การใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงร่วมกับ จุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อการเลี้ยงกุ้ง

THE APPLICATION OF PURPLE NON-SULFUR PHOTOSYNTHETIC BACTERIA AND PROBIOTICS FOR SHRIMP CULTIVATION

พิรญาณ์ ระดมสุข

อทิตยา พลับอิน

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE APPLICATION OF PURPLE NON-SULFUR PHOTOSYNTHETIC BACTERIA AND PROBIOTICS FOR SHRIMP CULTIVATION

PIRAYA RADOMSUK

ATHITAYA PLUBIN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อการเลี้ยงกุ้ง The application of purple non-sulfur photosynthetic bacteria and probiotics for shrimp cultivation
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิรญาณ์ ระดมสุข รหัสนักศึกษา 62050526 นางสาวอทิตยา พลับอิน รหัสนักศึกษา 62050554
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง(สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ 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	การใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อการเลี้ยงกุ้ง The application of purple non-sulfur photosynthetic bacteria and probiotics for shrimp cultivation
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิรญาณ์ ระดมสุข รหัสนักศึกษา 62050526 นางสาวอทิตยา พลับอิน รหัสนักศึกษา 62050554
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง(สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์

บทคัดย่อ

ศึกษาการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii)* ด้วยการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลว AM medium ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้ความเข้มแสง 1500-2000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และการเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 5 รหัส ได้แก่ BS, BL, BM, BP_2 และ BP ที่เจริญในอาหารเหลว SS medium ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากน้ำนำเชื้อแต่ละชนิดมาผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1:1:1:1 ได้เป็นสารละลายเชื้อผสม เพื่อใช้ทดสอบการเพาะเลี้ยงกุ้ง การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในกลุ่มควบคุม ซึ่งได้รับอาหารกุ้งเท่านั้น เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งก้ามกรามให้น้ำหนักเฉลี่ย และความยาวเฉลี่ย 0.49±0.27 กรัม และ 1.29±0.16 เซนติเมตร ตามลำดับ ขณะที่การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในกลุ่มทดสอบ ซึ่งได้รับอาหารกุ้งและสารละลายเชื้อผสมวันละ 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ย และความยาวเฉลี่ยที่ 1.17±0.72 กรัม และ 3.08±1.90 เซนติเมตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารละลายเชื้อผสมระหว่างจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และเชื้อโพรไบโอติก สามารถกระตุ้นการเจริญของกุ้งก้ามกราม และยังพบว่ากุ้งมีสุขภาพแข็งแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The application of purple non-sulfur photosynthetic bacteria and probiotics for shrimp cultivation
Students	Miss Piraya Radomsuk Student ID 62050526
	Miss Athitaya Plubin Student ID 62050554
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krairak

Abstract

The application of purple non-sulfur photosynthetic bacteria and the mixture of probiotics for giant freshwater prawn ((*Macrobrachium rosenbergii*)) cultivation was studied. The purple non-sulfur photosynthetic bacterium was cultured in AM medium using cassava starch as c-source under 1500-2000 lux of light intensity at 40°C for 7 day. Meanwhile, five strains of probiotics bacteria (BS, BL, BM, BP2 and BP) were cultured in SS medium at 30°C for 48 h. Then, the mixed culture solution of the purple non-sulfur photosynthetic bacterium and five strains of probiotics bacteria were done by the ratio of 1:1:1:1:1:1, respectively, for the further examined of giant freshwater prawn cultivation. It was found that the average weight and the average length of the prawn in control group (shrimp feed, only) were 0.49±0.27 g and 1.29±0.16 cm, respectively. While, the prawn in treatment group (supplemented 5-ml of mixed culture solution and shrimp feed) showed the average weight and the average length of 1.17±0.72 g and 3.08±1.90 cm, respectively. It was concluded that the mixed culture solution of the purple non-sulfur photosynthetic bacterium and five strains of probiotics bacteria enhanced growth and health of the giant freshwater prawn.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์ และช่วยเหลือเป็นอย่างดี จาก ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำเสนอข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดจนค่อยสนับสนุนให้กำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ที่ให้เกรียรติเป็นประธานกรรมการ และ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษครั้งนี้ ซึ่งค่อยชี้แนะและแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณฟาร์มสมทรงที่ให้ความอนุเคราะห์ลูกกุ้งก้ามกรามที่มาใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกเรื่องต่าง ๆ ในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้ และบุคคลอื่นอีกหลายท่านที่ไม่สามารถนำมากล่าวได้ทั้งหมด

สุดท้าย ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ บิดา มารดา สมาชิกในครอบครัวทุกท่านที่ให้ทุนและกำลังใจในการศึกษา ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย และสำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิด และยินดีรับฟังคำแนะนำติชม จากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษาเพื่อประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยอื่น ๆ ต่อไป

พิรญาณ์ ระดมสุข
อทิตยา พลับอิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขต	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**3**
2.1 ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม	3
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งก้ามกราม การแพร่กระจาย และพฤติกรรมการอพยพย้ายถิ่น	3
2.1.2 การพัฒนาของกุ้งกรามกราม	4
2.1.3 การลอกคราบและการเจริญเติบโต	6
2.2 โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	7
2.2.1 ชนิดและคุณสมบัติของโพรไบโอติกที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	7
2.2.2 สรรพคุณและการประยุกต์ใช้โพรไบโอติก	8
2.3 จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	10
3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง	10
3.2 เชื้อแบคทีเรีย	10
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	10
3.4 เครื่องมือวิทยาศาสตร์	10
3.5 อุปกรณ์	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 การเตรียมน้ำทะเลเทียมสำหรับอนุบาลกุ้งก้ามกราม 12
3.7 การอนุบาลกุ้งก้ามกราม 12
3.8 วิธีการทดลอง 13
3.8.1 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง SS medium 13
3.8.2 การเตรียมอาหาร AM medium ของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง 13
3.8.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 14
3.8.4 การวัดค่าดูดกลืนแสงเชื้อโพรไบโอติก (BM, BL, BS, BP2 และ BP) 14
3.8.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และวัดค่าดูดกลืนแสง 14
3.8.6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติก (BM, BL, BS, BP2 และ BP) เชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงต่อการเจริญของกุ้งก้ามกราม 15

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล
4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 16
4.2 ศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง 18
4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และเชื้อโพรไบโอติก (BS, BL, BM, BP_2 และ BP) ต่อการเจริญของกุ้งก้ามกราม 19

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 21
5.1 สรุปผลการวิจัย 21
5.2 ข้อเสนอแนะ 22
เอกสารอ้างอิง 24
ภาคผนวก 31
ภาคผนวก ก 32
ภาคผนวก ข 35
ภาคผนวก ค 36
ภาคผนวก ง 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดของโพรไบโอติกและการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆ	7
4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก	16
4.2 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม (กรัม)	20
4.3 ความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม (เซนติเมตร)	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ลักษณะของกุ้งก้ามกราม	4
2.2 วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม	5
3.1 การกำจัดคลอรีนในน้ำ	12
3.2 อาหาร AM medium ของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง	14
3.3 เชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่บ่มภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์	15
3.4 การวัดน้ำหนัก และการวัดขนาดกุ้งก้ามกราม	15
4.1 การเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลว AM medium ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	18
4.2 แสดงน้ำหนัก และความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii)* มีถิ่นกำเนิดในภูมิภาคอินโดแปซิฟิก และพบมากในมาเลเซีย ไทย อินเดีย บังคลาเทศ และเมียนมาร์ (Aflalo และคณะ, 2012; Gao และคณะ, 2020; Jiang และคณะ, 2020; Mostafiz และคณะ, 2020) เนื่องจากกุ้งก้ามกรามมีปริมาณโปรตีนสูง รสชาติอร่อย และมีขนาดตัวที่ใหญ่ กุ้งก้ามกรามจึงกลายเป็นแหล่งอาหารที่นิยมทั่วโลก (Banu และ Christianus, 2016; Islam และคณะ, 2017; Roustaian และคณะ, 1999; Roustaian และคณะ, 2000) แต่กุ้งก้ามกรามในธรรมชาติก็มีจำนวนที่ลดลงเนื่องจากการสร้างฝาง และการสร้างเขื่อนจึงมีการพัฒนาการเลี้ยงกุ้งให้เป็นอุตสาหกรรมจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เกษตรกรนิยมเพาะพันธุ์เพราะเป็นที่ต้องการของตลาด และมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์น้ำจืดชนิดอื่น รวมถึงยังสามารถเพาะพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี (ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม, 2561) ซึ่งการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามนั้นเจออุปสรรคสำคัญจากโรคระบาดที่เกิดในการเพาะเลี้ยงจากการติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัส โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงในปริมาณมากอาจส่งผลให้เกิดความสูญเสียอย่างมาก เช่น คุณภาพอาหารโดยส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งตลอดจนปริมาณอาหารที่ให้มาก หรือน้อยก็มีผลต่อของเสียตกค้างในบ่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารอาหารจำพวกโปรตีนที่สัตว์น้ำมีความต้องการสูงถึง 40-50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารอาหารทั้งหมด ซึ่งอาจทำให้น้ำเน่าเสีย และเป็นแหล่งอาหารจุลินทรีย์ก่อโรคกุ้ง และการเปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นอีกปัจจัยที่ส่งผลต่อการเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากคุณภาพของน้ำที่ดีสามารถช่วยลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในกุ้งตลอดจนสภาวะเครียดของกุ้งได้ ถ้าไม่ได้เปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นเวลานานจะทำให้เศษอาหารตกค้างจำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีน อีกทั้งปริมาณอาหารของเสีย หรือมูลที่กุ้งถ่ายออกมาหลังจากกุ้งนำโปรตีนไปสร้างเป็นเนื้อกุ้ง หรือ เพื่อการเจริญเติบโตเหล่านี้มีทั้งสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ที่ส่งผลให้คุณภาพน้ำไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้ง (อนันต์, 2538; สุปราณี และคณะ, 2545, สิริ, 2547; อมรรัตน์ และคณะ, 2548; กฤษณา และคณะ, 2549) เพื่อแก้ปัญหานี้เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมี และยาปฏิชีวนะ ในการควบคุมและป้องกันโรค ซึ่งการใช้สารเคมี และยาปฏิชีวนะนั้นทำให้มีสารตกค้างที่มีความอันตรายรวมถึงเชื้ออาจจะดื้อยาหากใช้ไปเรื่อย ๆ มีการแนะนำว่าการใช้โพรไบโอติกจึงเป็นทางเลือกที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยง

โพรไบโอติก (Probiotics) คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อตัวสัตว์ ทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารอยู่ในสมดุลช่วยให้ระบบการย่อยอาหารดีขึ้น รวมถึงช่วยดูดซึมอาหารได้ดีขึ้น โดยโพรไบโอติกจะหลั่งเอนไซม์ออกมาจากเซลล์ เช่น อะไมเลส โปรติเอส และไลเปส ที่ช่วยย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์ไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้เป็นสารอาหารขนาดเล็ก และโพรไบโอติกจะเป็นตัวช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์ช่วยให้สัตว์มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ โดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ของสัตว์น้ำจะประกอบด้วยจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ และกลุ่มที่ก่อให้เกิดโทษ เมื่อมีการเสียสมดุล และมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ไม่ดีจำนวนมากกว่าจะทำให้ติดโรคจึงมีการนำโพรไบโอติกซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงมาใช้ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งจะส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตที่ดี สุขภาพแข็งแรง และปลอดโรค ทำให้สามารถขายได้ราคาดี และเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคอีกด้วย

จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (Photosynthetic Bacteria) เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำตามธรรมชาติและในดินทั่ว ๆ ไป มีบทบาทสำคัญในกระบวนการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ (CO_2 -Assimilation) รวมไปถึงการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixation) ในดินและน้ำมาใช้ และสามารถย่อยสลายอินทรีย์วัตถุให้มีขนาดเล็กลง เร่งปฏิกิริยาการเกิดปุ๋ย ด้วยความสามารถตรงนี้เองทำให้เรานำประโยชน์ของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงตรงส่วนนี้มาช่วยในเรื่องของการเกษตรได้ นอกจากนี้ยังมีความสำคัญในห่วงโซ่อาหาร ซึ่งสัตว์ขนาดเล็กจำพวก ปลา กุ้ง หอย และปู สามารถนำจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงมาใช้เป็นอาหารได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1) ศึกษาปริมาตรของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและโพรไบโอติกที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

1.2.2) ศึกษาผลของการใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อการเจริญของกุ้ง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1) เพาะเลี้ยงเชื้อไบโอติกทั้ง 5 รหัส (BS, BL, BM, BP2 และ BP) ที่เก็บรักษาในตู้เย็นให้อยู่ในระยะคงที่ (Stationary phase)

1.3.2) เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ให้อยู่ในระยะคงที่ (Stationnary phase)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1) เพื่อใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก และจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง

1.4.2) คุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และ เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกให้ผลดีต่อการนำไปใช้เลี้ยงกุ้งก้ามกราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

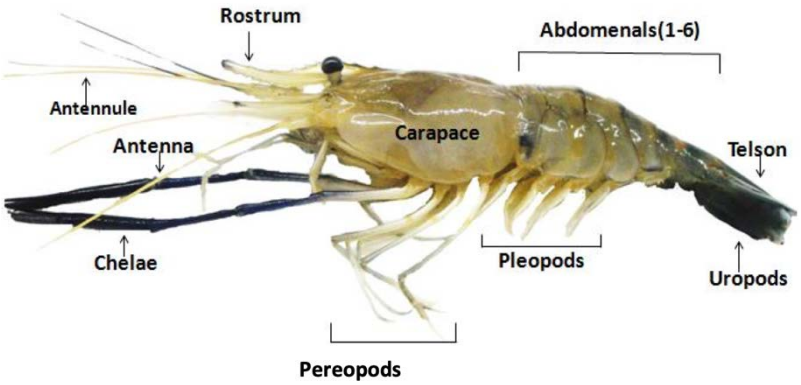
2.1 ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม (ยนต์, 2529)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งก้ามกราม การแพร่กระจาย และพฤติกรรมการอพยพย้ายถิ่น

กุ้งก้ามกรามมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *(Macrobrachium rosenbergii)* บางครั้งเรียกว่ากุ้งนาง หรือกุ้งหลวง เป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ มีก้ามใหญ่ยาวสีครามสดถึงสีครามแก่ ขนาดใหญ่ที่สุดที่พบในประเทศไทยที่มีรายงานไว้มีน้ำหนักถึง 470 กรัม โดยกุ้งก้ามกรามมีลำตัวเป็นปล้อง ส่วนหัวและอกจะคลุมด้วยเปลือกชิ้นเดียวกัน ส่วนของลำตัวเปลือกจะแยกเป็นปล้องๆ กุ้งก้ามกรามมีหนวด 2 คู่ ขาเดิน 5 คู่ และขาว่ายน้ำอีก 5 คู่ ปลายหางจะมีลักษณะเป็นหนามแหลมและมีแพนหาง 2 ข้าง ขาเดินคู่ที่ 1 และที่ 2 จะมีปลายเป็นก้าม ส่วนคู่ที่ 3, 4 และ 5 มีลักษณะเป็นปลายแหลมธรรมดา ขาเดินคู่ที่ 2 นั้นจะเป็นก้ามที่มีขนาดใหญ่ยาวมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกุ้งตัวผู้ ดังที่แสดงในรูปที่ 2.1

ถิ่นกำเนิดของกุ้งก้ามกรามอยู่ในทวีปเอเชียพบชุกชุมในประเทศไทย พม่า เวียดนาม เขมร มาเลเซีย บังคลาเทศ อินเดีย ศรีลังกา อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ ในประเทศไทยพบกุ้งก้ามกรามแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำจืดที่มีทางติดต่อกับทะเล และแหล่งน้ำกร่อยบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง รวมถึงทะเลสาบด้วย หรือแม้แต่ในภาคเหนือก็พบกุ้งชนิดนี้อยู่ในแม่น้ำเมยซึ่งเป็นสาขาของแม่น้ำสาละวินของพม่า ที่อำเภอแม่สอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน ซึ่งในภาคกลางพบได้อย่างชุกชุมที่แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ท่าจีน แม่น้ำแม่กลอง แม่น้ำบางปะกง แม่น้ำปราณบุรี และแม่น้านครนายก ส่วนในภาคตะวันออกจะพบที่แม่น้ำจันทบุรี แม่น้ำเวฬุ แม่น้ำระยอง และแม่น้ำตราด สุดท้ายที่ภาคใต้ก็พบได้ที่แม่น้ำหลังสวน แม่น้ำตาปี แม่น้ำกระบุรี แม่น้ำตรัง แม่น้ำปัตตานี และทะเลสาบสงขลา โดยเมื่อกุ้งก้ามกรามมีไข่จะอพยพลงมาบริเวณแม่น้ำลำคลองที่เป็นน้ำกร่อยเพื่อผสมพันธุ์วางไข่ ซึ่งไข่จะฟักออกมาเป็นตัวในเขตน้ำกร่อยและพัฒนาไปเรื่อยๆจนมีลักษณะเหมือนกุ้งโตจึงเข้าไปหากินในแหล่งน้ำจืด ซึ่งในการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามจะใช้น้ำทะเลผสมกับน้ำจืดในอัตราส่วน 3 ต่อ 4 หรือมีความเค็ม 12-15 ส่วนในพันส่วน (ppt) และการตรวจวัดความเค็มทำได้หลายวิธี เช่น วิธีไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเทรต ($AgNO_3$) หรือ ใช้เครื่องมือวัดความเค็ม (Salino- meter) และอีกวิธีหนึ่งเป็นวิธีง่ายๆ คือ ใช้ ไฮโดรมิเตอร์ (hydrometer) ซึ่งชาวบ้านเรียกว่า ปรอทวัดความเค็มจุ่มลงในภาชนะใส่น้ำเค็มเพื่อหาค่าความถ่วงจำเพาะแล้วเทียบหาค่าความเค็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ลักษณะของกุ้งก้ามกราม

ที่มา : สุวลี และ จิราพร, (2562)

ทรงชัย (2532) ได้บอกถึงวิธีการเพาะพันธุ์กุ้งก้ามกรามนั้นสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธีใหญ่ๆ คือ

1. การเพาะพันธุ์ระบบปิด โดยการใช้น้ำหมุนเวียนภายในบ่อแต่ผ่านที่กรอง (filter) ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยชั้นทราย ที่จะช่วยลดปริมาณแอมโมเนียม และไนไทรต์ที่ลูกกุ้งถ่ายออกมาได้ วิธีนี้สะดวกในการควบคุมคุณสมบัติของน้ำ และไม่ต้องใช้น้ำทะเลมาก จากผลของการทดลองของนักวิชาการปรากฏว่า วิธีนี้จะได้ผลค่อนข้างแน่นอน

2. การเพาะพันธุ์โดยวิธีธรรมดา หรือ การเพาะพันธุ์ระบบเปิด โดยวิธีนี้จะมีการเปลี่ยนน้ำบ่อยวันเว้นวัน หรือทุก 2-3 วัน ครั้งละประมาณ 10-50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่เหมาะกับผู้ที่อยู่ไกลจากน้ำทะเล บางแห่งนิยมใช้น้ำเขียวที่ได้จากบ่อเลี้ยงปลาหมอเทศ หรือปลานิลมาใช้เลี้ยงกุ้ง น้ำเขียว คือ น้ำที่มีสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก ส่วนใหญ่เป็นพวกคลอเรลลา (Chlorella) ดูนาเลียลลา (Dunaliella) สาหร่ายเหล่านี้ เป็นตัวควบคุมชีวเคมีของน้ำภายในบ่อ

2.1.2 การพัฒนาของกุ้งกรามกราม (ยนต์, 2529)

ลูกกุ้งก้ามกรามวัยที่พึ่งฟักจะต้องอยู่ในน้ำกร่อยก่อนจึงจะมีชีวิตรอดอยู่ได้ ถ้าฟักออกมาในน้ำจืดจะตายภายในไม่กี่วัน ลูกกุ้งที่พึ่งฟักจะมีขนาดความยาวอยู่ที่ 2 มิลลิเมตร ซึ่งจะมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะต่างๆ 11 ระยะ จึงจะกลายเป็นกุ้งคว่ำที่มีลักษณะเหมือนกุ้งโตทุกประการ โดยลักษณะที่ใช้แยกลูกกุ้งระยะต่างๆ มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะที่ 1 ไม่มีก้านตา ตาจะติดอยู่ด้านข้าง แพนหางเป็นแผ่นเดียวกับส่วนหาง

ระยะที่ 2 ตามีก้านตา แพนหางยังติดเป็นแผ่นเดียวกับส่วนหาง

ระยะที่ 3 แพนหางเริ่มแยกออกจากส่วนหาง ส่วนหางปลายยังแผ่กว้าง

ระยะที่ 4 กรีด้านบนมีหนาม 2 ซี่

ระยะที่ 5 ส่วนหางปลายแคบเข้าและยาวออก

ระยะที่ 6 ขาว่ายน้ำเรื่องโผล่ให้เห็นเป็นปุ่มๆ

ระยะที่ 7 ส่วนปลายขาว่ายน้ำแยกออกเป็น 2 แขนง ไม่มีขน

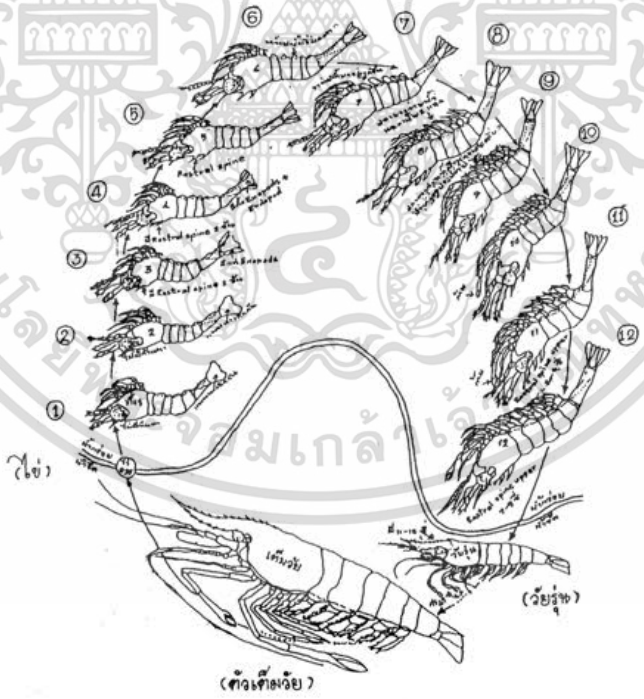
ระยะที่ 8 ขาว่ายน้ำเริ่มมีขนเล็กๆ

ระยะที่ 9 แขนงด้านในของขาว่ายน้ำจะมีติ่งเล็กๆเกิดขึ้น

ระยะที่ 10 กรีด้านบนมีหนาม 3 ถึง 4 ซี่

ระยะที่ 11 กรีด้านบนมีหนาม 7 ถึง 9 ซี่

กุ้งที่คว่ำตัวแล้วจะมีลักษณะเหมือนพ่อแม่ทุกประการ มีกรีหนามทั้งด้านบนและล่าง ว่ายน้ำคว่ำ และว่ายไปข้างหน้าแบบกุ้งโต และจะเริ่มลงอยู่ตามพื้นหรือเกาะขอบบ่อ ดังแสดงที่รูป 2.2



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม

ที่มา : เกรียงศักดิ์, 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 การลอกคราบและการเจริญเติบโต (Saravanan และ Kamalam, 2008)

แบ่งระยะการลอกคราบได้เป็น ดังนี้

1. ระยะก่อนลอกคราบ - ในขั้นตอนนี้กุ้งจะมีการสร้างไคติน และ โปรตีน รวมถึงจะดูดซึมแคลเซียมที่อยู่ที่เปลือก ส่งผลให้คราบเก่าบางก่อนจะสลัดทิ้ง
2. การลอกคราบ - กุ้งจะหยุดนิ่งไม่เคลื่อนไหวและไม่กินอาหาร กุ้งจะออกมาจากคราบเปลือกเก่า และมีคราบเปลือกอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่อยู่ข้างใต้ และดูดซับน้ำเข้าสู่ร่างกายเพื่อเพิ่มขนาด
3. ระยะหลังการลอกคราบ - ระยะนี้กุ้งจะดูดซึมน้ำและสะสมของแคลเซียมและแร่ธาตุต่างๆ เพื่อให้เปลือกด้านนอกมีการแข็งตัวขึ้น รวมถึงมีการขับสีออกมาที่เปลือก
4. ระยะช่วงระหว่างการลอกคราบ - ในระยะเปลือกของกุ้งจะเริ่มแข็ง และกุ้งจะอยู่ในสภาวะปกติ หากน้ำที่กุ้งอยู่มีความเค็มเปลือกกุ้งจะแข็งเร็ว

2.2 โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Metchnikoff (1908) เป็นบุคคลแรกที่สนใจ และศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโพรไบโอติกโดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อเพิ่มปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ และยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ของมนุษย์ รวมทั้งให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกว่าจุลินทรีย์ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายโดยมีจุดประสงค์เพื่อส่งเสริมสุขภาพ ต่อมา Parker (1974) ได้ให้จำกัดความว่าสิ่งมีชีวิต และสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ และ Fuller (1989) ก็ได้คำจำกัดความทั่วไปของโพรไบโอติกคือ "จุลินทรีย์ที่มีชีวิต" ที่ให้ประโยชน์แก่โฮสต์ที่ดื่มกินเข้าไปด้วยการสร้างสมดุลจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารขึ้นมาใหม่ ในการใช้โพรไบโอติกนั้นได้ประสบความสำเร็จในมนุษย์ได้ดีกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะในวงกว้าง ส่วนความหมายของโพรไบโอติกในเชิงการเลี้ยงสัตว์น้ำหมายถึง จุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียหรือผลผลิตจากแบคทีเรียที่เติมเข้าไปในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำแล้วไปมีผลช่วยให้สัตว์ดังกล่าวมีสุขภาพดีขึ้น (Lilley และ Stillwell, 1965; FAO/WHO, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 ชนิดและคุณสมบัติของโพรไบโอติกที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ชนิดของโพรไบโอติกที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีหลากชนิดและมีคุณสมบัติที่ต่างกัน โดยที่นิยมกันมากๆจะเป็น *Lactobacilus, Bacillus, Bifidobacterium, E. coli, Clostridium botyricum, Enterococcus, Streptococcus, Vibrio* species, lactic acid bacteria และยีสต์ (ภวัต, 2544; Gatesoupe, 1999; Butt และคณะ, 2021; Chang และคณะ, 2021; Feng และคณะ, 2019) ซึ่งตารางที่ 2.1 นี้จะแสดงชนิดของโพรไบโอติกที่เหมาะสมกับชนิดสัตว์น้ำต่างๆ

ตารางที่ 2.1 ชนิดของโพรไบโอติกและการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ

ชนิดโพรไบโอติก	ชนิดสัตว์น้ำ
Streptococcus lactis และ *Lactobacilus bulgaricus*	ตัวอ่อนปลา Turbot *(Scophthalmus maximus)*
Lactobacilus spp. และ *Carnobacterium* spp.	ตัวอ่อนปลา Turbot
Vibrio alginolyticus	ปลาแอตแลนติกแซลมอน (*Salmo salar* L.)
Carnobacterium divergens	ปลาคอดแอตแลนติก
G-probiotic	ปลานิลลูกผสม
Carnobacterium spp.	ปลาแอตแลนติกแซลมอน
Lactobacilus rhamnosus ATCC 53103	ปลาเทราต์สายรุ้ง
Aeromonas Hydrophila *V. fluvialis, Carnobacterium* spp. และ *Micrococcus luteus*	ปลาเทราต์สายรุ้ง
Enterococcus faecium SF68	ปลาไหล *(Anguilla angulilla)*
L rhamnosus JCM 1136	ปลาเทราต์สายรุ้ง
Bacillus circulans	ปลายี่สกเทศ *(Labeo rohita)*

เอกสารนี้มีไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus spp. S11	กุ้งกุลาดำ
Lactobacilus spp.	กุ้งกุลาดำ
Saccharomyces cerevisiae *Phaffia rhodozyma* และ *S. exiguus*	กุ้งขาว
V. hepatarius, Vibrio spp. และ *Bacillus* spp.	กุ้งขาว
Bacillus spp.	กุ้งกุลาดำ และ กุ้งขาว
Bacillus spp.	กุ้งกุลาดำ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Balcazer และคณะ, 2006

2.2.2 สรรพคุณและการประยุกต์ใช้โพรไบโอติก

โพรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มคุณภาพน้ำและเพิ่มการเจริญเติบโตและลดการระบาดของโรคในสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม งานวิจัยนี้ได้ระบุว่าโพรไบโอติกสามารถช่วยเพิ่มการย่อยด้วยเอนไซม์และการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และส่งเสริมประสิทธิภาพอาหารตลอดจนการเจริญเติบโตของกุ้ง จุลินทรีย์โพรไบโอติกยังสรรพคุณมากมาย อาทิเช่น ช่วยการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยอาหาร, ช่วยเพิ่มกิจกรรมของโปรตีนเอส, ไลเปส และอะไมเลสทั้งหมด, มีประสิทธิภาพช่วยให้เจริญเติบโตที่สูง, ช่วยการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน และทำให้ความต้านทานโรคมากขึ้น นอกจากนี้การเติมโพรไบโอติกยังช่วยลดการสะสมสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้เชื้อ *Bacillus coagulans* และ *B. coagulans* ที่ได้จากปลาคราฟนั้นสามารถลดความอุดมสมบูรณ์ของเชื้อโรคและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถเสริมสร้างเกราะป้องกันลำไส้และปรับจุลินทรีย์ในลำไส้ด้วย (Chang และคณะ, 2019) และเชื้อ *Lactococcus lactis* ก็สามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ไม่เฉพาะเจาะจงของปลาคราฟรวมถึงลดการอักเสบที่เกิดกับเมือกในลำไส้นั้นลงได้ (Xu และคณะ, 2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง

จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง เป็นเซลล์โปรคาริโอตที่สามารถสังเคราะห์แสงได้โดยการเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี แบคทีเรียสังเคราะห์แสงเหล่านี้สามารถเติบโตได้ทั้งในที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน และสามารถใช้สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเพื่อตรึงไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศ (N_2) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงสีม่วงไม่ใช้กำมะถันในกลุ่ม Anaerobic bacteria ของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และกลุ่มหลัก ได้แก่ *Rhodopseudomonas* spp. แบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีอยู่ตามธรรมชาติในบ่อน้ำเสีย ทะเลสาบ ดิน ตะกอน ระบบนิเวศของพื้นที่ชุ่มน้ำ ดินชื้น ระบบน้ำเกลือ และระบบนิเวศทางทะเล แบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีเมแทบอลิซึมที่หลากหลาย ดังนั้นจึงเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมปศุสัตว์และการประมง ในวิธีการบำบัดทางชีวภาพสำหรับโลหะหนักและสิ่งปฏิกูล และในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (ไฟฟ้าหรือโฟโตไฮโดรเจน) การศึกษายังแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่ไม่ใช่กำมะถันสีม่วง (PNSB) ช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินเมื่อใช้กับดินโดยตรง ในขณะที่จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่ใช้กับพืชช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืช (Sundar และ Chao, 2022) ซึ่งแบคทีเรียที่ไม่มีกำมะถันสีม่วงนั้นมีแนวโน้มว่าสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนของจุลินทรีย์ได้ (Alloul และคณะ, 2019; Alloul และคณะ, 2018; Cerruti และคณะ, 2020; Clauwaert และคณะ, 2017; Hulsen และคณะ, 2016; Hulsen และคณะ, 2016; Spanoghe และคณะ, 2020) มวลชีวภาพของแบคทีเรียนี้มีคุณภาพสูงเหมาะกับการเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากอุดมไปด้วยวิตามินที่จำเป็นและเม็ดสีแคโรทีนอยด์ (Sasaki และคณะ, 1998) แบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตโปรตีนในน้ำเสียได้เนื่องจากความสามารถในการเติบโตภายใต้สภาวะไร้อากาศในแสง (Hulsen และคณะ, 2016; Hulsen และคณะ, 2016; Puyol และคณะ, 2017)

ข้อดีของการใช้แบคทีเรียเหล่านี้คือสามารถผลิตได้ในพื้นที่จำกัดบนวัสดุที่มีต้นทุนต่ำและของเสียหลายชนิดด้วยอุปกรณ์ราคาไม่แพง (Hulsen และคณะ, 2020; Wang และคณะ, 2019) ตัวอย่างเช่น สามารถผลิตในขวดพลาสติกที่ใช้ซ้ำได้และสัมผัสกับแสงแดด ผนังเซลล์ของสาหร่ายสามารถย่อยได้ดีกว่าสาหร่ายเนื่องจากผนังเซลล์ของสาหร่ายประกอบด้วยเซลลูโลสที่กีดขวางการย่อยของสัตว์น้ำ ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงทำหน้าที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ดี และลดการสะสมของเสียไนโตรเจนในน้ำที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Zhang และคณะ, 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

กุ้งก้ามกราม หรือ ชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Macrobrachium rosenbergii* ได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มสมทรง

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

3.2.1 เชื้อโพรไบโอติก รหัส BM, BL, BS, BP2 และ BP

3.2.2 เชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (OS33)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 SS medium (ภาคผนวก ก)

3.3.1.1 สารสกัดยีสต์ (Yeast extract)

3.3.1.2 กลูโคส (Glucose)

3.3.1.3 แป้ง (Starch)

3.3.1.4 ถั่วเหลือง (Soybean flour)

3.3.1.5 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

3.3.1.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.3.2 AM medium (ภาคผนวก ก)

3.3.2.1 สารสกัดยีสต์ (Yeast extract)

3.3.2.2 แป้ง (Starch)

3.3.2.3 โมโนโซเดียมกลูตาเมท (MSG)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 เครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer)

3.4.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ HAMILLE รุ่น Z326K

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

3.4.10 เครื่องชั่งดิจิตอล ยี่ห้อ AND รุ่น GF-800

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

3.4.12 เครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า ยี่ห้อ GALLENKAMP รุ่น Orbital Shaker

3.4.13 เครื่องวัดความเข้มแสง (Lux light meter) รุ่น testo 454

3.4.14 เครื่องวัดความเค็ม (Salinity Refractometer) รุ่น C-100

3.5 อุปกรณ์

3.5.1 กระบะพลาสติก

3.5.2 ถังน้ำพลาสติก

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

3.5.9 ขวดน้ำพลาสติก

3.5.10 เพลท

3.5.11 หลอดทดลอง

3.5.12 บีกเกอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การเตรียมน้ำทะเลเทียมสำหรับอนุบาลกุ้งก้ามกราม

ทำการนำน้ำประปามาให้อากาศเพื่อไล่คลอรีนอย่างน้อย 3 วัน นำเกลือเม็ดไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที โดยผสมเกลือทะเลปลอดเชื้อ 50 กรัมต่อน้ำกรอง 1 ลิตร แล้วนำมาผสมน้ำประปาที่เตรียมไว้ จะได้น้ำเค็มที่ระดับความเค็ม 50 พีพีที เจือจางให้ได้ 15-20 พีพีที เพื่อใช้สำหรับเลี้ยงกุ้งก้ามกรามทำการวัดความเค็มในน้ำโดยใช้ Salinity Refractometerให้อากาศด้วยปั๊มลมออกซิเจนเป็นเวลา 7 วัน เพื่อไล่คลอรีนในน้ำ ต่อมาเตรียมตู้กระจกขนาด 16 นิ้ว จากนั้นนำน้ำทะเลเทียมที่เตรียมไว้ใส่ลงไปปริมาตร 3 ใน 4 ของความสูงของตู้กระจก ต่อสายยางเข้ากับหัวพ่นอากาศ และปั๊มลมเพื่อให้ออกซิเจนแก่กุ้งก้ามกราม

หมายเหตุ : เครื่องวัดความเค็ม (เทียบกับการนำไฟฟ้า) จดบันทึกค่าที่ได้วัด pH น้ำเลี้ยงกุ้งที่นำมาใช้ในการทดลอง แล้วปรับค่า pH ด้วยปูนขาว หรือ KOH และน้ำส้มสายชู

รูปที่ 3.1 การกำจัดลอรีนในน้ำ

3.7 การอนุบาลกุ้งก้ามกราม

ทำการปล่อยกุ้งก้ามกรามลงบ่อโดยการนำถุงที่บรรจุพันธุ์กุ้งมาแช่ในบ่อที่เลี้ยงประมาณ 20 นาที เพื่อปรับอุณหภูมิของน้ำในถุงและน้ำในบ่อในเท่ากัน แล้วเปิดปากถุงออก ตักน้ำตู้มาผสมกับน้ำในถุงอย่างช้าๆ ก่อนปล่อยกุ้งลงในไป เพื่อช่วยให้กุ้งสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพน้ำในบ่อเลี้ยงและมีอัตรารอดมากขึ้น ให้กุ้งก้ามกรามกินอาหารสำเร็จรูปทุกๆ 2 มื้อ ได้แก่ ช่วงเวลา 08.00 น. และ 16.00 น. โดยก่อนให้อาหารสำเร็จรูปครั้งต่อไปต้องตรวจสอบปริมาณอาหารสำเร็จรูป หากไม่มีหลงเหลืออยู่แสดงว่าให้น้อยเกินไปควรเพิ่มปริมาณอาหารให้มากว่าครั้งแรก กรณีเหลืออยู่แสดงว่าให้อาหารมากเกินไปควรลดปริมาณอาหารสำเร็จรูปลง เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แยกกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก้ามกรามระยะวัยรุ่น มีความยาว 2.5-3 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการแย่งอาหาร และไม่ให้เกิดการกินกันเอง ใส่ตู้กระจกปิดด้วยฟิวเจอร์บอร์ดหรือผ้าสีดำ เพื่อป้องกันแสงสว่างและค่อยๆ เพิ่มการให้อาหารสำเร็จรูป

3.8 วิธีการทดลอง

3.8.1 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง SS medium

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก (รหัส BS, BP, BM, BP_2 และ BL) ปริมาตร 1 ลิตร ใช้แป้งมันสำปะหลัง 20, 20, 30, 30 และ 30 กรัม ตามลำดับ และแป้งถั่วเหลือง 10, 10, 10, 15 และ 15 กรัม ตามลำดับ ทำการละลายแป้งมันสำปะหลัง และแป้งถั่วเหลืองในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า pH ปรับให้มีค่า 6.8-7.2 (NaOH, HCl) นำน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ไปตั้งไฟรอจนเดือดจึงใส่น้ำแป้งมันสำปะหลัง และแป้งถั่วเหลืองที่ปรับ pH แล้ว แล้วคนอาหารตลอดเวลา แล้วทำการปรับปริมาตรอาหารให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร ใส่วุ้นแล้วรอวุ้นละลายให้ยกลงจากเตา แล้วนำมาแบ่งใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 5-7 มิลลิลิตร และใส่ขวด นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.8.2 การเตรียมอาหาร AM medium ของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (OS33)

3.8.2.1 ละลายแป้งมันสำปะหลัง และส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปวัดค่า pH ปรับให้มีค่าเป็น 6.8-7.2 (NaOH, HCl) จากนั้นแบ่งใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.8.2.2 นำแป้งมันสำปะหลังบรรจุลงในขวดปริมาตร 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัม ตามลำดับ แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25-30 นาที แล้ววางทิ้งไว้ให้เย็นข้ามคืน นำ monosodium glutamate 10 กรัม และ yeast extract 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร แล้วนำไปวัดค่า pH ปรับให้มีค่าเป็น 6.8-7.2 (NaOH, HCl) แล้วแบ่งใส่ขวดละ 200 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด จากนั้นจึงนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้ววางทิ้งไว้ให้เย็นข้ามคืน จากนั้นเทผสมของเหลวที่เตรียมไว้ลงในขวดที่ใส่แป้งแล้ววางทิ้งไว้ 2-3 วัน แล้วจึงนำไปใช้เพาะเลี้ยงเชื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.2 อาหาร AM medium ของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง

3.8.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยเชื้อโพรไบโอติก

เชื้อโพรไบโอติกรหัส BM, BL, BS, BP2 และ BP ทั้งหมด 5 รหัส นำมาเลี้ยงลงบนอาหาร SS medium ทำในสภาวะปลอดเชื้อ (Aseptic technique) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป ศึกษาลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Bright-field light microscopy และศึกษาลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีย้อมแกรม

3.8.4 การวัดค่าดูดกลืนแสงเชื้อโพรไบโอติก (รหัส BM, BL, BS, BP2 และ BP)

นำเชื้อที่เจริญในอาหารวุ้นเอียง บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาทำเป็น สารละลายเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 5-10 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เทรวมในฟลาสก์ปลอดเชื้อ แล้วนำสารละลายเซลล์ค่า OD600 นาโนเมตร ด้วยเทคนิคการเจือจางให้อยู่ในช่วง OD เท่ากับ 1.0 แล้วนำไปใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น (inoculum) ที่ inoculum size 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลวแต่ละชนิด แล้วนำฟลาสก์ไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส ตามเวลาที่กำหนด นำเชื้อทั้ง 5 สายพันธ์ มาผสมด้วยอัตราส่วน 1:1:1:1:1 แล้วเก็บในตู้เย็นเพื่อใช้สำหรับทดสอบการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม

3.8.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (OS33) และวัดค่าดูดกลืนแสง

นำเชื้อที่เก็บรักษาในตู้เย็น (Deep tube) มาเป็นเชื้อเริ่มต้น จากนั้นนำลูปเขี่ยเชื้อแล้วนำมาใส่ในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ ปิดผิวหน้าด้วยน้ำมัน หรือ liquid paraffin นำไปบ่มภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ วัดด้วยเครื่องวัดความเข้มแสง บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เมื่อเชื้อเจริญให้นำเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเหลว AM medium ที่บรรจุลงในขวด แล้วบ่มภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึง

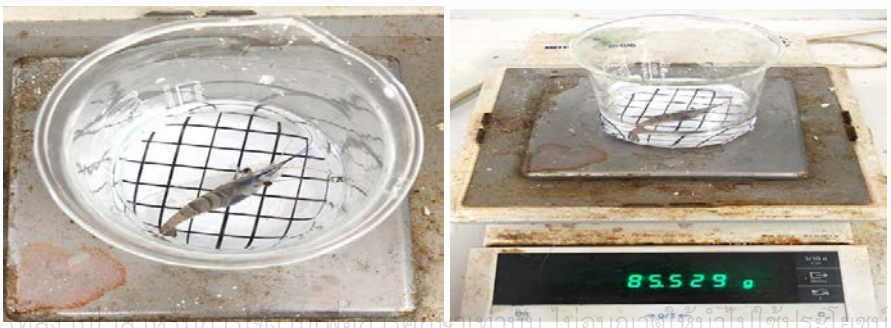
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปวัดค่า OD600 นาโนเมตร (ด้วยเทคนิคเจือจาง) ให้อยู่ในช่วง 1.0 แล้วเก็บเชื้อเพื่อใช้ทดสอบสำหรับการเลี้ยงกุ้งต่อไป

รูปที่ 3.3 เชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่บ่มภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 lux

3.8.6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อโพรไบโอติก (BM, BL, BS, BP2 และ BP) และเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงต่อการเจริญของกุ้งก้ามกราม

หลังจากเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามได้ 3 วัน ทำการแยกกุ้งก้ามกรามที่มีขนาดใกล้เคียงกันใส่ตู้กระจก 2 ตู้ ตู้ละ 20 ตัว แต่ละตู้ใส่น้ำที่ระดับความเค็ม 15-20 พีพีที ปริมาตร 17 ลิตร จากนั้นวันต่อมาจึงเริ่มให้อาหาร โดยตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม) ได้รับอาหารกุ้งเท่านั้นให้แต่อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งก้ามกรามอย่างเดียวเท่านั้น ส่วนตู้หมายเลข 2 (ชุดทดสอบ) ได้รับอาหารกุ้งและเชื้อผสม (เชื้อโพรไบโอติกและจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง) วัดค่าพีเอชของน้ำก่อนให้เชื้อผสมโพรไบโอติกและเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง หากน้ำมีค่าพีเอชต่ำกว่า 7.8 (ถ้ามีค่าพีเอชต่ำกว่า 7 แสดงว่าน้ำมีสภาวะเป็นกรด และถ้าสูงกว่า 7 ก็จะมีสภาวะเป็นด่าง) จะทำการถ่ายน้ำในอัตราส่วน 60 : 40 โดยให้เชื้อที่อยู่ในระยะคงที่ (Stationary phase) วันละ 5 มิลลิลิตร ตั้งแต่วันที่ 3 เป็นต้นไป ทำการชั่งน้ำหนักโดยเครื่องชั่งดิจิตอลทศนิยม 3 ตำแหน่ง และทำการวัดความยาว โดยวัดทุกวัน 1 ครั้ง เปรียบเทียบกับตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม) ได้รับอาหารกุ้งเท่านั้น



รูปที่ 3.4 วัดน้ำหนัก และวัดความยาวของกุ้งก้ามกราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

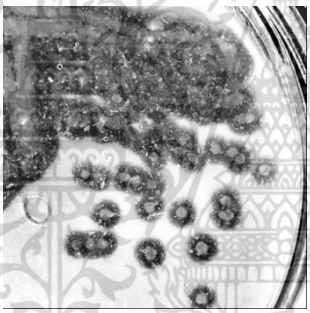
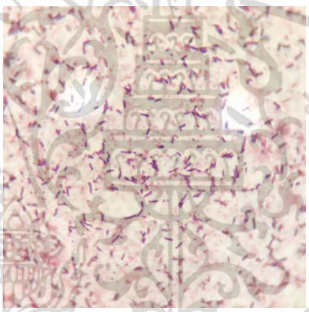
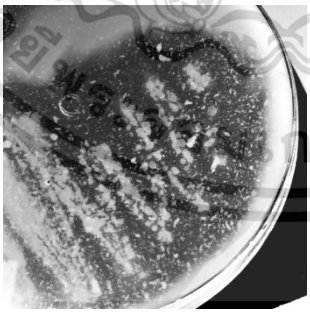
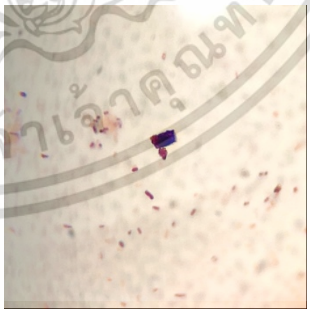
บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

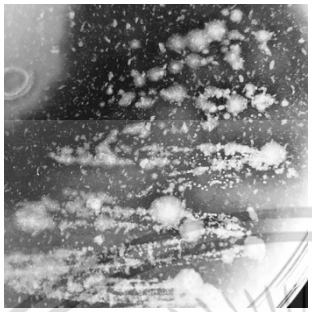
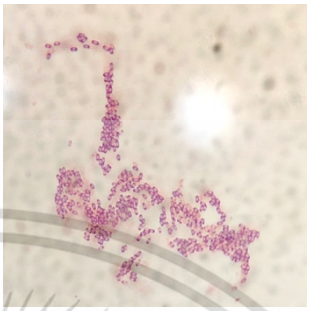
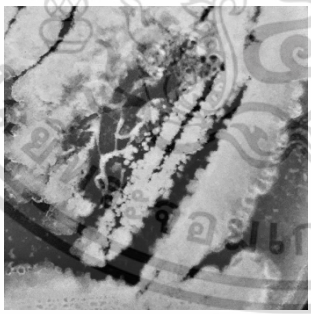
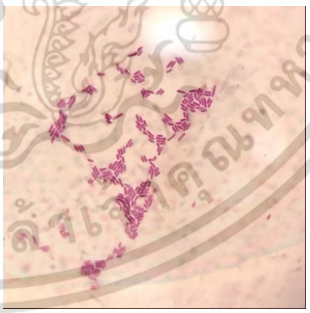
นำเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 5 รหัส BS, BL, BM, BP_2 และ BP ลงบนจานเพาะเชื้อด้วยวิธี cross streak และศึกษาลักษณะทางเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยวิธีการย้อมแกรม ศึกษาลักษณะโคโลนีด้วยกล้องจุลทรรน์ชนิด Bright-field light microscopy ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างของเซลล์ (1000 เท่า)	ลักษณะของเชื้อ
1	BS			โคโลนี : มีสีขาว ลักษณะกลม แบนราบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อน อยู่เป็นท่อนเดี่ยว
2	BL			โคโลนี : มีสีขาว ลักษณะกลม แบนราบ มันวาว ขอบหยัก รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อน อยู่เป็นท่อนเดี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก

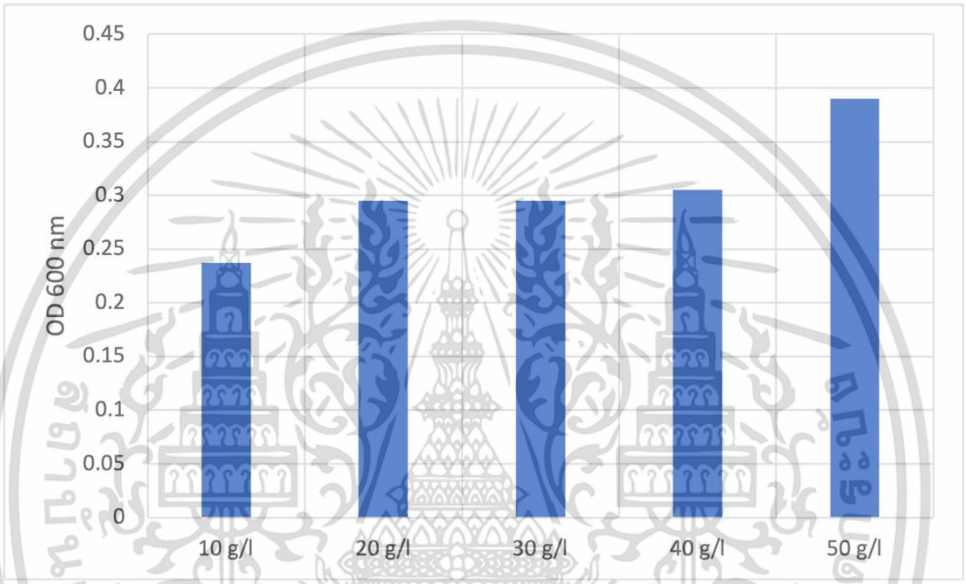
ลำดับที่	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างของเซลล์ (1000 เท่า)	ลักษณะของเชื้อ
3	BM			โคโลนี : มีสีขาว ลักษณะกลม โค้งนูน มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนอาจอยู่เป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อเป็นสาย
4	BP_2			โคโลนี : มีสีขาว ลักษณะกลม ขอบหยัก มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อน ซึ่งอยู่เป็นท่อนเดี่ยว ๆ กัน
5	BP			โคโลนี : มีสีขาว ลักษณะกลม โค้งนูน มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนอาจอยู่เป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อเป็นสาย

จากตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติก พบว่าเชื้อโพรไบโอติกมีรูปร่างเซลล์เป็นรูปท่อน ลักษณะโคโลนีมีสีขาวบนอาหาร SS medium ลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน โดยเชื้อโพรไบโอติก รหัส BS มีโคโลนีลักษณะกลม แบนราบ มันวาว เชื้อโพรไบโอติก รหัส BL มีโคโลนีลักษณะกลม แบนราบ มันวาว ขอบหยัก เชื้อโพรไบโอติก รหัส BP_2 มีโคโลนีลักษณะกลม ขอบหยัก มันวาว เชื้อโพรไบโอติก รหัส BM และ BP มีโคโลนีลักษณะกลม โค้งนูน มันวาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง

ศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง โดยการนำเชื้อที่เจริญบนอาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่ใช้แป้งมันสำปะหลังแหล่งคาร์บอน โดยแปรผันความเข้มข้นที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร (ตามลำดับ) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยเทคนิคเจือจางเพื่อศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ดังแสดงในรูปที่ 4.1



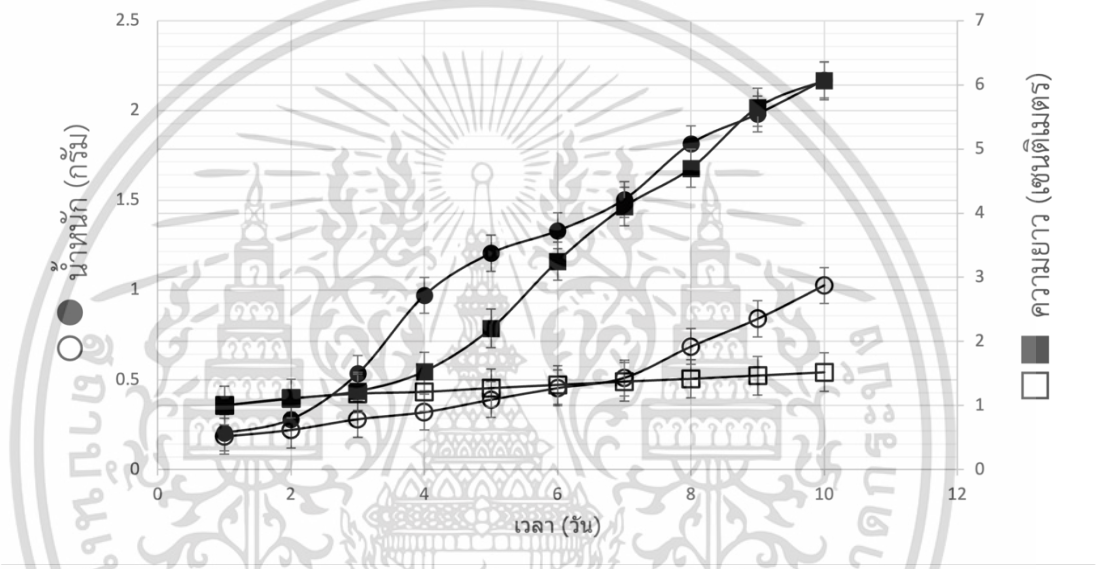
รูปที่ 4.1 การเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ในอาหารเหลว AM medium ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง พบว่าเชื้อมีปริมาตรมากเมื่อเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลัง 50 กรัมต่อลิตร จึงนำจุลินทรีย์สังเคราะห์แสดงที่ได้ ไปใช้ทดสอบการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามต่อไป (ดังที่แสดงในรูปที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติก (BS, BL, BM, BP_2 และ BP) ต่อการเจริญของกุ้งก้ามกราม

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติก (5 สายพันธุ์ ในอัตราส่วน 1:1:1:1:1) นำสารละลายเชื้อผสมนี้ไปใช้ทดสอบการเจริญของกุ้งก้ามกรามโดยกำหนดตัวแปรควบคุมดังต่อไปนี้ ตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม) ได้รับอาหารกุ้งเท่านั้นให้แต่อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งก้ามกรามอย่างเดียวเท่านั้น ส่วนตู้หมายเลข 2 (ชุดทดสอบ) ได้รับอาหารกุ้งและเชื้อผสม (เชื้อโพรไบโอติกและจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง) ตั้งแต่วันที่ 3 เป็นปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อวัน



สภาวะการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม กำหนดให้เพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม 20 ตัว ในน้ำระดับความเค็ม 15-20 พีพีที ปริมาตร 17 ลิตร โดยตรวจสอบการเจริญของกุ้งก้ามกรามด้วยวิธีวัดน้ำหนักตัวกุ้งก้ามกราม และความยาวตัวกุ้งก้ามกรามทุกๆวัน เป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.2

รูปที่ 4.2 แสดงการเจริญของกุ้งก้ามกราม โดยวัดน้ำหนักเฉลี่ยในชุดควบคุม (○) และชุดทดสอบ (●) และความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุม (□) และชุดทดสอบ (■) ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.2 แสดงน้ำหนักเฉลี่ย และความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกรามในตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม) และตู้หมายเลข 2 (ชุดทดสอบ) พบว่าในช่วง 3 วันแรก ทั้ง 2 ตู้เลี้ยงกุ้งก้ามกราม ให้ค่าน้ำหนักของกุ้งก้ามกรามใกล้เคียงกัน แต่ในวันที่ 4 จนสิ้นสุดเพาะเลี้ยงกุ้งในวันที่ 10 เริ่มพบความแตกต่างของอัตราการเจริญของกุ้งก้ามกรามทั้ง 2 การทดลอง เนื่องการให้สารละลายผสมของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติกปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งแต่วันที่ทำการทดลองวันที่ 3 เป็นต้นไป ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม (กรัม) ที่ได้รับเชื้อเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติก และที่ไม่ได้รับเชื้อเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติก เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน

เวลา (วัน)	น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม (กรัม) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	ตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม)	ตู้หมายเลข 2 (ชุดทดสอบ)
10	0.49 ± 0.27	1.17 ± 0.72

ตารางที่ 4.3 ความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม (เซนติเมตร) ที่ได้รับเชื้อเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติก และที่ไม่ได้รับเชื้อเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติก เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน

เวลา (วัน)	ความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกราม (กรัม) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	ตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม)	ตู้หมายเลข 2 (ชุดทดสอบ)
10	1.29^{b} ± 0.16	3.08^{a} ± 1.90

เมื่อนำผลการทดลองเลี้ยงกุ้งก้ามกรามเป็นเวลา 10 วัน ไปวิเคราะห์ทางสถิติ (ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3) พบว่าตารางที่ 4.2 เมื่อเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามเป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักกุ้งก้ามกรามชุดทดสอบที่ 1 กับ ชุดทดสอบที่ 2 พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) และตารางที่ 4.3 เมื่อเพาะกุ้งก้ามกรามเป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักกุ้งก้ามกรามชุดทดสอบที่ 1 กับ ชุดทดสอบที่ 2 พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) เช่นกัน

จากการทดสอบทั้ง 2 ชุดทดสอบให้ผลการทดลองที่ต่างกัน ทำให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติกมีคุณสมบัติเพียงพอที่จะช่วยให้กุ้งก้ามกรามเจริญเติบโต รวมถึงลดต้นทุนในการเลี้ยงได้ด้วย หากใช้ระยะเวลาในการทดลองในการเลี้ยงกุ้งที่ก้ามกรามนานขึ้นอาจจะเห็นความแตกต่างได้มากขึ้นเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 5 รหัส BM, BL, BS, BP_2 และ BP เชื้อโพรไบโอติกทั้ง 5 รหัส เป็นแกรมบวก การย้อมแกรมติดสีน้ำเงินของ Crystal violet เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ลักษณะโคโลนีบนอาหาร SS medium พบว่าโคโลนีมีสีขาวบนอาหาร มีลักษณะแตกต่างกันไป โดยเชื้อโพรไบโอติก รหัส BS มีโคโลนีลักษณะกลม แบนราบ มันวาว เชื้อโพรไบโอติก รหัส BL มีโคโลนีลักษณะกลม แบนราบ มันวาว ขอบหยัก เชื้อโพรไบโอติก รหัส BP_2 มีโคโลนีลักษณะกลม ขอบหยัก มันวาว เชื้อโพรไบโอติก รหัส BM และ BP มีโคโลนีลักษณะกลม โค้งนูน มันวาว

การเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง AM medium ที่มีแป้งมันสำปะหลังแหล่งคาร์บอน เทียบปริมาตรแป้งที่ใช้คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อมีปริมาตรเยอะเมื่อเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตรดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลัง 50 กรัมต่อลิตร จึงนำจุลินทรีย์สังเคราะห์แสดงที่ได้ ไปใช้ทดสอบการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติกต่อการเจริญของกุ้งก้ามกราม โดยกำหนดตัวแปรควบคุมดังต่อไปนี้ ตู้หมายเลข 1 (ชุดควบคุม) ได้รับอาหารกุ้งเท่านั้น ตู้หมายเลข 2 (ชุดทดสอบ) ได้รับอาหารกุ้งและเชื้อผสม (เชื้อโพรไบโอติกและจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อวัน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ย และความยาวเฉลี่ยของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับเชื้อ และไม่ได้รับเชื้อ ในช่วง 3 วันแรกมีน้ำหนักที่ใกล้เคียงกัน แต่ในวันที่ 4 จนถึงวันที่สิ้นสุดการทดลองเริ่มเห็นความแตกต่างกัน เนื่องจากผู้ทดลองได้ทำการให้เชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติกปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งแต่วันที่ทำการทดลองวันที่ 3 เป็นต้นไป มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวและน้ำหนักกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุม กับชุดทดสอบเชื้อผสมโพรไบโอติกและเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ที่เลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง SS medium และอาหารเหลว AM medium พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) ทำให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงและเชื้อโพรไบโอติกมีคุณสมบัติเพียงพอที่จะช่วยให้กุ้งก้ามกรามเจริญเติบโต รวมถึงลดต้นทุนในการเลี้ยงได้ด้วย หากใช้ระยะเวลาในการทดลองในการเลี้ยงกุ้งที่ก้ามกรามนานขึ้นอาจจะเห็นความแตกต่างได้มากขึ้นเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

กุ้งก้ามกรามไม่สารามารถนำมาเลี้ยงที่อาคารในคณะได้ เนื่องจากอาคารมีการปรับปรุง และก่อสร้าง ทำให้เกิดเสียงดัง ถ้าเลี้ยงกุ้งก้ามกรามอาจตกใจตายได้ จึงจำเป็นต้องนำกุ้งก้ามกรามไปเลี้ยงที่หอพักอาศัย และในการเตรียมน้ำทะเลเทียมต้องทำการเปิดน้ำกรองลงพักในบ่อ หรือถังพลาสติกให้อากาศ 7 วัน เพื่อให้คลอรีนสลายตัว จากนั้นนำน้ำกรองมาใส่ในตู้กระจก ปรับให้ได้ระดับความเค็มที่ 50 พีพีที เมื่อเริ่มอนุบาลกุ้งก้ามกราม ต้องค่อยสังเกตความแรงของออกซิเจนที่ออกจากหัวพ่นอากาศ หากแรงเกินไปกุ้งก้ามกรามจะไม่สามารถว่ายน้ำหนีฟองอากาศได้ อาจจะลอยขึ้นมาพร้อมกับฟองอากาศ ต้องลดความแรงของออกซิเจน แต่ถ้าหากออกซิเจนเบาไป กุ้งก้ามกรามจะว่ายน้ำอยู่ด้านบนผิวน้ำเป็นจำนวนมาก ต้องเพิ่มความแรงออกซิเจน เพื่อให้ปริมาณออกซิเจนเพียงพอต่อความต้องการของกุ้งก้ามกราม (ร่มฉัตร และอัญชิสา, 2560)

การให้อาหาร ต้องทำให้กุ้งก้ามกรามได้กินอาหารในปริมาณที่พอดีในเวลาที่เหมาะสมทุกมื้อตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง อัตราการให้อาหารขึ้นอยู่กับปริมาณการกิน อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการตายของกุ้งก้ามกราม การให้อาหารปริมาณน้อยเกินไป ทำให้กุ้งโตช้า และทำให้เกิดการกินกันเอง โดยเฉพาะการเลี้ยงกุ้งความหนาแน่นสูง การให้อาหารมากเกินไป ทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรมลง สารอินทรีย์จากอาหารจะกระตุ้นให้เกิดจุลินทรีย์ย่อย และปล่อยแอมโมเนียออกมา ทำให้กุ้งเครียด อ่อนแอ โตช้า และโอกาสติดเชื้อโรคกุ้งสูงขึ้น ควรมีการให้อาหารกุ้งร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกและเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง เพื่อเป็นการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยเชื้อโพรไบโอติกและเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของกุ้งได้ ปริมาตรโพรไบโอติกที่ใช้เลี้ยงกุ้งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ยิ่งกุ้งมีขนาดใหญ่ขึ้นก็ยิ่งมีความต้องการอาหาร และปริมาณเชื้อโพรไบโอติกและเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงเพิ่มมากขึ้น แต่ในการทดลองนี้มุ่งหวังลดต้นทุนการผลิตจึงต้องใช้ในปริมาณที่น้อยแต่ยังส่งผลดีต่อสุขภาพของกุ้ง อย่างไรก็ตามควรเพิ่มปริมาณเชื้อโพรไบโอติกตามการเจริญเติบโตของกุ้ง

การจัดการถ่ายน้ำ การถ่ายน้ำเป็นการปฏิบัติเบื้องต้นอีกวิธีหนึ่งที่มีความจำเป็นสำหรับการรักษาสภาพแวดล้อมในบ่อเลี้ยงให้มีคุณภาพที่ดีขึ้น ในกรณีที่มีการเลี้ยงกุ้งในอัตราที่หนาแน่นมากหรือคุณภาพน้ำไม่ดี เช่น สีน้ำเข้มระหว่างเลี้ยง หรือน้ำเป็นฟองแสดงให้เห็นว่า ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำมากเกินไป ให้ทำการถ่ายน้ำ 10-30 เซนติเมตร

เฝ้าระวังสุขภาพกุ้งเบื้องต้น โดยสังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของกุ้ง เช่น ความแข็งแรง ความสะอาดของลำตัวกุ้ง และจำแนกสุขภาพกุ้ง ดังต่อไปนี้

- กุ้งที่มีสุขภาพแข็งแรง

1. กุ้งโตมีขนาดตามปกติ กินอาหารดี มีอาหารในลำไส้ สิ่งขับถ่ายยาว
2. ลำตัวใส สะอาด เหงือกสะอาด รยางค์ครบถ้วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เมื่อส่องไฟตาจะสะท้อนสีแดงและกระโดดหลบว่องไว

- กุ้งที่มีอาการป่วย

1. กุ้งโตช้า สีคล้ำ เกาะบริเวณขอบบ่อ หรือว่ายน้ำล่องไปมาบนผิวน้ำ
2. กุ้งกินอาหารลดลง ขี้กุ้งมีสีผิดปกติ ลำตัวขุ่นขาวไม่สะอาด มีสีต่างๆ หนวดกุด ขากุดดำ
3. ตัวซีด ตับบวมโตหรือหดผิดปกติ เปลือกนิ่ม ลำตัวมีสีแดง หรือมีดวงขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กฤษณา องอาจ, พุทธ ส่องแสงจินดา และ วลีรัตน์ มูสิกะสังข์. 2549. ผลของการใช้น้ำจากคูระบายน้ำทิ้งเพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2549. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่

ทรงชัย สหวัชรินทร์. 2532. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ เล่ม 3 การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. กม.บ. (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์), Cert.in Marine Shrimp Culture (Japan), Cert.in Fresh-water Prawn Culture (Hawaii), Cert.in Marine Biology (Belgium)

บดินทร์ อิทธิพงษ์, ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ, พรรณทพย์ สุวรรณสาครกล, ศศิวิมล ปิติพรชัย และสิริรัตน์ จงฤทธิพร. 2551. การใช้แบคทีเรียแลคติคเป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง ก้ามกราม. กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง และศูนย์วิจัย และพัฒนา ประมงน้ำจืด ชลบุรี กรมประมง

ภวัต สังฆะวัฒนะ. (2544). การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ยนต์ มุสิก. 2529. การเพาะเลี้ยงกุ้งกามกราม. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

ร่มฉัตร แสงสง่าศรี และอัญชิสา พิบูรณ์. 2560. ผลของโพรไบโอติกต่อลักษณะการเจริญเติบโต ของกุ้งก้ามกราม. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. 2561. หลักการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม [ออนไลน์] แหล่งค้นหา https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20180209142140_1_file.pdf. [ค้นหาเมื่อ 20 มิถุนายน 2566]

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, ไตรมาศ บุญไทย และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2009. โพรไบโอติก : อดีต ปัจจุบันและอนาคตของการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. ภาคจุลชีววิทยาและโครงสร้าง วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. โครงการวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุปราณี ชินบุตร เต็มดวง สมศิริ และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2545. ยาและสารเคมีเพื่อการป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำ. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง. โรงพิมพ์ชุมนุนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

สุวลี มะอนันต์ และ จิราพร โรจน์ทินกร. 2562. จุลกายวิภาคระบบย่อยของกุ้งก้ามกราม *(Macrobrachium rosenbergii)*. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่

สิริ ทุกข์วินาศ. 2547. การเตรียมบ่อกุ้งอย่างไร จึงเลี้ยงกุ้งทะเลได้ผล. สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง กรมประมง. โรงพิมพ์ชุมนุนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

อนันต์ ตันสุตะพานิช. 2538. เลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิดหรือระบบรีไซเคิ้ล. สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง. โรงพิมพ์ชุมนุนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล, พิสมัย สมสืบ, นุชนรี ทองศรี และสาวตรี วงศ์สุวรรณ. 2548. อาหารและการผลิตอาหารสัตว์น้ำ. สำนักพัฒนาและการถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง. โรงพิมพ์ชุมนุนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

Aflalo E. D., Raju D. V. S. N., Bommi, N. A., Verghese, J. T., Samraj T. Y. C., Hulata G., Ovadia O. and Sagi A. 2012. Toward a sustainable production of genetically improved all-male prawn *(Macrobrachium rosenbergii)*: Evaluation of production traits and obtaining neo-females in three Indian strains. Aquaculture. 338 : 197-207.

Alloul A., Ganigué R., Spiller M., Meerburg F., Cagnetta C., Rabaey K. and Vlaeminck S.E. 2018. Capture–ferment–upgrade: a three-step approach for the valorization of sewage organics as commodities. Environ. Sci. Technol. 52, 6729–6742.

Alloul A., Wuyts S., Lebeer S. and Vlaeminck S.E., 2019. Volatile fatty acids impacting phototrophic growth kinetics of purple bacteria: paving the way for protein pro- duction on fermented wastewater. Water Res. 152, 138–147.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

Banu R. and Christianus A. 2016. Giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming: a review on its current status and prospective in Malaysia. J. Aqua. Res. Dev., 7 (04) : 3-7.

Butt U.D., Lin N., Akhter N., Siddiqui T., Li S. and Wu B. 2021. Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. Fish Shellfish Immun. 114 (1), 263–281.

Cerruti M., Stevens B., Ebrahimi S., Alloul A., Vlaeminck S. E. and Weissbrodt D. G. 2020. Enriching and aggregating purple non-sulfur bacteria in an anaerobic sequencing- batch photobioreactor for nutrient capture from wastewater. bioRxiv.

Chang X. L., Li H., Feng J., Chen J., Nie G. and Zhang J. 2019. Effects of cadmium exposure on the composition and diversity of the intestinal microbial community of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Ecotoxicol. Environ. Saf. 171, 92–98.

Chewapat S., Anuwat C. and La-orsri S. 2020. Optimization of three anoxygenic photosynthetic bacteria as feed to enhance growth, survival, and water quality in fairy shrimp (*Streptocephalus sirindhornae*) cultivation. Aquaculture 534, 736288.

Clauwaert P., Muys M., Alloul A., Paepe J. D., Luther A., Sun X. Y., Ilgrande C., Christiaens M. E. R., Hu X., Zhang D. D., Lindeboom R. E. F., Sas B., Rabaey K., Boon N., Ronsse F., Geelen D. and Vlaeminck S. E. 2017. Nitrogen cycling in Bioregenerative Life Support Systems: Challenges for waste refinery and food production processes. Progress in Aerospace Sciences. 91 P : 87-98.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

Feng, J. C., Chang X. L., Zhang Y., Yan X., Zhang J. and Nie G. 2019. Effects of Lactococcus lactis from *Cyprinus carpio* L. as probiotics on growth performance, innate immune response and disease resistance against Aeromonas hydrophila. Fish Shellfish Immunol. 93, 73–81.

Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66 (5) : 365–378.

Gao X., Jiang Z., Zhang S., Chen, Q., Tong S., Liu X., Jiang, Q., Yang, H., Wei, W. and Zhang X. 2020. Transcriptome analysis and immune-related genes expression reveals the immune responses of *Macrobrachium rosenbergii* infected by Enterobacter cloacae. Fish Shellfish Immunol. 101 : 66-77.

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

Hulsen T., Barry E. M., Lu Y., Puyol D. and Batstone D. J. 2016. Low temperature treatment of domestic wastewater by purple phototrophic bacteria: performance, activity, and community. Water Res. 100, 537–545.

Hulsen T., Barry E. M., Lu Y., Puyol D., Keller J. and Batstone D. J., 2016. Domestic wastewater treatment with purple phototrophic bacteria using a novel continuous photo anaerobic membrane bioreactor. Water Res. 100, 486–495.

Hulsen T., Sander E. M., Jensen P. D. and Batstone D. J. 2020. Application of purple phototrophic bacteria in a biofilm photobioreactor for single cell protein production: biofilm vs suspended growth. Water Res., 181. 115909.

Islam R. G. M., Habib M. R., Waid J. L., Rahman M. S., Kabir J., Akter S. and Jolly Y.N. 2017. Heavy metal contamination of freshwater prawn (Macrobrachium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rosenbergii) and prawn feed in Bangladesh: A market-based study to highlight probable health risks. Chemosphere P : 282-289.

Jiang Q., Qian L., Gu S., Guo X., Zhang X. and Sun L. 2020. Investigation of growth retardation in *Macrobrachium rosenbergii* based on genetic/epigenetic variation and molt performance. Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics. 35 Article 100683.

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

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

Mostafiz F., Islam M. M., Saha B., Hossain, M. K., Moniruzzaman M., Habibullah-Al-Mamun M. 2020. Bioaccumulation of trace metals in freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* from farmed and wild sources and human health risk assessment in Bangladesh Environ. Sci. Pollut. Res., 27 (14) : 16426-16438.

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

Puyol D., Barry E. M., Hulsen T. and Batstone D. J., 2017. A mechanistic model for anaerobic phototrophs in domestic wastewater applications: photo-anaerobic model (PAnM). Water Res. 116, 241–253.

Roustaian P., Kamarudin M. S., Omar H., Saad C. R. and Ahmad M. H. 1999. Changes in fatty acid profile during larval development of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de man). Aquac. Res., 30 (11–12) : 815-824.

Roustaian P., Kamarudin M. S., Omar H., Saad C. R. and Ahmad M. H. 2000. Amino acid composition of developing larval freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. World Aquacult. Soc., 31 (1) : 130-136.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saravanan S., and Kamalam B. S. J. 2008. Moulting and Behaviour Changes in Freshwater Prawn [ออนไลน์] แหล่งค้นหา https://thefishsite.com/articles/moulting-and-behaviour-changes-in-freshwater-prawn [ค้นหาเมื่อ 20 มิถุนายน 2566]

Sasaki K., Tanaka T. and Nagai S. 1998. Use of photosynthetic bacteria for the production of SCP and chemicals from organic wastes. In: Martin, A.M. (Ed.), Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products. Springer US, Boston, MA, pp. 247–292.

Spanoghe J., Grunert O., Wambacq E., Sakarika M., Papini G., Alloul A., Spiller M., Derycke V., Stragier L., Verstraete H., Fauconnier K., Verstraete W., Haesaert G. and Vlaeminck S.E. 2020. Storage, fertilization and cost properties highlight the potential of dried microbial biomass as organic fertilizer. Microb. Biotechnol. 13, 1336–1365.

Sundar L. S. and Chao Y. Y. 2022. Potential of Purple Non-Sulfur Bacteria in Sustainably Enhancing the Agronomic and Physiological Performances of Rice. Agronomy. 12(10), 2347

Tan K. and Wang W. 2022. The early life culture and gonadal development of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: A review. Aquaculture. 93 : 738357

Wang X., Liu X., Lu S., Liu C., Gu Z. and Ni Q. 2019. Culture of attached and suspended Rhodopseudomonas faecalis in the presence of decomposing fish feed. Microbiology, Article e924.

Xu L., Yuan J., Chen X., Zhang S., Xie M., Chen C. X. and Wu Z. X. 2021. Screening of intestinal probiotics and the effects of feeding probiotics on the digestive enzyme activity, immune, intestinal flora and WSSV resistance of *Procambarus clarkii*. Aquaculture. 540, 736748.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhang X., Shu M., Wang Y., Fu L., Li W., Deng W., Liang Q. and Shen W. 2014. Effect of photosynthetic bacteria on water quality and microbiota in grass carp culture. World J. Microbiol. Biotechnol., 30, 2523-2531.

Zhu L., Kong Y., Chang X. L., Feng J. C., Wang X. R., Hou L. B., Zhao X. L., Pei C. and Kong X. H. 2022 Effects of two fish-derived probiotics on growth performance, innate immune response, intestinal health, and disease resistance of *Procambarus clarkii*. Aquaculture. 562. 738765

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง SS medium (เชื้อโพรไบโอติก รหัส BS และ BP)

Yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
Starch	20	กรัมต่อลิตร
Soybean flour	10	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

เตรียมอาหารปริมาตร 1 ลิตร ให้ละลายแป้ง และแป้งถั่วเหลืองในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัด pH ปรับให้มีค่า 6.8-7.2 (NaOH, HCl) จากนั้นนำน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ไปตั้งไฟรอจนเดือด จึงใส่น้ำแป้งและแป้งถั่วเหลือง (ที่ปรับ pH แล้ว) และคนอาหารตลอดเวลา แล้วปรับให้มีปริมาตรอาหาร เป็น 1 ลิตร ใส่วุ้นลงไป เมื่อวุ้นละลาย (สังเกตเม็ดวุ้น) ให้ยกลงจากเตา แล้วนำมาใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 5-7 มล. แล้วนำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

หมายเหตุ : ถ้าเป็นอาหารเหลวนั้นก็ไม่ต้องใส่วุ้น และหลังจากต้มอาหารจนแป้งละลาย จึงแบ่งใส่ฟลาสก์ละ 100 มล. ปิดสำลีหุ้มด้วยกระดาษ แล้วนำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.2 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง SS medium (เชื้อโพรไบโอติก รหัส BL และ BP_2)

Yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
Starch	30	กรัมต่อลิตร
Soybean flour	15	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

เตรียมอาหารปริมาตร 1 ลิตร ให้ละลายแป้ง และแป้งถั่วเหลืองในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัด pH ปรับให้มีค่า 6.8-7.2 (NaOH, HCl) จากนั้นนำน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ไปตั้งไฟรอจนเดือด จึงใส่น้ำแป้งและแป้งถั่วเหลือง (ที่ปรับ pH แล้ว) และคนอาหารตลอดเวลา นำน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วปรับให้มีปริมาตรอาหารเป็น 1 ลิตร ใส่วุ้นลงไป เมื่อวุ้นละลาย (สังเกตเม็ดวุ้น) ให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยกลงจากเตา แล้วนำมาใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 5-7 มล. แล้วนำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.3 การเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง SS medium (เชื้อโพรไบโอติก รหัส BM)

Yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
Starch	30	กรัมต่อลิตร
Soybean flour	10	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

เตรียมอาหารปริมาตร 1 ลิตร ให้ละลายแป้ง และแป้งถั่วเหลืองในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัด pH ปรับให้มีค่า 6.8-7.2 (NaOH, HCl) จากนั้นนำน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ไปตั้งไฟรอจนเดือด จึงใส่น้ำแป้ง+แป้งถั่วเหลือง (ที่ปรับ pH แล้ว) และคนอาหารตลอดเวลา แล้วปรับให้ปริมาตรอาหาร เป็น 1 ลิตร ใส่วุ้นลงไป เมื่อวุ้นละลาย (สังเกตเม็ดวุ้น) ให้ยกลงจากเตา แล้วนำมาใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 5-7 มล. แล้วนำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.4 การเตรียมอาหารเหลว Modified AM medium

Yeast extract	10	กรัมต่อลิตร
Starch	10	กรัมต่อลิตร
โมโนโซเดียมกลูตาเมท (MSG)	10	กรัมต่อลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

เตรียมอาหารปริมาตร 1 ลิตร ให้นำส่วนผสมทั้งหมดผสมเข้าด้วยกัน และเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปวัด pH ทำการปรับให้มีค่า 6.8 – 7.2 (NaOH, HCl) จากนั้นบรรจุอาหารใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ : ถ้าเป็นอาหารแข็งให้เติมวุ้นลงไป 15 กรัมต่อลิตร แล้วทำเป็น Deep tube

2.การเตรียมเชื้อ

2.1 การเตรียมเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 5 รหัส

2.1.1 Streak เชื้อโพรไบโอติกแต่ละรหัส คือ BM, BL, BS, BP2 และ BP ลงในอาหารวุ้นเอียง SS medium ในสภาพะปลอดเชื้อ (Aseptic technique) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 นำเชื้อโพรไบโอติกแต่ละรหัสในอาหารวุ้นเอียง มาเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการเขย่าให้ได้เป็นสารละลายเซลล์ (cell suspension)

2.1.3 นำสารละลายเซลล์ (cell suspension) ของเชื้อที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น OD600 นาโนเมตร (ด้วยเทคนิคการเจือจาง) ให้อยู่ในช่วง 1.0

2.1.4 นำไปใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น (inoculum) ที่ inoculum size 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลวแต่ละชนิด แล้วนำฟลาสก์ไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส ตามเวลาที่กำหนด จากนั้นนำเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ มาผสมด้วยอัตราส่วน 1:1:1:1:1 แล้วเก็บในตู้เย็นเพื่อใช้สำหรับทดสอบการเลี้ยงกุ้ง

2.2 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรียสังเคราะห์แสง (OS33)

2.2.1 นำเชื้อที่เก็บรักษาในตู้เย็นที่เจริญในอาหารวุ้น (Deep tube) มาเป็นเชื้อเริ่มต้น

2.2.2 จากนั้นนำลูปเขี่ยเชื้อนำมาใส่ในอาหารเหลว แล้วปิดผิวหน้าด้วยน้ำมัน หรือ liquid paraffin

2.2.3 นำไปบ่มภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

2.2.4 เมื่อเชื้อเจริญให้นำเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่บรรจุลงในขวด แล้วบ่มภายใต้ความเข้มข้นแสง 1500-2000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

2.2.5 จากนั้นจึงนำไปวัดค่า OD600 นาโนเมตร (ด้วยเทคนิคเจือจาง) ให้อยู่ในช่วง 1.0 แล้วเก็บเชื้อเพื่อใช้ทดสอบสำหรับการเลี้ยงกุ้งต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์

1.วิธีย้อมแกรม

1.1 หยดน้ำกลั่นลงบนบนสไลด์ 1 หยด ใช้ลูปแตะเชื้อแล้วเกลี่ย (smear) ให้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ และปล่อยให้แห้ง

1.2 นำสไลด์ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง ทิ้งให้เย็น

1.3 หยดสี Crystal violet ให้ท่วมรอยที่เกลี่ย (smear) ทิ้งไว้ 1 นาที

1.4 ล้างออกด้วยน้ำกลั่นและย้อมทับด้วย Gram iodine นาน 1 นาที

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

1.6 ย้อมทับด้วย Safranin O นาน 30 วินาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่น

1.7 ปล่อยให้สไลด์แห้ง แล้วมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. วิธีชั่งน้ำหนัก

2.1 ใช้เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ทศนิยม 3 ตำแหน่ง กด tare ก่อนชั่งน้ำหนักทุกครั้ง

2.2 ใส่น้ำลงในบีกเกอร์ให้เพียงพอต่อตัวกุ้ง จดบันทึกน้ำหนัก (น้ำหนักก่อนชั่ง)

2.3 กุ้งก้ามกราม รอจดตัวเลขคงที่ (น้ำหนักหลังชั่ง)

2.4 นำน้ำหนักหลังชั่ง (กรัม) น้ำหนักก่อนชั่ง (กรัม) เท่ากับ น้ำหนักของกุ้งก้ามกราม (กรัม)

3. วิธีวัดความยาว

วางกุ้งก้ามกรามที่จะวัดความยาวในแนวเดียวกับไม้บรรทัดโดยวัดตั้งแต่กรีจนถึงหางกุ้งจดบันทึกความยาว (เซนติเมตร)

4.วัดค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัดค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อโพรไบโอติก วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 และเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การอนุบาลกุ้งขาวเพื่อใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมน้ำสำหรับอนุบาลกุ้งก้ามกราม

เตรียมน้ำให้มีความเค็ม 50 พีพีที โดยใช้น้ำกรอง (Reverse Osmosis, OR) ผสมโซเดียมคลอไรด์ ที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อ โดยการนำไปเข้าเครื่องความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และวัดความเค็มของน้ำด้วยเครื่อง Reflectometer

2. การเตรียมบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกราม

2.1 ใช้บ่อพลาสติก เติมน้ำที่เตรียมไว้สำหรับเลี้ยงกุ้งก้ามกราม ปริมาตร 17 ลิตร จากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำในบ่อให้เท่ากับพีเอชของน้ำเลี้ยงกุ้งจากฟาร์ม

2.2 ระบบให้อากาศตลอด 24 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องปั๊มอากาศผ่านสายยางต่อด้วยหัวพ่นอากาศที่ปลายสาย มีวาล์วควบคุมปริมาณลมที่จะออกจากหัวพ่นอากาศให้มากหรือน้อยตามต้องการ อากาศจะผ่านสายยางไปยังหัวพนอากาศ เกิดเป็นฟองอากาศที่กระจายออก หัวพ่นอากาศจะช่วยให้อากาศละลายในน้ำได้ดี ถ้าขาดอากาศเป็นเวลานานกุ้งก้ามกรามจะตายทันที และจะต้องตั้งปั๊มลมให้สูงกว่าระดับตู้กุ้งหรือบ่อกุ้ง เพื่อป้องกันการไหลกลับของน้ำเข้าปั๊ม เวลาที่ปั๊มไม่ทำงาน

2.3 การควบคุมแสง ใช้แผ่นพลาสติกสีทึบหรือผ้ากั้นรอบบริเวณที่เลี้ยงกุ้งก้ามกราม โดยเปิดส่วนบนไว้ เพื่อให้อากาศสามารถถ่ายเทได้ จะช่วยควบคุมปริมาณแสงและช่วยชะลอการเจริญเติบโตของแพลงค์ตอนพืช การติดเชื้อโรคและสิ่งเจือปนต่างๆ

3. การปล่อยกุ้งก้ามกรามลงในบ่อ

ใช้กุ้งก้ามกรามที่ได้จากฟาร์มเลี้ยงกุ้งก้ามกราม มาพร้อมกับน้ำที่ใช้เลี้ยงเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในฟาร์ม แช่ถุงกุ้งก้ามกรามลงบ่อที่เตรียมไว้สำหรับอนุบาลกุ้งก้ามกราม รอจนกว่าน้ำในถุงมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับน้ำที่อยู่ในบ่อ จากนั้นเทกุ้งก้ามกรามที่อยู่ในถุงลงในบ่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.อาหารและการให้อาหาร

การให้อาหารกุ้งก้ามกรามปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว จะให้กุ้งก้ามกรามกินอาหารสำเร็จรูป 2 มื้อ โดยการให้อาหารสำเร็จรูปแต่ละครั้งจะต้องตรวจสอบปริมาณของอาหารสำเร็จรูปที่ให้ไปก่อนหน้า หากไม่มีเหลืออยู่จะให้ในปริมาณที่น้อย

5. การดูแลกุ้ง

การดูแลกุ้งหรือการปฏิบัติงานประจำวัน ได้แก่ การเปลี่ยนถ่ายน้ำ การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของน้ำ

5.1 การเปลี่ยนถ่ายน้ำ เปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งก้ามกรามทุกๆ 3 วัน

5.2 การวัดพีเอช วัดพีเอชทุกวัน เนื่องจากพีเอชมีผลอย่างมากในการอนุบาลกุ้งก้ามกราม หากมีพีเอชมากกว่า 8.0 หรือ ต่ำกว่า 7.3 จะทำให้กุ้งก้ามกรามตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS

1.การเปรียบเทียบน้ำหนักของกุ้งก้ามกราม

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Day 1	Between Groups	0.091	3	0.030	365.040	0.001
	Within Groups	0.01	6	0.000		
	Total	0.092	9			
Day 2	Between Groups	0.150	3	0.050	42.857	0.001
	Within Groups	0.0007	6	0.001		
	Total	0.157	9			
Day 3	Between Groups	0.399	3	0.133	6.660	0.024
	Within Groups	0.120	6	.020		
	Total	0.518	9			
Day 4	Between Groups	0.998	3	0.333	4.709	0.051
	Within Groups	0.424	6	0.071		
	Total	1.423	9			
Day 5	Between Groups	1.526	3	0.509	4.592	0.054
	Within Groups	0.665	6	0.111		
	Total	2.191	9			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Day 6	Between Groups	1.912	3	0.637	4.953	0.046
	Within Groups	0.772	6	0.129		
	Total	2.684	9			
Day 7	Between Groups	2.436	3	0.812	4.890	0.047
	Within Groups	0.996	6	0.166		
	Total	3.432	9			
Day 8	Between Groups	3.750	3	1.250	5.844	0.033
	Within Groups	1.283	6	0.214		
	Total	5.033	9			
Day 9	Between Groups	6.071	3	1.518	925.463	0.001
	Within Groups	0.008	6	0.002		
	Total	6.079	9			
Day 10	Between Groups	6.125	3	2.042	9.271	0.011
	Within Groups	1.321	6	0.220		
	Total	7.446	9			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day1		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.1850
ชุดทดสอบที่ 2	2	0.2050
Sig.		0.441
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day2		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.2200
ชุดทดสอบที่ 2	2	0.2800
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day3		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.2800
ชุดทดสอบที่ 2	2	0.2200
Sig.		1.191
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day4		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.9700
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.5300
Sig.		0.078
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day5		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.3900
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.2050
Sig.		0.094
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day6		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.4550
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.3300
Sig.		0.059
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day7		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.5100
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.5050
Sig.		0.265
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day8		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.6850
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.8150
Sig.		0.071
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day9		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	0.8400
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.9800
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day10		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.0250
ชุดทดสอบที่ 2	2	2.1700
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.การเปรียบเทียบความยาวของกุ้งก้ามกราม

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Day 1	Between Groups	2.400	3	0.800	365.040	0.001
	Within Groups	0.000	6	0.000		
	Total	2.400	9			
Day 2	Between Groups	2.944	3	0 .981	21408.982	0.001
	Within Groups	0.00	6	0.000		
	Total	2.944	9			
Day 3	Between Groups	3.470	3	1.157	3344.978	0.001
	Within Groups	0.002	6	0.000		
	Total	3.472	9			
Day 4	Between Groups	4.505	3	1.502	86.294	0.001
	Within Groups	0.104	6	0.017		
	Total	4.609	9			
Day 5	Between Groups	7.225	3	2.408	15.279	0.003
	Within Groups	0.946	6	0.158		
	Total	8.170	9			
Day 6	Between Groups	12.531	3	4.177	6.508	0.026
	Within Groups	3.851	6	0.642		
	Total	16.382	9			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day 7	Between Groups	17.953	3	5.984	4.805	0.049
	Within Groups	7.473	6	1.246		
	Total	25.426	9			
Day 8	Between Groups	22.436	3	7.479	4.127	0.066
	Within Groups	10.872	6	1.812		
	Total	33.308	9			
Day 9	Between Groups	47.888	3	11.972	1294.275	0.001
	Within Groups	0.046	6	0.009		
	Total	47.934	9			
Day 10	Between Groups	34.519	3	11.506	3.341	0.097
	Within Groups	20.666	6	3.444		
	Total	55.185	9			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day1		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.0000
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.0000
Sig.		0.295
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day2		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.1100
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.1050
Sig.		0.058
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day3		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.1850
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.2200
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day4		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.2100
ชุดทดสอบที่ 2	2	1.5300
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day5		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.2700
ชุดทดสอบที่ 2	2	2.2000
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day6		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.3200
ชุดทดสอบที่ 2	2	3.2500
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day7		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.3700
ชุดทดสอบที่ 2	2	4.1000
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day8		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.4150
ชุดทดสอบที่ 2	2	4.7000
Sig.		0.052
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Day9		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.4650
ชุดทดสอบที่ 2	2	5.650
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

Day10		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ชุดทดสอบที่ 1	2	1.5200
ชุดทดสอบที่ 2	2	6.0650
Sig.		1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 6 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาว พิรญาณ์ ระดมสุข รหัสประจำตัว 62050526

นางสาว อทิตยา พลับอิน รหัสประจำตัว 62050554

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์แสงร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อการเลี้ยงกุ้ง

ชื่อภาษาอังกฤษ The application of purple non-sulfur photosynthetic bacteria and probiotics for shrimp cultivation

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 3.49 %

ลงชื่อ พิรญาณ์ ระดมสุข ลงชื่อ อทิตยา พลับอิน

(พิรญาณ์ ระดมสุข) (อทิตยา พลับอิน)

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