การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกกระตุ้นการเจริญของกุ้ง

The Application of Probiotics for Growth Stimulation in Shrimp

นางสาวพิมพ์รภัทร สวัสดิ์มา
นางสาววรัญญา ตรากลาง

โครงงานพิเศษ นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE APPLICATION OF PROBIOTICS FOR GROWTH STIMULATION IN SHRIMP

PIMRAPAT SAWATMA
WARANYA TRAKLANG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTAIL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DIGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT’S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกกระตุ้นการเจริญของกุ้ง The Application of Probiotics for Growth Stimulation in Shrimp
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิมพ์รภัทร สวัสดิ์มา รหัสนักศึกษา 62050524 นางสาววรัญญา ตรากลาง รหัสนักศึกษา 62050535
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการ	
ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกกระตุ้นการเจริญของกุ้ง The Application of Probiotics for Growth Stimulation in Shrimp
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิมพ์รภัทร สวัสดิ์มา รหัสนักศึกษา 62050524
	นางสาววรัญญา ตรากลาง รหัสนักศึกษา 62050535
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโปรไบโอติกสามชนิด BM, BS และ BP_2 เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง YM โดยทดลองแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ชุดควบคุมให้อาหารสำเร็จรูป (ไม่มีโพรไบโอติก) ชุดทดสอบ 1 (อาหารสำเร็จรูปร่วมกับโพรไบโอติกเพิ่มขึ้นวันละ 5 มิลลิลิตร) และชุดทดสอบ 2 (อาหารให้อาหารสำเร็จรูปร่วมกับให้โพรไบโอติกเพิ่มขึ้นวันละ 10 มิลลิลิตร) เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเลี้ยง 7 วัน พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวชุดทดสอบ 1 เท่ากับ 0.04±0.03 ในขณะเดียวกันน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวชุดควบคุม และชุดทดสอบ 2 เท่ากับ 0.03±0.02 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน และความยาวกุ้งขาวของชุดทดสอบ 1 เท่ากับ 2.01±0.42 ซึ่งมีอัตราการเจริญมากที่สุด ตามด้วยชุดทดสอบ 2 เท่ากับ 1.94±0.35 และชุดควบคุม เท่ากับ 1.68±0.15 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยการเสริมเชื้อโพรไบโอติกที่เหมาะสม ทำให้กุ้งขาวมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี และอีกทั้งยังพบว่า การเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเสริมเชื้อผสมโพรไบโอติกชุดทดสอบ 1 มีประสิทธิภาพมากที่สุดต่อการเจริญของกุ้งขาว จากการทดสอบนี้จึงสามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวเพื่อเพิ่มผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The Application of Probiotics for Growth Stimulation in Shrimp
Students	Miss Pimrapat Sawatma Student ID 62050524
	Miss Waranya Traklang Student ID 62050535
Degree	Bachelor of Science (Industrial Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krirak

Abstract

The efficacy of three probiotics bacteria BM, BS and BP_2 conditions were also tasted. Cultured in modified YM medium by tested into three groups. Control group was fed with the pelleted feed (no probiotic), treatment group 1 fed with feed mixed probiotic at rate of increase by 5 ml/day and treatment group 2 fed with feed mixed probiotic at rate of increase by 10 per day. At the end of 7 day culture period, the growth rate of Shrimp in treatment group 1 was 0.04±0.03, while the mean weight of control group and treatment group 2 was 0.03±0.02, which was not different. and white shrimp length of treatment group 1 was 2.01±0.42, which had the highest growth rate. followed by treatment group 2 was 1.94±0.35 and control group was 1.68±0.15 respectively. The study found that White shrimp culture with appropriate probiotic Causing white shrimp to have a good growth rate And also found Shrimp culture probiotic treatment group 1 was the most effective for white shrimp growth. From this test, this method can be used in aquaculture of white shrimp to increase aquaculture yield.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์และความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาคำแนะนำ เสนอข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ตลอดจนคอยสนับสนุนให้ กำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการ และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษครั้งนี้ ซึ่งคอยชี้แนะ และแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ เจริญสุขฟาร์มกุ้ง จ.ฉะเชิงเทรา ที่ให้ความอนุเคราะห์ลูกกุ้ง ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการทุกท่านอำนวยความสะดวกเรื่องต่าง ๆ ในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้ และบุคคลอื่นอีกหลายท่านที่ไม่สามารถนำมากล่าวได้ทั้งหมด

สุดท้าย ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ บิดา มารดา สมาชิกในครอบครัวทุกท่านที่ให้ทุนและกำลังใจในการศึกษาวิจัย โครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ แก่ผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย และสำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ อาจเกิดขึ้น ผู้วิจัย น้อมรับผิด และยินดีรับฟังคำแนะนำ ชี้แนะ จากทุกท่านที่ให้เข้ามาศึกษาเพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยอื่น ๆ ต่อไป

นางสาวพิมพ์รภัทร สวัสดิ์มา
นางสาววรัญญา ตรากลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 กุ้งขาวแวนนาไม	3
2.1.1 อนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาม	3
2.1.2 ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม	3
2.1.3 วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์	4
2.1.4 การเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทย	7
2.1.5 พฤติกรรมการกินอาหาร	8
2.1.6 โรคที่มักเกิดกับกุ้งขาว	8
2.2 โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	9
2.2.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค	12
2.2.2 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง	12
2.2.3 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้ง	12
2.3 ชนิดของแบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	13
2.3.1 แบคทีเรียแลกติก	13
2.3.2 บาซิลลัส	14
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 19
3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง 19
3.2 เชื้อแบคทีเรีย 19
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 19
3.4 เครื่องมือวิทยาศาสตร์ 19
3.5 อุปกรณ์ 20
3.6 การเตรียมน้ำทะเลเทียมสำหรับการอนุบาลกุ้ง 20
3.7 การอนุบาลกุ้งขาว 20
3.8 การเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งขาว 21
3.9 วิธีการทดลอง 21
3.9.1 การศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา 21
3.9.2 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อโพรไบโอติก 21
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 22
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 22
4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติก 23
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 26
5.1 สรุปผลการวิจัย 26
5.2 ข้อเสนอแนะ 26
เอกสารอ้างอิง 28
ภาคผนวก 34
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายเชื้อผสมโพรไบโอติก 35
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	วงจรชีวิตกุ้งขาว	5
2.2	จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก	10
2.3	ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp.	15
2.4	เอนโดสปอร์ของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp.	15
2.5	วงจรชีวิตของการสร้างสปอร์	17
4.1	แสดงน้ำหนักและความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวชุดควบคุมเปรียบเทียบกับ ชุดทดสอบ 1 และ ชุดทดสอบ 2	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ชนิดของโพรไบโอติกและการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆ................ 11
4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก 22
4.2 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาว (กรัม) ชุดควบคุมเปรียบเทียบกับ...
ชุดทดสอบโพรไบโอติก 1 และชุดทดสอบโพรไบโอติก 2 24
4.3 ความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาว (กรัม) ชุดควบคุมเปรียบเทียบกับ..
ชุดทดสอบโพรไบโอติก 1 และชุดทดสอบโพรไบโอติก 2 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus* vannamei) เป็นกุ้งที่เลี้ยงได้ทั้งในระบบธรรมชาติและระบบกึ่งหนาแน่น กุ้งขาวแวนนาไมสามารถกินอาหารได้หลากหลายทั้งพืช และสัตว์ ซากแพลงก์ตอน ตะกอนสารอินทรีย์ ตลอดถึงอาหารสดและอาหารเม็ดสำเร็จรูปได้ดี อย่างไรก็ตามอาหารของกุ้งขาวเป็นต้นทุนหลักในการเลี้ยง การให้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตได้ โดยปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ คือ ขบวนการผลิตอาหาร พฤติกรรมการกินอาหาร ปริมาณอาหารธรรมชาติที่สัตว์น้ำได้รับ ขนาด และระยะพัฒนาของสัตว์น้ำ (Tacon, 1991)

ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมค่อยๆ มุ่งไปสู่อุตสาหกรรมการทำฟาร์มขนาดใหญ่ที่มีความหนาแน่นสูง และมลพิษของสิ่งแวดล้อมในน้ำ ส่งผลให้เกิดโรคเกี่ยวกับลำไส้ของกุ้ง เช่น ลำไส้อักเสบจากแบคทีเรีย อุจจาระขาว ทำให้การเจริญเติบโตของกุ้งลดลง และการตายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งเกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมาก ในกระบวนการควบคุมโรคมีการใช้ยาปฏิชีวนะและยาที่ใช้สารเคมีอื่น ๆ ในปริมาณมาก และในระยะยาวแบคทีเรียจะดื้อต่อยาปฏิชีวนะทำให้ผลการรักษาลดลง นอกจากนี้ การตกค้างของยาจำนวนมาก และการปล่อยน้ำเสียจากแหล่งเพาะพันธุ์ยังก่อให้เกิดอันตรายต่อสภาพแวดล้อมทางนิเวศวิทยาโดยรอบจนไปถึงสุขภาพของมนุษย์ และยังก่อให้เกิดปัญหาในด้านอื่นๆ เช่น สภาพแวดล้อมทางนิเวศวิทยา และความปลอดภัยของอาหาร (Zhou *et al*., 2009) ดังนั้น จึงมีการนำโพรไบโอติกมาใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการใช้โพรไบโอติกในอาหารสัตว์สามารถเพิ่มความต้านทานของกุ้งขาวต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* และลดความอุดมสมบูรณ์ของ *Vibrio* spp. ในลำไส้ของกุ้งได้ (Zokaeifar *et al*., 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 เพาะเลี้ยงกุ้งขาวตั้งแต่วัยอ่อนระยะที่ 4 โพสลาวา (post larva)

1.3.2 เพาะเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก 3 รหัส ได้แก่ BM, BS และ BP_2

1.3.3 ทดสอบกุ้งขาวที่ได้รับเชื้อที่เตรียมได้จากอาหารทดลองเพื่อเปรียบเทียบน้ำหนัก ความยาวและอัตราการตายของกุ้งขาว

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 คุณสมบัติของเชื้อโพรไบโอติกที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อมีประสิทธิภาพต่อการนำมาเพาะเลี้ยงกุ้งขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กุ้งขาวแวนนาไม

2.1.1 อนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาไม

จัดจำแนกโดย Holthuis (1980) Farfante and Kensley (1997) ดังนี้

Phylum Arthropoda
Class Crustacea
Subclass Malacostraca
Order Decapoda
Suborder Natantia
Family Penacidae
Genus penaeus
Species vannamei

2.1.2 ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* เป็นกุ้งสายพันธุ์หลักของทวีปอเมริกา ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ.1931 ชื่อภาษาอังกฤษโดยทั่วไปจะเรียก White leg shrimp, Pacific white shrimp โดยลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของกุ้งขาวจะคล้ายกับกุ้งกุลาดำ ซึ่งอยู่ในตระกูล Penaeidae เหมือนกัน โดยกุ้งขาวจะมีลำตัว 6 ปล้อง ส่วนหัว 1 ปล้อง ส่วนหาง 1 ปล้อง หน้าอกใหญ่ลักษณะลำตัวขาวใส ขาสีขาว หางมีสีแดง โดยเฉพาะบริเวณปลายหางจะมีสีแดงเข้ม กรีจะมีแนวตรงปลายงุ้มลงเล็กน้อย เมื่อโตขึ้นฟันกรีด้านบนจะมี 8 ซี่ และด้านล่าง 2 ซี่ ความยาวของกรี จะยาวกว่าลูกตาไม่มาก มีเมือกมาก ซึ่งไม่เหมือนกับกุ้งขาวบางชนิด ที่สามารถสังเกตเห็นได้ว่ามีเมือกน้อย ลำตัวค่อนข้างแห้งเร็วเมื่อนำขึ้นมาจากน้ำ และที่สังเกตได้เด่นชัดที่สุดคือลำไส้ของกุ้งชนิดนี้จะโตเห็นได้ชัดกว่ากุ้งชนิดอื่น (ภิญโญ, 2545) กุ้งขาวขนาดตัวที่โตสมบูรณ์เต็มที่จะมีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ โดยความยาวจากปลายกรีหัวจนถึงหางยาวประมาณ 230 มิลลิเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 120 กรัม และกุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีการปรับตัวต่อสิ่งแวดล้อมได้ดี โดยเฉพาะสามารถปรับตัวในช่วงความเค็มกว้างตั้งแต่ 0-50 พีพีที ความเค็มที่เหมาะสมคือ 10-30 พีพีที ปรับตัวอยู่ในอุณหภูมิตั้งแต่ 24-32 องศาเซลเซียส แต่จะเหมาะสมที่สุดที่ 28-30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตดี ลอกคราบบ่อย จึงต้องการแร่ธาตุสูง โดยเฉพาะแมกนีเซียม และแคลเซียม กุ้งขาวเคลื่อนตัวได้เร็ว ว่ายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ตลอดเวลา จึงต้องการออกซิเจนค่อนข้างสูง กินอาหารได้หลายชนิดที่มีอยู่ในธรรมชาติในทุกระดับความลึก ชอบว่ายน้ำและไม่หมกตัว (ปิยะบุตร, 2545)

ชลอ และ พรเลิศ (2547) ได้อธิบายลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม ที่สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน ได้แก่ เห็นลำไส้ชัดเจนกว่ากุ้งขาวชนิดอื่น ๆ ความยาวของกรีจะยาวกว่าลูกตาไม่มาก ปลายกรีมีลักษณะตรง บริเวณฟันกรี (หนาม) ด้านบนจะหยักและถี่มีฟันกรีด้านบน 8 อัน และด้านล่าง 2 อัน

2.1.3 วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์

ในธรรมชาติกุ้งขาวจะมีอายุประมาณเกือบ 36 เดือน วางไข่ที่ระดับน้ำลึกประมาณ 30-60 เมตร ใกล้พื้นทราย ตัวผู้ และตัวเมียที่มีอายุ 9 เดือนขึ้นไป ควรมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นของตัวผู้ 35 กรัม ตัวเมีย 40 กรัมขึ้นไป ปกติแม่กุ้ง จะวางไข่ประมาณ 100,000-250,000 ฟอง โดยจะวางไข่ในตอนกลางคืนบนพื้น แม่กุ้งจะว่ายน้ำอย่างรวดเร็วอยู่ประมาณ 45-60 วินาที แล้วจึงเริ่มวางไข่ขณะที่ลดความเร็วลงอย่างช้าๆ เนื่องจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งขาวจะมีลักษณะแบบเปิด (สุดารัตน์, 2549) ซึ่งแตกต่างจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบปิด ดังนั้น รูปแบบการสืบพันธุ์ และพฤติกรรมในการผสมพันธุ์จึงแตกต่างกับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย (ปิยะบุตร, 2545) เมื่อผสมพันธุ์ตัวผู้จะสลัดถุงน้ำเชื้อเข้าไปเก็บไว้ในอวัยวะเพศของตัวเมีย ถุงน้ำเชื้อจะมีปีกบางๆ และมีสารเหนียวๆ ติดมาด้วยจะปิดอวัยวะเพศของเพศเมีย (จิรพร, 2546) โดยสารเหนียวที่ปีกบางๆ เป็นตัวทำให้เกาะติด การผสมพันธุ์ของกุ้งขาวนี้สามารถผสมพันธุ์โดยไม่ต้องรอให้ตัวเมียลอกคราบ (ภิญโญ, 2545)

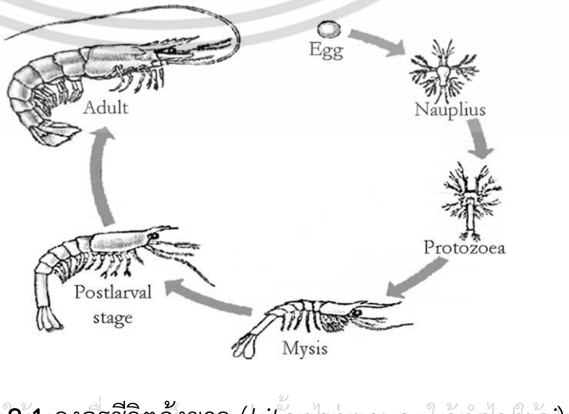
ในการผสมพันธุ์ ปกติแล้วกุ้งขาวจะผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน หลังจากมีการลอกคราบของตัวเมียจะมีการเกี้ยวพาราสี และผสมพันธุ์กันที่ความลึก 10-15 เมตร ถึง 30-50 เมตร แม่กุ้งที่มีไข่แก่พร้อมที่จะวางไข่สังเกตได้จากรังไข่ และลำตัวทึบมีสีเขียวเกือบดำอยู่บนแถบหลังของลำตัว ตั้งแต่บริเวณหลังไปจรดหาง และตรงบริเวณด้านข้างของลำตัว ตรงปล้องที่ 1-2 จะเห็นรังไข่แผ่ออกไปเป็นหยัก ๆ โค้งลงมาทางด้านข้างของลำตัวทั้งสองข้าง โดยมีพฤติกรรมในการผสมพันธุ์แบ่งได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่หนึ่ง ตัวเมียจะว่ายน้ำขนานไปกับตัวผู้ ตัวเมียจะว่ายน้ำสูงกว่าประมาณ 30-40 เซนติเมตร แล้วว่ายน้ำวกกลับมาสลับกับการหยุดพักที่พื้นเป็นระยะ ๆ มักจะมีตัวผู้ว่ายไล่ตามหลายตัว แต่จะมีเพียงตัวเดียวที่สามารถว่ายน้ำเข้ามาขนานซ้อนอยู่ด้านล่างของตัวเมียพอดีแล้วตัวเมียจะค่อย ๆ ใช้ขาเดินโอบรัดที่ส่วนหัวของตัวผู้ ใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที ถ้าตัวผู้สามารถจัดตำแหน่งได้เหมาะสม ถ้ายังจัดตำแหน่งไม่เหมาะสมหรือมีการหยุดพักนานจะใช้เวลานานมากกว่าหนึ่งชั่วโมง ระยะที่สอง ตัวผู้จะพลิกตัวค่อย ๆ หงายขึ้นมาติดตัวเมีย พอทั้งคู่ประกบกันได้ตัวผู้จะแนบส่วนต่อของอกกับท้องเข้ากับส่วนอกด้านล่างของตัวเมีย ซึ่งจะทำให้ตัวผู้ตัวอื่น ๆ หมดโอกาสในการเข้าทำการผสมพันธุ์กับตัวเมีย แต่ถ้าในระยะนี้ตัวผู้ยังเข้าทำได้ไม่สำเร็จ ตัวผู้จะกลับมาอยู่ในท่าคว่ำ แล้วจะพยายามว่ายน้ำขนานกับตัวเมียเพื่อสร้างโอกาสใหม่อีกครั้ง และระยะที่สาม ตัวผู้จะทำตัวเกือบตั้งฉาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่ได้จำกัดตามเงื่อนไขการใช้งาน ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับตัวเมีย หลังจากจังหวะที่ประกบตัวได้แล้ว ตัวผู้จะใช้ขาเดินคู่ที่ 5 เขี่ยอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (พีแทสมา) ซึ่งเห็นง่าย มีลักษณะเป็นตะขอคู่อยู่ที่ขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 ซึ่งเป็นอวัยวะที่ช่วยในการปล่อยน้ำเชื้อ แล้วจับพีแทสมา สอดเข้าไปที่ทีไลคัมของตัวเมียซึ่งลักษณะเป็นแผ่นรูปคล้ายผีเสื้อกางปีก มีรูเปิดอยู่ตรงกลางยาวลง ไปเป็นร่องเหมือนรังกระดุมเสื้อเชิ้ต อยู่ตรงกลางระหว่างขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 กับขาเดินคู่ที่ 5 ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีไว้สำหรับเก็บน้ำเชื้อของกุ้งตัวผู้ ภายหลังการเกาะติดแน่น ตัวผู้จะโค้งรอบตัวเมีย แล้วกระตุกหัวและหางเป็นจังหวะอย่างต่อเนื่องเพื่อบีบให้น้ำเชื้อออกมา ตัวเมียจะเก็บน้ำเชื้อเข้าไปแล้วปล่อยไข่เลย ซึ่งในกุ้งขาวนี้ไข่ของตัวเมียจะอยู่ข้างใน ส่วนของน้ำเชื้อที่เข้าไปจะอยู่ด้านนอก โดยช่องเปิดของทีไลคัมต้องเปิดก่อนถึงจะเก็บน้ำเชื้อที่ได้รับมา ทำให้ปริมาณของเชื้อตัวผู้ที่เข้าปฏิสนธิกับไข่เป็นไปอย่างไม่สมบูรณ์ เป็นเหตุให้โอกาสในการได้ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วเจริญต่อไปเป็นตัวอ่อนน้อยกว่ากรณีของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย หลังจากนั้นจึงค่อยแยกตัวออกจากกันแล้วว่ายน้ำ ออกไปในเวลา 2-3 วินาที ซึ่งรวมเวลาทั้งสิ้นในการผสมพันธุ์ทั้งหมดประมาณ 1-3 ชั่วโมง แล้วแม่กุ้งทำการปล่อยไข่ขณะที่ลดความเร็วการว่ายน้ำลงอย่างช้า ๆ ออกทางช่องเปิดบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ประมาณ 45-60 วินาที การวางไข่นี้จะใช้เวลา 3-5 นาที ถ้ากุ้งวางไข่จะสามารถสังเกตเห็นคราบไขมันลอยอยู่บริเวณใกล้เคียง

ตัวอ่อนของกุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไมมีการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงการลอกคราบโดยไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจะมีลักษณะกลมมีเมือกห่อหุ้มเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.22 มิลลิเมตร ไข่จะจมลงสู่พื้นเพราะหนักกว่าน้ำทะเลเล็กน้อย ปกติไข่กุ้งจะฟักเป็นตัวในบริเวณที่วางไข่ จากนั้นลูกกุ้งวัยอ่อนจะเคลื่อนย้ายเข้าสู่บริเวณชายฝั่งในย่านน้ำกร่อย ซึ่งเป็นบริเวณที่มีอาหารธรรมชาติสมบูรณ์ ลูกกุ้งจะเลี้ยงตัวเองอยู่บริเวณนี้จนโตถึงขั้นพ่อแม่พันธุ์จึงค่อยอพยพสู่ทะเลลึก เพื่อทำการสืบพันธุ์วางไข่ต่อไป

การพัฒนาตัวอ่อนระยะของกุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไม เมื่อไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วภายใน 12-14 ชั่วโมง ก็จะฟักเป็นตัวอ่อน ในระยะนอเพียส (nauplius) ลูกกุ้งที่ฟักออกมาเป็นตัวโดยมีวงจรชีวิต ดังนี้ รูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

ที่มา : Isa *et al.* (2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ ... ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อห ... องเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.1 ตัวอ่อนระยะที่ 1 นอเพียส (nauplius) รูปร่างคล้ายแมงมุม ยังไม่ต้องการอาหารเนื่องจากมีถุงอาหาร (yolk sac) ติดอยู่กับลำตัว ตัวอ่อนระยะนี้จะผ่านการลอกคราบ 5-6 ครั้งภายในเวลา 36-48 ชั่วโมง ก่อนจะเข้าสู่ระยะที่ 2

2.3.3.2 ตัวอ่อนระยะที่ 2 โปรโตซูเอีย (protozoea) ตัวอ่อนระยะนี้จะมีลำตัวยาวขึ้น ส่วนหัวและลำตัวแยกจากกันอย่างเห็นได้ชัดเจน ระยะนี้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง 3 ขั้นตอน ใช้ระยะเวลาประมาณ 4-7 วัน

2.1.3.3 ตัวอ่อนระยะที่ 3 ไมซีส (mysis) ระยะลูกกุ้งจะมีลักษณะคล้ายลูกกุ้งวัยรุ่น แต่การว่ายน้ำยังว่ายน้ำแบบหัวทิ่มลงและดีดขึ้นลง พัฒนาการของลูกกุ้งระยะนี้มี 3 ขั้นตอน ใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 5-7 วัน

2.1.3.4 วัยอ่อนระยะที่ 4 โพสลาวา (post larva) ลูกกุ้งระยะนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับลูกกุ้งวัยรุ่นมากขึ้น มีอวัยวะต่างๆเกือบครบทุกส่วน และพัฒนาการไปเรื่อย ๆ จนเข้าสู่ระยะกุ้งวัยรุ่น ในการเพาะเลี้ยงในบ่อดิน หากอนุบาลลูกกุ้งให้โตไปจนถึงช่วงโพสต์ลาวา PL-15 เป็นต้นไป ก็สามารถที่จะใช้เป็นพันธุ์สำหรับปล่อยเลี้ยงได้ ที่ประเทศเม็กซิโกมีการอนุบาลไปจนถึงขนาด PL-45 ลูกกุ้งในระยะโพสต์ลาวานี้จะมีขาเดิน 3 คู่ คู่แรกมองเห็นเป็นก้ามชัดเจน หางแคบเข้าเป็นระยะที่มีระยางค์ครบ มีขากรรไกร (mandible) ที่ชัดเจน ขาว่ายน้ำเจริญให้เห็นชัดเจนขึ้นกรีสั้นกว่าดวงตา ระยะระหว่างตากางออกมองเห็นได้ชัดเจน ลักษณะลำตัวสั้นป้อมจะมีลักษณะใสมีเส้นสีน้ำตาลพาดยาวจากบริเวณหนวดถึงหางโดยปล้องท้องปล้องที่ 6 จะยาวกว่าปล้องหัวเล็กน้อย กุ้งวัยรุ่น ลูกกุ้งจะมีขนาดตัวโตขึ้นโดยมีการเจริญของเหงือกที่สมบูรณ์ กุ้งในระยะนี้จะมีการพัฒนาของกรีอย่างเต็มที่ มองเห็นกรีด้านบนมี 8-9 ฟัน ค่ากลางที่พบประมาณ 8 ฟัน และกรีด้านล่างมี 1-2 ฟัน ค่ากลางที่พบประมาณ 2 ฟัน ความยาวกรีจะสั้นกว่า exopodite ของหนวด ปลายกรีเรียวตรง การเคลื่อนไหวจะคล้ายกับกุ้งที่โตเต็มที่แล้ว คือ ใช้ขาเดินและขาว่ายน้ำ

2.1.3.5 ลูกกุ้งชำ (adolescent) ระยะนี้ลูกกุ้งจะมีอวัยวะครบสมบูรณ์เช่นเดียวกับพ่อแม่ทุกอย่างสามารถแยกเพศได้เนื่องจากการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ของอวัยวะสืบพันธุ์ในตัวผู้จะมี petasma สมบูรณ์ ในตัวเมียจะมี thelycum สมบูรณ์ ลูกกุ้งวัยเจริญพันธุ์ (subadult) ลูกกุ้งในระยะนี้จะมีความสมบูรณ์ทางเพศโดยตัวผู้จะมีการผลิตน้ำเชื้อและเก็บเอาไว้ในถุงเก็บน้ำเชื้อ (terminal ampules) และถ้ามีการผสมพันธุ์ตัวเมียสามารถเก็บน้ำเชื้อใน thelycum การผสมพันธุ์ครั้งแรกมักจะเริ่มเมื่อตัวผู้มีความยาวของปล้องหัวตั้งแต่ประมาณ 30 มิลลิเมตร และตัวเมียมีความยาวปล้องหัวประมาณ 40 มิลลิเมตร ขึ้นไป ถ้าอยู่ในธรรมชาติกุ้งจะผสมพันธุ์ในบริเวณชายฝั่งในย่านน้ำกร่อยก่อนในครั้งแรก แล้วจึงอพยพไปสู่บริเวณทะเลน้ำลึกต่อไป กุ้งโตเต็มวัย (adult) กุ้งระยะนี้จะมีการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์แบบ ผสมพันธุ์กันที่ความลึก 10-15 เมตร ในธรรมชาติโดยมีการผสมพันธุ์ได้หลายครั้ง จะมีการลอกคราบทุก 7-10 วัน ในตัวเมีย และตัวผู้จะลอกคราบทุก 14-21 วัน ตัวเมียสามารถจะวางไข่ได้ทั้งในน้ำตื้นและน้ำลึก (ปิยะบุตร, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนสิทธิ์ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ... ถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 การเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทย

แยกตามความเค็มของน้ำได้เป็น 2 แบบ ได้แก่ (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

2.1.4.1 การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยน้ำความเค็มต่ำ เป็นการเลี้ยงในเขตพื้นที่น้ำจืด เช่น พื้นที่ทางภาคกลางใช้น้ำความเข้มต่ำมากจนเกือบจะเป็นระดับที่ถือว่าเป็นน้ำจืด โดยจะใช้น้ำเค็มจากนาเกลือที่มีความเค็ม 100-200 พีพีที มาเติมในน้ำจืดเพื่อให้ระดับความเค็มประมาณ 3-4 พีพีที แล้วทำการเลี้ยงในระบบปิด มีการถ่ายน้ำน้อยส่วนใหญ่จะกั้นคอกก่อน โดยใช้พลาสติกพื้นที่ประมาณ 100 ตารางเมตร ความลึกประมาณ 80 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำจากนาเกลือเข้าไปในคอกจนได้ความเค็มประมาณ 8-10 พีพีที หลังจากนั้นก็จะใช้ลูกกุ้งซึ่งปรับความเค็มจากโรงเพาะฟักมาแล้วโดยลูกกุ้งระยะโพสลาร์วา 10-12 มาปล่อยในคอก อนุบาลประมาณ 3-4 วัน ก็เปิดคอกออก จะไม่นิยมอนุบาลนานเกินไปเพราะอาจจะมีการกินกันเอง ส่วนอีกวิธีหนึ่งเกษตรกรจะไม่ทำคอกเหมือนกุ้งกุลาดำ คือเตรียมน้ำความเค็มประมาณ 3-5 พีพีที ทั้งบ่อแล้วให้ทางโรงเพาะฟักปรับความเค็มของลูกกุ้งอยู่ที่ความเค็มต่ำที่สุดประมาณใกล้เคียง กับที่ปล่อยในบ่อ แล้วนำลูกกุ้งมาปล่อย

2.1.4.2 การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยน้ำความเค็มปกติ การเลี้ยงกุ้งขาวด้วยน้ำความเค็มปกติ คือน้ำที่มีความเค็ม 10 พีพีทีขึ้นไป ในพื้นที่ริมชายฝั่งทะเลโดยเฉพาะการเลี้ยงทางภาคใต้และภาคตะวันออก ส่วนใหญ่จะมีการปล่อยลูกกุ้งอย่างหนาแน่นมากกว่า 120,000 ตัวต่อไร่ ทำให้ผลผลิตของกุ้งขาวแวนนาไมสูงมากกว่า 2 ตันต่อไร่ โดยการเลี้ยงด้วยน้ำความเค็มปกตินั้นจะได้ผลดีกว่าน้ำความเค็มต่ำ เนื่องจากมีการถ่ายน้ำในปริมาณที่มากในช่วงท้ายๆ ของการเลี้ยงได้

รูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีทั้งหมด 4 ระบบ ได้แก่ (Jory and Cebrera, 2003)

a. Extensive system คือ ระบบการเลี้ยงกุ้งแบบดั้งเดิมหรือความหนาแน่นต่ำ โดยปล่อยลูก กุ้งที่ได้จากธรรมชาติเข้าไปในบ่อในอัตราความหนาแน่นต่ำ รูปแบบและขนาดของบ่อไม่แน่นอน กุ้งจะกินอาหารจากธรรมชาติที่มีอยู่ในบ่อเลี้ยง อาจมีการเลี้ยงปลากินพืชรวมอยู่ด้วย การเปลี่ยนถ่าย น้ำจะอาศัยน้ำขึ้นน้ำลง (โดยทั่วไปประมาณน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) โดยการเลี้ยงในระบบนี้ จะใช้ระยะเวลาการเลี้ยงประมาณ 100-140 วัน ได้ผลผลิตต่ำ

b. Semi-intensive system คือ ระบบการเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งพัฒนาหรือมีความหนาแน่นปานกลาง โดยฟาร์มส่วนใหญ่อยู่เหนือเขตน้ำขึ้นสูงสุด มีการสูบน้ำเข้ามาเก็บในบ่อพักน้ำ ในการเตรียม บ่อจะมีการเติมแร่ธาตุและปุ๋ยเพื่อเพิ่มอาหารธรรมชาติ ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีปริมาณโปรตีน 20-40 เปอร์เซ็นต์ มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 5-15 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในบ่อต่อวัน ได้ผลผลิตอยู่ใน ระดับปานกลาง

c. Intensive system คือ การเลี้ยงกุ้งระบบพัฒนาหรือความหนาแน่นสูง ในพื้นที่บ่อที่มี ขนาดเล็กลงแต่ให้ความสำคัญกับการเตรียมบ่อและการจัดการฟาร์มมากขึ้น ใช้อาหารที่มีโปรตีนสูง เนื่องจากกุ้งที่ปล่อยมีอัตราความหนาแน่นสูง จำนวนเครื่องให้อากาศต้องเพียงพอและ

ตำแหน่งของ เครื่องให้อากาศจึงมีความสำคัญ อาจจะมีการใช้คลอรีน ไอโอดีน ฟอร์มาลินหรือสารเคมีอื่น ๆ เพื่อ ฆ่าเชื้อและพาหะต่าง ๆ ในบ่อในขั้นตอนของการเตรียมน้ำ เพื่อป้องกันโรคหรือปรับคุณภาพน้ำ การเลี้ยงระบบนี้ได้ผลผลิตค่อนข้างสูง

d. Super intensive system คือ การเลี้ยงกุ้งระบบพัฒนาหรือความหนาแน่นสูงในบางประเทศมีการเลี้ยงในโรงเรือน ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำมากแต่จะมีการระบายตะกอน และของเสียออกตลอดเวลา และมีเครื่องให้อากาศมาก บางแห่งอาจจะใช้ระบบน้ำไหลผ่านแบบ race way การเลี้ยงในลักษณะเช่นนี้ให้ผลผลิตสูง ระบบการเลี้ยงแบบนี้มีจำนวนน้อยทำได้ในบางประเทศ หรือมีจำนวนน้อยกว่าการเลี้ยงในระบบหรือรูปแบบอื่น ๆ

2.1.5 พฤติกรรมการกินอาหาร

โดยปกติแล้วกุ้งตระกูล Penaeidae เป็นสัตว์ที่หากินตอนกลางคืนและกินซากพืช ซากสัตว์เป็นอาหาร แต่ตามธรรมชาติแล้วกุ้งเป็นสัตว์กินเนื้อ ซึ่งกินสัตว์ในกลุ่มครัสตาเชียน กุ้งจะกินอาหารได้ดีตั้งแต่เวลา 08.00 ถึง 20.00 น. โดยเฉพาะในช่วงบ่ายแก่ ๆ กุ้งจะกินสาหร่าย ผักบุ้ง เมื่ออาหารไม่เพียงพอ แต่ในระบบการเลี้ยงที่มีในบ่อไม่เพียงพอต่อปริมาณกุ้งที่หนาแน่น ดังนั้นจึงมีการพัฒนาอาหารในธรรมชาติ และให้อาหารเพิ่ม ซึ่งกุ้งขาวแวนนาไมต้องการอาหารที่มีโปรตีนประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่ากุ้งชนิด อื่น เช่น กุ้งกุลาดำและกุ้งกุลาลาย (ภิญโญ, 2545)

2.1.6 โรคที่มักเกิดกับกุ้งขาว

โรคที่สำคัญของกุ้งขาวในประเทศไทย ได้แก่ (Limsuwan, 2003)

2.1.6.1 White Spot Syndrome Virus (WSSV) หรือโรคไวรัสดวงขาว โรคนี้เกิดกับกุ้งทะเลทุกชนิดรวมทั้งกุ้งขาวด้วย มักมีการระบาดของโรคในช่วงอากาศเย็น กุ้งที่เป็นโรคจะมีลักษณะ จุดขาว หรือดวงขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.1-2 มิลลิเมตร ที่บริเวณใต้เปลือก ซึ่งเกิดจากการสะสม แคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ผิดปกติ กุ้งที่ป่วยจะทยอยตายเรื่อย ๆ ภายใน 5-7 วัน กุ้งจะตายหมด

2.1.6.2 Taura Syndrome Virus (TSV) เป็นโรคที่มีความรุนแรงจำเพาะต่อกุ้งขาวมากกว่าในกุ้งกุลาดำ (Srisuvan *et al*., 2005) กุ้งขาวที่เป็นโรคนี้จะมีลำตัวสีชมพูถึงแดง และบริเวณปลายแพนหาง จะมีสีแดงเข้มขึ้น ลำตัวอ่อนนุ่ม กุ้งบางตัวอาจพบว่ามีเหงือกบวม กุ้งที่ตายจะมีสีเข้มอมชมพู กุ้งป่วยบางตัวจะว่ายน้ำเข้าหาขอบบ่อ บางส่วนตายที่พื้นบ่อ กุ้งที่เหลือรอดบางตัวจะมีเปลือกลักษณะคล้าย แผลสีดำ กุ้งเหล่านี้บางตัวจะมีชีวิตรอดได้ หากสภาพบ่อมีคุณภาพน้ำที่ดี แต่หากสภาพแวดล้อมไม่ ดีขึ้น กุ้งเหล่านี้อาจจะตายในการลอกคราบครั้งต่อไป โดยโรคที่มีสาเหตุมาจาก TSV แบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือระยะเฉียบพลัน ระยะคาบเกี่ยว (transition) และระยะเรื้อรัง (Lightner, 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6.3 Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (HHHNV) หรือโรคตัวพิการ กุ้งที่ติดเชื้อไวรัสนี้จะมีลักษณะที่สังเกตได้ง่าย คือ กรีมีลักษณะผิดปกติ กุดหรือสั้นกว่าปกติ อาจบิด ไปทางซ้ายหรือขวา ลำตัวกุ้งคดงอ ลักษณะดังที่กล่าวมาจะสังเกตได้หลังจากปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงใน บ่อประมาณ 30 วัน กุ้งที่มีการติดเชื้อจะโตช้ามาก

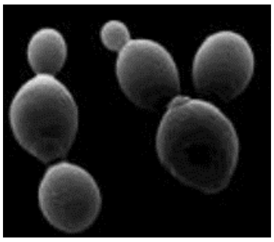
2.1.6.4 Gill disease โรคเหงือกที่พบมากในกุ้งขาว คือ เหงือกดำ มักเกิดในบ่อที่น้ำมีสีเข้ม หรือ มีเลนกระจายอยู่ทั่วบ่อ ซึ่งมีสาเหตุมาจากมีสารอินทรีย์สะสมอยู่มากภายในบ่อ ก่อนที่กุ้งจะแสดง อาการป่วยหรือเริ่มตาย มักจะพบว่ากุ้งมีเหงือกสีดำ ถ้าแก้ปัญหาไม่ทันกุ้งจะตาย สามารถแก้ปัญหา ได้โดย เมื่อพบว่าเหงือกของกุ้งบางตัวเริ่มมีสีเข้ม ควรจะลดอาหารลง เปลี่ยนถ่ายน้ำเพิ่มขึ้นและเพิ่ม เครื่องให้อากาศ เมื่อสภาพบ่อดีขึ้นหลังจากกุ้งลอกคราบ 2-3 ครั้ง เหงือกสีดำก็จะหายไป

2.1.6.5 Vibriosis เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุล Vibrio เช่น V. harveyi เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสง มณเฑียร และคณะ (2533) กล่าวไว้ว่า กุ้งที่ติดเชื้อจะมีอาการเคลื่อนไหวช้าลง มีผิวลำตัวสีเข้ม กินอาหารลดลง ตัวหลวม ตับมีสีซีดลง เซลล์เหงือกตาย เวลากลางคืนจะเรืองแสง

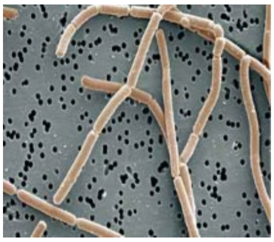
2.2 โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ประวัติของการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ Metchnikoff (1908) เป็นบุคคลแรกที่สนใจและศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโพรไบโอติกโดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อเพิ่มปริมาณแบคทีเรียแลคติกในลำไส้และยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรียก่อโรคในสำไส้ของมนุษย์ รวมทั้งได้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกว่าจุลินทรีย์ที่กินเข้าสู่ร่างกายโดยมีจุดประสงค์เพื่อส่งเสริมสุขภาพ ต่อมา Parker (1974) ได้ให้คำจำกัดความว่าสิ่งมีชีวิต และสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ส่วนความหมาย ของโพรไบโอติกในเชิงการเลี้ยงสัตว์น้ำหมายถึง จุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียหรือผลผลิตจากแบคทีเรียที่เติมเข้าไปในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำแล้วไปมีผลช่วยให้สัตว์ดังกล่าวมีสุขภาพดีขึ้น (Lilley and Stillwell, 1965; FAO/WHO, 2001) รวมถึงการใช้จุลินทรีย์ในการฟื้นฟูสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ หรือการเติมสารอาหารเพื่อการฟื้นฟูสภาพ ซึ่งเป็นวิธีการที่ช่วยลดการสะสมของเสียและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Thomas *et al*., 1992) จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ยกตัวอย่างเช่น *Lactobacillus, Bacillus, Bifidobacterium, E. coli Clostridium botyricum. Enterococcus, Streptococcus* และยีสต์ ดังรูปที่ 2.2 (ภวัต, 2544; Gatesoupe, 1999)

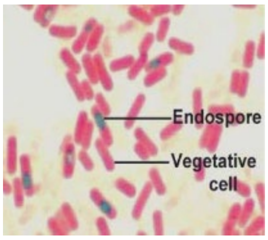
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A



B



C

รูปที่ 2.2 จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก

(A) ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

(B) *Lactobacillus bulgaricus*

(C) *Bacillus subtilis*

ที่มา : Nimrat (2009)

ชนิดของโพรไบโอติกที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีหายชนิดและมีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยมีการเลือกใช้ให้เหมาะสมกับระบบเพาะเลี้ยงและชนิดสัตว์น้ำ ดังในตารางที่ 2.1 จะแสดงถึงชนิดของโพรไบโอติกและการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ชนิดของโพรไบโอติกและการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆ (ดัดแปลงจาก Balcazar *et al*., 2006)

ชนิดของโพรไบโอติก	ชนิดสัตว์น้ำ	เอกสารอ้างอิง
Streptococcus lactis และ *Lactobacillus bulgaricus*	ตัวอ่อนปลา Turbot	Garcia de Banda *et al.* (1992)
Lactobacillus spp. และ *Carnobacterium* spp.	ตัวอ่อนปลา	Gatesoupe (1994)
Vibrio alginolyticus	ปลาแอตแลนติกแซลมอน	Austin *et al*. (1995)
Carnobacterium divergens	ปลาคอดแอตแลนติก	Gildberg and Mikkelsen (1998)
G-probiotic	ปลานิลลูกผสม	Naik *et al*. (1999)
Carnobacterium spp.	ปลาแอตแลนติกแซลมอน	Robertson *et al*. (2000)
Lactobacillus rhamnosus ATCC 53103	ปลาเทราต์สายรุ้ง	Nikoskelainen *et al*. (2001)
Aeromonas hydrophila, V. fluvialis, Camobacterium spp. *และ Micrococcus luteus*	ปลาเทราต์สายรุ้ง	Irianto and Austin (2002)
*Enterococcus faecium SF*68	ปลาไหล	Chang and Liu (2002)
L. rhamnosus JCM 1136	ปลาเทราต์สายรุ้ง	Panigrahi *et al*. (2004)
Bacillus circulans	ปลายี่สกเทศ	Ghosh *et al*. (2004)
Bacillus spp. *S*11	กุ้งกุลาดำ	Rengpipat *et al*. (1998)
Lactobacillus spp.	กุ้งกุลาดำ	Phianphak *et al*. (1999)
Saccharomyces cerevisiae, Phaffia rhodozyma และ S. exiguus	กุ้งขาว	Scholz *et al*. (1999)
V. hepatarius, Vibrio spp. และ Bacillus spp.	กุ้งขาว	Balcazar (2006)
Bacillus spp.	กุ้งกุลาดำ	ไตรมาศ และคณะ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค

การใช้โพรไบโอติกเป็นการควบคุมทางชีวภาพโดยอาศัยศัตรูทางธรรมชาติเข้าทำลาย หรือควบคุมเชื้อก่อโรคไม่ให้ทวีจำนวนจนเป็นอันตราย (Debach and Rosen, 1991) การทำงานของ โพรไบโอติกเกิดจากการข่มและแข่งขันกันในการแย่งอาหารและครอบครองพื้นที่บริเวณเซลล์เยื่อบุท่อทางเดินอาหารระหว่างจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และจุลินทรีย์ก่อโรค โดยโครงสร้างของทางเดินอาหารจะมีจุดสำหรับจุลินทรีย์ยึดเกาะ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถแย่งจุดยึดเกาะได้ก็จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้ ส่วนจุลินทรีย์ที่ล่องลอยอยู่ในระบบทางเดินอาหารก็จะถูกกำจัดออกไปทางอุจจาระ โพรไบโอติกยังมีความสามารถในการกระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุหลุดออกแล้วกระตุ้นให้สร้างเซลล์ใหม่ทดแทนร่วมกับกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ได้อีกด้วย (Verschuere *et al.*, 2000) นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารปฏิชีวนะ เป็นต้น โพรไบโอติกที่ดีนั้นจะต้องเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ก่อประโยชน์โดยการเพิ่มการเจริญเติบโตต่อกุ้ง ไม่ก่อให้เกิดโรค เป็นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เพิ่มจำนวนได้มาก สามารถเจริญและทำงาน ได้ดีในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งมีความคงทนต่อการเก็บรักษา (ภวัต, 2544)

2.2.2 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง

ปัจจุบันกลไกการทำงานของโพรไบโอติกยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าโพรไบโอติก เข้าไปจับกับบริเวณยึดเกาะ (Receptor) แทนที่จุลินทรีย์ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของกุ้ง ทำให้กุ้งมี อัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว นอกจากนี้โพรไบโอติกจะช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้ดีขึ้น โดยการสังเคราะห์วิตามิน โคแฟคเตอร์ และเอนไซม์ต่างๆ มาช่วยย่อยอาหาร ทำให้อาหารที่เติมลงไป ถูกดูดซึมและนำไปใช้ในการเจริญเติบโตมากขึ้นจึงส่งผลให้น้ำหนักกุ้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Gullian *et al.*, 2004)

2.2.3 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้ง

ระบบภูมิคุ้มกัน คือ กลไกของสัตว์ในการป้องกันตัวเองและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สัตว์เกิดอาการเจ็บป่วยและตาย โดยระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งนั้นจะมีเซลล์เม็ดเลือดเป็นจุดศูนย์กลาง แตกต่างจากสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังที่มีเซลล์เม็ดเลือดอยู่ 2 ชนิด คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ ขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกาย และเซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ในการทำลายจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค แต่สำหรับเซลล์เม็ดเลือดกุ้งนั้นจะทำหน้าที่ทั้งกำจัดทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปทำอันตรายต่อกุ้ง และน้ำเลือดของกุ้งที่มีสีน้ำเงิน ซึ่งเป็นสีของฮีโมไซยานินที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนและขนส่งออกซิเจนไปหล่อเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อ เซลล์เม็ดเลือดถูกสร้างจากเนื้อเยื่อที่เรียกว่า Hematopoietic Tissue (HPT) ซึ่งพบในบริเวณฐานกรีและโคนขาเดินในส่วนอกเมื่อเซลล์เม็ดเลือดถูกสร้างขึ้นมาแล้วจะถูกส่งไปใช้ในระบบหมุนเวียนเลือด และถูกหัวใจบีบส่งไปเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนต่างๆ ของร่างกาย (กิจการ และคณะ, 2543) โดยปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขึ้นอยู่กับระยะการลอกคราบ พบว่าปริมาณเซลล์เม็ดเลือดเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในระยะก่อนการลอกคราบ

เซลล์เม็ดเลือดกุ้งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ (ปภาศิริ, 2543)

2.2.3.1 ไฮยาลิน (Hyalin Cell) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีรูปร่างแบน กลม ผิวเรียบ บางครั้งจะพบมีลักษณะคล้ายกระสวย มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ มีไซโทพลาสซึมน้อยไม่มีกรานูลภายในเซลล์ เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด

2.2.3.2 เซมิกรานูลลาร์ (Semigranular Hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีเม็ดกรานูลขนาดเล็กอยู่ในเซลล์ไม่มากนัก เซลล์มีความยาว 9.0-14.2 ไมโครเมตร กว้าง 4.2-6.8 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 7-10 ไมโครเมตร

2.2.3.3 กรานูลลาร์ (Large Granular Hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและมีกรานูลขนาดใหญ่เป็นจำนวนมากภายในไซโทพลาสซึม เซลล์มีความยาว 12.2-14.6 ไมโครเมตร กว้าง 7.2-7.8 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 8-10 ไมโครเมตร

2.3 ชนิดของแบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

2.3.1 แบคทีเรียแลกติก

แบคทีเรียแลกติกมีลักษณะโดยทั่วไปคือ ย้อมติดสีแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ ไม่ต้องการอากาศหรือต้องการเพียงเล็กน้อยบางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการอากาศอย่างยิ่ง ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส บางตัวเป็นซูโดคะตะเลสจะพบเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลน้อย ไม่เคลื่อนที่ มีทั้งกลุ่มที่มีรูปร่างกลม เช่น แบคทีเรียในสกุล *Lactococcus, Vagococcus, Leuconostoe, Pediococcus, Aerococcus, Tetragenococcus, Streptococcus, Enterococcus* และรูปร่างแท่ง เช่น แบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus, Carnobacterium* และ *Bifidobacterium* โดยการจัดเรียงตัวของเซลล์จะเป็นไปในทิศทางเดียวกันยกเว้น *Pediococcus* ที่ต่อกันเป็นคู่มี 2 ระนาบ (tetrads) สามารถหมักคาร์โบไฮเดรตให้กรดแลกติกบางครั้งจะให้กรดที่ระเหยได้ การจัดกลุ่มแบคทีเรียแลกติกในสกุลต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะ รูปแบบการหมักน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ การใช้อะซิเตท การใช้อาร์จินิน การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ การผลิตกรดแลกติก การเจริญในที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และการทนกรดหรือด่าง (Axelsson, 1993) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญ อยู่ในช่วง 5.58-6.20 แต่โดยทั่วไปเจริญได้ที่ พีเอช $\leq$ 5.0 อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออยู่ในสภาพ ที่เป็นกลางหรือด่าง (Salminen and Wright, 1993) เนื่องจากแบคทีเรียแลกติกแต่ละสายพันธุ์สามารถ ปรับตัวเพื่อเจริญเติบโตภายใต้สภาวะแวดล้อมได้แตกต่างกัน จึงทำให้พบเชื้อกลุ่มนี้กระจายทั่วไปทั้งในคนและสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแลกติกสามารถแบ่งตามการใช้สารอาหารและการสร้างสารได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ (Axelsson, 1993)

2.3.1.1 โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative) เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดแลกติกประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต ไม่ต้องการไธอามีนในการเจริญเติบโตเจริญได้ที่ 45 องศาเซลเซียส หรือ 15 องศาเซลเซียส สร้างเอนไซม์อัลโดเลส แต่ไม่สร้างเอนไซม์ฟอสโฟโตเลส ได้แก่ *Lactobacillus sake, Lactobacillus casei, Pediococcus pentosaceus และ Streptococcus lactis* เป็นต้น

2.3.1.2 เฮทเทอร์โรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative) เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดแลกติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์จากการหมักคาร์โบไฮเดรต ต้องการใช้ไธอามีนในการเจริญเติบโต และสร้างเอนไซม์ฟอสโฟโตเลสแต่ไม่สร้างเอนไซม์อัลโตเลส ได้แก่ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus brevis และ Leucunostoc mesenteroide*

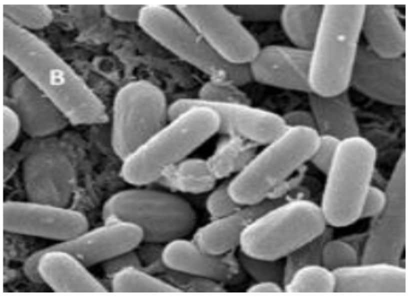
2.3.2 บาซิลลัส

Bacillus เป็นหนึ่งในแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีการนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ควบคุมคุณภาพน้ำ เสริมการเจริญเติบโต และป้องกันโรค เนื่องจาก *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็ว สร้างเอนโดสปอร์ได้ คุณสมบัติดังกล่าวนี้สามารถทำให้แบคทีเรียสามารถ มีชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลายได้มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น (Kutako *et al*., 2009) และ *Bacillus* สามารถใช้ยับยั้ง หรือแย่งอาหาร และที่อยู่ของเชื้อ *Vibrio* sp. ในการเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ได้ และมีการใช้ *Bacillus* เพื่อปรับปรุง คุณภาพน้ำจากการเลี้ยงกุ้ง ยกตัวอย่างเช่น *B. subtilis*, *B. licheniformis* และ *B. coagulans* เป็นต้น (ปาจรีย์ และคณะ, 2554)

ลักษณะสำคัญของบาซิลลัส มีดังนี้

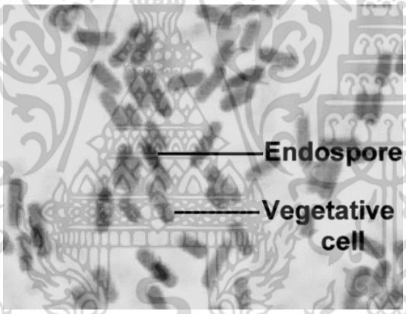
2.3.2.1 รูปร่าง แบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่ค่อยมีแบบแผนการเรียงตัวของเซลล์ที่เด่นชัดเท่าพวกแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม แต่อาจมีการเรียงตัวของเซลล์เนื่องมาจากระยะการเจริญหรือขึ้นอยู่กับสภาพการเลี้ยงในอาหารนั้น ๆ โดยทั่วไปเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* มักอยู่เดี่ยว ๆ ยกเว้นเซลล์บางชนิด แบคทีเรียรูปท่อนนี้อาจมีรูปร่างแปลกแตกต่างกันออกไป เช่น ถ้ามีการแตกกิ่งก้านสาขา (Branching rod) ถ้ามีลักษณะคล้ายบานออกที่หัวท้าย (Shaped rod) หรือมีการสร้างสปอร์อยู่ภายในเซลล์ (Spore forming rod) เป็นต้น รูปร่างเซลล์เป็นแท่งตรงหรือเกือบตรง ส่วนใหญ่มีการเคลื่อนที่โดยใช้เลเทอรอลแฟลกเจลลา (Lateral flagella) สร้างเอนโดสปอร์ (Endospore) มี 1 อันต่อ 1 เซลล์ติดสีแกรมบวก ดังรูปที่ 2.3 (Sella *et al*., 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 ลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp.
ที่มา : Sella *et al*. (2014)

2.3.2.2 เอนโดสปอร์ (Endospore) สามารถพบได้ในแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bacillus sp.* เป็นโครงสร้างที่ทำให้แบคทีเรียมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ โดยเกิดขึ้นภายในเซลล์ ดังรูปที่ 2.4 และสร้างได้เพียง 1 สปอร์ต่อ 1 เซลล์ ดังนั้นการสร้างสปอร์จึงไม่ใช่การสืบพันธุ์แต่เพียงการดำรงชีพเพื่อให้ดำรงอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม รูปร่างและตำแหน่งของสปอร์จะแตกต่างกันออกไปตามสปีชีส์ เอนโดสปอร์สามารถทนต่อความแห้งแล้ง สีย้อม สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ รังสี และความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้ดี แต่ส่วนใหญ่ทนอุณหภูมิสูงได้ถึง 80 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 10 นาที (Santos, 2015)



รูปที่ 2.4 เอนโดสปอร์ของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp.
ที่มา : Chamberlain (2009)

2.3.2.3 การสร้างสปอร์ (Spore formation, Sporulation) การสร้างสปอร์ของแบคทีเรียจะเกิดในระยะ stationary phase การสร้างสปอร์เป็นการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาที่แตกต่างไปจากเซลล์ปกติ การเจริญของเซลล์เพื่อให้เกิดการสร้างสปอร์นั้นมียีนมากกว่า 125 ยีนมีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการนี้ (Losick, 1996)

ลำดับการสร้างสปอร์จะมีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ ได้แก่

ระยะที่ 1 เป็นระยะที่เซลล์แบคทีเรียมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และสารอื่น ๆ เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการสร้างสปอร์ โดยเฉพาะการสังเคราะห์สปอร์ oxidative enzyme ที่ใช้ระบบไซโทโครมเพื่อนำไปใช้ในการสร้างพลังงานอย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะ 2 และ 3 เป็นระยะที่ DNA แพร่กระจายเต็มเซลล์มีการเกิด mesosome จากการคอดเว้าของเยื่อหุ้มเซลล์จนกระทั่งเป็นผนังกั้น แบ่งโพรโทพลาซึมออกเป็นสองส่วน และส่วนเล็ก คือ บริเวณที่จะเป็นสปอร์ต่อไป เรียกว่า pre spore หรือ fore spore ในแบคทีเรียบางชนิดนั้นระยะนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงด้านสรีรวิทยาหลายประการ โดยเฉพาะการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ สารพิษและเอกโซเอนไซม์ ต่าง ๆ

ระยะที่ 4 และ 6 pre spore ที่มีเยื่อหุ้มชั้นเดียวห่อหุ้มจะถูกเยื่อหุ้มของเซลล์โอบล้อมขึ้นมาเรื่อย ๆ จนบรรจบกันทำให้ได้ pre spore ที่มีเยื่อหุ้มสองชั้นระยะนี้มีการสร้างเอนไซม์หลายชนิด เพื่อนำไปใช้ในการสร้างสปอร์ เช่น อัลคาไลน์, ฟอสฟาเตส, กลูโคสดีไฮโดรจีเนส และอะโคนิเตส เป็นต้น

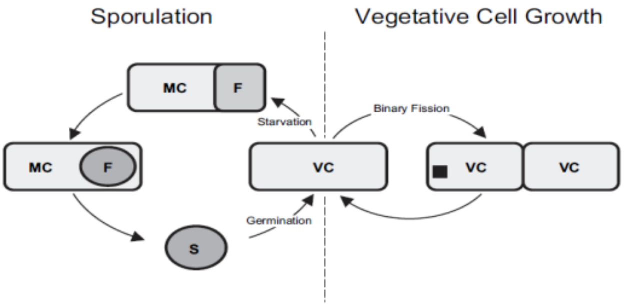
ระยะที่ 7 เป็นระยะการสร้างสปอร์คอร์เทกซ์ โดย prespore จะมีการสะสมแคลเซียมเป็นจำนวนมาก การสร้างเอนไซม์ดีไฮโดรไดพิโคลินิกซินเธเทส และไดพิโคลินิกซินเธเทส เพื่อใช้สังเคราะห์กรดไดพิโคลินิกรวมทั้งมีการสังเคราะห์เอนไซม์อะดีโนซีนดีอะมิเนส และไรโบซิเดส เพื่อใช้เป็นกิจกรรมต่อไป

ระยะที่ 8 เป็นระยะการสร้างสปอร์โค้ต จะมีน้ำน้อยกว่าเซลล์ปกติอย่างมากมาย ระยะนี้จะทนต่อสารเคมีต่าง ๆ และสามารถที่จะงอกเป็นเซลล์ใหม่ได้

ระยะที่ 9 เป็นระยะที่เจริญเต็มที่จะทนต่อความร้อนได้ดี ภายในสปอร์มีการสังเคราะห์เอนไซม์อะลานีนราซีเมส เพื่อใช้ในการงอกสปอร์

ระยะที่ 10 เป็นระยะที่สปอร์ หลุดออกจากเซลล์เป็นอิสระ (free spore) ซึ่งพร้อมจะงอกเป็นเซลล์ใหม่ต่อไปการสร้างสปอร์จะใช้เวลาทั้งสิ้น 21-25 ชั่วโมง โดยในระยะเริ่มต้นจนถึงระยะที่สปอร์เจริญเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 6-7 ชั่วโมง และระยะจากสปอร์เจริญเต็มที่จนถึงหลุดออกเป็นอิสระใช้เวลาประมาณ 15-18 ชั่วโมง การสร้างสปอร์เป็นกลไกเพื่อการอยู่รอดซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สิ่งแวดล้อมมีทั้งภายนอกและภายในที่จำเป็นในการสร้างสปอร์ สภาพทางกายภาพ ได้แก่ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของเซลล์ปกติ ช่วงของความเป็นกรด-เบส (pH) ที่เหมาะสมกับ การเจริญของเซลล์ปกติ และออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น (ในกรณีเป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน เช่น *Bacillus* (Santos, 2015) ซึ่งวงจรชีวิตของสปอร์ แสดงดังรูปที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 วงจรชีวิตของการสร้างสปอร์
ที่มา : Cutting (2011)

แผนผังแสดงวงจรชีวิตของการสร้างสปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย ภายใต้สภาวะการขาดแคลนสารอาหารในการเจริญ โดยเซลล์ปกติ (VC) จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาโดยเริ่มที่จะสร้าง forespore (F) ภายในเซลล์แม่ (MC) ของ sporangium หลังจากนั้นประมาณ 8 ชั่วโมง สปอร์ (S) จะถูกปล่อยออกมาจากเซลล์ และมีการสลายของเซลล์แม่ (MC) และในทางตรงกันข้ามเมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม หรือในเซลล์ปกติก็จะมีการแบ่งตัวแบบ Binary fission เพื่อเพิ่มจำนวนและเจริญต่อไป โครงสร้างของสปอร์จะประกอบไปด้วย ชั้น Spore body (Core), ผนังสปอร์ (Spore wall), สปอร์คอร์เทกซ์ (Spore Cortex), สปอร์โค้ต (Spore Coat), เอกโซสปอเรียม (Exosporium) รวมทั้งส่วนของชั้นเพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) และโครงสร้างของชั้นเยื่อหุ้มต่าง ๆ คุณสมบัติที่กล่าวมานี้ทำให้สปอร์มีความสามารถในการทนต่อสภาวะต่าง ๆ ซึ่งสปอร์แต่ละชนิดก็จะมีขนาดและรูปร่างที่ต่างกันออกไป ทั้งรูปร่างกลม วงรี ซึ่งจะมีขนาดอยู่ใน ระหว่าง 0.8 ถึง 1.4 มิลลิเมตร และมีค่าประจุเป็นลบทำให้มีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งสปอร์ของแบคทีเรียจะพบใน 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่กลุ่มของบาซิลลัส และแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในกลุ่มคลอสทริเดียม (Sella *et al*., 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อภิฤดี และคณะ (2561) ศึกษาผลของการใช้โพรไบโอติก *Bacillus subtilis* ในการควบคุมแบคทีเรีย *Vibrio* spp. และอัตรารอดตายในการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม่โดยทดลองกับลูกกุ้ง 2 ช่วงระยะ คือ ระยะนอเพลียสถึงซูเอีย 3 โดยการผสมโพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้อนุบาลลูกกุ้ง และกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่โพรไบโอติก ผลการศึกษาในลูกกุ้งทั้งสองช่วงระยะในกลุ่มทดลอง พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียวิบริโอ ในกลุ่มที่มีการผสมโพรไบโอติกต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากเลี้ยงลูกกุ้งเป็นระยะเวลา 5 วัน อัตรารอดตายเฉลี่ยของลูกกุ้งที่เลี้ยงในน้ำผสมโพรไบโอติกมีอัตรารอดตายเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

สุบัณฑิต และคณะ (2560) ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของโพรไบโอติก แบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค ผลการศึกษาสรุปได้ว่า แบคทีเรียโพรไบโอติกมีความสามารถเจริญใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง และไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลชนิดอื่น ๆ และสามารถควบคุม การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 และ *Vibrio* ชนิดอื่น ๆ ทั้งใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงได้

Interaminense *et al*. (2018) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของโพรไบโอติก ได้แก่ *Bacillus subtilis* และสาหร่าย *Shewanella algae* และทำการให้เชื้อ *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* ในตับและตับอ่อนของกุ้งขาว จากนั้นเลี้ยงกุ้งขาวเป็นเวลา 45 วัน ศึกษาลำไส้และอุจจาระของกุ้ง บันทึกผลทุกสัปดาห์เพื่อหาจำนวนแบคทีเรียก่อโรค จากผลการทดสอบพบว่า *B. subtilis* และ *Shewanella algae* สามารถต้านเชื้อ *Vibrio* ในตับ และตับอ่อนของกุ้งได้ กุ้งที่เลี้ยงด้วยที่เลี้ยง *B. subtilis* มีอัตราการเจริญเติบโตสูง จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า *B. subtilis* สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้งได้อย่างมีนัยสำคัญและสามารถพัฒนาในตับอ่อนและลำไส้ของกุ้ง นอกจากนี้ อาหารสัตว์ที่เสริมด้วยสาหร่าย *S. algae* และ *B. subtilis* ยังสามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *Vibrio* ในตับอ่อนของกุ้งขาวได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ได้รับความอนุเคราะห์จากเจริญสุขฟาร์ม

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

ชื่อโพรไบโอติก รหัส BM, BS, และ BP_2

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 YM (Yeast extract-Malt extract)

3.3.1.1 สารสกัดยีสต์

3.3.1.2 สารสกัดมอลต์

3.3.1.3 แป้งมันสำปะหลัง

3.3.1.4 แป้งถั่วเหลือง

3.3.2 กรดไฮโดรคลอริก

3.3.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์

3.4 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

3.4.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow) ยี่ห้อ Microteach รุ่น V4-T

3.4.2 ตู้อบบ่มเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ MEMMERT รุ่น INE600

3.4.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ MEMMERT รุ่น UN110

3.4.4 เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ HIRAYAMA รุ่น HV-25/50/85/110

3.4.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-1800

3.4.6 เครื่องผสมสาร (Vortex) ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น GENIE-2

3.4.7 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น Seven Compact

3.4.8 เครื่องชั่งดิจิตอล ยี่ห้อAND รุ่น GF-800

3.4.9 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) ยี่ห้อ Nikon รุ่น ECLIPSE E200LED MV R

3.4.10 เครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า ยี่ห้อ GALLENKAMP รุ่น Orbital Shaker

3.5.11 เครื่องวัดความเค็ม (Salinity Reflectometer) รุ่น C-100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 อุปกรณ์

3.5.1 กระบะพลาสติกขนาด 100 ลิตร

3.5.2 ถังน้ำพลาสติกขนาด 100 ลิตร

3.5.3 ตู้กระจก

3.5.4 ปั๊มลมให้ออกซิเจน (Air pump)

3.5.5 หัวพ่นอากาศ

3.5.6 สายยาง

3.5.7 กระชอนตักกุ้ง

3.5.8 อาหารกุ้งแบบสำเร็จรูป ยี่ห้อ ซีพี

3.5.9 ขวดน้ำพลาสติกขนาด 1.5 ลิตร

3.6 การเตรียมน้ำทะเลเทียมสำหรับอนุบาลกุ้งขาว

ทำการเตรียมน้ำโดยผสมเกลือทะเลปลอดเชื้อ 50 กรัมต่อน้ำกรอง 1 ลิตร จะได้น้ำเค็มที่ระดับความเค็ม 50 พีพีที (ส่วนในพันส่วน) เจือจางให้ได้ 20 พีพีที เพื่อใช้สำหรับเลี้ยงกุ้งขาว ทำการวัดปริมาณเกลือในน้ำโดยใช้ Salinity Refractometer ให้อากาศด้วยปั๊มลมออกซิเจนเป็นเวลา 3 วัน เพื่อไล่คลอรีนในน้ำ ต่อมาเตรียมตู้กระจกขนาด 16 นิ้ว จากนั้นนำน้ำทะเลเทียมที่เตรียมไว้ใส่ลงในไปปริมาตร 3 ใน 4 ของความสูงของตู้กระจก ต่อสายยางเข้ากับหัวพ่นอากาศ และปั๊มลมเพื่อให้ออกซิเจนแก่กุ้งขาว

3.7 การอนุบาลกุ้งขาว

ได้รับกุ้งขาวระยะ P-15 (Post larva) อายุประมาณ 15-20 วัน ขนาด 0.5-0.7 เซนติเมตร จำนวน 400 ตัว จากบ่อเพาะเลี้ยง โดยอนุบาลกุ้งขาวในบ่อพลาสติกใส่น้ำที่ระดับความเค็ม 20 พีพีที ปริมาตร 60 ลิตร พีเอชของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงต้องปรับสภาพให้เข้ากับน้ำที่มาจากฟาร์ม ให้กุ้งขาวกินอาหารสำเร็จรูปทุกๆ 2 มื้อ ได้แก่ ช่วง 08.00 น. และ 16.00 น. เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 3 วัน แยกกุ้งขาวระยะวัยรุ่นที่มีความยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการแย่งอาหาร และไม่ให้เกิดการกินกันเอง ใส่ตู้กระจกปิดด้วยฟิวเจอร์บอร์ดเพื่อป้องกันแย่งอาหารและค่อยๆ เพิ่มการให้อาหารสำเร็จรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 การเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งขาว

นำเชื้อที่เจริญในหลอดอาหารวุ้นเอียงทั้ง 3 รหัส มาทำสารละลายเซลล์ (cell suspension) ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 5-10 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อและนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 แล้วนำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น (inoculum) นำสารละลายเชื้อเริ่มต้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แต่ละรหัสใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเหลวสูตรดัดแปลง YM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ มาผสมด้วยกันด้วยอัตราส่วน 1:1:1 แล้วเก็บในตู้เย็นเพื่อใช้สำหรับทดสอบเลี้ยงกุ้ง

3.9 วิธีการทดลอง

3.9.1 การศึกษาเกี่ยวกับลักษณะสัณฐานวิทยา

นำเชื้อโพรไบโอติก BM, BS, และ BP_2 ทั้งหมด 3 ชนิด นำมาเลี้ยงลงบนอาหาร YM ทำในภาชนะปลอดเชื้อ (Aseptic technique) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป ศึกษาลักณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Bright-field light microscopy และศึกษาลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีย้อมแกรม

3.9.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติก (BM, BS, และ BP_2) ที่เลี้ยงในอาหาร YM สูตรดัดแปลง ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

หลังจากเพาะเลี้ยงกุ้งขาวได้ 7 วัน ทำการแยกกุ้งขาวที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ใส่ตู้กระจก 3 ตู้ ตู้ละ 20 ตัว น้ำในแต่ละตู้จะมีระดับความเค็มที่ 4 พีพีที ปริมาตร 20 ลิตร วันต่อมาเริ่มทำการให้อาหาร โดยตู้หมายเลข 1 เป็นชุดควบคุม คือ ให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาวอย่างเดียวเท่านั้นโดยไม่ใส่เชื้อผสมโพรไบโอติก ตู้หมายเลข 2 เป็นชุดทดสอบ คือ ให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาวร่วมกับเชื้อผสมโพรไบโอติกโดยเพิ่มปริมาณเชื้อโพรไบโอติก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในแต่ละวัน และหมายเลข 3 เป็นชุดทดสอบ คือ ให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาวร่วมกับเชื้อผสมโพรไบโอติกโดยเพิ่มปริมาณเชื้อโพรไบโอติก ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในแต่ละวัน วัดค่าพีเอชของน้ำก่อนให้เชื้อผสมโพรไบโอติก หากน้ำมีค่าพีเอชต่ำกว่า 7.0-7.8 จะทำการถ่ายน้ำในอัตราส่วน 60 : 40 และทำการวัดน้ำหนักกุ้งโดยเครื่องชั่งดิจิทัลทศนิยม 3 ตำแหน่ง และทำการวัดความยาวโดยวัด 2 วัน ต่อ 1 ครั้ง เปรียบเทียบกุ้งในแต่ละตู้กับชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อผสมกับโพรไบโอติก)

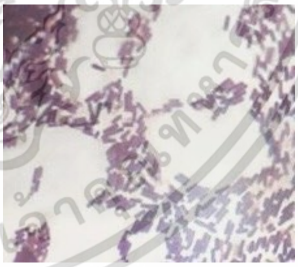
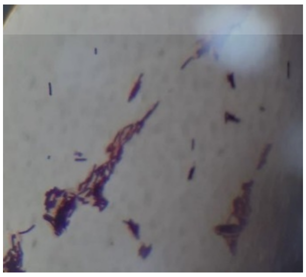
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 รหัส BM, BS และ BP_2 ลงบนจานเพาะเชื้อด้วยวิธี cross streak ศึกษาลักษณะโคโลนีและศึกษาลักษณะเซลล์ด้วยวิธีย้อมแกรม โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Bright-field light microscopy ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างของเซลล์ (1000 เท่า)	ลักษณะของเชื้อ
1	BM			โคโลนี : ลักษณะกลม มีสีขาว โค้งนูน รูปร่างเซลล์ : เป็นท่อนสั้น ๆ
2	BS			โคโลนี : ลักษณะกลม มีสีขาว แบนราบ รูปร่างเซลล์ : เป็นท่อนสั้น ๆ อยู่เป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อกันเป็นสาย
3	BP_2			โคโลนี : ลักษณะกลม มีสีขาว รูปร่างเซลล์ : เป็นท่อนสั้น ๆ อยู่เป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อกันเป็นสาย

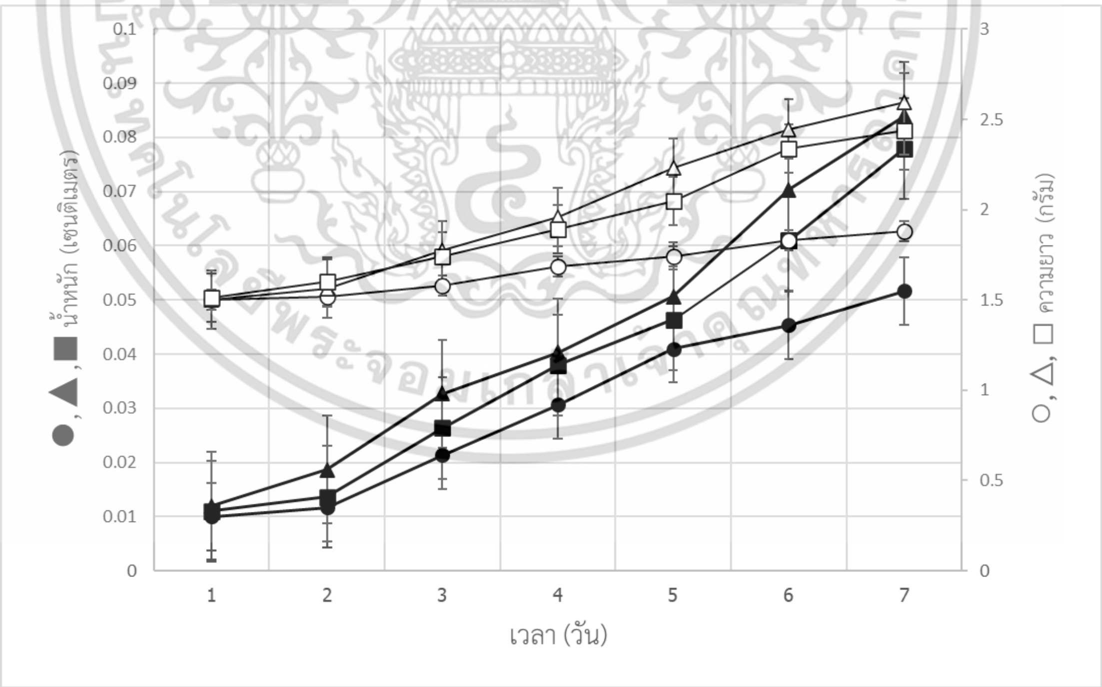
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก พบว่า เชื้อโพรไบโอติกมีรูปร่างเซลล์เป็นรูปท่อน มีลักษณะโคโลนีมีเป็นสีขาวแตกต่างกันออกไป โดยลักษณะของเชื้อโพรไบโอติก รหัส BM โคโลนีจะมีลักษณะกลม มีสีขาว โค้งนูน เชื้อโพรไบโอติก รหัส BS โคโลนีมีลักษณะกลม มีสีขาว แบนราบ และเชื้อโพรไบโอติก รหัส BP_2 โคโลนีมีลักษณะกลม มีสีขาว แบนราบ

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติก (BM, BS และ BP_2) ต่อการเจริญกุ้งขาว

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติกที่ได้จากการเจริญในอาหาร YM สูตรดัดแปลง ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และแป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน การทดสอบผลของโพรไบโอติกต่อการเจริญของกุ้งขาว โดยกำหนดตัวแปรควบคุมดังต่อไปนี้ ชุดควบคุม (การเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว) ชุดทดสอบ 1 (การเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสำเร็จรูปร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกเพิ่มขึ้นปริมาตรวันละ 5 มิลลิลิตร) ชุดทดสอบ 2 (การเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสำเร็จรูปร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกเพิ่มขึ้นปริมาตรวันละ 10 มิลลิลิตร)

สภาวะการเลี้ยงกุ้งขาว โดยการเพาะเลี้ยงกุ้งขาว 20 ตัว ในน้ำปริมาตร 17 ลิตร ที่ระดับความเค็ม 4 พีพีที โดยตรวจสอบการเจริญของกุ้งขาวด้วยวิธี วัดน้ำหนักกุ้งขาว และวัดความยาวกุ้งขาวทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลอง แสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงน้ำหนัก และความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาว ชุดควบคุม (●,○) เปรียบเทียบกับชุดทดสอบ 1 (▲, △) และชุดทดสอบ 2 (■, □)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.1 น้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวของชุดควบคุม ชุดทดสอบ 1 และชุดทดสอบ 2 พบว่า ในช่วง 2 วันแรก ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวของชุดควบคุมกับชุดทดสอบ 1 มีขนาดใกล้เคียงกัน ในวันที่ 3 จนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวของชุดทดสอบ 1 และชุดทดสอบ 2 มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และพบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของชุดทดสอบ 1 กุ้งขาวมีการเจริญมากที่สุด ความยาวเฉลี่ยกุ้งขาวของชุดควบคุม ชุดทดสอบ 1 และชุดทดสอบ 2 พบว่า ในช่วง 2 วันแรก ค่าความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวทั้งสามชุดมีการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย และมีขนาดใกล้เคียงกัน ในวันที่ 3 จนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง เริ่มเห็นความแตกต่างของการเจริญของกุ้งขาวระหว่างชุดควบคุมกับชุดทดสอบโพรไบโอติกทั้งสองอย่างชัดเจน โดยในชุดควบคุมกุ้งขาวมีการเจริญช้าที่สุดเมื่อเทียบกับชุดทดสอบที่ 1 และชุดทดสอบที่ 2 และพบว่า ความยาวเฉลี่ยของชุดทดสอบ 1 กุ้งขาวมีการเจริญมากที่สุด

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาว (กรัม) ชุดควบคุมเปรียบเทียบกับชุดทดสอบโพรไบโอติก 1 และชุดทดสอบโพรไบโอติก 2

เวลา (วัน)	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาว (กรัม) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ชุดควบคุม	ชุดทดสอบ 1	ชุดทดสอบ 2
7	$0.03{\pm}0.02^{aB}$	$0.04{\pm}0.03^{aA}$	$0.03{\pm}0.02^{aB}$

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็ก (a) เปรียบเทียบความยาวที่แตกต่างกันภายในปริมาณของการให้โพรไบโอติก

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ (A, B,) เปรียบเทียบความยาวที่แตกต่างกันระหว่างปริมาณของการให้โพรไบโอติกที่แตกต่างกัน ภายในระยะเวลาเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาว (เซนติเมตร) ชุดควบคุมเปรียบเทียบกับชุดทดสอบโพรไบโอติก 1 และชุดทดสอบโพรไบโอติก 2

เวลา (วัน)	ความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาว (กรัม) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	ชุดควบคุม	ชุดทดสอบ 1	ชุดทดสอบ 2
7	1.68 ± 0.15^{aB}	2.01 ± 0.42^{aA}	1.94 ± 0.35^{aA}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็ก (a) เปรียบเทียบความยาวที่แตกต่างกันภายในปริมาณของการให้โพรไบโอติก

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ (A, B) เปรียบเทียบความยาวที่แตกต่างกันระหว่างปริมาณของการให้โพรไบโอติกที่แตกต่างกัน ภายในระยะเวลาเดียวกัน

เมื่อนำผลการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวเป็นเวลา 7 วัน ไปวิเคราะห์ทางสถิติ (ดังตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3) พบว่า จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวกุ้งขาวในชุดควบคุมกับชุดทดสอบ 1 ชุดควบคุมกับชุดทดสอบ 2 และชุดทดสอบ 1 กับชุดทดสอบ 2 พบความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$) และตารางที่ 4.3 จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักกุ้งขาวในชุดควบคุมกับชุดทดสอบ 1 ชุดควบคุมกับชุดทดสอบ 2 และชุดทดสอบ 1 กับชุดทดสอบ 2 พบความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 รหัส BM, BS และ BP_2 เชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 รหัส เป็นแกรมบวก เนื่องจากย้อมติดสีม่วงของ Crystal violet เซลล์ของเชื้อโพรไบโอติกแต่ละรหัสมีลักษณะเป็นท่อนสั้น และลักษณะโคโลนีบนอาหาร YM สูตรดัดแปลง พบว่า โคโลนีมีสีขาว มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันออกไป โดยลักษณะของเชื้อโพรไบโอติก รหัส BM โคโลนีจะมีลักษณะกลม มีสีขาว โค้งนูน เชื้อโพรไบโอติก รหัส BS โคโลนีมีลักษณะกลม มีสีขาว แบนราบ และเชื้อโพรไบโอติก รหัส BP_2 โคโลนีมีลักษณะกลม มีสีขาว แบนราบ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติกที่ได้จากการเจริญในอาหาร YM สูตรดัดแปลง ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และแป้งถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน ต่อการเจริญของกุ้งขาว ผลของความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวในชุดควบคุม ชุดทดสอบ 1 และชุดทดสอบ 2 พบว่า ในช่วง 2 วันแรก ค่าความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวทั้งสามชุดมีการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อยและมีขนาดใกล้เคียงกัน ในวันที่ 3 จนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง เริ่มเห็นความแตกต่างการเจริญของกุ้งขาวระหว่างชุดควบคุมและชุดทดสอบโพรไบโอติกทั้งสองอย่างชัดเจน โดยความยาวเฉลี่ยของชุดทดสอบ 1 กุ้งขาวมีการเจริญมากที่สุด และผลของน้ำหนักในช่วง 2 วันแรก ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวของชุดควบคุมกับชุดทดสอบ 1 มีขนาดใกล้เคียงกัน ในวันที่ 3 จนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวของชุดทดสอบ 1 และชุดทดสอบ 2 มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และพบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของชุดทดสอบ 1 กุ้งขาวมีการเจริญมากที่สุด แสดงว่าการเลี้ยงกุ้งขาวเสริมสารอาหารโพรไบโอติกสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้งขาวได้ แต่จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่า ผลการเจริญของกุ้งขาวที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน ไม่มีความแตกต่างกัน อาจเนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงสั้นเกินไปจึงไม่พบความแตกต่างทางสถิติ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทำอาหารเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก เพิ่มความถี่ในการทำให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เพราะอาจทำให้แป้งบางส่วนไม่ละลาย และจับกันเป็นก้อน เมื่อทำอาหารเลี้ยงเชื้อเสร็จแล้ว เทอาหารลงเพลทในสภาวะปลอดจากเชื้อ และตั้งเพลทซ้อนกันเป็นแนวตั้งเพื่อเลี่ยงการเกิดหยดน้ำบนฝาเพลท จากนั้น รอให้อาหารแห้งโดยการเก็บไว้ข้ามวัน โดยอาหารที่แห้งสนิทแล้วจะมีลักษณะผิวหน้าอาหารสะท้อนแสงที่เหมือนกัน และไม่ควรลงเชื้อบนผิวหน้าอาหารที่ยังไม่แห้งเพราะจะทำให้เชื้อลามได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมน้ำสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวควรใช้เวลาในการปรับสภาพของน้ำในบ่อ โดยการให้อากาศ 3 วัน เมื่อปรับสภาพน้ำในบ่อแล้ว จากนั้นนำน้ำไปใส่ในตู้แยก ที่จัดตรียมไว้โดยน้ำทีจะนำไปใส่ตูควรปรับระดับความเค็มที่ 20 พีพีที และการเริ่มอนุบาลกุ้งขาว ควรสังเกตความแรงของออกซิเจนที่ออกจากหัวพ่นอากาศ หากออกซิเจนออกแรงเกินไปอาจจะทำให้กุ้งขาวที่อยู่ในบ่อไม่สามารถว่ายน้ำหนีฟองอากาศได้หรือหากถ้าความแรงของออกซิเจนเบาเกินไป ก็อาจจะทำให้ปริมาณของออกซิเจนที่กุ้งจะได้รับไม่เพียงพอ

การจัดการเรื่องของการถ่ายน้ำเปลี่ยนน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ควรวัดค่าพีเอชของน้ำให้อยู่ในช่วง 7.0-7.8 สังเกตในเรื่องของสีน้ำในบ่อเรื่องกุ้ง หรือน้ำในบ่อมีฟองอากาศขึ้น ถ้าเกิดเหตุการณ์แบบนี้แสดงว่าในบ่อเลี้ยงกุ้ง มีปริมาณอินทรีย์ในน้ำมากเกินไป ควรมีการถ่ายน้ำหรือเปลี่ยนน้ำ

การให้อาหาร กุ้งขาวควรได้รับสารอาหารที่ปริมาณพอดี เหมาะสม ซึ่งจะทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตได้ดี หากให้ปริมาณอาหารน้อย อาจจะส่งผลทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตช้า และอาจทำให้กุ้งกินกันเองได้ หรือหากให้ปริมาณมากเกินไป ก็จะทำให้คุณภาพน้ำในบ่อลดลง สารจากอาหารก็จะมีการกระตุ้นการเกิดจุลินทรีย์ย่อย และเกิดการปล่อยแอมโมเนียออกมา ทำให้กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตช้า อ่อนแอ และเกิดการติดเชื้อโรคของกุ้งสูงขึ้น จึงควรมีการให้อาหารกุ้งขาวร่วมกับโพรไบโอติก เพื่อให้เชื้อของโพรไบโอติกไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของกุ้งและปรับคุณภาพน้ำให้ดีขึ้น อีกทั้งยังช่วยลดในเรื่องของต้นทุนในการเลี้ยงกุ้งขาวอีกด้วย แต่ควรให้สารอาหารโพรไบโอติกในปริมาณเหมาะสม เพราะทำให้สุขภาพของกุ้งดี และอาจไม่ก่อให้เกิดโรคได้ ถ้าให้สารอาหารเสริมโพรไบโอติกมากเกินไป ทำให้ออกซิเจนในน้ำลดลงซึ่งอาจส่งผลให้เกิดน้ำเน่าเสียได้

การเจริญเติบโตของกุ้งที่ดี สังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของกุ้ง เช่น กุ้งที่มีสุขภาพดีหรือเจริญเติบโตดี จะมีลักษณะ ขนาดตามปกติ กินอาหารได้ดี ลำตัวจะใสสะอาดไม่ขุ่น รยางค์ครบถ้วน กุ้งที่มีอาการป่วย จะมีลักษณะ โตช้า เกาะขอบบ่อ หรือจะว่ายน้ำไปมาบนผิวน้ำ กินอาหารลดลง ขี้มีสีผิดปกติหนวดกุด ขากุด ตัวซีด ตัวบวมและหดผิดปกติ เปลือกนิ่ม

พื้นที่ในการเลี้ยงกุ้งขาว ควรเป็นพื้นที่สงบ ไม่มีคนเดินพลุกพล่าน หรือมีเสียงดัง เพราะจะทำให้กุ้งขาวเกิดการตกใจ ว่ายน้ำไปชนกับขอบบ่อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์. วุฒิพร พรหมขุนทอง. ชุติมา ตันติกิตติ และ Rudolf Hoffmann. 2543. ระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22 (ฉบับพิเศษ). หน้า 582-586

จิรพร สิงหพันธ์. 2547. ผลของ infectious hypodermal และ hematopoietic necrosis virus (IHHNV) ต่อการเจริญเติบโตและการรอดของกุ้งขาวแปซิฟิก (*Litopenaeus vannamei*; Boone, 1931). วิทยานิพนธ์. วท.ม. (วิทยาศาสตร์การประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชลอ ลิ้มสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2547. การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. กรุงเทพฯ. หน้า 117-164

ไตรมาศ บุญไทย. วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2550. ผลของโพรไบโอติกต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ *Vibrio* และปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 45 ระหว่างวันที่ 30 มกราคม ถึง 2 กุมภาพันธ์ 2550

ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์. 2543. รายงานการวิจัยเรื่องระบบการต่อต้านการเกิดโรคของกุ้งกุลาดำ ภาควิชาวาริชศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา

ปาจรีย์ จือเหลียง. ชลอ ลิ้มสุวรรณ และนิติ ชูเชิด. 2554. ผลของแบคทีเรียกลุ่มบาซิลัส (*Bacillus* spp.) ในการควบคุม (*Vibrio harveyi*) และอัตรารอดในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในห้องปฏิบัติการ. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 สาขาประมง. กรุงเทพฯ. หน้า 27-34

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2545. ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไม. วารสารสัตว์น้ำ ปีที่ 14 ฉบับที่ 160

ภวัต สังขะวัฒนะ. 2544. การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาว แอล. วานาไม (Practical Technology for *Litopenaeus vannamei* Culture). สำนักพิมพ์เมืองเกษตรแม็กกาซีน. สมุทรปราการ

มณเฑียร ส่งเสริม. บัญญัติ สุขศรีงาม และ ปภาศิริ ศรีโสภา. 2533. การศึกษาแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ. ว. ศรีนครินทรวิโรฒ วิจัย และพัฒนา. 4: 15-24

สุดารัตน์ เลิศยินดี. 2549. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจการผลิตกุ้งขาว ในอำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และ ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร. 2560. การพฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบใหม่เพื่อการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม. มหาวิทยาลัยบูรพา

อภิฤดี สงสุข. นิจธร สังข์ศิรินทร์ และพชรินทร์ สุวรรณมาลี. 2561. ผลของโพรไบโอติก *Bacillus subtilis* ต่อการควบคุม *Vibrio* spp. และอัตราการรอดตายในการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). แก่นเกษตร 46 ฉบับพิเศษ 1, ภาควิชาจุลชีวิทยา วิทยาลัยแพทศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

Axelsson, L.T. 1993. Lactic Acid Bacteria Classification and physiology. In Salminen, S., Ed. Von Wright, A. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, New York.

Austin, B. 1995. *Vibrio*, mobiluncus, gardnerella and spirillum. Medical Microbiology, p. 314-323.

Balcazar, J.L. de Blas, I. Ruiz-Zarzuela, I. Cunningham, D. Vendrell, D. and Muzquiz, J.L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology. 114: 173-186.

Chamberlain, N. 2009. Endospore stain of *Bacillus subtilis*, American Society for Microbiology 2 : 9-13.

Chang, C.I. & Liu W.Y. 2002. An evaluation of two probiotic bacterial strains, Enterococcus faecium SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla L*. Journal of Fish Diseases 25, 311– 315.

Cutting, S.M. 2011. *Bacillus* probiotics. Food Microbiology. 28 2: 214-220.

Debach, P. and Rosen, D. 1991. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press.

FAO/WHO. 2001. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina.

Farfante, I.P. 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.

Gatesoupe, F.J. 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio. Published online by Cambridge University.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ไม่ได้นำไปใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้เพื่อวัตถุประสงค์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

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

Garcia de banda.1992. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. Aquaculture, 259-270.

Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K., 2004. Growth and survival of rohu, Labeo rohita (Hamilton) spawn fed diets fermented with intestinal bacterium, Bacillus circulans. Acta Ichthyol. Piscat. 34 (2): 155–165.

Gildberg, A and Mikkelsen, H .1998. Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immune-stimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*. Aquaculture.103-113

Gullian, M. Thompson, F. and Rodriguea, J. (2004). Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in Penaeus vannamei. Aquaculture. 233. 1-14

Holthuis, L.B. 1980. Shrimps and Prawns of the World. FAO Species Catalogue. Vol. 1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Italy. Jory, D.E. and Cabrera, T. 2003. Marine Shrimp. Available [Online]. http://www.blackwell.com

Interaminense, J.A. Vogeley, J.L. Gouveia, C.K. Portela, R.W.S. Oliveira, J.P. Andrade, H.A. Peixoto, S.M. Soares, R.B. Buarque, D.S. and Bezerra, R.S. 2018. In vitro and in vivo potential probiotic activity of *Bacillus subtilis* and *Shewanella algae* for use in *Litopenaeus vannamei* rearing. Aquaculture 114-122

Irianto, A and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. School of Life Sciences, 633-642.

Isa, S.H. Ramlee, M.N.A. Lola, M.S. Mhd Ikhwanuddin, Azra, M.N. Abdullah, M.T. Zakaria, S. and Ibrahim, Y. 2021. A system dynamics model for analysing the eco- aquaculture system of integrated aquaculture park in Malaysia with policy recommendations. Environment, Development and Sustainability 23, 511-533.

Jory, D. and Cabrera, T. 2003. Marine Shrimp (chapter 19). In J. Lucas & P.C. Southgate (eds) Aquaculture: farming Aquatic Animals and Plants. Blackwell Publishing, London, pp. 382-419

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Kutako, M. Limpiyakorn, T. Luepromchai, E. Powtongsook, S. and Menasveta, P. 2009. Inorganic nitrogen conversion and change of bacterial community in sediment from shrimp pond after methanol addition. Journal of Applied Sciences 9: 2907-2915.

Lilley, D.M. and Stillwell, R.J. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by micro-organisms. Science. 147 : 747-748.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.

Limsuwan, C. 2003. Status and prospects of white shrimp culture in Southeast Asia, pp. 50-59. In DSM Nutritional Products the 9th Aquaculture Conference Asia Pacific. Bangkok. Thailand.

Losick, R. 1996, Molecular genetics of sporulation in *Bacillus subtilis*. Annual Reviews Inc. 30: 297-341.

Metchnikoff, E. 1908. The nature of man: Studies in optimistic philosophy. London: William Heinemann.

Naik, A.T.R., Murthy, H.S. Ramesha, T.J., 1999. Effect of graded levels of G-probiotic on growth, survival and feed conversion of tilapia, Oreochromis mossambicus. Fish. Technol. 36, 63–66.

Nikoskelainen, S. 2001.Protection of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. Aquaculture. 229-236

Nimrat, S. Boonthai, T. and Vuthiphandchai, V. 2009. Probiotics: Past, Present and Future Use of Probiotics in Aquaculture. Burapha Sci. Special Volume. 67-79.

Panigrahi, A. Kiron, V. Puangkaew, J. Kobayashi, T. Satoh, S. and Sugita, H. 2004.The viability of probiotic bacteria in rainbow trout Oncorhynchus my kiss. Aquaculture, 241-254.

Parker, R.B. 1974. Probiotics: The other half of the antimicrobial story. Animal Nutrition and Health, 29. 4-8

Phianphak, W. Rengpipat, S. Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1999. Probiotic Use of Lactobacillus spp. for Black Tiger Shrimp, Penaeus monodon. Aquaculture. 271-283.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ห้ามดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Rengpipat, S. Rukpratanporn, S. Piyatiratitivorakul, S. Menasaveta, P. 1998. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiotic bacterium (*Bacillus* S11). Aquaculture, 271-288.

Robertson, P.A.W. O'Dowd, C. Burrells, C. Williams, P. Austin, B. 2000. Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Aquaculture. 235-243

Salminen, S. and Wright, A.V. 1993. Lactic Acid Bacteria, 442 p. New York: Marcel Dekker Inc.

Santos, E. A. 2015. Endospores. sporulation and germination. Molecular Medical Microbiology (Second Edition). 1 : 163-178.

Scholz, A. Diaz, G. Ricque, D. Suarez, L.E.C. 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile Penaeus vannamei by supplementation of diets with different yeast products. Aquaculture. 271-283

Sella, S. R. Vandenberghe, L. P. and Soccol, C. R. 2014. Life cycle and spore resistance of sport-forming *Bacillus atrophaeus* Microbiological Research, 16912. 931-939.

Srisuvan, T., K.F.J. Tang and D.V. Lightner. 2005. Experimental infection of Penaeus monodon with Taura syndrome virus (TSV). Dis. Aquat. Org. 67: 1-8.

Tacon, A.G.J. 1991. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In: D.H. Akiyama and R.K.H. Tan (eds.) Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, September 19-25, 1991, Thailand and Indonesia. American Soybean Association, Singapore. 10-41.

Thomas, G.M. Ward, C.H. Raymond, R.L, Wilson, J.T. and Loehr, R.C. 1992. In J. Leperberg (Ed.). Bioremedi- action in Encyclopedia Microbiology (pp. 369-385). London: Academic Press.

Verschueres, L. Rombaut, G. Sorgeloos, P. and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 64 : 655-671..

Zhou, Q. Li, K. Jun, X. Bo, L. 2009. Role and functions of beneficial microorganisms in sustainable aquaculture. 3780-3786.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Zokaeifar, H. Babaei, N. Saad, C.R. Kamaruddin, M.S. Sijam, K. and Balcazar, J.L. 2014. Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against Vibrio harveyi infection in juvenile white shrimp, (*Litopenaeus vannamei*). Fish & Shellfish Immunology 36: 68-74.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมเชื้อและสารละลายเชื้อผสมโพรไบโอติก

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 การเตรียมอาหารแข็ง YM

Malt extract	3	กรัมต่อลิตร
Yeast	3	กรัมต่อลิตร
Peptone	5	กรัมต่อลิตร
Glucose	10	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

1.2 การเตรียมอาหารแข็ง YM สูตรดัดแปลง ของเชื้อ รหัส BM

Malt extract	3	กรัมต่อลิตร
Yeast	3	กรัมต่อลิตร
แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัมต่อลิตร
แป้งถั่วเหลือง	10	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

1.3 การเตรียมอาหารแข็ง YM สูตรดัดแปลง ของเชื้อ รหัส BS

Malt extract	3	กรัมต่อลิตร
Yeast	3	กรัมต่อลิตร
แป้งมันสำปะหลัง	20	กรัมต่อลิตร
แป้งถั่วเหลือง	10	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

1.4 การเตรียมอาหารแข็ง YM สูตรดัดแปลง ของเชื้อ รหัส BP_2

Malt extract	3	กรัมต่อลิตร
Yeast	3	กรัมต่อลิตร
แป้งมันสำปะหลัง	30	กรัมต่อลิตร
แป้งถั่วเหลือง	15	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารปริมาตร 1 ลิตร ให้ละลายแป้ง และแป้งถั่วเหลืองในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร นำไปวัด pH ปรับให้มีค่า 6.8-7.2 (NaOH, HCl) นำน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ไปตั้งไฟรอจนเดือด จึงใส่น้ำแป้งและแป้งถั่วเหลือง (ที่ปรับ pH แล้ว) นำน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ไป rinse บีกเกอร์อาหาร แล้วเทใส่หม้อต้ม แล้วทำซ้ำอีกรอบ เพื่อให้อาหารทั้งหมดลงในหม้อต้ม และปรับปริมาตรอาหาร เป็น 1 ลิตร เมื่อวุ้นละลาย (สังเกตเม็ดวุ้น) ให้ยกลงจากเตา แล้วนำมาใส่หลอด test tube ปริมาตร 5-7 มิลลิลิตร ปิดสำลี หุ้มด้วยกระดาษ แล้วนำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ ถ้าเป็นอาหารเหลวไม่ต้องใส่วุ้น หลังจากต้มอาหารจนแป้งละลาย จึงแบ่งใส่ฟลาสก์ 100 มิลลิลิตร ปิดสำลี หุ้มด้วยกระดาษ แล้วนำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. การเตรียมเชื้อ

2.1 เตรียมเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 รหัส

2.1.1 นำเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 รหัส ที่เก็บรักษาในตู้เย็น มา Streak บนเพลทให้ได้โคโลนีเดี่ยวเพื่อให้เซลล์เกิดความ Active อยู่ในสภาวะพร้อมใช้งาน

2.1.2 นำเชื้อโพรไบโอติกโคโลนีเดี่ยวที่ได้แต่ละรหัส ได้แก่ BM, BS, และ BP_2 ไป Streak ในหลอดอาหารวุ้นเอียง YM ในสภาวะปลอดเชื้อ (Aseptic technique) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.1.2 นำเชื้อโพรไบโอติกแต่ละรหัสในอาหารวุ้นเอียง มาเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้ได้เป็นสารละลายเซลล์ (Cell suspension)

2.1.3 สารละลายเซลล์ (Cell suspension) ของเชื้อที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.2-0.8

2.1.4 ถ่ายสารละลายเชื้อโพรไบโอติกแต่ละรหัส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว YM ที่มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะเขย่า แล้วนำแต่ละเชื้อมาผสมกันด้วยอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เก็บในตู้เย็นเพื่อใช้เป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์

1. วิธีย้อมแกรม

1.1 หยดน้ำกลั่นลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้ลูปแตะเชื้อแล้วเกลี่ย (smear) ให้เป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ และปล่อยให้แห้ง

1.2 นำสไลด์ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง ทิ้งให้เย็น

1.3 หยดสี Crystal violet ให้ท่วมรอยที่เกลี่ย (smear) ทิ้งไว้ 1 นาที

1.4 ล้างออกด้วยน้ำกลั่นแล้วย้อมทับด้วย Gram iodine นาน 1 นาที

1.5 ล้างออกด้วยน้ำกลั่น และล้างสีของ Crystal violet ด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 2-3 วินาที

1.6 ย้อมทับด้วย Safranin นาน 30 วินาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่น

1.7 ปล่อยให้สไลด์แห้ง แล้วมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. วิธีชั่งน้ำหนัก

2.1 ใช้เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ทศนิยม 3 ตำแหน่ง กด tare ก่อนชั่งน้ำหนักทุกครั้ง

2.2 ใส่น้ำลงในบีกเกอร์ให้เพียงพอต่อตัวกุ้ง จดบันทึกน้ำหนัก

2.3 ชั่งกุ้งขาว รอจนตัวเลขคงที่ บันทึกผล

2.4 นำน้ำหนักหลังชั่ง (กรัม) ลบน้ำหนักก่อนชั่ง (กรัม) เท่ากับ น้ำหนักของกุ้งขาว (กรัม)

3. วิธีวัดความยาว

ขีดเส้น 1 ตารางเซนติเมตร นำไปวางใต้บีกเกอร์สำหรับใช้ชั่งน้ำหนัก โดยให้กุ้งวางตัวตามความยาวของเส้นตาราง

4. วัดค่าการดูดกลืนแสง

วัดค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อโพรไบโอติก วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 หรือ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 4 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาว พิมพ์รภัทร สวัสดิ์มา รหัสประจำตัว 62050524

นางสาว วรัญญา ตรากลาง รหัสประจำตัว 62050535

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่า โครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกกระตุ้นการเจริญของกุ้ง

ชื่อภาษาอังกฤษ The Application of Probiotics for Growth Stimulation in Shrimp

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 14.79 %

ลงชื่อ....พิมพ์รภัทร....	ลงชื่อ....วรัญญา....
(พิมพ์รภัทร สวัสดิ์มา)	(วรัญญา ตรากลาง)
นักศึกษา	นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงชื่อ...

(ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้