค็ม (ppt.) วัดโดยใช้เครื่อง YSI 30/10 FT
- พีเอช (pH) วัดโดยใช้เครื่องวัดพีเอชไฟฟ้าของ HANNA รุ่น HI 9318
- ความเป็นด่าง (total alkalinity) โดยใช้วิธี titration (APHA *et al.*, 1995)

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

-ไนไตรท์ (nitrite-nitrogen) วิเคราะห์โดยใช้วิธีของ APHA *et al.* (1995)

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นับจำนวนกุ้งที่เหลือแต่ละชุดการทดลอง นำมาคำนวณอัตราการรอดตายและนำค่าเฉลี่ยของน้ำหนักกุ้งแต่ละตัวที่ทำการชั่งน้ำหนักกุ้งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล และค่าคุณภาพน้ำที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการรอด อัตราการเจริญเติบโต และค่าคุณภาพน้ำ ระหว่างกลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุม โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ชัย, 2542) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย

1. สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

2. ระยะเวลาทำการวิจัย

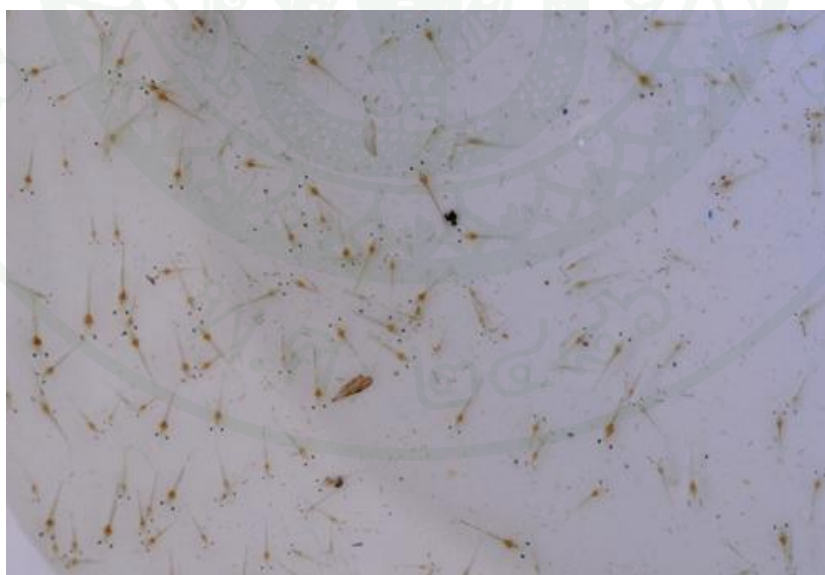
ระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ.2555 – ธันวาคม พ.ศ.2555

แหล่งทุนสนับสนุน

ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 การศึกษาผลของการใช้โพรไปโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และการศึกษาผลของปริมาณน้ำฝนและโพรไปโอติกต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์ว่า 10 (พี 10) ในห้องปฏิบัติการ ณ ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน



ภาพที่ 2 ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาร์ว่า 10 (พี 10)



ภาพที่ 3 ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก (Probiotic) ที่ใช้ในการทดลอง



ถังเก็บน้ำฝน

ภาพที่ 4 ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 1,000 ลิตรสำหรับเก็บน้ำฝนที่ใช้ในการทดลอง

ผลและวิจารณ์ผล

1. ผลของการใช้โพรบิโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

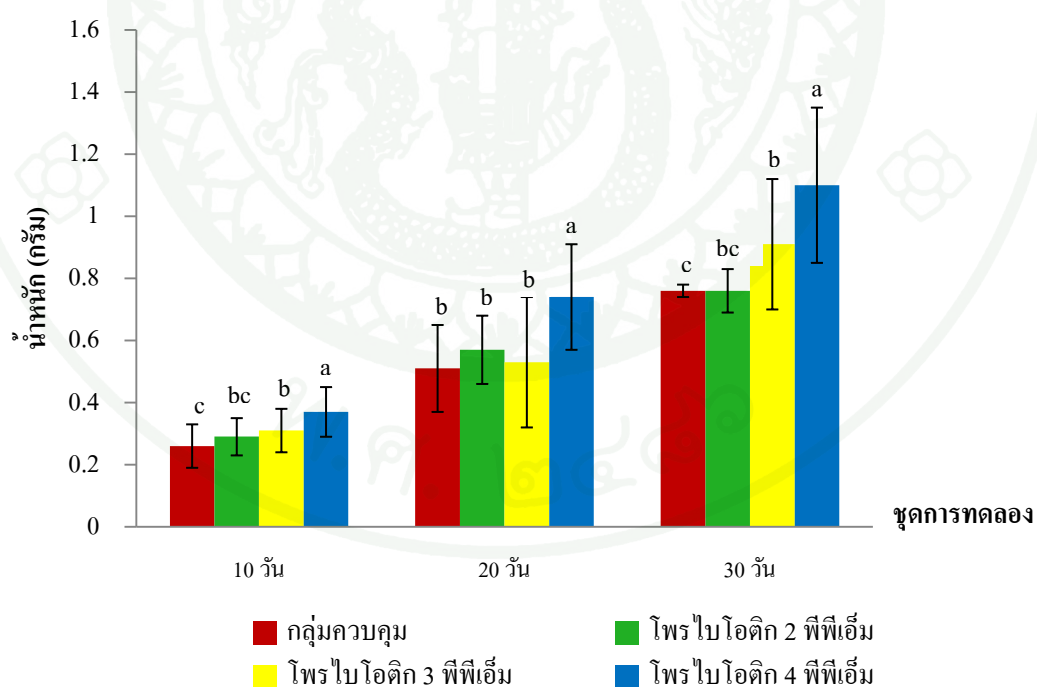
1.1 ผลการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

หลังสิ้นสุดการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตในชุดการทดลองที่เติมโพรบิโอติกปริมาณ 4 พีพีเอ็ม มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าทุกชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) ในขณะที่อัตราการรอดตายของกุ้งของกลุ่มที่มีการเติมโพรบิโอติกปริมาณ 3 พีพีเอ็ม มีค่าสูงที่สุดและแตกต่างกับชุดการทดลองที่ให้โพรบิโอติกปริมาณ 2 และ 4 พีพีเอ็ม ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในกุ้งขาวแวนนาไมก่อนหน้านี้ ที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บาซิลลัสในน้ำต่อการอนุบาลลูกกุ้ง พบว่า กลุ่มที่ใช้จุลินทรีย์มีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้จะเนื่องมาจากจุลินทรีย์บาซิลลัสสามารถช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำลดน้อยลง นอกจากนี้จุลินทรีย์บาซิลลัสยังมีคุณสมบัติยึดเกาะกับเยื่อผิวหนังภายในระบบทางเดินอาหารจึงส่งผลให้การเจริญเติบโตที่ได้รับจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตและรอดตายดีกว่ากลุ่มควบคุม (มนทกานต์ และคณะ, 2552; ปาจริย์ และคณะ, 2554) ดังภาพที่ 5 และ 6

ตารางที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน

วัน	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)			
	ชุดการทดลองที่ 1 (กลุ่มควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2 (2 พีพีเอ็ม)	ชุดการทดลองที่ 3 (3 พีพีเอ็ม)	ชุดการทดลองที่ 4 (4 พีพีเอ็ม)
0	0.0035± 0.0002 ^a	0.0034± 0.0002 ^a	0.0035± 0.0003 ^a	0.0035± 0.0002 ^a
10	0.26± 0.07 ^c	0.29± 0.06 ^{bc}	0.31± 0.07 ^b	0.37 ± 0.08 ^a
20	0.51 ± 0.14 ^b	0.57 ± 0.11 ^b	0.53 ± 0.21 ^b	0.74 ± 0.17 ^a
30	0.76 ± 0.20 ^c	0.84 ± 0.07 ^{bc}	0.91 ± 0.21 ^b	1.10 ± 0.25 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

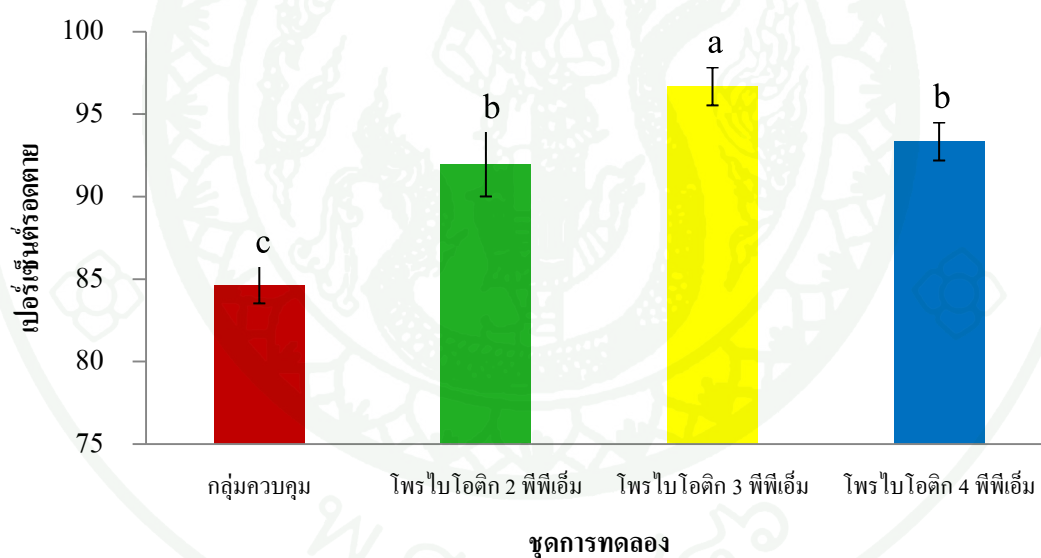


ภาพที่ 5 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน

ตารางที่ 2 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30 วัน

อัตราการรอดตาย (%)	ชุดการทดลอง ที่ 1 (กลุ่มควบคุม)	ชุดการทดลอง ที่ 2 (2 พีพีเอ็ม)	ชุดการทดลอง ที่ 3 (3 พีพีเอ็ม)	ชุดการทดลอง ที่ 4 (4 พีพีเอ็ม)
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน	84.67 $\pm$ 1.15 ^c	92.00 $\pm$ 2.00 ^b	96.67 $\pm$ 1.15 ^a	93.33 $\pm$ 1.15 ^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 6 อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30 วัน

1.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำพบว่าปริมาณแอมโมเนียรวม (TAN) ในชุดการทดลองที่มีการเติมโพไบโอติกลงไปในการเลี้ยงที่ปริมาณ 2, 3 และ 4 พีพีเอ็ม มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมโพไบโอติก ระหว่างการเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 10 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 3) เนื่องจากโพไบโอติกที่เติมลงไปน้ำเป็นแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดมาจากอาหารที่เหลือได้ เพราะสามารถผลิตสารที่สามารถหลั่งออกมาออกเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ได้หลายชนิด (นงลักษณ์ และปรีชา, 2541)

ส่วนกลุ่มที่ไม่มีการเติมโพไบโอติก ระหว่างการเลี้ยงจะเกิดการสะสมของสารอินทรีย์และของเสียเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากปริมาณแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ที่มีอยู่อาจจะไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงทำให้ปริมาณแอมโมเนียสูงกว่า ซึ่งมีการศึกษาจำนวนมากที่พบว่า *Bacillus* spp. มีผลต่อคุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะปริมาณแอมโมเนียรวมและไนไตรท์-ไนโตรเจน (วารุณี, 2549; มนทกานต์ และคณะ, 2552) แต่ในการทดลองนี้ปริมาณไนไตรท์ของกลุ่มที่มีการเติมโพไบโอติกกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมโพไบโอติกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 3 ส่วนค่าพีเอชในกลุ่มที่มีการใช้โพไบโอติกจะมีค่าลดลงเล็กน้อย เนื่องจากจุลินทรีย์จำนวนมากเหล่านี้ใช้ออกซิเจนในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตออกมาซึ่งมีมากกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้ ส่งผลให้พีเอชลดลงเล็กน้อย

จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้โพไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยงกุ้งจะช่วยให้อัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกกุ้งขาวแวนนาไม่ดึกว่ากลุ่มที่ไม่มีการเติมโพไบโอติก นอกจากนี้โพไบโอติกยังสามารถช่วยควบคุมคุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม ซึ่งตลอดระยะเวลาทดลองที่มีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ระหว่างการทดลอง เช่น ปริมาณอาหาร การให้อากาศอย่างเต็มที่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง เมื่อประกอบกับลูกกุ้งที่มีคุณภาพดี การเติมโพไบโอติกที่ปริมาณที่เหมาะสมจึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของน้ำระหว่างเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

วัน	กลุ่ม	Alkalinity (mg/L)	TAN (mg/L)	Nitrite (mg/L)	pH
0	กลุ่มควบคุม	124.97 ± 2.66 ^a	0.061 ± 0.001 ^a	0.060 ± 0.010 ^a	8.05 ± 0.01 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	124.20 ± 2.30 ^a	0.063 ± 0.001 ^a	0.060 ± 0.017 ^a	8.06 ± 0.02 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	124.97 ± 2.66 ^a	0.063 ± 0.002 ^a	0.057 ± 0.021 ^a	8.06 ± 0.03 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	124.20 ± 2.30 ^a	0.060 ± 0.003 ^a	0.033 ± 0.015 ^a	8.07 ± 0.02 ^a
5	กลุ่มควบคุม	122.67 ± 1.33 ^a	0.074 ± 0.008 ^b	1.101 ± 0.014 ^a	7.98 ± 0.11 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	120.37 ± 1.33 ^{ab}	0.076 ± 0.012 ^b	1.043 ± 0.112 ^a	7.71 ± 0.30 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	119.60 ± 2.30 ^{ab}	0.074 ± 0.004 ^b	1.028 ± 0.042 ^a	7.63 ± 0.36 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	118.83 ± 1.33 ^b	0.057 ± 0.002 ^a	1.003 ± 0.028 ^a	7.49 ± 0.38 ^a
10	กลุ่มควบคุม	125.73 ± 3.51 ^a	0.066 ± 0.014 ^b	1.031 ± 0.034 ^a	8.04 ± 0.02 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	124.20 ± 2.30 ^{ab}	0.074 ± 0.043 ^c	0.994 ± 0.049 ^a	8.04 ± 0.02 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	121.13 ± 1.33 ^{bc}	0.019 ± 0.03 ^a	1.020 ± 0.036 ^a	8.04 ± 0.04 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	120.37 ± 1.33 ^c	0.013 ± 0.05 ^a	0.980 ± 0.041 ^a	7.98 ± 0.07 ^a
15	กลุ่มควบคุม	125.73 ± 1.33 ^a	0.073 ± 0.011 ^c	1.096 ± 0.165 ^a	8.09 ± 0.02 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	123.43 ± 1.33 ^{ab}	0.059 ± 0.002 ^b	1.002 ± 0.108 ^a	8.06 ± 0.03 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	121.90 ± 2.30 ^b	0.046 ± 0.007 ^a	1.060 ± 0.049 ^a	8.03 ± 0.05 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	121.13 ± 1.33 ^b	0.065 ± 0.008 ^b	1.077 ± 0.055 ^a	7.99 ± 0.06 ^a
20	กลุ่มควบคุม	126.50 ± 2.30 ^a	0.065 ± 0.010 ^b	0.985 ± 0.140 ^a	8.09 ± 0.02 ^b
	ชุดการทดลองที่ 2	124.97 ± 1.33 ^{ab}	0.036 ± 0.007 ^a	0.956 ± 0.023 ^a	7.53 ± 0.32 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	121.90 ± 2.30 ^{bc}	0.033 ± 0.009 ^a	0.439 ± 0.050 ^a	7.50 ± 0.33 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	118.83 ± 1.33 ^c	0.036 ± 0.014 ^a	0.912 ± 0.065 ^a	7.49 ± 0.33 ^a
25	กลุ่มควบคุม	124.20 ± 2.30 ^a	0.057 ± 0.021 ^b	0.976 ± 0.156 ^a	7.80 ± 0.24 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	123.43 ± 3.51 ^{ab}	0.023 ± 0.008 ^a	0.925 ± 0.008 ^a	7.60 ± 0.35 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	118.83 ± 2.66 ^{bc}	0.026 ± 0.005 ^a	0.931 ± 0.073 ^a	7.57 ± 0.40 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	116.53 ± 1.33 ^c	0.033 ± 0.010 ^a	0.912 ± 0.075 ^a	7.57 ± 0.39 ^a
30	กลุ่มควบคุม	125.73 ± 1.33 ^a	0.060 ± 0.022 ^b	0.980 ± 0.136 ^a	7.85 ± 0.05 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	124.20 ± 2.30 ^{ab}	0.030 ± 0.007 ^a	0.939 ± 0.013 ^a	7.79 ± 0.03 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	120.37 ± 3.51 ^{bc}	0.028 ± 0.003 ^a	0.907 ± 0.026 ^a	7.74 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	117.30 ± 2.30 ^c	0.036 ± 0.010 ^a	0.890 ± 0.028 ^a	7.75 ± 0.06 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำหนดด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ผลของการเปลี่ยนถ่ายน้ำฝนในปริมาณต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของ ลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2.1 ผลการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

หลังสิ้นสุดการทดลอง พบว่า อัตราการเจริญเติบโตในชุดการทดลองที่ 2 ที่เติมโพไบโอติกในปริมาณ 4 พีพีเอ็ม เปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำความเค็ม 25 พีพีที เมื่อเปลี่ยนถ่ายน้ำในถังเลี้ยงกุ้งทุกๆ 5 วัน จะมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 1.10 กรัม (ภาพที่ 7) รองลงมาคือ กุ้งในชุดการทดลองที่ 3 และ 4 ซึ่งมีการใช้จุลินทรีย์ในอัตรา 4 พีพีเอ็ม แต่มีการใช้น้ำฝนในอัตรา 30 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 1.01 และ 0.96 กรัม ตามลำดับ สำหรับกุ้งในกลุ่มควบคุมจะมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 0.86 กรัม ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 8

เมื่อพิจารณาถึงอัตราการรอดตายของกุ้งพบว่า กุ้งในกลุ่มที่ใช้น้ำเค็ม 25 พีพีทีในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง กลุ่มทดลองที่ 2 และกลุ่มควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดตาย 92.56 และ 91.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สูงกว่ากลุ่มทดลองที่ 3 ที่ใช้น้ำฝนในการเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตรา 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตาย 86.67 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มทดลองที่ 4 ซึ่งใช้น้ำฝนในการเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตรา 40 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการรอดตายเพียง 73.33 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 9 เนื่องจากน้ำฝนที่ใช้ในการเปลี่ยนถ่ายมีพีเอชเพียง 6.8 และความเป็นด่างเพียง 5 พีพีเอ็ม และไม่มีค่าความเค็มเลย ดังนั้นการเปลี่ยนถ่ายด้วยน้ำฝนจึงทำให้ความเค็มของน้ำที่เลี้ยงกุ้งลดลงเรื่อยๆ เช่นเดียวกับพีเอชและความเป็นด่าง (ตารางที่ 6) เมื่อพีเอชลดลงจะมีผลทำให้กุ้งลอกคราบมากกว่าปกติ ดังนั้นในกลุ่มที่มีการเปลี่ยนถ่ายด้วยน้ำฝนในปริมาณมาก ได้แก่ชุดการทดลองที่ 3 และ 4 กุ้งจึงมีอัตราการรอดตายต่ำกว่ากลุ่มที่พีเอชอยู่ในระดับที่ปกติ เนื่องจากกุ้งที่ลอกคราบบางส่วนอาจจะอ่อนแอ และตายในเวลาต่อมา หรือถูกกุ้งที่แข็งแรงกว่ากินในขณะที่เปลือกยังไม่แข็งหลังจากการลอกคราบ

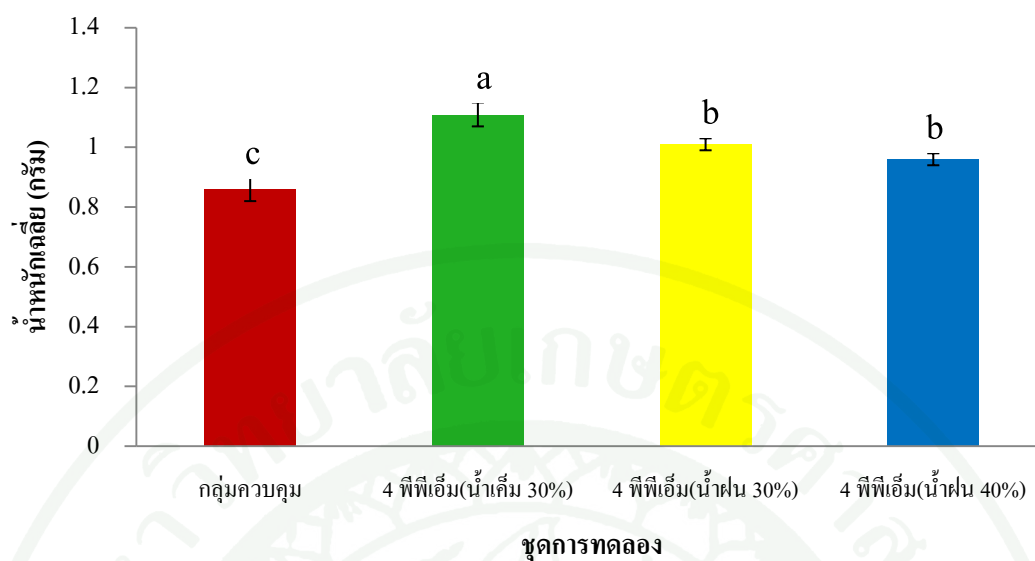
ตารางที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน

วัน	น้ำหนัก (กรัม)			
	ชุดการทดลองที่ 1 (กลุ่มควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
0	0.0035 ± 0.0002^a	0.0034 ± 0.0002^a	0.0035 ± 0.0003^a	0.0035 ± 0.0002^a
30	0.86 ± 0.04^c	1.11 ± 0.04^a	1.01 ± 0.02^b	0.96 ± 0.02^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 7 อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากเวลาการเลี้ยง 30 วัน

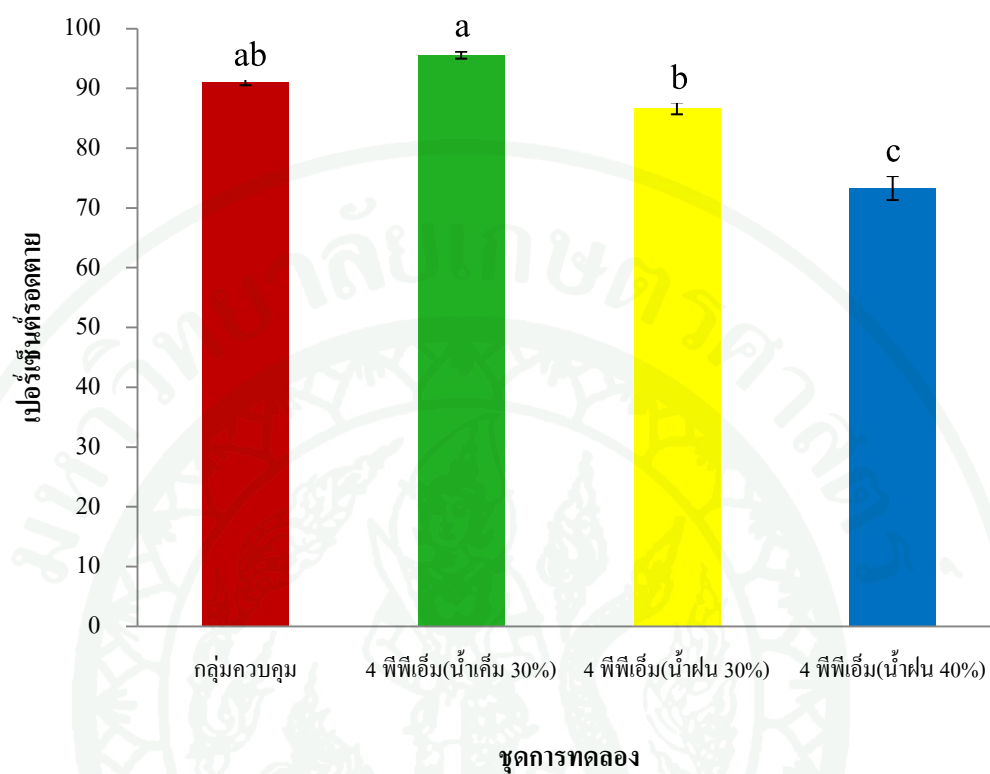


ภาพที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยของกิ่งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30 วัน

ตารางที่ 5 อัตราการรอดตายของกิ่งขาวแวนนาไมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30 วัน

อัตราการรอดตาย (%)	ชุดการทดลอง ที่ 1 (กลุ่มควบคุม)	ชุดการทดลอง ที่ 2	ชุดการทดลอง ที่ 3	ชุดการทดลอง ที่ 4
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	91.11 ± 0.58^{ab}	92.56 ± 0.58^a	86.67 ± 1.00^b	73.33 ± 2.00^c

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 9 อัตราการรอดตายของกล้วยไม้น้ำในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง หลังจากการเลี้ยง 30 วัน

2.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

จากผลการศึกษาคุณภาพน้ำพบว่าปริมาณแอมโมเนียรวม ในชุดการทดลองทั้ง 3 ชุด การทดลองที่มีการเติมโพโรไบโอติกในอัตรา 4 พีพีเอ็ม ลงไปในน้ำระหว่างการเลี้ยงจะมีค่าต่ำกว่า กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมโพโรไบโอติก ตั้งแต่เลี้ยงกุ้งไปแล้ว 10 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองแรก ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนในน้ำของทุกชุดการทดลองจะไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 6

เมื่อพิจารณาความเค็ม ค่าความเป็นด่าง และพีเอชของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง พบว่า ความเค็ม ความเป็นด่าง และพีเอชของน้ำในกลุ่มที่ใช้ น้ำเค็ม 25 พีพีเอ็ม (ทั้งกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมจุลินทรีย์โพโรไบโอติกและ ชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเติมจุลินทรีย์โพโรไบโอติก 4 พีพีเอ็ม) ในการเปลี่ยนถ่ายทุกๆ 5 วัน ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก โดยความเค็มในทั้งสองกลุ่มยังคงอยู่ที่ 25 พีพีเอ็ม ส่วนความเป็นด่างตลอดการทดลองของทั้งสองกลุ่มนี้จะมีค่าประมาณ 120-127 พีพีเอ็ม และพีเอชระหว่าง 7.9-8.2 เนื่องจากน้ำเค็มที่ใช้เปลี่ยนถ่ายน้ำในระหว่างการศึกษามีความเป็นด่างประมาณ 120 พีพีเอ็ม และมีพีเอช 8.0 ± 0.1 ทำให้ค่าคุณภาพน้ำทั้งสองกลุ่มดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลง ส่งผลทำให้อัตราการรอดตายของกุ้งทั้งสองชุดการทดลองนี้สูงกว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ 3 และ 4 มาก สำหรับความเค็ม ความเป็นด่าง และพีเอชของน้ำในชุดการทดลองที่ใช้ น้ำฝนในการเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตรา 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 3 และ 4) จะพบการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมาก โดยพบว่าความเค็ม ความเป็นด่าง และพีเอชของน้ำทั้งสองชุดการทดลองนี้ลดลงเรื่อยๆ จากเริ่มการทดลอง มีค่าความเค็ม 25 พีพีเอ็ม ความเป็นด่างประมาณ 121-124 พีพีเอ็ม และมีพีเอช ระหว่าง 8.0-8.2 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าความเค็มเหลือเพียง 0-2 พีพีเอ็ม ความเป็นด่างเหลือ 64-72 พีพีเอ็ม และพีเอชของน้ำอยู่ในช่วง 7.3-7.5 เท่านั้น เนื่องจากน้ำฝนซึ่งความเป็นด่างต่ำมากหรือเกือบจะเป็นศูนย์และพีเอชต่ำเพียง 6.8 เมื่อเติมเข้าไปในระหว่างการเลี้ยงเป็นระยะๆ ตลอดการเลี้ยงนาน 30 วัน จะมีผลทำให้คุณสมบัติของน้ำที่กล่าวไปแล้วลดลงตามระยะเวลาในการเลี้ยง ดังแสดงในตารางที่ 6

ปริมาณน้ำฝนที่ตกลงไปในบ่อเลี้ยงกุ้งอย่างต่อเนื่องในช่วงเวลาที่มีฝนตกติดต่อกัน หลายวันจะทำให้ความเป็นด่างหรืออัลคาไลน์ และพีเอชลดลง ถ้าเกษตรกรไม่เติมวัสดุปูนเพื่อควบคุมค่าพีเอชและความเป็นด่างจะส่งผลโดยตรงต่อการลอกคราบและการสร้างเปลือกของกุ้ง เพราะเมื่อค่า พีเอชของน้ำลดลงต่ำกว่า 7.5 จะส่งผลทำให้เปลือกกุ้งมีสภาพเป็นกรด แร่ธาตุต่างๆ

จากเปลือกกุ้งจะถูกดูดซึมกลับเข้าไปในเลือดและส่งไปเก็บไว้ในตับและตับอ่อนของกุ้งตามกลไกการลอกคราบของกุ้ง ในขณะที่ค่าความเป็นด่างที่ต่ำลงจะส่งผลโดยตรงต่อการลอกคราบของกุ้ง ทำให้กุ้งมีแร่ธาตุไม่เพียงพอต่อการลอกคราบ กุ้งจะทยอยตายอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งพบว่ากุ้งในกลุ่มทดลองที่มีการเติมน้ำฝนลงไปในถังทุกๆ 5 วัน จะมีอัตราการรอดตายต่ำกว่ากุ้งในกลุ่มที่มีการเติมน้ำเค็มอย่างชัดเจนโดยเฉพาะกุ้งในกลุ่มการทดลองที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำฝนเข้าไปในถังในปริมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งที่เกิดขึ้นจริงในบ่อเลี้ยงของเกษตรกรจะพบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งในการศึกษานี้จะสูงกว่าอัตราการรอดตายจริงของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อเลี้ยงจริงในช่วงฤดูฝน เนื่องจากในห้องปฏิบัติการมีการควบคุมปริมาณออกซิเจนให้อยู่ในระดับที่สูงตลอดเวลา และอุณหภูมิของน้ำที่ใช้เติมน้ำในถังทดลองก็มีค่าไม่แตกต่างกันคือประมาณ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ไม่เหมือนกรณีที่เกิดฝนตกหนักในสภาพการเลี้ยงจริงเพราะน้ำฝนจะมีอุณหภูมิต่ำประมาณ 24-25 องศาเซลเซียส เมื่อตกลงไปในบ่อเลี้ยงมากอย่างต่อเนื่องจะทำให้อุณหภูมิของน้ำลดลงมาก กุ้งจะกินอาหารลดลงอ่อนแอ และติดเชื้อโรคต่างๆ ที่มีอยู่เป็นจำนวนมากในบ่อเลี้ยง ทำให้กุ้งมีอัตราการตายสูงมาก นอกจากนี้ความเป็นด่างที่ต่ำมาก (ต่ำกว่า 80 พีพีเอ็ม) ในบ่อเลี้ยงที่มีปริมาณแพลงก์ตอนพืชมากจะส่งผลทำให้ค่าพีเอชของน้ำในรอบวันเปลี่ยนแปลงมากกุ้งต้องปรับตัวมาก ร่างกายจะอ่อนแอและมีโอกาสติดเชื้อต่างๆ ได้ง่าย ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การใช้จุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* ในการเลี้ยงกุ้งจะสามารถลดปริมาณแอมโมเนียรวม ในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และจะไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของกุ้ง ถ้าหากกุ้งมีความแข็งแรงมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในระดับสูงตลอดเวลา โดยเฉพาะพีเอชของน้ำอยู่ในระดับที่เหมาะสมใกล้เคียงกับทะเล (8.0 ± 0.2) ในขณะที่ปริมาณน้ำฝนที่ลงไปบ่อเลี้ยงในปริมาณมากจะส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อ ทำให้พีเอชและความเป็นด่างลดลง มีผลทำให้อัตราการรอดตายของกุ้งลดลง ดังนั้นในกรณีที่เกิดฝนตกอย่างต่อเนื่อง เกษตรกรจำเป็นต้องเปิดเครื่องให้อากาศอย่างเต็มที่เพื่อให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอย่างเพียงพอ ควรมีการเติมวัสดุปูนเพื่อรักษาระดับพีเอชของน้ำไม่ให้ต่ำกว่า 7.8 ในตอนเช้า และความเป็นด่างของน้ำให้สูงกว่า 100 พีพีเอ็ม นอกจากนี้ควรมีการเติมแร่ธาตุเป็นระยะๆ เพื่อป้องกันการตายของลูกกุ้งหลังจากการลอกคราบวิธีการดังกล่าวนี้จะช่วยลดปัญหากุ้งตายในช่วง 30 วันแรกของการเลี้ยงได้มาก

ตารางที่ 6 คุณสมบัติของน้ำระหว่างเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

วัน	กลุ่มทดลอง	Alkalinity (mg/L)	TAN (mg/L)	Nitrite (mg/L)	pH	Salinity (ppt.)
0	กลุ่มควบคุม	120.37 ± 1.33 ^a	0.031 ± 0.003 ^a	0.058 ± 0.003 ^a	8.07 ± 0.02 ^a	25.0 ± 0.00 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	121.13 ± 1.33 ^a	0.030 ± 0.002 ^a	0.060 ± 0.001 ^a	0.08 ± 0.03 ^a	25.0 ± 0.00 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	121.13 ± 1.33 ^a	0.031 ± 0.002 ^a	0.058 ± 0.002 ^a	8.07 ± 0.02 ^a	25.0 ± 0.00 ^a
	ชุดการทดลองที่ 4	120.37 ± 2.66 ^a	0.032 ± 0.002 ^a	0.058 ± 0.002 ^a	8.05 ± 0.02 ^a	25.0 ± 0.00 ^a
5	กลุ่มควบคุม	127.27 ± 3.51 ^a	0.048 ± 0.007 ^a	0.110 ± 0.028 ^a	8.05 ± 0.03 ^a	25.0 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	126.50 ± 2.30 ^a	0.056 ± 0.003 ^{ab}	0.183 ± 0.019 ^b	8.05 ± 0.01 ^a	25.0 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	124.20 ± 2.30 ^a	0.062 ± 0.002 ^{bc}	0.233 ± 0.013 ^c	8.03 ± 0.02 ^{ab}	19.2 ± 0.10 ^b
	ชุดการทดลองที่ 4	122.67 ± 1.33 ^a	0.064 ± 0.003 ^c	0.272 ± 0.015 ^d	7.99 ± 0.03 ^b	17.3 ± 0.06 ^c
10	กลุ่มควบคุม	128.80 ± 2.30 ^a	0.053 ± 0.002 ^a	0.385 ± 0.057 ^a	8.15 ± 0.02 ^a	25.1 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	125.73 ± 2.66 ^a	0.055 ± 0.002 ^{ab}	0.630 ± 0.052 ^b	8.07 ± 0.03 ^b	25.0 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	120.37 ± 2.66 ^b	0.059 ± 0.003 ^{bc}	0.780 ± 0.010 ^c	8.05 ± 0.01 ^b	13.0 ± 0.06 ^b
	ชุดการทดลองที่ 4	118.07 ± 3.51 ^b	0.062 ± 0.003 ^c	0.897 ± 0.016 ^d	7.99 ± 0.02 ^c	9.2 ± 0.06 ^c
15	กลุ่มควบคุม	128.03 ± 2.66 ^a	0.066 ± 0.003 ^a	0.568 ± 0.045 ^a	8.13 ± 0.01 ^a	25.1 ± 0.00 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	124.97 ± 1.33 ^a	0.072 ± 0.002 ^b	0.693 ± 0.127 ^{ab}	8.09 ± 0.01 ^b	25.1 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	117.30 ± 2.30 ^b	0.073 ± 0.004 ^b	0.762 ± 0.035 ^b	8.05 ± 0.01 ^c	7.3 ± 0.10 ^b
	ชุดการทดลองที่ 4	114.23 ± 1.33 ^b	0.080 ± 0.002 ^c	0.968 ± 0.008 ^c	7.96 ± 0.01 ^d	4.1 ± 0.06 ^c
20	กลุ่มควบคุม	125.73 ± 3.51 ^a	0.080 ± 0.002 ^a	0.700 ± 0.156 ^a	8.05 ± 0.01 ^a	25.0 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	122.67 ± 3.51 ^a	0.079 ± 0.001 ^a	0.923 ± 0.013 ^b	8.00 ± 0.01 ^b	25.0 ± 0.00 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	112.70 ± 2.30 ^b	0.078 ± 0.001 ^a	0.948 ± 0.019 ^b	7.94 ± 0.04 ^c	5.1 ± 0.10 ^b
	ชุดการทดลองที่ 4	107.33 ± 1.33 ^c	0.079 ± 0.002 ^a	0.983 ± 0.013 ^b	7.84 ± 0.03 ^d	1.2 ± 0.06 ^c
25	กลุ่มควบคุม	126.50 ± 2.30 ^a	0.043 ± 0.003 ^a	0.922 ± 0.015 ^a	7.73 ± 0.02 ^a	25.1 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	121.90 ± 2.30 ^a	0.044 ± 0.004 ^{ab}	0.935 ± 0.005 ^a	7.75 ± 0.05 ^a	25.1 ± 0.00 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	81.27 ± 3.51 ^b	0.049 ± 0.002 ^{bc}	0.938 ± 0.029 ^a	7.61 ± 0.01 ^b	3.3 ± 0.06 ^b
	ชุดการทดลองที่ 4	78.97 ± 1.33 ^b	0.053 ± 0.003 ^c	1.088 ± 0.032 ^b	7.55 ± 0.01 ^c	0.0 ± 0.00 ^c
30	กลุ่มควบคุม	127.27 ± 1.33 ^a	0.054 ± 0.003 ^a	0.792 ± 0.025 ^a	7.64 ± 0.02 ^a	25.0 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 2	124.20 ± 1.33 ^a	0.056 ± 0.002 ^{ab}	1.160 ± 0.020 ^b	7.62 ± 0.03 ^a	25.1 ± 0.06 ^a
	ชุดการทดลองที่ 3	72.83 ± 1.33 ^b	0.057 ± 0.003 ^{ab}	1.567 ± 0.109 ^c	7.56 ± 0.01 ^b	2.0 ± 0.06 ^b
	ชุดการทดลองที่ 4	64.40 ± 2.30 ^c	0.059 ± 0.002 ^c	1.933 ± 0.013 ^d	7.54 ± 0.02 ^b	0.0 ± 0.00 ^c

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำหนดด้วยอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

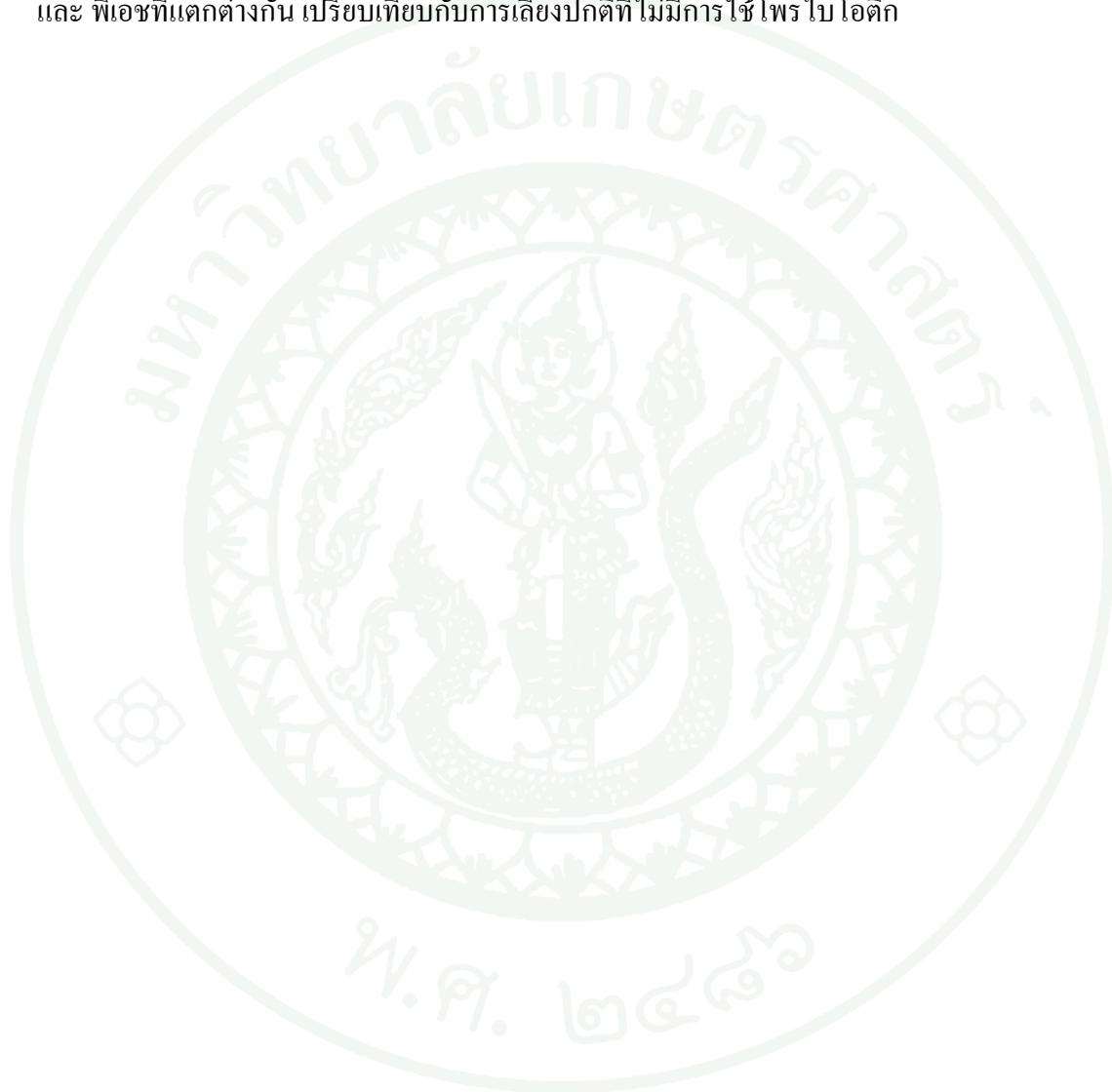
สรุปผล

1. จากผลของการใช้โพรวไอบไอดิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาว่า 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่า ปริมาณโพรวไอบไอดิก 3 พีพีเอ็ม ที่ใช้เติมลงไประหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาว่า 10 (พี 10) ลูกกุ้งมีอัตราการรอดตายสูงสุด และมีน้ำหนักใกล้เคียงกับกุ้งที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด และค่าแอมโมเนียรวมของกลุ่มที่มีการเติมโพรวไอบไอดิกในทุกความเข้มข้นมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

2. จากผลของปริมาณน้ำฝนและโพรวไอบไอดิกต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาว่า 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่า ลูกกุ้งในกลุ่มทดลองที่มีการเติมโพรวไอบไอดิก 4 พีพีเอ็ม และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้น้ำความเค็ม 25 พีพีที ระหว่างการเลี้ยง ลูกกุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการรอดตายและมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด และค่าความเป็นด่างและค่าพีเอชของน้ำในกลุ่มที่ใช้น้ำเค็ม 25 พีพีที (ทั้งกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมจุลินทรีย์โพรวไอบไอดิกและ ชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเติมจุลินทรีย์โพรวไอบไอดิก 4 พีพีเอ็ม) มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 3 และ 4 (เติมจุลินทรีย์โพรวไอบไอดิก 4 พีพีเอ็ม และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ปริมาณ 30, 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาถึงรูปแบบการใช้โพไบโอติกอย่างเหมาะสมในสภาวะต่างๆ ในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอัตราการปล่อยลูกกุ้งในระดับต่างๆ กัน รวมทั้งคุณภาพน้ำ ได้แก่ ความเค็ม และ พีเอชที่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการใช้โพไบโอติก



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. 2546. ระเบียบและการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงกุ้ง
ก้ามกรามตามมาตรฐาน จี เอ พี พ.ศ. 2546. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรม
ประมง, กรุงเทพฯ. 102 น.

กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. โครงการประเมินผลกระทบการนำกุ้งขาว
(*Penaeus vannamei*) เข้าประเทศไทย. หน่วยวิจัยเพื่อความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพกุ้ง,
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 220 น.

กรรณวิท รุจิวัฒน์ และ คำธณ ไวยครุฑา. 2546. การตรวจคุณภาพลูกกุ้งโดยวิธี “ไบโอเทคແປ”
น. 271-280. ใน สุรศักดิ์ คีตกเกียรติ. กุ้งไทยก้าวใหม่สู่หนึ่งในผู้นำโลกอย่างยั่งยืน. โรง
พิมพ์ก.พล, กรุงเทพฯ.

ขจिनานาญ โพธิเวชกุล, สุมาลี เหลืองสกุล และ สมใจ ศิริโชค. 2540. การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อใช้
ผลิตเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอสและไลเปส. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์,
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

คณินิจ ก่อธรรมฤทธิ์. 2541. การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพการผลิต การใช้และ
ความต้องการ Probiotic ของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์. กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์.
กรมปศุสัตว์. กรุงเทพฯ. 40 น.

จันทสิงห์ ดวงบ้านเช่า. 2544. การใช้แบคทีเรียเพื่อการจัดคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ใน
ตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

จิราพร สิงห์พันธ์. 2547. ผลของ Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus
(IHHNV) ต่อการเจริญเติบโตและการรอดของกุ้งขาวแปซิฟิก (*Litopenaeus vannamei*;
Boone, 1931). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลอ ลัมสุวรรณ และ พรเลิศ จันทรรักษ์กุล. 2547. **อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.**

สนับสนุนการจัดพิมพ์โดยคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติเพื่อเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชเนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 5 ธันวาคมพ.ศ. 2547. บริษัท เมจิพับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ. 206 น.

_____, นิติ ชูเชิด, สาริต ประเสริฐศรี, แก้วตา ลัมแสง และจริยวดี สุริยพันธุ์. 2551. **การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในฤดูฝน.** เอกสารเผยแพร่ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 15 น.

_____, _____, วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล, ทศนิษฐ์ นวลชัย, เกศินี หลายสุทธีสาร, ปาจริย์ จื่อเหลียง, ชารทิพย์ ภาอำไพพร และมนทกานต์ สมบูรณ์. 2555. **ความสำคัญของออกซิเจนในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม.** เอกสารเผยแพร่ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 15 น.

_____, _____, นฤมล รัตนขันแสง, มณฑกานต์ สมบูรณ์, ปาจริย์ จื่อเหลียง, ชารทิพย์ ภาอำไพพร และจิราภรณ์ พรหมชัยรัตน์. 2556. **ผลของปริมาณน้ำฝนต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*).** เอกสารเผยแพร่ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 15 น.

ชลิต โนระดี. 2535. **ผลของแบคทีเรียต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อซีเมนต์เลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีพื้นเป็นดินเหนียว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิตยา ยัมเจริญ, นนทวิทย์ อารีย์ชน, ชุมพล ศรีทอง และนิติ ชูเชิด. 2549. **การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius), น. 214-228. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาประมง), 30 มกราคม – 2 กุมภาพันธ์ 2549.**

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

บรรจง เทียนสังข์ศรี. 2542. เทคโนโลยีการเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังศตวรรษที่ 20. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

ปาจริย์ จื่อเหลียง. 2554. การใช้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ในการควบคุมแบคทีเรียก่อโรค *Vibrio harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____, ชลอ ลีมสุวรรณ, นิติ ชูเชิด และ พรเลิศ จันทรรักษ์กุล. 2554. ผลของแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส (*Bacillus spp.*) ในการควบคุม *Vibrio harveyi* และอัตราการรอดในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในห้องปฏิบัติการ.). เรื่องเติมการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 49 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2546. ศาสตร์ของกุ้งขาวลิทอพีเนียส แวนนาไม. สัตว์น้ำ 14 (161): 109 - 112.

เปรมสุดา สมาน. 2539. จุลินทรีย์สำหรับน้ำเสียที่เกิดจากการเลี้ยงกุ้งทะเล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

พุทธ ส่องแสงจินดา. 2544. การจัดการสารประกอบไนโตรเจนและออกซิเจนในฟาร์มเลี้ยงกุ้งระบบปิด. กลุ่มวิจัยวิศวกรรมการเพาะเลี้ยงและสิ่งแวดล้อม. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย. กรมประมง, สงขลา.

มนทกานต์ สมบูรณ์. 2552. ผลของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรียไวรัสโอ (*Vibrio spp.*) และคุณภาพน้ำในการอนุบาลลูกกุ้งและการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนทกานต์ สมบูรณ์, ชลอ ล้อมสุวรรณ, นิติ ชูเชิด และ พรเลิศ จันทรรักษ์กุล. 2552. ผลของการใช้ จุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* ที่แตกต่างกัน 3 กลุ่มต่อแบคทีเรีย *Vibrio* spp.) คุณภาพน้ำ และอัตราการรอดตายในการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). **เรื่องเต็ม การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เล่มที่ 4 สาขาประมง.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มะลิ บุญยรัตผลิน. 2531. **อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ.** สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรม ประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ยนต์ มุสิก. 2529. **การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม.** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 146 น.

_____. 2539. **คุณภาพน้ำและกำลังผลิตของบ่อปลา.** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 180 น.

เรืองลักษณ์ จามิกรณ์. 2535. **ชีวเคมีเบื้องต้น.** มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ.

รัตนาวดี ทับทิม. 2535. **แบคทีเรียที่ช่วยย่อยสลายเศษอาหารในนากุ้ง.** ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะ วิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ลิลา เรืองแป้น, วารินทร์ ชนาสมหวัง และ กุลวรา แสงรุ่งเรือง. 2540. **แบคทีเรียในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยง ในบ่อระบบพัฒนา, น. 3-10. ในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35, 3-5 กุมภาพันธ์ 2540.**

วรรณพร สู้สกุล. 2550. **ผลของโพรไบโอติก (*Lactobacillus* spp.) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรวิทย์ ชีวาพร. 2531. **คุณภาพน้ำ-ดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. น. 171-182. ใน การเพาะเลี้ยงกุ้ง กุลาดำ. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, ชลบุรี.**

วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล. 2549. การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วารุณี แซ่เอี้ย. 2549. ผลของการใช้จุลินทรีย์ *Bacillus* sp. ต่อคุณภาพน้ำและผลผลิตกุ้งกุลาดำในการเลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิจิตรา ถีละสุกกุล และ สมหมาย เชี่ยววาริสังจะ. 2541. การศึกษาเบื้องต้นการใช้จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพเพื่อบำบัดน้ำและควบคุมในการเพาะเลี้ยงกุ้ง. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเภทกำหนดหัวข้อประจำปี 2541.

ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร. 2543. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 125 น.

ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์, ศิริเพ็ญ สังข์ชัย และ พิศมัย โพธิ์เวชกุล. 2547. การเสริมโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ, น. 96-109. ใน สัมมนาเผยแพร่ผลงานวิจัย เรื่อง การวิจัยเพื่อแก้ปัญหาอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งของประเทศไทย. กองโครงการและประสานงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย. 2555. สรุปสถิติการส่งออก-นำเข้าเปรียบเทียบเดือนมกราคม-ธันวาคม 2011. แหล่งที่มา : <http://www.thai-frozen.or.th>. 27 กันยายน 2555.

สมาน ภูจิ. 2538. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีและแบคทีเรียที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมเจตน์ จันทวัฒน์, ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา, จงรัก จันทร์เจริญสุข, วิโรจน์ อัมพัทธ์ และ อัญชลี สุทธิปรากร. 2529. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยา, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 117 น.

สรรเสริญ ช่อเจียง และ ทวี โรจนสารัมภกิจ. 2539. การศึกษาการเจริญเติบโตและผลผลิตการเลี้ยง กุ้งกุลาดำในบ่อดินโคลนใช้จุลินทรีย์ (*Bacillus subtilis*). เอกสารวิชาการฉบับที่ 11/2539. สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา, กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สิทธิ แดงสกุล และลิตา เรืองแป้น. 2541. ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกที่ผลิตจาก *Bacillus* เพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง. 5(5): 446-455.

สิริ ทุกขัวินาศ. 2528. วิเคราะห์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา กรมประมง, สงขลา. 157 น. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 4/2528.

สุธี เกื้อเกตุ. 2543. การสะสมและกระจายของไอออนจากน้ำทะเลในแหล่งเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เขตน้ำจืด: กรณีศึกษาที่บ้านสร้าง จังหวัดปราจีนบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2552. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน: บทบาทของ จุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 308 หน้า.

อัครเดช แก้ววิเชียร. 2545. โปรไบโอติก: ทางเลือกเพื่อแก้ปัญหาการตกค้างยาต้านจุลชีพในกุ้ง. **Lab. TODAY (4): 37-40.**

APHA, AWWA and WEF. 1995. **Standard Methods for the Examination Water and Wastewater**. 20th ed. United Book Press, Maryland.

Balcázar, J.L., T. Rojas-Luna and D.P. Cunningham. 2007. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. **J. Inver Pathol.** 96: 147-150.

- Bernet, M.F., D. Brassart, J.R. Neeser and A.L. Servin. 1994. *Lactobacillus acidophilus* LA1 binds to cultured human intestinal cells and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. **Gut** 35: 483-489.
- Blomberg, L., A. Henriksson and P.L. Conway. 1993. Inhibition of adhesion of *Escherichia coli* K88 to piglet ileal mucus by *Lactobacillus* spp. **Environ. Microbiol.** 59: 34-39.
- Boyd, C.E. 1982. **Water Quality Management for Fish Pond Culture**. Elsevier Sci. Publ. Co., Amsterdam, Netherlands.
- _____. 1987. **Evaluation of Water Quality and Water Quality Management Techniques for Brackishwater Aquaculture in Pond in Thailand**. Report for the Asian Development Bank, Manila, Phillippines. 29 p.
- _____. 1989. **Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming Series 2**. Fisheries and Allied Aquaculture Department, Auburn University, Auburn, Alabama.
- _____. and C.S. Tucker. 1998. **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts.
- Brock, J.A. and K. Main. 1994. **A Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured *Penaeus vannamei***. Publication by the Oceanic Institute, Makapu point, Honolulu, HI, USA.
- Brockway, D.R. 1995. Metabolic products and their effect. **Prog -Fish-Cult.** 12: 127-129.
- Bruno, M. E. C. and T. J. Montville. 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 59: 3003-3010.

- Buchanan, R.E., N.E. Gibbons, S.T. Cowan, J.G. Holt, J. Liston, R.G.E. Murray, C.F. Niven, A.W. Rawlin and R.Y. Stanier. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8th ed. The William and Wikins Co., Baltimore.
- Carlisle, D.B. and P.F.R. Dohrn. 1953. Studies on *Lysmata seticaudata* Risso (Crustacea, Cecapoda). II. Experimental evidence for a growth-and moult-accelerating factor obtainable from eyestalks. **Pubbl. Staz. Zool. Napoli**. **24**: 69-83.
- Chen, H.C. 1985. Water quality criteria for farming the grass shrimp *Penaeus monodon*. **Proceeding of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawn/Shrimp. 4-7 December 1981**, SEAFDEC, Iloilo, Philippines.
- Cuzon, G., A. Lawrence., G. Gaxiola., C. Rosas and J. Guillaume. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. **Aquaculture**. **235** : 513-551.
- Dalmin, G., K. Kathiresan and A. Purushothaman. 2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. **Indian J. Exp. Biol.** **39**: 939-942.
- Dore, I. and C. Frimodt. 1987. **An Illustrated Guide to Shrimp of the World**. Osprey Books, Huntington, NY, USA.
- Fieber, L.A. and P.L. Lutz. 1982. Calcium requirements for molting in *Macrobrachium rosenbergii*. **J. World Maricul. Soc.** **13**:21-27.
- Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals : A review. **J. Appl. Bacteriol.** **66** : 365-378.
- _____. 1992. **Probiotics**. The Scientific Basis. Chapman and Hall, London.

- Gram, L., J. Melchiorson, B. Spanggaard, I. Huber and T. Nielsen. 1999. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* strain AH2-a possible probiotic treatment of fish. **Appl. Environ. Microbiol.** 65: 969-973.
- Guillavme, J., S. Kavshik., P. Bergot and R. Me'tailler. 2001. **Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans.** Peaxis Publishing Ltd, Chichester, UK.
- Gullian, M., F. Thompson and J. Rodriguez. 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.** 233: 1-14.
- Hampson, B. L. 1976. Ammonia concentration in relation to ammonia toxicity during a rainbow trout rearing experiment in a closed freshwater-seawater system. **Aquaculture** 9: 61-70.
- Havenaar, R. and J.H.J. Huis in't Veld. 1992. Probiotics: a general views. PP. 151-170. *In* B.J.W. Wood ed. **The Lactic Acid Bacteria in Health and Diseases.** London: Elsevier Applied Science.
- Holthuis, L.B. 1980. Shrimp and prawns of the world: An annotated catalogue of species of interest to fisheries. **FAO Fisheries Synopsis** 125: 152-271.
- Krovacek, K., A. Faris, W. Ahne and I. Mansson. 1987. Adhesion of *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio anguillarum* to fish cells and to mucus coated glass slides. **FEMS Microbiol. Lett.** 42: 85-89.
- Lakshmanan, R. and P. Soundarapandian. 2008. Effect of commercial probiotics on large scale culture of black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). **Res. J. Microbiol.** 3(3): 198-203.
- Lawson, T. B. 1995. **Fundamentals of Aquaculture Engineering.** Chapman & Hall. New York.

- Lemos, M.L., C.P. Dopazo, A.E. Toranzo and J.L. Barja. 1991. Competitive dominance of antibiotic producing marine bacteria in mixed cultures. **J. Appl. Bacteriol.** 71: 228-232.
- Li, J. and B. Tan. 2009. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture** 291: 35-40.
- Li, K., T. Zheng, Y. Tain, F. Xi, J. Yuan, G. Zhang and H. Hong. 2007. Beneficial effects of *Bacillus licheniformis* on the intestinal microflora and immunity of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Biotechnol. Lett.** 29: 525-530.
- Maeda, M., K. Nogami, M. Kanematsu and K. Hirayama. 1997. The concept of biological control methods in aquaculture. **Hydrobiologia** 358: 285-290.
- Martinez-Cordora, L.R., M.A. Porchas-Cornejo, H. Villarreal-Colemnares, J.A. Calderon-Perez and J. Naranjo-Paramo. 1998. Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone, 1931 in low water exchange ponds. **Aquac. Eng.** 17: 21-28.
- Montes, A.J. and D.G. Pugh. 1993. The use of probiotics in food-animal practice. **Vet. Med.** 88: 282-288.
- Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. **Aquaculture** 164: 351-358.
- Olsson, J.C., A. Westerdahl, P. 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.

- Onarheim, A.M. and J. Raa. 1990. Characteristics and possible biological significance of an autochthonous flora in the intestinal mucosa in sea-water fish, pp. 197-201. *In* R. L. Sel, ed. **Microbiology in Poecilotherms**. Proceedings of the International Symposium on Microbiology in Poecilotherms. Elsevier Science Publishers B.V., Paris, France.
- Perez Farfante, I. and B. Kensley. 1997. **Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World: Keys and Diagnoses for the Families and Genera**. Memories du Museum National. Paris, France.
- Pybus, V., M.W. Loutit, I.L. Lamont and J.R. Tagg. 1994. Growth inhibition of the salmon pathogen *Vibrio ordalii* by a siderophore produced by *Vibrio anguillarum* strain VL4335. **J. Fish Dis.** 17: 311-324.
- Rajinikanth, T., P. Ramasamy and V. Ravi. 2010. Efficacy of probiotics, growth promoters and disinfectants in shrimp grow out farms. **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.** 7(3): 347-354.
- Reid, R.T., D.H. Live, D.J. Faulkner and A. Butler. 1993. A siderophore from a marine bacterium with an exceptional ferric ion affinity constant. **Nature**. 366: 455-458.
- Rengpipat, S., S. Rukpratanporn, S. Piyatirativarakul and P. Menasveta. 1998a. Probiotic in aquaculture: A case study of probiotics for larvae of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). pp. 177-181. *In* T.W. Flegel, ed. **National Center for Genetic Engineering and Biotachnology**. Advance in Shrimp Biotechnology, Bangkok.
- _____, W. Phianphak., S. Piyatirativarakul and P. Menasveta. 1998b. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. **Aquaculture** 167: 301-313.

- Rico-Mora, R., D. Voltolina and J. A. Villaescusa-Celaya. 1998. Biological control of *Vibrio alginolyticus* in *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) cultures. **Aquacult. Eng.** 19: 1-6.
- Rosenberry, R. 1998. World Shrimp Farming 1998. **Shrimp News International**. San Diego, CA, USA.
- Salminen S., A. Ouwehand, Y. Benno and Y.K. Le. 1999. Probiotics: how should they be defined?. **Trends in Food Science and Technology** 10: 107-110.
- _____, E. Isolauri and E. Salminen. 1997. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. **Antonie van Leeuwenhoek** 70: 347-358.
- Scura, E. D. 1995. Dry seasons production problems on shrimp farms in Central America and the Caribbean Basin, pp. 200-213. In C.L. Browdy and J. S. Hopkings, ed. **Swimming Through Troubled Water**. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. Aquaculture'95. World Aquaculture Society. Baton Rouge, La.
- Stanier, R.Y., M. Doudoroff and E.A. Adelberg. 1963. **The Microbial World**. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Stoffels, G., I.F. Nes and A. Gudmundsdottir. 1992. Isolation and properties of a bacteriocinproducing *Carnobacterium piscicola* isolated from fish. **J. Appl. Bacteriol.** 73: 309-326.
- Sugita, H., N. Matsuo, Y. Hirose, M. Iwato and Y. Deguchi. 1997. *Vibrio* sp. strain NM10, isolated from the intestine of a Japanese coastal fish, has an inhibitory effect against *Pasteurella piscida*. **Appl. Environ. Microbiol.** 63: 4986-4989.

- Tseng, W.Y. 1997. **Shrimp Mariculture, A Practical Manual**. Department of Fisheries, The University of Papua New Guinea, Port Moresby, Papua New Guinea. 299p.
- Tseng, D.Y., P.L. Ho, S.Y. Huang, S.C. Cheng, Y.L. Shiu, C.S. Chiu and C.H. Liu. 2009. Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by the probiotic, *Bacillus subtilis* E20. **Fish Shellfish Immunol.** 26: 339-344.
- Vandenbergh, P. 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. **FEMS Microbiol. Rev.** 12: 221-238.
- Westerdahl, A., C. Olsson, S. Kjelleberg and P. Conway. 1991. Isolation and characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. **Appl. Environ. Microbiol.** 57: 2223-2228.
- Wickins, J. F. 1985. Ammonia production and oxidation during in culture of marine prawns and lobsters in Laboratory System. **Aquac. Eng.**, USA.
- _____ and D. C. Lee. 2002. **Crustacean Farming (second edition)**. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK.
- Williams, S.T. and J.C. Vickers. 1986. The ecology of antibiotic production. **Microbial Ecol.** 12: 43-52.
- Wyban, J., W. A. Walsh and D. M. Godin. 1995. Temperature effects on growth feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture.** 138: 267-279.



ภาคผนวก

การตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งโดยวิธีชิมฟัไบโอเทค

สุ่มตัวอย่างลูกกุ้งที่จะนำไปปล่อยลงเลี้ยงจำนวน 110 ตัว ตรวจสอบคุณภาพตามวิธีชิมฟัไบโอเทค (กรรณวิท และ คำรณ, 2546) นำลูกกุ้ง 10 ตัว จากการสุ่มไว้ข้างต้นมาตรวจดูความสมบูรณ์และความผิดปกติเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โดยลูกกุ้ง 1 ตัว จะถูกตรวจสอบคุณภาพจำนวน 5 อย่าง (ภาพที่ 10) และทำการบันทึกผลลงตารางการให้คะแนนสำหรับการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พร้อมวัดความยาวและชั่งน้ำหนักลูกกุ้ง

1. ความสมบูรณ์ของตัวและตัวอ่อนลูกกุ้ง

ดูลักษณะ และสีของตัวและตัวอ่อนลูกกุ้ง โดยลักษณะที่สมบูรณ์ ตัวและตัวอ่อนจะมีขนาดใหญ่ เต็ม ไม่หดหิด มีสีเข้ม เหลือง น้ำตาล หรือสีอื่นๆ ขึ้นอยู่กับอาหารที่ลูกกุ้งได้รับ แต่ลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ จะพบว่าตัวและตัวอ่อนมีขนาดเล็กไม่เต็ม หดหิด สีจาง ใส และขุ่นขาว เป็นต้น

การบันทึกผลในตารางบันทึกผลการตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้ง

- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น เข้ม ให้บันทึกลงในคอลัมน์ เข้ม (20)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น จาง ให้บันทึกลงในคอลัมน์ จาง (0)

2. ปริมาณเม็ดไขมันในตัวและตัวอ่อนของลูกกุ้ง

ตรวจสอบโดยนำพู่ตักออกมาวางบนสไลด์ แล้วปิดทับด้วยที่ปิดสไลด์ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดูปริมาณเม็ดไขมันว่ามีเม็ดไขมันเต็ม ทั่วไปภายในตัว ปานกลาง มีเพียงเล็กน้อย บางส่วนหรืออาจไม่มีเลย

การบันทึกผลในตารางบันทึกผลการตรวจคุณภาพลูกกุ้ง

- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น เต็ม ให้บันทึกลงในคอลัมน์ เต็ม (10)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น ปานกลาง ให้บันทึกลงในคอลัมน์ ปานกลาง (5)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น น้อย ให้บันทึกลงในคอลัมน์ น้อย (0)

3. ปริศติภายนอก

ดูความสะอาดภายนอกลำตัวและตามรอยางค์ต่างๆทั้งหมด โดยดูว่า พบปริศติภายนอก เช่น ซูโอแทมเนียม (*Zoothamnium* sp.) วอติเซลล่า (*Vorticella* sp.) อีพิสไตลิส (*Epistylis* sp.) แบคทีเรียภายนอก (จำพวกฟิลาเมนทัสแบคทีเรียและอื่นๆ) หรือตะกอนอื่นๆ ที่เกาะติดอยู่ตาม ระวังค์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก น้อย หรือไม่พบ

การบันทึกผลในตารางบันทึกผลการตรวจคุณภาพลูกกุ้ง

- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น ไม่พบ ให้บันทึกลงในคอลัมน์ ไม่พบ (10)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น ปานกลาง ให้บันทึกลงในคอลัมน์ ปานกลาง (5)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น มาก ให้บันทึกลงในคอลัมน์ มาก (0)

4. ความสมบูรณ์ของระวังค์

ดูความสมบูรณ์และความผิดปกติของระวังค์ต่างๆ ทั้งขาเดิน ขาวายน้ำ รวมทั้งหนวดคู่ หน้าว่าสมบูรณ์ครบเป็นปกติ หรือพบระวังค์กุด กร่อน

การบันทึกผลในตารางบันทึกผลการตรวจคุณภาพลูกกุ้ง

- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น สมบูรณ์ ให้บันทึกลงในคอลัมน์ สมบูรณ์ (10)
 - ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น ปานกลาง ให้บันทึกลงในคอลัมน์ ปานกลาง (5)
- (พบขาเดินไม่สมบูรณ์ไม่เกิน 1 คู่ ส่วนขาวายน้ำไม่ขาดเกิน 2 คู่)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น มาก ให้บันทึกลงในคอลัมน์ มาก (0)

5. อัตรากล้ามเนื้อต่อลำไส้ (M:G ratio)

การประเมินความกว้างของกล้ามเนื้อส่วนหางเปรียบเทียบกับความกว้างของลำไส้ตรง (Hindgut) แบ่งได้เป็น 3 รูปแบบ

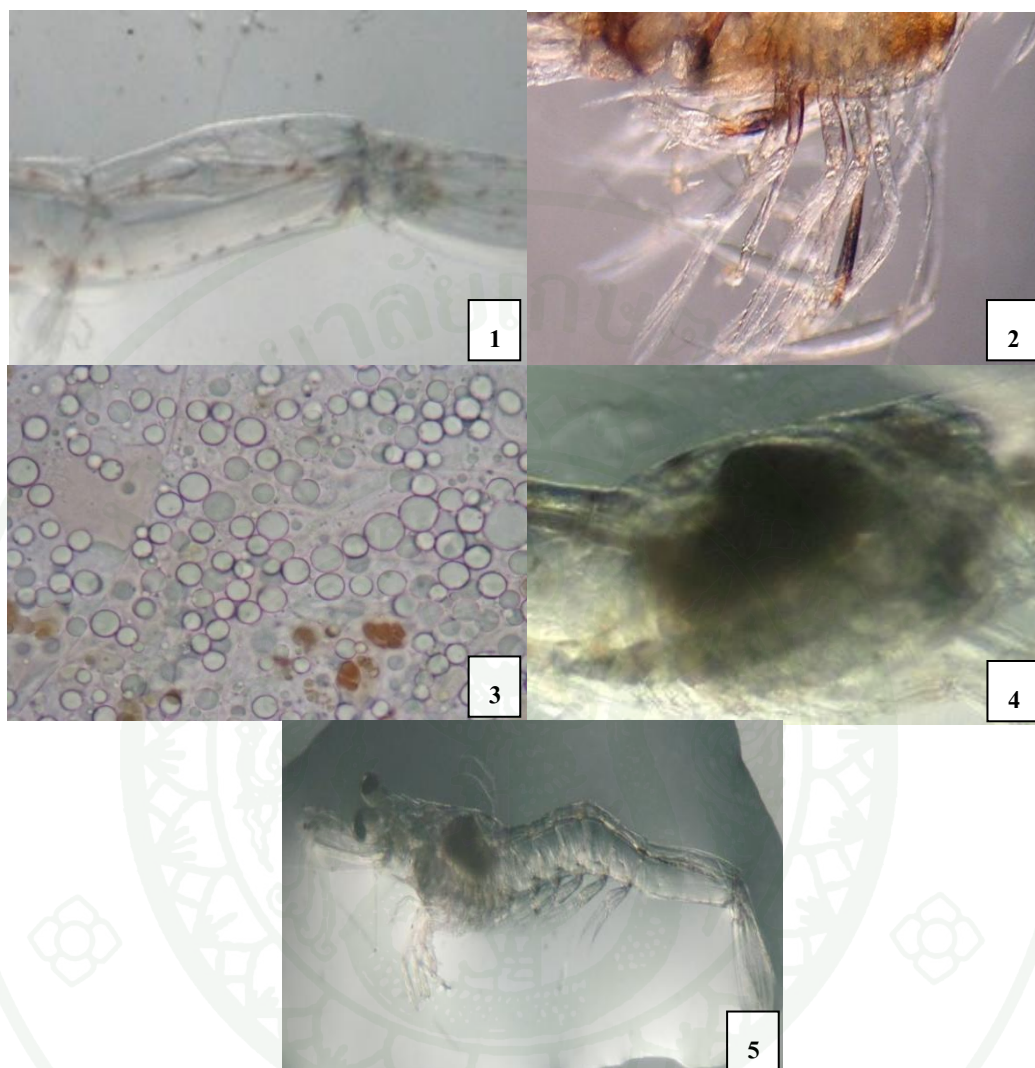
มากกว่า 75% หมายถึง อัตราส่วนความกว้างของกล้ามเนื้อหางต่อความกว้างลำไส้ มากกว่า 4:1

น้อยกว่า 75% แต่มากกว่า 50% หมายถึง อัตราส่วนความกว้างของกล้ามเนื้อหางต่อความกว้างลำไส้ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4:1 แต่มากกว่า 2:1

50% หรือน้อยกว่า หมายถึง อัตราส่วนความกว้างของกล้ามเนื้อหางต่อความกว้างลำไส้ เป็น 2:1 หรือน้อยกว่านั้น

การบันทึกผลในตารางบันทึกผลการตรวจคุณภาพลูกกึ่ง

- ในกรณีที่ผลการตรวจ มากกว่า 75% ให้บันทึกลงในคอลัมน์ มากกว่า 75% (10)
- ในกรณีที่ผลการตรวจ น้อยกว่า 75% แต่มากกว่า 50% ให้บันทึกลงในคอลัมน์ น้อยกว่า 75% แต่มากกว่า 50% (5)
- ในกรณีที่ผลการตรวจเป็น 50% หรือน้อยกว่า ให้บันทึกลงในคอลัมน์ 50% หรือน้อยกว่า (0)



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งด้วยวิธีหิรมฟิโบโอเทค

- 1 = อัตรากล้ามเนื้อต่อลำไส้ (M:G ratio)
- 2 = ความสมบูรณ์ของรยางค์
- 3 = ปริมาณเม็ดไขมันในตับของลูกกุ้ง
- 4 = ความสมบูรณ์ของตับของลูกกุ้ง
- 5 = ไม่มีปรสิตภายนอก

การสรุปผลการตรวจคุณภาพลูกกุ้ง

คำนวณผลบันทึกโดยนำผลรวมของคะแนนทั้งหมดของแถวคะแนนรวม คูณด้วย 0.1667 เกณฑ์มาตรฐานการยอมรับสำหรับขั้นตอนการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ควรมีคะแนนการตรวจตั้งแต่ 85% ขึ้นไป จึงจะถือว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

ตรวจสอบการติดเชื้อไวรัส

นำตัวอย่างลูกกุ้ง 100 ตัว จากการสุ่มข้างต้น มาตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัส ซึ่งถือว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่มสำคัญที่ก่อโรคลูกกุ้งทะเล โดยทำการตรวจสอบเชื้อไวรัสรวมโดยใช้อาหารเฉพาะ (selective media) สำหรับการเพาะเชื้อไวรัสคือ Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS) เกณฑ์มาตรฐานการยอมรับสำหรับขั้นตอนนี้คือ ต้องมีโคโลนีสีเหลืองไม่เกิน 100 โคโลนี โคโลนีสีเขียวไม่เกิน 10 โคโลนี และต้องไม่พบโคโลนีเรืองแสง

ผลการตรวจคุณภาพลูกกุ้ง

การทดลองส่วนที่ 1: ผลของการใช้โปรไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความทนทานต่อความเครียดในน้ำจืดไม่พบการตายของลูกกุ้ง และผลการตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งด้วยวิธีหริมาไฟโบรเทค พบว่าผลการตรวจอยู่ในระดับ 89 เปอร์เซนต์ และผลการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัส พบโคโลนีสีเหลือง 66 โคโลนี โคโลนีสีเขียว 5 โคโลนี และไม่พบโคโลนีเรืองแสง ซึ่งผลดังกล่าวแสดงว่าลูกกุ้งที่นำมาทดลองมีคุณภาพดี

การทดลองส่วนที่ 2: ผลของการเปลี่ยนถ่ายน้ำฝนในปริมาณต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของลูกกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาร์วา 10 (พี 10) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความทนทานต่อความเครียดในน้ำจืดพบการตายของลูกกุ้ง 6% และผลการตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งด้วยวิธีซีริมพีไบโอเทค พบว่าผลการตรวจอยู่ในระดับ 83 เปอร์เซ็นต์ และผลการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัสโอ พบเชื้อ 72 โคโลนี โคโลนีสีเขียว 8 โคโลนี และไม่พบโคโลนีเรืองแสง ซึ่งผลดังกล่าวแสดงว่าลูกกุ้งที่นำมาทดลองมีคุณภาพปานกลาง



