รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

Effect of Probiotic (*Bacillus licheniformis*) on Growth and Resistance to *Vibrio harveyi* in Sea Bass (*Lates calcarifer*)

นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก

รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา
ประจำปีการศึกษา 2565

ชื่อเรื่องงานวิจัย ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)
Effect of Probiotic (*Bacillus licheniformis*) on Growth and Resistance to *Vibrio harveyi* in Sea Bass (*Lates calcarifer*)

ชื่อผู้จัดทำรายงาน นางสางปภาวรินท์ รัตนวิก

ชื่อสถานประกอบการ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา

ที่อยู่ เลขที่ 130/2 หมู่ที่ 8 ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา รหัสไปรษณีย์ 90100

เจ้าหน้าที่สหกิจศึกษา นางสาวจิราพร สอนสังเสน ตำแหน่ง เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ชื่อบุคลากรที่ปรึกษา ดร.จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ ตำแหน่ง นักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ
นางอัมรา สินประเสริฐพร ตำแหน่ง นักวิชาการประมงปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนังสือส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ

ตามที่ข้าพเจ้า นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก นักศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร ได้ปฏิบัติงานสหกิจศึกษาระหว่างวันที่ 1 สิงหาคม พ.ศ. 2565 ถึงวันที่ 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2565 ในตำแหน่งนักศึกษาผู้ปฏิบัติงานสหกิจ ณ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา และได้รับมอบหมายงานจากพนักงานที่ปรึกษาสหกิจศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษา ให้ศึกษาและจัดทำรายงาน เรื่องผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว *(Lates calcarifer)*

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้เสร็จสิ้นลงแล้ว จึงใคร่ขอส่งรายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษาดังกล่าวมาพร้อมนี้ จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

ปภาวรินท์ รัตนวิก

(นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก)

นักศึกษาสหกิจศึกษา

หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การฝึกปฏิบัติงานศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการฝึกปฏิบัติสหกิจศึกษาในครั้งนี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ ตำแหน่งนักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ นางอัมรา สินประเสริฐพร ตำแหน่งนักวิชาการประมง ปฏิบัติการประจำศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านข้อมูลเพื่อนำมาเขียนรูปเล่มรายงาน สละเวลาให้คำแนะนำ ปรึกษา แก้ปัญหาที่เกิดขึ้น ตรวจสอบข้อบกพร่องในการวิเคราะห์ข้อมูล และการเขียนรายงานจนการทำรายงานเล่มสหกิจศึกษาฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ในหลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำทุกท่านที่ อบรม สั่งสอน ให้ความรู้แก่ข้าพเจ้า สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดามารดา พี่ๆ เพื่อนๆ น้อง ๆ ที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในการฝึกปฏิบัติสหกิจศึกษาครั้งนี้

ปภาวรินท์ รัตนวิก

พฤศจิกายน 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญภาพ	(2)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการปฏิบัติงาน	4
งานที่ปฏิบัติ และงานที่ได้รับมอบหมาย	7
งานที่ปฏิบัติ	8
งานที่ได้รับมอบหมาย	13
สรุปการปฏิบัติงาน	52
ภาคผนวก	54
ภาพกิจกรรมที่ได้เข้าร่วมระหว่างการฝึกปฏิบัติสหกิจศึกษา	55
ภาพระหว่างการศึกษาวิจัยและทดลองในโครงงานพิเศษ	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงจานเพาะเชื้อ	10
2	การดูด 0.125% L-giutaraldehyde ทิ้ง	11
3	การเช็คอัตราการตายของปลาที่ฉีดเชื้อ ISKNV	11
4	การให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไม	11
5	การเช็คอัตราการตายของกุ้งที่ฉีดเชื้อ AHPNS	11
6	การเปิดช่องท้องปลากะพงขาวเพื่อนำม้ามไปตรวจหาเชื้อ ISKNV	11
7	ขั้นตอนการบรรจุหัวเชื้อ ปม.2	11
8	การฉีดเชื้อ ISKNV ในปลากะพงขาว	12
ภาพผนวกที่		
1	งานเลี้ยงส่ง	55
2	กิจกรรมการแข่งกีฬาสีประมงสัมพันธ์ระหว่างหน่วยงาน	55
3	กิจกรรมพัฒนาระหว่างหน่วยงาน	55
4	กีฬาสีภายในระหว่างหน่วยงาน	55
5	การเตรียม *Bacillus licheniformis* ขยาย	56
6	ชั่งน้ำหนักปลาก่อนทำการทดลอง	56
7	ให้อาหารทดลองปลากะพง	56
8	ชั่งน้ำหนักหลังจากการทดลอง	56
9	ผ่าปลาเพื่อเอาอวัยวะเป้าหมาย (ลำไส้) เพื่อเช็ค *Bacillus licheniformis* ในลำไส้ปลา	57
10	เลี้ยงเชื้อ *Vribrio harveyi* เพื่อนำไปฉีดปลา	57
11	ฉีดเชื้อ *Vribrio harveyi* ในปลา	57
12	เช็คการตายของปลาที่ฉีดเชื้อ *Vribrio harveyi*	58
13	การเปลี่ยนถ่ายน้ำปลากะพงที่ฉีดเชื้อ *Vribrio harveyi*	58
14	การเก็บตัวอย่างเลือด	58
15	การสเมียร์เลือดปลา	58
16	การย้อมเม็ดสีเลือดปลา	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

ชื่อและสถานที่ตั้งของสถานประกอบการ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา เลขที่ 130/2 หมู่ที่ 8 ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90100

ลักษณะสถานที่ประกอบการ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา (Songkhla Aquatic Animal Health Research and Development Center(SAAHRDC) มีหน้าที่รับผิดชอบศึกษาและค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับโรคสัตว์น้ำชายฝั่ง เพื่อพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรคและ วิธีป้องกัน โรคสัตว์น้ำชายฝั่ง ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อสัตว์น้ำชายฝั่งกิดจากสาเหตุต่างๆ เพื่อวินิจฉัยโรค ศึกษาค้นคว้าวิจัยชนิดของ ปรสิต เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัสที่ก่อให้เกิดโรค และหาแนวทางในการ ควบคุมการระบาดของโรคและออกใบรับรองสุขภาพสัตว์น้ำเพื่อส่งออก

รูปแบบการจัดการองค์กรและบริหารงาน

สถาบันวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่งมีหน้าที่รับผิดชอบศึกษา ค้นคว้า วิจัยเกี่ยวกับโรคสัตว์น้ำชายฝั่ง เพื่อพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรคและวิธีป้องกันโรคสัตว์น้ำชายฝั่ง และออกใบรับรองสุขภาพสัตว์น้ำเพื่อส่งออก โดยศึกษาเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อสัตว์น้ำชายฝั่งที่เกิดขึ้นจากสาเหตุต่างๆ เพื่อวินิจฉัยโรค ศึกษาค้นคว้าวิจัยชนิดของ ปรสิต เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคและหาแนวทางในการควบคุมการระบาดของโรค ควบคุมและเฝ้าระวังโรคสัตว์น้ำชายฝั่งกำหนดเขตการเพาะเลี้ยงเพื่อควบคุมโรค รายงานการระบาดของโรคตามรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม และประสานงานกับองค์กรต่างประเทศ ด้านการควบคุมโรค ศึกษาค้นคว้าวิจัยเพื่อกำหนดมาตรฐานในการตรวจสอบผลผลิตจากการทำประมงชายฝั่ง และกระบวนการผลิตสัตว์น้ำชายฝั่งให้ได้มาตรฐานด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมซึ่งได้แบ่งออกเป็น 5 ห้องปฏิบัติการ และ 1 งาน

1. งานธุรการ (Administration Section) มีหน้าที่รับผิดชอบงานสารบรรณ การเงิน บัญชี พัสดุ งบประมาณ และบุคคล

2. ห้องปฏิบัติการ (Clinic) มีหน้าที่รับตัวอย่าง สัตว์น้ำ,น้ำ,ดิน จากเกษตรกร รวมถึงหน่วยงานรัฐและเอกชน มีการตรวจสุขภาพและปรสิตดูลักษณะภายในและตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย เก็บข้อมูลงานทดลองกุ้ง Juvenile อีกทั้งยังมีการเตรียมตัวอย่างและออกรหัสเพื่อส่งไปยังห้องปฏิบัติการต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ห้องปฏิบัติการ (Bacteria) มีหน้าที่รับตัวอย่างจากห้องปฏิบัติการ clinic เพื่อตรวจและวินิจฉัยโรคกลุ่ม Vibeio มีการทำ ปม.2 เพื่อมอบให้แก่เกษตรกรที่ต้องการใช้หรือขอเข้ารับการบริการของศูนย์วิจัย

4. ห้องปฏิบัติการ (Polymerase Chain Reaction หรือ PCR) รับตัวอย่างจากห้องปฏิบัติการ clinic เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรค ทั้งชนิด DNA ,RNA,ไวรัส และแบคทีเรีย

5. ห้องปฏิบัติการ (Water Quality Analysis) รับตัวอย่างจากปฏิบัติการ clinic และนำมาตรวจวัดค่าต่างๆตามมาตรฐาน อีกทั้งยังมีการออกใบรับรองGAPให้แก่ฟาร์มกุ้งและฟาร์มปลาโดยมีมาตรฐานตามที่กรมประมงกำหนดไว้

6. ห้องปฏิบัติการงานวิจัย ทำการวิจัยและทดลองตามที่ศูนย์วิจัยกำหนด และมีการวิจัยทดลองร่วมกับศูนย์อื่นๆ

ตำแหน่งและลักษณะงานที่นักศึกษาได้รับมอบหมายให้รับผิดชอบ

ตำแหน่ง นักศึกษาผู้ปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

ลักษณะงาน 1. ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)
Effect of probiotic (*Bacillus licheniformis*) on growth and resistance to *Vibrio harveyi* in sea bass (*Lates calcarifer*)
2. เรียนรู้งานทางด้านของห้องปฏิบัติการงานวิจัย

บุคลากรที่ปรึกษาและตำแหน่งงานของบุคลากรที่ปรึกษา

1. ดร.จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ ตำแหน่งนักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ
2. นางอัมรา สินประเสิรฐพร ตำแหน่งนักวิชาการประมงปฏิบัติการ
ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา

ระยะเวลาปฏิบัติงาน

1. สิงหาคม–30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์และประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

1. เพื่อให้นักศึกษาเรียนรู้และได้รับประสบการณ์วิชาชีพ
2. เพื่อให้นักศึกษามีความพร้อมก่อนที่จะจบการศึกษาออกไปทำงานจากสถานที่จริง
3. เพื่อเรียนรู้สังคมการทำงานให้สามารถปรับตัวกับงาน และรู้จักทำงานร่วมกับผู้อื่น
4. เพื่อพัฒนาความเชื่อมั่นในตนเองและนำประสบการณ์ที่ได้จากงานสหกิจศึกษามาประยุกต์ใช้ในการทำงาน

วัตถุประสงค์ของโครงงานที่ได้รับมอบหมาย

1. สามารถนำทักษะจากงานปฏิบัติไปใช้ได้ในที่ทำงาน
2. มีความอดทนในการทำงานร่วมกับบุคคลอื่นที่มีวิถีชีวิตแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์คาดว่าจะได้รับจากการปฏิบัติงาน

ด้านสถานประกอบการ

1 เกิดความร่วมมือทางวิชาการ และความสัมพันธ์ที่ดีกับสถาบันการศึกษา

2. เป็นการสร้างภาพพจน์ที่ดีขององค์กร ในด้านการส่งเสริมสนับสนุนการศึกษาและช่วยพัฒนาบัณฑิตของชาติ

ด้านนักศึกษา

1. ได้ประสบการณ์วิชาชีพตามสาขาที่เรียนเพิ่มเติมนอกเหนือไปจากที่เรียนห้องเรียน

2. เกิดการเรียนรู้มาพัฒนางาน การทำงานร่วมกับผู้อื่น ความรับผิดชอบ และมีความมั่นใจตนเองมากขึ้น ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่พึงประสงค์ของสถานประกอบการ

3. เข้าใจหลักการงานที่ปฏิบัติ มีความเข้าใจเนื้อหาวิชามากขึ้นจากประสบการณ์การปฏิบัติ

ด้านสถาบันการศึกษา

1. เกิดความร่วมมือทางวิชาการและความสัมพันธ์ที่ดีกับสถานที่ประกอบการ

2. ได้ข้อมูลย้อนกลับมาปรับปรุงแก้ไขหลักสูตรและการเรียนการสอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานที่ปฏิบัติ และงานที่ได้รับหมอบหมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานที่ปฏิบัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานที่ปฏิบัติ

การปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา ได้ปฏิบัติงานที่เรียนรู้งานทางด้านของห้องปฏิบัติการงานวิจัย โดยมีรายละเอียดดังนี้

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) คือ ส่วนประกอบของสารอาหารที่เอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์เจริญ และแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อโดยทั่วไปควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือมีธาตุอาหารและความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ มีความเป็นกรดและด่าง (pH) เหมาะสมกับการเจริญ ปราศจากสารพิษที่มีผลต่อการเจริญ ปราศจากสิ่งมีชีวิตชนิดใด ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียม ได้แก่

1. Tryptic soy apar (TSA), ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป (อาหารแข็ง)

วิธีการ

1.1 ชั่ง TSA 40 กรัม เติมเกลือแกง (NaCl) 10 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

1.2 คนด้วยแท่งแก้วคนสาร ให้ส่วนประกอบเข้ากันได้ดี

1.3 นำไปต้มให้เดือดเพื่อให้สารละลาย

1.4 นำไปใส่ในขวดที่ (Autoclave) อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 น.

1.5 ตั้งรอให้อุ่นๆ แล้วเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate) (ภาพที่ 1)

2. Tryptic soy Broth (TSB), ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป (อาหารเหลว)

วิธีการ

2.1 ชั่ง TSB 30 กรัม เติมNaCl 15 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

2.2 คนด้วยแท่งแก้วคนสาร ให้ส่วนประกอบเข้ากันได้ดี

2.3 นำไปต้มให้เดือดเพื่อให้สารละลาย

2.4 นำไปใส่ในขวดที่ (autoclave) อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 น.

3. Thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS) ใช้เลี้ยงเฉพาะเชื้อ *Vibrio* spp.

วิธีการ

3.1 ชั่ง TCBS 88 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

3.2 คนด้วยแท่งแก้วคนสารให้ส่วนประกอบเข้ากันได้ดี

3.3 น้ำไปต้มให้เดือดเพื่อให้สารละลาย

3.4 ตั้งรอให้อุ่นๆแล้วเทลงจานเพาะเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 การเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงจานเพาะเชื้อ

การจับกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis)

วิธีการ

- เจาะเลือดกุ้งด้วย Syringe ใส่หลอด Microtube 1.5 มล. แช่เย็น

- ใช้ Micropipette ดูดเลือดกุ้งจากหลอด Microtube 1.5 มล. มาปริมาณ 20 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดที่มี 10% sodium citrate อยู่ 20 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันและเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ L-15 || ปริมาณ 1,460 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

- ใช้ Micropipette ดูดตัวอย่างเลือดจากหลอด Microtube 1.5 มล.ที่มี10% sodium citrate มาปริมาณ 400 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด Microtube 1.5 มล. และมีเม็ดพลาสติกอยู่ 100 ไมโครลิตร ($1x10^5$ cell/มล.) ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้ Micropipette

- ใช้ Micropipette ดูดตัวอย่างจากหลอด Microtube 1.5 มล.ที่มีเม็ดพลาสติกอยู่ มาปริมาณ 200 ไมโครลิตร หยดลงบนสไลด์และมีแผ่นปิดสไลด์ติดอยู่ ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

- ทิ้งไว้ในกล่องความชื้นที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที

- นาน 60 นาที ใช้ Micropipette ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และตึงเซลล์ด้วย 200 ไมโครลิตร 0.125% L-glutaraldehyde เป็นเวลา 5 นาที

- ใช้ Micropipette ดูด 0.125% L-glutaraldehyde ทิ้ง (ภาพที่ 2) และนำสไลด์ไปล้างใน Phosphate buffer saline (PBS) หลายๆ รอบเพื่อล้างเม็ดพลาสติกออก

- ย้อมสไลด์โดย Dip Quick (Eosin, Methylene blue)

Methanol 5 ครั้ง ⟶ Sol. A 8 ครั้ง ⟶ น้ำกลั่น 5 ครั้ง ⟶ Sol. B 5 ครั้ง ⟶ น้ำกลั่น 5 ครั้ง ⟶ ซับน้ำให้แห่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ทิ้งไว้ให้แห้งสนิท จากนั้นสามารถนับจำนวนเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ภาพที่ 2 การดูด 0.125% L-glutaraldehyde ทิ้ง

ภาพที่ 3 การเช็คการตายของปลาฉีดเชื้อ ISKNV

ภาพที่ 4 การให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไม

ภาพที่ 5 การเช็คอัตราการตายกุ้งที่ฉีดเชื้อ AHPNS

ภาพที่ 6 การเปิดช่องท้องปลากะพงขาวเพื่อนำม้ามเพื่อไปตรวจหาเชื้อ ISKNV

ภาพที่ 7 ขั้นตอนการบรรจุหัวเชื้อ ปม.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 การฉีดเชื้อ ISKNV ปลากะพงขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานที่ได้รับมอบหมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

Effect of Probiotic (*Bacillus licheniformis*) on Growth and Resistance to *Vibrio harveyi* in Sea Bass (*Lates calcarifer*)

นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่...../.....
งานทะเบียนและประมวลผล

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2565

เรื่อง

ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

Effect of Probiotic (*Bacillus licheniformis*) on Growth and Resistance to *Vibrio harveyi* in Sea Bass (*Lates calcarifer*)

ผู้จัดทำ

นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เห็นชอบ/รับรอง

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

(ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษา

โครงงานพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

Effect of Probiotic (*Bacillus licheniformis*) on Growth and Resistance to *Vibrio harveyi* in Sea Bass (*Lates calcarifer*)

โดย

นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ)

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	ผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)
โดย	นางสาวปภาวรินท์ รัตนวิก
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
คณะ	วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
ที่ปรึกษาร่วม	ดร.จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ
	นางอัมรา สินประเสริฐพร

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้โพรไบโอติก (*Bacillus licheniformis*) ต่อการเจริญเติบโต และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา และความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* หลังการเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นเวลา 28 วัน ด้วยอาหารทดลอง 3 ชุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) ชุดการทดลองที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) พบว่าอาหารเสริม *B. licheniformis* (ชุดที่ 2 และ 3) ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P>0.05$) ส่วนค่าโลหิตวิทยาพบว่าอาหารเสริม *B. licheniformis* (ชุดที่ 2) ปริมาณเม็ดเลือดแดงสูงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P<0.05$) ปริมาณเม็ดเลือดขาวพบว่าอาหารเสริม *B. licheniformis* (ชุดที่ 2 และ 3) ไม่ส่งผลต่อเป็นปริมาณเม็ดเลือดขาวเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P>0.05$) และชนิดเม็ดเลือดขาวไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม($P<0.05$) ยกเว้นเม็ดเลือดขาวชนิด Thrombocyte ทดสอบความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* ระยะเวลาสังเกต 48 ชั่วโมง พบว่าอาหารเสริม *B. licheniformis* (ชุดที่ 2 และ 3)ไม่ส่งผลต่ออัตราการตายเมื่อแปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P>0.05$) จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริม *B. licheniformis* ไม่สามารถช่วยในการเจริญเติบโต อัตราการรอด การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา และความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi*

คำสำคัญ : ปลากะพงขาว, *Bacillus licheniformis*, ค่าโลหิตวิทยา, *Vibrio. Harveyi*

ปภาวรินท์ รัตนวิก ..... ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย .....

ลายมือชื่อนักศึกษา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Effect of Probiotic (*Bacillus licheniformis*) on Growth and Resistance to *Vibrio harveyi* in Sea Bass (*Lates calcarifer*)

By Miss Paphawarin Rattanawik

Major Fishery Science and Aquatic Resource

Faculty Price of Chumphon Campus

Advisor Asst. Prof. Dr.Duangjai Pisuttharachai

Co-advisor Dr. Jumroensri Thawonsuwan

Miss Ammara Sinprasertporn

Abstract

study the effect of probiotics on the growth and resistance of *Vibrio harveyi* in *Lates calcarifer*. After feeding sea bass for a long time, it has resistance to growth, survival rate, hematological changes and resistance to *V. harveyi.* After 28 days of seabass culture with 3 sets of experimental media, namely experimental set 1 (control set), set 2 (supplemented with *B. licheniformis*) and set 3 (supplemented with *B. licheniformis).* Compared with the control group, the dietary supplement *B. licheniformis* (Kit 2 and 3) did not affect growth, meat conversion rate (FCR) and survival rate. (P>0.05). Hematological values showed that *B. licheniformis* supplementation (2nd set) had a high red blood cell count compared to the control (P<0.05) and there was no difference in white blood cell type compared to the control (P>0.05) and white blood cell types were not different compared to the control (P<0.05) Except thrombocyte white blood cells. Assay for resistance to *V. harveyi* with an observation period of 48 hours, *B. licheniformis* supplementation (2nd and 3rd series) had no effect on mortality compared to the control group (P>0.05). According to this study, *B. licheniformis* supplementation did not contribute to changes in growth, survival and hematological values. And the resistance of *V. harveyi.*

Key words: *Lates calcarifer*. *Bacillus licheniformis*, Parameter, *Vibrio. Harveyi*

Paphawarin Rattanawik ..... Duangjai Pisuttharachai .....

Student's signature Advisor's signature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	17
Abstract	18
สารบัญ	19
สารบัญตาราง	20
สารบัญภาพ	21
คำนำ	22
วัตถุประสงค์	24
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	24
ตรวจเอกสาร	25
อุปกรณ์และวิธีการ	32
อุปกรณ์	32
วิธีการ	35
ผลและวิจารณ์	40
ผล	40
วิจารณ์	45
สรุปและข้อเสนอแนะ	47
สรุป	47
ข้อเสนอแนะ	47
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	48
ภาคผนวก	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอโพรไบโอติก	40
2	ปริมาณ *B. lichoniformis* ในลำไส้ของปลาที่ได้รับโพรไบโอติก	41
3	จำนวนเม็ดเลือดแดงและจำนวนเม็ดเลือดขาว ของปลาที่ได้รับโพรไบโอติก	41
4	ชนิดเม็ดเลือดขาว ของปลาที่ได้รับโพไบโอติก	42
5	การทดสอบความสามารถต้านเชื้อ *V. harveyi* ของปลาที่ได้รับโพรไบโอติก	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กราฟแสดงชนิดเลือดขาว	43
2	กราฟแสดงอัตราการรอดหลังการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อ *V. harveyi* ของปลา	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปลากะพงขาว Seabass (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) เป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สาอาศัยอยู่ได้ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม เลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยเพราะเลี้ยงไม่อยากโตดี รสชาติดีและมีราคาดี ปัจจุบันประเทศไทยเพาะเลี้ยงปลาได้เป็นจำนวนมาก เพื่อเลี้ยงในประเทศและส่งขายต่างประเทศ ในปัจจุบันพบปลากะพงขาวแพร่กระจายอยู่ทุกจังหวัด ทั้งในอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามันจะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ออกไปจากชายฝั่งมากนัก โดยอาศัยอยู่ชุกชุมตามปากแม่น้ำลำคลองและปากทะเลสาบ การเพาะเลี้ยงมี 2 รูปแบบ คือ เลี้ยงกระชังและเลี้ยงบ่อดิน (สโมสรนิสิตคณะประมง, 2531) การเลี้ยงปลากะพงขาวแบบหนาแน่น ส่งผลทำให้ปลาอ่อนแอและติดเชื้อก่อโรคได้ง่าย (พรเลิศ และคณะ, 2537) โดยมักจะประสบปัญหาการเกิดโรคปรสิต ไวรัส และแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในปลากะพงขาวได้แก่ เชื้อ *Flexibacter columnaris , Streptococcus sp*., และ *Vibrio* spp. (จิรศักดิ์, 2543) โดยเชื้อ *Vibrio* spp. เป็นเชื้อกลุ่ม *Vibriona* เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ชนิดที่พบในปลาทะเลมี 4 ชนิดหลักๆ ได้แก่ *Vibrio parahaemolyticus, V. vulnificus, V. alginolyticus* และ *V. harveyi* ปลาที่ติดเชื้อนี้มักมีแผลตามลำตัว ตกเลือด และมีของเหลวสะสมในช่องท้อง ทำให้บางครั้งปลาที่ติดเชื้อมีอาการท้องบวมน้ำ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา, 2562)

การป้องกันและควบคุมโรคในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้ใช้ยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นอย่างมาก (Balcazar *et al*., 2006) การใช้ยาปฏิชีวนะทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อก่อโรคและยาปฏิชีวนะตกค้างในสัตว์น้ำและในสภาพแวดล้อม (FAO/WHO/OIE, 2006) การป้องกันการระบาดของโรค ลดใช้ยาปฏิชีวนะต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยการเสริมโพรไบโอติกลงไปในอาหารสัตว์น้ำ (Fuller, 1989) โพรไบโอติก (Probiotic) เป็นจุลินทรีย์มีประโยชน์ โดยโพรไบโอติกที่มีอยู่ในท้องตลาดประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่แตกต่างชนิดกัน ซึ่งโพรไบโอติกพบได้ในลำไส้ และสามารถผลิตเอนไซม์ประเภทที่ย่อยได้ การใช้โพรไบโอติกเสริมอาหารสัตว์น้ำสามารถเพิ่มอัตราเติบโต ทำให้การเปลี่ยนอาหารดีขึ้น (เมธาวี และคณะ, 2560) โพรไบโอติกหรือสารเสริมชีวนะ คือ จุลินทรีย์มีชีวิต (live microorganism) เช่น *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantalum, Bacilus subtilis* และ *Bacillus licheniformis* เป็นต้น เมื่อสัตว์กินโพรไบโอติกเข้าไปจะช่วยปรับปรุงและสร้างสมดุลจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารให้เหมาะสมโดยโปรไบโอติกเจริญเติบโตและสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ (มนัสนันท์ และคณะ, 2558) โพรไบโอติกที่ใช้กันทั่วไป *Bacillus* spp. ได้รับการยอมรับว่าเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมสามารถใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำน้อยลง การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเกี่ยวกับการเสริมโพรไบโอติกในปลากะพงขาว เพื่อให้ทราบถึงอัตราการรอด การเจริญเติบโต ความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาและภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของปลากะพงขาว จากการศึกษาสามารถนำมาพัฒนาและแนะนำให้เกษตรกรให้มีทางเลือกใช้อาหารเสริมในการเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวหลังได้รับอาหารเสริม probiotic (*B. licheniformis*)

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริม Probiotic (*B. licheniformis*) ร่วมกับอาหารสำเร็จรูปของปลากะพงต่อความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi*

3. เพื่อศึกษาความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาปลากะพงขาวในอาหารเสริมที่ให้ระดับแตกต่างกัน

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวหลังจากได้รับ probiotic (*B. licheniformis*)

2. ทราบผลของการเสริม Probiotic (*B. licheniformis*) ร่วมกับอาหารสำเร็จรูปของปลากะพงต่อความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

1. ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

1.1 การจำแนกอนุกรมวิธาน

ปลากะพงขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lates calcarifer* (Bloch) นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกปลากะพงขาว ตามหลักอนุกรมวิธานดังนี้

Phylum Chordata
Sub-phylum Vertebrata
Sub-class Teleostomi
Order Percomorphi
Family Centropomidae
Genus *Lates*
Species *Calcarifer* (Bloch)

ปลากะพงขาว เป็นปลาน้ำกร่อยขนาดลำตัวใหญ่ที่อยู่ได้ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม เลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ปัจจุบันประเทศไทยเพาะเลี้ยงปลาได้เป็นจำนวนมาก เพื่อเลี้ยงในประเทศและส่งขายต่างประเทศ ในปัจจุบันพบปลากะพงขาวแพร่ขยายอยู่ทั้งในอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามันจะอาศัยในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างจากชายฝั่งมากนัก โดยอาศัยอยู่มากตามปากแม่น้ำลำคลองและปากทะเลสาบ (สโมสรนิสิตคณะประมง, 2531)

1.2 ลักษณะภายนอก

มีขนาดลำตัวเอียงยาวและหนาแบนข้างไม่มาก บริเวณไหล่โค้งมน ลำตัวลาดชันและเว้า ส่วนขากรรไกรล่างยาวกว่าขากรรไกรบน ปากกว้าง ขอบปากบนแผ่นใหญ่แยกแนวตอนต้นและตอนท้ายแบบชัดเจน บริเวณปากยืดได้ย่นได้ ปากเฉียงลงด้านล่างไม่มาก ฟันซี่เล็กละเอียดบนขากรรไกรบนล่าง และเพดานปาก ตามีขนาดกลาง ไม่มีเยื่อไขมันหุ้ม แก้มขนาดใหญ่ ขอบหลังหนามแหลม 4 ซี่ และเรียงต่อกันเป็นซี่เล็ก ๆ จัดตามแนวหลัง บนส่วนหัวและบนแผ่นเหงือก มีเกล็ดขนาดต่าง ๆ กัน เกล็ดบริเวณลำตัวค่อนข้างใหญ่ (คณะประมง, 2528)

1.3 การแพร่กระจาย

ปลากะพงขาวมีการแพร่ขยายในเขตอบอุ่นจนถึงเขตร้อน คือสามารถพบได้ในพื้นที่ระหว่างเส้นลองติจูด ที่ 50-160 องศาตะวันออก และเส้นละติจูด ที่ 24 องศาเหนือ ถึง 25 องศาใต้ โดยจะครอบคลุมบริเวณเขตน่านน้ำของประเทศจีนจนถึงอ่าวเปอร์เซีย และยังแพร่กระจายตามหมู่เกาะต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ๆ ในฟิลิปปินส์ มาเลเซีย อินโดเนเซีย พม่า ออสเตรเลียและศรีลังกา สำหรับในประเทศไทยพบว่ามีการแพร่กระจายโดยทั่วไปตาม แนวชายฝั่งทะเลทั้งทางด้านอ่าวไทยและมหาสมุทรอินเดีย โดยมีความชุกชุมในบริเวณ ปากแม่น้ำ ลำคลองและเขตทะเลสาบที่ติดต่อกับทะเล สามารถทนต่อความเค็มได้ในช่วงกว้างตั้งแต่ 0-35 ส่วนในพันส่วน (ppt: part per thousand) (Chomdej, 1986)

1.4 แหล่งที่อยู่อาศัย

แพร่กระจายในภูมิภาคเอเชีย พบได้ทั้งในน้ำจืด เช่น ปลากะพงลาย และแหล่งน้ำกร่อย เช่น ปลากะพงขาว แถบเอเชียพบปลา ได้ที่จีนตอนใต้พม่า เวียดนาม มาเลเซีย และอินโดนีเซีย เป็นต้น ส่วนประเทศไทยพบมากในจังหวัดที่ติดกับทะเล อ่าวไทย และอันดามัน พบมากที่ปากแม่น้ำชายฝั่งทะเลน้ำกร่อย และตอนเหนือปากแม่น้ำ

- บริเวณน้ำจืดที่พบ คือ แม่น้ำ ลำคลอง หรือแอ่งน้ำใกล้ชายฝั่งทะเล มีความเค็มตั้งแต่ 1.0–20.0 ส่วนในล้านส่วน

- บริเวณน้ำกร่อยที่พบ คือ บริเวณแม่น้ำ ลำคลองที่ติดกับทะเลหรือทะเลสาบ มีการหนุนหรือไหลเข้าของน้ำทะเลตามรอบน้ำขึ้นน้ำลง พื้นที่ที่มีค่าความเค็มสูงกว่าบริเวณแรก มีความเค็มอยู่ที่ 20–30 ส่วนในล้านส่วน (วิทยาลัยเทคโนโลยีการเกษตรและประมงปัตตานี, ม.ป.ป.)

1.5 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์ปลา

พ่อแม่พันธุ์ส่วนใหญ่เลี้ยงในกระชังหรือบ่อดิน โดยพ่อแม่พันธุ์เลี้ยงไว้ตั้งแต่ขนาดของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสมควรมีความยาว 50 ซม.ขึ้นไป หนัก 2.5 กก. ปลาลักษณะข้างต้นโดยมากอายุราว ๆ 2 ปีขึ้นไป ส่วนแม่พันธุ์ที่เหมาะสมควรมีลักษณะใหญ่กว่าพ่อพันธุ์และควรมีน้ำหนักราว ๆ 3 กก. เพราะปลาลักษณะดังนี้จะมีอายุราว ๆ 3 ปีขึ้นไป นอกจากนี้ปลาพ่อแม่พันธุ์มีความสมบูรณ์แข็งแรงไม่มีโรคสิ่งต่าง ๆ ของร่างกายครบสมบูรณ์ไม่มีแผลตามลำตัวหรืออวัยวะต่าง ๆ เสียหายไป ปลาพ่อแม่พันธุ์ควรมีอายุเท่า ๆ กันหรือไม่แตกต่างกัน (สโมสรนิสิตคณะประมง, 2531)

1.6 ฤดูผสมพันธุ์และวางไข่

การแยกเพศปลากะพงขาว สามารถสังเกตได้จากลักษะภายนอก ปลาเพศผู้มีลักษณะเรียวยาวกว่าปลาเพศเมีย ลำตัวมีส่วนลึกน้อยกว่าเพศเมีย และน้ำหนักน้อยกว่าปลาเพศเมียที่มีขนาดลำตัวยาวเท่ากัน สำหรับปลาเพศเมียเมื่อถึงฤดูว่างไข่ ส่วนท้องจะบวมเป่ง (กรมประมง, 2531)

ปลาชนิดนี้ออกไข่ตอนเดือน3ถึงเดือน6 ของชายฝั่งทะเลอ่าวไทย ส่วนเดือน7ถึงเดือน10ของภาคใต้ฝั่งมหาสมุทรอินเดีย ต่างกันเพราะฤดูมรสุมทั้งสองครั้งในรอบปี ช่วงสืบพันธุ์ย้ายจากบริเวณน้ำจืดสู่บริเวณน้ำกร่อย และผสมพันธุ์กันบริเวณปากแม่น้ำที่ติดกับทะเล ซึ่งจะมีความเค็มประมาณ 25-32 ส่วนในพันส่วน การสืบพันธุ์ปลาพ่อแม่จะรวมฝูงบริเวณกลางน้ำ อัตราส่วนเพศเมียติอเพศผู้เท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 : 3–5 เวลาสืบพันธุ์ระหว่าง 19.00–22.00 น. และการฟักตัวของไข่จะใช้เวลา 17–18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27–29 องศาเซลเซียส (ดุสิตและคณะ, 2528) ลูกปลาแรกฟักความยาวราว ๆ 1.2 มล. (สุจินต์และคณะ, 2524)

1.7 การอนุบาล แบ่งได้เป็น 2 ช่วง คือ

1. ช่วงแรกในการอนุบาลลูกปลาที่ฟักออกจากไข่จนถึงอายุ 1 เดือน ระยะนี้จะส่งผลต่อการรอดของลูกปลาส่วนอัตราการปล่อยลูกปลาจะมีความหนาแน่นที่ 50-100 ตัวต่อน้ำ 1 ลิตร ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างมาก น้ำที่ใช้เลี้ยงต้องมีคุณภาพดีและมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก ๆ วัน อาหารสำหรับลูกปลาช่วงนี้ให้ คือ แพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก และโรติเฟอร์ อาร์ทีเมีย เนื้อปลาสับละเอียด ตามลำดับ อายุลูกปลาที่เพิ่มขึ้น

2. ช่วงถัดมา การอนุบาลลูกปลาอายุ 1 เดือนขึ้นไปจนปล่อยลงบ่อเลี้ยงหรือในกระชังเลี้ยงได้ อนุบาลในบ่อดินขนาดบ่อตั้งแต่ 50-200 ตร.ม.ขึ้นไป มีการเตรียมบ่อจากนั้นสูบน้ำเข้าบ่อให้ได้ระดับน้ำ 50 ซม. และปล่อยปลาลงอนุบาลเมื่อลูกปลาได้ 3 ซม.ขึ้นไปสามารถจำหน่ายได้ ส่วนการอนุบาลในกระชังสามารปล่อยลูกปลาได้หนาแน่นกว่าในบ่อดินเนื่องจากมีน้ำไหลถ่ายเทได้สะดวก (สโมสรนิสิตคณะประมง, 2531)

1.8 การกินอาหาร

เป็นสัตว์กินเนื้อกินสัตว์ขนาดเล็กกว่าทุกชนิด เช่น ปลาตัวเล็ก กุ้ง และปู กินกันเองมีขนาดตัวที่เล็กกว่าเป็นอาหาร แต่สามารถเลี้ยงให้กินอาหารไม่มีชีวิตได้ เช่น อาหารเม็ดสำเร็จรูป รวมถึงเศษปลา ซากสัตว์ ทั้งนี้ โดยมาอยู่ และหาอาหารกันเป็นฝูงในธรรมชาติ ปลาขนาดเล็กมีนิสัยดุร้ายกว่าปลาขนาดใหญ่ และหายไปเองเมื่อโตขึ้น (วิทยาลัยเทคโนโลยีการเกษตรและประมงปัตตานี, ม.ป.ป.)

2. โพรไบโอติก *Bacillusn licheniformis*

เป็นแบคทีสร้างเอนโดสปอร์ที่เป็นแกรมบวก สร้างเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase-positive) และเอนไซม์คาตาเลส (Catalase-positive) แบคทีเรียชนิดนี้อยู่ในสกุลบาซิลลัสไม่ก่อให้เกิดโรค (De Boer *et al*., 1994) จนถึงปัจจุบัน *B. licheniformis* ทำหน้าที่เป็นสารต้านไวรัสและภูมิคุ้มกัน (Arena *et al*., 2006) โดย *B. licheniformis* จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติก (Probiotic) คือ จุลินทรีย์มี ประโยชน์ พบในลำไส้ สามารถผลิตเอนไซม์ประเภทที่ย่อยได้ การใช้โพรไบโอติกเสริมอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถเพิ่มอัตราเติบโต ทำให้การเปลี่ยนอาหารดีขึ้น ยิ่งไปกว่านี้ยังช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค กระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพิ่มอัตรารอดให้แก่สัตว์น้ำ และลดการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมี (เมธาวี และคณะ, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. *Vibrio harveyi*

V. harveyi เป็นแบคทีเรียแกรมลบอยู่สกุล *Vibrio* วงศ์ Vibrionaceae มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ๆ เติบโตได้ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน บางสายพันธุ์คุณสมบัติทำให้เกิดโรคเรืองแสง (luminous vibriosis) ในสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง (Karunasagar *et al*., 1994, Pizzuto and Hirst. 1995, Alvarez *et al*., 1998) และในปลา (Kraxberger-Beatty *et al*., 1990, Ishimaru and Muroga. 1997) ได้ความสามารถในการก่อโรคของ *V. harveyi* เกี่ยวข้องกับยีน hemolysin (Zhang *et al*., 2001) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ร้ายแรงของปลาทะเล ปลาที่เป็นโรคอาจแสดงรอยแผลตามลำตัว ตกเลือดกระเพาะและลำไส้อักเสบ และมีของเหลวสะสมในช่องท้อง ทำให้บางครั้งปลาที่ติดเชื้อมีอาการท้องบวมน้ำ (Zhang *et al*., 2020)

4. โลหิตวิทยา

4.1 ปริมาณเม็ดเลือดแดง (red blood cells)

ทำหน้าที่เป็นเซลล์ให้สารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและเป็นแหล่งของธาตุเหล็กสำหรับการสังเคราะห์อีโมโกลบิน (hemoglobin) ของเซลล์ และมีอีไรทรอยด์เซลล์ (erythroid cells) เม็ดเลือดแดงปกติที่เจริญเต็มที่ของปลาจะมีลักษณะเป็นวงรี มีไซโตพลาสซึมขนาดใหญ่ เห็นนิวเคลียสเป็นรูปวงที่อยู่ตรงกลาง เม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่ของปลาบางชนิดมีลักษณะโค้งนูนออก 2 ด้าน ร่วมกับบริเวณตำแหน่งของนิวเคลียสที่บวมออกมา (นันทริกา, 2553)

4.2 ปริมาณเม็ดเลือดขาว (white blood cells)

เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์ไม่มีสี ส่วนใหญ่มีรูปไข่หรือทรงกลม มีปริมาณ 20,000-15,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เม็ดเลือดขาวมีความสำคัญต่อการกำจัดเชื้อโรค (อัมพร, 2545)

4.2.1 นิวโทรฟิล (Neutrophil) นิวโทรฟิล คือ เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง มีนิวเคลียสหลาย มีแกรนูลขนาดเล็ก รูปร่างแท่ง อยู่ภายในไซโตพลาสซึม ส่วนใหญ่จะมีจำนวน ร้อยละ 6-8 ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดในปลากระดูกแข็ง (นันทริกา, 2553) นิวโทรฟิลที่เจริญเต็มที่แล้วมีขนาดประมาณ 12 ไมโครเมตร บาโทรฟิลทำหน้าที่ในการ phagocytosis โดยนิวโทรฟิลจะออกจากกระแสเลือดเข้าไปสู่เนื้อเยื่อที่มีสิ่งแปลกปลอมอยู่ (อัมพร, 2545)

4.2.2 อีโอสิโนฟิล (Eosinophil) อีโอสิโนฟิล คือ เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง มีนิวเคลียสหลายพูแต่ขนาดเล็กกว่าภายในไซโตพลาสซึม มีแกรนูลรูปร่างกลม และมีจำนวนน้อย (นันทริกา, 2553) เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 ไมโครเมตร อีโอสิโนฟิลเป็นฟาโกซัยท์ที่เลือกจับกินเฉพาะสารประกอบเชิงซ้อนของแอนติเจน (อัมพร, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 เบโซฟิล (Basophil) เบโซฟิล คือ เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง ลักษณะภายในไซโตพลาสซึม มีแกรนูล มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ กลม เอียงไปทางด้านใดด้านนึงของเซลล์ (นันทริกา, 2553) มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 12 ไมโครเมตร ในไซโตพลาสมีแกรนูลขนาดใหญ่กว่าของนิวโทรฟิลและอีโอสิโนฟิล เบโซฟิลเคลื่อนไหวและจับกินสิ่งแปลกปลอมได้แต่นิวโทรฟิลและอีโอซิโนฟิล จับกินสิ่งแปลกปลอมได้ดีกว่า (อัมพร, 2545)

4.2.4 ทรอมโบไซต์ (Trombocyte) ทรอมโบไซต์ คือ เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง เป็นเกล็ดเลือดที่จะทำให้เลือดของปลาแข็งตัวเมื่อได้รับบาดเจ็บ มีนิวเคลียสขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดง รูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างกลมยาว กระสวย (นันทริกา, 2553)

4.2.5 ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) ลิมโฟไซต์ คือ เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง มีนิวเคลียสกลม และมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ไม่แบ่งเป็นพู (นันทริกา, 2553) ในปลาสุขภาพดีจะพบลิมโฟไซต์มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537)

4.2.6 โมโนไซต์ (Monocyte) โมโนไซต์ คือ เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 9-12 ไมโครเมตร มีลักษณะนิวเคลียสเป็นรูปไข่หรือเกือกม้า หรือ รูปไตวางชิดอยู่ไปทางด้านใดด้านนึงของเซลล์ โครมาตินในนิวเคลียสมีอยู่เพียงบาง ๆ โมโนไซต์ทำหน้าที่ในการกำจัดแอนติเจนด้วยวิธีการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) หรือวิธี antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) (อัมพร, 2545)

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus sp.* (RCS1) และ *Bacillus cereus* (RCS3) ที่ความเข้มข้นที่แยกได้ 1×10^{10} และ 1×10^{12} CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ ต่อการเจริญเติบโต ดัชนีชีวเคมีในเลือด และความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* ในลูกปลาช่อนทะเล (*Rachycentron canadum*) พบว่า หลังจากให้อาหารเสริม *Bacillus sp*. และ *Bacillus cereus* เป็นเวลา 70 วัน ลูกปลามีค่าการเจริญเติบโต และดัชนีชีวเคมีในเลือด เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ค่า albumin, globulin, lysozyme และ total protein ในซีรัม ทราบว่า กลุ่มที่รับ *Bacillus sp*. (RCS1) ที่ 1×10^{10} มีค่าดีที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังนั้นอาหารเสริมเชื้อ *Bacillus sp*. (RCS1) และ *Bacillus cereus* (RCS3) ที่แยกได้ อาจมีแนวโน้มช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของลูกปลาช่อนทะเลได้ (Amenyogbe *et al*., 2022)

ศึกษาผลกระทบการเสริมโปรไบโอติกต่อการอัตราเติบโต เอนไซม์ย่อยอาหาร การตอบสนองทางชีวเคมีในเลือด จุลินทรีย์ในลำไส้ และการต้านเชื้อ *V. harveyi* ในปลากะพงขาวเอเชีย ปลากะพง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขาวเอเชีย (75±0.6 กรัมและ 15.5±0.3 ซม.) ถูกเลี้ยงด้วยอาหารพื้นฐาน (กลุ่มควบคุม) ปลากะพงขาวเอเชีย (75±0.6 กรัมและ 15.5±0.3 ซม.) ถูกเลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม อาหารชุดที่ $1x10^9$ CFU/g. *Bacillus thuringiensis* หรือ *Bacillus cereus* เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นกลไกใหม่ของการกระทำของโปรไบโอติก สายพันธุ์ที่ทดสอบสามารถอยู่รอดได้ในลำไส้ของปลากะพงขาวเอเชีย ต้านทานเชื้อ *V. harveyi* ดังนั้นการเสริมอาหารด้วยโปรไบโอติกจึงมีแนวโน้มในการควบคุมโรค Vibriosis ในปลากะพงขาวเอเชีย (Ghanei-Motlagh *et al.,* 2021)

ศึกษาผลของปริมาณที่แตกต่างกันของ *Bacillus* 2 สายพันธุ์ (*Bacillus licheniformis* และ *Bacillus subtilis)* การเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของปลา กิจกรรมของตับ และเอนไซม์ย่อยของปลา ในช่วง 8 สัปดาห์ ปลาที่ได้โปรไบโอติก $1×10^3$, $1×10^6$ และ $1×10^9$ CFU กรัม-1 เสริมจากอาหารควบคุมโดยไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อสิ้นสุดการทดสอบ ดัชนีการเจริญเติบโต (น้ำหนักรวม ความยาวทั้งหมด การเติบโตจำเพาะ น้ำหนักเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนอาหาร และปัจจัยสภาพ) องค์ประกอบของร่างกาย ระบบย่อยอาหาร เอนไซม์ (protease, lipase, and amylase) เอนไซม์ตับ ตัวชี้วัดภูมิคุ้มกัน (lysozyme) และพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา ได้ประเมิน ปลาที่ได้รับโพรไบโอติกเสริมบาซิลลัส (*Bacillus licheniformis* และ *Bacillus subtilis*) มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ องค์ประกอบของปลากะพง ระดับโปรตีนทั้งหมดและวัตถุแห้งสูงกว่า และไขมันมีระดับต่ำกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยโปรไบโอติก $1×10^6$ CFU กรัม-1 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($P<0.05$) เอนไซม์ย่อยอาหาร (protease, lipase, and amylase) และพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา (RBC, WBC และ Hb) มีค่าสูงสุดในอาหารปลาที่เสริมด้วย $1×10^6$ CFU กรัม-1 โพรไบโอติก *Bacillus* นอกจากนี้ เอนไซม์ตับ (AST, ALT, ALP) ยังต่ำกว่าในอาหารปลาที่เสริมด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติก $1×10^6$ CFU กรัม-1 การเสริม *Bacillus* $1×10^6$ CFU กรัม-1 ในอาหารนั้นเป็นปริมาณที่ดีที่สุด (Adorian *et al*., 2018)

ศึกษาผลของโพรไบโอติก RABAL ที่ระดับต่างกันเพื่อปรับปรุงการเจริญเติบโต การอยู่รอด และการเปลี่ยนอาหาร การวิจัยนี้ดำเนินการตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงเมษายน 2019 ที่ Balai Perikanan Budidaya Air Payau การศึกษานี้ใช้ Completely Randomized Design (CRD) ซึ่งประกอบด้วยชุดควบคุมโดยไม่ต้องให้โพรไบโอติกและ 3 ทรีทเม้นต์ที่ให้โพรไบโอติกขนาดต่าง ๆ ได้แก่ อาหาร 10 มล. / 100 กรัม, อาหาร 20 มล. / 100 กรัม และ 30 มล. / 100 กรัม จากผลการทดสอบ ANOVA ที่ดีที่สุดคือ 20 มล. / 100 กรัม โดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 3.09±0.27 ความยาวสัมบูรณ์ 2.52±0.09 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 4.5±0.20 การอยู่รอด 99±4.79 และอัตราการเปลี่ยนอาหาร 0.90±0.07 การศึกษาครั้งนี้ทราบว่าปริมาณ RABAL ที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นผลลัพธ์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ต่อการเจริญเติบโต การอยู่รอด และการเปลี่ยนอาหาร (Anna *et al*., 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อศึกษาผลของกากมะพร้าว (ผลพลอยได้จากมะพร้าวผ่านการคั้นกะทิ) และ *Bacillus licheniformis* ต่ออัตราเติบโตและการต้านโรคในปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) หลังเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์โดยให้อาหารทดลอง 4 สูตรได้แก่ สูตรควบคุม (ไม่มีการเสริม คือสูตรที่ 1) สูตรที่ 2 เสริม ด้วย 4% (w/w) กากมะพร้าว สูตรที่ 3 เสริมด้วย *B. licheniformis* ระดับ 10^6 CFU ต่อกรัมอาหาร และสูตรที่ 4 เสริมด้วย 4% (w/w) กากมะพร้าว และ *B. licheniformis* ระดับ 10^6 CFU ต่อกรัมอาหาร พบว่าสูตรที่ 2 และ 4 ที่มีกากมะพร้าวสามารถช่วย ด้านการเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแตกเนื้อ (p<-0.05) ในขณะที่สูตรอาหารที่มีส่วนผสมของ *B. licheniformis* (สูตร 3) ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (p<-0.05) ส่วนค่า โลหิตวิทยาทราบว่าในสูตรอาหารที่มีการเสริม *B. licheniformis* (สูตร 3 และ 4) จะทำให้มีปริมาณเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น (p<0.05) เมื่อทำการทดสอบความต้านทานต่อโรค *Aeromonas hydrophila* ระยะเวลาสังเกต 14 วัน ทราบว่าสูตรอาหารเสริม *B. licheniformis* การตายน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับสูตร 1 และ 2 การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริมกากมะพร้าวสามารถช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้นและไม่ทำให้ค่าโลหิตวิทยาเปลี่ยนแปลง สามารถลดต้นทุนด้านอาหารสำหรับการเลี้ยงปลาได้ ในระหว่างที่ปลาเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 4 ทำให้การเจริญเติบโต และการต้านโรค *A. hydrophilia* มากขึ้น

แบคทีเรียโปรไบโอติกมีประโยชน์กับการเพาะเลี้ยงปลาและมีประโยชน์มากในการป้องกันโรคติดเชื้อต่าง ๆ สามารถใช้เป็นทางเลือกแทนยาต้านจุลชีพและยาปฏิชีวนะ โปรไบโอติกช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของปลาและยังช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลา ไม่เพียงแต่ส่งเสริมอัตราเติบโตของปลาและช่วยกำจัดโลหะหนัก โปรไบโอติกสามารถแยกได้จากแหล่งต่าง ๆ แต่แหล่งโปรไบโอติกที่ดีที่สุดในกรณีของปลาคือลำไส้ของปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

วัสดุ

1. สัตว์ทดลอง ได้แก่ ปลากะพงขาว *(Lates calcarifer)*
2. เลือดปลา

อุปกรณ์

1. การเลี้ยงปลากะพงขาว
    - 1.1 ถังพลาสติก 500 ลิตร
    - 1.2 ตู้เลี้ยงปลาขนาด 14 นิ้ว (36 x 18 x 23 ซม.)
    - 1.3 สวิงตักปลา
    - 1.4 สายยาง
    - 1.5 หัวทราย
2. การเตรียมโพรไบโอติก (*B. licheniformis*)
    - 2.1 บีกเกอร์ 1,000 มล.
    - 2.2 ขวดดูแรน 500 มล.
    - 2.3 กระบอกตวง (ขนาด 10 มล. และ 500 มล.)
    - 2.4 แท่งแก้วคน
    - 2.5 micropipette 10 มล.
    - 2.6 เครื่องชั่ง
    - 2.7 กระดาษชั่งสาร
    - 2.8 ช้อนตักสาร
    - 2.9 ตะเกียงแอลกอฮอร์
    - 2.10 สายยาง
    - 2.11 หัวทราย
    - 2.12 เครื่องปั๊มออกซิเจน
    - 2.13 *B. licheniformis* จากกรมประมง 18 มล.
    - 2.14 น้ำกลั่นผ่าการฆ่าเชื้อ 300 มล.
    - 2.15 กากน้ำตาล 6 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.16 อาหารเลี้ยงปลาบดละเอียด 1.5 กรัม.

3. การเตรียมอาหารทดลอง

3.1 อาหารสำหรับเลี้ยงปลากะพง (ชื่อทางการค้าโปรฟีด เบอร์ 903)

3.2 *B. licheniformis* จากกรมประมง

3.3 *B. licheniformis* ขยาย

3.4 น้ำมันปลา

3.5 กระบอกตวง (ขนาด 10 มล. และ 500 มล.)

3.6 foggy

3.7 ถาด

3.8 foil

3.9 เครื่องชั่ง

4. การเตรียมเชื้อ *V. harveyi*

4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA+1.5%. NaCl

4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+1.5% NaCl

4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS+1.5% NaCl

4.4 น้ำเกลือ 1.5% NaCl

4.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge: Fix rotors)

4.6 Shaking incubator

4.7 เครื่อง spectrophotometer

4.8 ปิเปตอัตโนมัติ (automatic pipette/tip: 100 ไมโครลิตร และ 1,000 ไมโครลิตร) 10 มล.)

4.9 หลอด Microtube ขนาด 1.5 มล.

4.10 96 well plate

4.11 ขวดดูแรน (ขนาด 250 มล. และ 500 มล.)

4.12 หลอด (ขนาด 2.5 มล., 10 มล. และ 50 มล.)

4.13 ตะเกียงแอลกอฮอร์

4.14 กระบอกฉีดยา 1 มล.

4.15 หัวเข็ม (25 G 1)

5. การเก็บตัวอย่างเลือด (blood sampling)

5.1 กระบอกฉีดยา (1 มล)

5.2 หัวเข็ม (25 G 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 หลอด Microtube ขนาด 1.5 มล.

5.3 ปิเปตอัตโนมัติ (Automatic pipette / Tip: 10 µl, 100 µl และ 1,000 µl)

6. การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว (Red Blood Cell and White Blood Cell Count)

6.1 สไลด์นับเม็ดเลือด (Haemacytometer) และแผ่นปิดสไลด์ (Cover glass)

6.2 กล้องจุลทรรศน์

6.3 Micropipette /Blue tip, Yellow tip

6.4 หลอด Microtube ขนาด 1.5 มล.

6.5 ตัวนับ (Counter)

7. การแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (Differential White Cell Count)

7.1 แผ่นสไลด์สะอาดและCover glass

7.2 กล้องจุลทรรศน์

7.3 Micropipette/ Yellow Tip

สารเคมี

1. การเก็บตัวอย่างเลือด (Blood Sampling)

1.1 ยาสลบ (M-222: 3-Aminobenzoic acid ethyl ester, FW. 261.3)

1.2 สารกันการแข็งตัวของเลือด (Heparin)

2. การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว

2.1 ฟอร์มาลีน (formalin) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

2.2 อาหารเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือด (L-15II)

- L-15
- Heparin (1000 Unit)
-P/S
-FCS/FBS (inactivated)

3. การแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (Differential White Cell Count)

3.1 สีย้อม Dip Quick

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

1. การวางแผลการทดลอง

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต เมื่อให้โพรไบโอติก (*B. licheniformis*) เป็นเวลา 28 วัน เพื่อดูการเจริญเติบโต อัตรารอด การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาของปลากะพงขาว และฉีดเชื้อ *V. harveyi* เพื่อดูความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* หลังฉีดเชื้อ *V. harveyi* ดูอัตราการตายทุก 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 และ 48 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 3 ชุด (Treatment) แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (Replication) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม)
ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*
ชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย
ระหว่างการเลี้ยง ให้อาหารจำนวน 2 ครั้งต่อมื้อ เวลา 08.30–16.30 นาฬิกา

2. สัตว์ทดลอง

ปลากะพงขาวที่เลี้ยงภายในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต 6 สงขลา ขนาด 2-3 นิ้ว มาปรับสภาพในถัง 500 ลิตร ด้วยอาหารสำเร็จรูป

3. การเตรียมโพรไบโอติก (*B. licheniformis*)

เตรียมโพรไบโอติก (*B. licheniformis*) โดยใช้สัดส่วนหัวเชื้อ *B. licheniformis* จากกรมประมง ปริมาณ 18 มิลลิลิตร ผสมกับกากน้ำตาล 6 มิลลิลิตร น้ำจืดปลอดเชื้อ 300 มิลลิลิตร อาหารเม็ดเลี้ยงปลา 1.5 กรัม เติมอากาศเป็นเวลา 15-18 ชั่วโมง

4. การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลอง 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) อาหารสำเร็จรูป อาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารผสมโพรไบโอติกที่เตรียมโดยกานนำอาหารสำเร็จรูปมาผสมกับ *B. licheniformis* จากกรมประมง ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 CFU/มล. ในอัตราส่วน 100 มล. ต่ออาหาร 1 กก. และเคลือบน้ำมันปลา 2 % อาหารสูตรที่ 3 เป็นอาหารผสมโพรไบโอติกที่เตรียมโดยนำอาหารสำเร็จรูปมาผสมกับ *B. licheniformis* ที่ขยายแล้ว ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 CFU/มล. ในอัตราส่วน 100 มล. ต่ออาหาร 1 กก. และเคลือบน้ำมันปลา 2 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การเก็บรวบรวมข้อมูล

เมื่อเลี้ยงปลาครบ 28 วัน ตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา และหลังจากการฉีดเชื้อ *V. harveyi* ครบ 7 วัน ตรวจสอบอัตราการรอด ความต้านทานเชื้อ *V. harveyi* ดังนี้

5.1 อัตราการเจริญเติบโต

ก่อนการทดลอง และระหว่างการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนัก และปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงปลา เพื่อนำไปวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโต ดังนี้

$$\text{น.น.ที่เพิ่มขึ้น (WG, \%)} = \frac{\text{(น.น.ตัวสุดท้าย – น.น.ตัวเริ่มต้น)}}{\text{น.น.ตัวเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{Feed Conversion Rate (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารทั้งหมดที่ให้ในแต่ละถัง}}{\text{(น.น.ตัวสุดท้าย – น.น.ตัวเริ่มต้น)}}$$

5.2 อัตราการรอด

การประมาณอัตราการรอดสามารถทำได้จากการเก็บข้อมูลการตายรายวันของปลา

$$SR = \frac{\text{(จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง)}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

5.3 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้

ขั้นตอนการทำ Heat shock และ Cold shock ในลำไส้ปลา

ผ่าปลาและเอาอวัยวะเป้าหมาย (ลำไส้)

↓

บดอวัยวะเป้าหมายให้ละเอียด

↓

เตรียมน้ำเกลือเข้มข้น 1.5% .ใส่หลอดทดลอง หลอด Microtube 1.5 มล.

↓

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดให้ได้ 0.1 กรัม. ใส่ในหลอด Microtube ที่มีน้ำเกลือ 900 ไมโครลิตร.และ vortex ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (ความเข้มข้น 10-1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำตัวอย่างจากหลอดไปทำ Heat shock อุณหภูมิที่ 80 °C 20 น. โดยว่างในเครื่อง Water bath

จากนั้นทำ Codl shock โดยนำมาแช่ในน้ำเย็นจัดทันที นาน 1 นาทีหรือจนหลอดทดลองเย็น เพื่อได้สปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย

ดูดสารละลายจากหลอดที่ทำ Heat shock และ Codl shock ใส่ในหลอดที่ 2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต่อน้ำเกลือ 900 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 10-2) และเจือจางเรื่อย ๆ จนได้สารละลายที่ความเข้มข้นเท่ากับ 10-3 และ 10-4

ดูดสารละลายจากหลอดที่มีความเข้มข้น 10-3 และ 10-4 โดยใช้ Autopipette ปริมาณ 0.1 มล. ปล่อยลงในจางเลี้ยงเชื้อที่อาหาร TSA (หลอดละ 2 ซ้ำ) จากนั้นSpread plate technique

บ่มเชื้อ อุณหภูมิที่ 35-37 °C 24 ชม.

ตรวจเช็คโคโลนีที่ขึ้นในจานอาหารเพาะเชื้อ คำนวณค่า CFU/มล.

5.4 การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาการ

5.4.1 การเก็บตัวอย่างเลือด (Blood Sampling)

- สลบปลาด้วย MS-222 นำยาที่สลบแล้ววางบนถาดใช้ผ้าสะอาดเช็คน้ำและเมือกบริเวณลำตัวให้สะอาด

- ใช้ Syringe เจาะเลือดจากเส้นเลือดส่วนหาง (Puncturing the Caudal Peduncle) โดยไม่ใช้สารกันแข็งตัวของเลือด (Heparin) โดยสอดเข็มเข้าบริเวณเส้นข้างลำตัว จนกระทบกับส่วนของกระดูกสันหลัง (ซึ่งเส้นเลือดจะอยู่บริเวณนี้) ถ้าปลายเข็มแทงถูกเส้นเลือด จะสังเกตเห็นเลือดพุ่งขึ้นมาตามเข็มค่อยๆ ดูดเลือดช้าๆ

- นำตัวอย่างเลือดใส่หลอด Microtube ที่แช่เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ใช้ไมโครปิเปตดูดเลือดบางส่วน ใส่ในหล่อด Microtube ซึ่งมีสารกันแข็งตัวของเลือด (Heparin) โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายขิงสารกันการแข้งตัวของเลือด 0.15 มิลลิลิตร ใช้สำหรับนับจำนวนเม็ดเลือด (RBC) เม็ดเลือดขาว (WBC) และ Haematocrit

- เก็บตัวอย่างเลือดที่ผสม heparin ในกล่องน้ำแข็งเพื่อใช้สำหรับนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) เม็ดเลือดขาว (WBC) และ Haematocrit

5.4.2 การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดลเลือดขาว (red blood cells white blood cell count)

- นำเลือดที่เจาะได้ใส่หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ที่มี formalin 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้สำหรับนับเม็ดเลือด

- หยดเลือดที่ดอง formalin ลงบนสไลด์นับเม็ดเลือดและปิดทับด้วย cover glass

- รอให้เม็ดเลือดลงพื้นสไลด์และนับจำนวนเม็ดเลือดขาว 16 ช่อง (สีเขียว) และเม็ดเลือดแดง 5 ช่อง (สีแดง)

- จำนวนที่ได้นำมาคำนวณตามสูตร

สูตรคำนวณเม็ดเลือดแดง

Cell/มิลลิลิตร = จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ x 5 dilution x 10^4

สูตรคำนวณเม็ดเลือดขาว

Cell/มิลลิลิตร = จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ x dilution x 10^4 (นับ 16 ช่อง)

5.4.3 การแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (differential white cell counts)

- เจาะเลือดปลาด้วยเข็มฉีดยา

- นำเลือดหยดลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด 1 หยด

- ทำแผ่นฟิล์มเม็ดเลือด (blood smear) โดยใช้สไลด์หรือ cover glass อีกแผ่นวางเอียงเป็นมุม 40 – 45 องศา แล้วถูไปตรงๆ

- ทิ้งไว้ให้แห้ง ย้อมด้วย dip quick

- ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย เท่า บันทึกขนาด รูปร่าง รวมทั้งชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ตรวจพบ จำนวน 100 เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5 การทดสอบความการต้านทานเชื้อ *V. harveyi*

เลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi*

Streakเชื้อลงบนอาหาร TSA+1.5%. NaCl นาน 18-24 ชม. แล้วเขี่ยโคโลนีลง น้ำเกลือ 1.5% NaCl วัด OD ให้ได้ 0.1

↓

นำเชื้อที่วัด OD ได้ 0.1 ใส่อาหาร TSB+1.5% NaCl (ในอัตราส่วน 1:99 มล.)

↓

บ่มเชื้อที่ Shaking incubator 30 องศาเซลเซียส overnight

↓

นำเชื้อที่บ่ม overnight ใส่ TSB+1.5% NaCl (ในอัตราส่วน 1:500 มล.)

↓

บ่มเชื้อที่ Shaking incubator 30 องศาเซลเซียส วัด OD ให้ได้ OD 0.4

↓

ปั่นล้าง 2 รอบโดยใช้ 1.5% NaCl (4 องศาเซลเซียส 5,000 rmp 5 นาที)

↓

นำเชื้อมาละลาย 1.5% NaCl วัด OD ให้ได้0.1

↓

ทำ dilution ตามที่ต้องการฉีดปลาและนำมา drop plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA+1.5% NaCl และ TCBS+1.5 % NaCl เพื่อเช็คเชื้อกลับ

(เช็คอัตราการตายของปลากะพงที่ฉีดเชื้อ *V. harveyi* ที่ 0, 6, 12, 18, 24. 30, 36, 42 และ 48 ชั่วโมง)

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design) และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลอง โดยใช้วิธี Duncan’s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลและวิจารณ์

ผล

1. อัตราการเจริญเติบโต

หลังการเลี้ยงปลาทดลองเป็นเวลา 28 วัน พบว่าน้ำหนักปลาเพิ่มขึ้นที่ได้ อาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด คือ 295.82±56.18 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป และอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่เลี้ยงอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) มีค่าสูงที่สุด คือ 1.27±0.15 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับอาหารชุดอื่น ๆ และอัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) มีค่าสูงสุด คือ 99.16±1.44 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเทียบกับอาหารชุดอื่น ๆ

ตารางที่ 1 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลา

ชุดการทดลอง	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตราการรอดตาย
C1: Control	267.64±49.56[a]	1.19±0.03[a]	99.16±1.44[a]
T1: *B. licheniformis*	295.82±56.18[a]	1.20±0.07[a]	95.83±2.88 [a]
T2: *B. licheniformis* ขยาย	290.91±7.42[a]	1.27±0.15[a]	94.16±6.29[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2. ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้

ศึกษาปริมาณโพรไบโอติก *B. licheniformis* ในลำไส้ ไม่พบ *B. licheniformis* ในปลาชุดควบคุม อย่างไรก็ตามพบว่าปลาที่ทดลองอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) มีปริมาณ *B. licheniformis* ในลำไส้เท่ากับ $9.27\pm2.29\times10^5$ CFU/กรัม สูงกว่า อาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณ *B. licheniformis* ในลำไส้ของปลา

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรีย (x10^5CFU/กรัม)
C1: Control	0^c
T1: *B. licheniformis*	9.27 ± 2.29^a
T2: *B. licheniformis* ขยาย	2.57 ± 4.22^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3. การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาการ

ค่าโลหิตวิทยาในปลากะพงขาวหลังเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่าปลาที่ทดลองอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) จำนวนเม็ดเลือดแดงมีค่าสูงสุดเท่ากับ$3.64\pm0.63x10^{10}$ cell/มิลลิลิตร. ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) และอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) ส่วนจำนวนเม็ดเลือดขาว พบว่าปลาที่ทดลองอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) มีค่าสูงสุดเท่ากับ$3.84\pm1.52x10^{10}$ cell/มิลลิลิตร. แต่ไม่มีความแตกต่างย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) และอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) ตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนเม็ดเลือดแดงและจำนวนเม็ดเลือดขาว ของปลาที่ได้รับโพรไบโอติก

ชุดการทดลอง	ปริมาณเม็ดเลือดแดง (x10^{10} cell/มิลลิลิตร)	ปริมาณเม็ดเลือดขาว (x10^{10} cell/มิลลิลิตร)
C1: Control	1.73 ± 0.18^a	2.83 ± 0.84^a
T1: *B. licheniformis*	3.64 ± 0.63^b	3.84 ± 1.52^a
T2: *B. licheniformis* ขยาย	1.94 ± 0.43^a	3.66 ± 1.16^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ศึกษาสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Lyphocyte หลังเลี้ยง 28 วัน พบว่าอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) มากที่สุด คือ 71.24±7.44 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) และอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศึกษาสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า อาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) น้อยที่สุด คือ 18.28±4.24 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) และอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 1)

ศึกษาสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Thrombocyte หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า อาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) น้อยที่สุด คือ 2.22±1.69 เปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) และอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 1)

ศึกษาสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Neutropil หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า อาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) มากที่สุด คือ 2.14±3.08 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) และอาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 1)

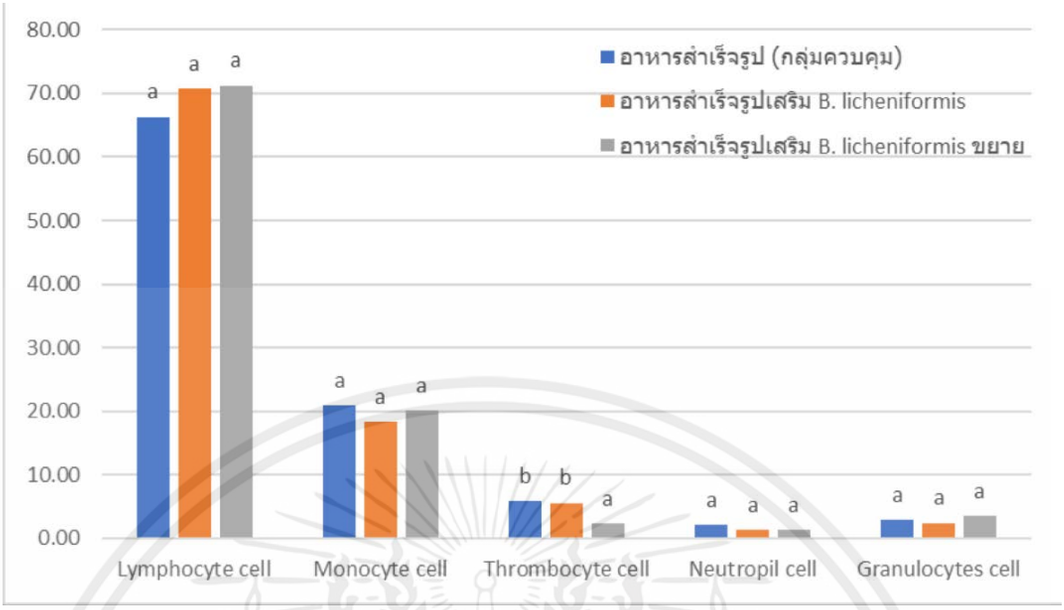
ศึกษาสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Granulocytes หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า อาหารชุดที่ 3 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย) มากที่สุด คือ 3.44±1.90 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 1 (อาหารสำเร็จรูป) แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 1)

ตารางที่ 4 ชนิดเม็ดเลือดขาว ของปลาที่ได้รับโพรไบโอติก

ชุดการทดลอง	ปริมาณเม็ดเลือดขาว (เปอร์เซ็นต์)				
	Lyphocyte	Monocyte	Thrombocyte	Neutropil	Granulocytes
C1: Control	66.33±4.27^{a}	20.91±6.43^{a}	5.86±3.60^{b}	2.14±3.08^{a}	2.90±2.03^{a}
T1: *B. licheniformis*	70.75±4.57^{a}	18.28±4.24^{a}	5.56±3.75^{b}	1.32±1.40^{a}	2.39±1.80^{a}
T2: *B. licheniformis* ขยาย	71.24±7.44^{a}	20.06±5.33^{a}	2.22±1.69^{a}	1.30±1.67^{a}	3.44±1.90^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 กราฟแสดงชนิดเม็ดเลือดขาว

4. การทดสอบความสามารถต้านเชื้อ *V. harveyi* ของปลาที่ได้รับโพรไบโอติก

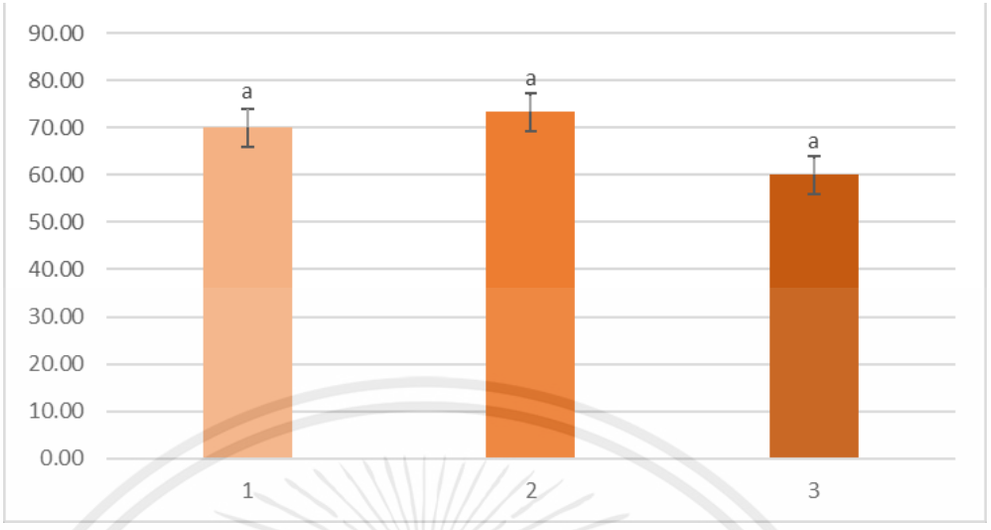
หลังจากการเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นเวลา 28 วัน พบว่าอัตราการรอดหลังจากทดสอบความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* ของปลากะพงขาวด้วยอาหารชุดที่ 2 (อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis*) มีอัตรารอดสูงที่สุด คือ 73.33±5.77 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดอื่นๆ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 5 การทดสอบความสามารถต้านเชื้อ *V. harveyi* ของปลากะพงขาวที่ได้รับโพรไบโอติก

ชุดการทดลอง	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
C1: Control	70.00±10.00[a]
T1: *B. licheniformis*	73.33±5.77[a]
T2: *B. licheniformis* ขยาย	60.00±20.00[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 กราฟแสดงอัตราการรอดหลังการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อ *V. harveyi* ของปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต เมื่อให้โพรไบโอติก (*B. licheniformis*) เป็นเวลา 28 วัน เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาของปลากะพง และฉีดเชื้อ *V. harveyi* ศึกษาอัตรารอดความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* หลังฉีดเชื้อ *V. harveyi* ดูอัตราการตายทุก 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 และ48 ชั่วโมง โดยการให้โพรไบโอติกต่อการเลี้ยง มี 3 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* และชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย โดยอาหารที่ทีผสมให้ปลาอาหารชุดที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ระดับความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10^6 CFU/มล. และอาหารชุดที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย ระดับความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10^5 CFU/มล.

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริม *B. licheniformis* และ *B. licheniformis* ขยาย ในปลากะพงขาว พบว่าการเจริญเติบโต น้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ไม่สอดคล้องกับ (เมธาวี และคณะ, 2560) ที่ศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลาหมอ พบว่าแม้น้ำหนักเฉลี่ยของปลาหมอจะไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มการเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่ออัตราส่วนการเสริมโพรไบโอติกเพิ่มขึ้นของกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่พบว่าอัตราการรอดของปลากะพงขาวแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) สอดคล้องกับ (วิลาวัณย์ และคณะ, 2554) ที่ศึกษาการเสริมโพรไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการรอดของปลานิล

การศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลากะพงขาว โดยการให้โพรไบโอติกต่อการเลี้ยง มี 3 ชุดการทดลอง คือชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* และชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย พบว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาวระหว่างชุดทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P> 0.05$) เนื่องจาก เม็ดเลือดแดงมีหน้าที่ในการนำออกซิเจนไปยังเซลล์ต่างๆของร่างกาย สอดคล้องกับ (มินตรา และคณะ, 2557) ที่ทำการศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีในเลือดบาง ประการของปลากดคั่ง (*Hemibagrus wyckioides*) ที่เลี้ยงใน 2 สภาพการเลี้ยง คือ ในระบบโรงเรือนปิด และบ่อดิน พบว่าค่าเฉลี่ยของค่า โลหิตวิทยาของตัวอย่างปลาทั้ง 2 สภาพการเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P> 0.05$)

การศึกษาเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดสามารถบ่งบอกสุขภาพของปลา โดยการให้โพรไบโอติกต่อการเลี้ยง มี 3 ชุดการทดลอง คือชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* และชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

licheniformis ขยาย พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ นิวโทรฟิล และแกรนูลไซต์ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยเม็ด เม็ดเลือดขาวชนิด ทรอมโบไซต์ ของชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) และชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* มีปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม B. licheniformis ขยาย สาเหตุอาจเนื่องจากปลาเครียด

การศึกษาครั้งนี้ทราบว่าปริมาณ *B. licheniformis* ในลำไส้ปลาที่เลี้ยงด้วย *B. licheniformis* หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน ปริมาณ *B. licheniformis* ในลำไส้ของปลาที่เสริมด้วยชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* มีปริมาณ *B. licheniformis* ในลำไส้สูงกว่าชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

การศึกษาความสามารถในการต้านทานเชื้อ *V harveyi* หลังการเลี้ยงปลาเป็นเวลา 28 วัน พบว่าชุดทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) และชุดการทดลองที่ 2 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* มีปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองที่ 3 อาหารสำเร็จรูปเสริม *B. licheniformis* ขยาย ไม่ส่งผลต่ออัตรารอดของปลาติดเชื้อ *V. harveyi* สอดคล้องกับ (วิลาวัณย์ และคณะ, 2554) ที่ศึกษาการเสริมโพรไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการรอดของปลานิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ผลการศึกษาการใช้ *B. licheniformis* เสริมในอาหารให้ปลากะพง พบว่าผลการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ค่าโลหิตวิทยา และความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นของการใช้*B. licheniformis* เสริมให้ปลากะพงขาว เพื่อให้ได้ข้อมูลมาใช้เป็นค่ามาตรฐาน สำหรับการใช้ประกอบการศึกษาวิจัยด้านต่างๆ เนื่องจากปลากะพงขาวเลี้ยงเชิญพาณิชย์ เป็นประโยชน์กับการพัฒนา สนับสนุนการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว

ข้อเสนอแนะ

ควรจะทำการศึกษาเพิ่ม เกี่ยวกับการเลี้ยงปลากะพงขาว ปริมาณ *B. licheniformis* ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต อัตราการรอด ค่าโลหิตวิทยา ความสามารถต้านทานเชื้อ *V. harveyi* และใช้เวลาในการเลี้ยงให้นานขึ้นนับเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2531. **การเลี้ยงปลากะพงขาว**. เอกสารแนะนำกรมประมง. ฝ่ายประมงสารนิเทศ กองส่งเสริมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

คณะประมง 2528. **การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. 2551. การเลี้ยงและโรคที่พบในปลานิลที่เลี้ยงในประเทศไทย. *ใน* **การสัมมนาทางวิชาการเรื่องรู้ทันปัญหาสุขภาพและการเลี้ยงปลานิล**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ

ชนกันต์ จิตมนัส, น้ำเพชร ประกอบศิลป์ และสุฤทธิ์ สมบูรณ์ชัย. 2549. การใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิล. *ใน* **รายงานผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยแม่โจ้**, เชียงใหม่.

ดุสิต ต้นวิไลย, พุทธ แซ่ลิ้ม และ ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร. 2529. การศึกษาการพัฒนาการของลูกปลากะพงขาววัยอ่อน, น. 100-107. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 24 สาขาประมง** 27-29 มกราคม 2529 ณ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

นันทริกา ชันซื่อ. 2553. **โรคปลา: อายุรศาสตร์และคลินิกปฏิบัติ.** คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล, เจ เอฟ เทอร์บอบ และชะลอ ลิ้มสุวรรณ. 2537. คู่มือการเลี้ยงและป้องกันโรคกุ้งกุลาดำ. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำกรมประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี, วรางคณา กิจพิพิธ, ชวลิต ผึ้งปฐมภรณ์, ศราวุธ ม่วงเผือก, เอกกมล กมลลาภวรกุล, นาฏยา แบ่งลาภ และเสาวภา เขียนงาม. 2558. ผลของการเสริมซินไบโอติกส์ต่อสมรรถภาพการผลิตไก่เนื้อ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ. **วารสารเกษตร** 31: 349-366.

มหัทธนี ภิญโญ, ภัทรมาศ ถิ่นจันทร์ และวิลาสินี อินญาวิเลิศ. 2561 การใช้กากมะพร้าวและ *Bacillus licheniformis* ในอาหารของปลาตะเพียงขาว. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา** 23(2) : 1165-1177.

เมธาวี รอตมงคลดี, วัฒนะ ลีลาภัทร และวิภาวี ไทเมืองพล. 2560. ผลของโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลาหมอ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี** (ฉบับพิเศษ): 82-89.

วิทยาลัยเทคโนโลยีการเกษตรและประมงปัตตานี ปลากะพง, ม.ป.ป..

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิลาวัณย์ รุ่มรวย, สุรวัฒน์ ชะลอสันติสกุล, สมฤดี ศิลาฤดี และจารุณี เกษรพิกุล. 2554. ผลของคิว.พี.โปรไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล. **วารสารคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยศิลปากร** 2: 1-7.

ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา. 2562. **สถานการณ์โรคปลาทะเล.** กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สโมสรนิสิตคณะประมง. 2531. **การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว** (หลักการและแนวปฏิบัติ). สำนักพิมพ์อนนทรี, กรุงเทพมหานคร.

สุจินต์ มณีวงศ์, นิเวศน์ เรืองพานิช, ธิดา เพชรมณี และฐานันดร์ ทัตตานนท์. 2524. **การเพาะพันธุ์ปลากะพงขาว.** สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ. 2537. **อิมมูโนวิทยา**. เค. พี. พริ้นติ้ง, กรุงเทพฯ.

อัมพร ภิญโญวิทย์. 2545. **มีนวิทยา.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏรำไพพรรณี, กรุงเทพฯ.

Adorrian, T.J., H. Jamail, H.G. Farsani, P. Darvishi, S. Hasanpour, T. Bagheri and R. Roozbehfar. 2018. Effects of probiotics *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activity, and hematological parameters of Asian sea Bass, *Later calcarifer* (Bloch). **Probiotics and Antimicrobial Proteins** 11: 248-255.

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

Amenyogbe E., J. Zhang, J. Huang and G. Chen. 2022. The efficiency of indigenous isolates *Bacillus sp*. RCS1 and *Bacillus cereus* RCS3 on growth performance, blood biochemical indices and resistance against *Vibio harveyi* in cobia fish (*Rachycentron canadian*) juveniles. **Aquaculture Reports** 25: 101241.

Anna L., Muhamadar and I. Sahidhis. 2019. Effects of probiotics (rabal) with different doses on the survival, feed conversion, and growth of giant prawns (*Macrobrachium rosenbergii*). **IOP Conference Series Earth and Environmental Science** 348(1): 012083

Arena, A., T.L. Maugeri, B. Pavone, D. Iannello, C. Gugliandolo and G. Bisignano. 2006. Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopolysaccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis*. **International Immunopharmacology** 6: 8-13.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Balcázar, J.L., I. d. Blas, I. Ruiz-Zarzuela, D. Vendrell, J.L. Muzquiz. 2006. The roll of probiotics in aquaculture. **Veterinary Microbiology** 114: 173–186.

Chomdej, W. 1986. Technical Manual for Seed Production of Sea bass. Songkhla: National Institute of Coastal Aquaculture, Department of Fisheries, Agricultural and Cooperative Ministry.

De Boer, A.S., F. Priest and B. Diderichsen. 1994. On the industrial use of *Bacillus licheniformis*: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology** 40: 595-598.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology** 66: 365-378.

Ghanei - Motlagh, R., D. Gharibi, T. Mohammadian, M. Khosravi, E. Mahmoudi, M. Zaren, S. Menanteau-Ledouble and M. El-Matbouil. 2021. Feed supplementation with quorum quenching probiotics with anti-virulence potential improved innate immune responses, antioxidant capacity and disease resistance in Asian seabass (*Later calcarifer*). **Aquaculture** 535: 736345.

Ishimaru, K. and K. Muroga. 1997. Taxonomical re-evamination of two pathogenic *Vibrio* species isolated from milk-fish and swimming crab. **Fish Pathology** 32(1): 59–64.

Karunasagar I., R. Pai, G.R. Malathi and I. Karunasagar. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibio harveyi* infection. **Aquaculture**. 128(3-4): 203-209.

Kraxberger-Beatty, T., D.J. McGarey, H.J. Grier and D.V. Lim. 1990. *Vibrio harveyi*, an opportunistic pathogen of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), held in captivity. **Journal of Fish Diseases** 13(6): 557–560.

Pizzuto, M. and R.G. Hirst. 1995. Classification of isolates of *Vibrio harveyi* virulent to *Penaeus monodon* larvae by protein profile analysis and M13 DNA fingerprinting. **Disease of Aquatic Organisms** 21: 61–68.

Zhang, X.-H., P.G. Meaden and B. Austin. 2001. Duplication of hemolysin genes in a virulent isolate of *Vibrio harveyi*. **Applied and Environmental Microbiology** 67: 3161–3167.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhang, X.-H., X. He and B. Austin. 2020. *Vibio harveyi*: a serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. **Marine Life Science and Technology** 2: 231-145.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

1. ได้รับความรู้ใหม่ และทักษะในการทำงานและประสบการณ์ในสภาวะการทำงานจริง ของสถานที่ประกอบการ

2. ได้เข้าใจการทำงานกับผู้อื่น วัฒนธรรมของสถานที่ประกอบการ

3. สร้างเสริมลักษณะนิสัย ให้ตัวเองเป็นคนมีระเบียบวินัยมากขึ้น ตรงต่อเวลา มีความอดทนและเกิดความขยันมั่นเพียร เข้ากับสังคมการทำงาน

4. ได้พัฒนาบุคลิกภาพ สร้างความมั่นใจในการทำงาน การกล้าแสดงออกและแสดง ความคิดเห็นมากขึ้น

5. ได้รับประสบการณ์วิชาชีพตามสาขาวิชาที่เรียนเพิ่มเติมนอกเหนือไปจากการเรียนในห้องเรียน เห็นถึงความแตกต่างของการเรียนและการท้างานจริงได้อย่างชัดเจน

6. มีน้ำใจต่อผู้อื่นในที่ทำงานเป็นการเสริมสร้างมนุษย์สัมพันธ์ และ ส่งเสริมความสัมพันธ์ต่อเราและผู้ร่วมงาน

7. รู้จักลำดับความคิด ความสำคัญของการทำงานท้าให้มีความละเอียดและรอบคอบมากขึ้นในการทำงาน จึงได้งานที่ดีมีคุณภาพ

8. เสริมสร้างความเป็นมืออาชีพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาพกิจกรรมที่ได้เข้าร่วมระหว่างการฝึกปฏิบัติสหกิจศึกษา

ภาพระหว่างการศึกษาวิจัยและทดลองในโครงงานพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพกิจกรรมที่ได้เข้าร่วมระหว่างการฝึกปฏิบัติสหกิจศึกษา

ภาพผนวกที่ 1 งานเลี้ยงส่ง

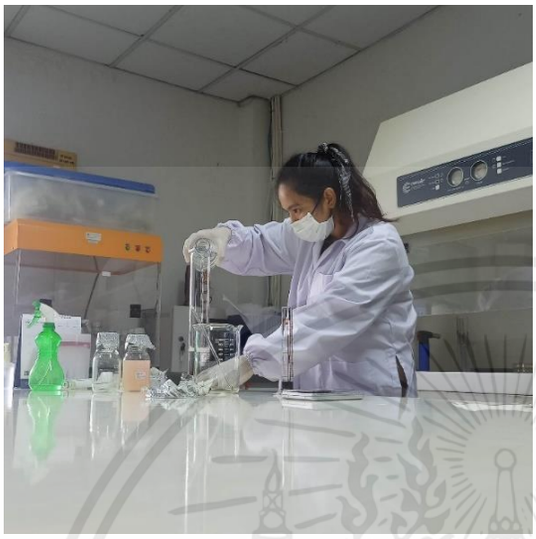
ภาพผนวกที่ 2 กิจกรรมการแข่งขันกีฬาสีประมง สัมพันธ์ระหว่างหน่วยงาน

ภาพผนวกที่ 3 กิจกรรมพัฒนาหน่วยงาน

ภาพผนวกที่ 4 กีฬาสีภายในหน่วยงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

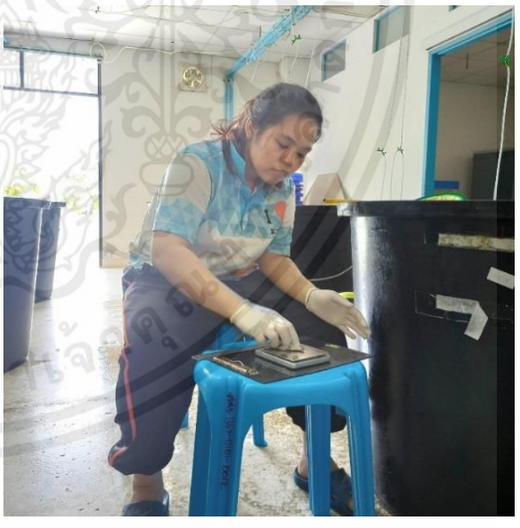
ภาพระหว่างการศึกษาวิจัยและทดลองในโครงงานพิเศษ



ภาพผนวกที่ 5 การเตรียม *Bacillus licheniformis* ขยาย

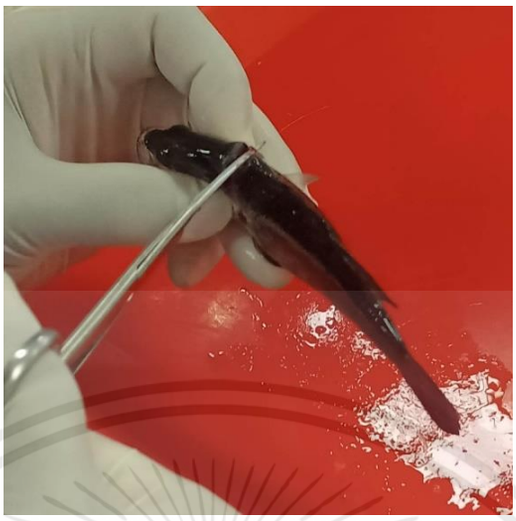
ภาพผนวกที่ 6 ชั่งนน.ปลาก่อนทำการทดลอง

ภาพผนวกที่ 7 ให้อาหารทดลอง



ภาพผนวกที่ 8 ชั่งน้ำหนักหลังจบการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 9 ผ่าเพื่อเอาอวัยวะเป้าหมาย (ลำไส้) เพื่อตรวจเช็ค *Bacillus licheniformis* ในลำไส้ปลา

ภาพผนวกที่ 10 เลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* เพื่อนำไปฉีดปลา

ภาพผนวกที่ 11 ฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลา

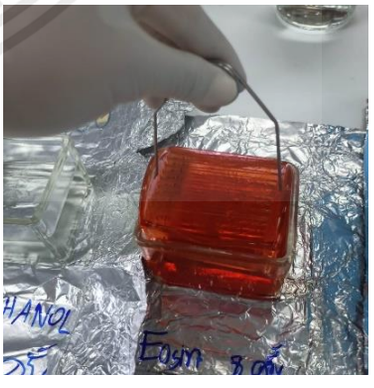
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวกที่ 12 เช็คการตายของปลาที่ฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi*

ภาพผนวกที่ 13 เปลี่ยนถ่ายน้ำปลากะพงที่ฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi*

ภาพผนวกที่ 14 เจาะเลือด

ภาพผนวกที่ 15 การสเมียร์เลือดปลา



ภาพผนวกที่ 16 การย้อมสีเม็ดเลือดปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้